

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université A. MIRA – BEJAIA
Faculté de Technologie
Département de Génie des Procédés



En vue de l'obtention du diplôme de

MASTER

Filière :

Génie des Procédés

Spécialité :

Science et technologie du médicament

Thème

**Etude de stabilité d'un principe actif par encapsulation par la
 β -cyclodextrine/extrait de plante de thé**

Réalisé par

M^{lle} CHILLA BAYA

M^R ABDENNOUCHE ABDERRAHIM

Encadré par

M^{me} SENHADJI

Membres de jury

M^{me} H. BELKACEMI

M^{me} F. OUGHLIS

M^{me} N. BELHADJ

Promotion 2016-2017

- *Nous remercions Dieu le tout puissant de nous avoir accordé la santé, la volonté, le courage et la patience pour accomplir ce travail.*
- *Nous tenons à formuler l'expression de notre profonde reconnaissance à notre promotrice **madame Senhadji** pour ces pertinents conseils et son orientation ainsi que sa disponibilité le long de ce travail.*
- *Nous remercions également :*
 - ✓ *Tous les professeurs qui nous ont aidé pour atteindre ce niveau.*
 - ✓ *Tout le personnel du laboratoire n°=8 au bloc 11*
 - ✓ *Les membres du jury pour l'honneur qu'ils nous font en acceptant de juger ce travail et de participer à la soutenance.*
 - ✓ *Nos reconnaissances vont également à tous les amis de l'université de A/MIRA pour leur aides précieuses*
- *Enfin nous remercions tous ceux qui ont contribus de près ou de loin afin que notre travail puisse voir le jour.*

DEDICACES

Je dédie ce modeste travail :

- *A la mémoire de ma très chère grand-mère.*
- *A mes très chers parents pour m'avoir toujours donné le meilleur de tout, leur aide, leur compréhension et leur soutien. Je prie dieu le tout puissant de les protéger du mal et les récompenser de toutes les peines et sacrifices données auxquelles je ne rendrai jamais assez.*
- *A mes chers frères : « HAKIM », « BELKACEM », « FERHAT »*
- *A mes chères sœurs : « KARIMA », « NAWEL », « HINOUCHE »*
- *A ma grande famille (cousins, cousines, en particulier mon oncle et ses fils*
- *A mon binôme « RAHIM » ainsi que toute sa famille.*
- *A mes chères amies*

BAYA

DEDICACES

Je dédie ce modeste travail :

- *A mes très chers parents pour m'avoir toujours donné le meilleur de tout, leur aide, leur compréhension et leur soutien. Je prie dieu le tout puissant de les protéger du mal et les récompenser de toutes les peines et sacrifices données auxquelles je ne rendrai jamais assez.*
- *A mes chers frères : « YASSINE », « A/AZIZ »,*
- *A mes chères sœurs : « NAWEL », « ZEHRA »,*
- *A ma grande famille (cousins, cousines, oncles et tantes...etc.)*
- *A mon binôme «baya» ainsi que toute sa famille.*
- *A mes chers amis*

ABDERRAHIM

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction générale1

Chapitre I

I.1 Les Cyclodextrines.....2

I.1.1 Définition.....2

I.1.2 Production des CD.....3

I.1.3 Structure.....3

I.1.4 Propriétés physicochimiques3

I.1.4.1 Solubilité dans l'eau.....5

I.1.4.2 Solubilité dans les solvants.....5

I.1.4.3 Stabilité en solution.....6

I.1.4.4 Biodégradabilité et faible toxicité.....6

I.1.5 Les cyclodextrines modifiées.....6

I.1.6 Complexes d'inclusion.....7

I.1.6.1 Conséquences de la complexation7

I.1.6.2 Préparation des complexes.....9

I.1.6.3 Méthodes de caractérisation des complexes d'inclusion.....10

I.1.6.3.1 Chromatographie Liquide à Haute Performance.....11

I.1.6.3.2 Spectroscopie UV-visible.....11

I.1.6.3.3 Spectroscopie Infrarouge (IR).....	11
I.1.6.3.4 La Résonance Magnétique Nucléaire (RMN).....	12
I.1.6.3.5 La Diffraction Des Rayons X (DRX).....	12
I.1.6.3.6 L'Analyse Calorimétrique Différentielle (DSC).....	12
I.1.6.3.7 Diagrammes de solubilité.....	13
I.1.7 Application des cyclodextrines.....	15
I.1.7.1 Le domaine pharmaceutique.....	15
I.1.7.2 Le domaine alimentaire.....	15
I.1.7.3 Le domaine environnementale.....	16
I.2 Encapsulation.....	16
I.2.1 Définition	16
I.2.2 Historique.....	16
I.2.3 Les procédés d'encapsulation.....	17
I.2.3.1 Procédés mécaniques.....	18
I.2.3.2 Procédés physico-chimiques	18
I.2.3.3 Procédés chimiques.....	18
I.2.4 Objectifs de l'encapsulation.....	18
I.2.5 Application dans le domaine pharmaceutique.....	18
I.3 Thé vert	19
I.3.1 Histoire.....	19
I.3.2 Nom botanique.....	20
I.3.3 Caractéristiques botaniques.....	20
I.3.4 Obtention du thé.....	21

I.3.5	Composition du thé vert	21
I.3.6	Propriétés réductrices des catéchines.....	22
I.4	Amlodipine.....	23
I.4.1	Définition.....	23
I.4.2	Propriétés de l'amlodipine.....	23
I.4.3	Mode d'action.....	23
I.4.4	Pharmacocinétique.....	24

Chapitre II

II.1	Introduction.....	25
II.2	Préparation des complexes.....	25
II.2.1	Matériels et matières premières.....	25
II.2.2	Appareillage.....	27
II.3	Méthodes.....	27
II.3.1	Méthode de solubilisation.....	27
II.3.1.1	Complexe formé dans l'eau ultra-pure (pH = 6.3)	27
II.3.1.2	Complexe formé en milieu acideou basique.....	28
II.3.1.3	Complexe formé Dans la liqueur de thé.....	28
II.3.2	Méthode de pétrissage « Kneading »	30
II.4	Caractérisation par UV-visible des complexes β -CD/amlo.....	30
II.5	Caractérisation par infrarouge des complexes β -CD/amlo.....	30
II.5.1	Caractérisation du complexe β -CD/amlo préparé par la méthode de solubilisation..	30
II.5.2	Caractérisation du complexe β -CD/amlo préparé par la méthode Kneading.....	30

Chapitre III

III.1	Introduction.....	31
III.2	Caractérisation par UV visible des matières premières.....	31
III.3	Etude des complexes d'inclusion.....	33
III.3.1	Influence de l'addition de la β -CD sur le spectre UV-visible de l'amlodipine	33
III.3.1.1	Influence de l'addition de la β -CD sur le spectre UV-visible de l'amlodipine à pH=6.3.....	33
III.3.1.2	Influence de l'addition de la β -CD sur le spectre UV-visible de l'amlodipine à pH=5 et pH=9.70.....	34

III.3.1.3 Diagramme de solubilité.....	36
III.4 Effet de l'addition de la liqueur de thé sur la formation des complexes β -CD/amlo....	37
III.4.1 Diagramme de solubilité dans la liqueur de thé	38
III.5 Caractérisation des complexes d'inclusion β -CD/Amlo en solution par UV-visible...	40
III.6 Caractérisation par infrarouge	42
III.6.1.Spectre IR de la β -CD.....	42
III.6.2 Spectre IR de l'amlopidine.....	43
III.6.3 Caractérisation des complexes β -CD/amlo préparés par la méthode de solubilisation.....	44
III.6.3.1 Caractérisation des complexes préparés à pH =6.3.....	44
III.6.3.2 Caractérisation des complexes préparés à pH =5.....	46
III.6.3.3 Caractérisation des complexes préparés à pH =9.70.....	47
III.6.3.4 Caractérisation des complexes préparés dans la liqueur de thé.....	49
III.6.4 Caractérisation des complexes β -CD/amlo préparés par kneading .	52
III.6.4.1 Caractérisation des complexes β -CD/amlo préparés par kneading à pH=6.3.	52
III.6.4.2 Caractérisation des complexes β -CD/amlo préparés par kneading à pH=5....	53
III.6.4.3 Caractérisation des complexes β -CD/amlo préparés par keading à pH=9,70.	55

Liste des abréviations

Aml: Amlodipine.

B-CD : β -Cyclodextrine.

CD : Cyclodextrine.

CGTase : Cyclodextrine glucosyltransférase.

DCA : L'analyse calorimétrique différentielle.

HPLC : Chromatographie Liquide à Haute Performance.

IR : Spectroscopie Infrarouge.

Kc : constante de stabilité

pKa : Constante d'acidité.

RMN : Résonance Magnétique Nucléaire.

UV-Visible : Ultraviolet-Visible.

Liste des figures

Chapitre I

Figure I.1 : Représentation de la β -cyclodextrine et de l'unité glucose.

Figure I.2 : structure des CD natives, adaptée des références.

Figure I.3 : Densités de probabilité de présence des molécules d'eau au voisinage des CDs.

Figure I.4: Schéma de l'inclusion d'une molécule dans la cavité hydrophobe de cyclodextrine.

Figure I.5 : Le modèle conventionnel de la formation du complexe d'inclusion.

Figure I.6 : Représentation de différents types de complexes « hôte/invité».

Figure I.7 : Evolution du nombre d'articles scientifiques et de brevets publiés par année dans le domaine de la microencapsulation.

Figure I.8 : Plante de *Camellia sinensis*.

Figure I.9: Représentation des principales familles de thé.

Figure I.10 : Structure moléculaire des différentes catéchines du thé vert.

Chapitre II

Figure II-1. Structure chimique de l'amlodipine bésylate

Chapitre III

Figure III.1 Spectre UV-visible de l'amlodipine dissoute dans l'eau pure.

Figure III.2 Spectre d'absorption UV-visible de la β -CD dissoute dans l'eau pure.

Figure III.3 Spectre d'absorption UV-visible de la liqueur de thé.

Figure III.4 influence de l'addition de la β -CD sur le spectre UV- de l'amlodipine dans le pH=6,3.

Figure III.5 Spectres d'absorption UV de l'amlodipine dans:-**A**- tampon (pH=5),-**B**- tampon pH=9,70.

Figure III.6 spectres d'absorption de l'amlodipine, de la β -CD et du complexe β -CD/amlo dans les tampons : **(A)** pH=5, **(B)** pH=9,70.

Figure III.7 Diagramme de solubilité de l'amlodipine avec la β -CD dans le pH=6,3.

Figure III.8 Diagramme de solubilité de l'amlodipine avec la (β -CD dans le tampon (pH=5)

Figure III.9 Diagramme de solubilité de l'amlodipine avec la (β -CD dans le tampon (pH=9,70)

Figure III.10 Evolution de l'absorbance dans l'UV-Visible de l'amlodipine en fonction de la variation de la concentration en CD dans la liqueur de thé.

Figure III.11 Diagramme de solubilité (Higuchi-Connors) de l'amlodipine avec le β CD dans la liqueur de thé.

Figure III.12 Représentation des spectres UV-visible de β CD/amlo dans les différents milieux étudiés: tampon, liqueur de thé à pH=6,3.

Figure III.13 Spectres UV-visible de l'amlodipine, β -CD, et du complexe β -CD/Amlo dans les quatre milieux étudiés : tampon et la liqueur de thé à pH=6,3.

Figure III.14 Spectre infrarouge de la β -CD native dans le KBr.

Figure III.15 Spectre infrarouge de l'amlodipine besylate dans le KBr.

Figure III.16 les spectres IR de la β -CD, de l'amlo, et du complexe β -CD/amlo dans le pH=6,3.

Figure III.17 Spectre IRTFR de l'amlo, de la β -CD et du complexe β -CD/Amlo dans le pH=6,3 enregistrés entre : (A) 4000 et 2500 cm^{-1} , (B) 1800 et 900 cm^{-1}

Figure III.18 Spectres IR de la β -CD, de l'amlo, et du complexe β -CD/amlo dans le pH=5

Figure III.19 Spectre IRTF de l'amlo, de la β -CD et du complexe β -CD/Amlo dans le pH=5 enregistrés entre : (A) 4000 et 2500 cm^{-1} , (B) 1800 et 900 cm^{-1}

Figure III.20 Spectres IR de la β -CD, de l'amlo, et du complexe β -CD/amlo dans le pH=9.7

Figure III.21 Spectre IRTF de l'amlo, de la β -CD et du complexe β -CD/Amlo dans le pH=9.70 enregistrés entre : (A) 4000 et 2500 cm^{-1} , (B) 1800 et 900 cm^{-1}

Figure III.22 Spectres IR de la β -CD, de l'amlo, et du complexe β -CD/amlo dans la liqueur de thé.

Figure III.23 Spectre IRTF de l'amlo, de la β -CD et du complexe β -CD/Amlo dans la liqueur de thé enregistrés entre : (A) 4000 et 2500 cm^{-1} , (B) 1800 et 900 cm^{-1}

Figure III.24 Spectres IR de la β -CD, de l'amlo, et du complexe β -CD/amlo préparé par kneading dans le pH=6,3

Figure III.25 Spectre IRTF de l'amlo, de la β -CD et du complexe β -CD/Amlo préparé par kneading dans le pH=6,3 enregistrés entre : (A) 4000 et 2500 cm^{-1} , (B) 1800 et 900 cm^{-1}

Figure III.26 spectres IR de la β -CD, de l'amlo, et du complexe β -CD/amlo préparé par kneading dans le pH=5

Figure III.27 Spectre IR TFR de l'amlo, de la β -CD et du complexe β -CD/Amlo préparé par kneading dans le pH=5 enregistrés entre : (A) 4000 et 2500 cm^{-1} , (B) 1800 et 900 cm^{-1} .

Figure III.28 Spectres IR de la β -CD, de l'amlo, et du complexe β -CD/amlo préparé par kneading dans le 9,70.

Figure III.29 Spectre IR TFR de l'amlo, de la β -CD et du complexe β -CD/Amlo préparé par kneading dans le pH=9,70 enregistrés entre : (A) 4000 et 2500 cm^{-1} , (B) 1800 et 900 cm^{-1} .

Liste des tableaux

Chapitre I

Tableau I.1 : Propriétés structurales des cyclodextrines natives.

Tableau I.2 : Principales Caractéristiques physicochimiques de l' α , β et γ CDs natives.

Chapitre II

Tableau II-1. Propriétés physicochimiques de l'amlodipine bésylate

Tableau II-2: Caractéristiques des réactifs utilisés dans cette étude

Chapitre III

Tableau III.1 quantification par UVvisible des solutions du test d'Higuchi-Connors.

Tableau III.2 quantification par UVvisible des solutions du test d'Higuchi-Connors réalisé en présence de la liqueur de thé.

Tableau III.3 Attribution des principales bandes observées sur le spectre infrarouge de la β -CD.

Tableau III.4 Attribution des principales bandes observées sur le spectre infrarouge de la l'amlodipine besylate.

Tableau III.5 Comparaison et déplacement des bandes d'absorption IR de l'amlodipine seule et associé au complexe β -CD/amlo à pH =6,3.

Tableau III.6 Comparaison et déplacement des bandes d'absorption IR de l'amlodipine seule et associé au complexe β -CD/amlo à pH=5.

Tableau III.7 Comparaison et déplacement des bandes d'absorption IR de l'amlodipine seule et associé au complexe β -CD/amlo à pH=9,70.

Tableau III.8 Comparaison et déplacement des bandes d'absorption IR de l'amlodipine seule et associé au complexe β -CD/amlo dans la liqueur de thé.

Tableau III.9 Comparaison et depacement des bandes d'absorption IR de l'amlodipine seule et associé au complexe complexe β -CD/amlo préparé par kneading à pH =6,3.

Tableau III.10 Comparaison et déplacement des bandes d'absorption IR de la β -CD seule et associé au complexe complexe β -CD/amlo préparé par kneading dans le pH =6,3.

Tableau III.11 Comparaison et deplacement des bandes d'absorption IR de l'amlopidine seule et associé au complexe complexe β -CD/amlo préparé par kneading dans le pH =5.

Tableau III.12 Comparaison et deplacement des bandes d'absorption IR de la β -CD seule et associé au complexe complexe β -CD/amlo préparé par kneading dans le pH =5

Tableau III.13 Comparaison et deplacement des bandes d'absorption IR de l'amlopidine seule et associé au complexe complexe β -CD/amlo préparé par kneading dans le pH =9,70.

Tableau III.14 Comparaison et deplacement des bandes d'absorption IR de la β -CD seule et associé au complexe complexe β -CD/amlo préparé par kneading dans le pH =9,70.

Introduction générale



Introduction générale

L'hypertension artérielle représente une cause majeure de mortalité et l'un des principaux facteurs de risque des maladies cardio-vasculaires, cérébraux-vasculaires et rénales [1]. Depuis sa commercialisation en 1932, l'amlodipine est devenue une composante importante dans les régimes antihypertenseurs, c'est un antagoniste calciques de type dihydropridine [2] possédant des propriétés biologiques et physicochimique très particulières. L'inconvénient de cette molécule est sa faible biodisponibilité, liée à 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 d'effets secondaires liés aux traitements médicaux [3].

L'encapsulation du principe actif dans une molécule hôte constitue une des approches les plus récentes et les plus prometteuses du transport des médicaments, et qui permet aussi l'amélioration de leur solubilité. De nombreuses molécules minérales (zéolithes, kaolinites, ...) ou organiques (éthers-couronnes, cyclophanes, cyclodextrines, ...) présentent une structure avec une "cavité" leur permettant de donner naissance à des complexes d'inclusion [4]. En particulier, les cyclodextrines considérées comme une nouvelle famille d'excipients pharmaceutiques sont de plus en plus privilégiées en raison de leur biodégradabilité et de leur non toxicité en plus d'autres propriétés exceptionnelles qui les caractérisent, et leur grand pouvoir complexant avec une large variété de molécules actives lipophiles permettant ainsi l'augmentation de leur solubilité [5,6].

C'est dans ce contexte que s'inscrit notre travail, qui a pour objectif l'étude des complexes d'inclusion de l'amlodipine avec la β -CD et l'apport de l'addition de la liqueur de thé à ces complexes.

Ce manuscrit est structuré en trois chapitres, dans le premier on présente une revue bibliographique concernant les axes principaux de ce projet : les cyclodextrines, l'encapsulation, le thé vert et l'amlodipine. La mise en œuvre expérimentale est donnée dans le chapitre II. Et le chapitre III est réservé à la partie résultats et discussions. Nous terminons par une conclusion générale qui résume les résultats les plus concluants obtenus de cette étude.

Chapitre I
Rappels
bibliographiques

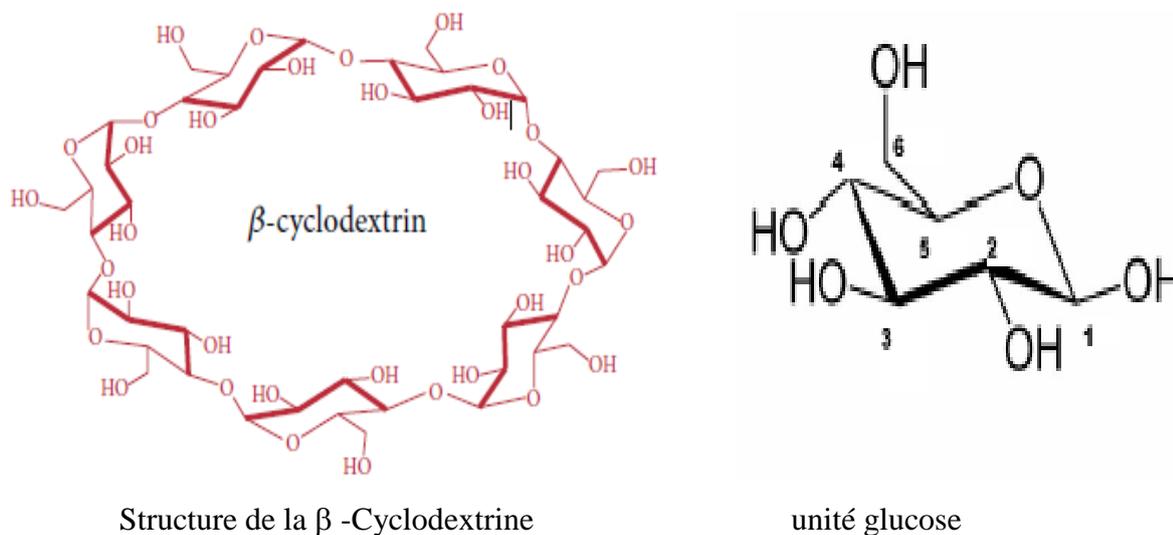


I.1 Les Cyclodextrines

En 1891, Villiers obtient à partir des produits de dégradation d'un kilogramme d'amidon par la bactérie *Bacillus macerans*, trois grammes de substance cristalline. Ce fut la première fois que des cyclodextrines furent isolées. Les cyclodextrines (CDs) font partie de la famille des glucides et sont des oligosaccharides cycliques qui furent appelées Cellulosine, cristalline dextrine, α -dextrine, β -dextrine, dextrines de Sharding, cyclo-amyloses, cyclo-malto-oligosaccharides, cyclo-oligoglucanes... Actuellement, le terme cyclodextrine reste le plus utilisé [7,8].

I.1.1 Définition

Les CD sont des oligosaccharides cycliques de forme torique contenant six à douze unités de glucose. Chaque unité de D-glucose en conformation chaise est liée par son carbone monomérique à l'autre unité par des liaisons glucosidiques α 1-4. Les CD sont obtenus industriellement par dégradation enzymatique de l'amylose (forme linéaire de l'amidon) à l'aide d'une enzyme, la CD glucosyltransférase (CGTase) [9]. Les plus abondantes sont les hexamères (α -cyclodextrine), heptamères (β -cyclodextrine) et octamères (γ -cyclodextrine) [4].



$n = 6$, α -Cyclodextrine

$n = 7$, β -Cyclodextrine

$n = 8$, γ -Cyclodextrine

Figure I.1 : Représentationnel la β -cyclodextrine et de l'unité glucose [10,11].

I.1.2 Production des CD

L'enzyme impliquée dans la production des CDs, la CD glucosyltransferase (CGT-Ase) est produite par un grand nombre de microorganismes, comme *Bacillus macerans*, *Klebsiella oxytoca*, *Bacillus circulans*, etc [12].

L'amidon est mis en solution aqueuse à haute température et partiellement hydrolysé pour réduire la viscosité. La CGTase est ensuite ajoutée au mélange. Au cours de la réaction, la structure hélicoïdale de l'amylose est détruite au profit d'une cyclique. Les spires que forme naturellement cette macromolécule en solution aqueuse sont reliées par transfert de liaisons pour donner des oligosaccharides cycliques [13]. L' α -CD, le β -CD et le γ -CD sont les principales CDs obtenues.

Pour favoriser la formation d'une CD donnée, il est possible d'ajouter au milieu réactionnel un solvant formant avec elle un complexe insoluble. Ainsi, l'ajout de toluène entraîne la formation d'un complexe CD - toluène qui est immédiatement éliminé par filtration, ce qui permet d'orienter la réaction en faveur de la β -CD, si le 1-décanol est ajouté, Principalement l' α -CD sera produite, alors que dans le cas de cyclohexadécénol le produit principal est la γ -CD.

Divers d'autres agents formant des complexes peuvent être utilisés. La sélection dépend du prix, de la toxicité, Mais principalement de l'efficacité de l'élimination des solvants du produit final cristallin [12,13].

Après séparation des complexes par filtration, les solvants utilisés pour la formation de ces complexes sont éliminés par distillation ou extraction. Suivent alors plusieurs étapes de purification (traitement sur charbon actif, filtration, cristallisation) au terme desquelles les CDs sont obtenues avec une pureté généralement supérieure à 99% [13].

