

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE



UNIVERSITE DE TLEMCEM  
FACULTE DES SCIENCES  
DEPARTEMENT DE CHIMIE



*LABORATOIRE DE CHIMIE ORGANIQUE, SUBSTANCES NATURELLES ET ANALYSES*

DOMAINE : SCIENCES DE LA MATIERE

FILIERE : CHIMIE

SPECIALITE : CHIMIE BIO ORGANIQUE ET THERAPEUTIQUE

**MEMOIRE DE MASTER**

# DEVELOPPEMENT DE NOUVEAUX VECTEURS PHARMACEUTIQUES

SOUTENU PUBLIQUEMENT PAR M<sup>ELLE</sup> MALTI IBTISSEM

LE 10 JUIN 2015

DEVANT UN JURY COMPOSE DE :

WASSILA DRICI, MCA

LATIFA NEGADI, PR

BACHIR MOSTEFA KARA, PR

ZOHEIR ARRAR, MCA

DJAMEL BENDIABDELLAH, MAA

WAFAA SEBA LEMERINI, MAA

ABDELMOUMEN MZERAI, DR

ASSIA SLIMANI KENICHE, DR

JOSEPH KAJIMA MULENGI, PR

PRESIDENTE

EXAMINATRICE

EXAMINATEUR

EXAMINATEUR

EXAMINATEUR

EXAMINATRICE

EXAMINATEUR INVITE

ENCADREUR

(SUPERVISION SCIENTIFIQUE)

ANNEE 2014-2015

*« S'il n'y avait pas d'hiver, le printemps ne serait pas si agréable : si nous ne goûtons pas à l'adversité, la réussite ne sera pas tant appréciée »*

Anne Bradstreet

# REMERCIEMENTS

*Ce travail de recherche ayant abouti, grâce au soutien financé de la DGRS-DT et le ministère d'enseignement supérieur et de la recherche scientifique dont nos vifs remerciements à ces institutions.*

*Ce projet a été réalisé au sein du laboratoire de Chimie Organique, Substances Naturelles et Analyses (COSNA) sous la direction du Pr **JOSEPH KAJIMA MULENGI** que je tiens à remercier d'avoir bien voulu m'accueillir dans son laboratoire et de m'avoir permis de profiter d'excellentes conditions de travail.*

*Je tiens également à remercier Mr. **DJAMEL BENDIABDELLAH** et Mr. **HASSAN BENARRIBA**, pour le temps alloué aux analyses IR de nos produits. Je remercie aussi, Melle **FEROUANI GHANIA** (laboratoire de catalyse et synthèse en chimie organique, université de Tlemcen) pour son aide à analyser quelques produits par IR.*

*Je suis infiniment reconnaissante à Mme **SLIMANI née KENNICHE ASSIA**, de m'avoir encadrée tout au long de ce travail, vu qu'il n'aurait pas pu être ce qu'il est, sans sa compétence et sa disponibilité. A travers nos nombreuses discussions scientifiques, elle m'a fait partager ses grandes connaissances et son enthousiasme pour la recherche. Ses conseils m'ont permis aussi de progresser et d'acquérir une première expérience bénéfique en tant que chimiste. Qu'elle soit assurée de ma profonde gratitude.*

*Je remercie sincèrement Mme **DRICI WASSILA**, pour l'honneur qu'elle m'a fait en acceptant de présider le jury de ce mémoire.*

*Je remercie fortement l'ensemble des membres du jury de m'avoir fait l'honneur d'accepter d'évaluer mon travail.*

*J'ai également une pensée pour toute ma promotion, et tout particulièrement **SI SAID MOHAMED EL AMINE**, avec qui j'ai apprécié de partager un coin de paillasse. Je leur souhaite bon courage pour la suite.*

*Je remercie aussi tous ceux qui, chacun à sa façon, ont participé à la concrétisation de ce travail, je ne les citerai pas pour n'en oublier personne, je suis sûre qu'ils se reconnaîtront.*

# DEDICACES

*Je dédie ce modeste mémoire :*

*A mes chers parents, que nulle dédicace ne puisse exprimer mes sincères sentiments, pour leur patience illimitée, leur soutien sans faille et leur encouragement qu'ils ont voulu m'apporter tout au long de mon existence. L'amour que j'éprouve envers eux est incommensurable. Que dieu les préserve pour nous et leur procure santé et longue vie.*

*A celui qui illumine ma vie et qui réussit mieux que quiconque à me rendre heureuse, RYAD. Que DIEU réunisse nos chemins et que ce travail soit témoignage de ma reconnaissance et de mon amour sincère et fidèle.*

*A ma très chère sœur, SANAA d'avoir toujours été à mes côtés et d'avoir supporté ma mauvaise humeur, je ne cesserai de témoigner mon amour envers elle.*

*A mes frères MOHAMMED et HAMZA RAMZY (notre génie de l'informatique), pour l'amour et l'affection que je porte pour eux.*

*A ma bien aimée belle-sœur et amie DOUNIA-ZED, pour sa présence et son soutien.*

*A notre nouveau membre de la famille MALTI, mon petit neveu WASSIM.*

*Enfin, qu'il me soit permis de dédier ce mémoire aux membres de ma famille, en particulier à ma tante et mes adorables cousines : KAMILA, NABILA et IMENE.*

*A mes beaux-parents de m'avoir accueilli à bras ouverts dans leur famille.*

*A ma petite sœur TEMA ainsi qu'à mon beau frère EL-HADI.*

*A tous ceux que j'aime.*

## RESUME :

Les cyclodextrines sont des oligosaccharides cycliques récemment reconnue comme excipients pharmaceutiques utiles, vu que leur structure moléculaire génère une surface extérieure hydrophile et un intérieur (cavité) hydrophobe. Sauf que, Les simples complexes d'inclusion à base de  $\beta$ -CD native semblent inefficaces pour des libérations prolongées et contrôlées de principes actifs. Afin de palier à ce problème, ce travail rapporte la synthèse de quatre CDs amphiphiles monosubstituées portant différents synthons (peptidolipides) obtenus avec succès et avec un rendement prometteur. De plus, l'étude des complexes d'inclusion des aziridines comme molécules invitées à base de ces dérivés a été effectuée en utilisant deux techniques différentes, une à l'état solide et l'autre en solution et leurs caractérisation a été achevée par spectroscopie IR et UV respectivement.

**Mots clés :**  $\beta$ -cyclodextrine, CD amphiphile, complexe d'inclusion, aziridine, spectroscopie UV, spectroscopie IR.

## ABSTRACT :

Cyclodextrins are cyclic oligosaccharides recently recognized as useful pharmaceutical excipients, as their molecular structure generates a hydrophilic outer surface and an interior (cavity) hydrophobic. Except that simple inclusion complexes based native  $\beta$ -CD appear ineffective for extended and controlled release of bioactive molecules. To overcome this problem, this work reports the synthesis of four mono-substituted amphiphilic CDs bearing different synthon (peptidolipids) achieved successfully and with a promising performance. Moreover, the study inclusion complexes aziridines as guest molecules based on these derivatives was performed using two different techniques to a solid state and the other in solution and their characterization was completed by IR spectroscopy and UV spectroscopy respectively.

**Keywords:**  $\beta$ -cyclodextrin, amphiphilic CD, inclusion complex, aziridine, UV spectroscopy, IR spectroscopy.

## ملخص:

تعتبر (cyclodextrines CDs) بمثابة سواغات صيدلانية مفيدة، نظرا لبنيتها الجزيئية المولدة لسطح خارجي محب للماء و سطح داخلي (فجوة) نافر للماء. الا ان المركبات الناتجة عن ادراج أي جزئ ضمن السكريات الحلقية البسيطة ( $\beta$ -CD) غير فعّالة لإفراج موسع لهذه المكونات النشيطة. لذلك للتغلب على هذا الاشكال، تقارير هذا العمل قائمة على اصطناع أربع سكريات حلقية محبة للماء مختلفة على الاصلية لاحتوائها على سلسلة اليقاتية وقد كان تحقيقها يشهد نجاح تام وأداء واعد. بالإضافة الى ذلك، اتمنا دراسة نظام جديد ناتج عن ادراج جزيئات (aziridine) ضمن هذه المركبات الجديدة وذلك باستعمال أجهزة التحليل الطيفي للأشعة فوق البنفسجية والأشعة تحت الحمراء.

**الكلمات المفتاحية:** السكريات الحلقية ب، سكريات حلقية محبة للماء، مركبات الادراج، ازيريدين (AZIRIDINE)، التحليل الطيفي للأشعة فوق بنفسجية، التحليل الطيفي للأشعة تحت الحمراء.

## ***LISTE DES ABREVIATIONS***

**CDs** : Cyclodextrines.

**$\alpha$ -CD** : Alpha-cyclodextrine.

**$\beta$ -CD** : Béta-cyclodextrine.

**$\gamma$ -CD** : Gama-cyclodextrine.

**CGTase** : CD-glucosyltransférase.

**PA** : Principe actif.

**ADN** : Acide désoxyribonucléique.

**ARN** : Acide ribonucléique.

**RMN** : Résonance Magnétique Nucléaire.

**UV** : Ultraviolet.

**RX** : Rayons X.

**CPG** : Chromatographie en Phase Gazeuse.

**CPGI** : Chromatographie en Phase Gazeuse Inverse.

**HPLC** : High Performance Liquid Chromatography (Chromatographie liquide à haute pression).

**TBDMSCI** : Chlorure de tert-butyldiméthylsilyle.

**TMSCI** : Chlorure de triméthylsilyle.

**TsCl** : Chlorure de p-toluènesulfonyle.

**TrCl** : Chlorure de trityle.

**pPh<sub>3</sub>** : Triphénylphosphine.

**DMAP** : 4-(diméthylamino) pyridine.

**DMF** : Diméthylformamide.

**DMSO** : Diméthylsulfoxyde.

**HOBT** : N-hydroxybenzotriazole.

**t.a** : Température Ambiante.

**Boc** : Tert-butyloxycarbonyle.

**DCC** : Dicyclohexyl-carbodiimide.

**DAST** : Diéthylaminosulfotrifluorure.

**NEt<sub>3</sub>** : Triéthylamine.

**THF** : Tétrahydrofurane.

**EDC** : 1-Ethyl-3-(3-diméthylamino-propyl) carbodiimide.

**MeI** : Iodométhane.  
**NaH** : Hydrure de sodium.  
**NaOH** : Hydroxyde de sodium.  
**NH<sub>4</sub>OH** : Amoniaque.  
**NaN<sub>3</sub>** : Azoture de sodium.  
**BzCl** : Chlorure de benzyle.  
**CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>** : Dichlorométhane.  
**Et<sub>2</sub>O** : Ether.  
**MeOH** : Méthanol.  
**PMB-Cl** : P-méthoxybenzyle chloridrique.  
**DDQ** : 2,3-dichloro-5,6-dicyanobenzoquinone.  
**DDQH** : 2,3-dichloro-5,6-dicyanohydroxybenzoquinone.  
**BF<sub>3</sub>** : Trifluorure de bore.  
**TBAF** : Fluorure de tétra-n-butylammonium.  
**KSCN** : Thiocyanate de potassium.  
**CF<sub>3</sub>SiMe<sub>3</sub>** : triméthyltrifluorométhylsilane.  
**CHCl<sub>3</sub>** : Chloroforme.  
**Ac<sub>2</sub>O** : anhydride acétique.  
**SO<sub>3</sub>** : Trioxyde de soufre.  
**C<sub>3</sub>H<sub>4</sub>O<sub>3</sub>** : Carbonate d'éthylène.  
**K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>** : Carbonate de potassium.  
**t-BuOK** : tert-butylate de potassium.  
**gly** : glycine.  
**Val** : Valine.  
**Leu** : Leucine.  
**phe** : phénylalanine.

# SOMMAIRE

<b>Introduction générale</b> .....	<b>1</b>
<b>Chapitre I : Présentation générales des cyclodextrines</b> .....	<b>5</b>
I. Présentation global des CDs.....	5
I.1.Historique.....	5
I.2.Structures et propriétés.....	6
II. Complexes d'inclusion.....	9
II.1.L'inclusion.....	10
II.2.Energies mises en cause.....	11
II.3.Caractéristiques des complexes d'inclusion.....	11
II.3.1. Observation du phénomène de complexation par RMN.....	13
II.4. Etude des complexes d'inclusions.....	13
II.4.1. Détermination de la stœchiométrie.....	13
II.4.2. Détermination de la constante d'association $K_a$ .....	14
II.4.2.1.Méthode graphique : technique de Benesis-Hildebrand.....	14
II.4.2.2. Méthode itérative.....	15
II.4.2.3. Détermination de $k_a$ via le diagramme de solubilité.....	16
III. Toxicité.....	18
IV. Applications des CDs.....	18
IV.1. Vecteurs en industrie pharmaceutique.....	19
IV.1.1. L'augmentation de la solubilité et de la biodisponibilité.....	19
IV.1.2. La diminution des effets indésirables.....	19
IV.1.3. Le masquage du goût et de l'odeur.....	19
IV.1.4. Augmentation de la stabilité.....	19
V. Conclusion partielle.....	20
<b>Chapitre II : Méthodes de synthèse des CDs natives et amphiphiles</b> .....	<b>21</b>
I. Problèmes liés à la synthèse des CDs.....	21
I.1. Réactivité des hydroxyles.....	21

I.2. Influence de la nature des réactifs.....	21
I.3. Influence de la cavité et du solvant.....	22
II. Synthèses des CDs modifiées.....	22
II.1. Les persubstitutions.....	22
II.1.1. Modification de toutes les positions hydroxyles en 2, 3 et 6.....	22
II.1.2. Permodification des hydroxyles primaires.....	23
II.1.2.1. Les CDs per-6-halogénées.....	23
II.2. Les monosubstitutions.....	24
II.2.1. Monosubstitution de la face primaire.....	24
II.2.2. Monosubstitution de la face secondaire.....	25
II.2.2.1. Monosubstitution d'un des hydroxyles en position 2.....	26
II.2.2.2. Monosubstitution d'un des hydroxyles en position 3.....	28
III. Les CDs amphiphiles.....	29
III.1. Qu'est qu'une CD amphiphile.....	29
III.2. Classification et méthodes de synthèse des CDs amphiphiles.....	29
III.2.1. CDs amphiphiles avec poly substitutions.....	29
III.2.1.1. CDs amphiphiles forme méduse.....	30
III.2.1.2. CDs amphiphiles forme jupe.....	32
III.2.1.3. CDs amphiphiles forme bouquet.....	33
III.2.2. CDs amphiphiles avec mono-substitutions.....	35
IV. Synthèse des CDs amphiphile sulfatées et fluorées.....	36
IV.1. Synthèse des CDs anioniques sulfatées.....	36
IV.2. Synthèse des CDs anioniques fluorées.....	37
V. La synthèse des dérivées di-, tri- et tétra-substitués.....	39
V.1. Les CD di-substituées.....	40
V.2. Les CDs tri- et tétra-substitués.....	41
VI. Applications des CDs amphiphiles dans le transfert de gène.....	42
V.1. Mécanisme de fonctionnement.....	42

VII. Conclusion partielle.....	44
Conclusion générale.....	45
<b>Partie II : Résultats et discussion.....</b>	<b>47</b>
<i>Chapitre III : Travail effectué.....</i>	<i>47</i>
<b>Introduction.....</b>	<b>47</b>
I. Choix des CDs amphiphiles cibles.....	47
II. Purification des solvants.....	49
II.1. Purification du méthanol.....	49
II.2. Purification du dichlorométhane.....	49
II.3. Caractéristiques des produits utilisés.....	50
III. Synthèses des CDs amphiphiles.....	50
III.1. Monotosylation : synthèse de la $\beta$ -CD-OTs.....	50
III.2. Monoazidation et monoamination.....	51
III.2.1. Synthèse de l'amino-CD via l'azido.....	52
III.2.2. Synthèse de la $\beta$ -CD-NH <sub>2</sub> -bras espaceur.....	53
III.3. Synthèse des fragments des différents synthons.....	53
III.3.1. Estérification de la glycine.....	54
III.3.2. Synthèse des dipeptides.....	55
III.3.2.1. Couplage Ft-amino acide-glycine-COOME.....	55
III.3.2.1.1. Couplage acide gallique-gly-COOME.....	56
III.3.2.2. Déprotection du groupe phtalimido des dipeptides.....	57
III.3.3. Synthèse des petidolipides.....	59
III.3.3.1. Couplage acide oléique et H <sub>2</sub> N-amino acide-gly-COOME.....	59
III.3.3.1.1. Couplage acide oléique et acide gallique-gly-COOME.....	61
III.3.3.2. Hydrolyse des synthons-COOME.....	61
III.3.3.2.1. Hydrolyse du synthon acide oléique-gallique-gly-COOME.....	63
IV. Synthèse des cyclodextrines amphiphiles.....	63
IV.1. Synthèse CD amphiphile 1.....	64

IV.2. Synthèse CD amphiphile 2.....	64
IV.3. Synthèse CD amphiphile 3.....	65
IV.4. Synthèse CD amphiphile 4.....	66
V. Partie II : Complexation des CDs natives et amphiphiles.....	67
V.1. Etude du complexe d'inclusion en solution par spectroscopie UV.....	67
V.1.1. Choix des molécules hôtes et invitées.....	67
V.1.2. Protocole.....	68
V.1.3. Détermination de la stœchiométrie du complexe d'inclusion.....	69
V.1.4. Détermination de la constante de formation $K_a$ .....	71
V.1.5. Complexe d'inclusion à base de CD amphiphile (27).....	72
V.2. Etude du complexe d'inclusion par spectroscopie IR.....	73
V.2.1. Choix de la molécule invitée.....	73
V.2.2. Protocole de l'inclusion en mode pâteux.....	73
V.2.3. Résultats et discussions.....	74
V.2.3.1. Complexe à base de CD native.....	74
V.2.3.2. Complexe à base de CD amphiphile.....	78
Conclusion générale et perspectives.....	83
<b>Chapitre IV : Partie expérimentale</b> .....	<b>85</b>
Références bibliographique.....	109
Annexe.....	114

## Introduction générale :

L'univers tels que nous le percevons est sous-tendu dans son ensemble par les lois qui régissent la matière. Particules subatomiques s'agrégeant en atomes, atomes formant des molécules, molécules se rassemblant en constructions supramoléculaires, puis en cellules et enfin en organismes vivants : telle est la longue chaîne de l'élémentaire au complexe que nous découvrons peu à peu.

Située aux interfaces de la chimie, de la physique et de la biologie ; la chimie supramoléculaire<sup>1</sup>, a connu un essor considérable au cours de ces deux dernières décennies. Alors que la chimie est essentiellement dominée par les liaisons covalentes, la chimie supramoléculaire prolonge ce concept aux interactions intermoléculaires non covalentes, entre deux ou plusieurs molécules dans le but de créer une association ou une structure organisée. Ainsi, cette chimie est basée sur des interactions entre molécules, où aucune liaison covalente n'est établie entre les espèces qui interagissent<sup>2</sup>.

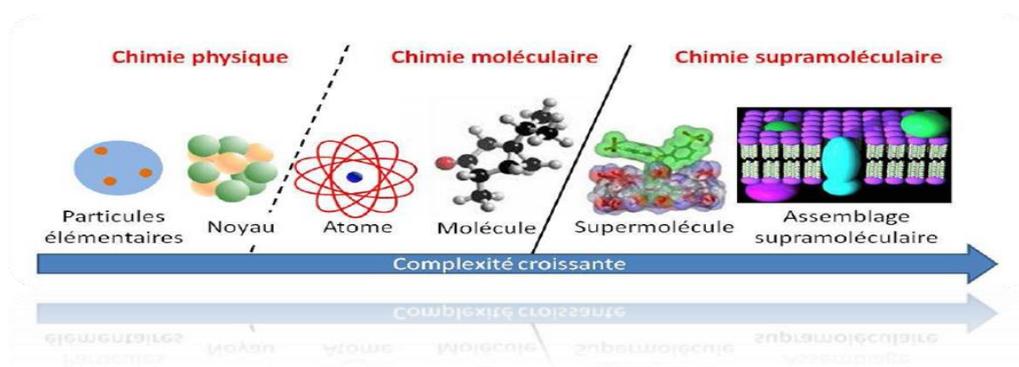


Figure 1 : Répartition des domaines de la chimie en fonction du degré de complexité des structures.

Une définition bien adaptée à cette discipline a ainsi été donnée par Jean-Marie Lehn : la chimie supramoléculaire est alors définie comme « la chimie des assemblages de molécules et des liaisons intermoléculaires » ou « la chimie au delà de la molécule individuelle »<sup>3</sup>.

Une grande partie des interactions gouvernant cette chimie, peut être regroupées en deux grandes familles : les interactions de types hôte-invité et les interactions récepteur-substrat<sup>4</sup>.

<sup>1</sup> J.W.Steed, J.L.Atwood, *Supramolecular chemistry*, 2000, John Wiley & Sons Ltd, Chichester, England, 87.

<sup>2</sup> J.M.Lehn, *Angew.Chem. Int. Ed. Engl.*, 1988, 27, 89.

<sup>3</sup> J.M.Lehn, *Supramolecular Chemistry Concepts and Perspectives*, 1995, Weinheim VCH, New York.

<sup>4</sup> H.J.Schneider, A.Yatsimirsky, *Principles and Methods in Supramolecular Chemistry*, 2000, John Wiley & Sons Ltd, Chichester, England.

## Problématique :

A ce jour l'utilité des cyclodextrines<sup>5</sup>(CDs) comme adjuvant pharmaceutique n'est plus à démontrer, du fait de leur pouvoir complexant<sup>6</sup> et particulièrement dans la formulation médicamenteuses.

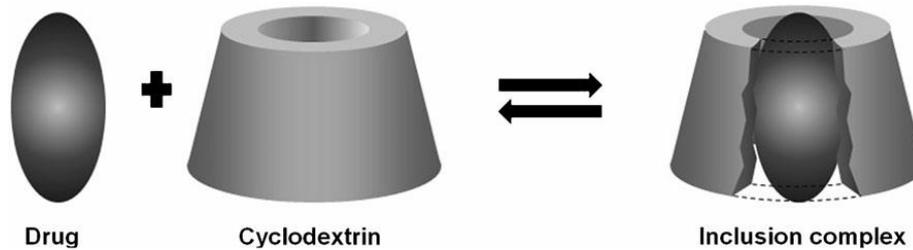


Figure 2 : Représentation schématique de l'interaction d'une drogue avec la CD pour former un complexe d'inclusion<sup>7</sup>.

L'inclusion du principe actif (PA) dans la cavité peut en effet, en améliorer l'activité thérapeutique et d'éviter d'imprégner d'autres organes. Cependant, l'hydro-solubilité plus ou moins importante des CDs natives posent problème, lorsqu'elles doivent être utilisées en milieu aqueux. Une solution à ce problème est de modifier le comportement de ces oligosaccharides, en agissant sur les diverses sous-unités, leur propriétés peuvent varier allant d'une meilleure solubilité dans l'eau à un caractère amphiphile par le greffage de molécules hydrophobes, afin d'augmenter l'efficacité de la délivrance des médicaments à travers les membranes biologiques.

La solubilisation de principes actifs hydrophobes à l'échelle moléculaire par la formation de complexes d'inclusion avec la cavité des CDs est un bon moyen pour augmenter leur stabilité et leur biodisponibilité. Cependant, puisque la dissociation s'effectue dès la dilution, la libération précoce peut survenir pendant l'administration au patient.

Les simples complexes d'inclusion CD-molécule bioactive, semblent donc inefficaces pour des libérations prolongées et contrôlées de PA. La modification chimique de ces macrocycles, leur permet de s'auto-organiser en assemblages supramoléculaires.

En fonction de la position des groupements lipophiles, de leur nature et de la longueur de la chaîne, les CDs amphiphiles peuvent s'organiser en vésicules, nanoparticules solide-lipides (SLN), nanosphères, cristaux liquides ou en systèmes micellaires.

<sup>5</sup> J.Szejtli, *Chem. Rev.*, **1998**, 98, 1743.

<sup>6</sup> H.Prigsheim, *Chemistry of the saccharides*, **1932**, 280.

<sup>7</sup> P.J.Salústio, P.Pontes, C.Conduto, I.Sanches, C.Carvalho, J.Arrais, M.Helena, C.Marques, *Pharm. Sci. Tech.*, **2011**, 12, 1276.

## Présentation du sujet et objectifs :

Pour obtenir une libération plus lente dans le temps, les CDs doivent être modifiées par des groupements hydrophobes résistants en milieu biologique et capables de former des nanoparticules stables dans le temps. La mise au point de nouveaux vecteurs est une de nos préoccupations majeures.

L'approche consiste à combiner les capacités de transport de systèmes organisés lipidiques (liposomes, vésicules, micelles...) à la sélectivité des CDs vis-à-vis de la taille de la molécule à transporter.

L'objectif de ce travail est de synthétiser, de caractériser et d'évaluer les propriétés de complexation de nouvelles CDs amphiphiles monosubstituées.

La préparation de composés hybrides comportant une CD normale ou modifiée, greffée à une molécule très hydrophobe, a pour but de combiner les propriétés d'organisation de structures lipidiques à la spécificité de taille de la cavité des CDs, pour y inclure de petites molécules organiques hydrophobes. La finalité de cette étude est de concevoir de nouveaux vecteurs pour le transport de principes actifs.

Pour obtenir une série raisonnée de ces nouveaux conjugués bi-fonctionnels de type CD-espaceur-hydrophobe, il serait possible de jouer sur plusieurs paramètres :

- **La modification chimique des groupes hydroxyles libres de la CD,**
- **présence ou l'absence de bras espaceur,**
- **La nature du groupement hydrophobe.**

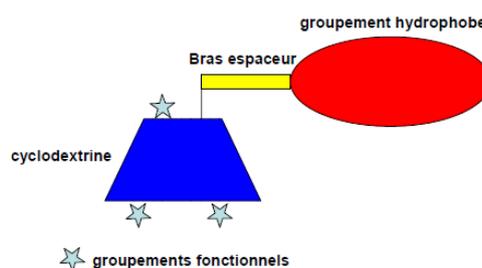


Figure 3 : Représentation schématique d'un modèle de cyclodextrine amphiphile.

Le plan de ce mémoire s'articule autour de deux grandes parties, dont la première est une synthèse bibliographique, tandis que la deuxième nommée « Travail effectué » qui détaillera nos résultats obtenus au sein du laboratoire ainsi que les données expérimentales relatives à chaque synthèse.

Pour la première partie ; La *synthèse bibliographique* s'étendra sur deux chapitres :  
Lors du premier chapitre, nous verrons en premier lieu, la synthèse des recherches bibliographiques, concernant certains éléments théoriques relatif aux processus d'association, par interaction d'inclusion impliquant les CDs avec d'autres molécules dites invitées, ainsi que les propriétés qui en découlent, mais avant ça nous avons voulu donner un aperçu sur les principales caractéristiques de ces molécules cages et ses différents développements en chimie supramoléculaire.

Le deuxième chapitre de ce mémoire, traitera les différentes méthodes de synthèse des CDs amphiphiles portant de multiples chaînes hydrophobes, résistant en milieu biologique et capable de former des nanoparticules stables dans le temps sur la face primaire, sur la face secondaire ou sur les 2 faces en même temps tout en prouvant que la cavité de ces macrocycles conservait sa capacité d'inclusion.

Le défi à relever dans cette partie est celui de développer des méthodes efficaces, pour modifier de manière sélective les nombreuses fonctions hydroxyles portés par les CDs (méthylation ou non de ces groupements, présence ou absence du bras espaceur...). La structure de ces molécules sera ensuite caractériser par RMN.

La dernière section de chaque chapitre de ce manuscrit englobe les données expérimentales, relatives aux différentes synthèses. Nous terminerons ce manuscrit par une conclusion générale contenant les perspectives qui s'ouvrent pour la poursuite de notre recherche.

### ***Journée de Sensibilisation Anti-addiction :***

Dans le but d'être des scientifiques non isolés du courant général de notre société, dans le but d'être des chimistes non isolés dans nos laboratoires avec nos molécules, dans le but de relier la recherche scientifique et la vie réelle, nous avons décidé de réaliser une journée de sensibilisation anti-addiction, auprès du personnel hospitalier, les universités, les écoles, les lycées, les gens qui passent dans la rue.....tout le monde ! En distribuant des formulaires et des affiches.

Par manque de temps, nous n'avons pas pu réaliser cet objectif, néanmoins nous laissons cette idée dans notre manuscrit, afin d'inspirer d'autres étudiants qui travailleront sur le tabagisme ou autre forme d'addiction.

## Chapitre I : Présentation générale des cyclodextrines

### Introduction :

Parmi tous les hôtes potentiels (cryptands<sup>8</sup>, les éthers couronnes<sup>9</sup>, les calixarènes<sup>10</sup>...), les CDs semblent être très intéressantes pour plusieurs raisons : Ce sont des produits "semi naturels" issus d'une simple conversion enzymatique de l'amidon.

*"Cyclodextrins are all-purpose molecular containers for organic, inorganic, organometallic, and metalloorganic compounds that may be neutral, cationic, anionic, or even radical"<sup>11</sup>.*

### I- Présentation global des CDs :

#### I.1.Historique :

Les CDs, dans leur forme naturelle, sont connus depuis plus d'un siècle. Depuis une quarantaine d'années, elles font parties de notre vie quotidienne. Leurs dérivées, notamment sont d'une grande importance pour le développement des médicaments et des produits cosmétiques, entre autres. L'histoire des CDs peut se partager en deux périodes :

**La période de découverte** : La première publication concernant les CDs remonte à 1891, par le français A. Villiers, où il rapporte l'obtention de 3g d'une substance cristalline, à partir de la digestion bactériologique de 1 kg d'amidon<sup>12</sup>. Il détermine la composition de cette substance comme étant ((C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>O<sub>5</sub>)<sub>2</sub>.3H<sub>2</sub>O) et met en évidence la présence de deux produits (probablement l'α- et la β-CD). Il les baptise « celluloses » en raison de la similarité entre leurs propriétés physico-chimiques et celles de la cellulose.

La souche microbienne responsable de leur formation est isolée 20 ans plus tard par F. Schradinger qu'il dénomme alors *Bacillus Macerans*<sup>13</sup>. Il décrit le mode de préparation et de purification de ces dextrines, et les nomment « dextrines de Schradinger »<sup>14</sup>.

---

<sup>8</sup> X.X.Zhang, R.M.Izatt, J.S.Bradshaw, K.E.Krakowiak, *Coord. Chem. Rev.*, **1998**, 174, 179.

<sup>9</sup> J.W.Steed, *Coord. Chem. Rev.*, **2000**, 215, 171.

<sup>10</sup> C.Wieser, C.B.Dieleman, D.Matt, *Coord. Chem. Rev.*, **1997**, 165, 93.

<sup>11</sup> D.A.Fulton, J.F.Stoddart, *bioconjugate chemistry*, **2001**, 12, 655.

<sup>12</sup> A.Villiers, *Arcad.Sci*, **1891**, 112, 536.

<sup>13</sup> F.Schradinger, *Wien. Klin. Wochschr.*, **1904**, 17, 207.

<sup>14</sup> F.Schradinger, *Zentralbl. Bakteriol. Parasitenkd.*, **1905**, 14, 772.

Il parvient à distinguer les deux produits, désignés  $\alpha$ - et  $\beta$ -dextrines, par leur capacité à former des complexes avec des molécules de diiode de couleur différente, respectivement gris-vert et rouge-pourpre<sup>15</sup>.

**Etudes des CDs et de leurs complexes :** C'est dans les années 30, que la structure des CDs commence à être élucidée. En effet, à cette époque *K.Freundenberg et col.*, arrivent à la conclusion que les «dextrines de Schradinger» sont des oligosaccharides cyclique<sup>16</sup>, constitués d'un enchainement d'unités glucopyranose, l' $\alpha$ - et le  $\beta$ -CD possédant respectivement 6 et 7 unités, liées par des liaisons  $\alpha$ -(1,4) glycosidiques<sup>17</sup>. En 1948, le  $\gamma$ -CD est découverte et sa structure élucidée par cette même équipe grâce aux rayons X<sup>18</sup>.

## I.2. Structures et propriétés :

Les CDs sont obtenus à grande échelle par la dégradation enzymatique de l'amidon, par une enzyme spécifique : la CD-glucosyltransférase ou CGTase d'origine bactérienne (*Bacillus macerans*, *Alkalophylic bacillus*,...). Lors de ce processus, la structure en hélice de l'amidon est dégradée en plusieurs fragments de longueurs inégales, puis il s'ensuit une cyclisation intramoléculaire conduisant à la formation de la structure de ces oligosaccharides.

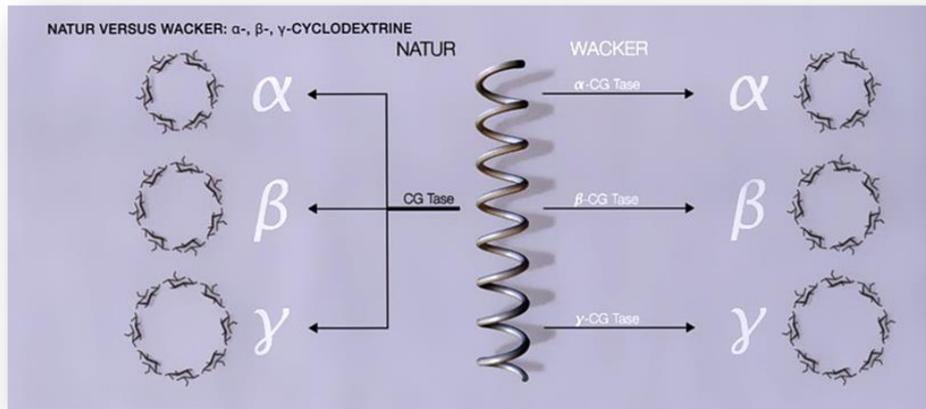


Figure 4 : Représentation schématique de la formation des CDs.

Par ce traitement, on obtient majoritairement trois composés cycliques nommés  $\alpha$ ,  $\beta$ - et  $\gamma$ -CDs comprenant respectivement six, sept ou huit unités de D-glucose.

<sup>15</sup> F.Schradinger, *Zentralbl. Bakteriolog. Parasitenkd.*, **1911**, 29, 188.

<sup>16</sup> K.Freundenberg, K.Blomquist, L.Ewald, K.Stoff, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.*, **1936**, 69, 1258.

<sup>17</sup> K.Freundenberg, M. Meyer-Delius, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.*, **1938**, 71, 1596.

<sup>18</sup> K.Freundenberg, F.Z.Cramer, *Naturforsch.*, **1948**, 3b, 464.

Cette conversion enzymatique produit également des produits minoritaires souvent appelés CDs géantes pouvant contenir jusqu'à 100 unités de D-glucose<sup>19</sup>.

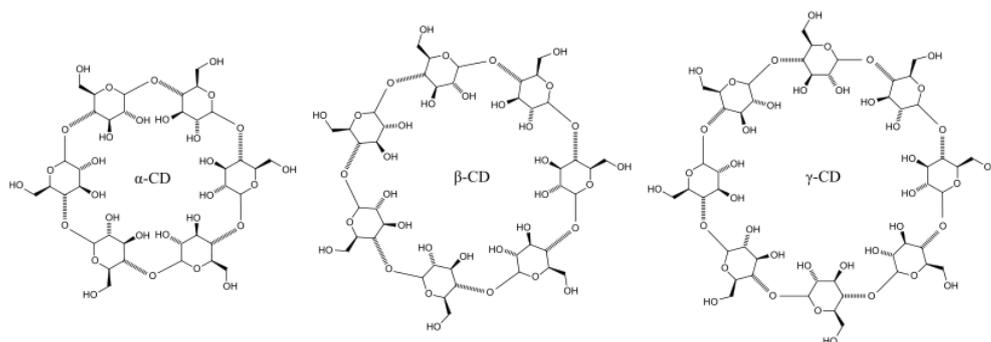


Figure 5 : Structures chimiques des  $\alpha$ -,  $\beta$ - et  $\gamma$ -CDs.

Grâce aux structures tridimensionnelles obtenues par diffraction des rayons X, la forme tronconique des CDs a pu être déterminée<sup>20</sup>, ainsi que le réseau de liaisons hydrogènes inter-glucosidiques des hydroxyles primaires et des hydroxyles secondaires. Chaque unité de glucose se trouve ainsi dans la conformation “chaise”<sup>21</sup>. Ainsi les CDs sont des molécules chirales, dans lesquelles chaque unité de glucose possède cinq centres asymétriques. Cette conformation rigide donne alors à ces macrocycles leur forme tronconique caractéristique.

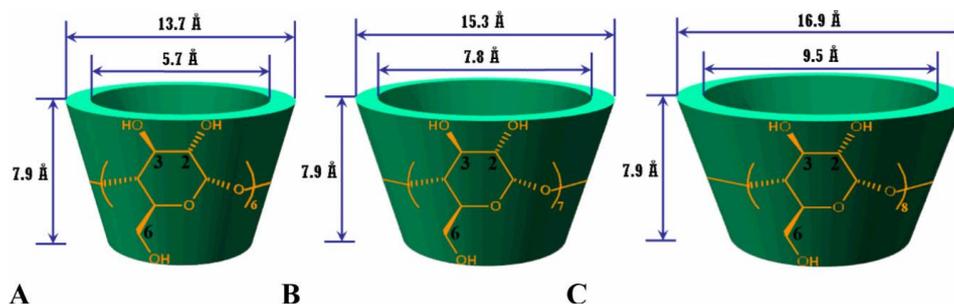


Figure 6 : Structure tridimensionnelles des CDs naturelles ( $\alpha$ -/ $\beta$ - et  $\gamma$ -CD de gauche à droite)<sup>22</sup>.

La structure du cône est formée autour d'un squelette carboné construit par les unités de glucoses, reliées entre elles par les atomes d'oxygène glucosidiques. Ce squelette crée une cavité moléculaire possédant des propriétés très originales dues aux positions spatiales des différents groupements constitutifs de la CD.

<sup>19</sup> K.Freudenberg, G.Blomquist, L.Ewald, K.Soff, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.*, **1936**, 69, 1258.

<sup>20</sup> W.Saenger, J.Jacob, K.Gessler, T.Steiner, D.Hoffmann, H.Sanbe, K.Koizumi, S.M.Smith, T.Takaha, *Chem. Rev.*, **1998**, 98, 1787.

<sup>21</sup> G.Raffaini, F.Ganazzoli, *Chem. Phys.*, **2007**, 333, 128.

<sup>22</sup> Jianxiang. Zhang, X.Ma.Peter, *Adv Drug Deliv Rev.*, **2013**, 65, 1215.

Tous les hydroxyles secondaires (OH-2, OH-3) sont situés sur le côté le plus grand du tronc conique (face secondaire) alors que les hydroxyles primaires (OH-6) sont localisés sur le petit côté (face primaire). De plus, la présence de ces groupements hydroxyles sur les deux bords de la couronne, confère à la partie extérieure de la CD un caractère hydrophile (surface en contact avec le solvant) ceci favorise sa solubilisation dans des solvants très polaires, en revanche l'intérieur de la cavité, tapissée d'atomes d'hydrogène (H-3, H-5, H-6) et d'oxygène interglycosidique (O-4), est hydrophobe (surface en contact avec la molécule invitée)<sup>23</sup>.