I.1.3 Structure

Les CDs ont attiré l'attention des chercheurs grâce à leurs propriétés spécifiques qui sont principalement dues à leurs structures uniques. Ces molécules se présentent sous forme d'un cône tronqué à l'extérieur duquel se trouvent les groupements hydroxyles. La partie extérieure est donc hautement hydrophile. Les hydroxyles secondaires portés par les carbones C2 et C3 se situent sur le côté le plus large du cône appelé face secondaire tandis que les hydroxyles primaires en C6 se trouvent du côté le plus étroit (face primaire). La libre rotation des hydroxyles primaires diminue le diamètre effectif de la cavité du côté où ils se trouvent

alors que les hydroxyles secondaires sont en position plus figée. L'intérieur de la cavité est constitué par des atomes d'hydrogène portés par les carbones C3 et C5 ainsi que par les atomes d'oxygène participant à la liaison glycosidique ce qui lui confère un caractère apolaire (hydrophobe) [5]. C'est grâce à ce caractère amphiphile remarquable (hydrophile à l'extérieur, hydrophobe à l'intérieur) que les CD sont capables d'inclure dans leur cavité apolaire des molécules hydrophobes pour former des complexes d'inclusion solubles dans l'eau [6].

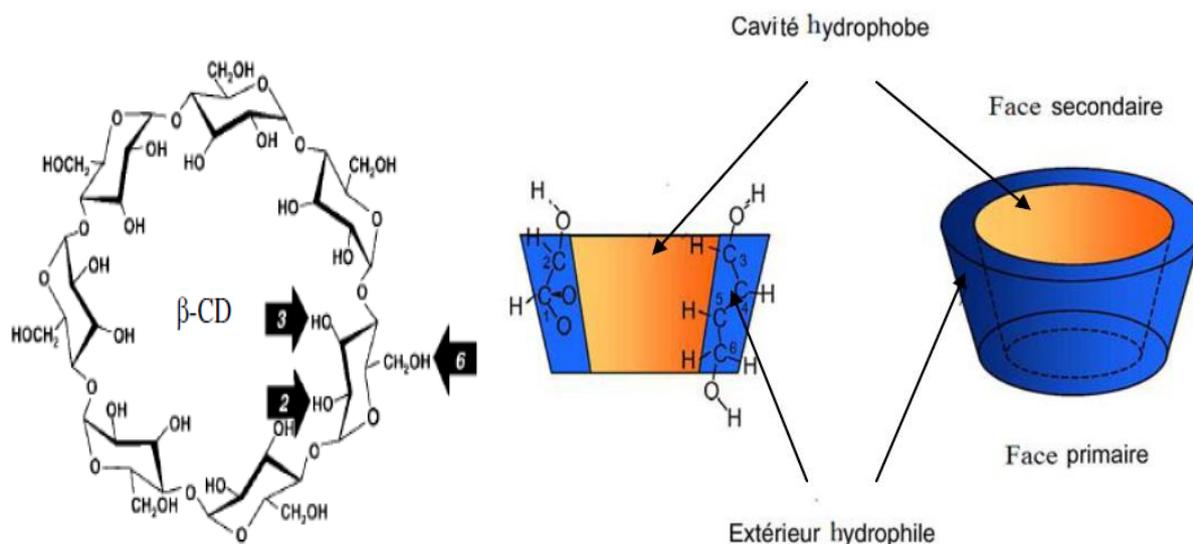


Figure I.2 : structure des CD natives [5] et [6].

Quelques propriétés structurales de ces CDs dites « natives » sont résumées dans le tableau I.1 ci-dessous.

Tableau I.1 : Propriétés structurales des cyclodextrines natives [14].

Caractéristiques	α -CD	β -CD	γ -CD
Nombre d'unités glucose	6	7	8
Diamètre extérieur (Å)	14.6	15.4	17.5
Diamètre de la cavité (Å)	4.7-5.3	6.0-6.05	7.5-8.3
Hauteur (Å) du tore	7.9	7.9	7.9
Volume de la cavité (Å ³)	174	262	427

Pour plusieurs raisons (prix, disponibilité, approbation, diamètre de cavité...), la β -CD est la plus couramment employée et représente au moins 95% de la production de CDs.

I.1.4 Propriétés physicochimiques

les propriétés physicochimiques sont représentées dans le tableau I.2

Tableau I.2 : Principales Caractéristiques physicochimiques de l' α , β et γ CDs natives [15,16].

CD	α -CD	β -CD	γ -CD
Formule brute	$C_{36}H_{60}O_{30}$	$C_{42}H_{70}O_{35}$	$C_{48}H_{80}O_{40}$
Masse molaire (g/mol)	972	1135	1297
Pka à 25°C	12.33	12.2	12.08
Solubilité dans l'eau à 25°C	14.5	1.85	23.2
Point de fusion (° C)	275	280	275

I.1.4.1 Solubilité dans l'eau

Les groupements hydroxyles des CDs naturelles, conduisent à une bonne solubilité qui est cependant fortement variable selon les composés. Ainsi la β -CD est près de dix fois moins soluble que l' α -CD ou la γ -CD [7]. Cette perte de solubilité peut être expliquée par la formation d'une ceinture continue de liaisons hydrogène entre les groupements hydroxyles **O2** et **O3** d'unités de glucose adjacentes qui rend la molécule de β -CD plus rigide que les molécules de α ou γ -CD [17], comme le montre la **Figure I.3**

En effet, dans l' α et la 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 CDs sont moins rigides mais plus solubles dans l'eau [3].

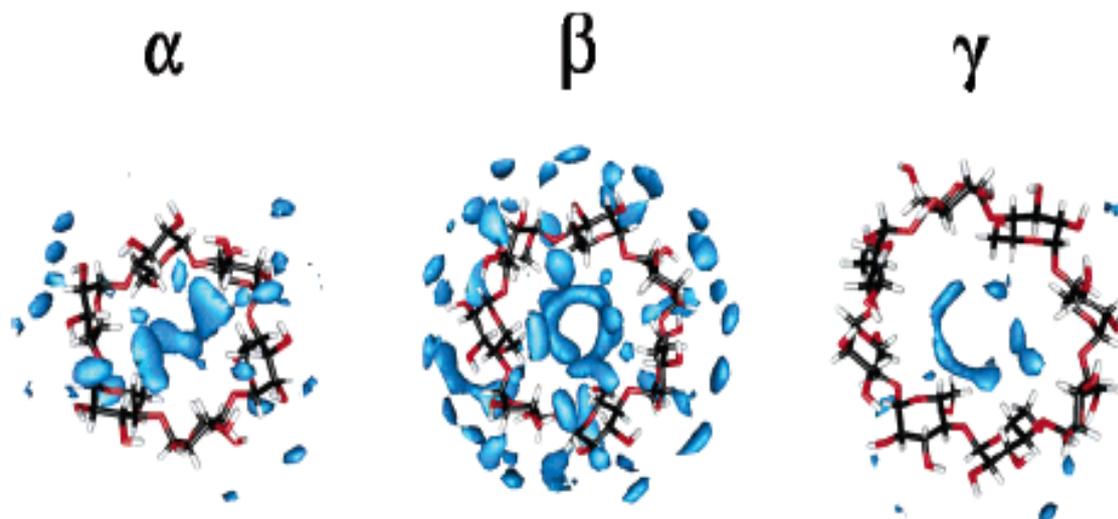


Figure I.3 : Densités de probabilité de présence des molécules d'eau au voisinage des CDs [17].

I.1.4.2 Solubilité dans les solvants

Les CDs sont solubles dans les solvants polaires aprotiques tels que la pyridine, le diméthylsulfoxyde(DMSO), le diméthylformamide(DMF) [18]. En revanche l' α - et la β -CD sont insolubles dans le méthanol, l'éthanol, l'isopropanol, l'acétone, le chloroforme et le tétrahydrofurane [9].

I.1.4.3 Stabilité en solution

Les valeurs des constantes d'acidité (PK_a) pour les α , β et γ CD sont relativement proches les unes des autres comme on peut l'observer dans le **tableau I.2.**c'est la raison pour laquelle les différentes CD ont un comportement similaire vis-à-vis du pH. En fait, la stabilité des CD en solution est relativement peu influencée par les conditions de pH et de température [6]. L'hydrolyse des CDs peut avoir lieu dans certaines conditions de pH très acide (< 1) et à 80 °C. En milieu très basique ($pH > PK_a$), il y a possibilité de former des ions alcoolates plus solubles que les CDs neutres [19].

I.1.4.4 Biodégradabilité et faible toxicité

Les CD naturelles α - et β -CD, contrairement à la γ -CD, ne peuvent pas être hydrolysées par les amylases salivaires et pancréatiques humaines. En revanche, chacune des α - et β -CD peut être fermentée par la microflore intestinale. D'autre part, elles sont à la fois hydrophiles et possèdent un grand nombre de donneurs et accepteurs de protons et donc elles ne sont pas absorbées par le système gastrointestinal à leur forme intacte. En conséquence, les CDs

hydrophiles sont considérées non toxiques à des doses orales faibles voire modérées. Par contre, les dérivés lipophiles des CDs comme les dérivés méthylés, sont absorbés par le tractus gastro-intestinal vers la circulation sanguine et ont présenté des effets toxiques après une administration parentérale [20].

I.1.5 Les cyclodextrines modifiées

Dans le but d'améliorer ou de changer certaines propriétés de CDs, et par conséquence, d'étendre leurs champs d'application, la synthèse de nombreux dérivés de CDs a été entreprise [20]. L'exploitation de ces derniers est poursuivie en raison de leur faible toxicité et de leur aptitude à former des complexes d'inclusion dans l'eau et dans les émulsions [21].

Ces modifications chimiques portent sur :

- La substitution d'un ou de plusieurs groupements hydroxyles par des halogènes, ou des groupements amines.
- L'oxydation des alcools primaires pour former des aldéhydes ou des acides carboxyliques.
- La substitution nucléophile interne avec formation d'époxyde, ... [19]

Actuellement, Plus de 1500 dérivés différents ont été synthétisé et décrit dans la littérature et plus de 100 sont disponibles sous forme de produits chimiques [22].

I.1.6 Complexes d'inclusion

La propriété la plus remarquable des CDs découlant de la structure macrocyclique et de la distribution spécifique des différents groupements fonctionnels le long des surfaces interne (hydrophobe) et externe (hydrophile) est qu'elles peuvent se combiner avec des molécules très diverses, pour donner de complexes d'inclusion de type hôte invité [11]. ». L'invité est maintenu à l'intérieur de la cavité par des forces non covalentes de type interactions hydrophobes, électrostatiques, de van der Waals, liaisons hydrogène.

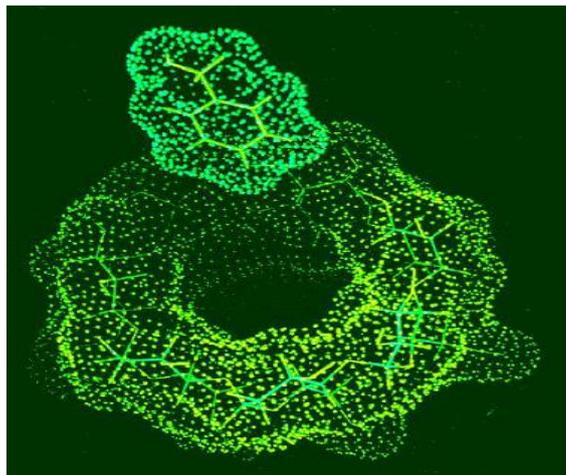


Figure I.4 : Schéma de l'inclusion d'une molécule dans la cavité hydrophobe de cyclodextrine [23].

D'un point de vue géométrique, l'inclusion va dépendre de la taille relative de la cavité de la CD par rapport à la taille de la molécule invitée : si l'invité est de taille trop importante, il ne pourra pas pénétrer à l'intérieur de la cavité de la CD, par contre, si sa taille est trop petite, il aura peu d'interactions avec la CD. L'effet stérique joue donc un rôle important dans le phénomène de complexation.

Notons l'importance de l'eau dans le processus d'inclusion. La principale force gouvernant la formation de ces complexes est la stabilisation énergétique du système par le remplacement, dans la cavité, des molécules d'eau à haute enthalpie par des molécules hydrophobes qui créent des associations de type « apolaires-apolaires ». Autrement dit, l'exclusion des molécules d'eau suite à l'inclusion du composé « invité » dans la cavité de la CD peut être considérée comme une des étapes clés de la complexation [19].

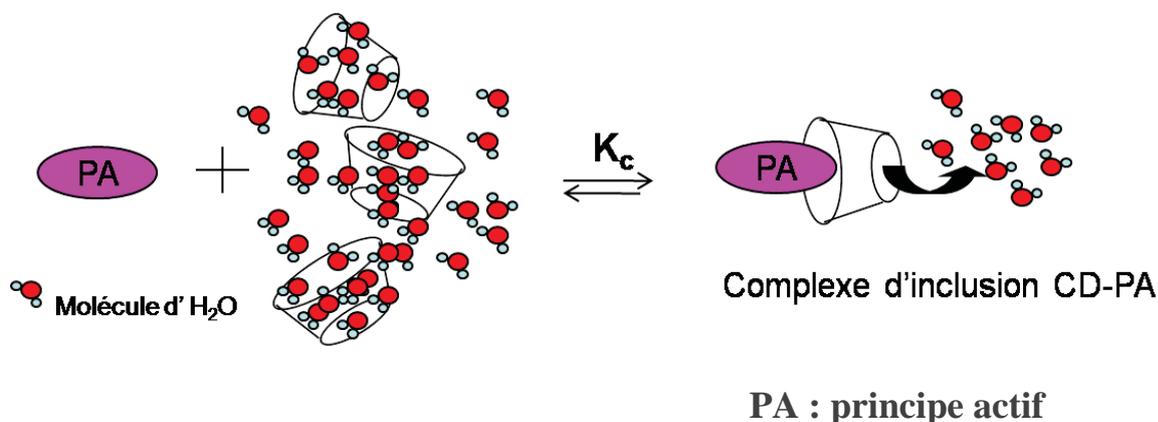


Figure I.5 : Le modèle conventionnel de la formation du complexe d'inclusion [20]

Le plus fréquemment, la stœchiométrie du complexe (CD/Invité) dans le cas le plus simple est de 1:1, mais dans d'autres cas cette règle n'est pas respectée car on trouve aussi des Stœchiométries plus élevées telle que 2:1 ou même 3:1 ou inversement 1:2 et 2:2 qui sont des associations plus compliquées et plus rares.

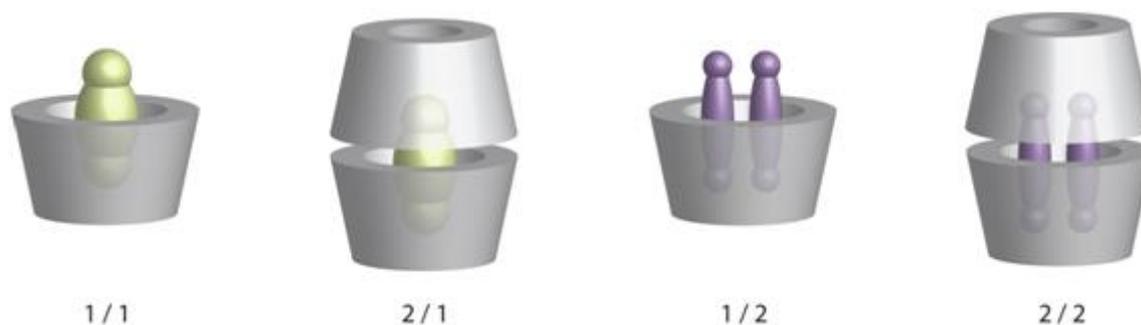


Figure I.6 : Représentation de différents types de complexes « hôte/invité».

I.1.6.1 Conséquences de la complexation

L'inclusion d'invités dans la cavité des CD, influence nombres de propriétés de ceux-ci, ouvrant la voie à de nombreuses études tant théoriques qu'industrielles. Les propriétés physico-chimiques des invités se trouvent modifiées du fait de la formation de complexe d'inclusion [24]. Parmi ces modifications, on peut citer [13] :

- 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 en UV, 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 accrue.
- La diminution de sa diffusion, de sa volatilité et de sa sublimation.

I.1.6.2 Préparation des complexes

La préparation des complexes d'inclusion peut se faire en phase solide ou en phase liquide.

Evaporation du solvant

En phase liquide, la méthode courante consiste soit à mélanger deux solutions aqueuses contenant dans l'une la CD et dans l'autre la molécule invitée, soit à ajouter l'un des constituants à l'état solide dans la solution aqueuse de l'autre. La molécule invitée s'ajoute le plus souvent dans la solution de CD. Le complexe est obtenu par agitation intense suivi d'un refroidissement lent pendant quelques heures. Pour isoler le complexe, l'eau est généralement éliminée par séchage à froid [6].

Extrusion

La CD, l'invité et l'eau sont mélangés au fur et à mesure dans l'extruder. Le degré de mélange, la température de chauffe et le temps peuvent être contrôlés dans la cuve de l'extruder. Selon la quantité d'eau initiale, le complexe extrudé peut sécher en refroidissant ou dans un four. Du fait de la température générée, certaines molécules invitées labiles à la chaleur sont décomposées par cette méthode [25].

Mélange sec

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 son inconvénient est l'obtention d'un mélange incomplet conduisant à une complexation insuffisante [3].

Méthode de pétrissage (en anglais, 'Kneading')

En phase solide, la molécule invitée est mélangée à la CD en utilisant un mortier et un pilon, une petite quantité de solvant est ajoutée au mélange et malaxée pendant quelques minutes pour obtenir une pâte [26].

I.1.6.3 Méthodes de caractérisation des complexes d'inclusion

Il existe diverses méthodes expérimentales permettant d'une part de confirmer la formation effective des complexes d'inclusion et d'autre part de déterminer leur stoechiométrie et leur stabilité [6]. Ces différentes techniques reposent sur les modifications des propriétés physicochimiques ou optiques de la molécule complexée liées à la modification de sa solubilité ou de son microenvironnement [19]. Le passage d'une molécule de la phase aqueuse vers la cavité de la cyclodextrine modifie la polarité de son microenvironnement. Ceci provoque une augmentation ou une atténuation de son intensité d'absorption ou d'émission. Cela peut permettre de suivre l'avancement de la complexation et de déterminer la constante de stabilité du complexe. Ces techniques sont aussi utilisées pour doser la cyclodextrine dans l'eau [19].

Les techniques couramment utilisées sont : la spectroscopie UV-visible, spectroscopie (IR), diffraction de rayon X, [3], l'analyse thermique différentielle (DSC) [20], résonance magnétique nucléaire (RMN) [23], La chromatographie liquide haute performance (HPLC), et la méthode de solubilisation [19].

I.1.6.3.1 Chromatographie Liquide à Haute Performance

La chromatographie liquide à haute performance est une méthode d'analyse très sensible permettant de doser une quantité infime de molécules chimiques en solution et de déterminer la constante de stabilité (K_c) des complexes. Le temps de rétention des acides et des bases faibles diminue significativement par addition d' α et de β -CD dans la phase mobile (tampon phosphate), la phase stationnaire étant plus une phase échangeuse d'ions. La mesure des temps de rétention, eux-mêmes directement proportionnels aux rapports de distribution des concentrations entre la phase stationnaire et la phase mobile, permet d'accéder à la valeur de K_c [25].

I.1.6.3.2 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 la bande. Ce déplacement peut être attribué au changement de l'environnement [3].

I.1.6.3.3 Spectroscopie Infrarouge (IR)

La spectroscopie infrarouge mesure l'excitation vibrationnelle des atomes autour des liaisons qui les unissent suite à l'exposition à des radiations électromagnétiques [25]. 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 [9].

Les spectres des complexes présentent généralement un léger déplacement des pics. Ces modifications discrètes indiquent qu'il n'y a pas de liaisons chimiques fortes (type liaison covalente) entre les composés, mais seulement une interaction. Chaque bande du spectre caractérise un groupe fonctionnel de la molécule, et leur déplacement permet de désigner quelle partie de la molécule invitée interagit avec la CD [25].

I.1.6.3.4 La Résonance Magnétique Nucléaire (RMN)

La résonance magnétique nucléaire permet de déterminer les structures tridimensionnelles des molécules organiques en solution. Les spectres de RMN sont indispensables pour affirmer l'inclusion d'une molécule dans une CD.

Pour cela, il est possible de réaliser le spectre du proton (RMN ^1H) qui renseigne sur la direction de pénétration de la molécule invitée dans la cavité de la β -CD par identification de la position de ses protons. Cette méthode permet de visualiser les déplacements des bandes de résonance des protons internes de la CD (H3, H5) en cas d'inclusion d'une molécule, alors que les protons externes restent peu affectés (H1, H2, H4, H6) [3, 9].

la molécule invitée présente quant à elle, des modifications de déplacement chimiques au niveau de la plupart de ses protons [3].

I.1.6.3.5 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 [3].

I.1.6.3.6 L'Analyse Calorimétrique Différentielle (DSC)

L'analyse calorimétrique différentielle est une méthode thermo-analytique qui permet d'étudier les transformations physiques ou chimiques que subissent de nombreux matériaux pendant leur chauffage ou leur refroidissement.

La formation des complexes d'inclusion peut être vérifiée par cette technique, par l'étude de l'effet thermodynamique résultant de la présence de la molécule invitée.

Néanmoins, cette technique est limitée aux composés ayant une température de fusion et d'ébullition en dessous de celle de dégradation de la CD. Il a été observé que la formation des complexes cyclodextrine-molécules invitées provoque la diminution du pic endothermique de fusion de la molécule invitée (cas d'un mélange physique), et sa disparition dans le cas d'une complexation complète [9].

I.1.6.3.7 Diagrammes de solubilité

Les diagrammes de solubilité ou isothermes de solubilité sont réalisés en plaçant un excès de substance en présence de solutions aqueuses de cyclodextrines de concentrations croissantes, à une température donnée. Après un temps d'agitation nécessaire pour atteindre l'équilibre de la complexation (de plusieurs heures à plusieurs jours), la quantité de substance solubilisée est déterminée par une méthode de dosage appropriée. 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. Higuchi et Connor, ont classé les différents types de diagrammes caractérisant les interactions substrat-ligand, auxquelles peuvent être assimilées les interactions cyclodextrine-molécule invitée [5].

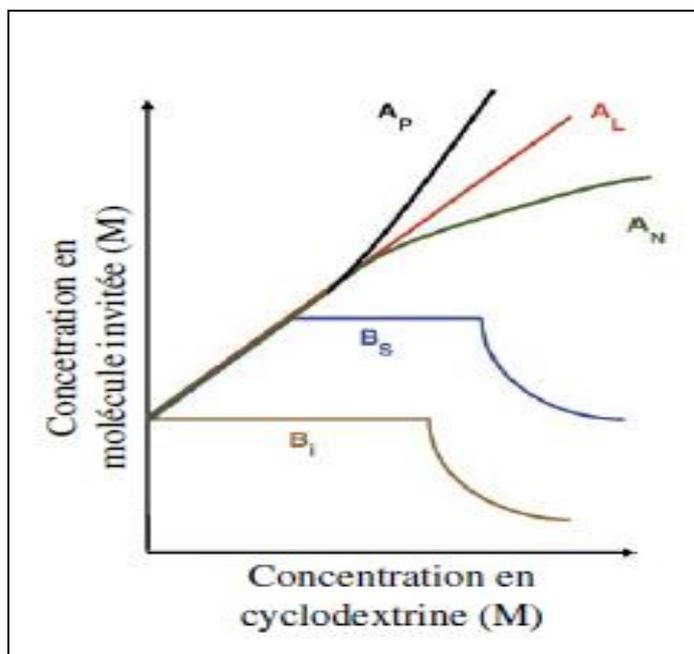


Figure I.7 : Types de diagrammes de solubilité selon la classification d'Higuchi et Connors [5].

Le type A est obtenu quand la solubilité apparente de la substance augmente avec des concentrations croissantes en cyclodextrine. Les profils A_L (linéaires) sont généralement attribués à la formation de complexes 1:1. Un diagramme de type A_P traduit la formation simultanée de complexes de stœchiométries différentes (1:1 à l'origine, puis 1:2 ou 1:3, ...).

Un profil A_N peut être difficile 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 cyclodextrines entre elles.