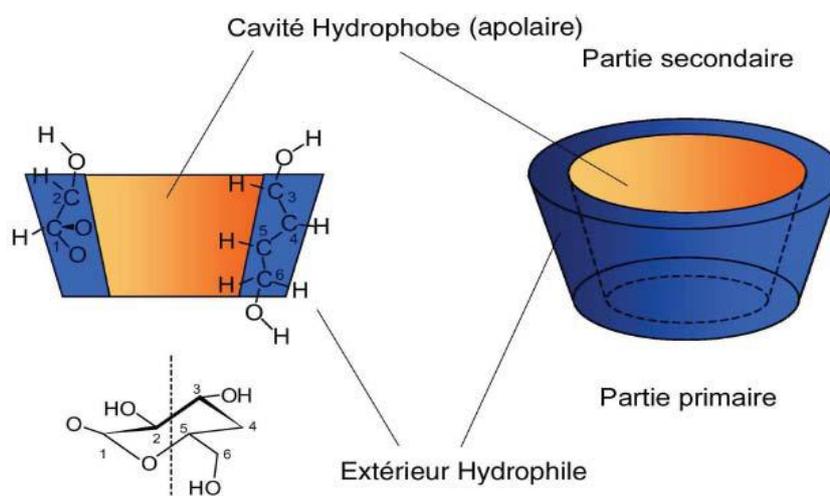


Figure 7 : Représentation tridimensionnelle d'une CD native<sup>24</sup>.

Les propriétés physico-chimiques essentielles et les dimensions moléculaires des trois principales CDs sont données dans le Tableau (1), qui montre une progression régulière des principales caractéristiques en fonction du nombre d'unité de glucose de la CD.

Néanmoins la solubilité dans l'eau de la  $\beta$ -CD fait figure d'exception puisqu'elle est extrêmement faible comparée à celle des autres CDs. Cette faible valeur 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  $\beta$ -CD plus rigide que les molécules de  $\alpha$ - ou  $\gamma$ -CDs<sup>25</sup>.

<sup>23</sup> J.Szejtli, *comprehensive supramolecular chemistry*, **1996**, 3, 57.

<sup>24</sup> E.M.M.Del Valle, *Process Biochemistry*, **2004**, 39, 1033.

<sup>25</sup> J.Szejtli, *Chem. Rev*, **1998**, 98, 1743.

**Tableau 1 : Caractéristiques des CDs les plus courantes<sup>26</sup>.**

	$\alpha$ -CD	$\beta$ -CD	$\gamma$ -CD
Nombre d'unités glycosidiques	6	7	8
Formule brute	C <sub>36</sub> H <sub>60</sub> O <sub>30</sub>	C <sub>42</sub> H <sub>70</sub> O <sub>35</sub>	C <sub>48</sub> H <sub>80</sub> O <sub>40</sub>
Masse molaire (g/mol)	978,85	1134,99	1297,14
Solubilité dans l'eau (mol/dm <sup>3</sup> )	0,1211	0,0163	0,168
Diamètre externe de la cavité (Å)	14.6 ± 0.4	15.4 ± 0.4	17.5 ± 0.4
longueur de la cavité (Å)	7.9 ± 0.1	7.9 ± 0.1	7.9 ± 0.1
Volume de la cavité (Å <sup>3</sup> )	174	262	427
Pouvoir rotatoire spécifique [ $\alpha$ ] <sub>D</sub> 25°C	150 ± 0.5	162.5 ± 0.5	177.4 ± 0.5
pKa à 25°C	12.332	12.202	12.081
Diamètre interne de la cavité (Å)	4,7-5,3	6,0-6,5	7,5-8,3
$\Delta H^\circ$ (solution) (KJ/mol)	32,1	34,8	32,4
$\Delta S^\circ$ (solution) (J/mol*K)	57,8	49,0	61,6

## II- Complexes d'inclusion :

Les CDs sont souvent utilisés en reconnaissances chirale des molécules invitées (guest) ou bien comme catalyseurs<sup>27</sup>. Par ailleurs, étant donné leur structure particulière de « *piège moléculaires* » et la dualité de leur polarité découverte par *Freudenberg et col*, les CDs sont capables d'augmenter la solubilité aqueuse d'une substance apolaire en formant des complexes d'inclusion.

<sup>26</sup> D.W.Fitzpatrick, H.J.Ulrich, *Macrocyclic chemistry: new reaserch developpements*, **2010**, 223.

<sup>27</sup> (a) F.Hapiot, S.Tilloy, E.Monflier, *Chem. Rev.* **2006**, *106*, 767; (b) E.Engeldinger, D.Armspach, D.Matt, *Chem. Rev.* **2003**, *103*, 4147. (c) J.M.Haider, Z.Pikramenou, *Chem. Soc. Rev.* **2005**, *34*, 120; (d) E.Rizzarelli, G.Vecchio, *Coord. Chem. Rev.* **1999**, *188*, 343.

## II.1. L'inclusion :

Les CDs sont, de ce fait, des composés de choix pour l'inclusion de molécules hydrophobes qui doivent satisfaire à priori deux conditions<sup>28</sup> : Comporter un groupement moins polaire que l'eau et de taille adapté aux dimensions de la cavité hôte.

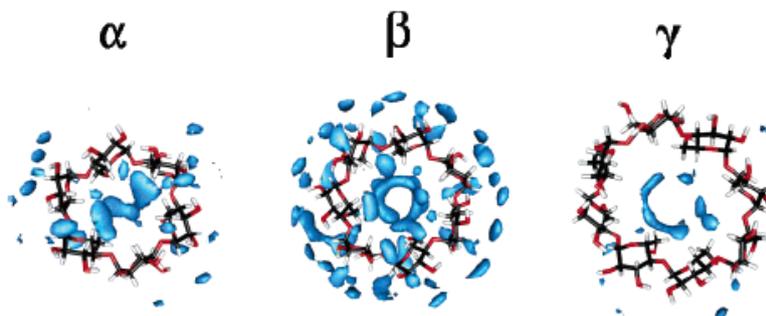


Figure 8 : Densités de probabilité de présence des molécules d'eau au voisinage des CDs.

Car, une molécule trop petite pouvant passer facilement au travers de la cavité n'est que peu ou pas du tout complexée. Seul un ajustement spatial étroit entre l'hôte et l'invité conduit à des complexes d'inclusion stables<sup>29</sup>.

Les résultats obtenus d'après la formation d'un complexe d'inclusion entre une CD et une molécule invitée confèrent à ce dernier des propriétés physico-chimiques et biologiques différentes de celles de la CD et de la molécule incluse prises séparément :

- Les propriétés spectrales des molécules sont modifiées, comme par exemple, décalage et élargissement des déplacements chimiques de l'invité en RMN, ceci est due à l'anisotropie de l'environnement. Aussi, lorsqu'une molécule achirale est incluse dans la cavité chirale de la CD, le complexe devient optiquement actif. Les spectres UV sont très modifiés.
- La réactivité de la molécule invitée diminue souvent.
- La diffusion et la volatilité de la molécule incluse sont fortement diminuées.
- La molécule invitée initialement hydrophobe devient, sous forme de complexe, hydrophile. Sa mobilité en chromatographie sera changée.

<sup>28</sup> P.Farmer, M.M.Meier, M.Luiz, B.Szpoganicz, *J. Incl. Phenom*, **2001**, 40, 291.

<sup>29</sup> F.Djedaini-Pilard, B.Perly, S.Dupas, M.Miocque, H.Galons, *Tetrahedron*, **1993**, 34, 1145.

## II.2. Energies mises en cause :

Depuis que les complexes d'inclusion utilisant les CDs sont connues, les interactions intermoléculaires responsables de leur stabilité ont souvent été discutés et critiqués. En fait, plusieurs contributions énergétiques<sup>30</sup>, ont été mises en évidence pour expliquer les interactions en jeu lors de la formation de ces structures supramoléculaires.

Ainsi une CD qui complexe une molécule invitée, dans un certain solvant peut n'avoir aucune activité complexante dans un autre solvant<sup>31</sup>. En plus, l'action simultanée de plusieurs interactions rend effective l'inclusion spécifique, ces effets comprennent :

- Formation de liaisons hydrogène entre l'hôte et l'invité.
- Interactions de Van der Waals.
- Interactions hydrophobes, dipôle-dipôle, de transfert de charges et électrostatiques.
- Relargage de molécules d'eau de la cavité de la CD.
- Relargage de molécules de solvant de la cavité de la CD.

Ce phénomène d'inclusion ne fait intervenir aucune liaison covalente mais uniquement des forces telles que les liaisons hydrogène ou des interactions de Van der Waals. La théorie la plus acceptée est l'interaction de Van Der Walls<sup>32</sup> qui serait prédominante. Le substrat est lié à la CD par des interactions faibles avec les hydrogènes H<sub>3</sub> et H<sub>5</sub>. D'après cette théorie, si la forme générale de la molécule invitée complémente parfaitement la cavité, la complexation est favorisée. Une autre théorie, uniquement applicable aux composés polaires, évoque la formation de liaisons hydrogènes entre les hydroxyles de la CD et les hétéroatomes du substrat<sup>33</sup>.

## II.3. Caractéristiques des complexes d'inclusion :

Le complexe d'inclusion est formé à partir d'une CD, qui inclut plus ou moins profondément un substrat moléculaire ou ionique sous l'effet d'interactions faibles

---

<sup>30</sup> A. John Wiley, Inc. Hoboken, 2011.

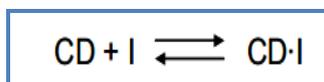
<sup>31</sup> E. Fisher, *Chem. Ber.* **1894**, 27, 2985.

<sup>32</sup> W. Linert, L. Han, I. Lukovits, *Chem. Phys.* **1989**, 139, 441.

<sup>33</sup> J.H. Park, T.H. Nah, *J. Chem. Soc. Perkin Trans.2*, **1994**, 1359.

Une ou plusieurs molécules peuvent être encapsulées dans une, deux, et même parfois trois molécules de CD. Les tailles respectives de la CD et du substrat conditionnent généralement la stœchiométrie du complexe<sup>34</sup>.

L'association d'une CD et d'une molécule invitée I ainsi que la dissociation du complexe formé CD-I est gouverné par un équilibre thermodynamique de la forme<sup>35</sup> :



La stabilité du complexe peut être exprimée par la constante de stabilité  $K_S$  ou la constante de dissociation  $K_{diss}$  :

$$K_S = 1 / K_{diss} = [\text{CD} \cdot \text{I}] / [\text{CD}] * [\text{I}] \dots \dots \dots (1)$$

CD : représente la molécule hôte soit la CD, I : la molécule invitée,  $K_S$  : est la constante de stabilité du complexe pour un rapport entre la CD et la molécule invitée I de 1:1<sup>36</sup>,  $K_{diss}$  : est la constante de dissociation du complexe CD-I.

Le cas le plus fréquent des complexes CD-I formés sont du type 1:1. Toutefois, il existe aussi des complexes d'inclusion, qui adoptent divers arrangements structuraux avec une stœchiométrie cage : invitée 2:1<sup>37</sup>, 1:2, 2:2...ou d'ordre supérieur.

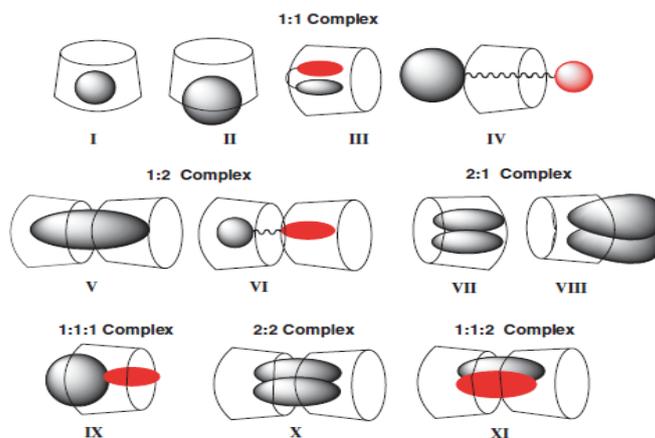


Figure 9 : Représentation schématique des différents types de complexes d'inclusion de CD<sup>38</sup>.

<sup>34</sup> W.Saenger, *Angew. Chem. Int.*, **1980**, 19, 344.

<sup>35</sup> K.Connors, *Chem. Rev.*, **1997**, 97, 1325.

<sup>36</sup> H.Connors, *J. Pharm. Sci.*, **1995**, 84, 843.

<sup>37</sup> F.Cramer, W.Saenger, H.Spatz, *J. Am. Chem. Soc.*, **1967**, 89, 14.

<sup>38</sup> A.Douhal, Chemical, physical and biological aspects of confined systems, Cyclodextrine Materials , Phtochemistry Photophysics and photobiology, *Elsevier*, **2006**, 1, 15.

### II.3.1. Observation du phénomène de complexation par RMN :

La RMN est une technique de choix, qui montre sans ambiguïté un phénomène de complexation entre deux molécules, par perturbation de leur environnement électronique et donc modification des fréquences de résonance de certains noyaux. Ainsi, dans la majorité des cas, les protons H3 et H5 de la CD subissent un décalage vers les hauts champs lorsqu'une molécule invitée est complexée par la CD<sup>39</sup>. Ce décalage est plus notable pour les protons H5 que pour les protons H3 du fait de la structure tronconique rigide de la CD. Les protons H1, H2 et H4 situés à l'extérieur de la cavité ne présentent pour leur part qu'un décalage très limité à cause de leur très faible interaction avec la molécule invitée<sup>40</sup>. Le spectre de la molécule invitée sera, quant à lui, généralement décalé vers les bas champs par rapport à la molécule libre<sup>41</sup>.

### II.4. Etude des complexes d'inclusions :

#### II.4.1. Détermination de la stœchiométrie :

La méthode des variations continues (ou méthode de Job)<sup>42</sup>, permet de déterminer la stœchiométrie d'un complexe en solution. Le procédé consiste à préparer une série de mélanges en proportions variables, de la molécule invitée par rapport à la molécule hôte, il faut juste respecter les 2 conditions suivantes : les concentrations initiales des solutions mères utilisées doivent être identiques et que le mélange de ces 2 solutions soit à volume constant.

Un rapport  $r$ , compris entre 0 et 1, est calculé pour chaque solution préparée :

$$r = \frac{[PA]}{[PA] + [CD]} \dots \dots \dots (2)$$

Avec : [PA] : Concentration en principe actif, [CD] : Concentration en CD,  $r$  : la fraction molaire de la molécule invitée ( $0 < r < 1$ ).

La stœchiométrie peut être déterminée en traçant la quantité  $P^*[PA]$  en fonction du rapport  $r$ . Une courbe en cloche est alors obtenue et la valeur de  $r$  au maximum de la courbe, donne la stœchiométrie du complexe.

<sup>39</sup> A.Villiers, *Rend. Acad. Sci.*, **1891**, 112, 536.

<sup>40</sup> G.Wenz, B.Keller, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1992**, 31, 197.

<sup>41</sup> H.Saito, H.Yonemura, H.Nakamura, T.Matsuo, *Chem. Lett.*, **1990**, 535.

<sup>42</sup> P.C.Job, *R. Acad. Sci.*, **1925**, 918.

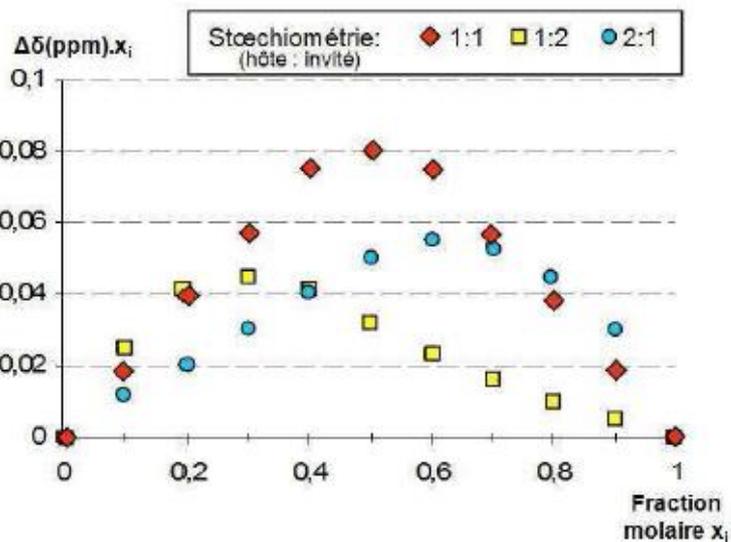


Figure 10 : Diagrammes de Job obtenus selon la stœchiométrie du complexe.

#### II.4.2. Détermination de la constante d'association $K_a$ :

Les méthodes de linéarisation sont conçues pour produire une relation linéaire entre la variation de la propriété observée (paramètre d'analyse) et  $K_a$ . Les trois méthodes graphiques sont : la méthode Benesi-Hildebrand<sup>43</sup>, la méthode Scatchard (Foster-Fyfe)<sup>44</sup>, et la méthode Rose-Drago<sup>45</sup>.

##### II.4.2.1. Détermination de $k_a$ par méthode graphique : La technique de *Benesi-Hildebrand* :

Historiquement, cette méthode a été développée par Benesi et Hildebrand pour étudier des complexes par spectrométrie UV en 1949. La constante d'association est déterminée en observant la différence d'absorption entre la molécule complexée et la molécule libre. Le procédé consiste à suivre l'absorbance d'un principe actif lorsque la CD est ajoutée.

<sup>43</sup> H.A.Benesi, J.H.Hildebrand, *J. Am. Chem. Soc.*, **1949**, 71, 2703.

<sup>44</sup> R.Foster, C.A.Fyfe, *spectroscopy. Trans. Faraday Soc.*, **1965**, 61, 1626.

<sup>45</sup> N.J.Rose, R.S.Drago, *J. Am. Chem. Soc.*, **1959**, 81, 6138.

Ce procédé permet de déterminer la constante d'association d'un complexe de stœchiométrie 1:1, à condition qu'un des composés soit en très large excès par rapport à l'autre, par l'équation suivante<sup>46</sup> :

$$\frac{1}{\Delta A} = \frac{1}{[PA] \times K \times \Delta \varepsilon \times [CD]} + \frac{1}{[PA] \times \Delta \varepsilon} \dots\dots\dots(3)$$

Avec :  $\Delta A$  : Différence d'absorption entre la molécule complexée et la molécule libre,

$\Delta \varepsilon$  : Différence du coefficient d'extinction entre la molécule complexée et la molécule libre,

$[PA]$  : Concentration en principe actif,  $[CD]$  : Concentration en CD.

La constante d'association peut alors être déterminée en traçant  $1/\Delta A$  en fonction de  $1/[PA]$ .  $\Delta \varepsilon$  est alors donné par l'ordonnée à l'origine et la constante d'association  $K_a$  est calculée à partir de la pente de la droite.

L'équation de Benesis-Hildebrand a ensuite été adaptée pour des études par RMN<sup>47</sup> :

$$\frac{1}{\Delta \delta_{obs}} = \frac{1}{K_a \times \Delta \delta_c \times [CD]} + \frac{1}{\Delta \delta_c} \dots\dots\dots(4)$$

Avec :

$\Delta \delta_{obs}$  : Variation des déplacements chimiques de la molécule invitée pour une concentration donnée en CD,

$\Delta \delta_c$  : Variation des déplacements chimiques entre le principe actif complexé et le principe actif libre.

#### II.4.2.2. Détermination de $k_a$ par méthode itérative :

Une autre approche plus générale, consiste à utiliser les données expérimentales ( $\Delta \delta_{obs}$ ) acquises pour déterminer la stœchiométrie, avec la méthode des variations continues, et à les traiter mathématiquement<sup>48</sup>.

<sup>46</sup> S.Gibaud, et al, *International journal of pharmaceuticals*, **2005**, 306, 107.

<sup>47</sup> Y.Bakkour, et al, *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, **2006**, 54, 109.

<sup>48</sup> L.Fielding, S.C.McKellar, A.J.Florence, *Magn.Reson.Chem*, **2011**, 49, 405.

Les données expérimentales sont traitées mathématiquement à l'aide d'une méthode itérative, afin d'accéder aux valeurs calculées des deux inconnues  $K_a$  et  $\Delta\delta c$ . Un programme permet d'effectuer cette opération dans le cas de complexes de stœchiométrie 1:1, utilisant comme « input » les déplacements chimiques de chacun des protons des deux molécules formant le complexe et les concentrations des deux espèces.

#### II.4.2.3. Détermination de $k_a$ via le diagramme de solubilité :

Cette approche, telle que développée par Higuchi et Connors<sup>49</sup>, est très couramment utilisée pour l'évaluation de l'utilisation potentielle des CDs, afin d'augmenter la solubilité de composés hydrophobes en milieu aqueux. Elle permet en effet d'obtenir le profil de la courbe de solubilité de la molécule invitée en fonction de la concentration en CDs et donc de prouver l'augmentation de sa solubilité en présence de cet hôte.

Deux types de diagrammes sont généralement observés (types A et B), caractérisant les interactions substrat-ligand, auxquelles peuvent être assimilées les interactions CD-molécule invitée.

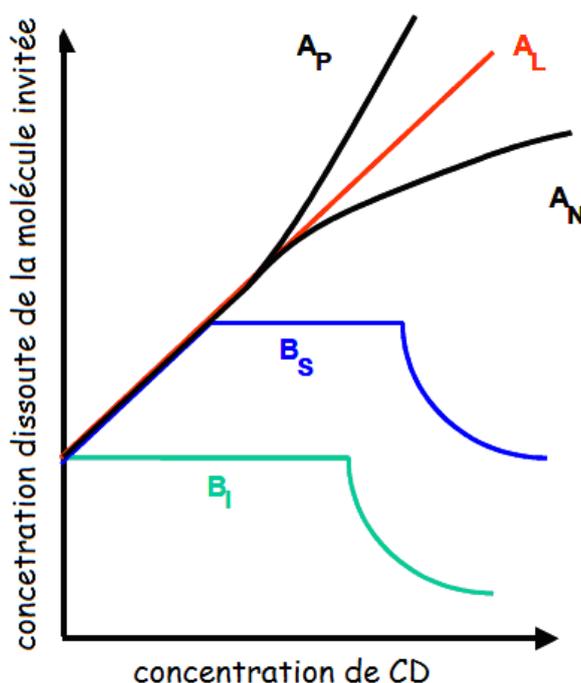


Figure 11 : Phases de solubilité et classification des complexes selon Higuchi et Connors. Avec  $S$  la solubilité intrinsèque du substrat en absence de CD<sup>50</sup>.

<sup>49</sup> T.Higuchi, K.A.Connors, *Adv. Anal. Chem. Instr.*, **1965**, 4, 117.

<sup>50</sup> T.Loftsson, M.Másson, M.E.Brewster, *J.Pharm.Sci.*, **2004**, 93, 1091.

Les courbes de type A sont données à titre indicatif pour la formation de complexes d'inclusion soluble ; en revanche, celles de type B sont évocatrices de la formation de complexes d'inclusion de faible solubilité<sup>51</sup>.

La constante d'association  $K_a$  d'un complexe 1:1 peut être déterminée à partir de la portion linéaire des diagrammes B<sub>S</sub> ou A selon l'équation<sup>52</sup> :

$$S_t = S_0 + \frac{K_a S_0 [CD]_t}{1 + K_a S_0} \dots\dots\dots (5)$$

Si on trace  $S_t$  en fonction de  $[CD]_t$ , on obtient une droite de pente  $K_a S_0 / (1 + K_a S_0)$  et d'ordonnée à l'origine  $S_0$  :

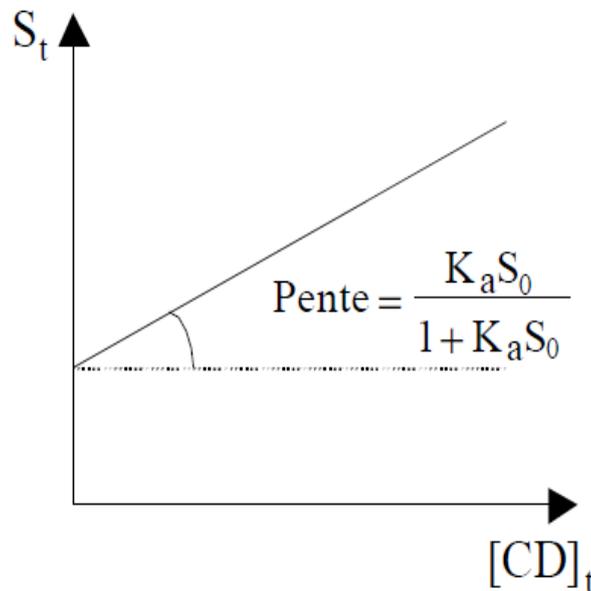


Figure 12 : Courbe de la solubilité  $S_t$  en fonction de la  $[CD]_t$ .

<sup>51</sup> T.Loftsson, P.Jarho, M.Másson, T.Järvinen, *Expert Opinion. Drug. Delivery*, **2005**, 2, 335.

<sup>52</sup> G.Piel, S.Moutard, B.Perly, S.Hassonville, P.Bertholet, V.Barillaro, M.Piette, L.Delattre, B.Evrard, *J.Durg.Del.Sci.Tech*, **2004**, 14, 87.

### III. Toxicité des CDs :

Le profil toxicologique des 3 CDs natives les plus communes et de certains dérivés chimiquement modifiés, a souvent été passé en revue<sup>53</sup>. En général, ces CDs ainsi que leurs dérivés plus hydrophiles sont capables de passer à travers les membranes biologiques lipophiles, telles la cornée, les muqueuses ou la peau, avec de grandes difficultés<sup>54,55</sup>.

Les CDs ont longtemps été accusées de provoquer des irritations lors de leur applications cutanée<sup>56</sup>, ceci étant lié directement à leur capacité à inclure les différents constituants des membranes biologiques.

Il est important de noter, que toutes les études de toxicité ont démontré que l'administration orale de CDs est non-toxique, ceci étant dû à leur très faible absorption gastro-intestinale (0.1 à 3%).

### IV. Applications des CDs :

C'est cette propriété remarquable qu'ont les CDs de complexer en milieu aqueux un panel important de molécules hôtes qui fait que l'on trouve dans la littérature de nombreux domaines d'application dans la formulation de composés actifs.

Parmi celles-ci :

- Stabilisateurs de substances sensibles à la lumière et à l'oxygène.
- Stabilisateurs de substances volatils.
- Catalyseurs chimiques.
- Inducteurs chiraux en synthèse organique asymétrique.
- Séparateurs énantiomériques en électrophorèse capillaire, chromatographie en phase gazeuse, HPLC...
- Modèles d'enzymes artificielles.
- Stabilisateurs d'arômes dans les industries agroalimentaires.

---

<sup>53</sup> K.H.Fromming, T.Gelder, W.Mehnert, *Acta Pharma Technol*, **1988**, 34, 152.

<sup>54</sup> T.Loftsson, and al, *Int.J.Pharm*, **1998**, 163, 115.

<sup>55</sup> A.Gerlocsy, S.Antal, J.Szejtli, *Int. Symp. On cyclodextrins*, **1998**.

<sup>56</sup> T.Loftsson, S.Byskov Vogensen, M.E.Brewster, *J. Pharm. Sci*, **2007**, 96, 2532.

## **IV.1. Vecteurs en industrie pharmaceutique :**

### **IV.1.1. L'augmentation de la solubilité et de la biodisponibilité :**

La biodisponibilité se définit par la quantité de principe actif qui parvient à son site d'action et la vitesse avec laquelle il y accède. Elle dépend de plusieurs facteurs comme sa vitesse de dissolution, sa solubilité ou sa vitesse d'absorption intestinale. L'encapsulation d'un principe actif par une CD permet d'augmenter sa solubilité aqueuse, sa vitesse de dissolution et par conséquent d'accroître sa biodisponibilité.

Pour n'en citer que quelques-exemples, les CDs sont utilisées pour augmenter la solubilité des anti-inflammatoires non stéroïdiens tels que l'ibuprofène, le nimésulide<sup>57</sup>, ou des antimycosiques tels que le miconazole<sup>58</sup>.

### **IV.1.2. La diminution des effets indésirables :**

Le principal effet secondaire des anti-inflammatoires non stéroïdiens est l'irritation des muqueuses gastro-intestinales. L'encapsulation de ces anti-inflammatoires par des CDs permet de diminuer les effets secondaires<sup>59</sup>.

### **IV.1.3. Le masquage du goût et de l'odeur :**

Certaines molécules ont un goût ou une odeur désagréable. C'est le cas par exemple de l'eszopiclone. Ce principe actif utilisé pour traiter les insomnies possède un mauvais goût amer. L'inclusion de la molécule dans la cavité de la CD, permet de la masquer aux papilles gustatives et ainsi d'atténuer son amertume<sup>60</sup>.

### **IV.1.4. Augmentation de la stabilité :**

Différentes recherches<sup>61</sup> montrent, que l'encapsulation d'un composé dans les CDs permet d'augmenter sa stabilité vis-à-vis de la lumière, la température, l'hydrolyse, l'oxydation, les réarrangements stériques, la racémisation, la polymérisation et même la décomposition enzymatique de nombreuses molécules.

---

<sup>57</sup> G.Piel, et al, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, **1997**, 86, 475.

<sup>58</sup> V.Barillaro, et al, *Journal of Pharmaceutics*, **2007**, 342, 152.

<sup>59</sup> S.Warrington, *European Journal of Rheumatology & Inflammation*, **1993**, 12, 29.

<sup>60</sup> G.A.Linde, et al, *Food research international*, **2009**, 42, 814.

<sup>61</sup> T.R.Sekharan, et al, *Journal of Pharmacy Research*, **2010**, 3, 3018.

## **V. Conclusion partielle :**

Dans ce premier chapitre bibliographique, on a constaté que les perspectives alléchantes des CDs leurs permettent d'occuper une place primordiale à part, dû au fait que les propriétés physico-chimiques des molécules abritées dans leur cavité peuvent être considérablement modifiées.

Par ailleurs, la possibilité de solubiliser et de transporter des molécules pharmacologiques via ces oligosaccharides, a ouvert des applications importantes pour l'industrie pharmaceutique.

## Chapitre 2 : Méthodes de synthèse des CDs natives et amphiphiles

### Introduction :

La chimie classique concernant les CDs natives est bien connue. Leur structure particulière offre d'innombrables opportunités et challenges. En effet, chacun de ces macrocycles possède 3 groupes hydroxyle pour chaque unité glucose le composant.

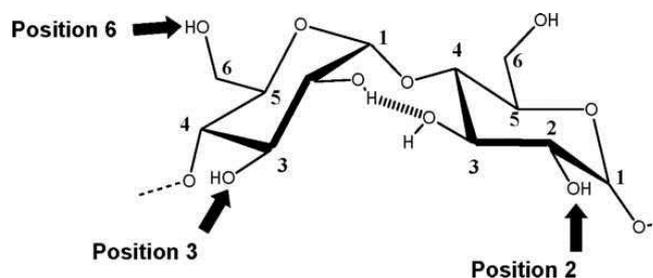


Figure 1 : Localisation des hydroxyles sur une des unités  $\alpha$ -D-glucopyranose de la CD.

### I. Problèmes liés à la synthèse des CDs :

#### I.1. Réactivité des hydroxyles :

Pour modifier avec succès une CD, il faut jouer sur les petites différences de nucléophilicité entre ces groupes hydroxyles. En milieu faiblement basique, les fonctions hydroxyles en position 6 de classe primaire, sont plus réactives que leurs homologues secondaires en 2 et 3. En effet, ceux de la position 6 sont les plus basiques, les plus accessibles et souvent les plus nucléophiles. Ceux de la position 2 sont les plus acides et ceux de la position 3 les plus inaccessibles et de loin les moins réactifs<sup>62</sup>.

#### I.2. Influence de la nature des réactifs :

Un réactif électrophile tels que le chlorure de tert-butyldiméthylsilyle (TBDMSCl), privilégiera les positions primaires en 6<sup>63</sup>. Toutefois, il est important de noter que si ce réactif est très électrophile, comme le chlorure de triméthylsilyle (TMSCl) par exemple, il réagira avec tous les hydroxyles sans distinction<sup>64</sup>.

<sup>62</sup> A.Hybl, R.E.Rundle, D.E.William, *J. Am. Chem. Soc.*, **1965**, 87, 2779.

<sup>63</sup> K.Takeo, K.Uemura, H.J.Mitoh, *Carbohydr. Chem.*, **1988**, 7, 293.

<sup>64</sup> F.Cramer, G.Mackensen, K.Kensee, *Chem. Ber.*, **1969**, 102, 494.

Les hydroxyles situés sur la position 2 sont les plus acides et donc les premiers à être déprotonés<sup>65</sup>, sans toutefois éliminer totalement une substitution en 2 et 6, conduisant à des mélanges complexes.

### I.3. Influence de la cavité et du solvant :

La nature du solvant et la taille de la cavité de la CD, ont une influence importante sur la force et l'orientation du complexe entre le réactif et la CD, et affectent le produit de réaction<sup>66</sup>.

## II. Synthèses des CDs modifiées :

Les principaux types recensés de fonctionnalisations chimiques effectuées sur les CDs, peuvent être classés de la façon suivante :

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

Pour obtenir ces dérivés, les méthodes utilisées peuvent être divisées en 2 catégories<sup>67</sup> :

1. La méthode dite “**intelligente**” exploite la chimie de la CD, pour obtenir le produit désiré à partir d'un schéma réactionnel le plus court possible.
2. La méthode dite “**longue**” consiste à réaliser une série d'étapes de protection et de dé protection afin de modifier sélectivement des positions qui n'auraient pas pu être atteintes autrement.

### II.1 Les persubstitutions :

#### II.1.1. Modification de toutes les positions hydroxyles en 2, 3 et 6 :

Tous les groupes hydroxyles de la CD, peuvent être convertis en fonctions esters (acétylation) ou éthers (alkylation, benzylation) en employant des réactifs adaptés, dans des conditions appropriées.

---

<sup>65</sup> D.Rong, V.T.D'Souza, *Tetrahedron Lett*, **1990**, 31, 4275.

<sup>66</sup> K.Takeo, H.Mitoh, K.Uemara, *Carbohydr. Res*, **1989**, 187, 203.

<sup>67</sup> A.R.Kahn, P.Forgo, K.J.Stine, V.T.D'Souza, *Chem. Rev*, **1998**, 98, 1977.

L'acétylation<sup>68</sup> et la benzoylation<sup>69</sup> complète des CDs, sont respectivement obtenues à partir de l'anhydride acétique et du chlorure de benzyle, dans la pyridine, avec des temps de réaction suffisamment longs, pour une substitution totale<sup>70</sup>.

### II.1.2. Permodification des hydroxyles primaires :

Les électrophiles employés dans ce cas sont : les halogénures d'alkyle, de silyle, de sulfonyle, ou d'acide carboxylique. L'introduction de dérivés sulfonylés<sup>71</sup> ou halogénés<sup>72</sup>, comme groupes partants est une méthode très utilisée pour obtenir des perfonctionnalisations variées sur la face primaire des CDs, par substitution nucléophile de type SN<sub>2</sub>.

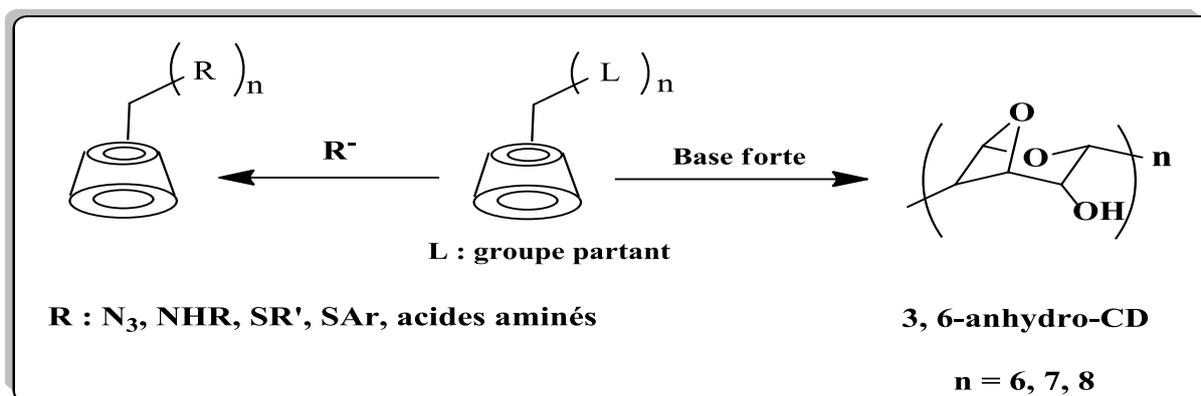


Schéma 1 : Présentation générale des perfonctionnalisations possibles à partir des CDs persulfonylées et perhalogénées sur la face primaire.

#### II.1.2.1. Les CDs per-6-halogénées :

Gadelle et col.,<sup>73</sup> montrent que des CDs non protégées peuvent être directement halogénées en position 6, avec de hauts rendements, par un réactif de type Vilsmeier-Haack généré in-situ.

<sup>68</sup> S.Cottaz, H.Driguez, *Synthesis*, **1989**, 10, 755.

<sup>69</sup> P.Elwood, C.M.Spencer, N.Spencer, J.F.Stoddart, R.J.Zarzycki, *J. Inclusion Phenom.Mol. Recognit. Chem*, **1992**, 12, 121.

<sup>70</sup> J.Szejtli, A.Lipták, I.Jodál, P.Fügedi, P.Nánási, A.Neszmélyi, *Starch / Staerke*, **1980**, 32,165.

<sup>71</sup> S.Umezawa, K.Tatsuta, *Bull.Chem. Soc. Jpn*, **1968**, 41, 464.

<sup>72</sup> K.Takeo, T.Sumimoto, T.Kuge, *Staerke*, **1974**, 24, 111.

<sup>73</sup> A.Gadelle, J.Defaye, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl*, **1991**, 1, 78.

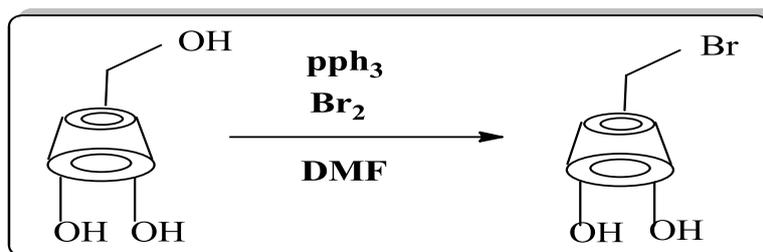


Schéma 2 : Perhalogénération des CDs par la méthode de Gadelle et col. et mécanisme de formation du réactif de Vilsmeier-Haack généré in-situ.

## II.2. Les monosubstitutions :

### II.2.1. Monosubstitution de la face primaire :

L'étape clef pour modifier un groupement fonctionnel sur un des hydroxyles de la face primaire des CDs, est une sulfonylation sélective permettant d'obtenir un dérivé monotosylé.

Le déplacement nucléophile du tosylate par des groupements nucléophiles bien adaptés tels que des ions halogénures, azotures, des thiolates, des hydroxylamines, des alkyl- ou poly (alkylamines) donnent<sup>74</sup> des monohalogéno-<sup>75</sup>, azido-<sup>76</sup>, thio-<sup>77</sup> CDs.

Les monoazido-CD sont synthétisées classiquement à partir des dérivés monotosylés en présence d'azoture de lithium ou de sodium dans le DMF à reflux<sup>78</sup>.

Elles peuvent également être préparées directement à partir de la CD naturelle, en passant par une réaction de type Vilsmeier-Haack, dans laquelle les CDs réagissent avec de l'azoture de lithium, en présence de triphénylphosphine, dans le DMF et avec chauffage<sup>79</sup>. Les dérivés monoamino-CD, sont obtenus à partir de dérivés monoazides par réduction avec de la triphénylphosphine en présence d'ammoniaque.

<sup>74</sup> Y.Murakami, J.Kikuchi, Y.Hisaeda, O.Yayashida, *Chem. Rev.*, **1996**, 96, 721.

<sup>75</sup> A.Ueno, R.Breslow, *Tetrahedron Lett.*, **1982**, 23, 3451.

<sup>76</sup> K.Tsujihara, H.Kurita, M.Kawazu, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **1977**, 50, 1567.

<sup>77</sup> V.Lainé, A.Coste-Sarguet, A.Gadelle, J.Defaye, B.Perly, F.Djedaïni-Pilard, *J. Chem. Soc. Perkin Trans 2*, **1995**, 1479.

<sup>78</sup> L.D.Melton, K.N.Slessor, *Carbohydr. Res.*, **1971**, 18, 29.

<sup>79</sup> S.Hanessian, A.Benalil, C.J.Laferriere, *J. Org. Chem.*, **1995**, 60, 4786.

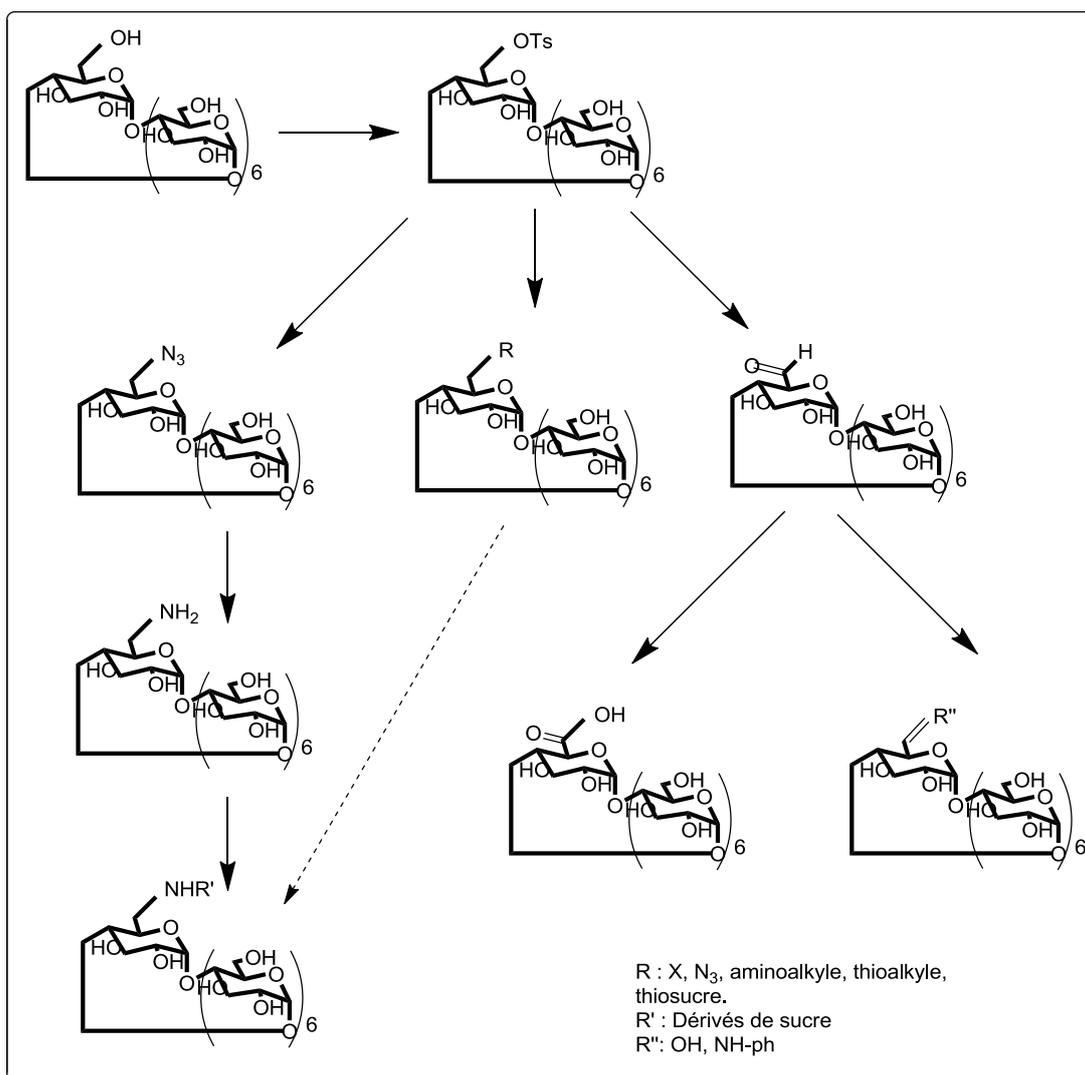


Schéma 3 : Présentation générale des méthodes pour monosubstituer la position 6 des CDs.

### II.2.2. Monosubstitution de la face secondaire :

La face secondaire de la CD, est plus ouverte que la face primaire ce qui détermine un sens plus favorable à la complexation des molécules. Or la modification sélective d'un hydroxyle de la couronne secondaire est beaucoup plus délicate qu'une monosubstitution en face primaire, en particulier quand il s'agit de la position 3.

La méthode générale permettant de fonctionnaliser la face secondaire passe par la monotosylation des hydroxyles en position 2 puis par l'époxydation correspondante. Dans l'étape suivante, les époxydes sont ouverts par différents nucléophiles. Lors de la formation de l'époxyde, nous pouvons aboutir à 2 configurations différentes selon la position initiale du groupe sulfonyle.

Si ce dernier est en position 2 c'est le 2,3-manno-époxyde qui sera formé par substitution nucléophile intramoléculaire de l'oxygène en position 3. Par contre si le sulfonyle est en position 3 alors c'est le 2,3-allo-époxyde qui sera obtenu<sup>80</sup>.

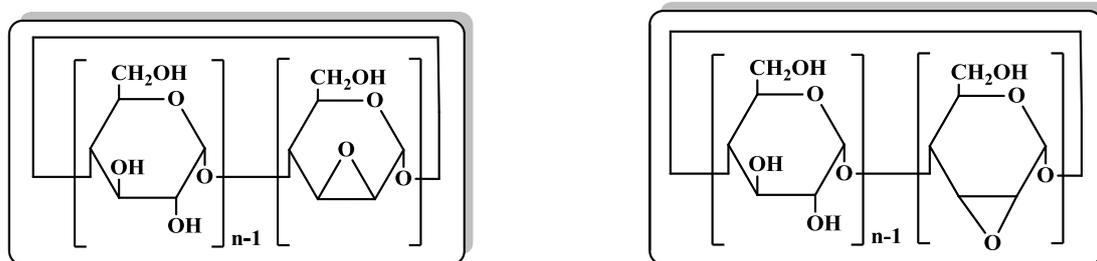


Figure 2 : Configurations possibles de l'époxyde, a) 2,3-manno-époxyde, b) 2,3-allo-époxyde.

### II.2.2.1. Monosubstitution d'un des hydroxyles en position 2 :

Différentes stratégies ont été élaborées pour tosyler sélectivement un des hydroxyles situés sur la position 2 des unités glucoses du macrocycle parmi celle-ci :

**a- Substitution directe<sup>81</sup>** : Les protons des hydroxyles en 2 sont plus acides que ceux en 6. On exploite cette caractéristique, pour attaquer préférentiellement une des positions 2 en présence d'une base forte et d'un réactif électrophile dans des conditions anhydres.

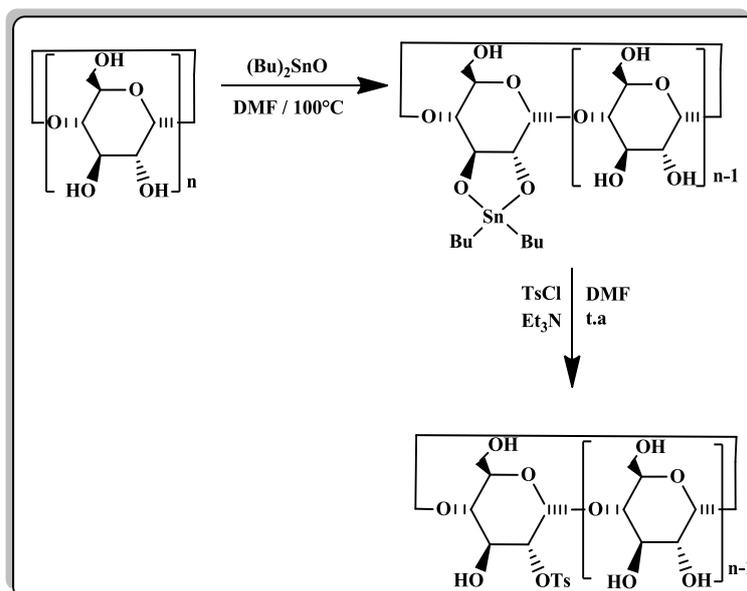


Schéma 4 : schéma de synthèse des 2-O-monotosyl-CDs<sup>82</sup>.

<sup>80</sup> G.WENZ, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1994**, 33, 803.

<sup>81</sup> D.Rong, V.T.D'Souza, *Tetrahedron Lett.*, **1990**, 31, 4275.

<sup>82</sup> T.MURAKAMI, K.HARATA, S.MORIMOTO, *Tetrahedron Lett.*, **1987**, 28, 321.

Le groupement tosylé des dérivés mono-2-tosyl-CD, est généralement éliminé en présence d'une base par le groupe hydroxyle adjacent en C3, pour donner le mono-*manno*-2,3-époxy- CD. Ce dernier est ouvert en présence d'un réactif nucléophile ou d'une base pour conduire aux dérivés monosubstitués en 2 correspondants. Dans d'autres cas, certaines bases agissent directement par une réaction de type SN<sub>2</sub> sur la position 2 tosylée.

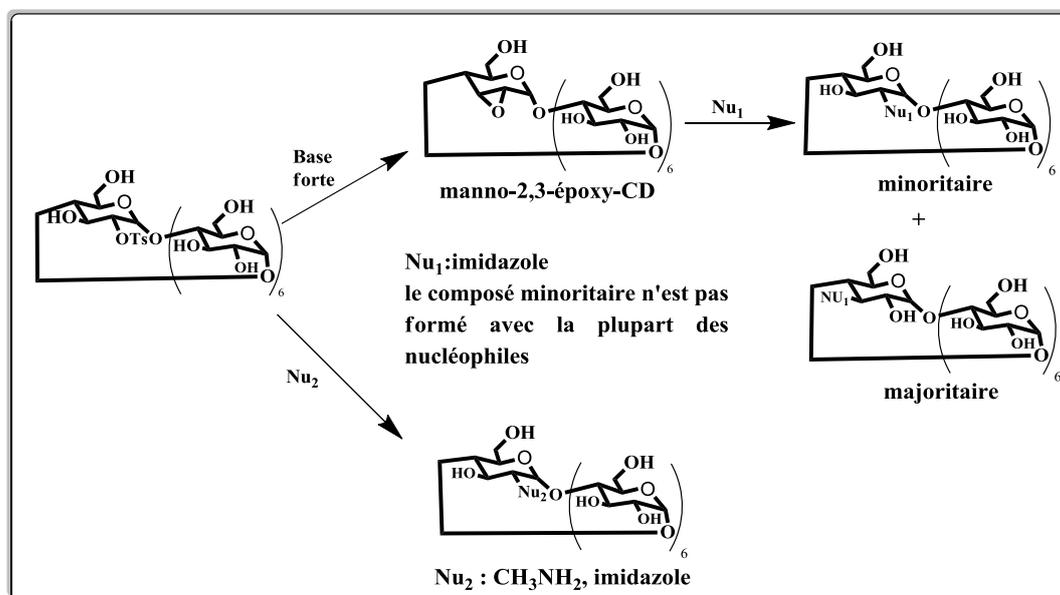


Schéma 5 : Réactions sur la mono-2-tosyl-CD.

### b- Substitution indirecte :

Pour illustrer les modifications sélectives en 2 et 6, une procédure indirecte suggérée par *Suzuki et col.*,<sup>83</sup> permet l'obtention du dérivé mono-2-hydroxy-per (3,6-di-O-méthyle)- $\beta$ -CD. Cette synthèse consiste à réaliser une série d'étapes de protection / déprotection par une benzoylation d'un seul groupe hydroxyle secondaire C2, suivie d'une perméthylation des autres groupes restants.

Néanmoins, la débenzylation par hydrogénéolyse reste une tâche délicate en termes de reproductibilité due à l'inclusion probable du groupe benzyle dans la cavité des CDs. Afin de contourner ce problème, la réaction a été de nouveau adaptée par *S. Tisse et col.*,<sup>84</sup> où ils ont proposé un clivage oxydatif et le p-méthoxybenzyle comme groupe protecteur.

La préparation du composé (5) a été réalisée par une étape de protection en employant TBDMSCl, puis par une perméthylation de tous les groupes hydroxyles.

<sup>83</sup> M.Suzuki, Y.Nozone, *Carbohydr. Res.*, **2002**, 337, 2393.

<sup>84</sup> S.Tisse, et al, *Tetrahedron: Asymmetry*, **2003**, 14, 2259.

Pour finir le groupe protecteur a été éliminé à l'aide du fluorure de tétrabutylammonium dans le tétrahydrofurane à température ambiante.

Ces deux dérivés mono-hydroxy-perméthylé- $\beta$ -CD (4) et (5) ont été synthétisés avec un rendement global satisfaisant, équivalent à 39% et 45%.

Pour achever cette synthèse, les produit (6) et (7) ont été préparé en utilisant de l'hydruure de sodium avec 3 fois plus d'iodoacétate de sodium dans du tétrahydrofurane en reflux.

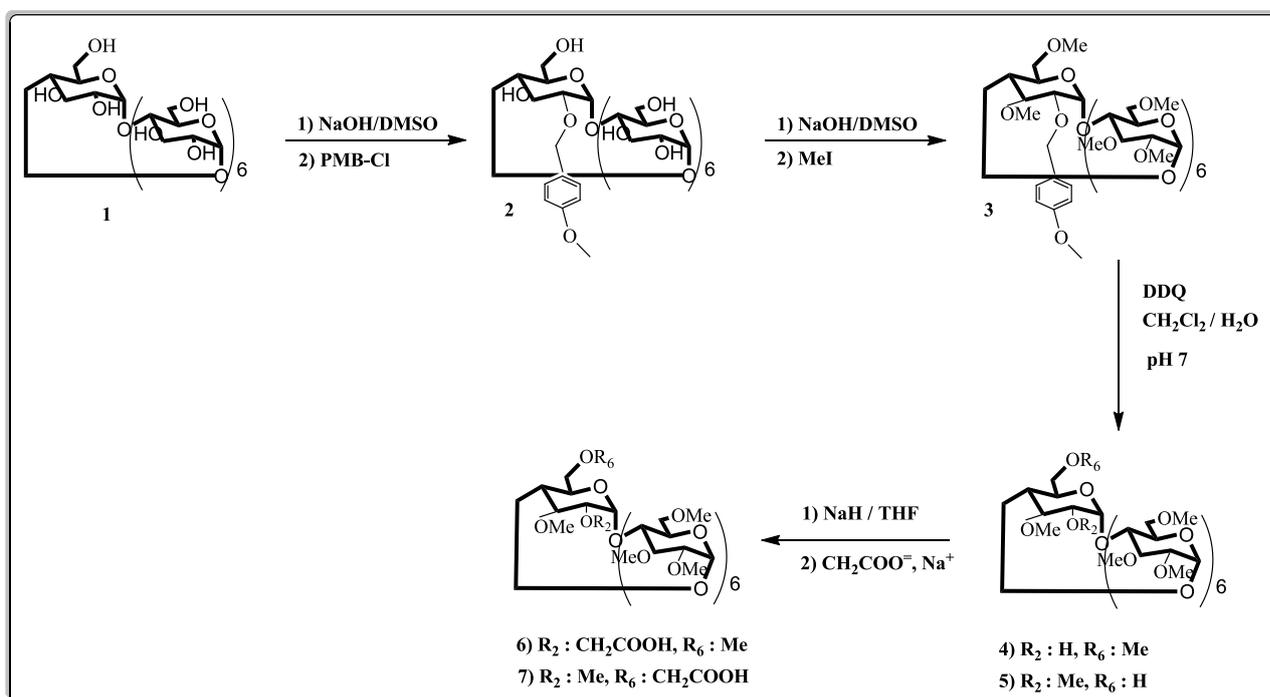


Schéma 6 : Synthèse d'une modification sélective en 2 et 6.

### II.2.2.2. Monosubstitution d'un des hydroxyles en position 3 :

Des modifications en 3 sont souvent réalisées par réaction d'un nucléophile sur le mono-*manno*-2,3-époxy-CD. Les mélanges de dérivés mono-2- et mono-3-substitués sont ensuite séparés par chromatographie (Schéma 5).

### III. Les CDs amphiphiles :

#### III.1. Qu'est qu'une CD amphiphile ?

Les CDs amphiphiles sont obtenus par greffage de un ou plusieurs groupements lipophiles sur la CD native. La modification chimique de ces macrocycles, par ces groupements résistants en milieu biologique, leur confère la capacité de s'auto-organiser en assemblages supramoléculaires permettant ainsi d'améliorer le taux de molécules transportées, de stabiliser le principe actif et d'améliorer le contact avec les membranes biologiques.

En fonction de la position des groupements lipophiles, de leur nature (hydrocarbonée ou fluorée) et de la longueur de la chaîne, les CDs amphiphiles peuvent s'auto-assembler en formant une large variété de structures supramoléculaires telles que des micelles, vésicules... ou peuvent être dispersées comme nanoparticules<sup>85</sup>.



Figure 2 : Structures des CDS amphiphiles dans l'eau : a) Micelles, b) Vésicules, c) Hexagonale, d) Lamellaires.

#### III.2. Classification et méthodes de synthèse des CDs amphiphiles :

Il existe plusieurs grandes familles de CDs amphiphiles selon la position et le nombre de groupements hydrophobes, portés par ces faces primaires et/ou secondaires.

##### III.2.1. CDs amphiphiles avec poly substitutions :

Ce type de CDs est obtenu par persubstitution des groupes hydroxyles primaires et/ou secondaires. En fonction du nombre de substitutions, on peut obtenir différentes formes.

- Persubstitution sur la face primaire (en 6) : Les “médusa-like” ou “forme méduse”,
- Persubstitution sur la face secondaire (en 2 et 3) : Les “skirt-shaped” ou “forme jupe”,
- Persubstitution en 2, 3 et en 6 : Les “molécules bouquets”.

<sup>85</sup> D.Duchene, G.Ponchel, D.Wouessidjewe, *Advanced Drug Delivery Reviews*, **1999**, 36, 29.

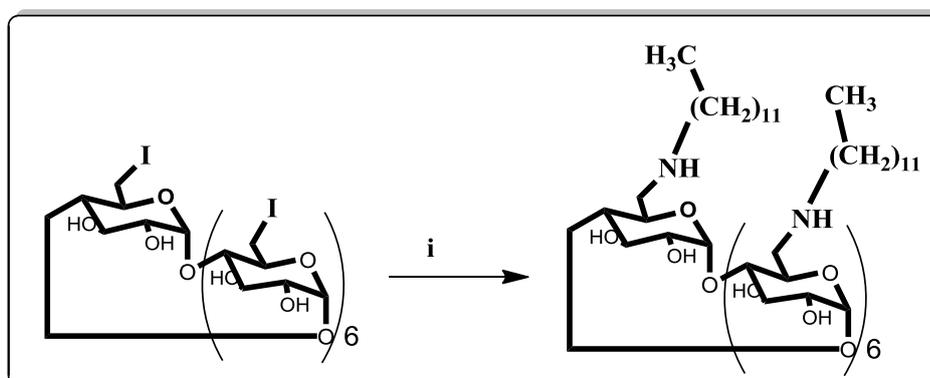


Figure 3: Différentes formes de CDs amphiphiles persubstituées<sup>86</sup>.

### III.2.1.1. CDs amphiphiles forme méduse :

Celles qu'on surnomme “**Medusa-like**”, sont synthétisées en effectuant une substitution complète du côté primaire par des chaînes aminées, amides, sulfatées ou alkyles. Elles sont généralement obtenues en deux étapes par substitution nucléophile d'une CD portant un bon groupe partant (Br ou I)<sup>87</sup>.

Afin d'illustrer ce type de CDs, *Parazak et col.*,<sup>88</sup> arrivent à faire réagir une  $\beta$ -CD persubstituée, par de l'iode sur sa face primaire avec une alkylamine, ce protocole nécessite une température à 70°C pour l'obtention d'un bon rendement.



Réactifs et conditions : i dodecylamine, 70°C, 48h

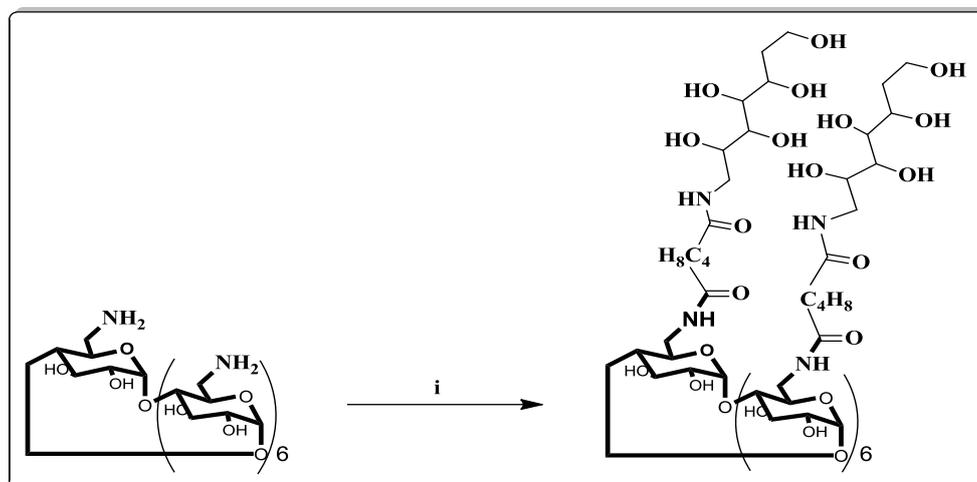
Schéma 7 : Synthèse d' heptakis (6-deoxy-6-dodecylamino)- $\beta$ -CD.

<sup>86</sup> H.Parrot-Lopeza, F.Perreta, B.Bertino-Ghera, *Annales Pharmaceutiques Françaises*, **2010**, 68, 12.

<sup>87</sup> A.Gadelle, J.Defaye, *Angew.Chem.Int .Ed.Engl*, **1991**, 30, 78.

<sup>88</sup> D.P.Parazak, A.R.Khan, V.T.D'Souza, K.J.Stine, *Langmuir*, **1996**, 12, 4046.

On peut également citer le travail de *Inamura et col.*,<sup>89</sup> sur la synthèse de dérivés d'adipique-glucamine où la chimie des peptides sur les dérivées de la  $\beta$ -CD aminées a été utilisée. Cette synthèse implique d'abord, la connexion du D-Glucamine avec l'ester de monoéthyl acide adipique, en utilisant comme agent de couplage le DCC / HOBT, suivie d'une hydrolyse de cet ester avec une solution aqueuse d'hydroxyde de sodium. Ce dernier réagit ensuite avec la 6-hepta-amino- $\beta$ -CD, en présence d'1-Ethyl-3-(3-diméthylamino-propyl) carbodiimide (EDC) à un pH de 4,5 à 6.



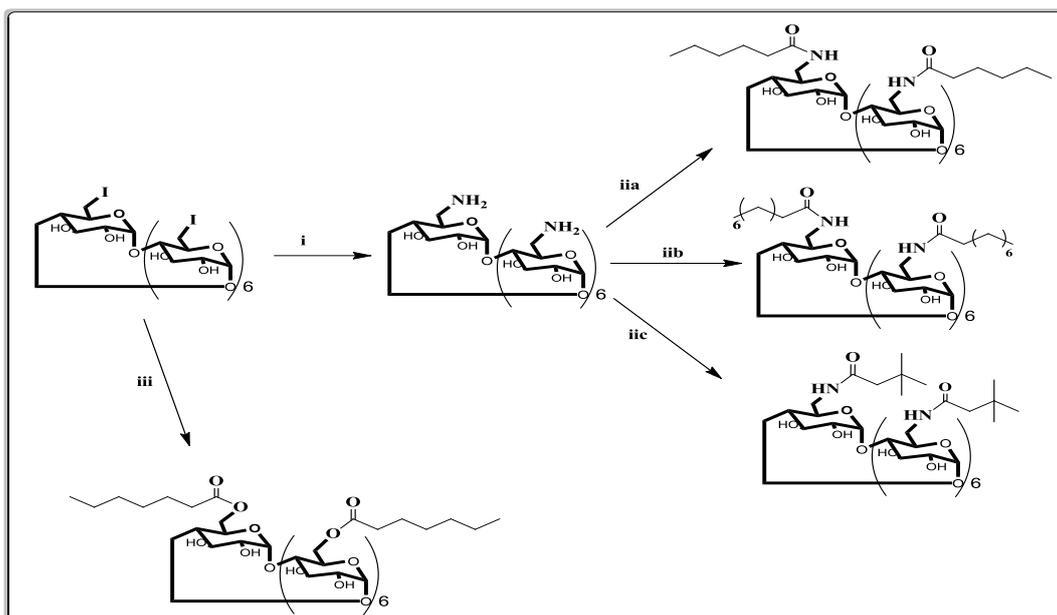
Réactifs et conditions : *i*,  $\text{HCOO}-(\text{CH}_2)_4-\text{CONH}-\text{CH}_2-(\text{CHOH})_4-\text{CH}_2-\text{OH}$ , EDC, t.a. 2h, pH 4.5-6

Schéma 8 : Synthèse d'un dérivé acide adipique – 6-AMINO- $\beta$ -CD.

Autres CDs remplacées uniquement par des chaînes lipophiles sur leur face primaire ont été décrites par *Memisoglu et col.*,<sup>90</sup> ils ont pu réaliser cette synthèse, en greffant différents substituant. Dans ces séries d'expériences, les dérivés amphiphiles avec six ou bien 14 chaînes carbonées ont été obtenus via une formation de la liaison amide, en faisant réagir la per-aminé  $\beta$ -CD avec l'anhydride correspondant. La nature de la liaison ainsi que son effet, ont également été étudiés en liant une chaîne hydrophobe linéaire hexanoïque via une liaison ester, tout en utilisant les dérivés de césium avec les periodohexanoate.

<sup>89</sup> K.Inamura, H.Ikeda, A.Ueno, *chem. Lett*, **2002**, 1, 516.

<sup>90</sup> E.Memisoglu, A.Bochot, M.Sen, D.Charon, D.Duchène, A.A.Hincal, *J. Pharm. Sci*, **2002**, 91, 1214.



Réactifs et conditions : i,  $\text{NaN}_3$ ,  $\text{PPh}_3$ ,  $\text{NH}_4\text{OH}$  20%, DMF ii, a) l'anhydride hexanoïque, DMF/MeOH; b) acide myristique, DCC, HOBT, DMF, c) acide tertibutyle acétique, DCC, HOBT, DMF, iii hexanoate de cesium, DMF.

Schéma 9 : Synthèse des CDs amphiphiles ramifiées.

### III.2.1.2. CDs amphiphiles forme jupe :

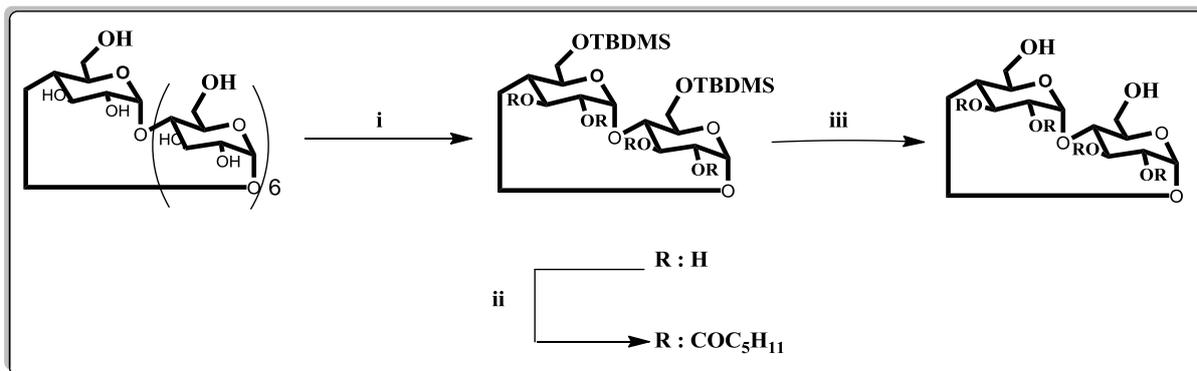
Les CDs « type Jupe », persubstituées sur la face secondaire, sont obtenues quant à elles en trois étapes à partir de la CD native, impliquant une étape de protection des hydroxyles primaires, une acylation des hydroxyles secondaires par un chlorure ou anhydride d'acide et enfin une déprotection des hydroxyles primaires.

La première méthode décrivant les per-2,3-di-O-acyl- $\beta$ -CD, a été publiée en 1991 par Zhang *et col.*,<sup>91</sup> cette approche conduit au composé sur-acylé avec 21 chaînes.

Tandis qu'en 2000, Lesieur *et col.*,<sup>92</sup> décrivent les démarches à suivre pour greffer uniquement 14 chaînes hexanoïles sur les  $\beta$ -CD, en présence d'anhydride hexanoïque et en utilisant le tert-butyldiméthylsilyle pour protéger les hydroxyles primaires.

<sup>91</sup> P.Zhang, C.C.Ling, A.W.Coleman, H.Parrot-Lopez, H.Galons, *Tetrahedron Lett.*, **1991**, 32, 2769.

<sup>92</sup> S.Lesieur, D.Charon, P.Lesieur, C.Ringard-Lefebvre, V.Muguet, D.Duchene, *Chem. Phys. Lipids*, **2000**, 106, 127.



Réactifs et conditions : i : TBDMSCl, pyridine, t.a, 15h; ii : anhydride hexanoique, DMAP, pyridine, 70°C, 48h; iii : TBAF, THF, t.a, 15h.

Schéma 10 : Synthèse des  $\beta$ -CD amphiphiles acylées.

### III.2.1.3. CDs amphiphiles forme bouquet :

En greffant sur les 2 faces de la cavité des chaînes O-alkyles ou polyméthylènes, on obtient des dérivées de CDs surnommées “**Bouquet-like**”.

Afin d’achever la synthèse de ces CDs, *Lehn et col.*,<sup>93</sup> ont réussi à greffer une poly (oxyéthylène), un polyméthylène, et un O-alkyle sur chaque côté de la cavité. Cette famille de CDs est très prometteuse, puisque d’un côté sont greffées des chaînes alkyles hydrophobes et de l’autre côté des chaînes hydrophiles. Cette conformation est sensée augmenter leur caractère amphiphile, pouvant ainsi s’auto-assembler de manière à former des vésicules.

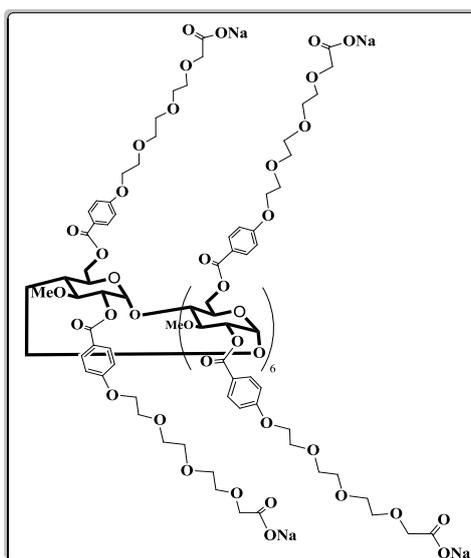
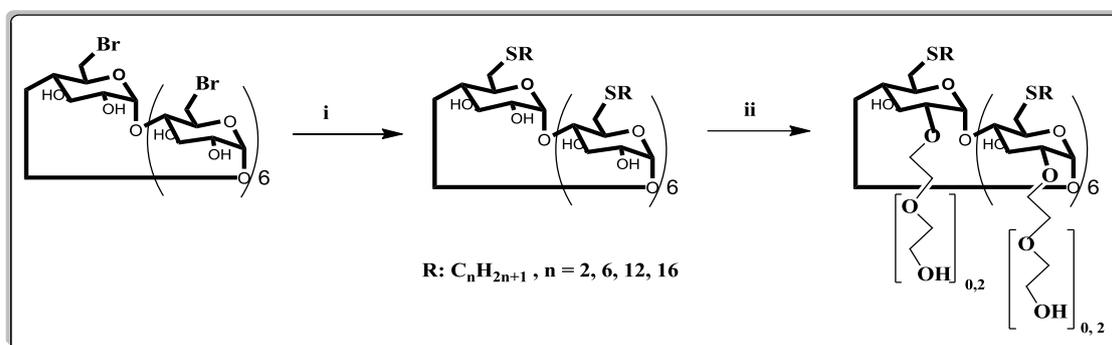


Figure 4 : Une des CDs amphiphile désignées par *Lehn et col.*

<sup>93</sup> M.J.Pregel, L.Jullien, J.Canceill, L.Lacombe, J.M.Lehn, *J. Chem. Soc. Perkin Trans*, **1995**, 3, 417.

En 2000, *Ravoo et col.*,<sup>94</sup> ont réalisé une voie de synthèse, leur permettant d'obtenir la première  $\beta$ -CD amphiphile ayant la capacité de s'auto-assembler en vésicules. La 6-per-bromo- $\beta$ -CD est d'abord transformé par une persubstitution nucléophile, d'un thioalkyle sur les hydroxyles primaires en présence d'un sel de sodium ou de potassium. Le résidu ainsi obtenu, réagi seulement à la position C2 en utilisant du carbonate d'éthylène en excès ; il en résulte un greffage en une moyenne de deux unités d'éthylène glycol.



Réactifs et conditions : *i*, RSH, *t*BuOK, DMF, 80°C, *ii*, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, carbonate d'éthylène, TMU, 150°C, 4h

Schéma 11 : Synthèse des oxydes d'éthylène glycol- $\beta$ -CD.

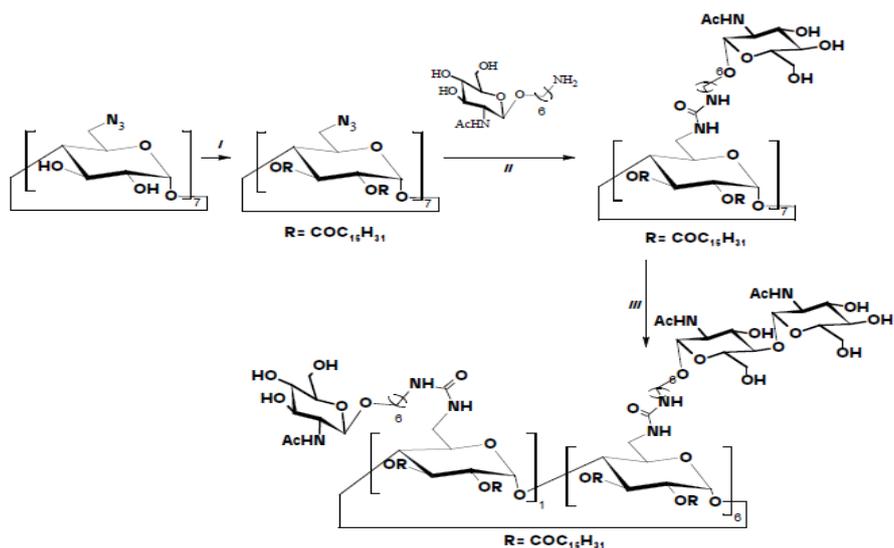
Autres CDs amphiphiles en forme bouquet ont été synthétisés par *Sallas et col.*,<sup>95</sup> leur mode opératoire nécessite une estérification de la face secondaire et une glycosylation de la face primaire. La réaction d'une  $\beta$ -CD perazidés, avec de l'anhydride palmitique / DMAP dans de la pyridine anhydre, donne un intermédiaire persubstitués par 14 chaînes palmitique, sur sa face secondaire.

Ce dernier est ensuite couplé en présence d'un excès de triphénylphosphine et constamment un barbotage de CO<sub>2</sub> au dérivé glucosamine (en excès) où son groupe amine terminal n'est pas protéger.

Pour finir, la 3<sup>ème</sup> étape se déroule par la réaction d'un isocyanate formé in situ avec le dérivé aminé obtenu précédemment. Dans ce dérivé, l'hydrate de carbone est lié à la CD par un espaceur urée.

<sup>94</sup> B.J.Ravoo, R.Darcy, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2000**, 39, 4324.

<sup>95</sup> F.Sallas, K.Niikura, S.L.Nishimura, *Chem. Commun.*, **2004**, 5, 596.



Réactifs et conditions : *i* l'anhydride palmitique, DMAP, pyridine, 70 °C, 48 h; *ii* PPh<sub>3</sub>, CO<sub>2</sub>, pyridine, t.a, 24 h;

*iii* UDP-galactose, (β-1,4)galactosyl transferase, HEPES buffer, 50 mM, pH 6, 37 °C.

Schéma 12 : Synthèse d'une CD amphiphile glycoside en utilisant un espaceur.

### III.2.2. CDs amphiphiles avec mono-substitutions :

En effectuant une mono-substitution sur une CD, en rajoutant une simple ancre hydrophobe, on peut obtenir une CD amphiphile. Pour effectuer cette modification, le côté primaire de la CD est le plus souvent choisi, ainsi le côté secondaire sera toujours libre et pourra accueillir une molécule invitée dans la cavité.

Les premiers exemples<sup>96</sup> furent ce qu'on appelle "lollipop's", obtenus en greffant une simple chaîne alkyle sur l'un des groupes hydroxyles primaires. Néanmoins, la chaîne lipophile s'insère dans la cavité pour donner un complexe intramolécule<sup>97</sup>.



Figure 5 : Différentes formes de CDs amphiphiles monosubstitués.

<sup>96</sup> M.Roux, B.Perly, F.Djedaini-Pilard, Eur.Bio.phys.J, **2007**, 36, 861.

<sup>97</sup> N.Bellanger, B.Perly, J. Mol. Struct, **1992**, 273, 215.

Pour empêcher ce comportement du groupement hydrophobe, *Djedaini Pilard et col.*,<sup>31</sup> arrivent à affaiblir cette auto-inclusion en joignant un groupe protecteur Boc-amino encombrant à la fin de l'ancre. Ceci donne une forme en « cup and ball ».

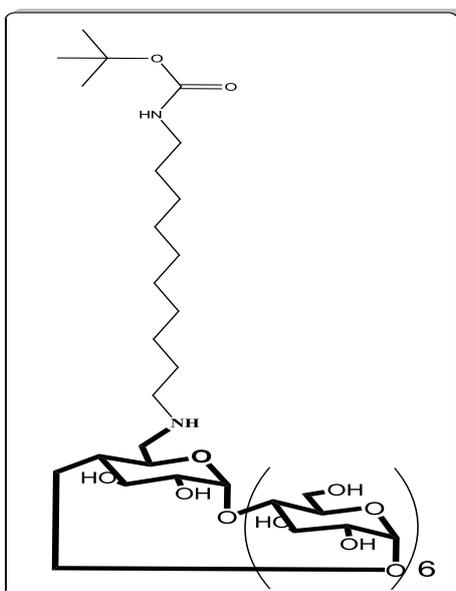


Figure 5 : CDs amphiphile type « cup & ball ».