Le type B indique la formation d'un complexe à solubilité limitée dans le milieu [27] :

- le profil B_s suit au départ le profil A_L puis à partir d'un point particulier, tout ajout de cyclodextrine entraîne une précipitation du complexe avec l'apparition d'un plateau (au fur et à mesure que le complexe précipite, le principe actif non encore dissous se solubilise sous forme libre) ; la courbe décroît ensuite (tout l'excès de principe actif est dissous et cette fraction libre dissoute est progressivement complexée et précipitée) ;
- la courbe B_i peut être interprétée de la même manière mais dans ce cas, le complexe est tellement insoluble que l'augmentation initiale de solubilité ne peut être détectée [3].

Les complexes formés peuvent être décrits par les équations ci-dessous :



Où P est le composé dissout non complexé, CD la cyclodextrine non complexée ou libre.

P/CD et $P/(CD)_2$ sont les complexes d'inclusion 1:1 et 1:2.

La constante d'équilibre de complexation peut être exprimée par les relations suivantes, selon sa stœchiométrie :

$$K_1 = \frac{[P/CD]}{[P][CD]}$$

$$K_2 = \frac{[P/(CD)_2]}{[P][CD]^2}$$

Où [P], [CD] et [P/CD] sont les concentrations des espèces à l'équilibre [19].

I.1.7 Application des cyclodextrines

Dans les années 1940, cinquante ans après la découverte des CD seule une cinquantaine de publications était recensée. Aujourd'hui, un bond considérable dans l'utilisation et l'étude des CDs est observé puisque plus de treize mille travaux sur les CD ont été publiés. Cet essor est dû d'une part, à la faible toxicité des CD, et d'autre part, aux progrès spectaculaires réalisés dans la production et la purification qui ont permis de baisser considérablement les prix [18]. L'utilisation de la CD a trouvé un vaste champ d'application dans différents domaines, les plus concernés sont :

I.1.7.1 Le domaine pharmaceutique

Les médicaments sont souvent des molécules hydrophobes, ce qui peut poser des problèmes d'assimilation par voie orale lors de la digestion. L'inclusion des principes actifs dans une CD permet non seulement d'augmenter leur solubilité, mais aussi d'améliorer considérablement leur stabilité contre la dégradation par hydrolyse, oxydation ou chauffage. Cela permet très souvent de réduire les doses utilisées, ainsi que d'augmenter la biodisponibilité et l'effet pharmacologique du composé actif. Spécialement pour les médicaments anticancéreux, cela peut permettre de diminuer les effets indésirables du traitement. Bien qu'elles ne puissent pas pénétrer dans les membranes cellulaires elles-mêmes, elles servent comme transporteurs pour des drogues lipophiles à la surface des cellules et améliorent assurément leurs passages à travers la membrane. La formation de complexes CD-drogue réduit la volatilité des substances pharmaceutiques, comme cela peut masquer un goût amer ou une mauvaise odeur [28,11].

I.1.7.1 Le domaine alimentaire

L'incorporation de CDs offre différents avantages [9] :

- Protection des molécules actives contre l'oxydation, contre la lumière, contre la décomposition par la chaleur, l'humidité ...
- Elimination ou réduction de goût indésirable, d'odeurs, de contaminations microbiennes, etc.

I.1.7.2 Le domaine environnementale

Les CDs peuvent jouer un rôle important dans la science environnementale en termes de solubilisation des contaminants organiques, de l'enrichissement et du déplacement des polluants organiques et des métaux lourds du sol, de l'eau et de l'atmosphère. Les CDs sont également utilisées dans le traitement de l'eau afin d'éliminer les agents contaminants. Les eaux usagées contenant des composés aromatiques inacceptables tels que le phénol, le p chlorophénol et le benzène, peuvent être débarrassés de ses produits par le traitement avec la β -CD. Un rôle important des CDs dans la protection de l'environnement est son utilisation dans la formulation d'insecticide [23].

I.2 Encapsulation

L'encapsulation est vectrice d'innovations de par ses avantages de protection et de libération contrôlée dans l'espace et dans le temps. La force de l'encapsulation peut se résumer en un mot : le choix. Chaque nature physico-chimique d'actif peut être encapsulée avec succès grâce à plusieurs techniques disponibles avec la possibilité de sélectionner différents matériaux enrobant comme par exemple les cires, les protéines, les phospholipides ou encore les polymères. Différentes structures internes de particules sont réalisables avec des tailles qui peuvent être variables. La structure externe peut également être modifiée. Enfin, il est possible de choisir la forme physique finale des particules obtenues : solution diluée ou concentrée ou encore forme sèche sont autant de possibilités à prendre en compte [27].

I.2.1 Définition

L'encapsulation permet l'emprisonnement de principes actifs sous formes solide, liquide ou gazeuse au sein d'un matériau support [27] elle regroupe l'ensemble des technologies qui permettent la préparation de particules individualisées, constituées d'un matériau enrobant/support contenant une matière active [29] La matrice enrobant représente une barrière permettant la protection du principe actif ainsi que le contrôle de sa libération [27].

I.2.2 Historique

Historiquement, une des premières applications de la de l'encapsulation a été le papier autocopiant. La commercialisation de ce produit a débuté en 1968 : 110 000 tonnes de

microcapsules ont été utilisées pour cette application aux Etats-Unis .Ces papiers chimiques sont encore employés pour toutes sortes de formulaires commerciaux à pages multiples. Depuis le milieu des années 80, la communication olfactive s'est développée. Sont apparus des encarts parfumés dans les magazines pour faire connaître un parfum, un savon, un adoucissant pour le linge, ou un produit détergent. La plupart de ces publicités sont réalisées avec des encres contenant des microcapsules enfermant le parfum et permettant sa libération sous contrainte [30].

La figure I.2 représente l'évolution du nombre d'articles scientifiques et de brevets publiés dans le domaine de la microencapsulation.

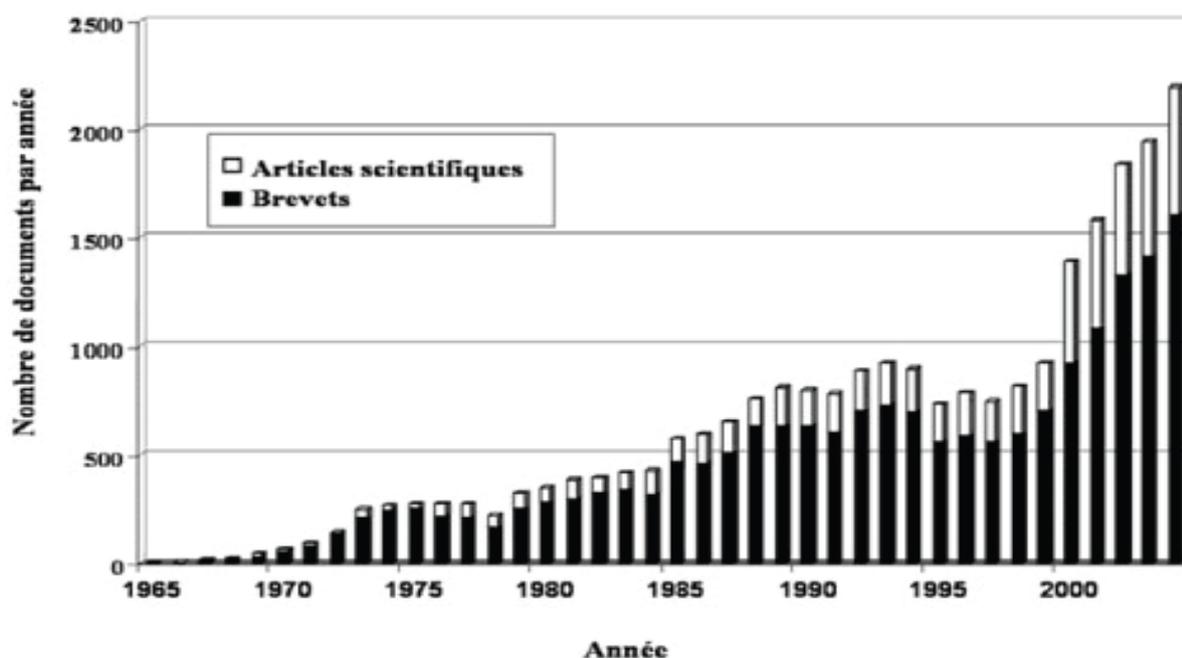


Figure I.8 : Evolution du nombre d'articles scientifiques et de brevets publiés par année dans le domaine de la microencapsulation [27].

I.2.3 Les procédés d'encapsulation

Les techniques d'encapsulation sont très nombreuses, elles peuvent être classées en suivant plusieurs critères : en fonction de la taille des particules obtenues, de l'emploi ou non de solvant, de la nature du polymère enrobant ou encore de la nature du milieu dispersant [31].

Le classement généralement adopté est basé sur le type de procédé [32] :

I.2.3.1 Procédés mécaniques

Lors des procédés mécaniques, le matériau carapace est déposé ‘mécaniquement’, sur le matériau cœur. Ils regroupent l’utilisation de techniques de pulvérisation, de formation de gouttes et d’extrusion.

1.2.3.2 Procédés physico-chimiques

Les méthodes physico-chimiques se basent sur la maîtrise de la variation de solubilité et des conditions de précipitation du matériau enrobant. Ce phénomène intervient lors de la variation des conditions expérimentales.

I.2.3.3 Procédés chimiques

Ils se basent sur la formation *in situ* du matériau enrobant, par des réactions de polycondensation, ou de polymérisation radicalaire par exemple, contrairement aux autres procédés qui utilisent des matériaux préformés.

I.2.4 Objectifs de l’encapsulation

L’encapsulation permet de transformer un liquide en solide, de masquer une odeur ou un goût désagréable, de protéger des substances sensibles des effets délétères de l’environnement extérieur [29].

I.2.5 Application dans le domaine pharmaceutique

Dans le domaine pharmaceutique, l’encapsulation peut avoir pour objectif [27] :

❖ Immobiliser ou isoler le principe actif

Cet objectif résulte souvent du désir de vouloir limiter le contact entre certaines parties d’un système. L’immobilisation est souvent utilisée pour des cellules microbiennes. En effet, leur confinement dans une membrane semi-perméable permet d’obtenir une activité optimum de par une isolation physique du milieu extérieur tout en maintenant un environnement interne hospitalier adapté pour leur croissance et leur métabolisme.

❖ Protéger

De nombreux composés actifs sont fragiles et doivent être protégés du milieu extérieur.

L’encapsulation permet leur protection vis-à-vis des contraintes appliquées.

Les vitamines E et C sont très souvent encapsulées car elles sont sensibles à la dégradation par contact avec la lumière, la chaleur ou encore l'oxygène.

❖ Vectoriser

La vectorisation par l'encapsulation permet de cibler l'action du principe actif. Par exemple, l'amélioration de la pénétration cutanée au travers du derme ou de l'épiderme peut être atteinte grâce à l'encapsulation.

❖ Contrôler la libération

Dans la majorité des cas, le but de l'encapsulation est d'établir un profil de libération spécifique. Par exemple le médicament Lupron Depot, traitant le cancer de la prostate, permet d'obtenir une libération contrôlée à un taux journalier de 2,8% pendant un mois après une administration sous-cutanée ou intramusculaire.

❖ Structurer

L'encapsulation d'un composé liquide dans des microparticules solides permet d'obtenir une modification de l'état physique de l'actif qui passe de la forme liquide à la forme solide. Cela permet par exemple une homogénéisation simplifiée du mélange de l'actif initialement liquide au sein d'une poudre.

I.3 Thé vert

I.3.1 Histoire

Le thé possède une longue histoire. Il y a environ 5 000 ans, les Chinois mâchaient ou mangeaient les feuilles de thé. Afin de pouvoir être conservées, ces feuilles furent séchées. Les consommateurs découvrirent par hasard que la feuille de thé avait bien meilleur goût quand elle était trempée dans l'eau chaude. De plus, cette infusion donnait un délicieux breuvage. Un livre du thé existait déjà en 780 avant Jésus-Christ. Au début de notre ère, les médecins reconnaissaient au thé vert la vertu d'améliorer la concentration. On retrouve cette information dans la littérature médicale de l'époque. Au Japon, le thé a été découvert au IX^e siècle. Ce breuvage a tellement imprégné la civilisation japonaise que des cérémonies spéciales précédaient la consommation du thé. Aux XVI^e et XVII^e siècles, le thé fit son entrée en Europe. La première tasse de thé fut servie dans un café (lieu où l'on servait du café) londonien. À l'époque, seuls les riches pouvaient s'offrir ce breuvage très onéreux. Plus tard, le thé fut massivement importé par des navires anglais et hollandais. Des plantations furent

créées dans d'autres pays tropicaux, en Asie et en Afrique. À partir de 1980, les scientifiques occidentaux étudièrent l'influence du thé sur la santé et en constatèrent l'effet bénéfique.

Aujourd'hui le thé est la deuxième boisson la plus populaire à l'échelle mondiale après l'eau [33]. Il existe majoritairement trois types de thé : le thé noir (78 % de la production mondiale), le thé vert (20 %) et le thé oolong (2 %). Le thé vert est le plus consommé en Chine, au Japon, en Inde et dans certains pays d'Afrique du Nord et du Moyen-Orient ; tandis que le thé noir prédomine en Occident [34].

I.3.2 Nom botanique

Théa camellia sinensis de l'ordre des guttifères, famille des Ternstroemiaceées [35].

I.3.3 Caractéristiques botaniques

Les différents types de thé dérivent tous des feuilles du théier. Ce dernier est originaire du sud-est asiatique et est cultivé aujourd'hui dans plus d'une trentaine de pays dans le monde [33].

C'est un arbre à feuilles persistantes, pouvant atteindre de 10 m à 15 m, jusqu'à 20 m pour certaines variétés. Sa hauteur est limitée par la taille en culture. Il existe des théiers sauvages plusieurs fois centenaires faisant plus de 30 m. Le théier le plus vieux du monde (1800 ans) se situe à Pu'er dans la province du Yunnan en Chine [36].



Figure I.9 : Plante de *Camellia sinensis* [37].

I.3.4 Obtention du thé

Les jeunes feuilles du thé vert sont traitées à la vapeur d'eau pour inactiver les enzymes polyphénols oxydases qui dégradent l'epigallocatechine. Dans le thé noir, les feuilles sont fermentées pour oxyder les polyphénols et favoriser la formation des arômes [38].

Pour obtenir du thé noir, il faut laisser sécher les feuilles jusqu'à ce que leur teneur en eau initiale ait diminué d'environ 55 %. Puis les feuilles sont roulées et écrasées, ce qui a pour conséquence de mettre en contact les catéchines et les polyphénols oxydases. Durant cette étape de fermentation, les catéchines sont converties en théflavines et thérubigines.

Le thé oolong est lui préparé en faisant rapidement chauffer les feuilles après les avoir roulées et écrasées (environ 30 minutes après), ce qui stoppe l'oxydation et sèche les feuilles. Le thé oolong est donc un thé à moitié fermenté en comparaison avec le thé noir [34].



Thé vert

thé noir

thé oolong

Figure I.10 : Représentation des principales familles de thé [37].

I.3.5 Composition du thé vert

Depuis plus de 3.000 ans les feuilles de thé sont couramment employées par la phytothérapie chinoise pour leurs propriétés. Aujourd'hui, de nombreuses recherches montrent que le thé est une source d'antioxydants qui renforcent les défenses naturelles et ralentissent le vieillissement en protégeant l'organisme des effets nocifs des radicaux libres.

La feuille de thé ne contient pas moins de 350 constituants [36]. Les polyphénols représentent 44 % de l'extrait sec (en poids), de la feuille de thé et sont constitués par des flavonoïdes et des acides phénoliques. Les flavanols communément appelés catéchines sont les polyphénols

quantitativement prédominants dans le thé vert (environ 27 %) [34], desquels 1' (-) épigallocatechine gallate (EGCg) est la plus abondante et la plus étudiée (figure IV.2) [39].

Par ailleurs, le thé est riche en glucides qui représentent 40% de sa composition, matières minérales (9%), la théine (5%), les vitamines B et C,...ect [36].

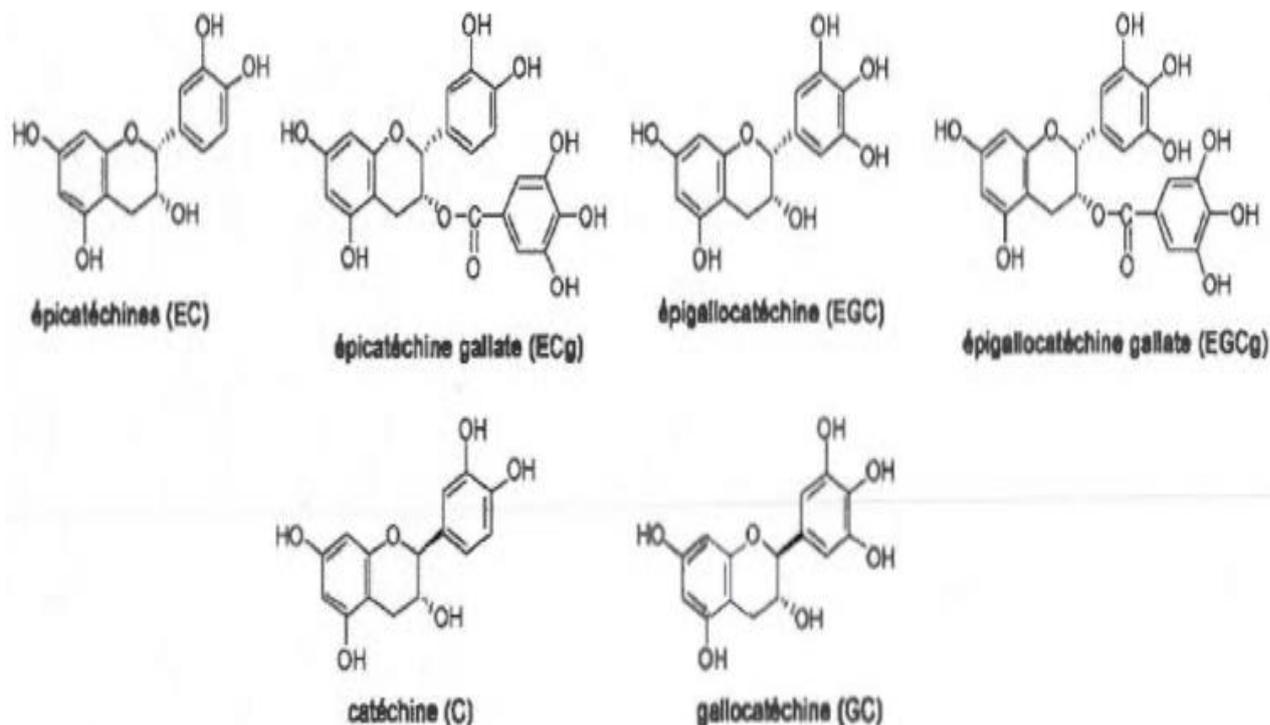


Figure I.11 : Structure moléculaire des différentes catéchines du thé vert [39].

I.3.6 Propriétés réductrices des catéchines

En biologie, les réactions d'oxydation peuvent aussi endommager divers composants des cellules. Dommages oxydatifs sont associés au vieillissement et à certaines maladies chroniques telles que les maladies cardiovasculaires ou les cancers. Différentes études ont montré que la présence d'antioxydants comme les catéchines peut limiter certains de ces dommages et retarder l'apparition de certaines de ces maladies [36].

Des milliers d'articles ont été publiés concernant les propriétés antioxydants des polyphénols. Les catéchines sont des réducteurs chimiques. Les propriétés réductrices et la capacité à piéger les radicaux libres des polyphénols sont à l'origine de l'utilisation de certains d'entre

eux comme antioxydants alimentaires pour prévenir en particulier l'oxydation des matières grasses.

I.4 Amlodipine

I.4.1 Définition

L'amlodipine est un bloqueur de canaux calciques de type dihydropyridine de la troisième génération, disponible sur le marché depuis 1992[40].

Ce dernier inhibe l'afflux transmembranaire d'ions calcium Dans les muscles lisses vasculaires et les muscles cardiaques, qui à leur tour affecte leur processus contractile Et entraîne une réduction de la tension artérielle. Il est utilisé dans le traitement de l'hypertension et l'Angine de poitrine [41].

I.4.2 Propriétés de l'amlodipine

Le besylate d'amlodipine, comme tous les membres des inhibiteurs des canaux calciques 1,4-dihydropyridine, est photosensible et susceptible de se dégrader à la fois en solution et à l'état solide. La lumière Catalyse son oxydation en dérivés de pyridine, tels que l'amlox (2-a (2-aminoéthoxy) Hyl-4- (2-chlorophényl) -3-éthoxycarbonyl-5-méthoxycarbonyl-6 méthylpyridine) qui Manque d'effets thérapeutiques.

Les études de dégradation forcée montrent que l'amlodipine se dégrade Lentement sous l'effet thermique (plus en solution qu'à l'état solide), se dégradant plus rapidement Sous photo-stress et encore plus sous le stress acide, alcalin et oxydatif [42].

I.4.3 Mode d'action

L'effet thérapeutique de ce groupe de médicaments est relié à leur action spécifique sur la cellule qui consiste à inhiber de façon sélective le passage transmembranaire des ions calcium dans le muscle lisse vasculaire et dans le muscle cardiaque. Or, la contractilité de ces tissus dépend de l'entrée des ions calcium extracellulaires dans ces cellules musculaires, par la voie de canaux ioniques spécifiques. L'amlodipine inhibe de façon sélective le passage des ions calcium à travers la membrane cellulaire, plus particulièrement celle du muscle lisse vasculaire plutôt que celle du muscle cardiaque. L'amlodipine n'altère pas la concentration plasmatique du calcium.

À pH physiologique, l'amlodipine est un composé ionisé; son interaction cinétique avec les récepteurs des canaux calciques se caractérise par sa fixation graduelle aux récepteurs suivie de sa dissociation de ces derniers. L'amlodipine se fixe à la fois aux récepteurs spécifiques des dihydropyridines et aux autres récepteurs.

➤ **Hypertension**

L'amlodipine abaisse la tension artérielle en entraînant une vasodilatation artérielle périphérique et en réduisant la résistance vasculaire.

➤ **Angine de poitrine**

L'amlodipine est un vasodilatateur des artères et des artéioles périphériques. Elle abaisse donc la résistance vasculaire totale, réduisant ainsi le travail du cœur (postcharge). Cette réduction de la postcharge atténue l'ischémie et soulage l'angine d'effort en diminuant les besoins en oxygène du myocarde ainsi que sa consommation d'oxygène [43].

I.4.4 Pharmacocinétique

❖ **Absorption**

Après l'administration orale de doses thérapeutiques d'amlodipine, la concentration plasmatique maximale est atteinte en 6 à 12 heures. La biodisponibilité absolue du médicament se situerait entre 64 et 90 %. Elle n'est pas altérée par les aliments [44].

❖ **Distribution**

Le volume de distribution est de 6 à 20 l/kg [2], Des études ex vivo ont révélé qu'environ 93 % du médicament circulant se lie aux protéines plasmatiques chez l'hypertendu.

❖ **Biotransformation**

L'amlodipine est en grande partie transformée en métabolites inactifs (90 % environ) dans le foie ; 10 % de la molécule-mère et 60 % des métabolites sont excrétés dans l'urine.

❖ **Excrétion**

L'élimination plasmatique se déroule en 2 phases; la demi-vie d'élimination terminale se situe entre 30 et 50 heures. La concentration plasmatique de l'amlodipine atteint l'état d'équilibre après 7 à 8 jours de traitement quotidien [44]

Chapitre I I

mise en oeuvre expérimentale



II.1 Introduction

Dans le présent chapitre sont présentés le matériel, les différentes matières premières utilisés dans ce travail, les modes de préparation des complexes β -Cyclodextrine-Amlodipine, ainsi que les méthodes de caractérisation appliquées.

II.2 Préparation des complexes

II.2.1 Matériels et matières premières

- La β -CD a été fournie par Alfa Aesa.

Elle se présente sous forme d'une poudre blanche très fine d'une masse molaire de 1135(g/mol), sa pureté est de 99%. Elle présente une solubilité 18g/l dans l'eau à 25°C [3].