#### IV. Synthèse des CDs amphiphile sulfatées et fluorées :

##### IV.1. Synthèse des CDs anioniques sulfatées :

Les CD polysulfatées constituent une classe particulière des CDs, puisqu'elles possèdent de nombreuses propriétés de modulation cellulaire<sup>98</sup> et notamment des propriétés antivirales intrinsèques dues à la densité de charge portées par les CD.

Pour synthétiser ces dérivées anioniques, la lipophilie a été introduite en effectuant une acylation (estérification) de la face secondaire par des chaînes d'acides gras à six atomes de carbone dans un milieu contenant de l'anhydride hexanoïque. La sulfatation nécessite quant à elle, la présence de  $\text{SO}_3$  dans la pyridine conduisant à un taux de groupements sulfates greffés sur les hydroxyles primaires variant de 4 à 7<sup>99</sup>.

<sup>98</sup> K.Uekama, F.Hirayama, T.Irie, *Chem. Rev.*, **1998**, 98, 2045.

<sup>99</sup> A.Dubes, G.Degobert, H.Fessi, H.Parrot-Lopez, *Carbohydr. Res.*, **2003**, 338, 2185.

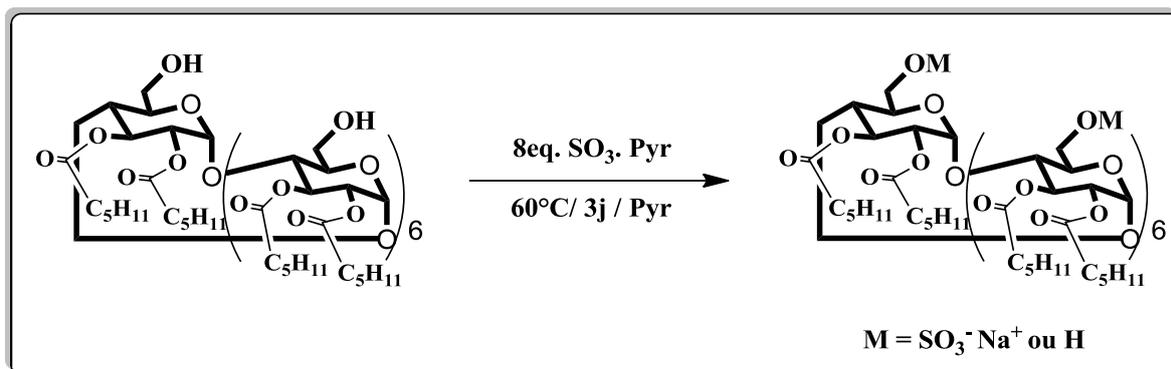


Schéma 13 : Sulfatation des CDs acylés.

#### IV.2. Synthèse des CDs anioniques fluorées :

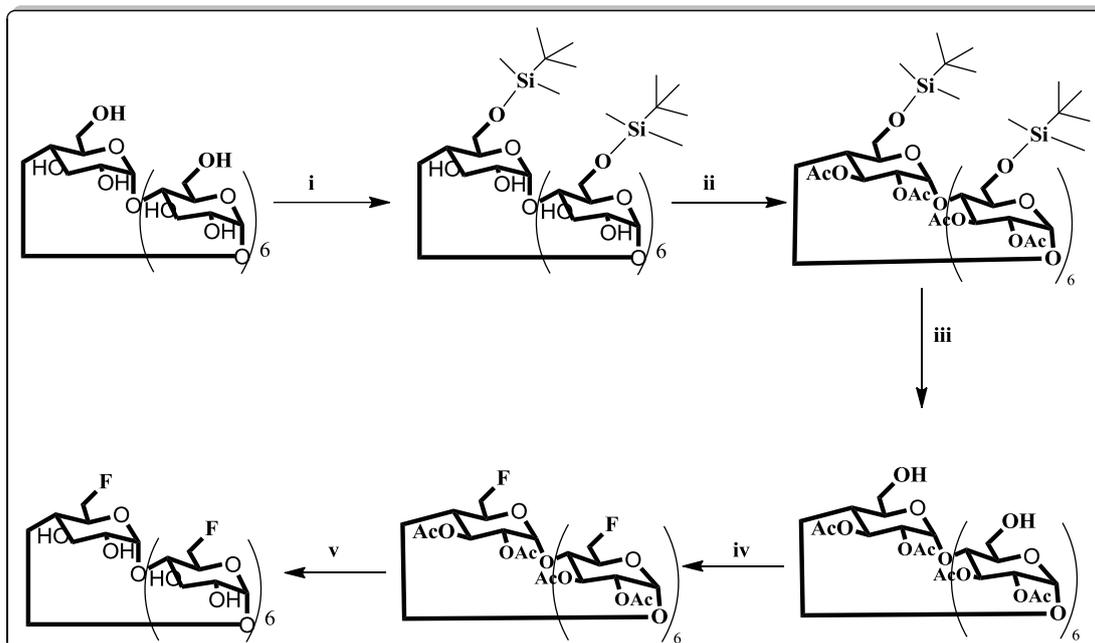
Les amphiphiles fluorés ont une importante lipophilie (le caractère hydrophobe des groupes difluorométhylènes est de 1,75 fois plus élevé que celui de son analogue hydrogène)<sup>100</sup> ajoutant à sa, leurs capacité à former des auto-assemblages résistants en milieux aqueux, permettant ainsi une très bonne encapsulation et une libération contrôlée de la biomolécule.

Les premiers dérivés, persubstitués sur la face primaire par sept groupements fluor fut être synthétisés par *Diakur et col.*,<sup>101</sup> pour l'étude de leur complexation avec des molécules biologiquement actives.

Le procédé de synthèse est subdivisé en 5 étapes, dont la première consiste à protéger les hydroxyles primaires par TBDMSCl dans la pyridine. Ce dérivé persilylés est ensuite acylés sur sa face secondaire à une température élevée, pour l'obtention d'un bon rendement. Le Spectre RMN C<sup>13</sup> de cet intermédiaire indique une structure très symétrique, ce qui signifie une substitution totale. La désilylation à son tour, est accomplie en utilisant un mélange, composé d'un trifluorure de bore dans le chloroforme, puis l'héptafluoro-CD est obtenu en faisant réagir ce dernier intermédiaire avec un excès de diéthylaminosulfotrifluorure (DAST) dans du chloroforme. Pour finir, l'obtention du produit cible « heptakis- (6-fluoro-6-désoxy) -β-CD », est effectué par une désacylation dans une solution méthanolique de méthylate de sodium.

<sup>100</sup> J.C.Ravey, M.J.Stebe, *Colloids Surf. A*, **1994**, 84, 11.

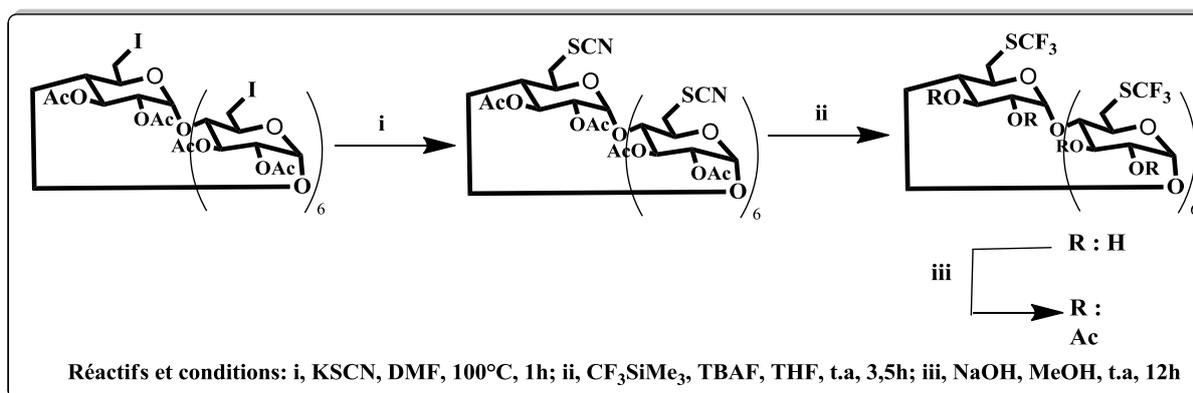
<sup>101</sup> J.Diakur, Z.Zuo, L.I.Wiebe, *J. Carbohydr. Chem*, **1999**, 18, 209.



Réactifs et conditions : *i*, TBDMSiCl, Pyridine, *ii* 2:1 Pyridine Ac<sub>2</sub>O, *iii* BF<sub>3</sub>, Et<sub>2</sub>O, CHCl<sub>3</sub> *iv* DAST, CHCl<sub>3</sub>,  
*v* NaOMe/MeOH.

Schéma 14 : Synthèse de la première CD amphiphile fluorée sur sa face primaire.

Granger *et col.*,<sup>102</sup> ont préparé, le dérivé 6-pertrifluorométhylthio-β-CD qui, malgré sa courte chaîne hydrophobe, forme des monocouches à l'interface air-eau.

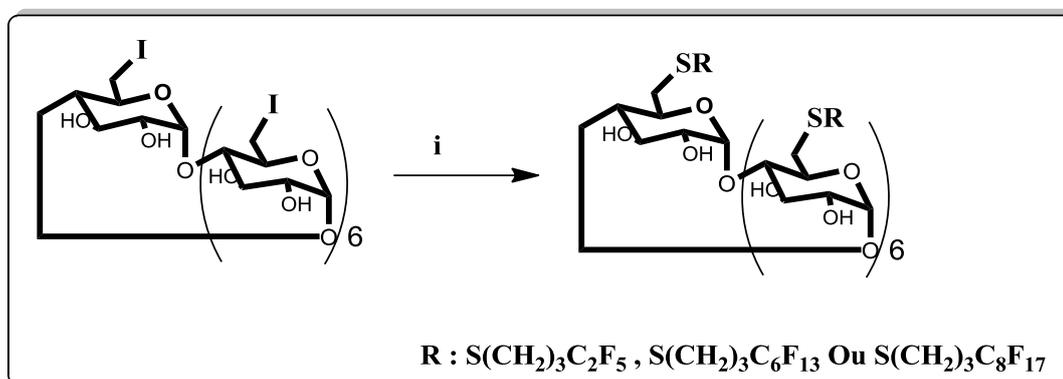


Réactifs et conditions: *i*, KSCN, DMF, 100°C, 1h; *ii*, CF<sub>3</sub>SiMe<sub>3</sub>, TBAF, THF, t.a, 3,5h; *iii*, NaOH, MeOH, t.a, 12h

Schéma 15 : Préparation du dérivé 6-per-trifluorométhylthio-β-CD.

<sup>102</sup> C.E.Granger, C.P.Felix, H.P.Parrot-Lopez, B.R.Langlois, *Tetrahedron. Lett.*, **2000**, *41*, 9257.

Cependant, dans l'eau les auto-assemblages dérivant de ces molécules ne sont pas très stables dans le temps. Afin d'augmenter l'hydrophobicité de ces dérivés, ils ont choisi d'augmenter la longueur de la chaîne fluorée. Ces dérivés ont été obtenus par thio-alkylation de la  $\beta$ -CD, ayant des groupements activateurs tosylo et iodo sur la position C-6.



Réactifs et conditions : 3-(perfluoroethyl) propanethiol ou 3-(perfluorohexyl) propanethiol, MeONa/MeOH, DMF, 70°C, 24h

Schéma 16 : Préparation de la  $\beta$ -CD amphiphile fluorée.

Les jonctions de type thio-éthers ont été choisies préférentiellement, non seulement pour éviter leur hydrolyse en milieu biologique, mais aussi parce que ces thiolates ont une importante nucléophilie, compensant ainsi le fort effet inductif des chaînes fluorés, ce qui diminue la réactivité.

## V. La synthèse des dérivées di-, tri- et tétra-substitués :

La sélectivité de 2 à 5 hydroxyles primaires d'une CD native, est un réel défi synthétique, en effet ces fonctions ont relativement la même réactivité, ce qui impose des méthodes de synthèses efficaces et des techniques de purifications fiables pour séparer les différents régioisomères.

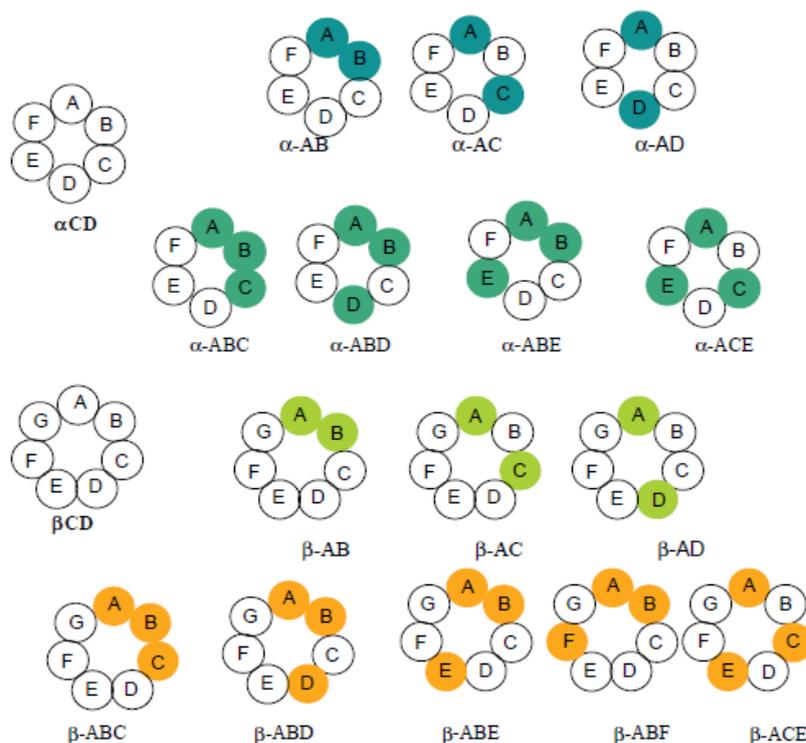


Figure 6 : les possibles positions d'isomères des dérivés  $\alpha$  et  $\beta$ -CD di-, et tri-substitués.

De nombreuses stratégies ont été décrites dans la littérature permettant de différencier de manière sélective les groupes hydroxyles primaires de la CD native :

- une séparation efficace d'un mélange de différentes CDs substituées,
- utilisation d'un réactif encombrant.

### V.1. Les CD di-substitués :

Ces dérivés peuvent être obtenus, en employant plus d'un équivalent du réactif avec la CD, dans des conditions appropriées, résultant ainsi un mélange de produits. La formation de ces régioisomères nécessite une purification par HPLC.

En 1990, *Fujita et col.*,<sup>103</sup> arrivent à synthétiser une  $\alpha$ -CD di-substituée en position AB, AC, et AD en utilisant 8,7 équivalent de chlorure de mésitylènesulfonyle dans de la pyridine.

<sup>103</sup> K.Fujita, H.Yamamura, A.Matsunaga, T.Imoto, K.Mihashi, T.Fijioka, *J. Org. Chem.*, **1990**, 55, 877.

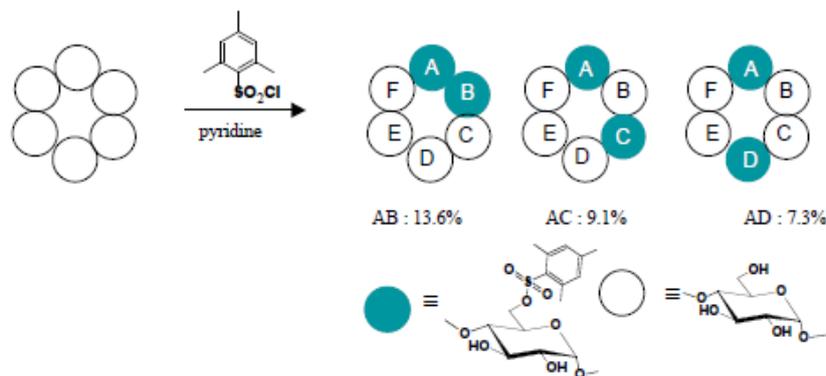
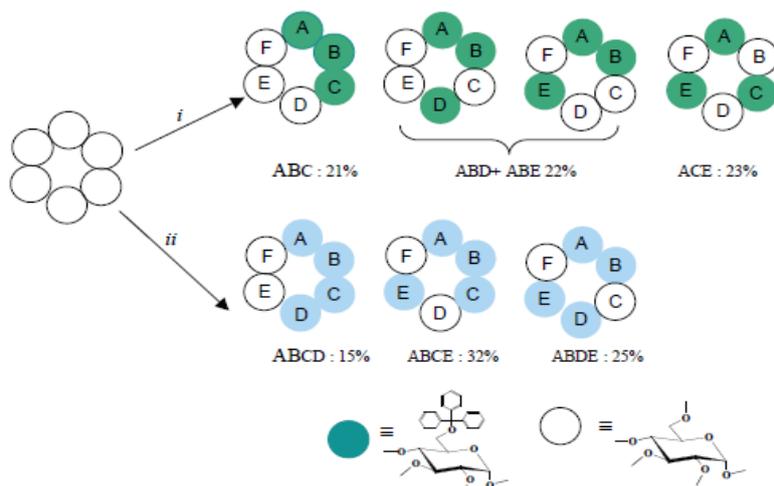


Schéma 17 : synthèse de l'α-CD disulfonylés.

La séparation de ces différents isomères a été effectuée par chromatographie en phase gazeuse inverse (CPGI) et leurs rendements obtenus ont été de faibles pourcentages variant de (7-14%). On peut donc supposer la présence d'autres dérivés, plus ou moins substitués dans le mélange réactionnel.

## V.2. Les CDs tri- et tétra-substitués :

L'utilisation des réactifs encombrants, peuvent limiter la substitution des groupes hydroxyles primaires en raison de la gêne stérique, ainsi générée sur cette face. Par exemple, l'usage de chlorure de trityle permet la formation des CDs tri- ou tétrasubstitués, en fonction du rapport utilisé<sup>104</sup>, et leur purification se fait par chromatographie après méthylation de tous les autres groupes hydroxyle libres.



Réactifs et conditions : *i* TrCl (3.3 eq.), pyridine, 70°C, 36h, NaH, MeI, DMF ; *ii* TrCl (4.5 eq.), pyridine, 70°C, 72h, NaH, MeI, DMF

Schéma 18 : Synthèse des dérivés α-CD tri- et tétra-substitués.

<sup>104</sup> C.C.Ling, A.W.Coleman, M.Miocque, *Carbohydr. Res.*, **1992**, 223, 287.

## VI. Applications des CDs amphiphiles dans le transfert de gène :

Le transfert de gène, ou plus généralement la gènothérapie, est une approche thérapeutique proposant d'utiliser des acides nucléiques (ADN, ARN, oligonucléotides) comme médicament. Elle s'applique potentiellement non seulement aux maladies génétiques, mais aussi aux maladies acquises telles que les cancers, les maladies neurodégénératives ou les pathologies infectieuses (hépatites, SIDA).

C'est pourquoi le développement d'une telle thérapie sûre et efficace passe par la connaissance et la mise au point de véhicules capables de délivrer le gène au sein des cellules.

### VI.1. Mécanisme de fonctionnement :

L'ADN est une macromolécule polyanionique que rien ne prédispose à traverser une membrane cellulaire présentant de nombreuses charges négatives. Ce problème peut être résolu en synthétisant des vecteurs polycationiques<sup>105</sup> capables d'interagir par effet électrostatique avec les phosphates anioniques de l'ADN. Ces interactions vont engendrer des particules appelées lipoplexes ou polyplexes<sup>106</sup> de taille et de charge variables permettant la protection de l'ADN vis à vis des nucléases.

Les différents obstacles, barrières et étapes majeurs qui jalonnent le transfert de gènes (depuis la formulation du système de transfert jusqu'au transfert du gène lui-même dans la cellule et son expression en protéines) ont été identifiés et peuvent être résumés de la façon suivante :

- Formulation et acheminement du complexe vecteur/gène vers la cellule,
- Entrée du complexe dans la cellule,
- Migration du complexe vers le noyau,
- Libération du gène dans le noyau,
- Utilisation de la machinerie cellulaire hôte afin de transcrire le gène en ARN puis en protéines thérapeutiques.

---

<sup>105</sup> Y.W.Cho, et al, *J. Pharm. Pharmacol*, **2003**, 55, 721.

<sup>106</sup> P.L.Felgner, et al, *Hum.Gene.Ther*, **1997**, 8, 511.

Parmi les vecteurs déjà synthétisés pour cette application, on retrouve les CD amphiphiles qui offrent une alternative intéressante au virus, par leur faible immunogénéicité présentant ainsi de nombreux sites permettant le greffage de groupements amine, induisant à la formation des CD cationiques capables d'interagir plus fortement avec les acides nucléiques.

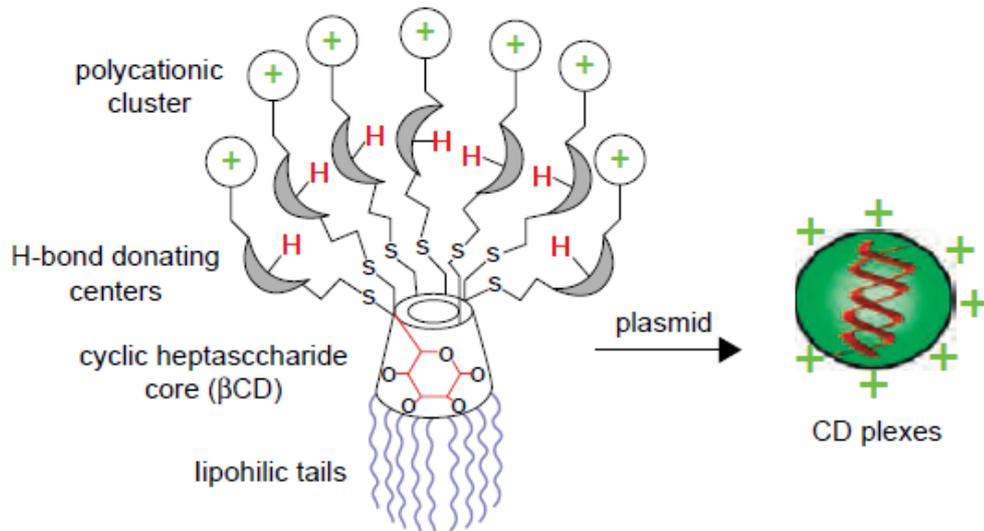


Figure 7 : Une  $\beta$ -CD amphiphile utilisée comme vecteur pour le transfert de gène.

La figure 7 est une représentation schématique de ces dérivés de CD qui induisent une condensation de l'ADN<sup>107</sup>. Conçues en tant que vecteurs de délivrance de gènes, chaque substituant des CD amphiphiles a une tâche bien définie: Les chaînes lipophiles sont introduites pour améliorer la perturbation de la membrane, et le groupe polycationique réalisées en greffant 7 ou 14 chaînes portant des groupes amino primaires terminaux, et des groupes d'espacement thiourée devraient favoriser la condensation de l'ADN<sup>108</sup>.

Ces vecteurs polycationiques favorisent la fixation de l'ADN polyanionique et le contact intime avec les membranes cellulaires chargées négativement.

<sup>107</sup> S.A.Cryan, A.Holohan, R.Donohue, R.Darcy, C.M.O'Driscoll, *J. Pharm. Sci.*, **2004**, *21*, 625.

<sup>108</sup> A.McMahon, E.Gomez, R.Donohue, D.Forde, R.Darcy, C.M.O'Driscoll, *J. Drug. Deliv. Sci. Technol.*, **2008**, *18*, 303.

## **VII. Conclusion partielle :**

Les modifications chimiques sélectives des CDs restent un défi pour nous les chimistes. En effet, la difficulté provient des facteurs stériques et statistiques engendrés par la différence de réactivité des fonctions hydroxyles. De manière générale, ces modifications conduisent à des mélanges de produits de degrés de substitution variables, conduisant à des rendements faibles.

Or cette synthèse chimique et ses possibilités quasi illimitées ont permis d'aboutir à des dérivées amphiphiles qui suscite un intérêt capitale pour le changements des stratégies thérapeutiques (la thérapie génique), car au lieu de traiter les symptômes, ce concept s'attaque à la cause des maladies et ouvre ainsi de nouvelles perspectives dans le traitement d'affections jusqu'à maintenant incurables.

## ***Conclusion générale :***

De nombreuses méthodes sont décrites dans la littérature pour modifier sélectivement, une ou plusieurs positions spécifiques sur les CDs. Malgré cela, il reste beaucoup de travail à accomplir au niveau de la méthodologie de synthèse pour améliorer l'efficacité des réactions (meilleure sélectivité, rendements, pureté...).

De plus, la structure tridimensionnelle et la capacité d'inclusion des CDs leur confèrent une réactivité particulière, qui peut être exploitée pour réaliser des modifications chimiques par des voies de synthèse qui sortent de la chimie classique, comme par exemple l'inclusion des réactifs pour orienter la fonctionnalisation.

Depuis plusieurs années, une attention particulière a été portée sur l'utilisation de CDs modifiées pour le ciblage des médicaments. Le principe consiste à greffer sur la CD une ou plusieurs antennes destinées à assurer une fonction de vectorisation vers un site d'action privilégié, la CD jouant le rôle de véhicule moléculaire pour le principe actif. Différentes approches ont été envisagées dans le choix du vecteur. Nous présenterons dans le chapitre suivant, nos résultats de synthèse et de complexation, de cette dernière classe de composés : les CDs amphiphiles.

*Partie*

*Pratique*

## Partie II : Résultats et discussion

### Chapitre III : Travail effectué

#### Introduction :

D'une manière générale, un vecteur est un moyen de transporter une molécule active sélectivement jusqu'à une cible (cellules, organites cellulaires, organes, tissus).

Ce concept est particulièrement attrayant dans le cas des pathologies cancéreuses ou virales, où les thérapeutiques sont trop souvent toxiques ou souffrent d'un manque de spécificité. Les CDs, de par leurs caractéristiques mentionnés dans notre partie bibliographique, représentent une option sérieuse pour atteindre ces objectifs c'est pour sa qu'elles ont donc fait l'objet de notre recherche.

Dans cette partie, nous allons exposer nos résultats de synthèse d'une nouvelle série de CDs modifiées sélectivement (CDs amphiphiles), ainsi que leur complexation avec des molécules bioactives hydrophobes.

#### I. Choix des CDs amphiphiles cibles :

L'objectif de cette partie est l'obtention d'une série raisonnée de nouvelles CDs amphiphiles, afin d'essayer de reproduire de la façon la plus proche possible, les propriétés d'organisation des membranes naturelles. Ces nouveaux dérivés devraient permettre de mieux corréler structure chimique et propriétés physico-chimiques telles que la solubilité en milieu aqueux, résistance en milieux biologique...etc.

Afin d'aboutir à notre série de **CDs amphiphiles**, nous envisageons de réaliser les modifications chimiques suivante :

- La modification chimique des groupes hydroxyles libres de la cyclodextrine,
- La présence ou l'absence d'un bras espaceur,
- La nature du groupement hydrophobe (Synthon).

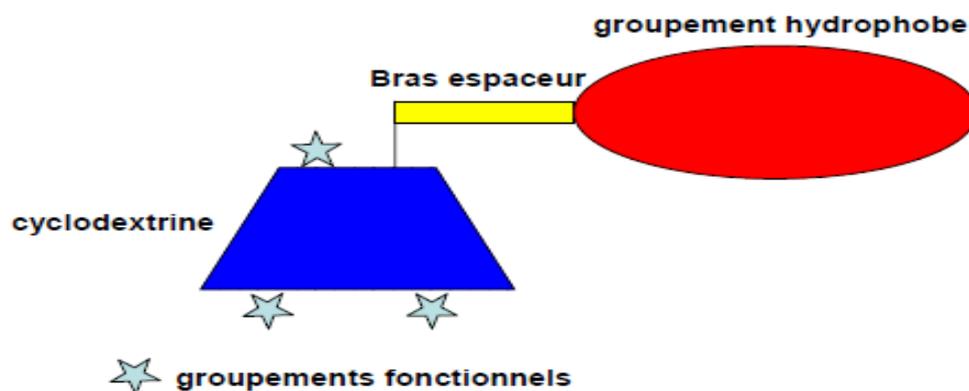


Figure 1 : Choix des modifications pour la synthèse des CDs amphiphiles

L'idée principale dans notre schéma synthétique retenu dans notre travail, consiste à élaborer une série de peptidolipidyl-CDs, en suivant cette stratégie :

Pour greffer la partie hydrophobe sur la CD, la modification chimique des macrocycles est effectuée sur la face primaire. Ceci s'explique par le fait que la modification sélective d'un des hydroxyles primaires de la CD, est chimiquement plus abordable que la modification d'un hydroxyle secondaire, notamment grâce aux propriétés nucléophiles des hydroxyles primaires. De plus, la majorité des molécules "invitées" s'incluent par le grand côté plus favorable thermodynamiquement du macrocycle. En fonctionnalisant le petit côté, les capacités d'accueil de la partie macrocyclique des conjugués pour des molécules invitées devraient être préservées.

La jonction entre la CD et le bras espaceur d'une part et entre le bras espaceur et le peptidolipide (synthon) d'autre part est réalisée par la création d'une fonction amide, obtenue par un couplage dérivé des méthodes utilisées en synthèse peptidique. La liaison amide présente les avantages d'être simple à former, résistante chimiquement et biocompatible.

Le bras espaceur choisi est un diacide symétrique comme l'acide succinique, capable de se coupler à la CD d'un côté et à la partie hydrophobe de l'autre par des couplages de type peptidique et le groupement hydrophobe est un peptidolipidyl-CDs possédant une fonction acide pour permettre le couplage.

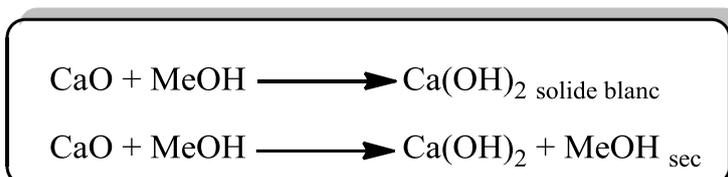
## II. Purification des solvants :

Les solvants anhydres utilisés (méthanol et dichlorométhane) ont été préparés en effectuant une distillation, en présence de leur agent déshydratant respectif.

### II.1. Purification du MeOH :

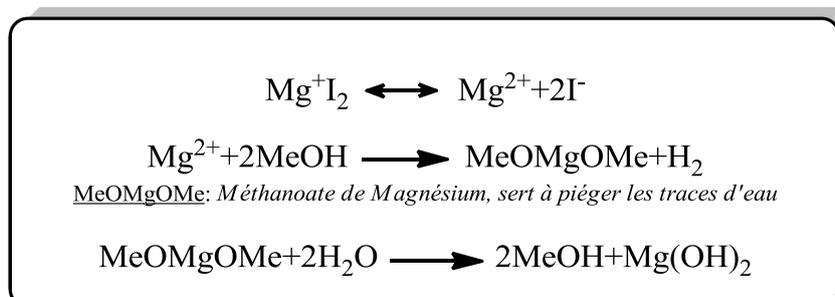
#### 1. Séchage primaire du MeOH :

Après avoir introduit 100g de chaux vive (CaO) dans un tricol, on ajoute 1000ml de MeOH. Ce ballon est surmonté d'un montage de distillation, qui permettra de distiller le MeOH au fur et à mesure ( $T_{eb} = 64,7\text{ °C}$ ).



#### 2. Traitement avec l'iode et le magnésium :

Avec la balance technique, on pèse 1g d'Iode et 5g de magnésium, qui seront introduits dans un ballon, auxquels on ajoute 100ml de MeOH préalablement distillé. Ce mélange est porté à reflux jusqu'à disparition de la couleur marron ; l'iode sert à activer le magnésium, une fois  $\text{I}_2$  consommé, la couleur disparaît. Enfin, redistiller le tout à nouveau.



### II.2. Purification du dichlorométhane :

Dans un ballon, on verse 700ml de dichlorométhane ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) ensuite, on y ajoute jusqu'au  $\frac{3}{4}$  du ballon du pentoxyde de phosphore ( $\text{P}_2\text{O}_5$ ). On monte un réfrigérant à boules sur le ballon et on porte notre mélange à reflux ( $T=40\text{ °C}$ ). A la fin du reflux, on enlève le réfrigérant et on place un montage de distillation directement sur le ballon. Du DCM pur et sec est alors récupéré.

### II.3. Caractéristiques des produits utilisés :

Le tableau suivant récapitule les caractéristiques des solvants utilisés lors des différentes étapes de nos manipulations. Par ailleurs, tous les produits sont préalablement purifiés et séchés avant toute utilisation.

Tableau 1 : *Caractéristiques des solvants utilisés lors de notre synthèse.*

Solvants	Densité à 20°C (g/l)	Point d'ébullition (°C)
Chloroforme	1,492	61
Dichlorométhane	1,33	40
DMF	0,95	153
Acétate d'éthyle	0,897	77,1
THF	0,889	66
Méthanol	0,791	64,7
Éthanol	0,79	78,5
Ether éthylique	0,713	35

### III. Synthèses des CDs amphiphiles :

La fonctionnalisation des fonctions hydroxyles primaires des CDs, passe essentiellement par l'introduction sélective de groupes nucléofuges, qui sont ensuite substitués par déplacement nucléophile. Nous allons ici présenter les différentes voies permettant d'accéder à ces dérivés.

#### III.1. Monotosylation : synthèse de la $\beta$ -CD-OTs (1) :

Les dérivés sulfonylés (tosylés) des CDs servent essentiellement d'intermédiaires réactionnels à la synthèse d'autres dérivés par activation des hydroxyles de la CD.

La réaction de tosylation est la réaction initiale, la plupart du temps, nécessaire à la modification ultérieure des CDs. Le plus souvent, elle s'effectue dans un milieu basique à température ambiante en présence d'une solution aqueuse de sulfate de cuivre ( $\text{CuSO}_4$ ) afin d'assurer la complexation du cuivre avec la face secondaire et ainsi la bloquée. Le chlorure de *p*-toluènesulfonyle dissout dans l'acétonitrile est ensuite additionné goutte à goutte.

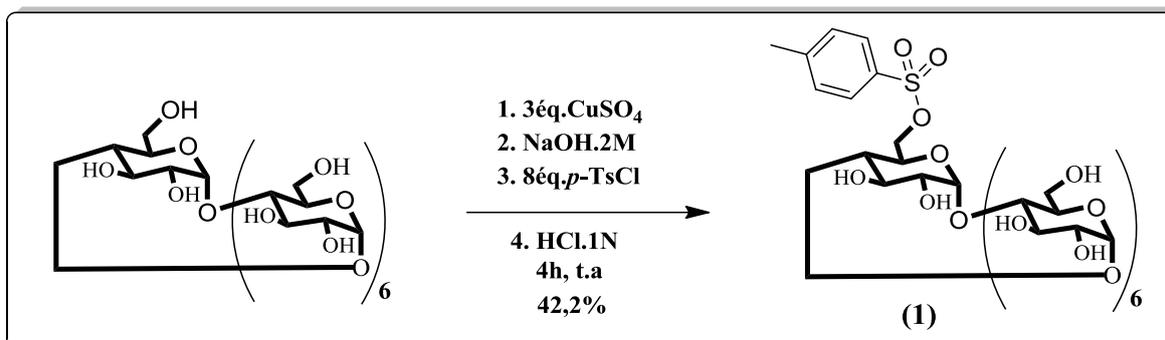


Schéma 1 : Synthèse de la  $\beta$ -CD-OTs.

La réaction procède *via* la complexation du chlorure de tosyloxy (TsCl) dans la cavité de la CD, suivie d'une réaction entre un groupe alcoolate en position 6 et le (TsCl).

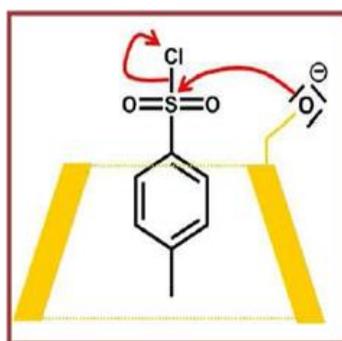


Figure 2 : Substitution intracomplexe face primaire.

Une fois le groupement tosylate greffé sur la  $\beta$ -CD, le complexe d'inclusion formé entre le cycle aromatique du groupement tosyloxy et la cavité hydrophobe de la  $\beta$ -CD persiste, empêchant tout risque de formation d'un nouveau complexe  $\beta$ -CD/TsCl.

Le complexe est ensuite détruit à pH 7 par traitement à l'acide chlorhydrique qui permet de neutraliser le mélange et d'éliminer le cuivre (II). Ce dérivé est obtenu après 4h de réaction, puis 6 jours de recristallisation dans le réfrigérateur sous forme d'une poudre blanche avec un rendement de 42,2%.

### III.2. Monoazidation et monoamination :

D'une manière générale, les CDs aminées sont obtenues en deux étapes à partir des CDs tosylées par déplacement nucléophile du sulfonate par l'ion azide, puis réduction de l'azide obtenu.

### III.2.1. Synthèse de l' amino-CD via l' azido (2) :

Les CDs aminées constituent un synthon particulièrement important dans la chimie des CDs. Elles donnent accès à de très nombreux dérivés qui sont obtenus en particulier par couplage peptidique.

En général, il est nécessaire d'utiliser un excès de sel d'azoture (25éq) dans du DMF, sous une température de 100°C pour obtenir la substitution de la CD monotosylée.

La  $\beta$ -CD- $N_3$  (2) est ensuite précipitée par addition d'acétone au mélange réactionnel, puis récupéré par filtration et lavé plusieurs fois avec le même solvant. Ce dernier est séché à l'étuve à 70°C pendant 30 min. L'obtention du composé (2) sous une poudre blanche, avec un rendement très faible de 5%, s'explique du fait que la réaction s'est déroulée avec l'azoture de sodium ( $NaN_3$ ) et non pas avec l'azoture de lithium ( $LiN_3$ ) comme c'était décrit dans la littérature pour ce genre de composé. Effectivement si on avait utilisé  $LiN_3$ : le sel ainsi généré et l'azoture de lithium en excès sont plus solubles dans l'acétone que leurs homologues sodiques. Ils sont donc facilement éliminés lors de la précipitation de la CD- $N_3$  dans l'acétone.

La  $\beta$ -CD- $N_3$  (2) est réduit en amine primaire en présence de 2éq de la triphénylphosphine ( $PPh_3$ ), après 2h d'agitation, il faut additionnés goutte à goutte les 6ml de la solution d'amoniaque (30%). Après 18h de réaction à température ambiante, on procède à l'évaporation du maximum du DMF, puis on y ajoute de l'acétone et le tout est mis au frigo pendant une semaine. La mono-6-désoxy-6-amino- $\beta$ -cyclodextrine (3) obtenu est dissous dans l'eau pour précipiter l'oxyde de triphénylphosphine ( $OPPh_3$ ).

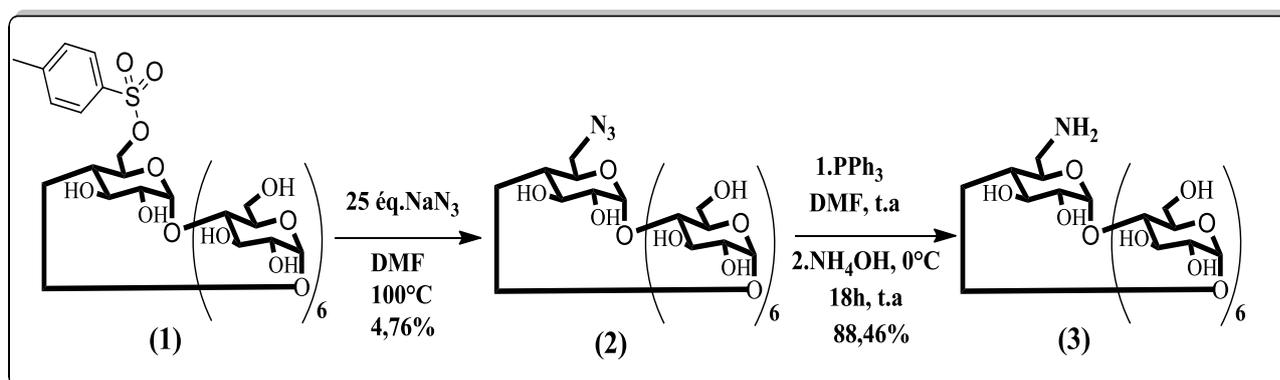


Schéma 2 : Synthèse de la  $\beta$ -CD- $N_3$  et la  $\beta$ -CD- $NH_2$ .

### III.2.2. Synthèse de la $\beta$ -CD-NH<sub>2</sub>-bras espaceur :

L'introduction du bras espaceur apporte un petit plus au CD amphiphile, puisqu'il a pour effet de rallonger la chaîne du peptidolipide, et donc d'augmenter le degré de liberté de la molécule. Ce phénomène peut aussi jouer un rôle important dans les propriétés d'organisation des futures CDs amphiphiles dans l'eau.

La préparation de ce précurseur « CD-espaceur » consiste à faire réagir un excès d'anhydride succinique avec le dérivé aminé dans du DMF anhydre pour former le « mono-amidosuccinyl » correspondant. Sauf que, cette synthèse n'a pas pu être achevée puisque la pression fournie par la trompe à eau, n'est pas assez puissante pour éliminer ce solvant (DMF Teb 153 °C).

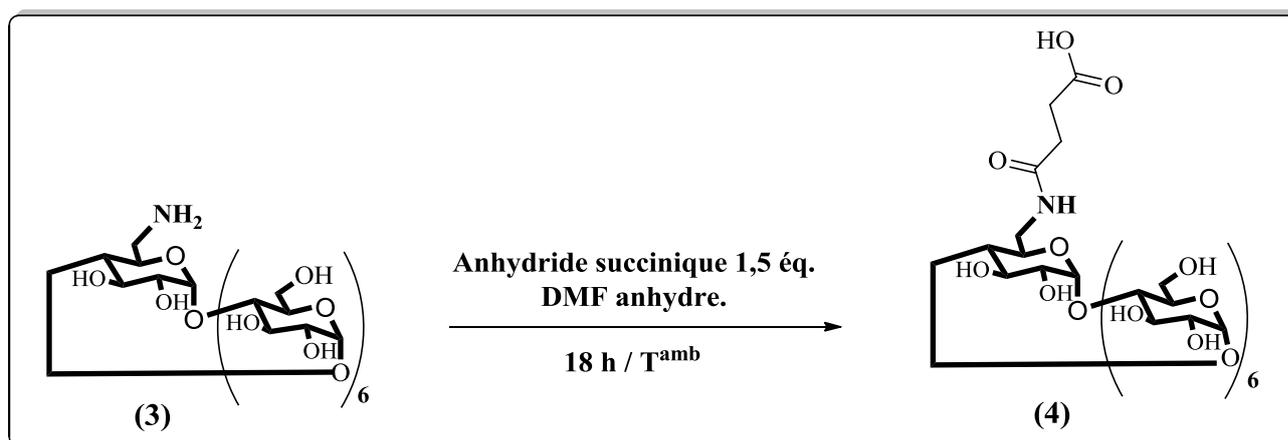


Schéma 3 : Synthèse de la  $\beta$ -CD-bras espaceur.

### III.3. Synthèse des fragments des différents synthons :

Le couplage peptidique consiste à assembler des acides aminés entre eux en formant une liaison amide. Avant d'effectuer ce couplage, les autres groupements non impliqués dans la réaction envisagée doivent être protégés.

Conformément à un programme que nous avons établi pour développer ces synthèses, nous avons choisi d'effectuer différents couplage peptidiques avec le même acide aminé : la glycine ; pour la simple raison qu'elle est le seul amino acide qui ne possède pas de substituant.

Cette caractéristique ajoutera à nos synthons cibles, une certaine longueur de chaîne et flexibilité, facilitant ainsi le couplage avec la  $\beta$ -CD-NH<sub>2</sub>, en diminuant la gêne stérique lors du couplage entre le synthon et la  $\beta$ -CD-NH<sub>2</sub>.

L'obtention des ces peptidolipides (synthons), consiste à coupler différents dipeptides avec un acide gras. Nous exposerons donc en premier lieu : la synthèse des dipeptides, ensuite leur couplage avec le lipide.

### III.3.1. Estérification de la glycine :

Il est primordial de protéger préalablement la fonction acide carboxylique de la glycine, sous forme d'ester méthylique. Car sans protection, un mélange de deux acides  $\alpha$ -aminés peut conduire à une multitude de produits.

La réaction se déroule en présence d'un excès de chlorure d'acétyle dans le MeOH, sous conditions anhydre. Le mélange réactionnel est porté sous reflux pendant 2h.

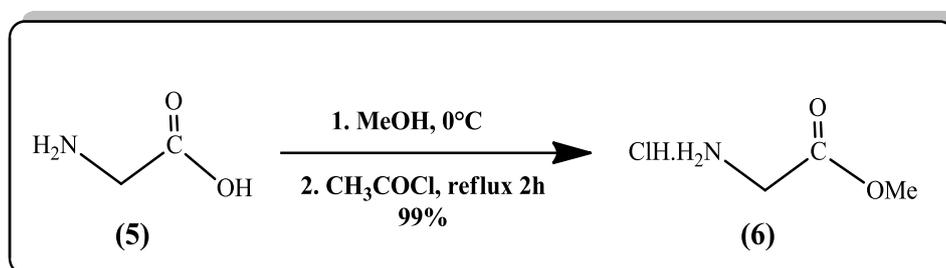


Schéma 4 : Estérification de la glycine.

La réaction de couplage par la suite, nécessite la fonction amino libre, c'est pour cette raison qu'il faut traiter le chlorhydrate obtenu par la TEA. L'analyse par IR, confirme bien l'obtention du groupe amine sous forme de deux bandes vers 3000cm<sup>-1</sup> ainsi que la bande caractéristique du groupe carbonyle à 1713 cm<sup>-1</sup>.

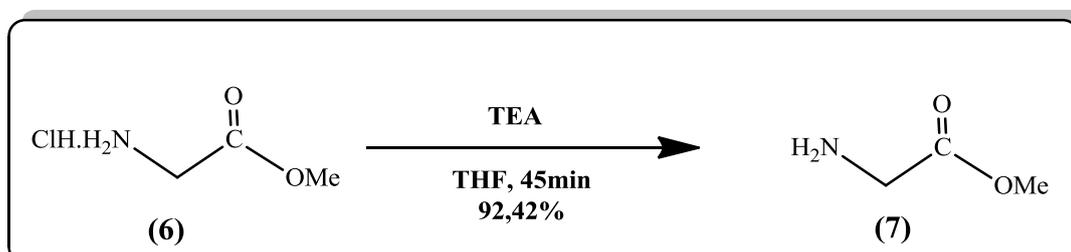


Schéma 5 : Traitement du chlorhydrate de l'ester méthylique de la glycine par la TEA.

### III.3.2. Synthèse des dipeptides :

La réaction consiste à faire réagir le dicyclohexylcarbodiimide (DCC) sur la fonction acide de l'acide aminé pour engendrer une *O*-acylisourée, un bon groupe partant vis-à-vis d'une substitution nucléophile par une fonction amino. La dicyclohexylurée (DCU), sous produit formé avec le peptide, est un solide insoluble qui confirme la réalisation du couplage peptidique, facilement éliminable par simple filtration.

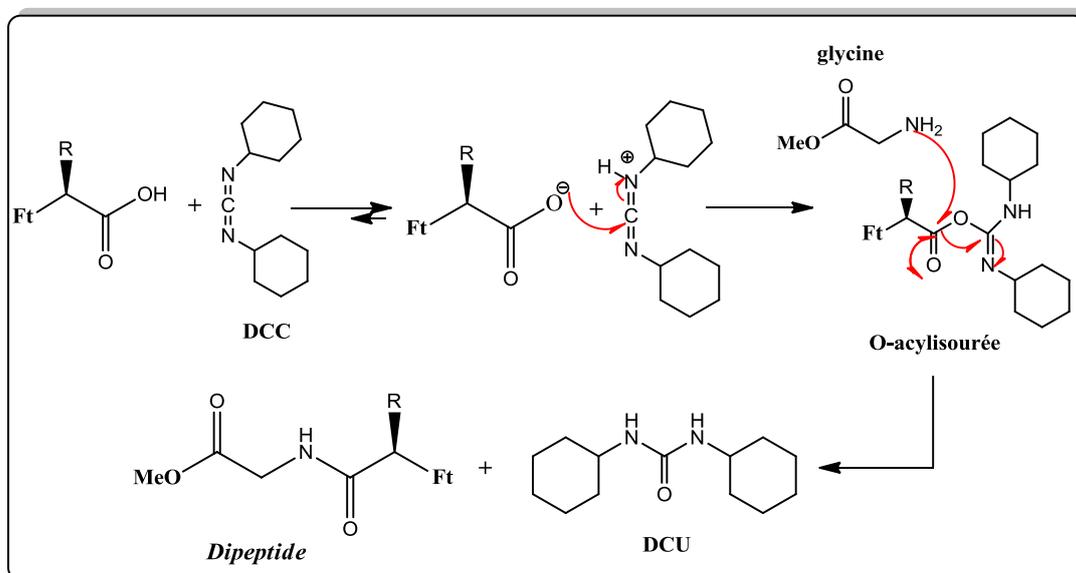


Schéma 6 : Mécanisme du couplage peptidique.

#### III.3.2.1. Couplage Ft-amino acide-glycine-CO<sub>2</sub>Me :

Pour réaliser ce couplage peptidique nous avons adopté la même méthode décrite précédemment. C'est-à-dire, utiliser le DCC comme agent activant de la fonction acide de l'acide aminé.

Sur une suspension de la glycine (protégée sous forme d'ester méthylique) et la Ft-glycine dans du dichlorométhane anhydre, une solution de DCC dans le même solvant est ajoutée.

Le mélange réactionnel est ensuite agité à température ambiante pendant un certain temps : t heures, les résultats de la CCM nous ont guidés pour déterminer le temps de chaque réaction.

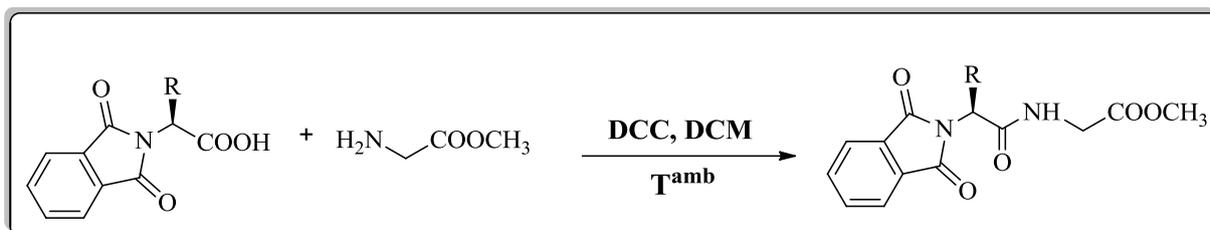


Schéma 7 : Réaction générale du couplage peptidique N-Ft-amino acide-gly-COOME.

Tableau 2 : Les dipeptides synthétisés.

Entrée	Dipeptides	Structures	Temps de réaction Rendement
1	N-Ft-gly-gly	<p>(8)</p>	24h R = 79,1%
2	N-Ft-Val-gly	<p>(9)</p>	24h R = 91,63%
3	N-Ft-Leu-gly	<p>(10)</p>	48h R = 95,06%
4	N-Ft-phénylalanine-gly	<p>(11)</p>	48h R = 94,87%

### III.3.2.1.1. Couplage acide gallique-gly-CO<sub>2</sub>Me :

Dans le but d'introduire un motif aromatique dans la structure de nos synthons cibles, nous avons choisi de coupler l'acide gallique avec l'ester méthylique de la glycine.

Le choix du motif « acide gallique » n'a pas été fait au hasard, ce dernier possède trois hydroxyles sur le cycle aromatique. Ce qui nous permettra par la suite, de greffer trois lipides (partie hydrophobe) via une simple réaction d'estérification.

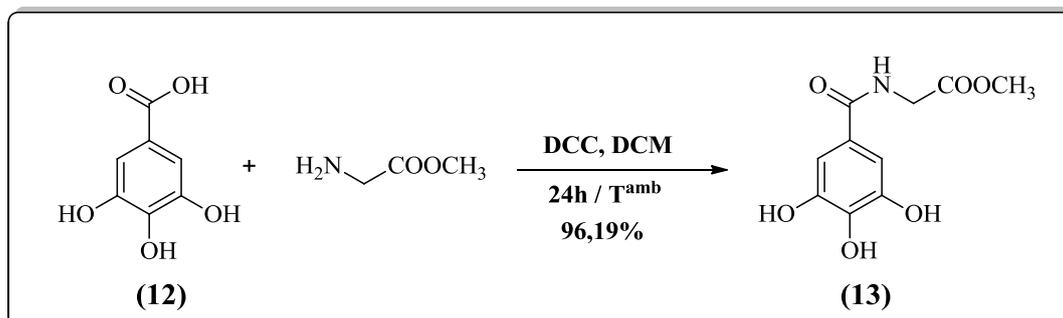


Schéma 8 : Réaction de couplage de l'acide gallique avec la gly-COOMe.

### III.3.2.2. Déprotection du groupe phtalimido des dipeptides Ft-amino acide-glycine-CO<sub>2</sub>Me :

La déprotection du groupe phtalimido est communément réalisé par un traitement utilisant l'hydrazine, dans un mélange de solvants dichlorométhane/méthanol (1:1) à température ambiante durant 18h.

Par action de l'hydrazine (NH<sub>2</sub>-NH<sub>2</sub>) sur le phtalimide, on peut libérer la fonction amine selon le mécanisme ci-dessous :

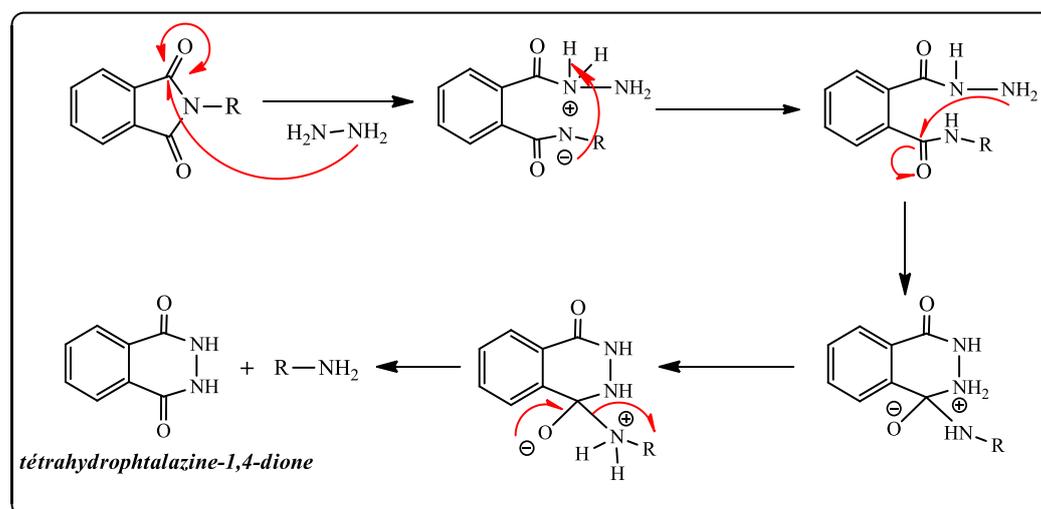


Schéma 9 : Mécanisme d'hydrolyse du groupe phtalimido par l'hydrazine.

Le sous-produit (tétrahydrophthalazine-1,4-dione) engendré au moment de la réaction est éliminé par simple filtration.

Une fois le milieu réactionnel est concentré sous le « rotavapor », on effectue une alcalinisation au résidu obtenue jusqu'à pH = 11 puis une extraction avec un solvant adéquat à chaque dipeptide.

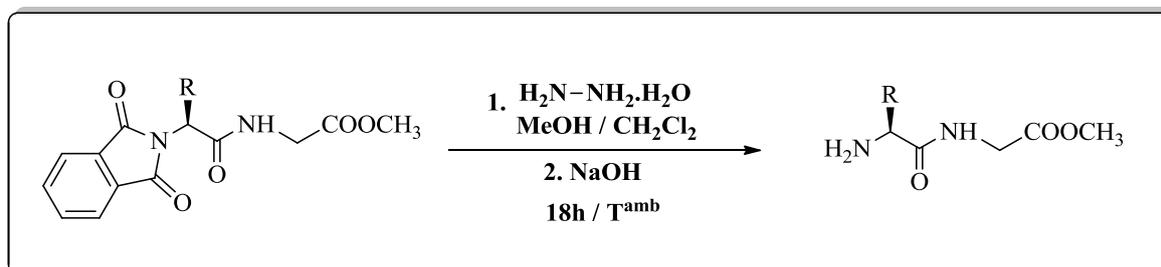


Schéma 10 : Réaction générale de déprotection du groupe Ft des dipeptides Ft-amino acide-glycine-COOME.

Tableau 3 : Les dipeptides déprotégés.

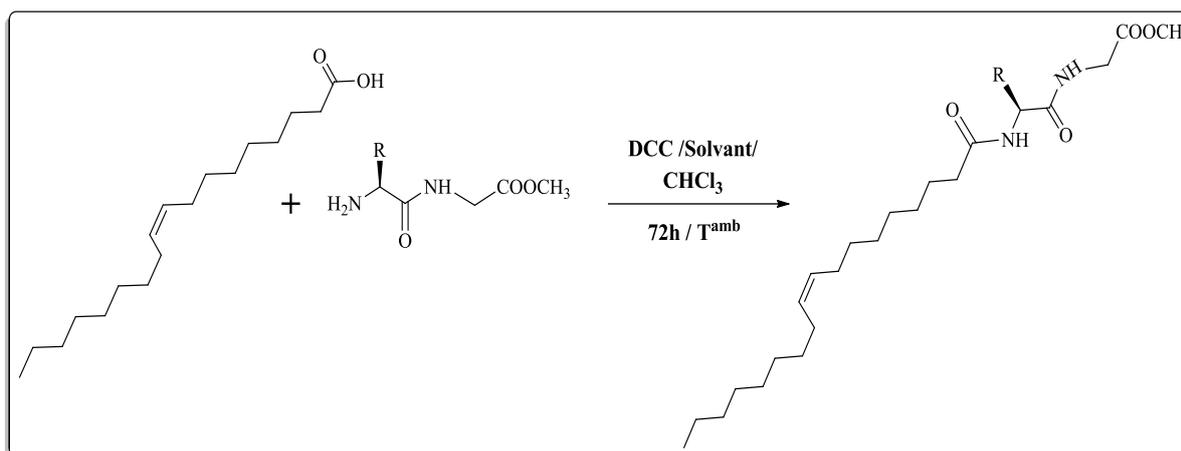
Entrée	Dipeptides	Structures Solvant d'extraction	Temps de réaction Rendement
1	$\text{H}_2\text{N-gly-gly-COOME}$	$\text{H}_2\text{N}-\text{CH}_2-\text{C}(=\text{O})-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{COOCH}_3$ <p style="text-align: center;">(14)</p> <p style="text-align: center;"><i>Dichlorométhane</i></p>	18 h $R = 75 \%$
2	$\text{H}_2\text{N-Val-gly-COOME}$	$\text{H}_2\text{N}-\text{CH}(\text{CH}_3)_2-\text{C}(=\text{O})-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{COOCH}_3$ <p style="text-align: center;">(15)</p> <p style="text-align: center;"><i>Dichlorométhane / Méthanol (1 :0.25)</i></p>	18 h $R = 71,15 \%$
3	$\text{H}_2\text{N-Leu-gly-COOME}$	$\text{H}_2\text{N}-\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2)-\text{C}(=\text{O})-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{COOCH}_3$ <p style="text-align: center;">(16)</p> <p style="text-align: center;"><i>Dichlorométhane / Méthanol (1 :0.25)</i></p>	18 h $R = 76,66 \%$
4	$\text{H}_2\text{N-phényl-gly-COOME}$	$\text{H}_2\text{N}-\text{CH}(\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5)-\text{C}(=\text{O})-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{COOCH}_3$ <p style="text-align: center;">(17)</p> <p style="text-align: center;"><i>Dichlorométhane / Méthanol (1 :0.25)</i></p>	18 h $R = 64,61 \%$

### III.3.3. Synthèses des peptidolipides :

#### III.3.3.1. Couplage acide oléique et NH<sub>2</sub>-amino acide-glycine-CO<sub>2</sub>Me :

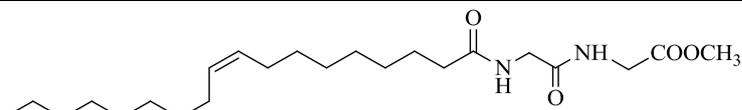
Afin de réaliser ce couplage, on a opté pour la même voie de synthèse décrite au par-avant. Car même ce couplage peptidique nécessite une activation préalable de la fonction acide carboxylique du lipide constituée d'une seule chaîne hydrocarbonée à 18 carbones (l'acide oléique), en un composé carbonylé portant un meilleur groupe partant X avant de le condenser avec la fonction amine du dipeptide.

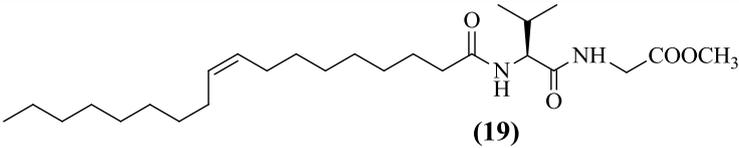
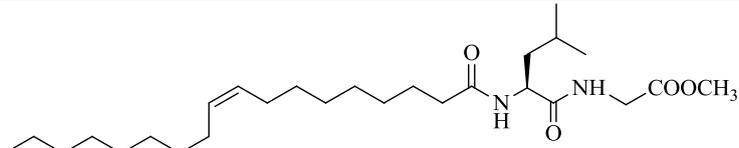
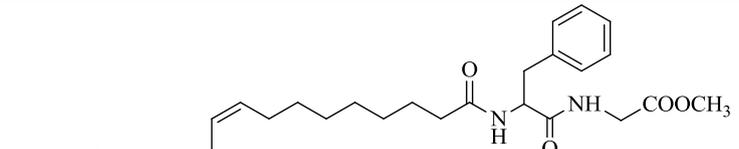
Notons bien que chaque réaction se déroule dans un solvant spécifique à chaque structure du dipeptide (selon la solubilité), et il fallait aussi dissoudre d'abord l'acide gras dans du chloroforme avant de l'ajouter goutte à goutte au milieu réactionnel. Donc chaque réaction est effectuée dans un mélange de solvant (voir tableau 8) compatible aux différents réactifs.



Shéma 10 : Réaction générale du couplage du lipide avec un dipeptide.

Tableau 4 : Les peptidolipides synthétisés.

Entrée	Dipeptides	Structures Solvant de réaction	Temps de réaction Rendement
1	Acide oléique- HN-gly-gly- COOMe	 <p>(18)</p> <p>Dichlorométhane / chloroforme (2 :1)</p>	72h R = 81,9 %

2	Acide oleique- NH-Val-gly- COOMe	 <p style="text-align: center;"><b>(19)</b></p> <p style="text-align: center;"><i>Dichlorométhane, Méthanol / Chloroforme (2 :1)</i></p>	72h <b>R= 83,11 %</b>
3	Acide oleique- NH-Leu-gly- COOMe	 <p style="text-align: center;"><b>(20)</b></p> <p style="text-align: center;"><i>Chloroforme / Méthanol (2 :1)</i></p>	72h <b>La DCU ne c'est pas formée</b>
4	Acide oleique- NH- phénylalanine- gly- COOMe	 <p style="text-align: center;"><b>(21)</b></p> <p style="text-align: center;"><i>THF / Chloroforme (2 :1)</i></p>	72 h <b>R= 95,14 %</b>

**Remarque :**

Nous n'avons pas observé la formation de la **DCU** lors du couplage de la L-leucine avec l'acide oléique même après refroidissement et par conséquent, nous avons dû admettre, deux hypothèses :

- 1- Soit la réaction n'a pas été effective. On peut avancer l'idée suivante : l'activation de la fonction acide carboxylique a bien eu lieu, mais le couplage ne s'est pas réalisé, sans doute à cause du solvant utilisé : le chloroforme (**CHCl<sub>3</sub>**) non anhydre.
- 2- Soit, la DCU s'est bien formée, mais elle était soluble dans ce solvant, et son élimination n'est possible que par chromatographie sur colonne.

*Vu le manque d'analyse et de temps, ce produit a été écarté de la suite de nos synthèses, à ce niveau.*

### III.3.3.1.1. Couplage acide oleique et acide gallique-gly-COOMe :

Le protocole de cette réaction est le même que le précédent sauf que cette dernière nécessite 3 équivalents de l'acide oléique ainsi que 3 équivalents du **DCC**, pour que le couplage des 3 hydroxyles de l'acide gallique soit atteint.

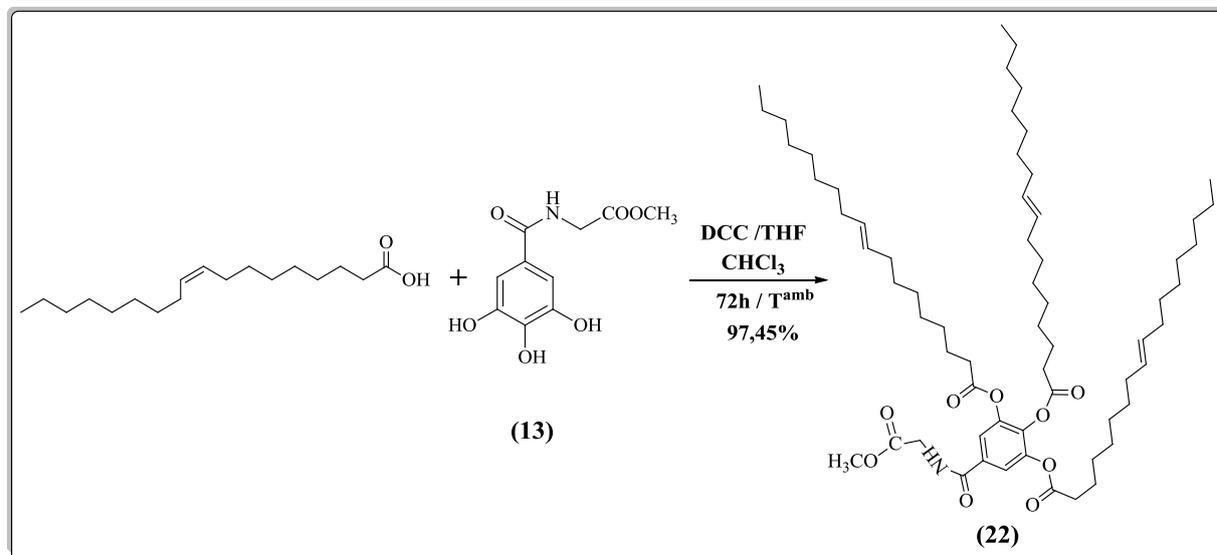


Schéma 11 : Réaction de couplage de l'acide oléique-acide gallique-gly-COOMe.

### III.3.3.2. Hydrolyse des synthons-CO<sub>2</sub>Me :

L'hydrolyse de ces synthons, est généralement effectuée avec 1 équivalent d'hydroxyde de lithium (lithine, 1N) dans un mélange de solvants THF/H<sub>2</sub>O (2 : 1) et à température ambiante durant toute une nuit. Sauf que le problème majeur rencontré lors de ces réactions, était de trouver un solvant approprié à chaque peptidolipide.

Une fois la réaction achevée, on effectue un prélavage au milieu réactionnel soit avec de l'acétate d'éthyle (AcOEt) ou bien du dichlorométhane pour pouvoir ensuite acidifier la phase aqueuse récupérée jusqu'à pH = 1. La démarche qui suit nécessite 3 fois l'extraction de cette dernière en utilisant le même solvant (AcOEt) ou DCM, afin que les 3 phases organiques combinées récupèrent le maximum de produit cible.

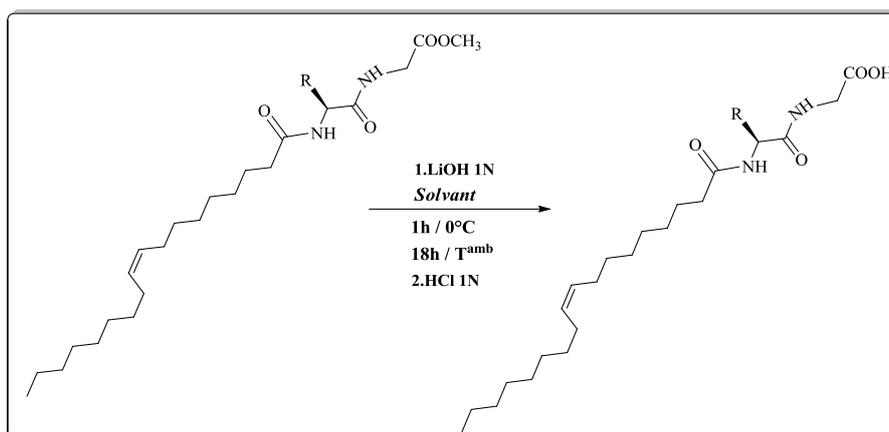


Schéma 12 : Réaction générale des synthons hydrolysés.

Tableau 5 : Les synthons hydrolysés.

Entrée	Dipeptides	Structures	Temps de réaction
		Solvant de réaction Solvant d'extraction	
1	Acide oléique- HN-gly-gly- COOH	<p>(23)</p> <p>(MeOH : DCM) / (H<sub>2</sub>O) (2 : 1)</p> <p>Dichlorométhane</p>	24h <b>R</b> = 70,83%
2	Acide oléique- NH-Val-gly- COOH	<p>(24)</p> <p>(MeOH : DCM) / (H<sub>2</sub>O) (2 : 1)</p> <p>Dichlorométhane</p>	24h <b>R</b> = 66,7%
3	Acide oléique- NH- phénylalanine- gly-COOH	<p>(25)</p> <p>THF / H<sub>2</sub>O (2 : 1)</p> <p>AcOEt</p>	24h <b>R</b> = 50,51%

### III.3.3.2.1. Hydrolyse du synthon acide oléique-gallique-gly-COOMe :

Le même protocole d'hydrolyse est appliqué au dérivé aromatique tri-substitués, sauf que le temps de réaction été de seulement 1h30 sous une température de 0°C.

Ce faible rendement est justifié par la durée insuffisante de la réaction vu que le temps optimal de l'hydrolyse est de 18h.

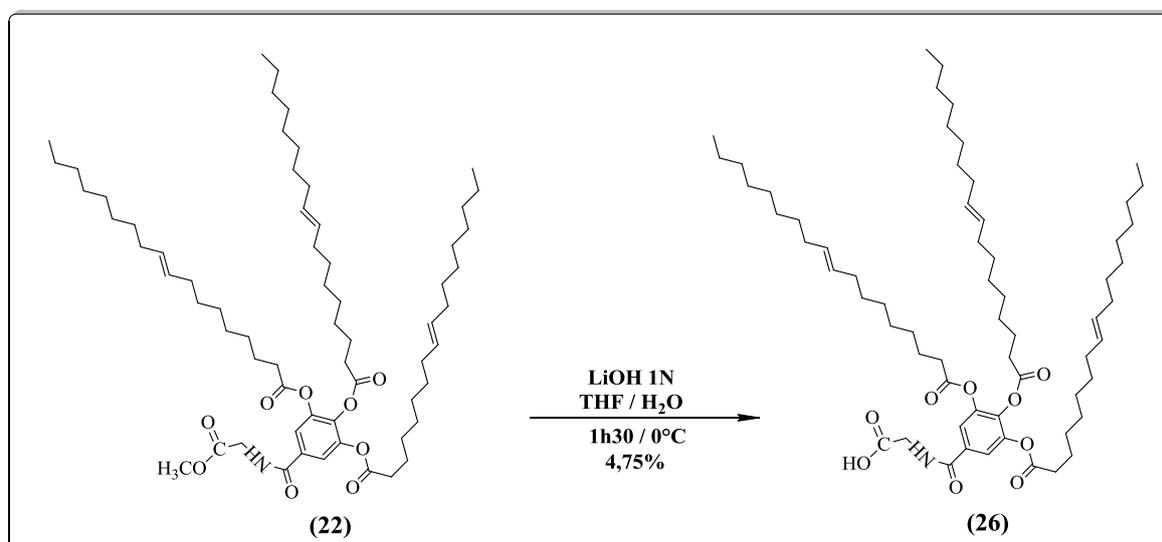


Schéma 13 : Réaction d'hydrolyse du synthon acide oléique-acide gallique-gly-COOMe.

## IV. Synthèse des cyclodextrines amphiphiles :

L'étape finale consistera à greffer nos peptidolipides préalablement synthétisés sur les macrocycles fonctionnalisés grâce à une réaction de type peptidique. Cette dernière synthèse aboutira à une série de peptidolipidyl-CDs, où elle demandera la mise au point des conditions opératoires optimales de couplage pour chacun des conjugués.

Nous avons donc réalisé la synthèse de 4 conjugués peptidolipidyl-CDs en faisant varier soit la nature de la CD-NH<sub>2</sub> (métylée : disponible au sein de notre labo ou non) soit la nature du synthon. Le challenge à relever à présent, est de trouver un mélange réactionnel compatible et adéquat à chaque structure vu que les solubilités des réactifs sont radicalement différentes (les CDs étant des composés polaires et le peptidolipide étant apolaire).

#### IV.1. Synthèse CD amphiphile 1 :

Dans le but de réaliser notre toute première CD-amphiphile, la réaction est conduite dans du DMF anhydre en présence d'un agent de couplage DCC. Le 1<sup>er</sup> synthon quant à lui est mis en solution dans du CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/ MeOH anhydre, avant d'être ajouté à la CD-NH<sub>2</sub>. Et pour finir, l'addition d'une solution du DCC dans le CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, se fait goutte à goutte au milieu réactionnel. A la fin de la réaction, on y ajoute de l'acétone et le tout est mis au réfrigérateur.

Cette CD-amphiphile est donc obtenue après 72h de réaction sous atmosphère anhydre, et 10 jours de cristallisation sous forme d'un solide blanc avec un rendement de 27,27%.

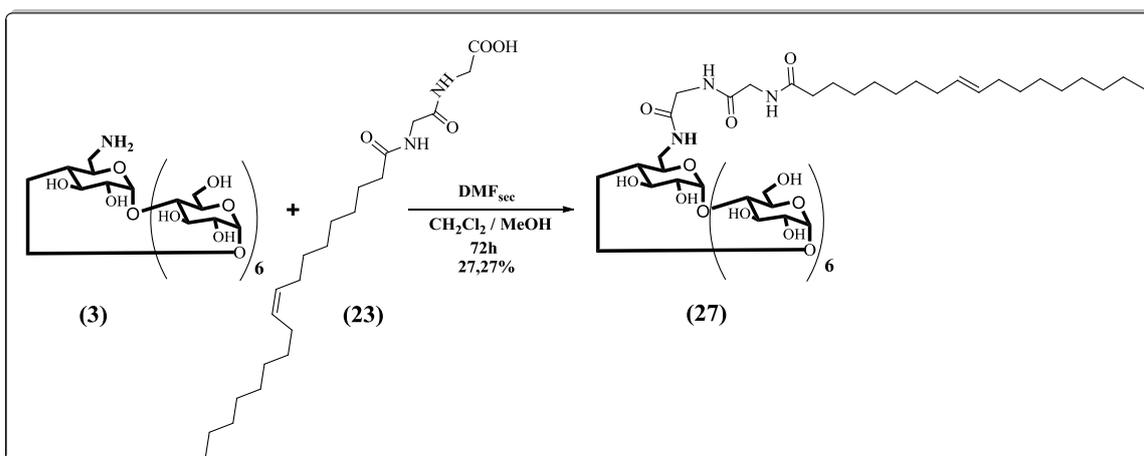


Schéma 14 : Synthèse de la 1<sup>ère</sup> CD-amphiphile.

#### IV.2. Synthèse CD amphiphile 2 :

D'après notre premier essai de synthèse de ces nouveaux conjugués, nous avons observé que l'ordre d'ajout des réactifs était primordial.

Donc pour la synthèse de notre seconde CD-amphiphile, nous avons décidé d'utiliser une CD-NH<sub>2</sub> totalement méthylée qu'on doit efficacement activer, pendant 20 min par l'ajout du DCC en premier lieu, puis le synthon. Cet ordre vise à éviter l'encapsulation du synthon par la CD-NH<sub>2</sub> sous forme de précipité, et ainsi éviter l'échec de la réaction.

Mais le problème rencontré était de trouver le solvant adéquat, nous avons donc opté pour un milieu réactionnel constitué d'un mélange de solvant : CHCl<sub>3</sub> sec / MeOH ainsi que quelques gouttes de DMF afin d'améliorer sa solubilité médiocre, tout en forçant les conditions de température à 45°C sans altérer le peptidolipide qui lui aussi était dissous dans le chloroforme.

En suivant ces étapes, nous avons eu un très bon rendement (66,66%) par rapport au rendement précédent.

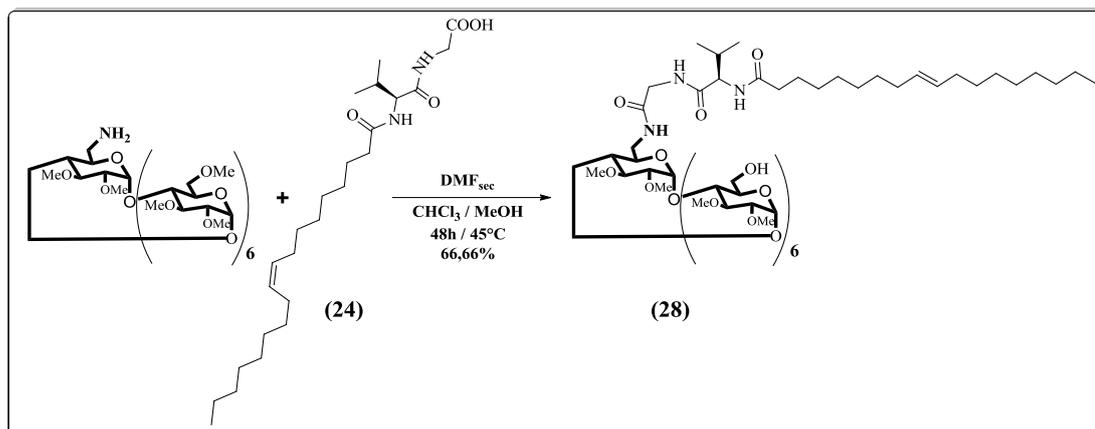


Schéma 15 : Synthèse de la 2<sup>ème</sup> CD-amphiphile.

### IV.3. Synthèse CD amphiphile 3 :

La CD-amphiphile suivante est unique, de part les trois antennes hydrophobe portés par le synthon. Ce qui conduit souvent à une auto-organisation dans l'eau sous forme de nanoparticules.

L'aboutissement à cette structure est réalisé en appliquant la même démarche d'avant, sauf que la température a été réduite à 25°C pour éviter toute hypothèse de dégradation, du produit final durant le week-end et du cout cette réaction a été réussie avec un rendement de 58,35%.