- Le Principe actif « Amlodipine besylate » Sa structure chimique est représentée sur la figureII.1

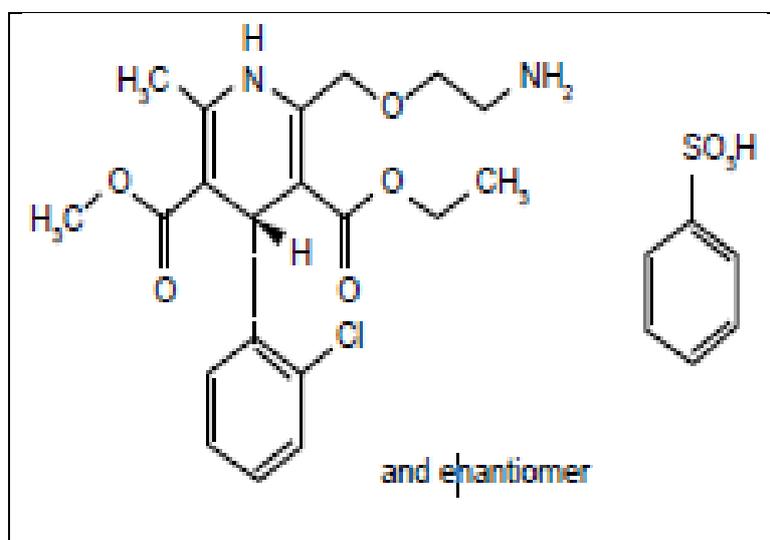


Figure II-1. Structure chimique de l'amlodipine bésylate [40]

▪ Nomenclature

L'amlodipine bésylate est connu par le nom chimique suivant :

Benzène sulfonate de (4RS)-2-[(2-aminoéthoxy) méthyl]-4-(2-chlorophényl)-6-méthyl-1,4-dihydropyridine-3,5-dicarboxylate de 3-éthyle et 5 méthyle [40].

- **Propriétés physicochimiques:** les principales propriétés physicochimiques de l'amlodipine bésylate sont données dans le tableau II-1.

Tableau II-1. Propriétés physicochimique de l'amlodipine bésylate [43].

Propriété	Amlodipine bésylate
Solubilité	légèrement soluble dans l'eau et peu soluble dans l'éthanol
masse moléculaire (g/mole)	567,1
pKa à 23,5 °C.	9,02
Point de fusion (et de décomposition) (°C)	203
Pureté	99.5
Aspect	poudre blanche cristalline

➤ Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans le présent travail est le thé vert aux feuilles minutieusement roulées qu'on trouve sur le marché local, porte le nom **BARARI**.

Les autres réactifs utilisés dans ce projet sont présentés dans le tableau II-2.

Tableau II-2: Caractéristiques des réactifs utilisés dans cette étude

Réactif	Masse molaire (g/mol)	Pureté	Formule chimique	Origine
Hydroxyde de sodium	40	99	NaOH	MERK
Méthanol	32.04	99	CH ₄ O	BIOCHEM chemopharma
Acide citrique	210	99.5	C ₆ H ₈ O ₇ .H ₂ O	JANSSEN chimica
Hydrogéné phosphate de (Na)	141.96	99.5	Na ₂ HPO ₄	BIOCHEM chemopharma

II.2.2 Appareillages

- Balance Analytique : toutes les pesés ont été réalisés moyennant une balance de marque « OHAUS », de 0,1 mg de précision.
- Agitateur “oscillant VIBROMATIC”, à 4 postes assurant une agitation mécanique à vitesse réglable.
- Un pH mètre : Les mesure du pH ont été effectuées avec un pH mètre de marque « HANNA », modèle pH 211.
- Une centrifugeuse de marque « Hettich ZENTRIFUGEN », modèle EBA 20.
- Un spectrophotomètre UV- Visible de marque « Thermo SCIENTIFIC », modèle EVOLUTION 220.
- Un spectrophotomètre infrarouge à transformée de Fourier (IR-TF) de marque SHIMADZU, modèle Affinity-1.
- Logiciel « Origin9 » pour tracer les spectres.

II.3 Méthodes

L'étude de la formation des complexes d'inclusion peut être scindée en deux étapes principales et complémentaires, dont la première a pour objet la mise en œuvre de la formation du complexe d'inclusion et le deuxième se focalise sur la caractérisation physicochimique.

Le choix des techniques sur les quelles s'appuie la première étape met à profit nécessairement les caractéristiques de chacune des deux molécules formant le complexe.

La seconde étape de l'étude consiste à déterminer la stœchiométrie du complexe et sa constante d'équilibre qui reflète la force d'interaction entre les deux espèces moléculaires complexées.

Deux méthodes de préparation des complexes CD-Amlodipine ont été adoptées: la méthode de solubilisation et la méthode de pétrissage « kneading ».

II.3.1 Méthode de solubilisation

II.3.1.1 Complexe formé dans l'eau ultra-pure (pH=6.3)

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

Les études de solubilisation du principe actif sont réalisées selon la méthode de Higuchi-Connors. Nous avons préparé une solution mère de CD en faisant dissoudre une masse de 3.6g de β -CD dans 200ml d'eau pure. Ensuite nous avons préparé des solutions de 50 ml à concentrations croissantes en CD (3- 6- 9- 12- 15 g/l) en prélevant des volumes croissants de la solution mère et ajustant avec de l'eau pure jusqu'à 50ml.

Deux prises d'essai ont été préparées par addition d'une masse de 150 mg l'amlodipine, à un volume de 25ml de la solution de CD (les solutions à différentes concentrations ont été employées). La quantité d'amlodipine ajoutée, excède largement sa limite de solubilité (voir tableau II.1).

Un essai à blanc est préparé en introduisant la même quantité d'amlodipine (sans CD) dans 25ml d'eau ultra-pure.

II.3.1.2 Complexe formé en milieu acide ou basique

Dans le but d'explorer l'influence de la spéciation (forme moléculaire ou ionique) de la molécule d'amlodipine, sur sa constante de complexation, nous avons étudié la réaction de complexation à deux valeurs de pH ($\text{pH} < \text{pK}_a$ et $\text{pH} > \text{pK}_a$).

Les valeurs de pH choisies sont : $\text{pH}=5$ et $\text{pH}=9,70$; ces valeurs sont (pK_a de l'amlodipine est de 8.6). Ces valeurs de pH choisies nous permettent d'être certains que l'amlodipine est sous forme ionisée à pH 5, tandis qu'à pH 9,70 elle est neutre.

Les mêmes étapes concernant la solubilisation du principe actif, suit le même protocole cité précédemment. Le pH est fixé à la valeur choisie par addition d'une solution tampon (tampon citrate/ hydrogénophosphate).

II.3.1.3 Complexe formé Dans la liqueur de thé

a. Préparation de la liqueur de thé vert par infusion

La liqueur de thé est préparée en suivant les étapes suivantes :

- Un volume de 200ml d'eau pure est chauffé dans une fiole de 250ml à 95°C.
- Une masse de thé poudre (200mg) est pesée à (+) ou (-) 0,1 mg à l'aide d'une balance de précision.
- La masse de thé pesée est introduite dans la fiole de 250 contenant l'eau chaude (95°C) suivie d'une agitation manuelle pendant quelques minutes.
- La solution de thé est laissée pendant cinq minutes sans agitation, ensuite filtrée à l'aide d'un filtre à café.

- La liqueur est analysée en utilisant un spectrophotomètre UV-visible, le spectre est enregistré dans l'intervalle [200-800 nm]. La liqueur est conservée à l'abri de la lumière.

b. Préparation des complexes

Nous avons préparé une solution mère de β -CD de la même façon que précédemment, et afin d'obtenir les solutions à concentrations croissantes en β -CD nous avons procédé de la manière suivante :

- Prélèvement du volume indiqué de la solution mère de β -CD.
- Ajout d'un volume donné de la liqueur de thé.
- Ajustement jusqu'à 50ml avec de l'eau ultra-pure.

On a effectué par la suite des prises d'essai de 25ml des solutions à différentes concentrations en CD et on a ajouté 150mg l'amlodipine.

L'essai à blanc (sans CD) est préparé en introduisant la même quantité d'amlodipine dans 25ml de liqueur de thé.

Toutes les solutions sont agitées pendant 48 heures à température ambiante. Les solutions sont ensuite transvasées, puis centrifugées à 1400 tour/minute pendant 60 minutes. Une partie du surnageant est alors prélevée avec une seringue et diluée dans du méthanol (50%).

Le surnageant dilué dans le méthanol est une fois de plus dilué de manière appropriée dans de l'eau ultra-pure puis analysé par spectroscopie UV-visible.

La lecture des absorbances à la longueur d'onde $\lambda_{\max}=365$ nm afin de déterminer la quantité d'amlodipine dissoute par formation du complexe.

➤ **Remarque:**

- L'essai à « blanc » sert à déterminer la limite de solubilité du principe actif dans les conditions expérimentales données.

- Pour chaque expérience, l'essai est refait deux fois, et pour chaque test l'analyse par UV-visible a été refaite quatre fois afin de s'assurer de la répétabilité des résultats qui sont ensuite exprimés par la moyenne des quatre valeurs obtenues.

II.3.2 Méthode de pétrissage « Kneading »

Pour préparer les complexes dans les différents milieux étudiés nous avons mélangé dans un mortier en agate 20mg d'amlodipine, avec une quantité équivalente en nombre de mole de la β -CD, soit en masse 40mg, en ajoutant quelques gouttes de solvant approprié à chaque milieu (eau ultra-pure, solution tampon pH= 5, solution tampon pH=9.70 et liqueur de thé). Nous avons malaxé le mélange jusqu'à obtention d'une pâte qui est par la suite séchée à l'étuve (38°C).

II.4 Caractérisation par UV-visible des complexes β -CD/amlo

La concentration totale en amlodipine dans le surnageant est déterminée par Spectrophotométrie UV-Visible. Le surnageant doit être dilué dans le méthanol (50 %) avant d'être analysé, de façon à décomplexer le principe actif. La dilution par le méthanol permet de doser directement la concentration totale en substrat solubilisé.

II.5 Caractérisation par infrarouge des complexes β -CD/amlo

II.5.1 Caractérisation du complexe β -CD/amlo préparé par la méthode de solubilisation

Après centrifugation des solutions, le précipité est récupéré au moyen d'une filtration ensuite séché à l'étuve (38°C).

les spectres ont été enregistrés avec un spectrophotomètre infrarouge à transformée de Fourier. Le spectre IR-TF de chaque échantillon est enregistré à la température ambiante dans la plage de fréquence 500-4000 cm^{-1} .

II.5.2 Caractérisation du complexe β -CD/amlo préparé par la méthode Kneading

Pour confirmer la formation des complexes d'inclusion et étudier les interactions susceptibles d'être établies entre l'amlodipine et la β -CD, les composés obtenus par Kneading ont été analysés par IR.

Chapitre III

Résultats et discussions



Chapitre III

Résultats et discussions

III.1 Introduction

Dans ce chapitre nous avons rassemblé tous les résultats obtenus au cours de notre étude qui consiste en l'inclusion d'un principe actif qui est l'amlodipine dans la β -Cyclodextrin (β -CD), et d'explorer les effets de quelques paramètres sur la stabilité des complexes formés, en particulier l'influence de l'addition de la liqueur de thé et l'effet du pH.

III.2 Caractérisation par UV visible des matières premières

Dans la figure III.1 est représenté le spectre UV-visible de l'amlodipine enregistré entre 200 nm et 500 nm.

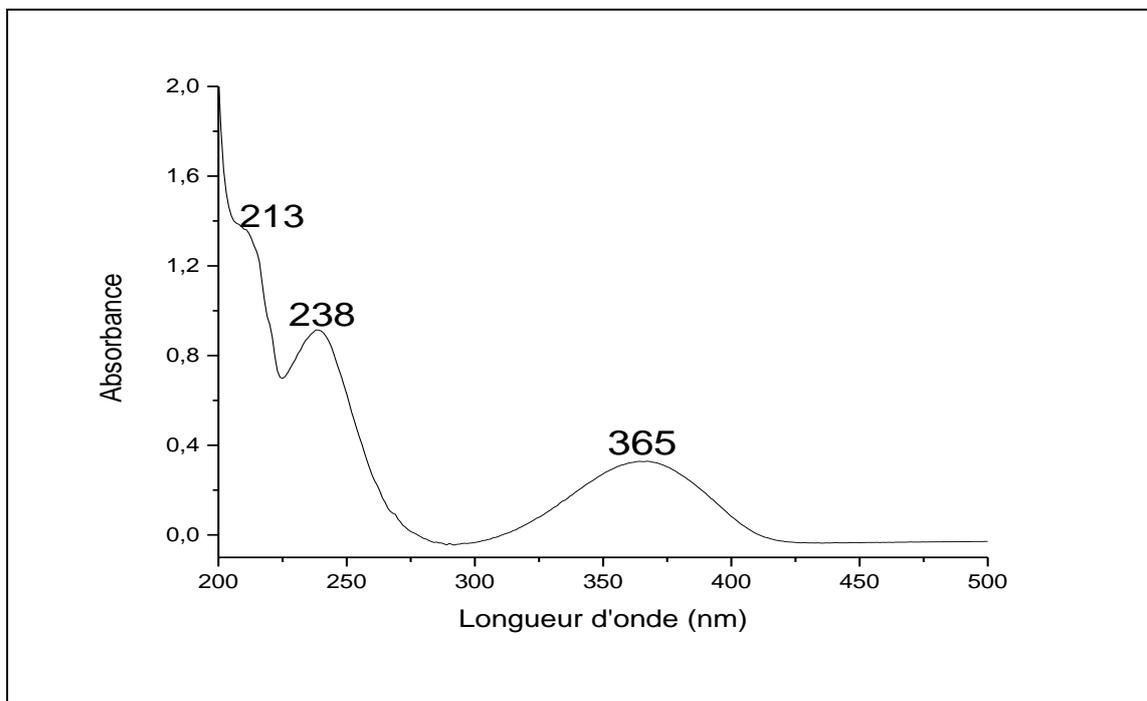


Figure III.1. Spectre UV-visible de l'amlodipine dissoute dans l'eau pure.

Le spectre d'absorption UV de l'amlodipine seule dans l'eau comporte trois bandes essentiellement (Figure III.1), la plus spécifique et la plus intense est située à 365nm caractéristique des dérivés 1,4 dihydropyridine.

Les figures III.2 et III.3 montrent respectivement les spectres UV-visible de la β -CD et de la liqueur de thé.

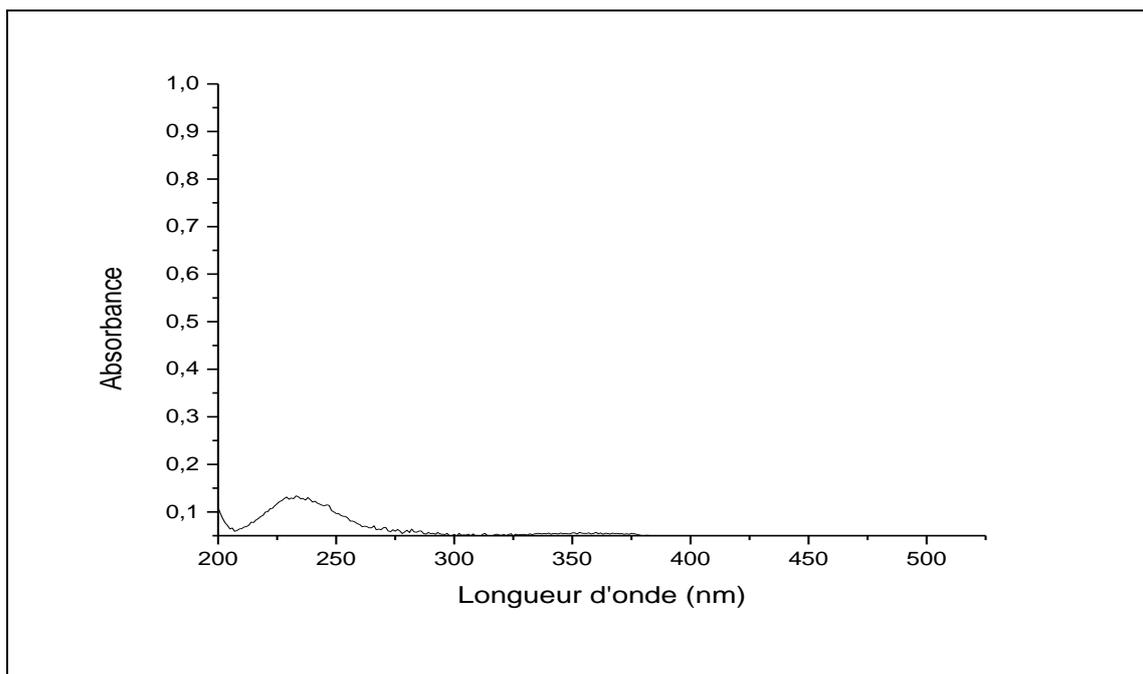


Figure III.2 Spectre d'absorption UV-visible de la β -CD dissoute dans l'eau pure.

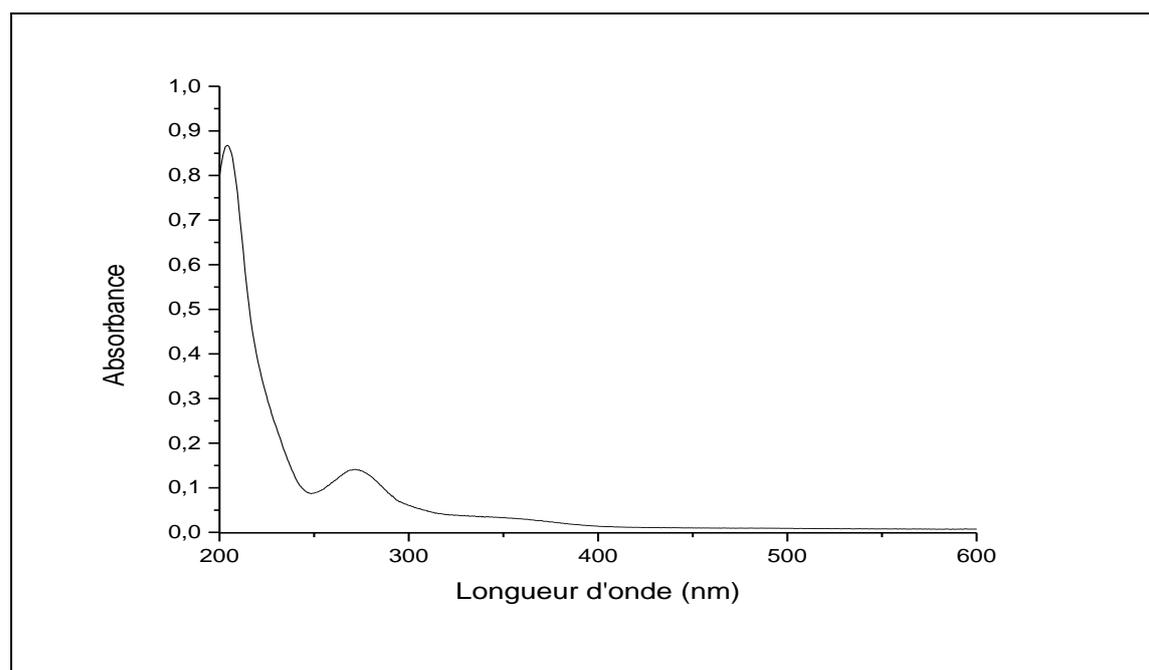


Figure III.3 Spectre d'absorption UV-visible de la liqueur de thé.

Les spectres obtenus (figure III.2) et (figure III.3) montrent que la β -CD et la liqueur de thé n'absorbent pas à 365 nm, nous pourrions alors analyser nos complexes d'inclusion à la longueur d'onde la plus spécifique de l'amlodipine, c'est-à-dire 365 nm, et quantifier ainsi la solubilité de ce dernier sans interférences avec les signaux de la CD et de la liqueur de thé.

III.3 Etude des complexes d'inclusion

III.3.1 Influence de l'addition de la β -CD sur le spectre UV-visible de l'amlodipine

Afin de pouvoir évaluer l'influence de l'addition de la β -CD sur le spectre UV-visible de l'amlodipine, deux méthodes ont été adoptées : la méthode de solubilisation et la méthode de Kneading.

La méthode de solubilisation a été réalisée en faisant varier la concentration de la β -CD (0, 3, 6, 9, 12,15 (g/l)) tout en maintenant constante la concentration de l'amlodipine à (6g/l).

III.3.1.1 Influence de l'addition de la β -CD sur le spectre UV-visible de l'amlodipine à pH=6.3

Dans la figure III.4 sont représentés les spectres UV-visible obtenus en faisant varier la concentration de β -CD à pH=6,3.

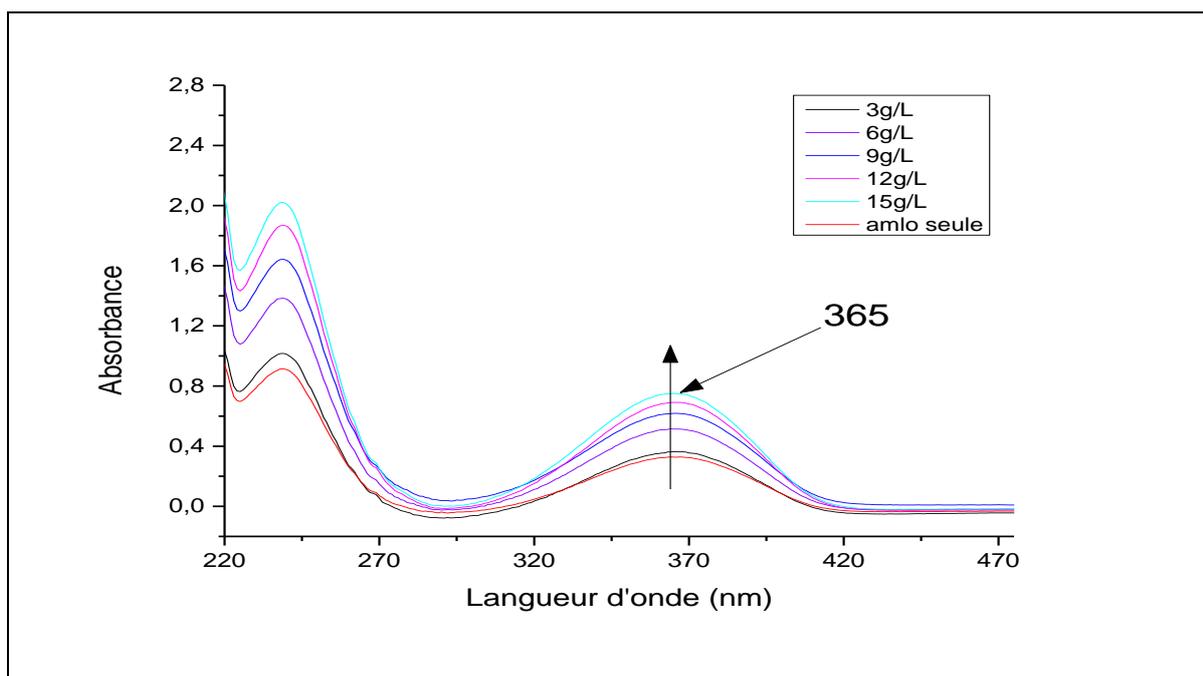


Figure III.4 influence de l'addition de la β -CD sur le spectre UV- de l'amlodipine à pH=6,3.

De l'évolution de l'absorbance en fonction de la concentration en β -CD, à pH= 6.3 (pH de l'eau pure) représentée sur la figure III.4, pour des mélanges aqueux ayant une concentration en amlodipine maintenue constante, on peut observer que l'intensité de la bande positionnée à 365 nm dépend de la concentration en β -CD. Ce comportement révèle que la formation du

complexe β -CD/amlopidine a bien eu lieu, vu que la concentration de l'amlopidine est maintenue constante et que la β -CD n'absorbe pas dans ce domaine spectral.

Ces observations permettent également de déduire que l'intensité spectrale reflète indirectement la proportion des molécules d'amlopidine qui est concernée par l'inclusion.

III.3.1.2 Influence de l'addition de la β -CD sur le spectre UV-visible de l'amlopidine à pH=5 et pH=9.70

Dans la figure III.5 sont représentés les spectres d'absorption UV-Visible de l'amlopidine dans le tampon pH=5 et pH=9,70, respectivement.