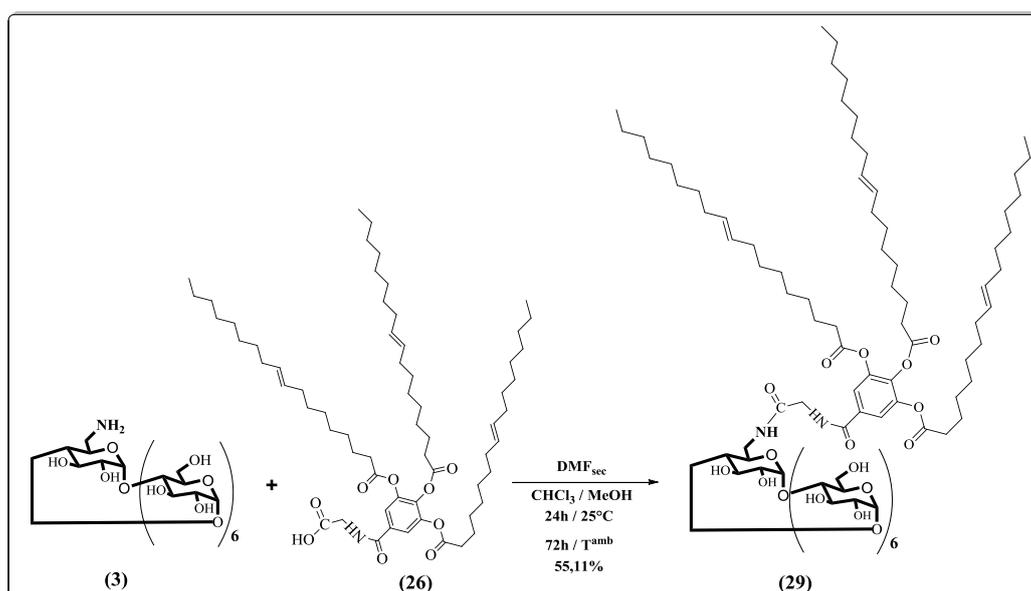


Schéma 16 : Synthèse de la 3<sup>ème</sup> CD-amphiphile.

#### IV.4. Synthèse CD amphiphile 4 :

L'obtention de cette 4<sup>ème</sup> CD amphiphile a été réalisée en suivant le même chemin synthétique qu'auparavant. Ensuite, on réalise une précipitation du produit cible par ajout de l'acétone, pendant une semaine au réfrigérateur. Nous obtenons cette CD amphiphile avec un bon rendement de 67,14 %, sous forme de solide blanc.

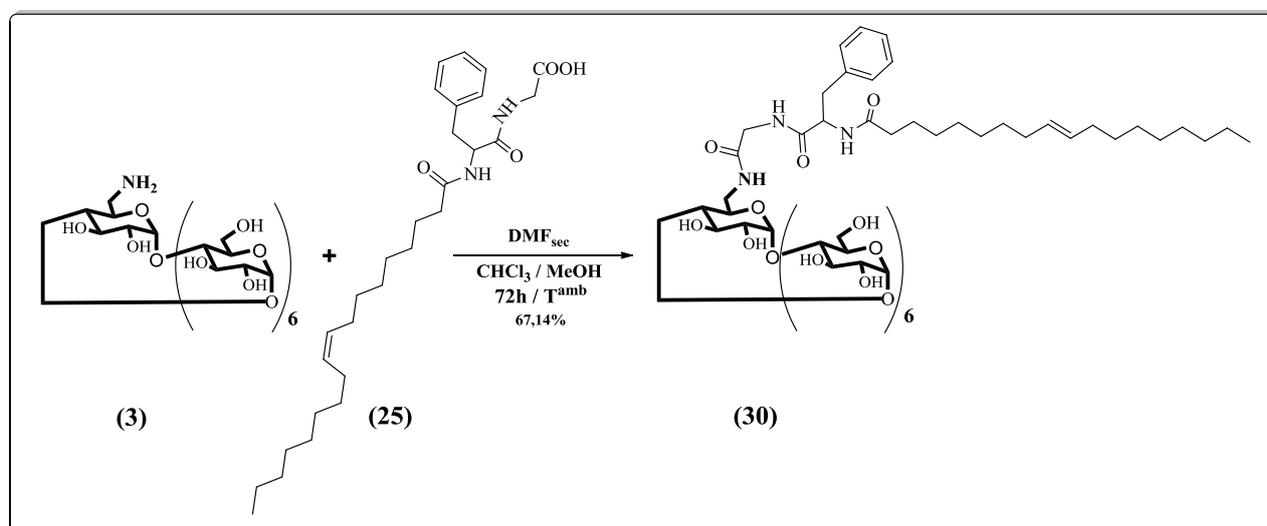


Schéma 17 : Synthèse de la 4<sup>ème</sup> CD-amphiphile.

Tableau 6 récapitulatif : *Optimisation des conditions opératoires :*

<i>CD amphiphile</i>	<i>Temps réaction</i>	<i>Solvant réaction</i>	<i>Température</i>	<i>Solvant cristallisation</i>	<i>Rendement</i>
(27)	72 h	DMF <sub>sec</sub> CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> / MeOH	T <sub>amb</sub>	Acétone	27,27 %
(28)	48 h	DMF <sub>sec</sub> CH <sub>3</sub> Cl / MeOH	45 °C	Acétone	66,66 %
(29)	24 h 72 h	DMF <sub>sec</sub> CH <sub>3</sub> Cl / MeOH	25 °C T <sub>amb</sub>	Acétone	58,35 %
(30)	72 h	DMF <sub>sec</sub> CH <sub>3</sub> Cl / MeOH	T <sub>amb</sub>	Acétone	67,14 %

## V. Partie II : Complexation des CD natives et amphiphiles :

### V.I. Etude du complexe d'inclusion en solution par Spectroscopie UV :

La présente étude a été entreprise pour déterminer une méthode appropriée, afin d'élaborer un modèle de complexation d'un principe actif par deux vecteurs différents, notamment des aziridines de synthèse avec la  $\beta$ -CD native et une de nos CDs amphiphiles synthétisées, et ainsi comparer l'apport de chaque type de CD aux propriétés de la molécule invitée.

De ce fait en étudiant l'amélioration des propriétés physico-chimiques des aziridines de synthèse, nous pourrions nous projeter vers l'avenir, d'appliquer ce même protocole, avec différents produits biologiquement actifs synthétisés ou isolés de sources naturelles, au sein de notre laboratoire.

#### V.1.1. choix des molécules hôtes et invitées :

Compte tenu de l'intérêt biologique des substances comportant un squelette aziridine, lesquelles sont souvent dotées d'intéressantes activités thérapeutiques, nous avons choisi une structure d'aziridine, utilisées comme molécules invitées dans l'étude de complexation. La structure de l'aziridine choisie présentée ci-dessus est très peu soluble dans l'eau et, en même temps stable en milieu aqueux que pendant 180 min.

De plus, ce choix a été renforcé du fait que cette aziridine a déjà fait l'objet d'une étude de complexation avec la  $\beta$ -CD par RMN, mais cette dernière n'a pas amélioré la solubilité ni de l'aziridine, ni du complexe formé, qui précipite après seulement 18h. Donc, notre hypothèse stipule que la complexation à base de CD amphiphile, pourra palier aux problèmes de solubilité ou stabilité.

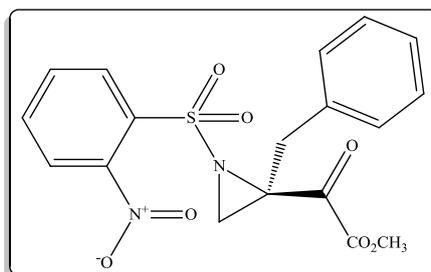


Figure 3 : Structure de l'aziridine utilisée.

### V.1.2. Protocole :

Un spectrophotomètre UV-Visible avec cellules en quartz de 1 cm a été utilisé, pour toutes les études spectroscopiques suivantes. Les spectres d'absorption ont été enregistrés dans un intervalle compris entre 190 nm à 400 nm.

Pour pouvoir entamer cette étude, il a fallu préparer deux solutions mères pour les deux molécules, à savoir l'aziridine et la  $\beta$ -CD à concentration identique de  $10^{-4}$  M.

On note, que la solubilisation de la totalité des quantités est primordiale. En effet, si la solution initiale n'est pas homogène, la concentration initiale des solutions mère n'est pas exacte, et l'erreur se répercute sur toute la série des solutions. Il est à noter aussi que la solubilisation de la  $\beta$ -CD se fait en chauffant la solution à  $40^{\circ}\text{C}$ .

Les spectres UV des deux solutions mère ainsi que celui du complexe 1 : 1 ; formé en mélangeant 2 ml de chaque solution ont été enregistrés. Leur superposition, permet de suivre le changement d'absorption et ainsi avoir la confirmation qu'il y'a eu formation du complexe.

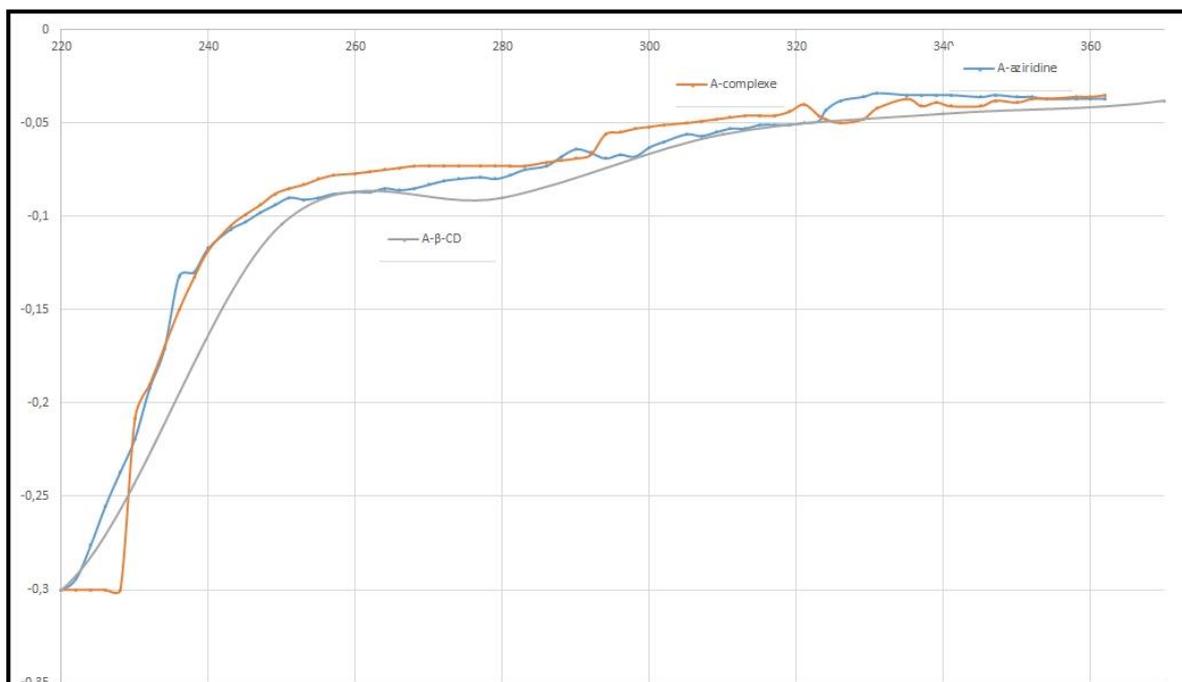


Figure 4 : Spectre d'absorption de l'aziridine et du complexe  $\beta$ -CD-aziridine.

- Sur cette figure, on a enregistré que l'absorption du complexe est plus élevée, que celle de l'aziridine ou la  $\beta$ -CD seule, ce qui prouve bien la réussite de la complexation, essentiellement la différence est remarquable dans l'intervalle [250-280].

### V.I.3. Détermination de la stœchiométrie du complexe d'inclusion :

Le premier paramètre à déterminer dans l'étude d'un complexe, est la stœchiométrie du complexe hôte-invité. La méthode des variations continues ou méthode de Job, est utilisée pour déterminer la stœchiométrie des complexes d'inclusion avec les CDs.

Nous avons préparé précédemment deux solutions équimolaires  $10^{-4}$  M de  $\beta$ -CD et d'aziridine. Les solutions à analyser par UV ont été préparées en mélangeant les solutions mères de  $\beta$ -CD et d'aziridine en différentes proportions, pour atteindre un volume total constant de 4 ml. On aboutit ainsi à une concentration finale constante de  $10^{-4}$  M.

L'exactitude dans la préparation des concentrations des 11 solutions dans des petits flacons, est réalisée par un prélèvement précis des volumes à partir des solutions mères, en utilisant des pipettes de 1 ml. L'absorption est en effet sensible à la concentration.

Tableau 7 : Absorbances UV du complexe Aziridine –  $\beta$ -CD à différentes proportions.

N° flacon	V aziridine ( $\mu$ L)	V $\beta$ -CD ( $\mu$ L)	[aziridine] (M)	[ $\beta$ -CD] (M)	$X_i$	A à $\lambda = 310$ (nm)
1	0	2000	0	$10^{-4}$	<b>0</b>	-0,045
2	200	1800	$10^{-5}$	$9 \times 10^{-5}$	<b>0,1</b>	-0,034
3	400	1600	$2 \times 10^{-5}$	$8 \times 10^{-5}$	<b>0,2</b>	-0,031
4	600	1400	$3 \times 10^{-5}$	$7 \times 10^{-5}$	<b>0,3</b>	-0,026
5	800	1200	$4 \times 10^{-5}$	$6 \times 10^{-5}$	<b>0,4</b>	-0,049
6	1000	1000	$5 \times 10^{-5}$	$5 \times 10^{-5}$	<b>0,5</b>	-0,038
7	1200	800	$6 \times 10^{-5}$	$4 \times 10^{-5}$	<b>0,6</b>	-0,035
8	1400	600	$7 \times 10^{-5}$	$3 \times 10^{-5}$	<b>0,7</b>	-0,033
9	1600	400	$8 \times 10^{-5}$	$2 \times 10^{-5}$	<b>0,8</b>	-0,038
10	1800	200	$9 \times 10^{-5}$	$10^{-5}$	<b>0,9</b>	-0,04
11	2000	0	$10^{-4}$	0	<b>1</b>	-0,035

L'enregistrement de la courbe de job se fait après avoir laissé s'établir l'équilibre de la complexation, dans les différentes solutions durant 24h et à une longueur d'onde (310 nm) choisie en fonction de l'absorption maximale de la molécule invitée (aziridine).

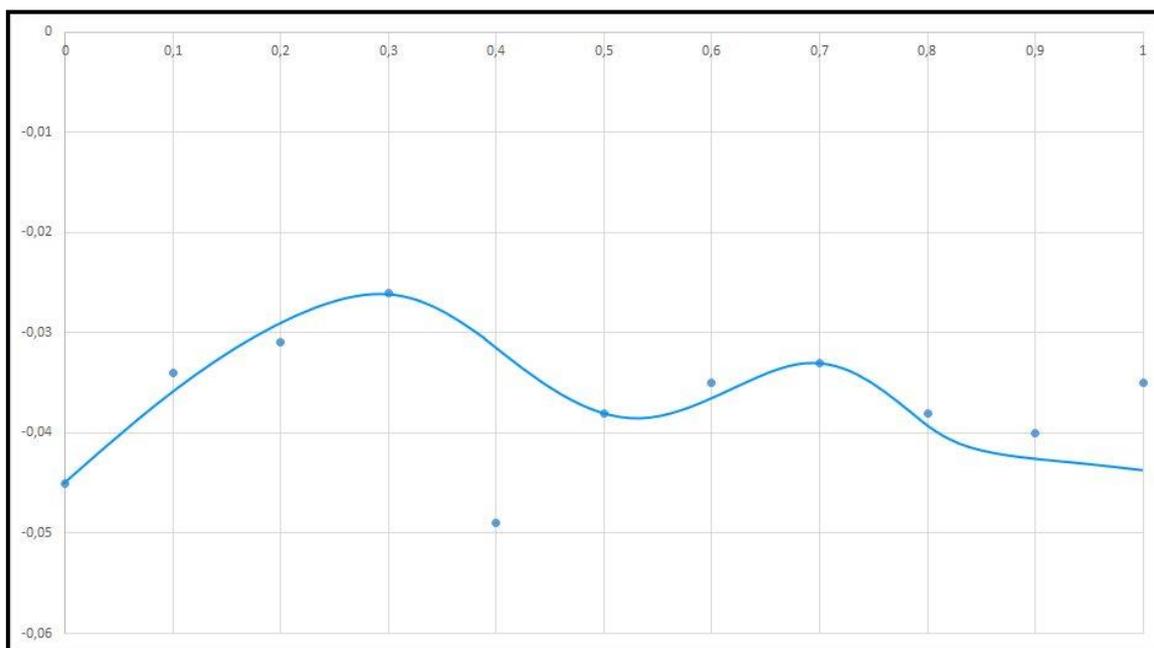


Figure 5 : Courbe de job du complexe aziridine- $\beta$ -CD.

Selon la courbe de Job tracée, on a un maximum de  $r = 0,3$ , ce qui implique la formation d'un complexe de stœchiométrie 1:2, cela veut dire qu'il a fallu une molécule de  $\beta$ -CD pour deux molécules invitées, qui sont l'aziridine et le produit d'ouverture.

De plus, de telle courbe de job asymétrique est la preuve de formation de plusieurs complexes de nature différente, à ce niveau nous proposons la géométrie des complexes d'inclusion qui peuvent coexister dans le milieu, les différentes entités entrent en compétition pour se complexer avec la cavité de la  $\beta$ -CD :

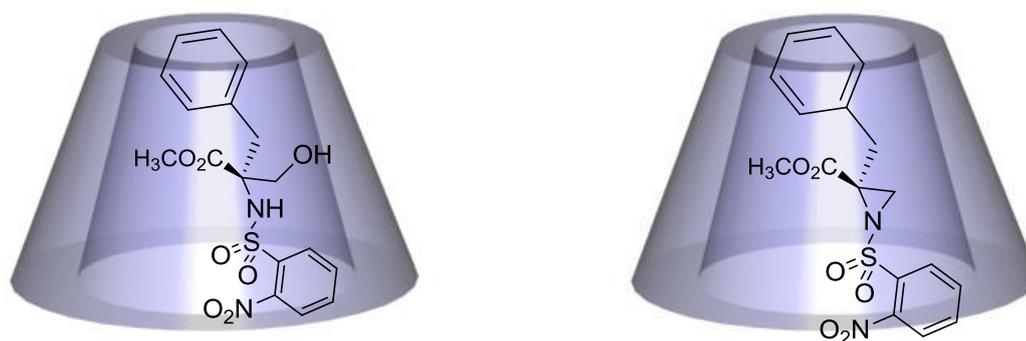


Figure 6 : Proposition de la géométrie des complexes d'inclusions formés.

### V.1.4. Détermination de la constante de formation $K_a$ :

Après avoir déterminé la stœchiométrie du complexe, il faut évaluer la constante d'association qui reflète la force d'interaction entre les deux espèces moléculaires : l'aziridine (molécule invitée), et la  $\beta$ -CD (molécule cage).

Afin de déterminer la constante de stabilité (ou d'association), pour ce complexe d'inclusion, nous avons suivi la méthode de Scott, qui est basée sur la préparation d'une solution d'aziridine avec une concentration constante à  $10^{-4}$  M.

Pendant ce temps les concentrations de la  $\beta$ -CD ont été modifiées à chaque fois, allant de 0 M,  $3 \times 10^{-5}$  M,  $4 \times 10^{-5}$  M,  $5 \times 10^{-5}$  M et  $6 \times 10^{-5}$  M. L'absorbance des solutions a été mesurée à 310 nm contre un blanc, qui contient seulement la  $\beta$ -CD à une concentration identique.

Tableau 8 : Absorbances UV du complexe aziridine-  $\beta$ -CD à différentes concentrations de la  $\beta$ -CD.

$V_{\text{aziridine}}$ (mL)	$V_{\beta\text{-CD}}$ (mL)	[aziridine] (mol/L)	[ $\beta$ -CD] (mol/L)	A [Complexe]	1/[ $\beta$ -CD]	1/ $\Delta A$
4	0	0,0001	<b>0</b>	-0,043	$\infty$	0,6618
2	2	0,00005	<b>0,000015</b>	-0,03	66666,67	0,6675
2	2	0,00005	<b>0,00002</b>	-0,04	50000	0,6631
2	2	0,00005	<b>0,000025</b>	-0,046	40000	0,6605
2	2	0,00005	<b>0,00003</b>	-0,047	33333,33	0,66

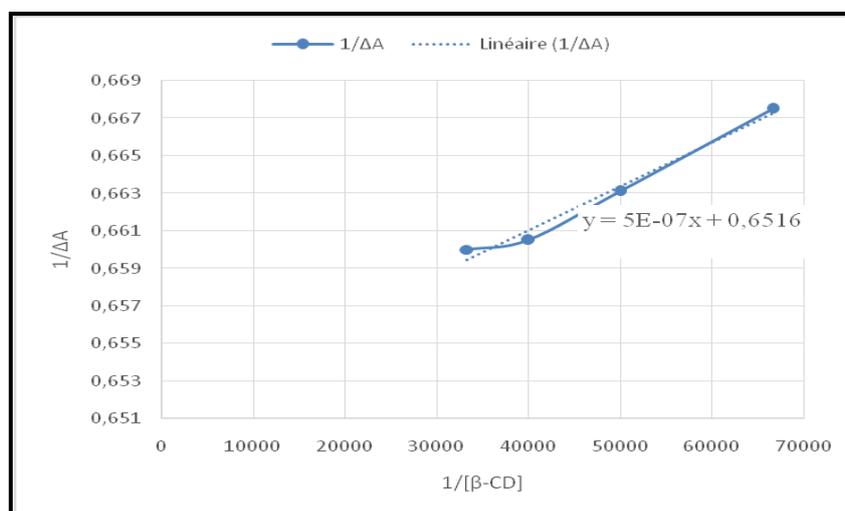


Figure 7 : Courbe de Scott du complexe aziridine- $\beta$ CD.

### Calcul de Ka :

On a d'après le graphe l'équation suivante :

$$y = 5 \times 10^{-7} x + 0,6516 \dots \dots \dots (1)$$

Et selon l'équation théorique :

$$\frac{1}{\Delta A} = \frac{1}{[PA] \times K \times \Delta \epsilon \times [CD]} + \frac{1}{[PA] \times \Delta \epsilon} \dots \dots \dots (2)$$

On peut déduire par identification entre les 2 équations (1) et (2) que :

$$1 / [PA] \times \Delta \epsilon = 0,6516$$

$$\Delta \epsilon = 1 / [PA].0,6516$$

Sachant que  $[PA] = [\text{aziridine}] = 0,00005 \text{ mol/l}$

$$\Delta \epsilon = 1 / (0,00005).(0,6516)$$



$$\Delta \epsilon = 30693,68$$

Pour tirer la valeur de Ka, on a :

$$1 / [PA] \times Ka \times \Delta \epsilon = 5 \times 10^{-7}$$

$$Ka = 1 / [PA] \times \Delta \epsilon \times 5.10^{-7}$$

$$Ka = 1 / (0,00005) \times (30693,68) \times (5.10^{-7})$$

$$Ka = 1 / 0,00000015346$$



$$Ka = 6516356,0536 \text{ M}^{-1}$$

Le problème de cette aziridine choisi, n'est pas résolu tant qu'elle présente une solubilité médiocre et une instabilité, c'est pour cela nous tentons dans la partie suivante la complexation à base de CD amphiphile.

### V.1.5. Complexe d'inclusion à base de CD-amphiphile (27) :

Lors de la préparation de la solution mère de la CD amphiphile, un problème est survenu ; la structure de ce nouveau conjugué (CD amphiphile) n'est pas du tout soluble dans l'eau, ni dans un mélange DMF/H<sub>2</sub>O. C'est pour sa qu'on n'a pas pu préparer un complexe à base de cette hôte, vue que le temps de la partie pratique est achevé.

Les complexations que nous avons tentées de faire par analyse UV ont toutes échoué. Donc devant ces quelques essais négatifs, nous avons préféré nous tourner vers une autre méthode d'inclusion.

## V.2. Etude du complexe d'inclusion par spectroscopie IR :

### V.2.1. Choix de la molécule invitée :

En se basant sur les deux critères cités auparavant, l'aziridine choisie cette fois-ci est complètement soluble dans l'eau et, en même temps instable puisqu'elle s'ouvre facilement.

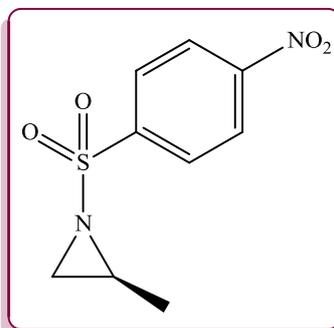


Figure 8 : Structure de l'aziridine choisie.

### V.2.2. Protocole de l'inclusion en mode pâteux :

Le complexe d'inclusion  $\beta$ -CD-aziridine a été préparé en utilisant la méthode de malaxage. Les deux composés ( $\beta$ -CD native et aziridine) ont été mélangés à ratio molaire de 1:1 et soigneusement broyés dans un mortier pendant 60 min, jusqu'à l'obtention d'un mélange homogène sous forme d'une pâte.

L'éthanol a été ajouté en fin de processus de broyage. Le précipité ainsi formé a été retiré du mortier, placé dans un flacon puis laissé dans l'étuve à une température de 70 ° C durant 15 min, puis pendant plusieurs jours à l'air libre, pour pouvoir éliminer l'éthanol.



*Mortier utilisé*



*1<sup>ère</sup> étape*





*Fin du broyage*



*L'ajout de l'éthanol*

Ce produit sera ensuite caractérisé par infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) vu que c'est un outil très utile pour prouver l'existence d'un complexe d'inclusion, en le comparant avec le spectre IR de l'aziridine seule et la CD seule.

On opère de la même façon pour préparer le complexe d'inclusion à base de la CD amphiphile.

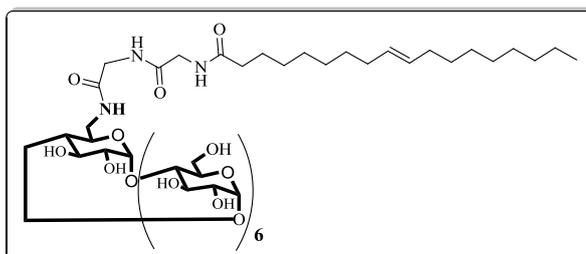


Figure 9 : Structure de la CD-amphiphile utilisée.

### V.2.3. Résultats et discussion :

#### V.2.3.1. Complexe à base de CD native :

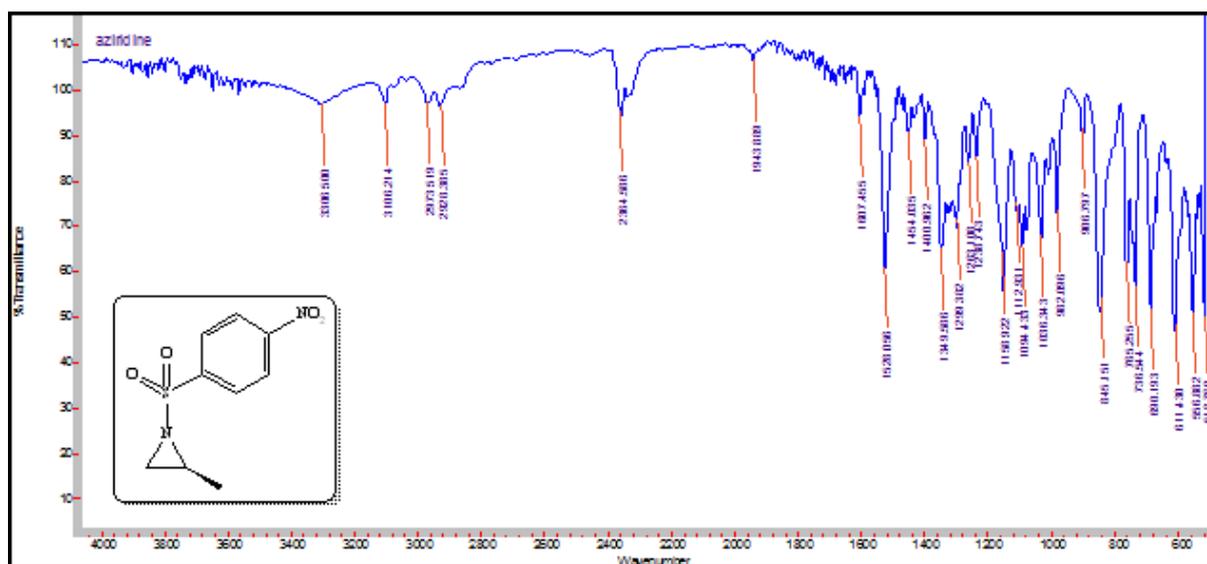


Figure 10 : Spectre IR de l'aziridine seule.

**Interprétation des spectres :**

**Tableau 9 : Comparaison entre l'intensité des bandes de l'aziridine et le complexe d'inclusion :**

<b>Groupe fonctionnels</b>	<b>Aziridine (cm<sup>-1</sup>)</b>	<b>Complexe d'inclusion (cm<sup>-1</sup>)</b>	<b>Changement : <math>\Delta\delta</math></b>	<b>Intensité des bandes de l'aziridine seule.</b>	<b>Intensité des bandes du complexe d'inclusion.</b>
v [CH] des CH <sub>3</sub> et CH <sub>2</sub> asymétrique	2973,51	2974,19	+ 0,68	<i>f</i>	<i>f</i>
v [CH] des CH <sub>3</sub> et CH <sub>2</sub> symétrique	2928,38	2929,15	+ 0,77	<i>f</i>	<i>f</i>
v [NO <sub>2</sub> ]	1528,05	1540,42	+ 12,37	<i>m</i>	<i>f</i>
v [NO <sub>2</sub> ]	1349,58	1351,18	+ 1,6	<i>m</i>	<i>f</i>
v [C=C] aromatique	1454,03	1455,25	+ 1,22	<i>f</i>	<i>f</i>
v [C=C] aromatique	1400,96	1420,99	+ 20,03	<i>f</i>	<i>f</i>
v [S=O]	1299,38	1262,76	-36,62	<i>m</i>	<i>f</i>
v [S-O]	982,09	997,88	+ 15,79	<i>f</i>	<i>m</i>
v [C-H] aromatique	845,15	882,075	+ 36,925	<i>m</i>	<i>f</i>

Remarque : *f* (faible) / *m* (moyenne) / *F* (forte).



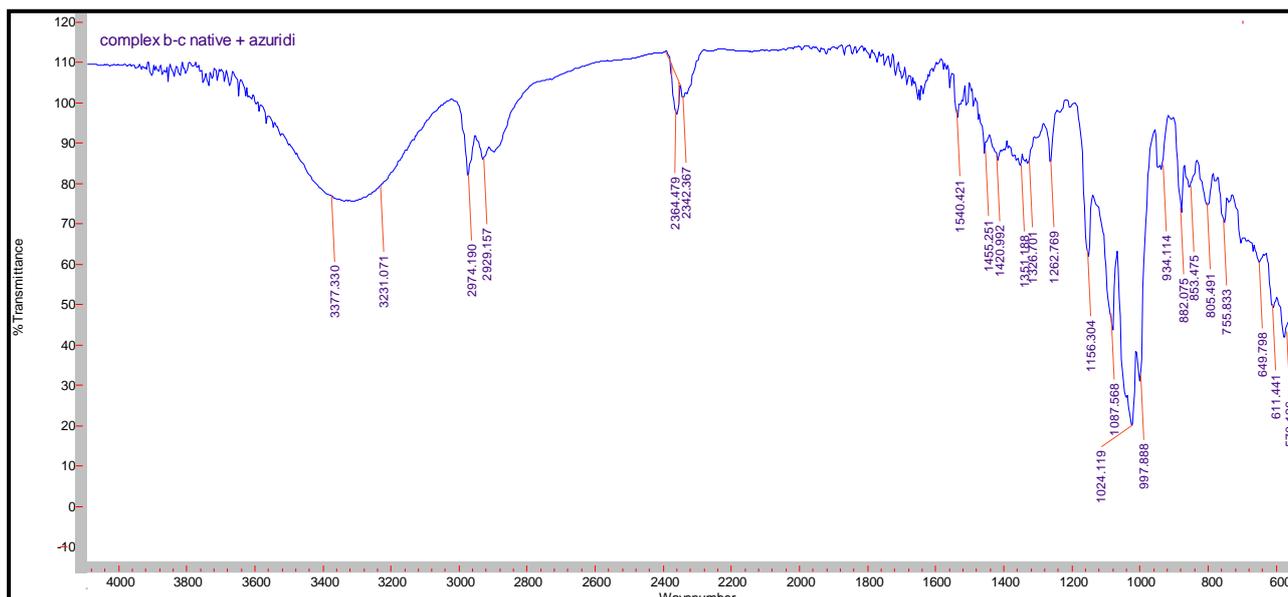


Figure 12 : Spectre IR du complexe aziridine- $\beta$ -CD native.

Le spectre du complexe d'inclusion, a subi des variations dans l'allure des bandes et la valeur d'absorption (voir tableau) en le comparant avec les spectres de l'aziridine et la  $\beta$ -CD seules ; ce qui indique de manière significative la formation du complexe d'inclusion.

En outre, une large bande d'hydroxyle de  $\beta$ -CD pure à  $3352,220 \text{ cm}^{-1}$  c'est rétrécie dans le spectre du complexe d'inclusion, ceci est un phénomène couramment observé lors de la formation du complexe.

On note aussi quelques augmentations et diminutions des changements d'intensité des pics. L'augmentation est due à l'insertion de la molécule invitée dans la cavité de la  $\beta$ -CD vu que le nuage électronique s'élargissait. La diminution quant à elle est due aux formations des liaisons hydrogènes et à la présence des forces de van der Waals pendant leur interaction pour former le complexe d'inclusion.

### **Proposition de la géométrie du complexe aziridine-CD native :**

Bien qu'il soit difficile de donner une géométrie du complexe d'inclusion, sans avoir recours à la RMN 2D, nous allons se baser sur les valeurs mentionnées dans les tableaux précédents qui montrent un changement flagrant au niveau des liaisons C-H (aromatique) ainsi qu' au niveau des deux groupes nitro ( $\text{NO}_2$ ) et (S=O). Ceci prouve donc l'encapsulation du groupe aromatique dans la cavité hydrophobe de la  $\beta$ -CD.

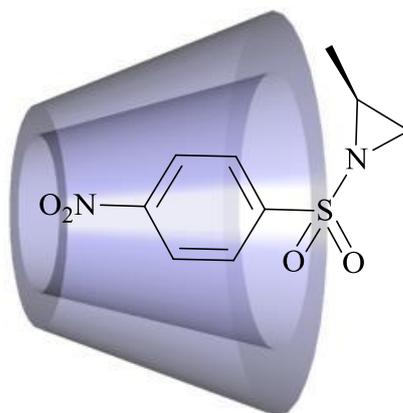


Figure 13 : Complexe d'inclusion aziridine- $\beta$ -CD native.

### V.2.3.2. Complexe à base de CD amphiphile :

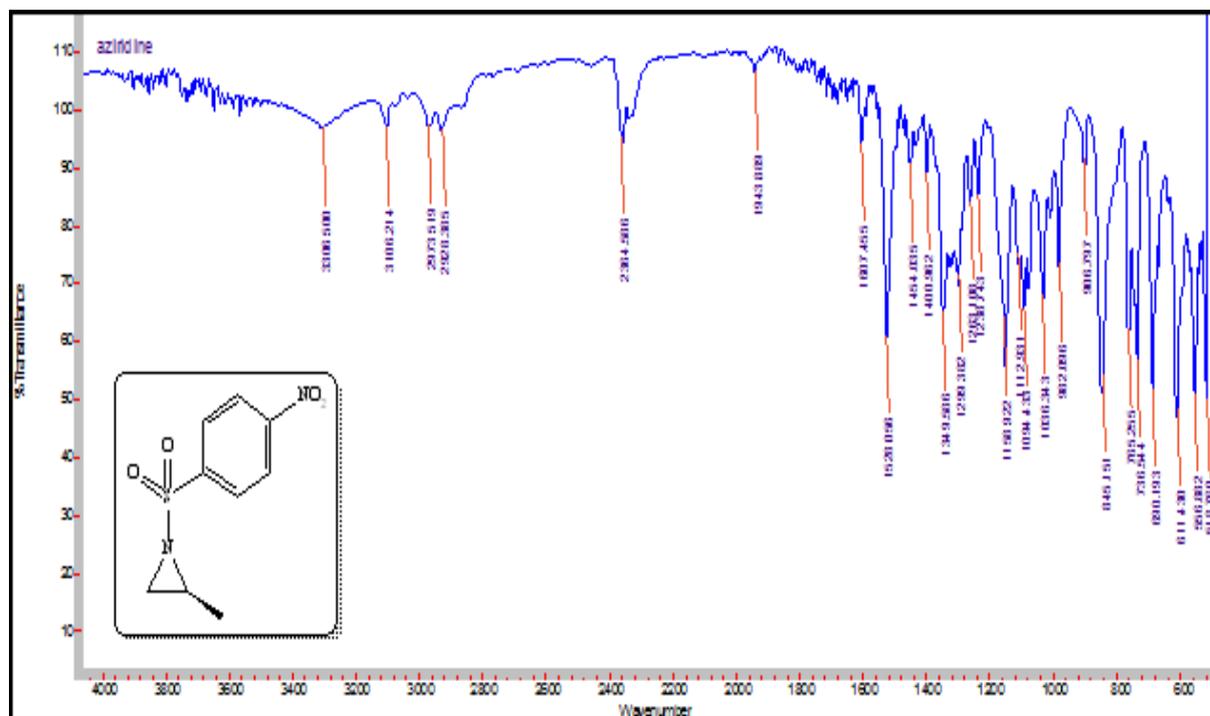


Figure 14 : Spectre IR de l'aziridine seule.