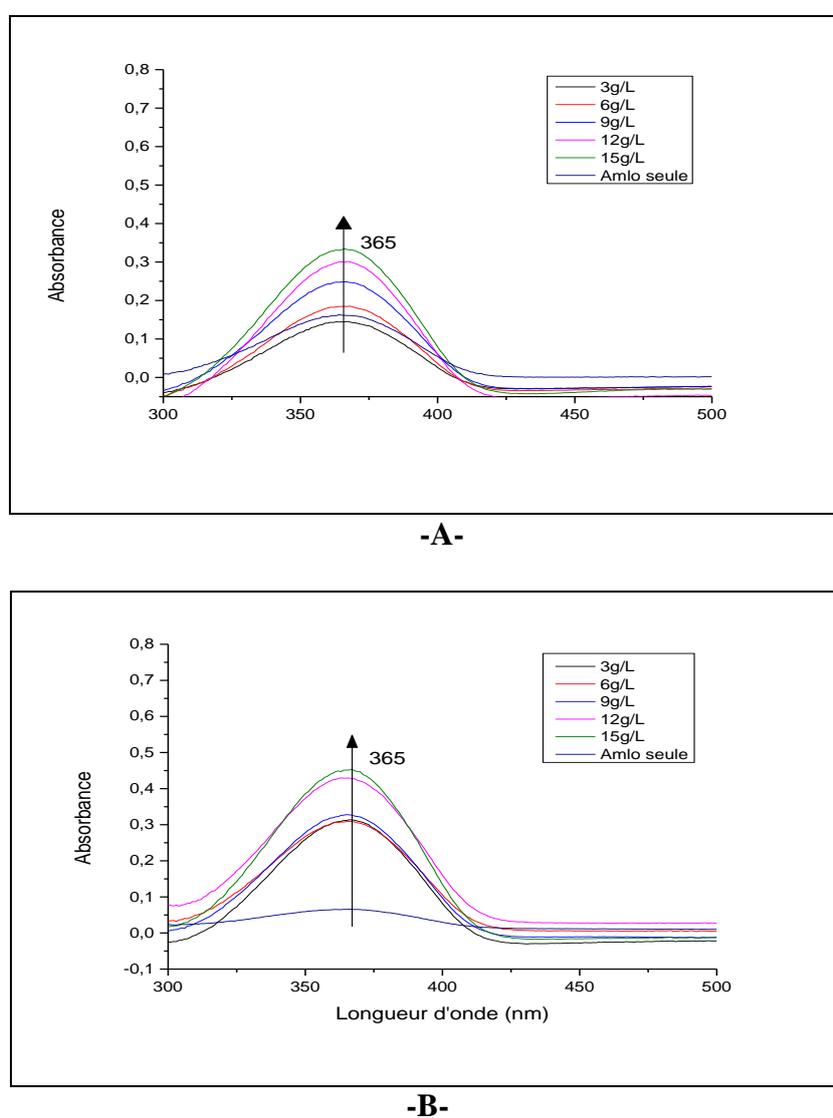


Figure III.5 Spectres d'absorption UV de l'amlopidine dans :

-A- tampon (pH=5), **-B-** tampon pH=9,70.

Cette figure montre l'influence de la concentration de la β -CD sur la solubilité de l'amlodipine dans les deux milieux acide et basique. Nous remarquons un déplacement hyperchrome de la valeur de l'absorbance de l'amlodipine dans les deux cas, cependant cette augmentation est relativement faible dans le cas du pH acide en comparaison à celle obtenue avec un pH alcalin (pH=5 et pH=9,70).

L'effet du pH sur le complexe est mis en évidence sur la figure III.5 qui rassemble les courbes de variation de l'absorbance en fonction de la longueur d'onde à différents pH et à une concentration maximale en CD dans le complexe β -CD/amlo (15g/l) et une concentration constante en amlodipine (6g/l).

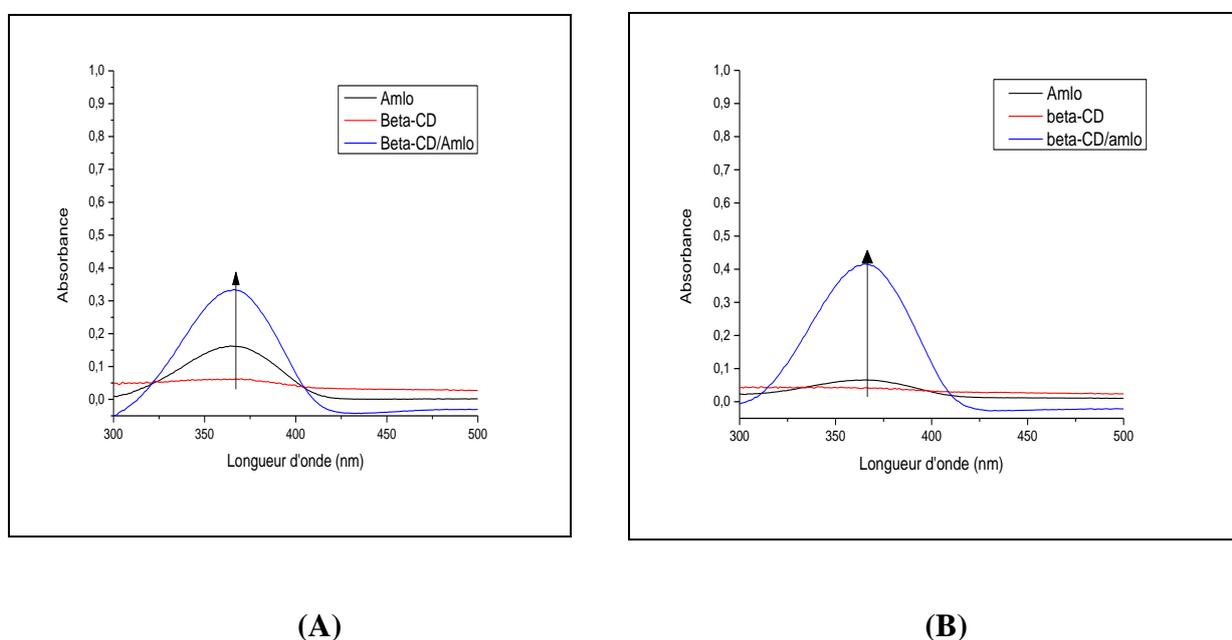
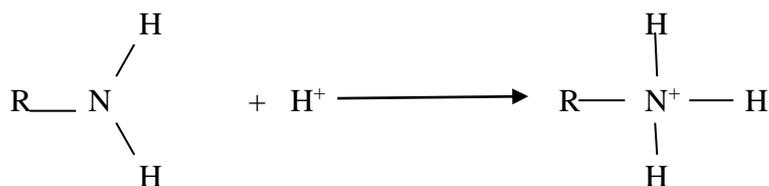


Figure III.6 spectres d'absorption de l'amlodipine, de la β -CD et du complexe β -CD/amlo dans les tampons : (A) pH=5, (B) pH=9,70.

L'évolution des spectres indique que la formation du complexe est affectée par le pH. On remarque que la valeur de l'absorbance à la longueur d'onde 365nm obtenue dans le cas du pH alcalin est beaucoup plus importante que celle obtenue dans le milieu acide. En effet, dans le milieu basique, la complexation est favorisée dans des proportions en rapport avec l'intensité du signal. Il en résulte donc que c'est la forme de l'amlodipine non ionisée qui intervient principalement dans l'inclusion lorsque le pH $>$. Nous pouvons ainsi déduire que l'affinité de la cavité de β -CD pour la forme non ionisée est plus élevée que pour la forme ionisée.

La réaction d'ionisation de l'amlodipine est comme suite :



Ou R: C₂₆H₂₉CINO₈S

III.3.1.3 Diagramme de solubilité

Après analyses des solutions préparées par UV-visible, en utilisant la courbe d'étalonnage nous avons déterminé les concentrations en amlodipine correspondant aux absorbances obtenues, les résultats de l'étude sont consignés dans le tableau III.1

Tableau III.1 : quantification par UV visible des solutions du test d'Higuchi-Connors.

Concentration β-CD (mol/l)	Concentration amlodipine (mol/l)		
	pH=6,3	pH=5	pH=9,70
2,64.10 ⁻³	6,1.10 ⁻⁵	2,55.10 ⁻⁵	3,89.10 ⁻⁵
5,28.10 ⁻³	7,98.10 ⁻⁵	3,16.10 ⁻⁵	4,46.10 ⁻⁵
7,92.10 ⁻³	9,63.10 ⁻⁵	3,55.10 ⁻⁵	5,18.10 ⁻⁵
1.10 ⁻²	1,09.10 ⁻⁴	4,11.10 ⁻⁵	5,9.10 ⁻⁵
1,3.10 ⁻²	1,18.10 ⁻⁴	4,75.10 ⁻⁵	6,64.10 ⁻⁵

Les diagrammes d'Higuchi-Connors, qui donnent la concentration de la molécule invitée (amlo) dans le complexe, en fonction de la concentration de la molécule hôte (β-CD) dans les différents milieux étudiés (pH=6,3, pH=5 et pH =9,70), sont représentés respectivement dans les figures III.7, III.8 et III.9.

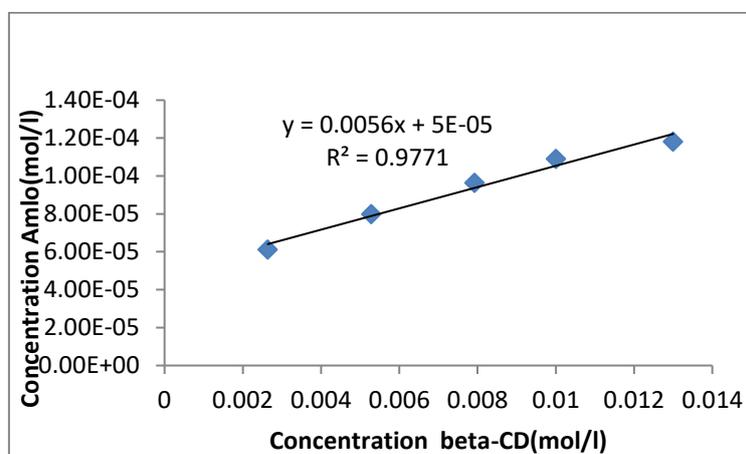


Figure III.7 Diagramme de solubilité de l'amlodipine avec la β-CD à pH=6,3.

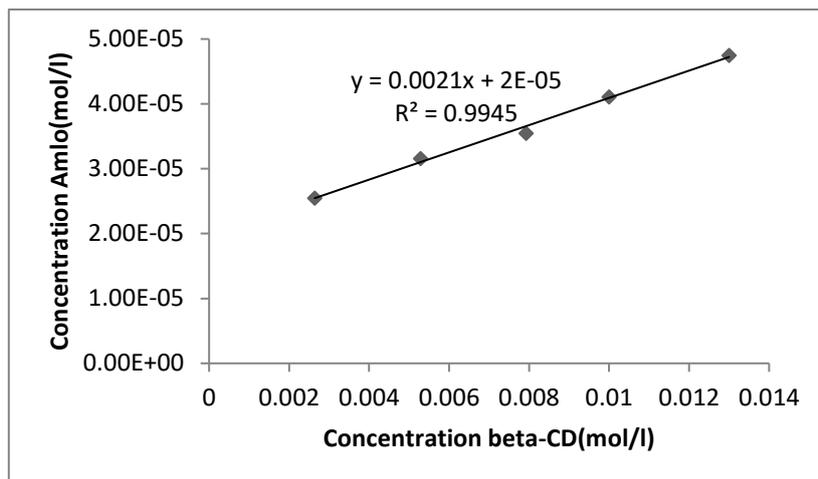


Figure III.8 Diagramme de solubilité de l'amlopidine avec la β-CD à pH=5

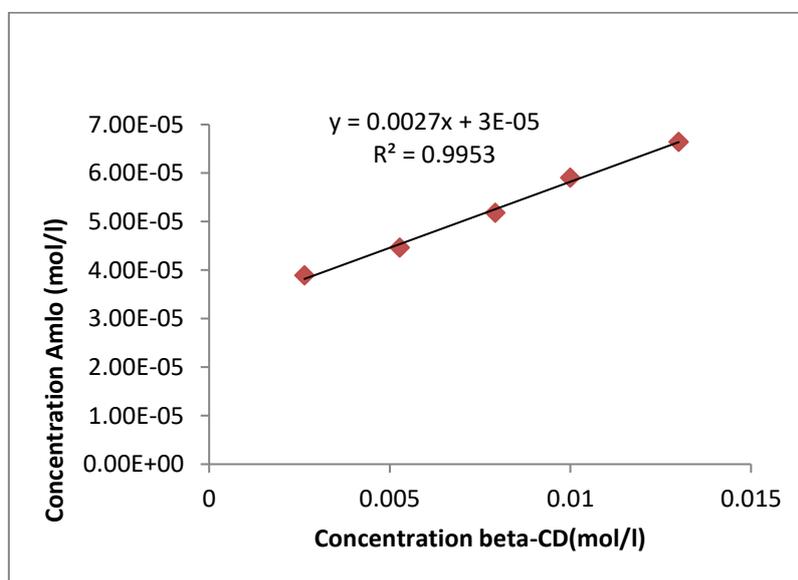


Figure III.9 Diagramme de solubilité de l'amlopidine avec la β-CD à pH=9,70

Les diagrammes de solubilité de l'amlopidine avec la β-CD dans les trois milieux étudiés (pH=6.3, pH=5, pH=9.70) sont des droites ne passant pas par l'origine, cela indique que la concentration en amlopidine augmente proportionnellement avec la croissance de la concentration en β-CD.

Selon Higuchi-Connors, il s'agit d'une isotherme de type A_L , car la solubilité de l'amlopidine augmente de façon linéaire en fonction de la concentration en β-CD. Ces profils sont attribués à la formation des complexes de type 1 : 1

III.4 Effet de l'addition de la liqueur de thé sur la formation des complexes βCD/amlo

L'évolution de l'absorbance de l'amlopidine en fonction de la variation de la concentration en CD dans la liqueur de thé est représentée sur la figure III.10.

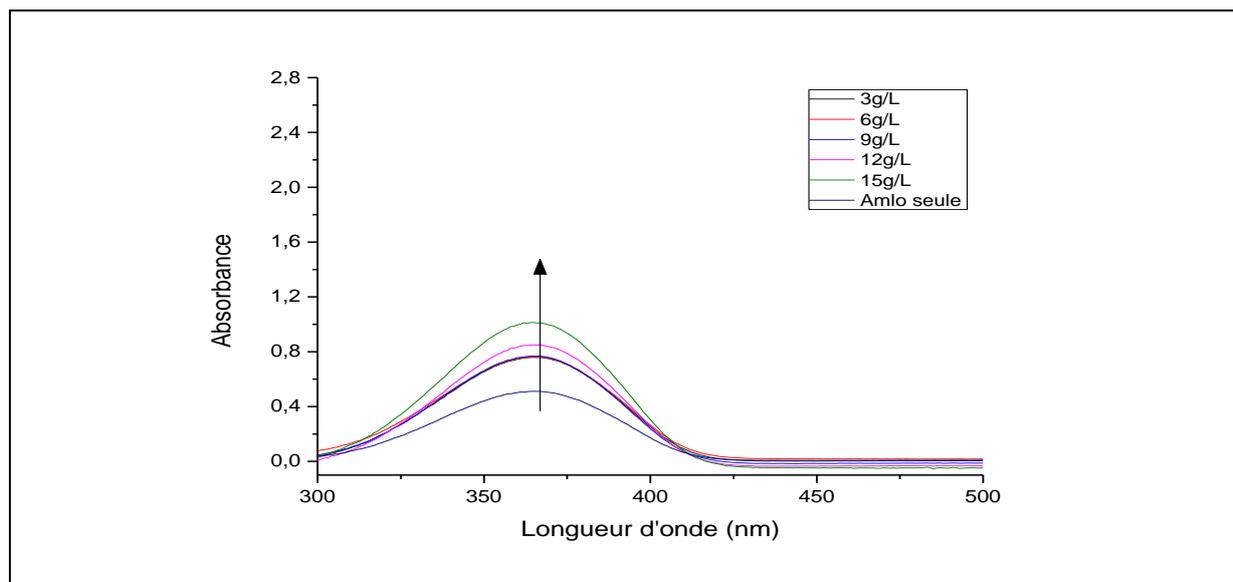


Figure III.10 Evolution de l'absorbance (dans l'UV-Visible) de l'amlodipine en fonction de la variation de la concentration en β -CD dans la liqueur de thé.

D'après ces résultats, on constate que l'ajout de la liqueur de thé au complexe β -CD /amlo engendre une augmentation importante au niveau de l'absorbance à 365nm par rapport au spectre de l'amlodipine dans l'eau pure, ceci indique que la solubilité de la molécule invitée (amlodipine) augmente par formation du complexe d'inclusion plus stable dans le milieu contenant la liqueur de thé.

Dans la figure III.11 sont regroupés les spectres d'absorption dans l'UV-Visible des complexes β CD/amlo dans les différents milieux étudiés : pH =6,3, pH=5, pH 9,70, liqueur de thé à pH = 6,3.

On remarque d'après la figure III.12 un déplacement hyperchrome de l'absorbance de l'amlodipine associée à la β -CD dans les différents milieux étudiés. Un minimum d'absorbance est enregistré à un pH acide ce qui indique que la formation du complexe est faible dans ce milieu. Le maximum d'absorbance est obtenu en rajoutant la liqueur de thé au complexe β -CD/amlo.

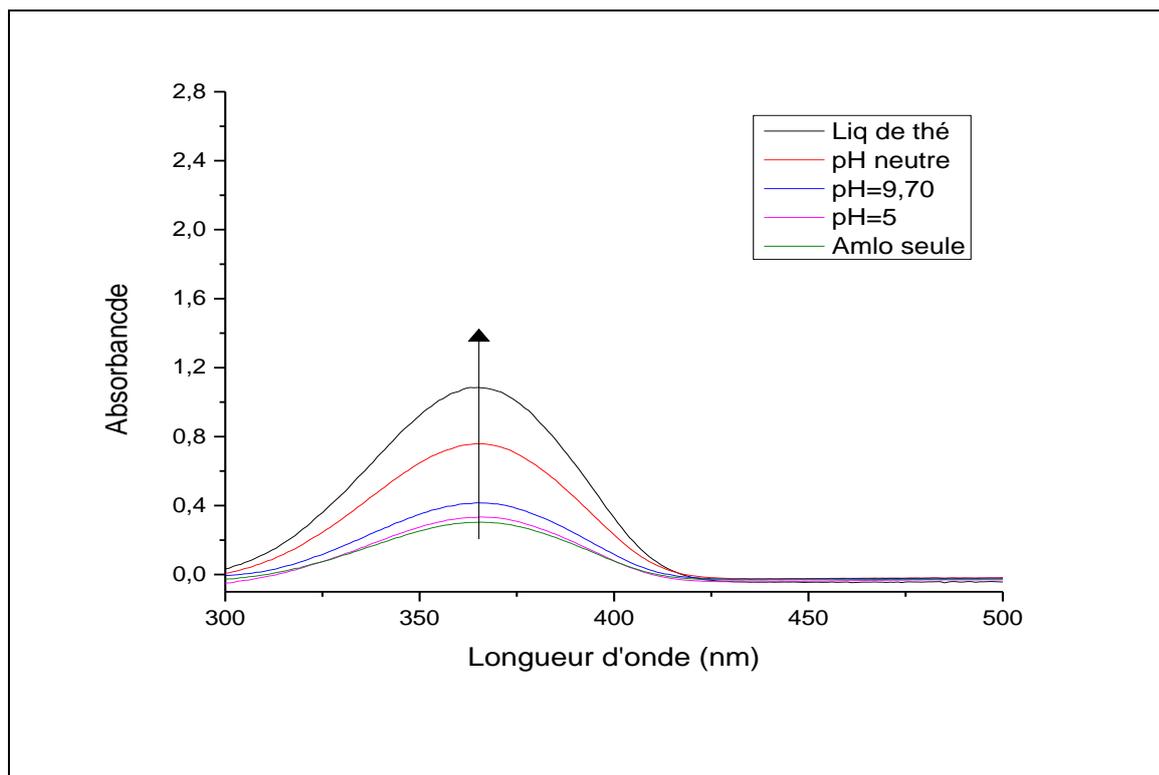


Figure III.11 Représentation des spectres UV-visible de β CD/amlo dans les différents milieux étudiés: pH=6,3, pH=5, pH=9,70, liqueur de thé à pH=6,3.

I.1.1 Diagramme de solubilité dans la liqueur de thé

L'analyse UV-visible des solutions obtenues par addition de la liqueur de thé a données les résultats représentés sur le tableau III.2

Tableau III.2 : Quantification par UV visible des solutions du test d'Higuchi -Connors réalisé en présence de la liqueur de thé.

Conc β CD (mol/l)	$2,64 \cdot 10^{-3}$	$5,28 \cdot 10^{-3}$	$7,92 \cdot 10^{-3}$	$01 \cdot 10^{-2}$	$1,3 \cdot 10^{-2}$
ConcAmlo(mol/l)	$1,17 \cdot 10^{-4}$	$1,21 \cdot 10^{-4}$	$1,27 \cdot 10^{-4}$	$1,35 \cdot 10^{-4}$	$1,81 \cdot 10^{-4}$

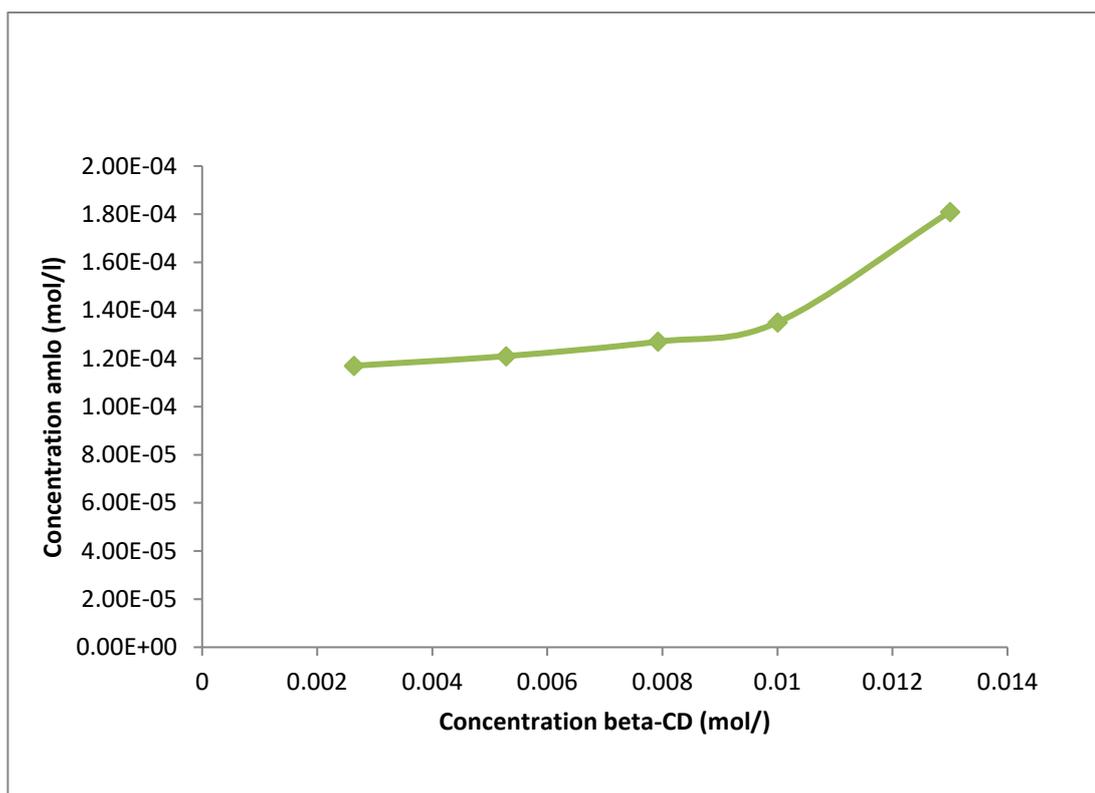


Figure III.11 Diagramme de solubilité de l'amlopidine avec la βCD (Higuchi-Connors) dans la liqueur de thé.