**Interprétation des spectres :**

**Tableau 11 : Comparaison entre l'intensité des bandes de l'aziridine et le complexe d'inclusion à base de la CD amphiphile :**

<b>Groupe fonctionnels</b>	<b>Aziridine (<math>cm^{-1}</math>)</b>	<b>Complexe d'inclusion (<math>cm^{-1}</math>)</b>	<b>Changement : <math>\Delta\delta</math></b>	<b>Intensité des bandes de l'aziridine seule.</b>	<b>Intensité des bandes du complexe d'inclusion.</b>
v [CH] des CH <sub>3</sub> et CH <sub>2</sub> asymétrique	2973,51	2974,05	+ 0,54	<i>f</i>	<i>f</i>
v [CH] des CH <sub>3</sub> et CH <sub>2</sub> symétrique	2928,38	2887,25	-41,13	<i>f</i>	<i>f</i>
v [NO <sub>2</sub> ]	1528,05	Disparition	/	<i>m</i>	/
v [NO <sub>2</sub> ]	1349,58	Disparition	/	<i>m</i>	/
v [C=C] aromatique	1454,03	1450	-4,03	<i>f</i>	<i>f</i>
v [C=C] aromatique	1400,96	1410	+ 9,04	<i>f</i>	<i>f</i>
v [S=O]	1299,38	1262,29	-37,09	<i>m</i>	<i>f</i>
v [S-O]	982,09	950,07	-32,02	<i>f</i>	<i>f</i>
v [C-H] aromatique	845,15	816,89	-28,26	<i>m</i>	<i>f</i>

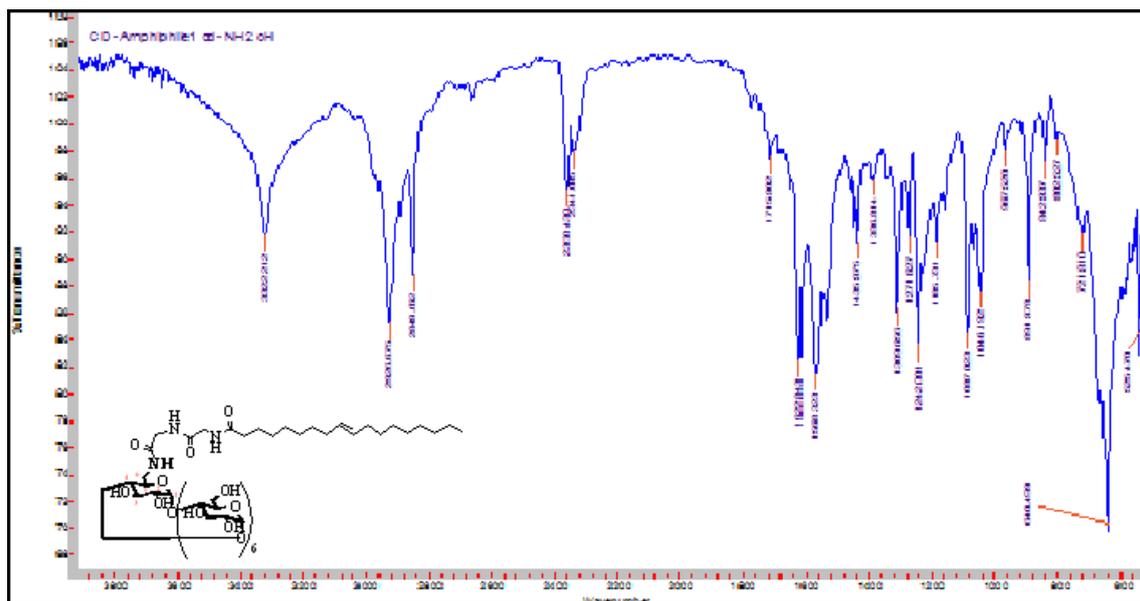


Figure 15 : Spectre IR de la 1<sup>ère</sup> CD amphiphile seule.

Tableau 12 : Comparaison entre l'intensité des bandes de la CD amphiphile et le complexe d'inclusion :

Groupe fonctionnels	CD amphiphile (cm <sup>-1</sup> )	Complexe d'inclusion (cm <sup>-1</sup> )	Changement : $\Delta\delta$	Intensité des bandes de la CD amphiphile	Intensité des bandes du complexe d'inclusion
v [OH] et v [NH] amide	3322,21	3400	<b>+77,79</b>	<i>m</i>	<i>m</i>
v [CH <sub>2</sub> ] asymétrique	2926,76	2974,5	<b>+47,74</b>	<i>f</i>	<i>f</i>
v [CH <sub>2</sub> ] symétrique	2849,62	2887,25	<b>+37,63</b>	<i>f</i>	<i>f</i>
v [C=O]	1622,84	1653,45	<b>+30,61</b>	<i>m</i>	<i>f</i>
v [C=O]	1568,32	disparition	/	<i>m</i>	/
v [C=O]	1545	disparition	/	<i>f</i>	/
v [C=C]	1435,97	1418,78	<b>-17,19</b>	<i>f</i>	<i>f</i>

v [C-O]	1242,00	1262,29	<b>+20,29</b>	<i>m</i>	<i>f</i>
v [C-C]	1185,73	1154,06	<b>-31,67</b>	<i>f</i>	<i>f</i>
v [OH] déformation	1087,023	1079,46	<b>-7,563</b>	<i>m</i>	<i>m</i>
v [CH <sub>2</sub> ] du synthon déformation	642	<i>Disparition</i>	/	<i>F</i>	/

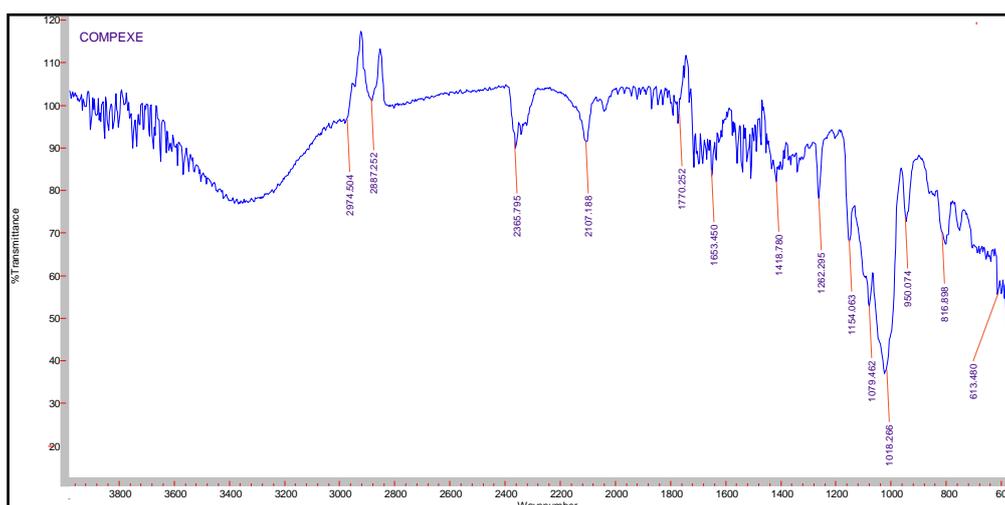


Figure 16 : Spectre IR du complexe aziridine-CD amphiphile.

### Proposition de la géométrie du complexe aziridine-CD amphiphile :

Bien qu'il soit difficile de donner une géométrie du complexe d'inclusion, sans avoir recours à la méthode la plus judicieuse qui est le ROESY, nous allons émettre que des hypothèses, en se basant pour un premier temps sur nos résultats IR. Essentiellement du spectre IR du complexe qui reflète la disparition de la bande de déformation caractéristique aux groupes CH<sub>2</sub> de l'acide oléique qui apparaissait dans le spectre de la CD amphiphile pure à 642 cm<sup>-1</sup>.

Cette observation laisse prédire l'encapsulation de la chaîne aliphatique de l'acide oléique et non pas le groupe aromatique de l'aziridine, qui possède la conjugaison vu qu'il est moins hydrophobe que la longue chaîne, ce qui donne une intra-complexation favorisée énergétiquement à l'intère-complexation. Mais nous ne pouvons pas non plus exclure l'existence de la deuxième possibilité de l'inclusion de l'aziridine en question, en faible pourcentage, nous proposerons donc les deux structures suivantes :

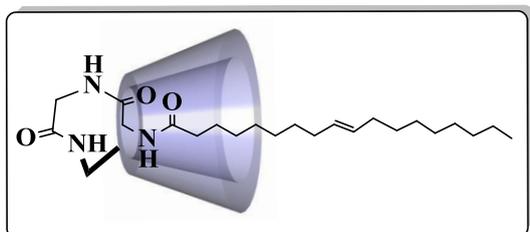


Figure 17 : *Complexe intramoléculaire.*

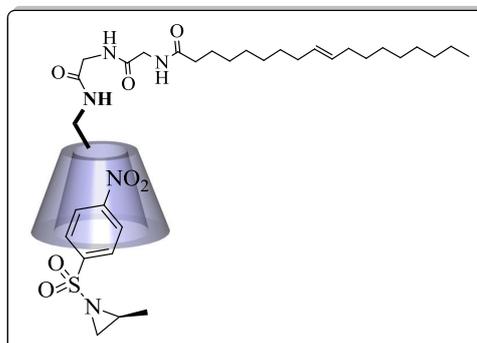


Figure 18 : *Complexe d'inclusion aziridine-CD amphiphile.*

## ***Conclusion générale et perspectives :***

La recherche que nous avons menée nous a permis de nous initier à différents aspects de la synthèse organique.

Nous avons synthétisé quatre conjugués (dérivées) peptidolipidyl-cyclodextrines à base de CD de natures variées (méthylation ou non des hydroxyles libres) par un couplage de type peptidique entre ces dérivés “CD monofonctionnalisés” et différents synthons à base de deux acides aminés sur lequel sont greffées une chaîne lipidique. La préparation de ces produits a été réalisée à l'échelle de plusieurs centaines de milligrammes, en cinq ou six étapes de synthèse avec de bons rendements. De plus, une méthode de purification simple est mise en œuvre pour ces nouvelles CDs amphiphiles.

De nombreux points restent encore à approfondir et à élucider. On citera parmi eux : La caractérisation structurale de nos CDs synthétisées par RMN 1D, RMN 2D et spectrométrie de masse. En effet, toujours dans l'optique du transport du médicament, il est nécessaire de connaître le comportement de ces nouveaux CDs amphiphiles dans l'eau et sous quelle forme s'auto-organisent ces nouvelles CDs.

Donc afin de pouvoir élargir notre travail, on a l'intention d'approfondir nos études de complexation de nouvelles CDs amphiphiles, avec différents principes actifs et ainsi évaluer l'apport aux propriétés physico-chimiques et biologiques.

Ce qui fait que la détermination des caractéristiques nécessaires à ce type de molécules fait parti de nos prochaines perspectives.

## Un regard vers l'avenir...

Nous envisageons dans la continuité de ce travail, et après avoir acquis la maîtrise de la synthèse des cyclodextrines et de la formation des complexes d'inclusion, d'utiliser nos connaissances pour tenter de réaliser d'autres CD amphiphiles, en modifiant les deux faces de la CD native, (face primaire et face secondaire) par un greffage de différentes chaînes lipidiques, et ainsi obtenir une forme bouquet pour pouvoir palier au problème de l'insolubilité de ces conjugués en milieu aqueux et essayer par la suite, de former d'autres complexes à base de cette structure.

Selon plusieurs approches, nous pouvons réaliser cet objectif, en greffant des chaînes cationiques sur l'une des faces de la CD.

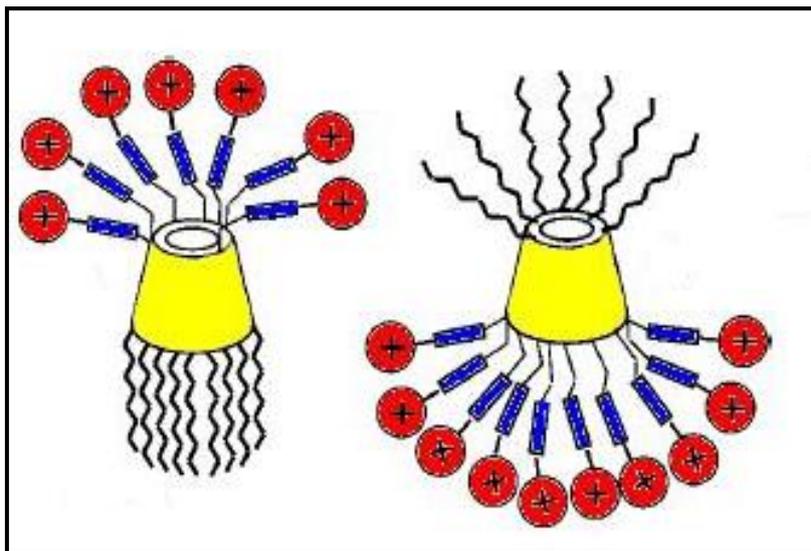


Schéma : Structure générale des CDs amphiphiles polycationique cibles.

## Chapitre IV : Partie expérimentale

### Indications générales

Au cours de notre travail, les manipulations et analyses ont été réalisées dans le laboratoire de Chimie Organique, Substances Naturelles et Analyses (COSNA), et les analyses IR au Laboratoire des Substances Naturelles et Bioactives (LASNABIO), de l'Université ABOUBAKR BELKAID-TLEMCEN.

### I. Matériels et méthodes :

#### I.1. Produits chimiques et solvants :

Les réactifs et les solvants de réaction proviennent des sociétés Sigma-Aldrich. Ils ont été utilisés sans traitement spécifique, sauf que, la  $\beta$ -cyclodextrine provient de chez Wacker Chemicals (Allemagne).

Les solvants nécessitant une utilisation dans des conditions anhydres sont distillés sous atmosphère d'azote. Les solvants ou réactifs utilisés au cours des différentes réactions ont été distillés à pression atmosphérique et séchés selon le cas.

#### I.2. Chromatographie :

##### *Chromatographie sur Couche Mince (CCM) :*

Les réactions sont suivies par Chromatographie sur Couche Mince (CCM), réalisée sur des plaques de verre recouvertes de gel de silice 60 F<sub>254</sub> (épaisseur 0,2mm, Merck, Allemagne). Les éluants utilisés sont des mélanges CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH (v/v) (Les proportions seront précisées pour chaque cas, dans la partie synthèse). Les composés à base de cyclodextrine sont révélés à l'aide d'une lampe UV ( $\lambda = 254\text{nm}$ ), puis par une immersion dans une solution de vanilline-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> suivie d'une étape de chauffage.

#### I-3 Infra rouge, UV, points de fusion :

##### *Infra-rouge :*

Les analyses dans l'infrarouge (IR) ont été effectuées au centre de mesures du laboratoire (LASNABIO). Les échantillons étaient traités sous forme de pastilles de KBr. Les principales fréquences d'absorption sont données en nombre d'onde (cm<sup>-1</sup>).

***UV-Visible :***

Les analyses UV, réalisées lors de cette étude ont été effectuées au laboratoire (COSNA) sur un spectrophotomètre Thermo-Scientific Helios  $\gamma$ .

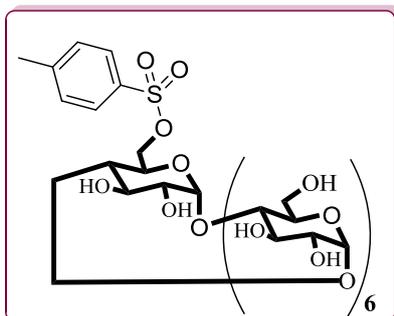
***Point de fusion :***

Les points de fusion sont déterminés grâce à un fusionomètre digital de la série IA9200 d'Electrothermal en utilisant des tubes capillaires.

## II. Protocoles des Synthèses :

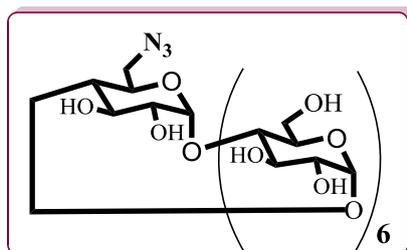
### II.1. Synthèse des CDs :

#### II.1.1. 6<sup>1</sup>-(O-*p*-toluènesulphonyl)-cyclomaltoheptose (ou β-CD-OTs) (1):



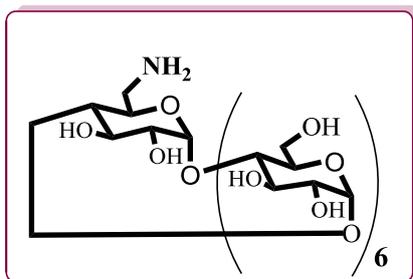
Dans un bicol de 250 ml sous agitation, la β-CD (1) (2g, 1,76 mmol, 1 éq) est dissoute dans 90 ml d'eau distillée. A ce mélange, on introduit dans l'ordre une solution aqueuse de CuSO<sub>4</sub> (0,84 g, 5,28 mmol, 3éq) et une solution de soude 2M (22 ml) préparée au préalable, afin d'effectuer une complexation des hydroxyles secondaires de la β-CD par ces ions cuivriques et ainsi orienter l'approche du chlorure de *p*-toluènesulfonyle sur la face primaire. Après avoir laissé réagir 10 min, on additionne goutte à goutte à ce milieu réactionnel le chlorure de *p*-toluènesulfonyle (2,68 g, 14,08 mmol, 8 éq) déjà dissout dans 16 ml d'acétonitrile. La réaction est maintenue sous agitation pendant 4h à température ambiante puis acidifiée à pH = 1 par une solution d'acide chlorhydrique 1N (9 ml). Le sel ainsi obtenu est ensuite filtré et le filtrat contenant le produit est mis au réfrigérateur pendant 6 jours. Après ce laps de temps on récupère les cristaux par filtration sous vide, ces derniers sont lavés à l'acétone puis séchés 24h à l'étuve. Le produit brut est sous forme d'une poudre blanchâtre. **Formule brute:** C<sub>49</sub>H<sub>76</sub>O<sub>37</sub>S ; **MM** = 1288 g.mol<sup>-1</sup> ; **Rendement:** (0,92 g, 0,71 mmol, 42,2 %) ; **CCM:** R<sub>f</sub> (1) = 0,4 (NH<sub>4</sub>OH 6%/EtOH/BuOH 5:5:4 (v/v/v)) ; **fusion:** 196°C ; **IR** (cm<sup>-1</sup>) : 3369,13 (OH) ; 1365,51 (S=O) ; 946,03 (S-O) ; 757 aromatique.

#### II.1.2. 6<sup>1</sup>-azido-6<sup>1</sup>-désoxy-cyclomaltoheptose (ou β-CDN<sub>3</sub>) (2):



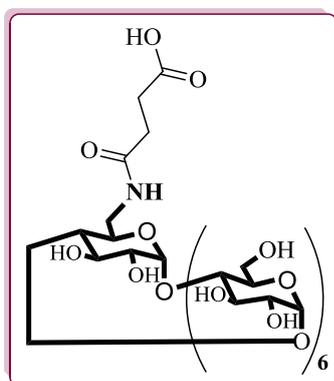
Dans un ballon de 250 ml, 0,24 g (0,18 mmol, 1éq) du composé (1) sont mis en suspension dans 6,31 ml d'eau sous agitation. 3ml (0,29 g, 4,5 mmol, 25éq) d'une solution aqueuse d'azoture de sodium sont ajoutés et le tout est porté à reflux, durant 4h. Le milieu réactionnel est alors maintenue 18h sous agitation douce et à température ambiante. Puis après filtration des insolubles la solution est concentrée à l'évaporateur rotatif (40°C) et le 6-azido-β-CD est ensuite récupéré par précipitation dans 13 ml d'acétone. Le solide ainsi obtenu est filtré, lavé à l'acétone (3×2ml) et à l'éther (2×1ml) puis séché à l'étuve (70°C). On isole donc 10 mg d'une fine poudre blanche correspondant au produit (2). **Formule brute :** C<sub>42</sub>H<sub>69</sub>N<sub>3</sub>O<sub>34</sub> ; **MM :** 1159 g / mol ; **Rendement :** 10 mg (8,62 × 10<sup>-3</sup> mmol, 4,76%) ; **CCM :** R<sub>f</sub> (2) = 0,3 (NH<sub>4</sub>OH 6%/EtOH/BuOH 5:5:4 (v/v/v)) ; **fusion :** 277°C ; **IR** (cm<sup>-1</sup>) : 2104,40 (N<sub>3</sub>).

### II.1.3. 6<sup>I</sup>-amino-6<sup>I</sup>-désoxy-cyclomaltoheptose (ou β-CDNH<sub>2</sub>) (3) :



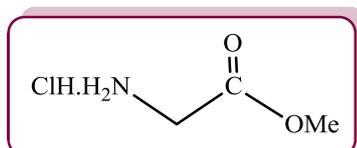
Dans un ballon de 250 ml, 0,26 g (0,22 mmol, 1éq) du composé (2) sont dissous dans 8 ml de DMF sous agitation. Une solution de 0,11g (0,44 mmol, 2éq) de triphénylphosphine dissous dans 2 ml de DMF est ajoutée. Après 2h sous agitation à température ambiante, le milieu réactionnel est refroidi à 0°C dans un bain de glace et 6ml d'ammoniaque à 30% sont lentement additionnés. La réaction est maintenue 18h sous agitation à température ambiante. La solution est ensuite concentrée à l'évaporateur rotatif 40°C. L'ajout de l'acétone (16ml) fait précipiter la β-CDNH<sub>2</sub> qui est filtrée puis lavée à l'acétone (3x5ml), à l'éther (2x5ml) et séchée à l'étuve. Le produit est obtenu sous forme d'une poudre blanche de 230mg. **Formule brute** : C<sub>42</sub>H<sub>71</sub>NO<sub>34</sub>, **MM** = 1133g.mol<sup>-1</sup> ; **Rendement** : 88,46% ; **CCM** : R<sub>f</sub> (3) = 0,2 (NH<sub>4</sub>OH 6%/EtOH/BuOH 5:5:4 (v/v/v)) ; **fusion** : 270°C ; **I.R (cm<sup>-1</sup>)** : 1659(NH) et absence de la bande (N<sub>3</sub>).

### II.1.4. 6<sup>I</sup>-amidosuccinyl-6<sup>I</sup>-désoxy-cyclomaltoheptaose (4):



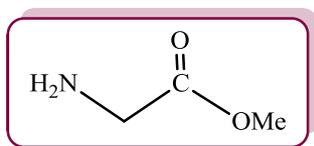
Dans un ballon de 250 mL, 990,5 mg (0,87 mmol ; 1 éq) du composé (3), sont dissous dans 20 mL de DMF anhydre sous agitation et sous atmosphère inerte. 137,7 mg (1,31 mmol ; 1,5 éq) d'anhydride succinique en solution dans 5 mL de DMF anhydre sont alors additionnés. Le milieu réactionnel est maintenu sous agitation et sous atmosphère inerte pendant 18 h à température ambiante. La réaction est stoppée par ajout de 100 µL d'eau puis la solution est concentrée à l'évaporateur rotatif sauf que l'élimination du DMF sans l'utilisation d'une pompe à membrane est impossible. Notre produit n'est donc pas isolé.

### II.2. Estérification de la glycine (2-aminoacétate de méthyle) (7) :



Dans un ballon sec surmonté d'un réfrigèrent avec garde à CaCl<sub>2</sub> et sous courant d'azote, on introduit 40 ml de méthanol anhydre ; et on refroidie à 0°C. On y ajoute goutte à goutte du chlorure d'acétyle (7,98 ml, 1,2 éq). La solution est agitée 5 min puis (7g, 93mmol, 1éq) de la glycine sont ajoutés en une seule portion.

Le mélange est ainsi chauffé lentement sous reflux. Une fois les 2h écoulées, on laisse refroidir à température ambiante, et on chasse le solvant sous pression réduite. 11,7 g (99%) du composé (6) sont obtenus après évaporation et séchage. **Formule brute** :  $C_3H_8NO_2Cl$ ; **MM** : 125,55 g/mol; **Rendement** : 11,7 g (93,1 mmol, 99%).

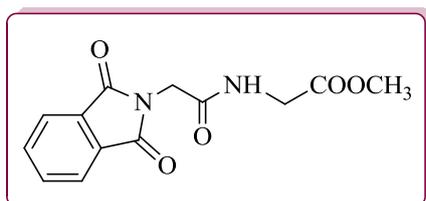


A une suspension de chlorhydrate de la glycine de méthyle (11,7 g, mmol) dans le THF (60ml), on ajoute (18,9 ml, 1,5 éq) de la triéthylamine (TEA) et on porte le mélange à température ambiante et sous agitation pendant 45 min. Au bout de ce temps, on filtre et on évapore le solvant pour récupérer l'amine libre sous forme d'un solide blanc de masse égale à 7,65g. **Formule brute** :  $C_3H_7NO_2$ ; **MM** : 89,09 g/mol; **Rendement** : 7,65g (85 mmol, 92,42%); **CCM** :  $R_f$  (7) = 0,25 (DCM / MeOH 9:1 (v,v)); **fusion** : 79,1°C; **IR** ( $cm^{-1}$ ) : 3250-3260 -NH<sub>2</sub> (amine primaire), 1717,21 C=O (ester), 1171,26 -O-C (ester), 1036,15 =C-O (ester).

### II.3. Synthèse des dipeptides :

#### II.3.1. Protocole général du couplage peptidique :

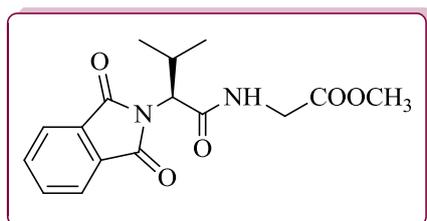
##### II.3.1.1. N-phthalimido-gly-gly-CO<sub>2</sub>Me (2-(2-(1,3-dioxoisindolin-2 yl)acétamido)acétate de méthyle(8):



Dans un réacteur de 250 ml, muni d'un barreau magnétique, on place 1éq. (1g, 4,87mmol) de la ftN-glycine en solution dans 50ml de dichlorométhane anhydre, auxquels on ajoute 1éq. (0,43g, 4,87mmol) de la glycine méthylée. Une fois cette première addition terminée on patiente 15 minutes, et on additionne goutte à goutte 1éq. (1g, 4,87mmol) de DCC dissous au préalable dans 5ml de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>.

L'agitation est ensuite maintenue pendant 24h à 25°C. Une fois celle-ci terminée, la dicyclohexylurée (DCU) formée est éliminée par simple filtration, le solvant est évaporé, et le produit est récupéré sous forme d'une pâte avec un rendement de 79,1%. **Formule brute** :  $C_{13}H_{12}N_2O_5$ ; **MM** : 276,24 g/mol; **Rendement** : 1,06g (3,83 mmol, 71,9%); **IR** ( $cm^{-1}$ ) : 3260,06 NH (amide); 1667,29 C=O (amide); 1112,39 (C-N); 1776,55 C=O (phthalimido); 1723,71 (C=O ester); 1237,17 C-O-C (ester).

**II.3.1.2. N-phtalimido-val-gly-CO<sub>2</sub>Me ((S)-2-(2-(1,3-dioxisoindolin-2-yl)-3-méthylbutanamido)acétate de méthyle(9):**



On applique le même mode opératoire qu'au paragraphe

**II.3.1.1**

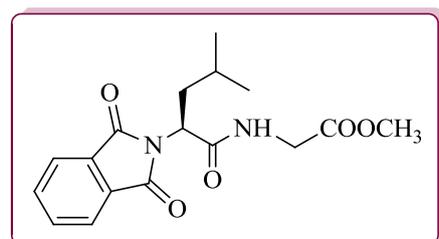
**Caractérisation :**

**Formule brute :** C<sub>16</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>; **MM :** 318,32 g/mol ;

**Rendement :** 1,86g (5,84 mmol, 91,63%) ; **Forme :** pâteux ;

**CCM :** R<sub>f</sub> (9) = 0,98 (DCM / MeOH 9:1 (v,v)).

**II.3.1.3. N-phtalimido-Leu-gly-CO<sub>2</sub>Me ((S)- 2-(2-(1, 3-dioxisoindolin-2-yl)-4-méthylpentanamido) acétate de méthyle) (10) :**



On applique le même mode opératoire qu'au paragraphe

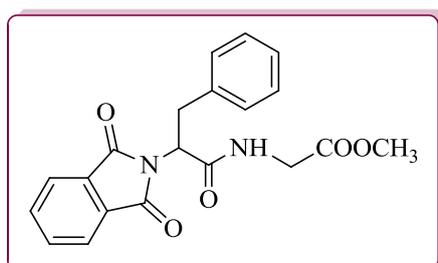
**II.3.1.1**

**Caractérisation :**

**Formule brute :** C<sub>17</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>; **MM :** 332,35 g/mol ;

**Rendement :** 1,54g (4,63 mmol, 95,06%) ; **Forme :** pâteux ; **CCM :** R<sub>f</sub> (10) = 0,72 (DCM / MeOH 9:1 (v,v)) ; **IR (cm<sup>-1</sup>) :** 3474,74 NH (amide) ; 1653,61 C=O (amide) ; 1773,74 C=O (phtalimido) ; 1712,14 C=O (ester) ; 1239,58 C-O-C (ester).

**II.3.1.4. N-phtalimido-phe-gly-CO<sub>2</sub>Me (2-(2-(1,3-dioxisoindolin-2-yl)-3-phénylpropanamido) acetate de méthyle) (11) :**



On applique le même mode opératoire qu'au paragraphe **II.3.1.1** en utilisant en plus quelques gouttes de la TEA.

**Caractérisation :**

**Formule brute :** C<sub>20</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>; **MM :** 366,37 g/mol ;

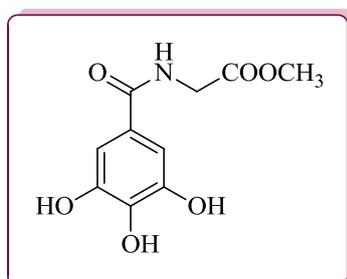
**Rendement :** 1,48g (4,03 mmol, 94,87%) ; **Forme :** pâteux ;

**CCM :** R<sub>f</sub> (11) = 0,52 (DCM / MeOH 9:1 (v,v)) ;

**IR (cm<sup>-1</sup>) :** 3323,29 NH (amide) ; 1651,97 C=O (amide) ; 1086,33 (C-N) ; 1772 C=O (phtalimido) ; 1715,64 C=O (ester) ; 1235,12 C-O-C (ester) ; 2853,35 (O-CH<sub>3</sub> méthoxy) ; 1628,35 – 1538,7 (C=C aromatique) ; 720 (Aromatique).

### II.3.1.5. Acide gallique-gly-CO<sub>2</sub>Me (2-(3, 4,5-trihydroxybenzamido) acétate de méthyle)

(13) :



On applique le même mode opératoire qu'au paragraphe II.3.1.1

#### Caractérisation :

**Formule brute :** C<sub>10</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>6</sub>; **MM :** 241,20 g/mol ; **Rendement :**

3,54g (14,67 mmol, 96,19%) ; **Forme :** huileux rouge-brique ;

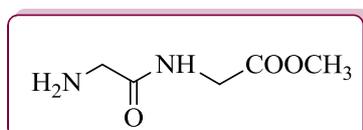
**CCM :** R<sub>f</sub> (13) = 0,4 (DCM / MeOH 9:1 (v,v)) ; **IR (cm<sup>-1</sup>) :**

3429,07 OH (phénol), 3300 NH (amide), 1702,03 -C=O (ester),

1553,22 C=O (amide), 1067,03 -O-C (ester), 1172,06 =C-O (ester).

### II.3.2. Protocol général de la déprotection du groupe phtalimido :

#### II.3.2.1. H<sub>2</sub>N-gly-CO<sub>2</sub>Me (2-(2-aminoacetamido) acétate de méthyle) (14):

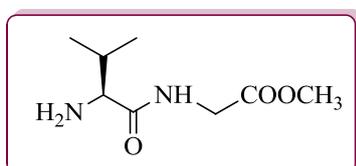


On ajoute sous agitation et à température ambiante 0,056 ml (2 éq.) d'hydrate d'hydrazine à une solution de 0,16g (0,58mmol, 1 éq) de la ftN-gly-gly-CO<sub>2</sub>Me déjà dissous dans un mélange de

solvant DCM / MeOH (1:1) (v,v) et on laisse agir durant toute une nuit. Après avoir évaporé le solvant, on reprend le résidu dans de l'eau distillé (2,7ml), on alcalise jusqu'à pH = 11 avec une solution de soude (1N) et on extrait avec du dichlorométhane. La phase organique cueillie est alors séchée sur CaSO<sub>4</sub> puis concentrée pour obtenir 0,12 g de produit pâteux. **Formule brute :** C<sub>5</sub>H<sub>10</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>; **MM :** 146,14 g/mol ; **Rendement :** 0,12g (0,82 mmol, 75%) ; **Forme :** pâteux ; **CCM :** R<sub>f</sub> (14) = 0,62 (DCM / MeOH 9:1 (v,v)) ; **IR (cm<sup>-1</sup>) :** 3649,61 et 3676,68 NH (amine primaire) ; 3325,13 (NH amide) ; 1620,95 C=O (amide) ; 1706,89 C=O (ester) ; 1259,26 C-O-C (ester).

#### II.3.2.2. H<sub>2</sub>N-Val-gly-CO<sub>2</sub>Me ((S) - 2-(2-amino-3-méthylbutanamido) acétate de méthyle)

(15):



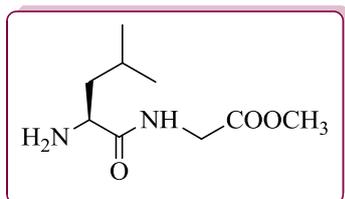
On procède de la même façon qu'au paragraphe II.3.2.1

**Formule brute :** C<sub>8</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>; **MM :** 188,22 g/mol ; **Rendement :** 0,74g (3,93 mmol, 71,15%) ;

**Forme :** pâteux ; **CCM :** R<sub>f</sub> (15) = 0,66 (DCM / MeOH 9:1 (v,v)).

### II.3.2.3. H<sub>2</sub>N-Leu-gly-CO<sub>2</sub>Me ((S) - 2-(2-amino-4-méthylpentanamido) acétate de méthyle)

(16):

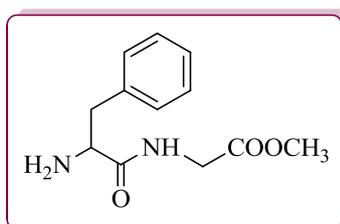


On procède de la même façon qu'au paragraphe II.3.2.1

**Formule brute :** C<sub>9</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub> ; **MM :** 202,25 g/mol ; **Rendement :** 0,29g (1,43 mmol, 76,66%) ;

**Forme :** pâteux ; **CCM :** R<sub>f</sub> (16) = 0,58 (DCM / MeOH 9:1 (v,v)) ; **IR (cm<sup>-1</sup>) :** 3327,27 NH (amine) ; 3251,51 NH (amide) ; 1665 C=O (amide) ; 1705,021 C=O (ester) ; 1244,90 C-O-C (ester) ; 2853,169 (O-CH<sub>3</sub> méthoxy).

### II.3.2.4. H<sub>2</sub>N-phénylalanine-gly-CO<sub>2</sub>Me (2-(2-amino-3 phénylpropanamido) acétate de méthyle) (17):



On procède de la même façon qu'au paragraphe II.3.2.1

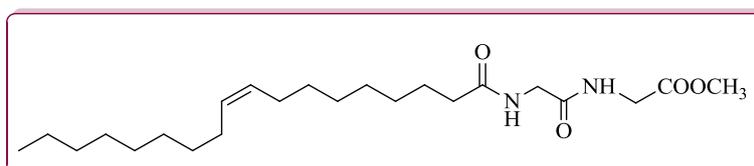
**Formule brute :** C<sub>12</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub> ; **MM :** 236,27 g/mol ; **Rendement :** 0,84g (3,55 mmol, 64,61%) ;

**Forme :** pâteux ; **CCM :** R<sub>f</sub> (17) = 0,4 (DCM / MeOH 9:1 (v,v)) ; **IR (cm<sup>-1</sup>) :** 3650,47 et 3676,56 NH (amine) ; 3232,57 NH (amide) ; 1697,5 C=O (amide) ; 1140,08 (C-N) ; 1262,8 C-O-C (ester) ; 2851,99 O-CH<sub>3</sub> (groupe méthoxy) ; 1447,61 (C=C).

## II.4. Synthèse des peptidolipides :

### II.4.1. Acide oléique-H<sub>2</sub>N-gly-gly-CO<sub>2</sub>Me ((Z)- 2-(2-oleamidoacetamido) acétate de méthyle)

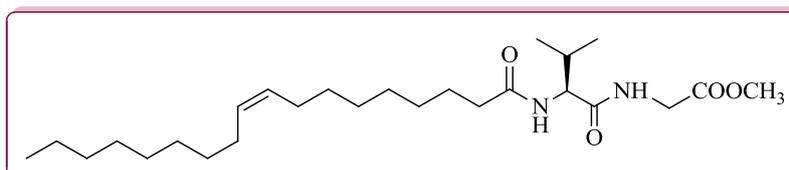
(18) :



0,23 g (0,26 ml, 1 éq) de l'acide oléique en suspension dans du chloroforme (5 ml) et 0,17g (0,82 mmol, 1 éq) de DCC sont additionné goutte à goutte respectivement à 0,12g (0,82 mmol, 1 éq) de la H<sub>2</sub>N-gly-gly-CO<sub>2</sub>Me déjà en solution dans du dichlorométhane anhydre. Cette réaction est presque totale à température ambiante qu'après 72 heures.

Une fois qu'on arrête l'agitation, on procède à la filtration de la DCU et à l'élimination du solvant. Le produit ainsi récupéré sous forme d'une pâte est de masse égale à 0,54g. **Formule brute** :  $C_{22}H_{40}N_2O_4$  ; **MM** : 410,59 g/mol ; **Rendement** : 0,54g (mmol, 81,9%) ; **Forme** : pâteux ; **CCM** :  $R_f$  (18) = 0,64 (DCM / MeOH 9:1 (v,v)) ; **IR** ( $cm^{-1}$ ) : 1623,69 C=O (amide) ; 3324,88 N-H (amide) ; 1090,37 C-N ; 1710,55 C=O (ester) ; 1243,64 C-O (ester) ; 1541,65 C=C de l'acide oléique.

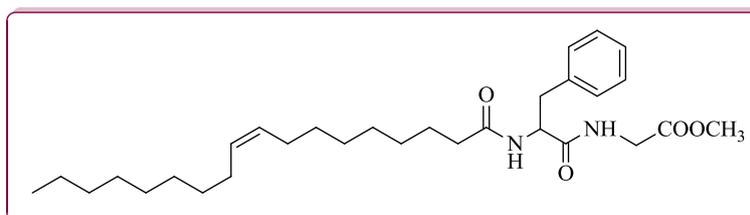
**II.4.2. Acide oléique-H<sub>2</sub>N-Val-gly-CO<sub>2</sub>Me ((S, Z) - 2-(3-méthyl-2 oléamidobutanamido) acétate de méthyle) (19):**



On opère de la même façon qu'au paragraphe **II.4.1**

**Formule brute** :  $C_{30}H_{48}N_2O_4$  ; **MM** : 452,67 g/mol ; **Rendement** : 1,04g (2,07 mmol, 83,11%) ; **Forme** : pâteux ; **CCM** :  $R_f$  (19) = 0,86 (DCM / MeOH 9:1 (v,v)).

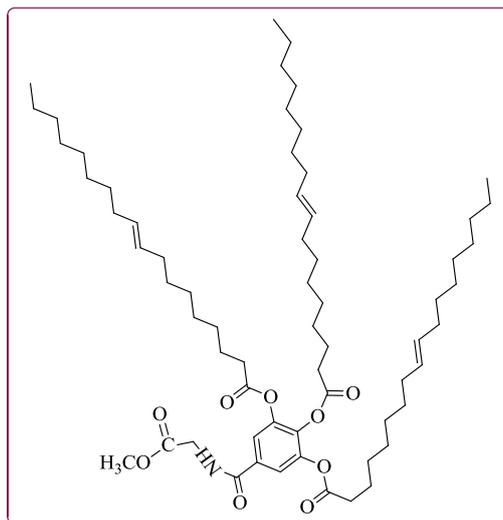
**II.4.3. Acide oléique-H<sub>2</sub>N-phénylalanine-gly-CO<sub>2</sub>Me ((Z)-2-(2-oléamido-3-phénylpropanamido) acetate de méthyle) (21) :**



On opère de la même façon qu'au paragraphe **II.4.1**

**Formule brute** :  $C_{26}H_{48}N_2O_4$  ; **MM** : 500,71 g/mol ; **Rendement** : 0,84g (1,85 mmol, 95,14%) ; **Forme** : pâteux ; **CCM** :  $R_f$  (21) = 0,46 (DCM / MeOH 9:1 (v,v)).