En comparant le diagramme de solubilité de l'amlopidine obtenu dans la liqueur de thé aux diagrammes de solubilité selon la classification de Higuchi-Connors, on remarque qu'il correspond à un profil de type A_p qui indique une déviation positive de l'isotherme, c'est-à-dire que la β CD est plus efficace à de haute concentration, en présence de la liqueur de thé.

Ce profil traduit la formation simultanée de complexe de stœchiométrie différente (1 :1 à l'origine, puis 1 :2 ou 1 :3....).

III.5 Caractérisation des complexes d'inclusion β-CD/Amlo en solution par UV-visible

La figure III.13 représente les spectres UV-visible de l'amlopidine, β-CD, et du complexe β-CD/Amlo dans les quatre milieux étudiés : pH=6,3, pH=5, pH =9,70 et la liqueur de thé à pH=6,3.

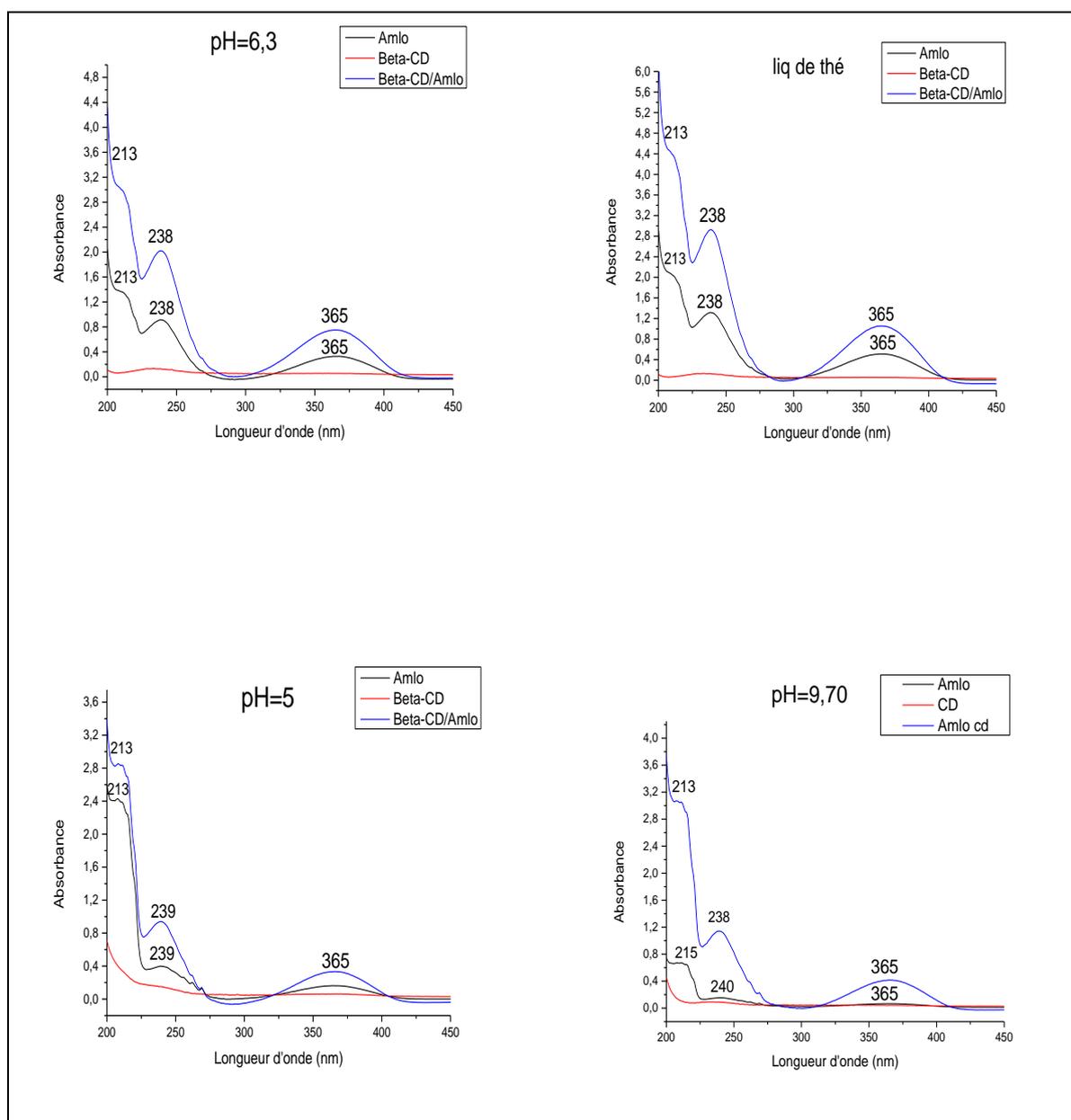


Figure III.13 Spectres UV-visible de l'amlodipine, β -CD, et du complexe β -CD/Amlodipine dans les quatre milieux étudiés : pH=6.3- pH=5-pH=9,70 et la liqueur de thé à pH=6,3.

La formation du complexe est confirmée par l'enregistrement d'une augmentation de l'intensité du maximum d'absorption de l'amlodipine à 365 nm, due à l'abaissement des électronégativités des deux groupements fonctionnels considérés par inclusion dans la cavité hydrophobe de la cyclodextrine.

Le déplacement, hyperchrome sans changement de la valeur de λ_{\max} est considéré comme une preuve de l'interaction entre la cyclodextrine et le principe actif dans la formation du complexe [3].

III.6 Caractérisation par infrarouge

III.6.1 Spectre IR de la β -CD

Le spectre infrarouge de la β -CD native est représenté sur la figure III.14

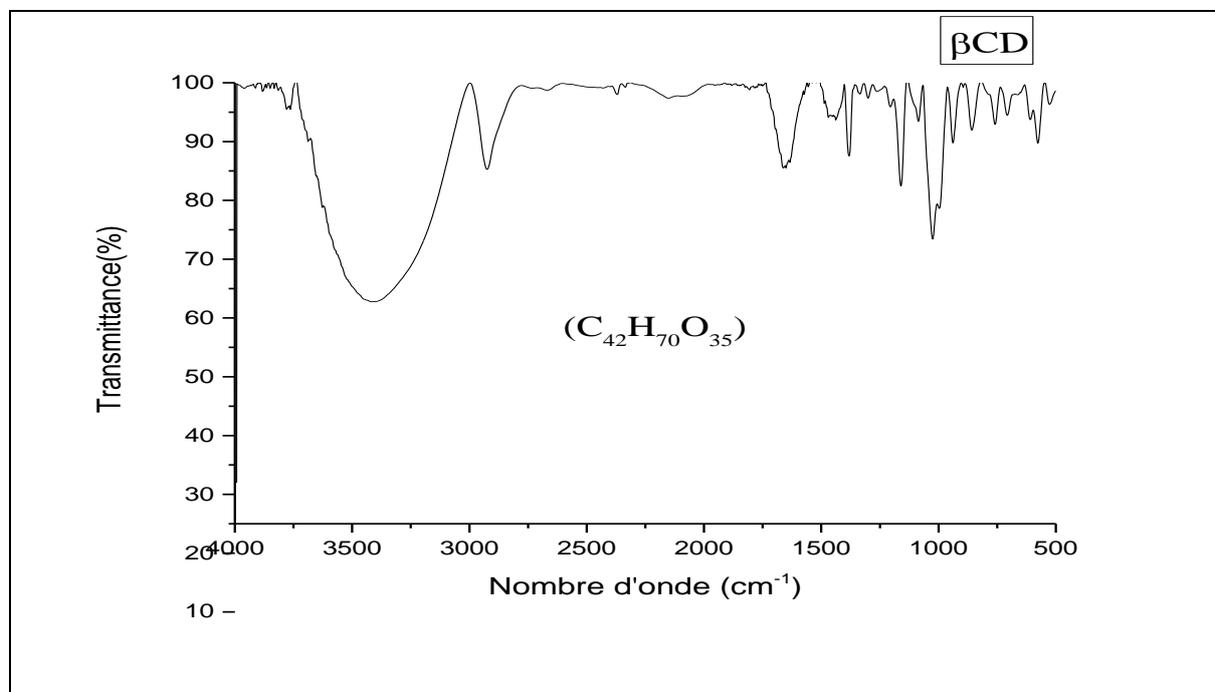


Figure III.14 Spectre infrarouge de la β -CD native dans le KBr.

Les principales bandes caractéristiques de la β -CD ainsi que les types de vibration des liaisons correspondantes sont rassemblés dans sur dans le tableau III.3

Tableau III.3 Attribution des principales bandes observées sur le spectre infrarouge de la β -CD.

Nombre d'onde (cm^{-1})	Attribution
3410	ν_s vibration d'élongation des O-H liés
2926	ν_s CH_2 d'un alcool primaire
1654	δ dans le plan de O-H de l'eau de cristallisation de la CD
1158	ν_s de la liaison C-O (dans C-O-C)
1025	ν_s de la liaison C-O (dans C-O-H)
939-854	δ déformation de C-H secondaire du cycle
762-530	ν_s C-C du squelette du cycle glucoside

III.6.2 Spectre IR de l'amlodipine

La figure III.15 représente le spectre infrarouge de l'amlodipine besylate.

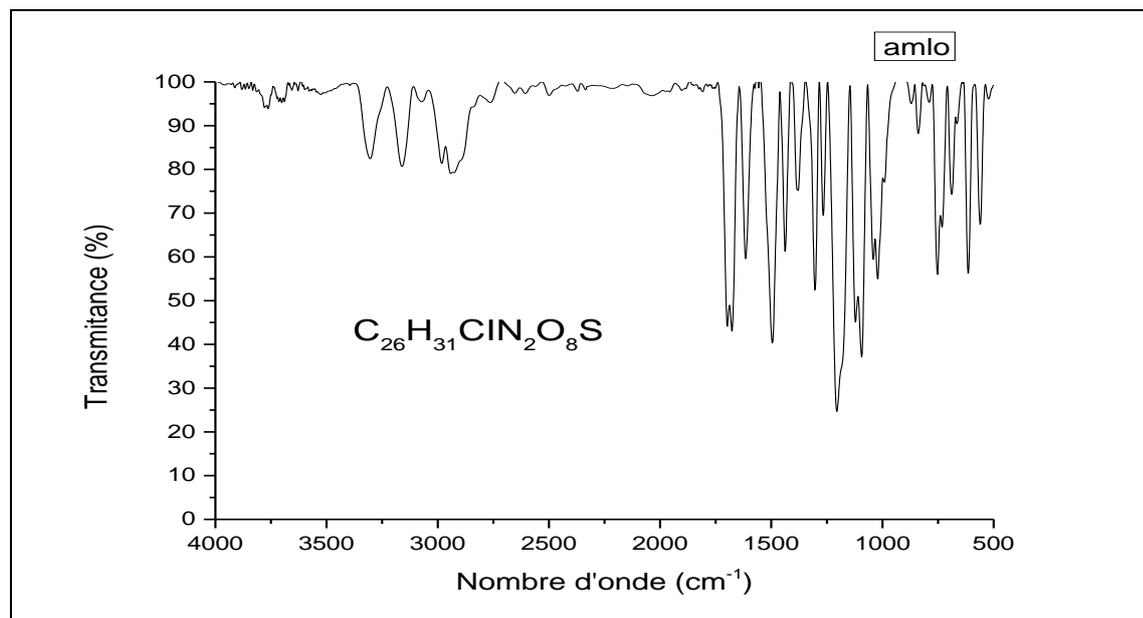


Figure III.15 Spectre infrarouge de l'amlodipine besylate dans le KBr.

Les principales bandes caractéristiques de l'amlodipine ainsi que les types de vibration des liaisons correspondantes sont données sur le tableau III.4

Tableau III.4 Attribution des principales bandes observées sur le spectre infrarouge de l'amlodipine besylate.

Nombre d'onde (cm ⁻¹)	Attribution
3304-3158	ν_{as} et ν_s (N-H) de NH ₂ d'amine primaire.
2939	ν_{as} (C-H) de CH ₃ de l'éthyle proche de l'ester
1699	ν (C=O) ester proche du méthyle en méta du cycle dihydropiridine
1676	ν (C=O) ester proche de l'éthyle en méta du cycle dihydropiridine
1616	δ (N-H) dans le plan du groupement amine primaire NH ₂ (N27H)
1495	δ (NH) déformation dans le plan du groupement NH d'amine secondaire cyclique
1205	ν_{as} (SO ₃) élongation asymétrique du groupement sulfonium δ (C-H) en para du cycle dihydropiridine
1092	ν_s (SO ₃) élongation symétrique du groupement sulfonium
1021	δ (C-C) et δ (CH) du cycle benzénique liée au groupement sulfonium

III.6.3 Caractérisation des complexes β -CD/amlo préparés par la méthode de solubilisation

III.6.3.1 Caractérisation des complexes préparés à pH =6.3

La figure III.16 représente les spectres IR de la β -CD, de l'amlo, et du complexe β -CD/amlo préparé par la méthode de solubilisation à pH=6,3.

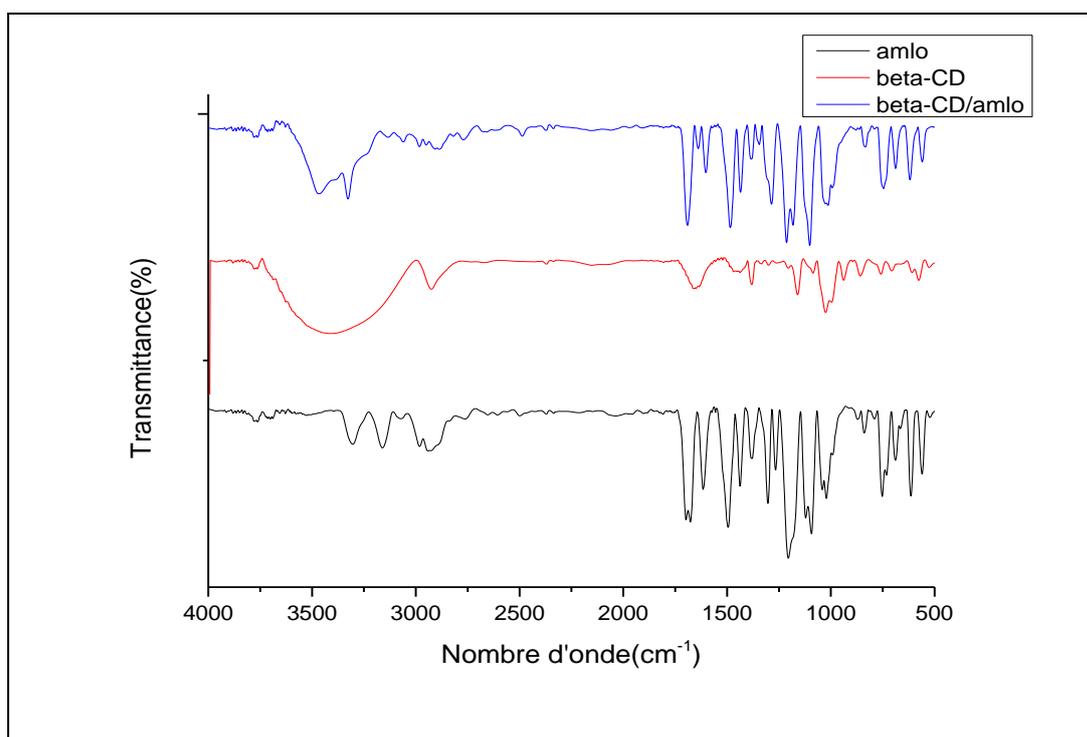


Figure III.16 Spectres IR de la β -CD, de l'amlo, et du complexe β -CD/amlo préparé par la méthode de solubilisation à pH=6,3.

Nous remarquons que presque toutes les bandes de l'amlo, apparaissent dans le spectre du complexe, certaines d'entre elles sont néanmoins décalées par rapport aux bandes de l'amlo, ce qui confirme la formation du complexe d'inclusion avec la β -CD.

La majorité des bandes de l'amlo interfèrent avec celles de la β -CD ; pour déterminer avec précision le déplacement de ces bandes, nous nous intéressons à la partie groupements fonctionnels entre 4000cm^{-1} et 2600cm^{-1} ainsi que la partie empreinte digitale située entre 1800cm^{-1} et 900cm^{-1} (figure III.17).

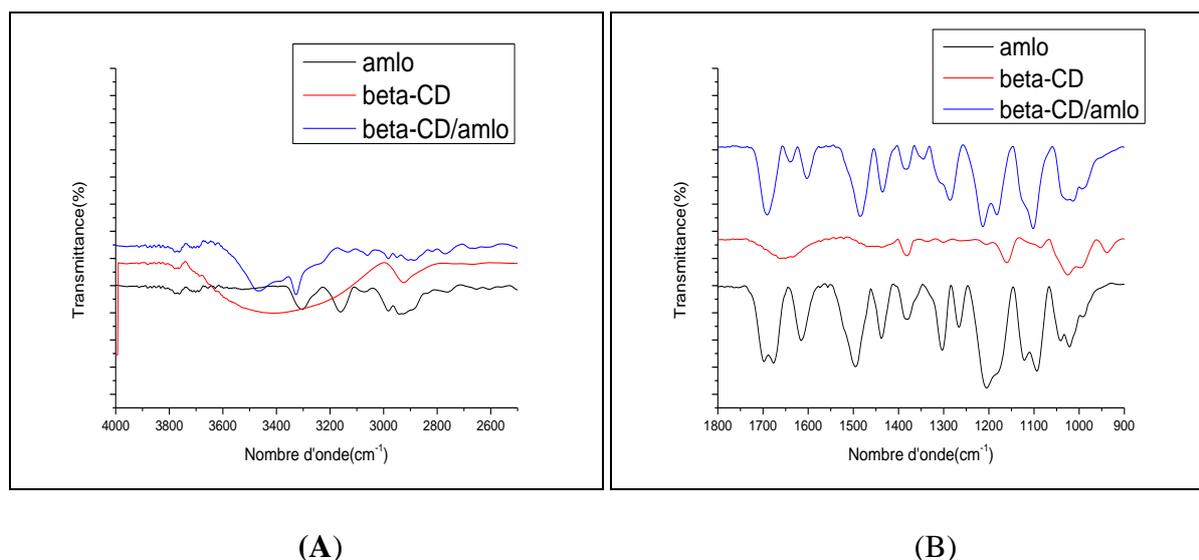


Figure III.17 Spectre IRTF de l'amlo, de la β -CD et du complexe β -CD/Amlo préparé par la méthode de solubilisation à pH=6,3 enregistrés entre : (A) 4000 et 2500 cm^{-1} , (B) 1800 et 900 cm^{-1} .

Le tableau III.5 résume le déplacement des bandes de l'amlopidine dans le complexe d'inclusion à pH=6,3.

Tableau III.5 Comparaison et déplacement des bandes d'absorption IR de l'amlopidine seule et associé au complexe β -CD/amlo préparé par la méthode de solubilisation à pH =6,3.

Groupement fonctionnel	Nombre d'onde cm^{-1}		Décalage $\Delta\delta$
	Amlo	Complexe	
ν_{as} et ν_{s} (N-H) de NH_2 d'amine primaire	3304	3325	+21
$\nu(\text{C}=\text{O})$ ester proche du méthyle en méta du cycle dihydropyridine	1699	1690	-9
δ (N-H) dans le plan du groupement amine primaire $\text{NH}_2(\text{N}27\text{H})$	1616	1604	-12
δ (NH) déformation dans le plan du groupement NH d'amine secondaire cyclique	1495	1485	-10
ν_{s} (SO_3) élongation symétrique du groupement sulfonium	1092	1102	+10

Nous remarquons à partir de ces résultats, que nous avons une diminution de $\Delta\delta$ 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.

III.6.3.2 Caractérisation des complexes préparés à pH =5

La figure III.18 représente les spectres IR de la β -CD, de l'amlo, et du complexe β -CD/amlo préparé par la méthode de solubilisation à pH=5.

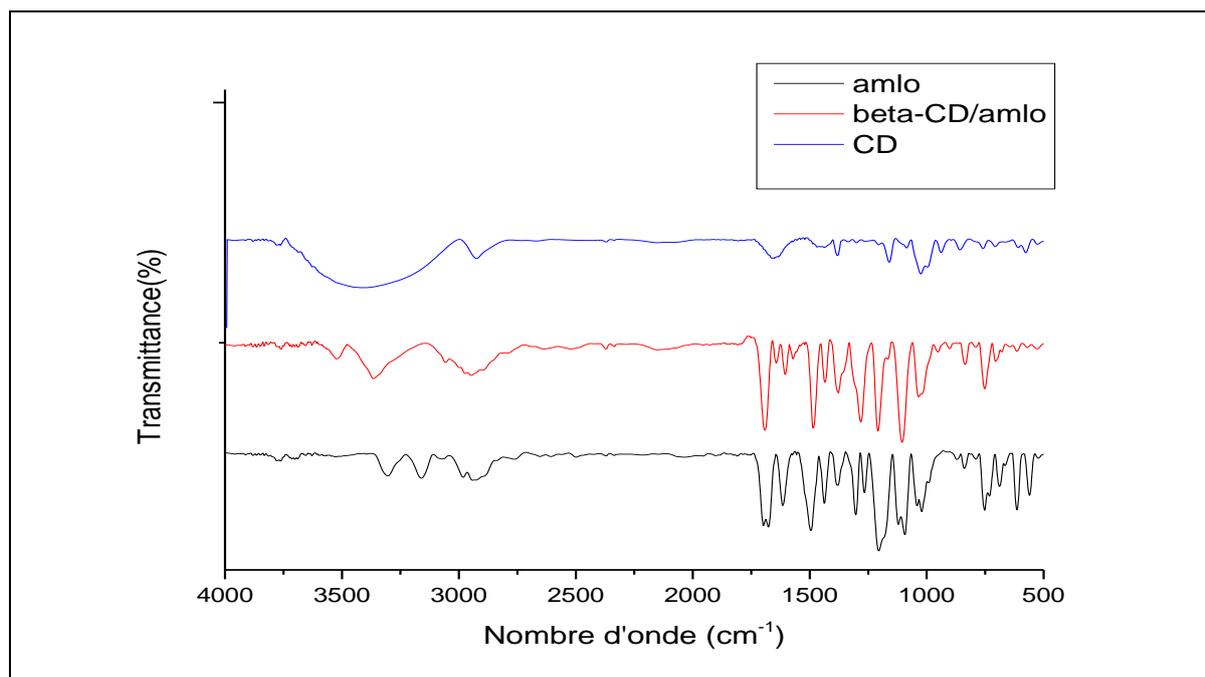


Figure III.18 Spectres IR de la β -CD, de l'amlo, et du complexe β -CD/amlo préparé par la méthode de solubilisation à pH=5

On constate d'après la figure III.18 que presque toutes les bandes de l'amlodipine apparaissent dans le spectre du complexe, certaines d'entre elles sont néanmoins décalées par rapport aux bandes de l'amlodipine, 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 à la partie groupements fonctionnels entre 4000cm^{-1} et 2600cm^{-1} ainsi que la partie empreinte digitale située entre 1800cm^{-1} et 900cm^{-1} (figure III.19).

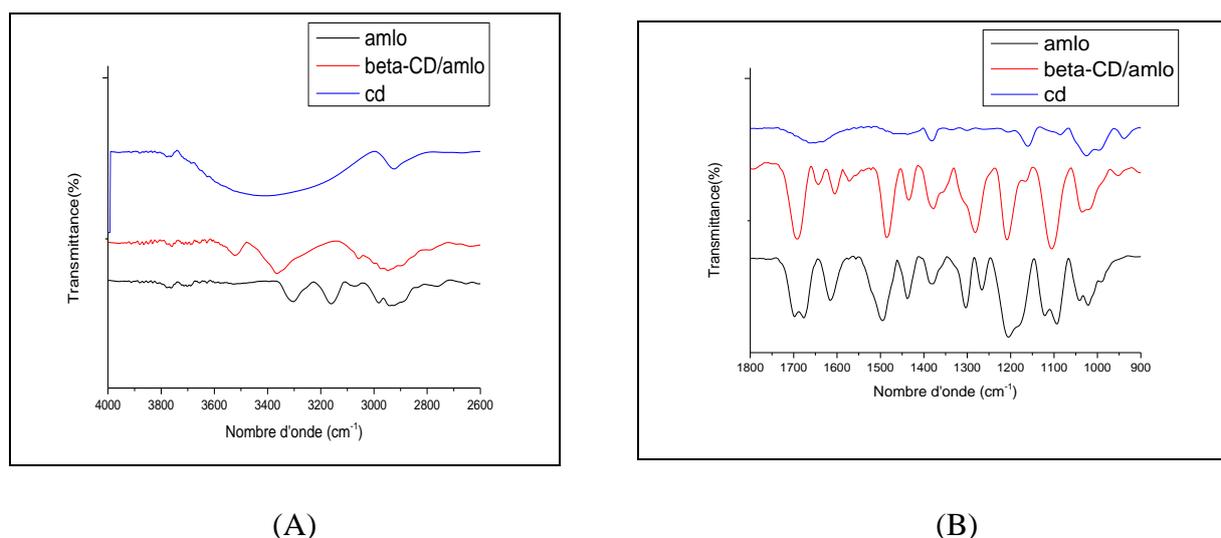


Figure III.19 Spectre IR TF de l'amlo, de la β -CD et du complexe β -CD/Amlo préparé par la méthode de solubilisation à pH=5 enregistrés entre : (A) 4000 et 2500 cm^{-1} , (B) 1800 et 900 cm^{-1}

Le tableau III.6 résume le déplacement des bandes de l'amlopidine dans le complexe d'inclusion à pH=5

Tableau III.6 Comparaison et déplacement des bandes d'absorption IR de l'amlopidine seule et associé au complexe β -CD/amlo préparé par la méthode de solubilisation à pH=5.

Groupement fonctionnel	Nombre d'ondes		Décalage
	Amlo	complexe	
ν_{as} (C-H) de CH_3 de l'éthyle proche de l'ester	2939	2949	+10
$\nu(\text{C}=\text{O})$ ester proche du méthyle en méta du cycle dihydropiridine	1699	1690	-09
δ (N-H) dans le plan du groupement amine primaire $\text{NH}_2(\text{N}27\text{H})$	1616	1604	-12
δ (NH) déformation dans le plan du groupement NH d'amine secondaire cyclique	1495	1485	-10
ν_{as} (SO_3) élongation asymétrique du groupement sulfonium δ (C-H) en para du cycle dihydropiridine	1205	1208	+3

III.6.3 Caractérisation des complexes préparés à pH =9.70

Dans la figure III.20 sont représentés les spectres IR de la β -CD, de l'amlo, et du complexe β -CD/amlo préparé par la méthode de solubilisation à pH=9,70.

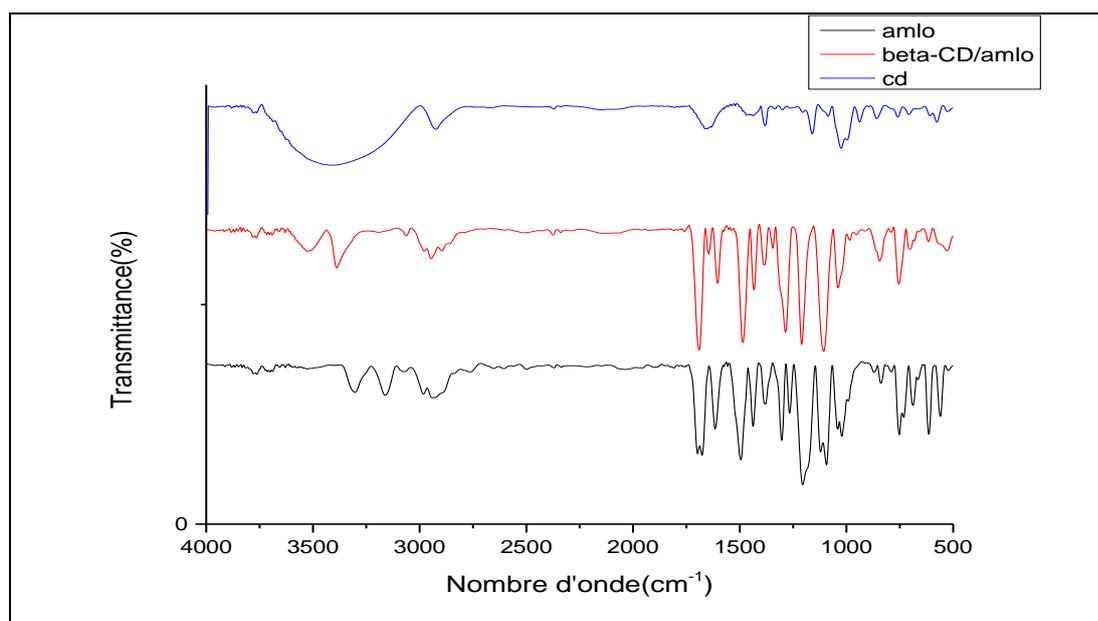


Figure III.20 Spectres IR de la β -CD, de l'amlo, et du complexe β -CD/amlo à pH=9,70.

La figure III.20 révèle que presque toutes les bandes de l'amlodipine apparaissent dans le spectre du complexe, certaines d'entre elles sont néanmoins décalées par rapport aux bandes de l'amlodipine, 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 de déterminer avec précision le déplacement de ces bandes, nous nous intéressons à la partie groupements fonctionnels entre 4000cm^{-1} et 2600cm^{-1} ainsi que la partie empreinte digitale située entre 1800cm^{-1} et 900cm^{-1} (figure III.21).

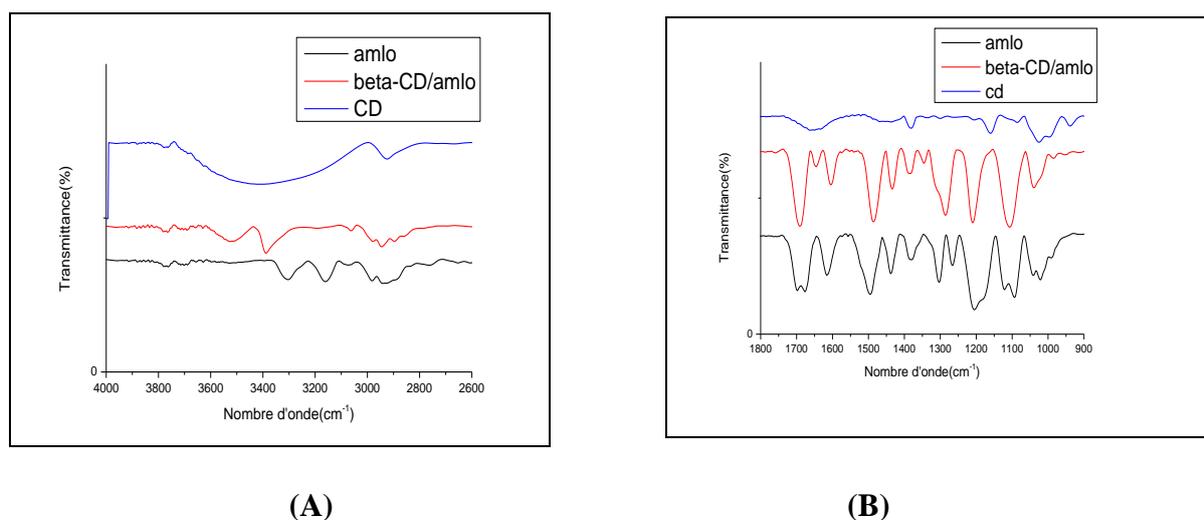


Figure III.21 Spectre IR TFR de l'amlo, de la β -CD et du complexe β -CD/Amlo à pH=9.70 enregistrés entre : (A) 4000 et 2500cm^{-1} , (B) 1800 et 900cm^{-1} .

Dans le tableau III.7 est résumé le déplacement des bandes de l'amlopidine dans le complexe d'inclusion préparé par la méthode de solubilisation à pH=9,70.

Tableau III.7 Comparaison et déplacement des bandes d'absorption IR de l'amlopidine seule et associé au complexe β -CD/amlo à pH=9,70

Groupement fonctionnel	Nombre d'ondes (cm ⁻¹)		Décalage
	Amlo	Complexe	
$\nu(\text{C=O})$ ester proche du méthyle en méta du cycle dihydropyridine	1699	1690	-9
δ (N-H) dans le plan du groupement amine primaire NH ₂ (N27H)	1616	1604	-12
δ (NH) déformation dans le plan du groupement NH d'amine secondaire cyclique	1495	1485	-10
$\nu_{\text{as}}(\text{SO}_3)$ élongation asymétrique du groupement sulfonium δ (C-H) en para du cycle dihydropyridine	1205	1210	+5
$\nu_{\text{s}}(\text{SO}_3)$ élongation symétrique du groupement sulfonium	1092	1108	+16

Nous remarquons à partir de ces résultats, que nous avons des déplacements de presque les mêmes bandes que pour le cas du complexe préparé dans le pH=5. Notons ainsi la disparition de la bande située à 3158 cm⁻¹ dans les trois milieux étudiés (pH=6, 3, pH=5 et pH=9.72), cette disparition peut être attribuée à l'inclusion partielle du groupement N-H dans la cage de la CD.

III.6.3.4 Caractérisation des complexes préparés dans la liqueur de thé

Les spectres IR de la β -CD, de l'amlo, et du complexe β -CD/amlo préparé par la méthode de solubilisation dans la liqueur de thé sont représentés sur la figure III.22

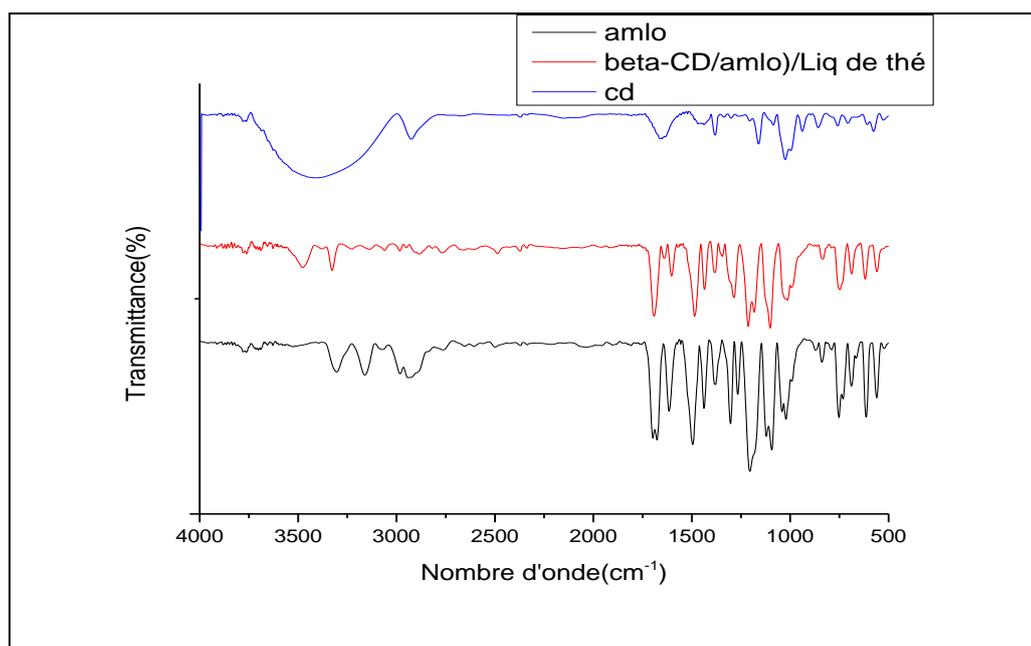


Figure III.22 Spectres IR de la β -CD, de l'amlo, et du complexe β -CD/amlo préparé par la méthode de solubilisation dans la liqueur de thé.

D'après les spectres montrés dans la figure III.22, nous constatons que la plupart bandes de l'amlopidine apparaissent dans le spectre du complexe, certaines d'entre elles sont néanmoins décalées par rapport aux bandes de l'amlopidine, ce qui confirme la formation du complexe d'inclusion avec la β -CD.

Afin de déterminer avec précision le déplacement des bandes observé sur la figure III.23, nous nous intéressons à la partie groupements fonctionnels entre 4000cm^{-1} et 2600cm^{-1} ainsi que la partie empreinte digitale située entre 1800cm^{-1} et 900cm^{-1} .

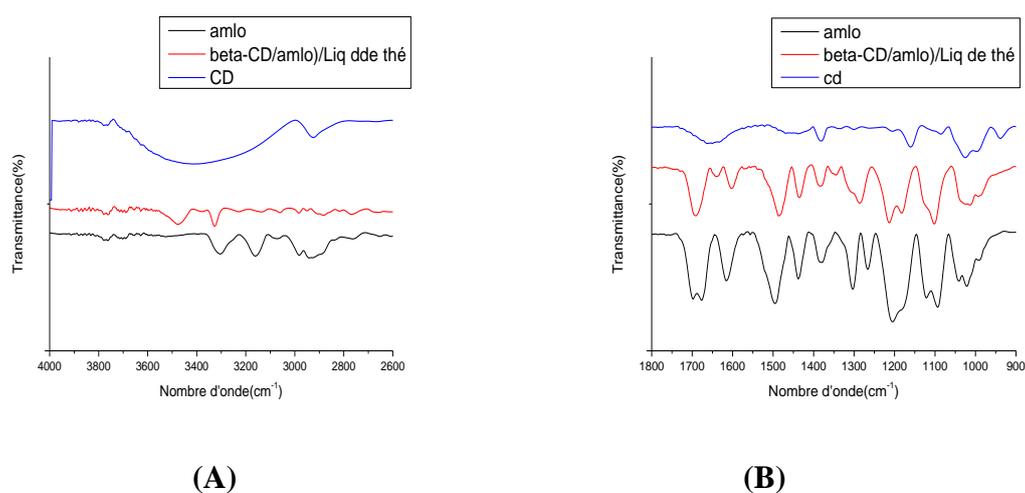


Figure III.23 Spectre IRTF de l'amlo, de la β -CD et du complexe β -CD/Amlo dans la liqueur de thé enregistrés entre : (A) 4000 et 2500cm^{-1} , (B) 1800 et 900cm^{-1}

Le tableau III.8 résume le déplacement des bandes de l'amlodipine dans le complexe d'inclusion dans la liqueur de thé.

Tableau III.8 Comparaison et déplacement des bandes d'absorption IR de l'amlodipine seule et associé au complexe β -CD/amlo préparé par la méthode de solubilisation dans la liqueur de thé.

Groupement fonctionnel	Nombre d'onde		Decalage
	Aml	Complexe	
ν_{as} et ν_s (N-H) de NH_2 d'amine primaire	3304	3475	171
	3158	3327	169
δ (N-H) dans le plan du groupement amine primaire $NH_2(N27H)$	1616	1603	-13
δ (NH) déformation dans le plan du groupement NH d'amine secondaire cyclique	1495	1485	-10
ν_{as} (SO_3) élongation asymétrique du groupement sulfonium δ (C-H) en para du cycle dihydropyridine	1205	1212	-7
ν_s (SO_3) élongation symétrique du groupement sulfonium	1092	1102	+10

Ici les bandes relatives aux vibrations d'élongation de N-H amine sont toutes les deux présentes avec un déplacement d'environ 170 cm^{-1} vers les fréquences supérieures. Ici nous pouvons conclure deux choses:

- Le groupement amine (NH_2) ne se trouve pas à l'intérieur de la cage de la CD;
- Il en résulte une forte interaction intermoléculaire entre ce groupement et les composés actifs (en particulier les polyphénols) de la liqueur de thé.

La disparition de la bande située à 1676 cm^{-1} dans l'ensemble des spectres enregistrés des complexes, confirme la formation des complexes d'inclusion par élimination de l'eau de cristallisation se trouvant dans la cage de la molécule de CD et son remplacement par la molécule invitée du principe actif.

III.6.4 Caractérisation des complexes β -CD/amlo préparés par kneading

III.6.4.1 Caractérisation des complexes β -CD/amlo préparés par kneading à pH=6,3

La figure III.24 représente les Spectres IR de la β -CD, de l'amlo, et du complexe β -CD/amlo préparé par kneading à pH=6,3

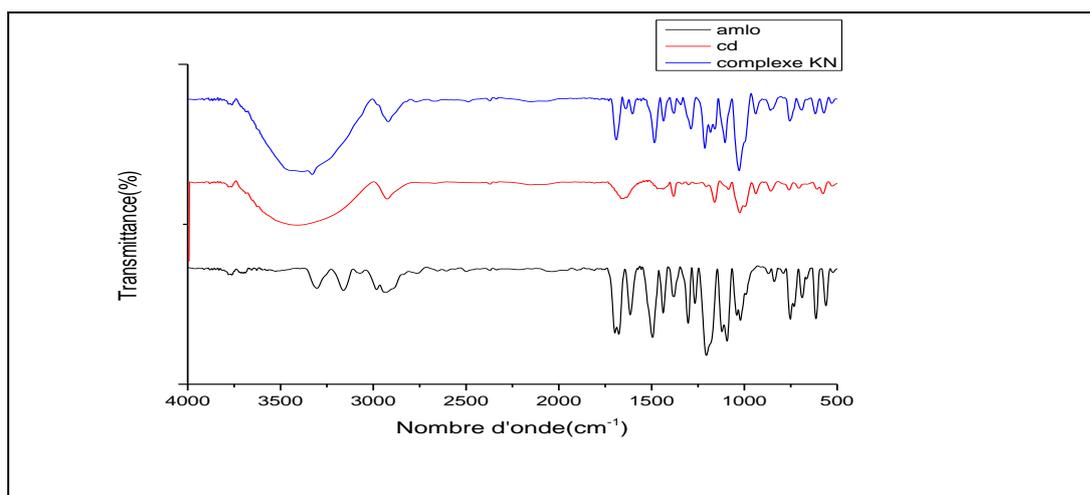


Figure III.24 Spectres IR de la β -CD, de l'amlo, et du complexe β -CD/amlo préparé par kneading à pH=6,3

Dans le spectre du complexe préparé par kneading nous remarquons que la majorité des bandes de l'amlopidine apparaissent, nous notons aussi quelques bandes supplémentaires attribuées à la β -CD.

Pour déterminer avec précision le déplacement de ces bandes nous nous intéressons aux deux régions situées entre 4000 et 2600 ainsi que 1800, 900 cm^{-1} (figure III.25)

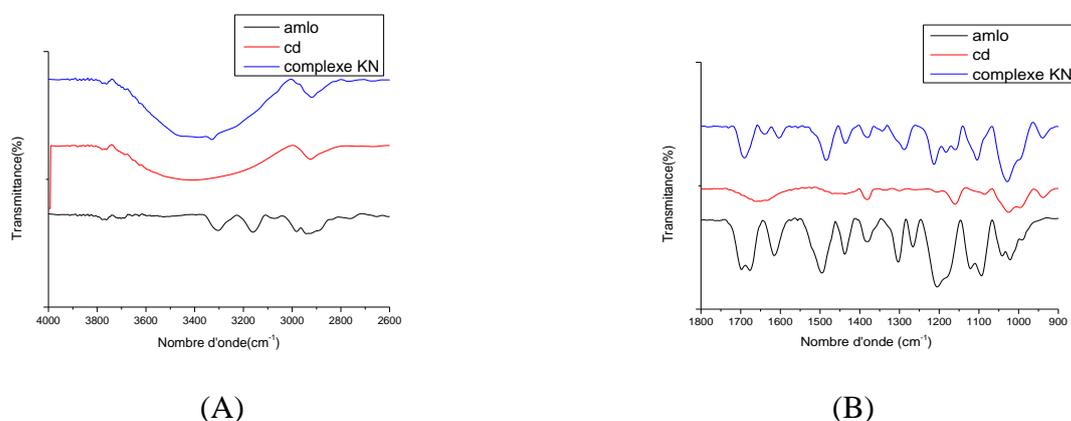


Figure III.25 Spectre IRTF de l'amlo, de la β -CD et du complexe β -CD/Amlo préparé par kneading à pH=6,3 enregistrés entre : (A) 4000 et 2500 cm^{-1} , (B) 1800 et 900 cm^{-1} .

Le tableau III.9 et le tableau III.10 résume respectivement le déplacement des bandes de l'amlopidine et de la β -CD seules ou associées au complexe β -CD/amlo préparé par kneading à pH =6,3.

Tableau III.9 Comparaison et déplacement des bandes d'absorption IR de l'amlopidine seule et associée au complexe β -CD/amlo préparé par kneading à pH =6,3.

Nombre d'onde cm^{-1}		Décalage
amlo	complexe	
1699	1690	-9
1616	1604	-12
1495	1485	-10
1304	1289	-15
1205	1213	+8
1105	1092	+13

Tableau III.10 Comparaison et déplacement des bandes d'absorption IR de la β -CD seule et associée au complexe β -CD/amlo préparé par kneading à pH =6,3.

Nbre d'onde		décalage
β -CD	complexe	
1654	1641	+13
1336	1343	+7
1023	1029	+6

III.6.4.2 Caractérisation des complexes β -CD/amlo préparés par kneading à pH=5

Les spectres IR de la β -CD, de l'amlo, et du complexe β -CD/amlo préparé par kneading à pH=5 sont représentés sur la figure III.26

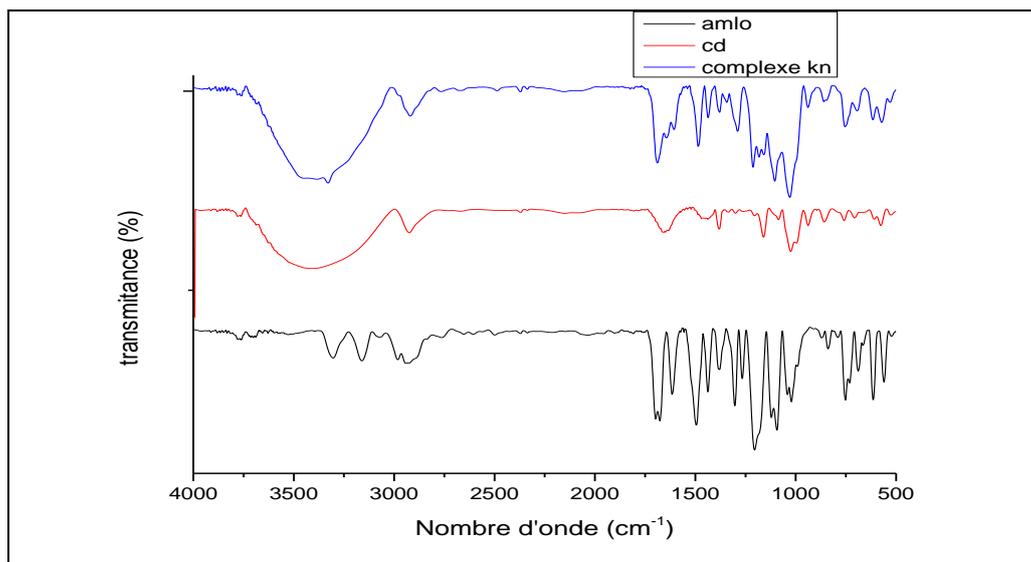


Figure III.25 spectres IR de la β -CD, de l'amlo, et du complexe β -CD/amlo préparé par kneading à pH=5 sont représentés sur la figure III.26

Pour déterminer avec précision le déplacement de ces bandes nous nous intéressons aux deux régions situées entre 4000 et 2600 ainsi que 1800,900 cm^{-1} (figure III.27)

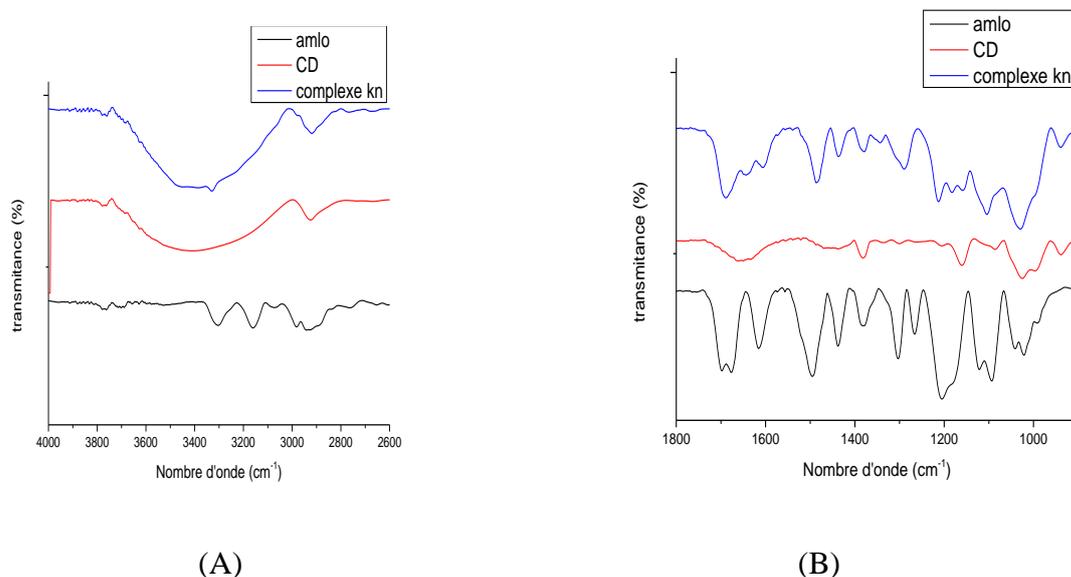


Figure III.27 Spectre IR TFR de l'amlo, de la β -CD et du complexe β -CD/Amlo préparé par kneading à pH=5 enregistrés entre : (A) 4000 et 2500 cm^{-1} , (B) 1800 et 900 cm^{-1} .

Le tableau III.11 et le tableau III.12 résume respectivement le déplacement des bandes de l'amlo et de la β -CD seules ou associées au complexe β -CD/amlo préparé par kneading à pH =5.

Tableau III.11 Comparaison et déplacement des bandes d'absorption IR de l'amlodipine seule et associé au complexe β -CD/amlo préparé par kneading à pH =5.

Nbre d'onde		décalage
Amlo	complexe	
1699	1689	-10
1616	1604	-12
1495	1485	-10
1304	1289	-15
1205	1212	+7

Tableau III.12 Comparaison et déplacement des bandes d'absorption IR de la β -CD seule et associé au complexe β -CD/amlo préparé par kneading à pH =5

Nbre d'onde		décalage
CD	complexe	
1654	1644	-10
1158	1157	-1
1025	1029	+4

III.6.4.3 Caractérisation des complexes β -CD/amlo préparés par keading à pH=9,70

La figure III.28 représente les Spectres IR de la β -CD, de l'amlo, et du complexe β -CD/amlo préparé par kneading à pH= 9,70.

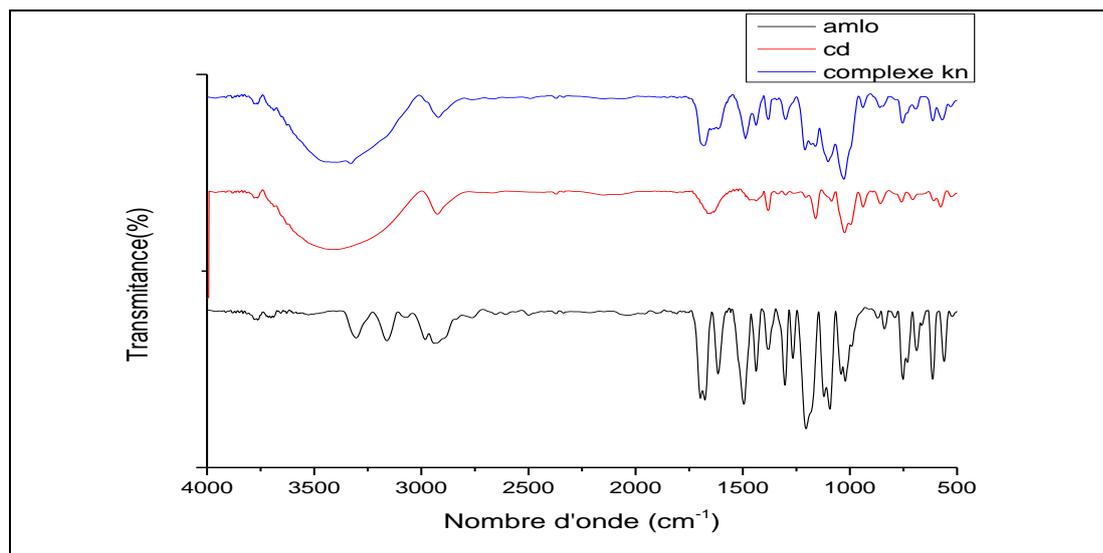


Figure III.28 Spectres IR de la β -CD, de l'amlo, et du complexe β -CD/amlo préparé par kneading à pH= 9,70.

Pour déterminer avec précision le déplacement de ces bandes nous intéressons aux deux régions situées entre 4000 et 2600 ainsi que 1800,900 cm^{-1} (figure III.29)

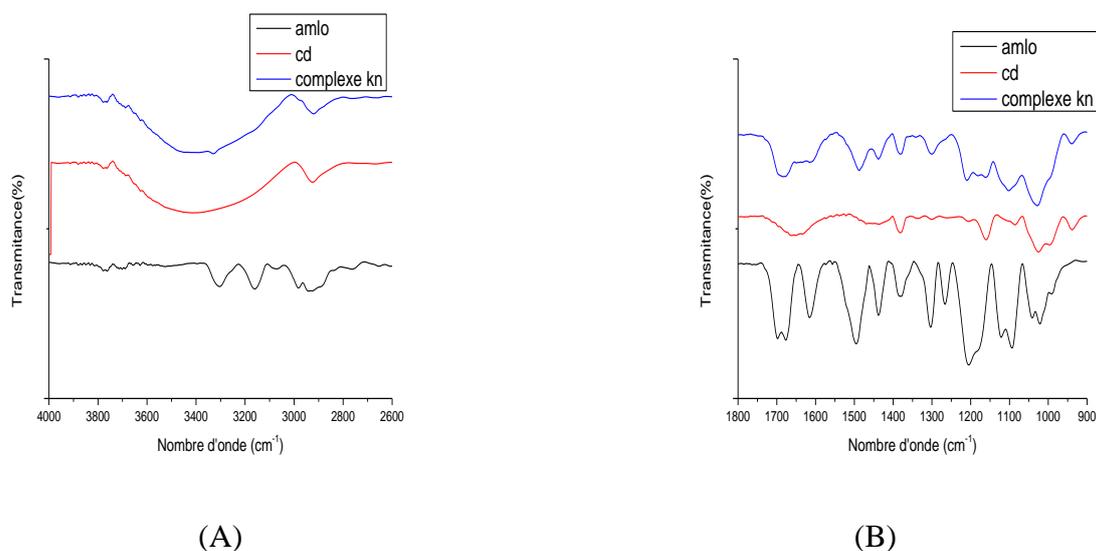


Figure III.29 Spectre IR TFR de l'amlo, de la β -CD et du complexe β -CD/Amlo préparé par kneading à pH=9,70 enregistrés entre : (A) 4000 et 2500 cm^{-1} , (B) 1800 et 900 cm^{-1} .

Le tableau III.13 et le tableau III.14 résume respectivement le déplacement des bandes de l'amlo et de la β -CD seules ou associées au complexe β -CD/amlo préparé par kneading à pH =9,70.

Tableau III.13 Comparaison et déplacement des bandes d'absorption IR de l'amlodipine seule et associée au complexe β -CD/amlo préparé par kneading à pH =9,70.

Nbre d'onde		Décalage
Amlo	complexe	
1699	1685	-14
1495	1488	-7
1304	1298	-6
1205	1210	+5

Tableau III.14 Comparaison et déplacement des bandes d'absorption IR de la β -CD seule et associée au complexe β -CD/amlo préparé par kneading à pH =9,70.

Nbre d'onde		Décalage
CD	complexe	
1658	1642	-16
1025	1028	+3

Les spectres obtenus de l'analyse des complexes formés par la méthode de kneading indiquent une encapsulation totale de l'amlodipine dans la cage de la CD. Les bandes relatives aux groupements fonctionnels de cette dernière sont quasi masquées par celles de la CD.

Les décalages enregistrés pour certaines bandes confirment les interactions entre la molécule hôte et la molécule invitée.

Nous pouvons conclure à priori que la méthode kneading permet une meilleure encapsulation du principe actif.

Des analyses supplémentaires par DRX, DSC et RMN sont nécessaires pour le confirmer.

Conclusion



Conclusion générale

Au terme de l'étude réalisée dans l'objectif d'étudier les complexes d'inclusion d'un principe actif (Amlodipine) avec la β -cyclodextrine, et l'apport de l'addition de la liqueur de thé pour la stabilité de ces complexes, nous avons obtenu les principaux résultats suivant :

La β -CD a montré un fort pouvoir complexant et solubilisant de l'amlodipine et a pu être chargée avec une teneur importante de ce dernier. La capacité de la β -CD d'encapsuler et de solubiliser ce principe actif sont influencées par plusieurs paramètres en particulier le pH, on a observé que la complexation de l'amlodipine au milieu alcalin abouti a une amélioration importante de la solubilité de ce dernier. Néanmoins cette amélioration s'est avérée relativement faible dans le milieu acide, ce qui signifie que l'affinité de la cavité de la β -CD pour la forme non ionisée de l'amlodipine est plus élevée que pour la forme ionisée de cette dernière.

Une amélioration de la complexation par addition de la liqueur de thé, montre que nous pouvons recourir à la stabilisation du complexe d'inclusion β -CD/amlodipine par la liqueur de thé, grâce à ses composants qui sont essentiellement les polyphénols et les flavonoïdes doués de propriétés anti-radicalaires(antioxydants) importants.

En comparant les deux méthodes de préparation adoptées dans cette étude on conclut que la méthode de pétrissage « kneading » permet une meilleure encapsulation du principe actif, comparée à la méthode de solubilisation

Références bibliographiques



- [1] **A. J. Scheen, J. M. Krzesinski**, le médicament du mois combinaison fixe perindopril-amlodipine (Coveram^R) dans le traitement de l'hypertension artérielle et l'insuffisance coronaire, Rev Med Liège (2009), 64 :4 :223-227.
- [2] **M. L. Buck**, Amlodipine Use in Pediatric Hypertension, Pediatric pharmacotherapy a monthly newsletter for health care professionals from the Children's Medical Center at the University of Virginia, July 2003.
- [3] **F. Oulmou**, Fonctionnalisation sélective de la β -Cyclodextrine en vue de la complexation de l'amlodipine, Mémoire de magister, Université de Bejaia, Filière génie des procédés, option génie des polymères, Novembre 2014.
- [4] **N. Bellanger, F. Djedaïni-Pilard, P. Berthault, B. Perly**. Phases Magazine, Les cyclodextrines : des écrans moléculaires. Juin 1992
- [5] **D. Castagne**, étude des interactions entre les cyclodextrines et les membranes liposomales ou biologiques, Thèse de Doctorat, Université de Liège, Faculté de Médecine Laboratoire de Technologie Pharmaceutique, 2009-2010.
- [6] **F. Teffaha**, caractérisation physico-chimique et thermodynamique de complexes d'inclusion Cyclodextrine/tetracaine, Thèses de Doctorat, Université d'Oran, faculté des sciences, département de chimie, spécialité : chimie-physique. Avril 2010.
- [7] **S. Fontanay**, Complexation de triterpènes pentacycliques par des cyclodextrines Caractérisation physicochimique et activités biologiques. Thèse de Doctorat Université de Lorraine Mention : « Sciences de la Vie et de la Santé », Décembre 2012.
- [8] **N. K. D. Devi**, KVSRR Siddhartha College of Pharmaceutical Sciences, Vijayawada-520010, Andhra Pradesh, India, an International Research Journal, 2010.
- [9] **S. Benhadi**, Greffage de Cyclodextrines modifiées par traitement Corona sur matériaux cellulose, thèse Présenté à l'Université Henri Poincaré Nancy 1 Spécialité « Chimie-physique », Novembre 2010.
- [10] **B. Gidwani and A. Vyas**, a Comprehensive Review on Cyclodextrin-Based Carriers for

Delivery of Chemotherapeutic Cytotoxic Anticancer Drugs, University Institute of Pharmacy, Pt. Ravishankar Shukla University, Raipur 492010, India, Received 18 April 2015; Revised 2 June 2015; Accepted 15 June 2015.

[11] **C. Marcopoulos**, Insertion des Cyclodextrines amphiphiles dans des membranes lipidiques, Thèse de Doctorat, Université de Strasbourg, discipline physique, Septembre 2011.

[12] **J. Szejtli**, Introduction and General Overview of Cyclodextrin Chemistry, chem. (1998), 98 1743-1753.

[13] **R. Jacquet**, 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 Doctorat, Université D'Orléans, Discipline : Chimie et physicochimie des composés d'intérêt biologique, Novembre 2006

[14] **E.M. Martin Del Valle**, Cyclodextrins and their uses: a review, Department of Chemical Engineering, University of Salamanca, Plaza de los Caidos S/N, 37007 Salamanca, Spain

Received 17 February 2003; received in revised form 20 May 2003; accepted 2 July 2003

[15] **S. Ziani** Synthèse, étude physico-chimique et comportement microbiologique d'un hydroxyapatite modifiée et greffé par la β -Cyclodextrine. Thèse de Doctorat, Université de Bejaia Faculté de Technologie, Département de Génie des Procédés, Laboratoire de Génie de L'environnement, option : génie chimique, 2016.

[16] **N. A. Khan and M. Durakshan**, cyclodextrin: an overview, International Journal of Bioassays, University of Kashmir, Srinagar-190006, India, Department of Pharmaceutical Sciences, Received for publication: February 09, 2013; Revised: Apr 22, 2013; Accepted: May 11, 2013.

[17] **G. leury**, Des polyrotaxanes de haute masse moléculaire au réseau topologique : les gels à points de réticulation glissants, These de Doctorat en chimie et science des matériaux, Université de Louis Pasteur – Strasbourg I, décembre 2005.

[18] **Carole Karakasyan**, Fonctionnalisation de Surfaces Par L'intermédiaire Du Couple Adamantane/ β -CD ; application du Procède pour l'élaboration d'un immunocapture, Thèse de Doctorat, Université Paris12 VAL DE MARNE, Spécialité : physico-chimie des polymères. Juin 2005.

[19] **K. Hanna**, 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 Doctorat, Institut National des Sciences Appliquées de Lyon, Ecole doctorale : Chimie de Lyon (Chimie, Procédés, Environnement), Spécialité : Sciences et techniques du déch, novembre 2004.

[20] **R. Diab**, vectorisation des analogues de nucléosides pour le traitement des métastases, Thèse de Doctorat, Université Claude Bernard – Lyon 1, (2009).

[21] **G. R. Balou**, Synthèse de glycophanes à partir du D-glucal, Thèse de Doctorat, Université Henri Poincaré, Nancy 1 en Chimie et Physicochimie Moléculaires, Novembre 2008.

[22] **T. Loftsson, D Duchene**, Cyclodextrins and their pharmaceutical applications, International Journal of Pharmaceutics 329, 2007.

[23] **Y. Bakkour**, Etude par RMN des complexes d'inclusion avec des Cyclodextrines natives et polymérisées, Thèse de Doctorat Université des Sciences et Technologies de Lille 1, Montions : chimie organique et macromoléculaire, Juillet 2005.

[24] **S. Weisse**, Complexes cyclodextrines / ester de vitamine A : stabilisation, solubilisation et promotion de l'absorption cutanée, Thèse de Doctorat Université paris XI, Faculté de Pharmacie de Chatenay- Malabry, octobre 2002.

[25] **C. Bisson-Boutelliez**, Desulfovibrio spp. Dans la maladie parodontale: Interaction avec les cellules épithéliales KB et activité de l'amoxicilline libre ou complexée sue ses formes

extracellulaires et intracellulaires, Thèse de Doctorat Université Henri Poincaré, Nancy-1, Montion Pharmacologie, Novembre 2009.

[26] **O. Bradea, I. Kosco, G. Borodi, A. Bende, I. Bratu**, complexation of amlodipine besylate with β -Cyclodextrine, Acta Chim. Slov. 25, (2012) 18-23.

[27] **J. Bile**, Microencapsulation d'agent antimicrobien pour le développement de conditionnements primaires fonctionnalisés, Thèse de Doctorat, Université de Claude Bernard-Lyon1, Octobre 2015.

[28] **A. Benslama**, Université Mohamed Khider-Biskra, Faculté des sciences exactes et des sciences de la nature et de la vie, Département des sciences de la nature et de la vie, 2016.

[29] **D. Ach**, Microencapsulation par coacervation complexe des protéines du lactosérum et de la gomme d'acacia, Thèse de Doctorat, Université Claude Bernard-Lyon 1, 2014.

[30] **J. Guery**, émulsions doubles cristallisables : stabilité, encapsulation et relargage, Thèse de Doctorat, Université Paris VI, Ecole doctorale de Physique et Chimie des Matériaux, Novembre 2006.

[31] **M. Jacquot**, Encapsulation de systèmes enzymatiques d'intérêt alimentaire, Thèse de Doctorat, Université de Lorraine, Juillet 2002.

[32] **R. Abderrahmen**, Conception d'étiquettes autoadhésives par microencapsulation d'adhésif, Thèse de Doctorat, Université de Grenoble, Spécialité : Mécanique des fluides, procédés, énergétique, Décembre 2012.

[33] **H. Mukhtar, N. Ahmad**, Green Tea in chemoprevention of cancer, Toxicological sciences 52, (1991), 111-117.

[34] **C. Clauzure**, Méta-analyses des effets chimioprotecteurs de la curcumine et du thé vert sur la cancérogenèse colorectale chez les rongeurs, Thèse de Doctorat Université Paul-Sabatier de Toulouse, 2007.

[35] Site web: <http://www.lesjardinsdes thes.ch>.

[36] **S. Kabouche**, Etude de la relation du thé vert. Maladies cardiovasculaires et Stress oxydant, Thèse de Doctorat, Université de Mentouri – Constantine, faculté des sciences département de biologie animale, 2010.

[37] **C. Ping**, Thé de Chine, Tea Science Department, College of Agriculture & Biotechnology Zhejiang University, Decembre 2014.

[38] **M. Huet, J. Fleurentin**, Curcuma, thé vert et chardon-marie : quelle stratégie adopter en prévention du cancer ou en complément des traitements ?, Société française d’Ethnopharmacologie, 2013.

[39] **J-C. Currie**, impact anti-cancéreux des catéchines du thé vert et d'un nouvel agent anti-tumoral le pck3145 sur la régulation de la mmp-9, These de Doctorat, unnersité du québec à montréal, juillet 2007.

[40] **M. Doyon**, Effet de l'atorvastatine et de l'amlodipine sur le remodelage vasculaire dans l'hypertension, Université de Montréal, Département de pharmacologie Faculté de médecine, Décembre 2008.

[41] **S. Bernard, M. Mathew, K. L. Senthilkumar**, Spectrophotometric method of estimation of Amlodipine besylate using hydrotropic solubilization, Journal of Applied Pharmaceutical Science 01 (09); 2011: 177-180.

[42] **S. Aryal, N skalko-basnet**, Stability of amlodipine besylate and atenolol in Multi-component tablets of mono-layer and bi-layer types, Acta Pharm. 58 (2008) 299–308.

[43] Monographie de GD-Amlodipine (bésylate d'amlodipine), GenMed, division de Pfizer Canada inc, 2015.

[44] **L. Marcia** Amlodipine Besylate - amlodipine besylate comprimé, Site officiel du gouvernement du Niger - Fraternité, Travail, Progrès, Novembre 2010.

Annexes



Courbe d'étalonnage de l'amlodipine

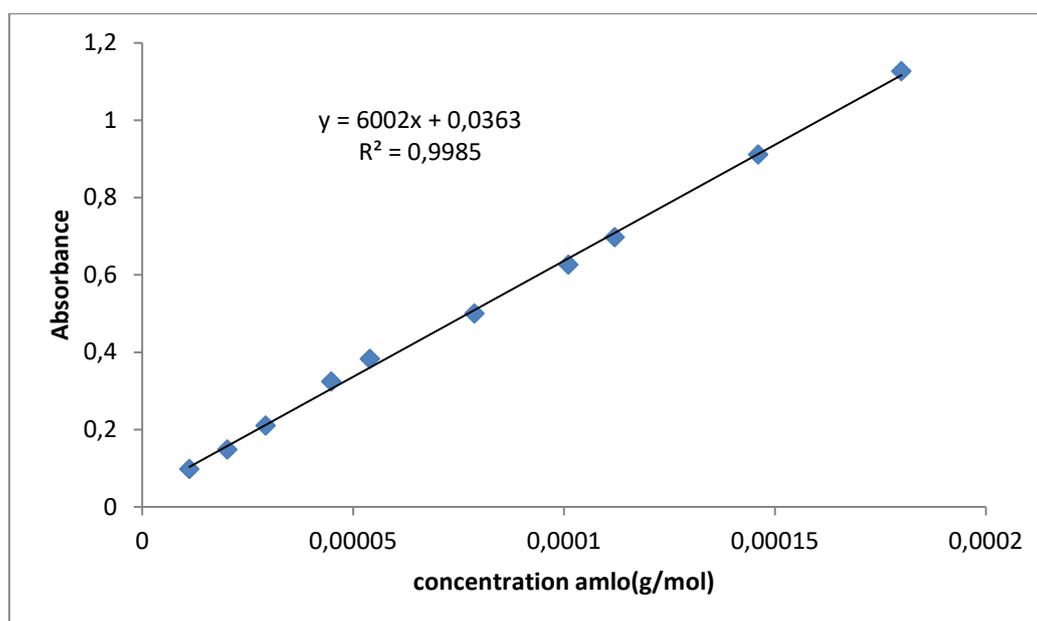
La courbe d'étalonnage de l'amlodipine a été réalisée à partir d'une solution mère qui est préparée en faisant dissoudre une masse de 20mg d'amlodipine dans 25ml d'eau pure, ensuite des dilutions ont été préparées pour obtenir des solutions filles qui sont par la suite analysées par spectrophotométrie UV-visible à 365 nm.

Les résultats obtenus de l'analyse des sept solutions étalons par spectroscopie UV-visible à 365nm sont représentés dans le tableau 1.

Concentration (mol/l)	$1,12 \cdot 10^{-5}$	$2,02 \cdot 10^{-5}$	$2,93 \cdot 10^{-5}$	$4,48 \cdot 10^{-5}$	$5,4 \cdot 10^{-5}$
Absorbance	0.09844	0.14831	0.21019	0.32475	0.38338

$7,88 \cdot 10^{-5}$	$1,01 \cdot 10^{-4}$	$1,12 \cdot 10^{-4}$	$1,46 \cdot 10^{-4}$	$1,80 \cdot 10^{-4}$
0.50074	0.62657	0.76938	0.91134	1.12712

L'allure de la courbe d'étalonnage obtenue est montrée dans la figure ci-après:



Résumé

L'amlodipine est un antagoniste calcique de type dihydropridine possédant des propriétés biologiques et physicochimiques très particulières. L'inconvénient de cette molécule est sa faible biodisponibilité, liée à 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. Pour pallier à cette perte de solubilité nous avons envisagé l'encapsulation de l'amlodipine par la β -cyclodextrine qui est une molécule hôte possédant une cavité lui permettant de donner naissance à des complexes d'inclusion.

Les complexes d'inclusion β -CD/amlodipine ont été préparés selon deux méthodes : la méthode de solubilisation et la méthode de pétrissage « kneading », et ont été étudiés dans différents milieux (acide, neutre, basique et dans la liqueur de thé »).

Les résultats obtenus montrent que la capacité de la β -CD d'encapsuler et de solubiliser le principe actif (amlodipine) est influencée par le pH. L'analyse de ces derniers indique la formation de complexes de type 1 :1. L'addition de liqueur de thé a montré une nette amélioration de la stabilité des complexes β -CD/amlodipine et une éventuelle formation de complexes de types 1 :2, 1 :3,...ext.

Mots clés : Amlodipine, β -cyclodextrine, liqueur de thé, encapsulation, kneading, solubilisation.