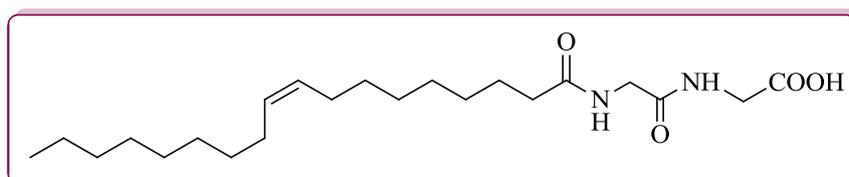
**II.4.4. Acide oléique-acide gallique-gly-CO<sub>2</sub>Me ((9E, 9'E, 9''E)-5-((2-méthoxy-2 oxoéthyle) carbamoyl) benzène-1, 2,3-triyl tris (octadéc-9-énoate) de méthyle) (22) :**



On opère de la même façon qu'au paragraphe **II.4.1** sauf qu'au lieu d'utiliser 1 éq pour chaque réactif, on utilise 3 éq de l'acide oléique et 3 éq du DCC pour 1 éq de l'acide gallique-gly-CO<sub>2</sub>Me. **Formule brute :** C<sub>63</sub>H<sub>105</sub>NO<sub>9</sub>; **MM :** 1034,54 g/mol; **Rendement :** 13,4g (12,96 mmol, 97,45%); **Forme :** huileux orange; **CCM :** R<sub>f</sub> (22) = 0,7(DCM / MeOH 9:1 (v,v)); **IR (cm<sup>-1</sup>) :** 1705,37 C=O (amide); 3296,029 N-H (amide); 1083,083 C-N (amide); 1731,26 C=O (ester); 1226,86 C-O (ester); 1552,086 C=C de l'acide oléique.

**II.5. L'hydrolyse des peptidolipides :**

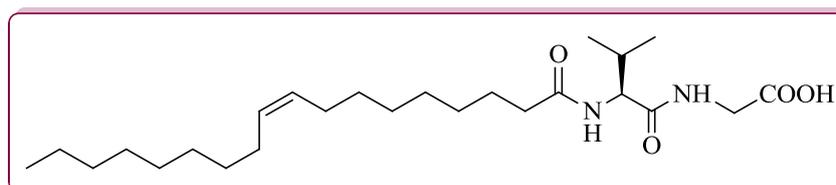
**II.5.1. Acide oleique-gly-gly-COOH (Acide ((Z)-2-(2-oléamidoacétamido) acétique)) (23) :**



0,5g du 1<sup>er</sup> synthon non hydrolysé (1,22 mmol, 1 éq) sont mis en suspension dans un mélange ((DCM : MeOH) / eau) (2:1). Ce mélange est ensuite refroidi à 0°C, pour qu'une solution aqueuse d'hydroxyde de lithium (1N, 1,25ml) soit ajouté par petites fractions en évitant tout échauffement trop important. Une fois l'addition terminée, on porte cette suspension sous agitation et à température ambiante durant 18 heures. La solution obtenue est alors extraite avec 20 ml de dichlorométhane et la phase aqueuse est acidifié avec une solution (1N) d'acide chlorhydrique jusqu'à pH =1.

Le produit qui est alors encore gorgé d'eau, est repris dans le dichlorométhane, extrait 3 fois, puis Les 3 phases organiques combinées vont être lavées avec une solution saturée de bicarbonate de sodium et séchées sur sulfate de calcium (CaSO<sub>4</sub>) avant d'être concentrées pour donner 0,34 g d'une pâte. **Formule brute** : C<sub>22</sub>H<sub>40</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>; **MM** : 396,56 g/mol; **Rendement** : 0,34g (0,86 mmol, 70,83%); **Forme** : pateux; **CCM** : R<sub>f</sub> (23) = 0,96 (DCM / MeOH 9:1 (v,v)); **IR (cm<sup>-1</sup>)** : 1709,83 C=O (acide); 2500-3500 (OH de l'acide); 3250 NH (amide); 1605 C=O (amide); 1149,92 C-N; 1597,46 C=C (acide oléique).

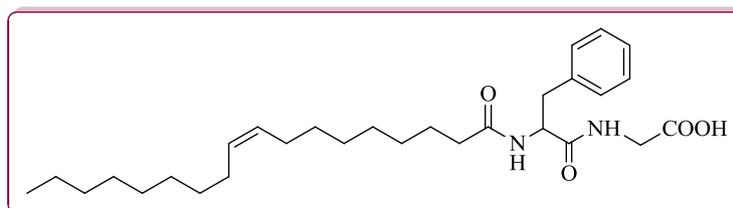
### II.5.2. Acide oléique-Val-gly-COOH (Acide (S,Z)-2-(3-méthyl-2-oléamidobutanamido) acétique) (24) :



On suit la même voie de synthèse qu'au paragraphe II.5.1

**Formule brute** : C<sub>25</sub>H<sub>46</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>; **MM** : 438,64 g/mol; **Rendement** : 0,5g (1,13 mmol, 66,7%); **Forme** : pateux; **CCM** : R<sub>f</sub> (24) = 0,94 (DCM / MeOH 9:1 (v,v)); **IR (cm<sup>-1</sup>)** : 1707,88 C=O (acide); 2500-3500 (OH de l'acide); 3328,89 NH (amide); 1642,73 C=O (amide); 1027,73 C-N (amide); 1531,44 C=C (acide oléique).

### II.5.3. Acide oléique-phénylalanine-gly-COOH (Acide (Z)-2-(2-oléamido-3-phénylpropanamido) acétique) (25) :



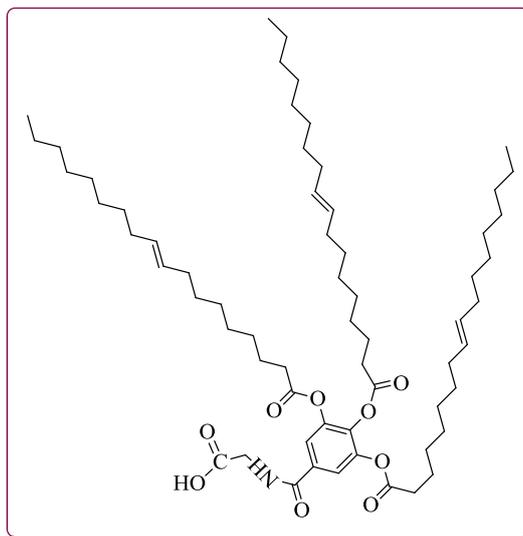
On suit la même voie de synthèse qu'au paragraphe II.5.1 sauf que :

**Le solvant de réaction** : (THF / H<sub>2</sub>O) (2:1)

**Le solvant d'extraction** : AcOEt.

**Formule brute** : C<sub>29</sub>H<sub>46</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>; **MM** : 486,69 g/mol; **Rendement** : 0,49g (1,01 mmol, 50,51%); **Forme** : pateux; **CCM** : R<sub>f</sub> (25) = 0,92 (DCM / MeOH 9:1 (v,v)); **IR (cm<sup>-1</sup>)** : 1643,39 C=O (amide); 3304,54 NH (amide); 1088,081 C-N (amide); 1703,31 C=O (acide); 2500-3400 OH (acide); 1541,012-1446,705 (C=C aromatique); 1558,04 C=C de l'acide oléique.

**II.5.4. Acide oléique-acide gallique-gly-COOH (Acide 2-(3,4,5-tris((E)-octadéc-9-ényloxy)benzamido) acétique) (26) :**



On suit la même voie de synthèse qu'au paragraphe **II.5.1** sauf que :

**Le solvant de réaction :** (THF / H<sub>2</sub>O) (2:1)

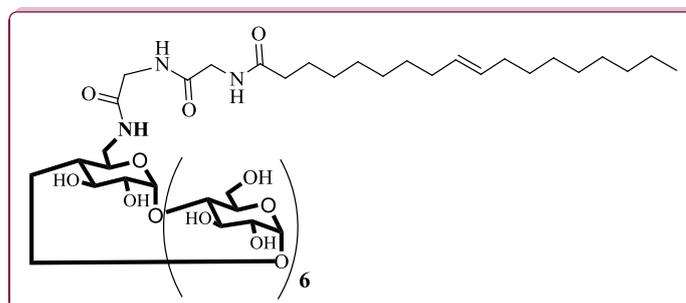
**Le solvant d'extraction :** AcOEt.

**Formule brute :** C<sub>63</sub>H<sub>105</sub>NO<sub>9</sub> ; **MM :** 1020,51 g/mol ; **Rendement :** 0,46 g (0,45 mmol, 4,75%) ;

**Forme :** huileux rouge-orange ; **CCM :** R<sub>f</sub> (26) = 0,88 (DCM / MeOH 9:1 (v,v)) ; **IR (cm<sup>-1</sup>) :** 1710,86 C=O (acide) ; 2500-3500 (OH de l'acide) ; 1111,12 C-N (amide) ; 3425 NH (amide) ; 1627,68 C=O (amide) ; 1464,87 C=C (acide oléique) ; 1528 (doublet aromatique) ; 723 (aromatique).

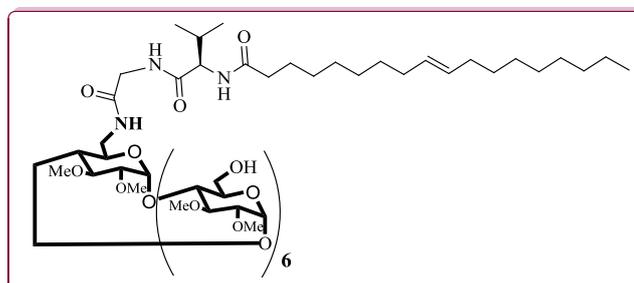
**II.6. Synthèse des CDs amphiphiles :**

**II.6.1. 1<sup>ère</sup> CD-amphiphile: (6<sup>I</sup> - ((Z)-2-(2-oléamidoacétamido)-amido-6<sup>I</sup>-désoxy cyclomaltoheptaose) (27) :**



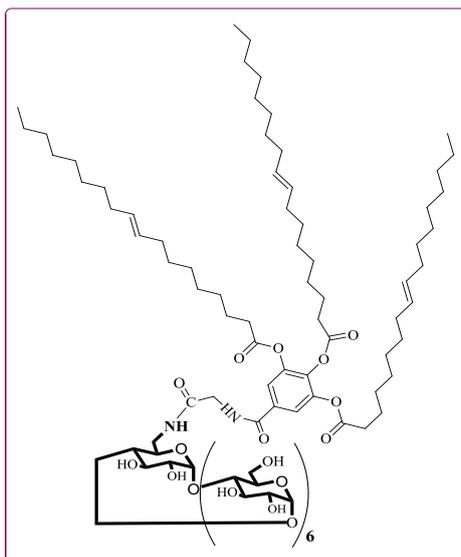
Dans un ballon sec, balayé par un courant d'azote, surmonté d'un réfrigèrent et d'un piège à CaCl<sub>2</sub>, 160 mg de β-CDNH<sub>2</sub> (0,14 mmol, 1éq) sont placés en solution dans du DMF sec (10 ml), puis 61 mg du 1<sup>er</sup> synthon (**23**) (0,155 mmol, 1,1éq) déjà dissous dans un mélange (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> / MeOH) (2:1) et une suspension de 43 mg de DCC (0,21 mmol, 1,5éq) dans du CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> sont successivement ajoutés. En fin d'addition, le mélange réactionnel est laissé sous agitation et sous atmosphère inerte à 25°C durant 72h. Une ultime étape de cristallisation dans l'acétone permet d'isoler par filtration et après 10 jours au frigo 330 mg du produit brut sous forme d'un solide blanc. **Formule brute** : C<sub>64</sub>H<sub>109</sub>N<sub>3</sub>O<sub>37</sub>; **MM** : 1511,56 g/mol ; **Rendement** : 330 g (0,21 mmol, 27,27%) ; **Forme** : Solide blanc ; **T<sub>f</sub>** = 213°C ; **IR (cm<sup>-1</sup>)** : 3322,21 (OH et NH amide), 2926,76-2849,62 (CH<sub>2</sub> asymétrique et symétrique), 1622,84-1568,32-1545 (Les 3 carbonyles C=O), 1435,97 C=C (acide oléique), 1242,00 (C-O), 1185,73 C-C, 1087,023 (OH déformation), 642 CH<sub>2</sub> déformation.

**II.6.2. 2<sup>ème</sup> CD-amphiphile (6<sup>I</sup> - ((S, Z)-2-(3-méthyl-2-oléamidobutanamido)-amido-6<sup>I</sup>-désoxy-2<sup>I</sup>, 3<sup>I</sup>-di-O-méthyl-hexakis (2<sup>II-VII</sup>, 3<sup>II-VII</sup>, 6<sup>II-VII</sup>-tri-O-méthyl) cyclomaltoheptaose (28) :**



Toujours après avoir soumis un ballon de 250ml à un important barbotage d'azote pour assurer un milieu anhydre, on introduit une solution qui contient 300mg de (β-CD (OMe)<sub>20</sub> NH<sub>2</sub>) (0,21 mmol, 1éq) dans 5 ml de DMF sec ainsi qu'une solution de 51 mg de DCC (0,25 mmol, 1,2 éq) afin de pouvoir activer la CD pendant 20min à température ambiante avant d'ajouter 440 mg du produit (**24**) (1 mmol, 1,1 éq) dissous au préalable dans un mélange de (CHCl<sub>3</sub> / MeOH) (2:1). La solution résultante est portée sous agitation à 45°C durant 48h. Une ultime étape de cristallisation dans l'acétone permet d'isoler par filtration et après une semaine au frigo 264 mg du produit brut sous forme d'un solide blanc. **Formule brute** : C<sub>87</sub>H<sub>155</sub>N<sub>3</sub>O<sub>37</sub>; **MM** : 1833,64 g/mol ; **Rendement** : 264 mg (0,14 mmol, 66,66 %) ; **Forme** : Solide blanc.

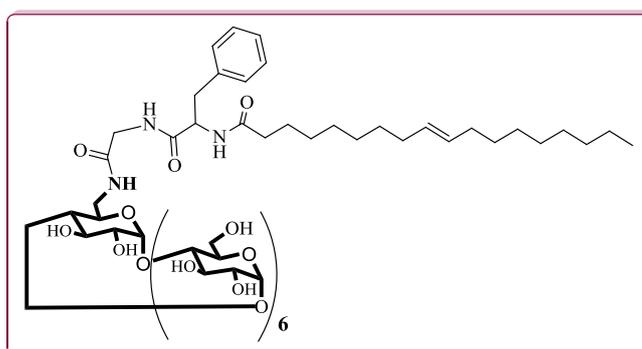
**II.6.3. 3<sup>ème</sup> CD-amphiphile (6<sup>I</sup> -(2-(3, 4, 5-tris ((*E*)-octadéc-9-énoyloxy) benzamido)-amido-6<sup>I</sup>-désoxy-cyclomaltoheptaose) (29) :**



On opère de la même façon qu'au paragraphe II.6.2

Concernant les proportions des réactifs : 100 mg de  $\beta$ CD-NH<sub>2</sub> (0,088 mmol, 1<sup>éq</sup>) ; 136 mg du produit (26) (0,13 mmol, 1,5<sup>éq</sup>) ; et enfin le même nombre d'équivalents pour l'agent de couplage DCC que le synthon (26) (27,2 mg, 0,13 mmol, 1<sup>éq</sup>). **Formule brute** : C<sub>105</sub>H<sub>174</sub>N<sub>2</sub>O<sub>42</sub> ; **MM** : 2153,51 g/mol ; **Rendement** : 99,2 mg (0,046 mmol, 55,11 %) ; **Forme** : Solide blanc.

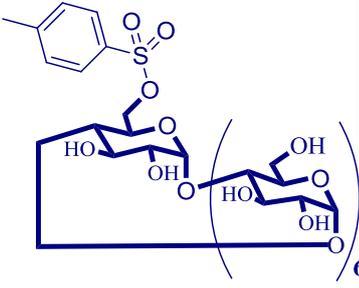
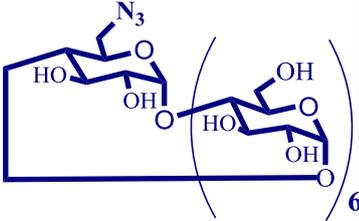
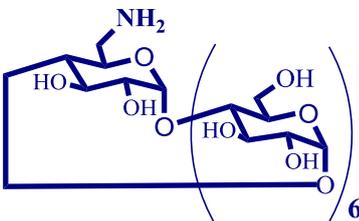
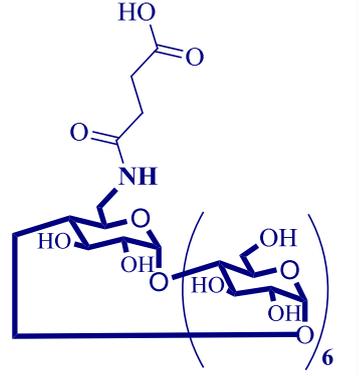
**II.6.4. 4<sup>ème</sup> CD-amphiphile (6<sup>I</sup> -((*Z*)-2-(2-oléamido-3-phénylpropanamido) -amido-6<sup>I</sup>-désoxy-cyclomaltoheptaose) (30) :**

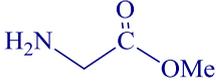
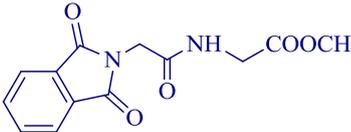
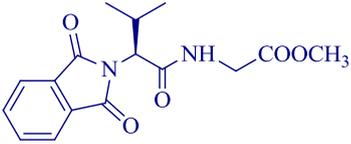


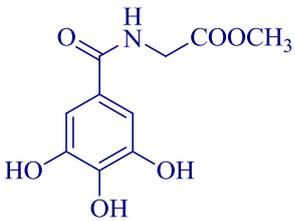
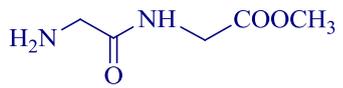
On opère de la même façon qu'au paragraphe II.6.2

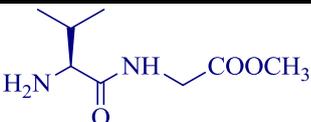
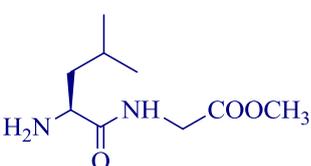
Concernant les proportions des réactifs : 100 mg de  $\beta$ CD-NH<sub>2</sub> (0,088 mmol, 1 $\acute{e}$ q) ; 640 mg du produit **(25)** (0,13 mmol, 1,5 $\acute{e}$ q) ; et enfin le m\^eme nombre d'\^equivalents pour l'agent de couplage DCC que le synthon (25) (272 mg, 0,13 mmol, 1 $\acute{e}$ q). **Formule brute** : C<sub>71</sub>H<sub>115</sub>N<sub>3</sub>O<sub>37</sub> ; **MM** : 1601,69 g/mol ; **Rendement** : 944 mg (0,059 mmol, 67,14 %) ; **Forme** : Solide blanc.

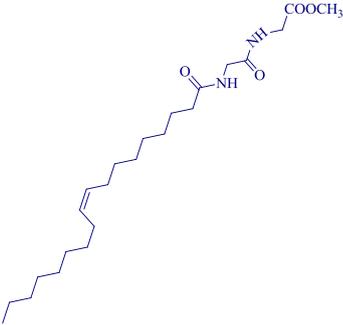
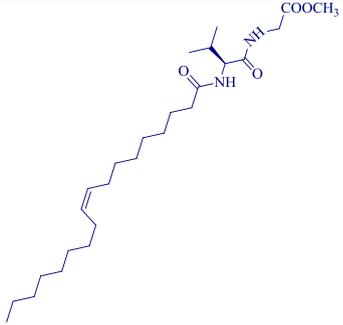
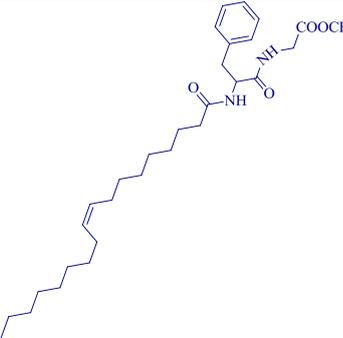
**Tableau récapitulatif des molécules synthétisées :**

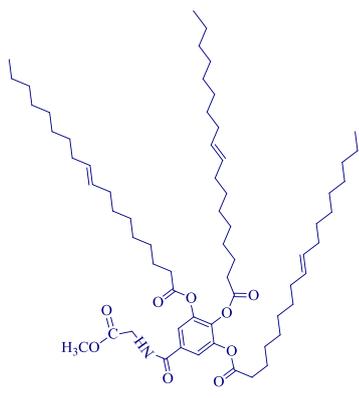
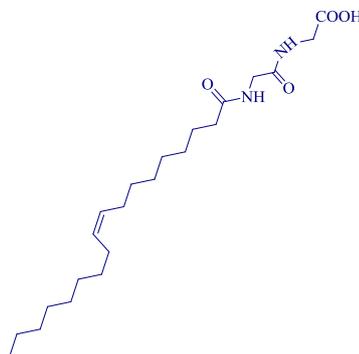
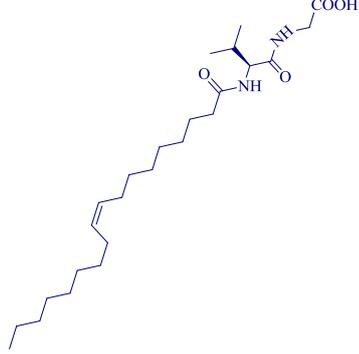
Code nature	Structure	Masse molaire	R (%)	Pf (°C)	Rf DCM / MeOH (9:1)	IR
(Vect 4) Poudre blanche		1288 g/mol	42,2%	196	0,4	3369,13 cm <sup>-1</sup> (OH) ; 1365,51 cm <sup>-1</sup> (S=O) ; 946,03 cm <sup>-1</sup> (S-O) ; 757 cm <sup>-1</sup> aromatique.
(Vect 5) Poudre blanche		1159 g/mol	4,76%	277	0,3	2104,40 cm <sup>-1</sup> (N <sub>3</sub> )
(Vect 12) Poudre blanche		1133 g/mol	88,46%	270	0,2	1659 cm <sup>-1</sup> (NH) et absence de la bande (N <sub>3</sub> ).
Non obtenue		1234,09 g/mol	/	/	/	/
(6)	<chem>CH3.H2N-CH2-C(=O)-OMe</chem>	125,55 g/mol	99 %	/	/	/

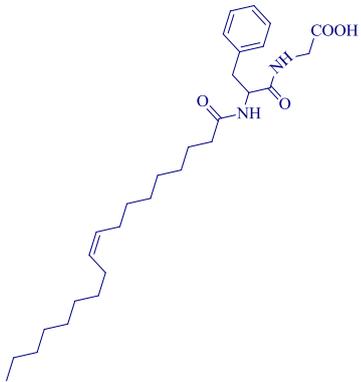
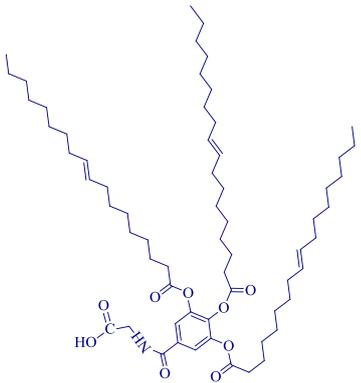
<p><b>(Baclo 3)</b> Solide blanc</p>		<p>89,09 g/mol</p>	<p>92,42%</p>	<p>79, 1</p>	<p>0,25</p>	<p>3250-3260 - NH<sub>2</sub> (amine primaire), 1717,21 C=O (ester), 1171,26 -O-C (ester), 1036,15 =C-O (ester).</p>
<p><b>(Vect 6)</b> Pâteux</p>		<p>276,24 g/mol</p>	<p>71,9%</p>	<p>/</p>	<p>/</p>	<p>3260,06 cm<sup>-1</sup> NH (amide) 1667,29 cm<sup>-1</sup> C=O (amide) 1112,39 C-N (amide) 1776,55 cm<sup>-1</sup> C=O (phthalimido) 1237,17 cm<sup>-1</sup> C-O-C (ester) 1723,71 cm<sup>-1</sup> C=O (ester)</p>
<p><b>(Vect 8)</b> Pâteux</p>		<p>318,32 g/mol</p>	<p>91,63%</p>	<p>/</p>	<p>0,98</p>	<p><i>NO</i></p>
<p><b>(Vect 14)</b> Pâteux</p>		<p>332,35 g/mol</p>	<p>95,06%</p>	<p>/</p>	<p>0,72</p>	<p>3474,74 cm<sup>-1</sup> NH (amide) 1653,61 cm<sup>-1</sup> C=O (amide) 1773,74 cm<sup>-1</sup> C=O (phthalimido) 1712,14 cm<sup>-1</sup> C=O (ester) 1239,58 cm<sup>-1</sup> O-CH<sub>3</sub> (méthoxy)</p>

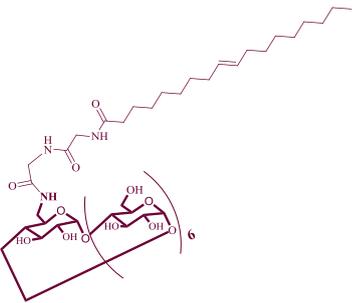
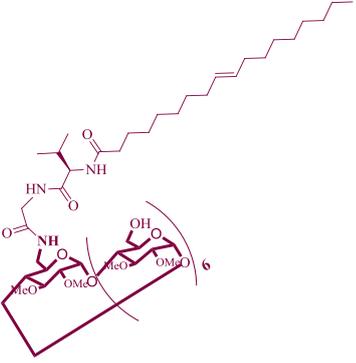
<p><b>(Vect 15)</b> Pâteux</p>		<p>366,37 g/mol</p>	<p>94,87%</p>	<p>/</p>	<p>0,52</p>	<p>3323,29 cm<sup>-1</sup> NH (amide) 1651,97 cm<sup>-1</sup> C=O (amide) 1772 cm<sup>-1</sup> 1086,33 cm<sup>-1</sup> C-N (amide) 1772,009 C=O (phtalimido) 1715,64 cm<sup>-1</sup> C=O (ester) 1235,12 cm<sup>-1</sup> C-O-C (ester) 1628-1538 cm<sup>-1</sup> (doublet aromatique)</p>
<p><b>(Analogu 4)</b> Huile rouge- brique</p>		<p>241,20 g/mol</p>	<p>92,85</p>	<p>/</p>	<p>0,4</p>	<p>3429,07 OH (phénol), 3300 NH (amide), 1702,03 -C=O (ester), 1553,22 C=O (amide), 1067,03 -O- C (ester), 1172,06 =C-O (ester).</p>
<p><b>(Vect 7)</b> Pâteux</p>		<p>146,14 g/mol</p>	<p>75%</p>	<p>/</p>		<p>3649,61-3676,68 cm<sup>-1</sup> 1 NH (amine primaire) 3325,13 cm<sup>-1</sup> NH (amide) 1620,95 cm<sup>-1</sup> C=O (amide) 1706,89 cm<sup>-1</sup></p>

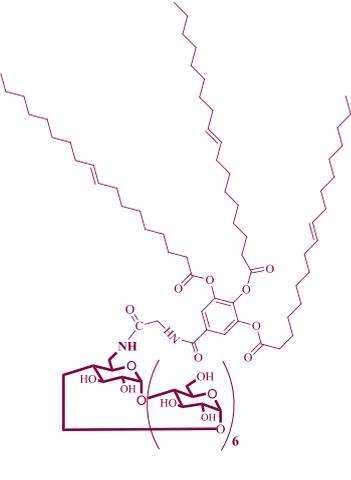
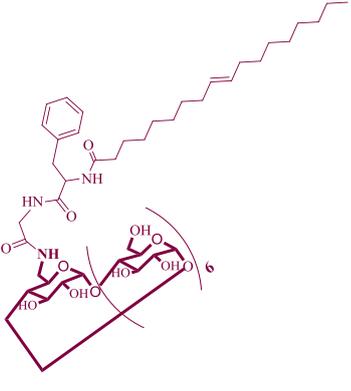
						C=O (ester) 1259,26 cm <sup>-1</sup> C-O-C (ester)
(Vect 10) Pâteux		188,22 g/mol	71,15%	/	0,66	<b>NO</b>
(Vect 18) Pâteux		202,25 g/mol	76,66%	/	0,58	3327,27 cm <sup>-1</sup> NH (amine) 3251,51 cm <sup>-1</sup> NH (amide) 1665,005 cm <sup>-1</sup> C=O (amide) 1705,021 cm <sup>-1</sup> C=O (ester) 1244,90 cm <sup>-1</sup> C-O-C (ester)
(Vect 17) Pâteux		236,27 g/mol	64,61%	/	0,4	3650,47-3676,56 cm <sup>-1</sup> NH (amine) 3232,57 cm <sup>-1</sup> NH (amide) 11140,08 cm <sup>-1</sup> C-N (amide) 1697,5 cm <sup>-1</sup> C=O (ester) 1262,80 cm <sup>-1</sup> C-O-C (ester) 1635,34-1447,61 cm <sup>-1</sup> (doublets aromatique)

<p><b>(Vect 9)</b> Pâteux</p>		<p>410,59 g/mol</p>	<p>81,9%</p>	<p>/</p>		<p>1623,69 cm<sup>-1</sup> C=O (amide) 3324,88 cm<sup>-1</sup> NH (amide) 1090,37 cm<sup>-1</sup> C-N (amide) 1710,55 cm<sup>-1</sup> C=O (ester) 1243,64 cm<sup>-1</sup> C-O-C (ester) 1541,65 cm<sup>-1</sup> C=C (acide oléique)</p>
<p><b>(Vect 13)</b> Pâteux</p>		<p>452,67 g/mol</p>	<p>83,11%</p>	<p>/</p>	<p>0,86</p>	<p><i>NO</i></p>
<p><b>(Vect 20)</b> Pâteux</p>		<p>500,71 g/mol</p>	<p>95,14%</p>	<p>/</p>	<p>0,46</p>	<p><i>NO</i></p>

<p><b>(Vect 19)</b> Huile orange</p>		<p>1034,54 g/mol</p>	<p>97,45%</p>	<p>/</p>	<p>0,7</p>	<p>1705,37 cm<sup>-1</sup> C=O (amide) 3296,029 cm<sup>-1</sup> NH (amide) 1083,083 cm<sup>-1</sup> C-N (amide) 1731,26 cm<sup>-1</sup> C=O (ester) 1226,86 cm<sup>-1</sup> C-O-C (ester) 1552,086 cm<sup>-1</sup> C=C (acide oléique)</p>
<p><b>(Vect 11)</b> Pâteux</p>		<p>396,56 g/mol</p>	<p>70,83%</p>	<p>/</p>	<p>0,96</p>	<p>1709,83 cm<sup>-1</sup> C=O (acide) 2500-3500 cm<sup>-1</sup> (OH de l'acide) 3250 cm<sup>-1</sup> NH (amide) 1605 cm<sup>-1</sup> C=O (amide) 1149,92 cm<sup>-1</sup> C-N (amide) 1597,46 cm<sup>-1</sup> C=C (acide oléique)</p>
<p><b>(Vect 16)</b> Pâteux</p>		<p>438,64 g/mol</p>	<p>66,7%</p>	<p>/</p>	<p>0,94</p>	<p>1707,88 cm<sup>-1</sup> C=O (acide) 2500-3500 cm<sup>-1</sup> (OH de l'acide) 3328,89 cm<sup>-1</sup> NH (amide) 1642,73 cm<sup>-1</sup></p>

						<p>C=O (amide) 1027,73 <math>\text{cm}^{-1}</math> C-N (amide) 1531,44 <math>\text{cm}^{-1}</math> C=C (acide oléique)</p>
<p><b>(Vect 22)</b> Pâteux</p>		486,69 g/mol	50,51%	/	0,92	<p>1643,39 <math>\text{cm}^{-1}</math> C=O (amide) 3304,54 <math>\text{cm}^{-1}</math> NH (amide) 1088,081 <math>\text{cm}^{-1}</math> C-N (amide) 1703,31 <math>\text{cm}^{-1}</math> C=O (acide) 2500-3400 <math>\text{cm}^{-1}</math> OH acide 1558,04 <math>\text{cm}^{-1}</math> C=C (acide oléique)</p>
<p><b>(Vect 21)</b> Huile rouge- orange</p>		1020,51 g/mol	4,75%	/	0,88	<p>1710,86 <math>\text{cm}^{-1}</math> C=O (acide) 2500-3500 <math>\text{cm}^{-1}</math> (OH de l'acide) 3425,92 <math>\text{cm}^{-1}</math> NH (amide) 1627,68 <math>\text{cm}^{-1}</math> C=O (amide) 1111,12 <math>\text{cm}^{-1}</math> C-N (amide) 1228,81 <math>\text{cm}^{-1}</math> C-O-C (ester) 1528,98 <math>\text{cm}^{-1}</math> C=C (acide oléique)</p>

						723 cm <sup>-1</sup> (aromatique)
<b>Les molécules cibles :</b>						
(CD amphi 1) Solide blanc		1511,56	27,27%	213	/	3322,21 cm <sup>-1</sup> OH et NH amide 2926,76-2849,62 cm <sup>-1</sup> CH <sub>2</sub> asymétrique et symétrique 1622,84-1568,32-1545 Les 3 carbonyles C=O 1435,97 cm <sup>-1</sup> C=C (acide oléique) 1242,00 cm <sup>-1</sup> C-O 1185,73 cm <sup>-1</sup> C-C  1087,023 cm <sup>-1</sup> OH déformation 642 cm <sup>-1</sup> CH <sub>2</sub> déformation
(CD amphi 2) Solide blanc		1833,64	66,66%	/	/	<b>NO</b>

<p><b>(CD amphi 3)</b> <i>Solide blanc</i></p>		2135,51	55,11%	/	/	<i>NO</i>
<p><b>(CD amphi 4)</b> <i>Solide blanc</i></p>		1601,69	67,14%	/	/	<i>NO</i>

### ***Références bibliographiques :***

- [1] J.W.Steed, J.L.Atwood, *Supramolecular chemistry*, John Wiley & Sons Ltd, Chichester, England, **2000**, 87.
- [2] J.M.Lehn, *Angew.Chem. Int. Ed. Engl*, **1988**, 27, 89.
- [3] J.M.Lehn, *Supramolecular Chemistry Concepts and Perspectives*, **1995**, Weinheim VCH, New York.
- [4] H.J.Schneider, A.Yatsimirsky, *Principles and Methods in Supramolecular Chemistry*, John Wiley & Sons Ltd, Chichester, England, **2000**,
- [5] J.Szejtli, *Chem. Rev*, **1998**, 98, 1743.
- [6] H.Prigsheim, *Chemistry of the saccharides*, **1932**, 280.
- [7] Paulo José Salústio, Patrícia Pontes, Cláudia Conduto, Inês Sanches, Catarina Carvalho, João Arrais, and M Helena, Cabral Marques, *Pharm. Sci. Tech*, **2011**, 12, 1276.
- [8] X.X.Zhang, R.M.Izatt, J.S.Bradshaw, K.E.Krakowiak, *Coord. Chem. Rev*, **1998**, 174, 179.
- [9] J.W.Steed, *Coord. Chem. Rev*, **2000**, 215, 171.
- [10] C.Wieser, C.B.Dieleman, D.Matt, *Coord. Chem. Rev*, **1997**, 165, 93.
- [11] D.A.Fulton, J.F.Stoddart, *bioconjugate chemistry*, **2001**, 12, 655.
- [12] A.Villiers, *Arcad.Sci*, **1891**, 112, 536.
- [13] F.Schradinger, *Wien. Klin. Wochschr*, **1904**, 17, 207.
- [14] F.Schradinger, *Zentralbl. Bakteriol. Parasitenkd*, **1905**, 14, 772.
- [15] F.Schradinger, *Zentralbl. Bakteriol. Parasitenkd*, **1911**, 29, 188.
- [16] K.Freudenberg, K.Blomquist, L.Ewald, K.Stoff, *Ber. Dtsh. Chem. Ges*, **1936**, 69, 1258.
- [17] K.Freudenberg, M. Meyer-Delius, *Ber. Dtsh. Chem. Ges*, **1938**, 71, 1596.
- [18] K.Freudenberg, F.Z.Cramer, *Naturforsch*, **1948**, 3b, 464.
- [19] K.Freudenberg, G.Blomquist, L.Ewald, K.Soff, *Ber. Dtsch. Chem. Ges*, **1936**, 69, 1258.
- [20] W.Saenger, J.Jacob, K.Gessler, T.Steiner, D.Hoffmann, H.Sanbe, K.Koizumi, S.M.Smith, T.Takaha, *Chem. Rev*, 1998, 98, 1787.
- [21] G.Raffaini, F.Ganazzoli, *Chem. Phys*, **2007**, 333, 128.
- [22] Jianxiang. Zhang, X.Ma.Peter, *Adv Drug Deliv Rev*, **2013**, 65, 1215.
- [23] J.Szejtli, *comprehensive supramolecular chemistry*, **1996**, 3, 57.
- [24] E.M.M.Del Valle, *Process Biochemistry*, **2004**, 39, 1033.

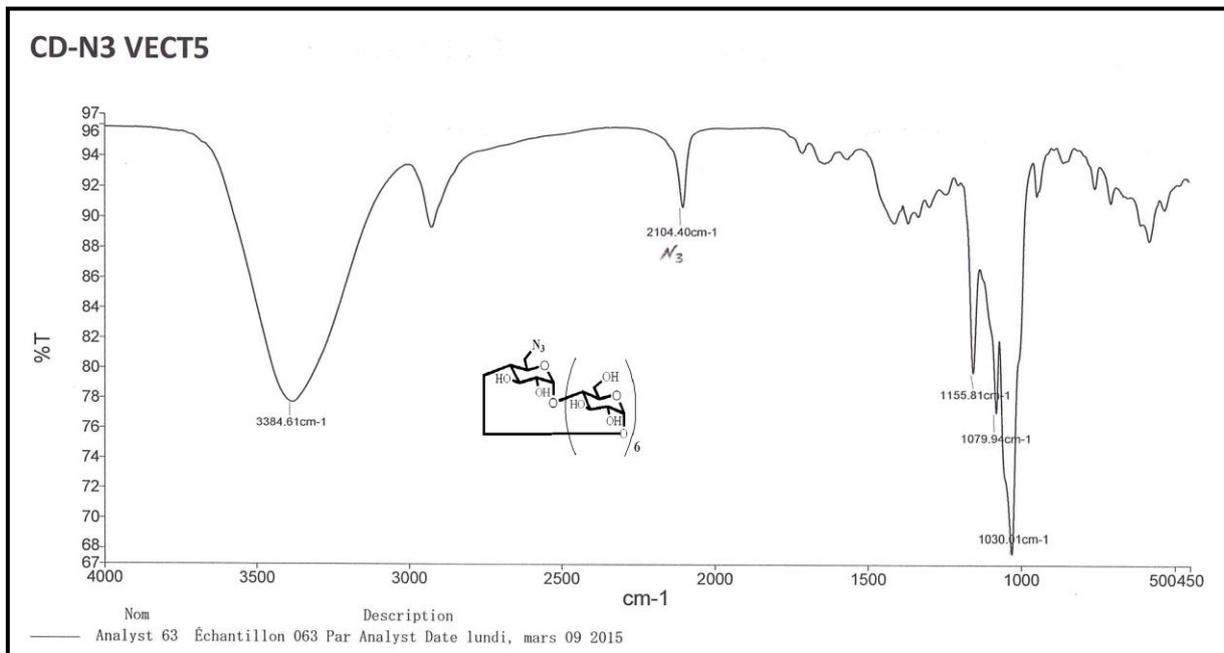
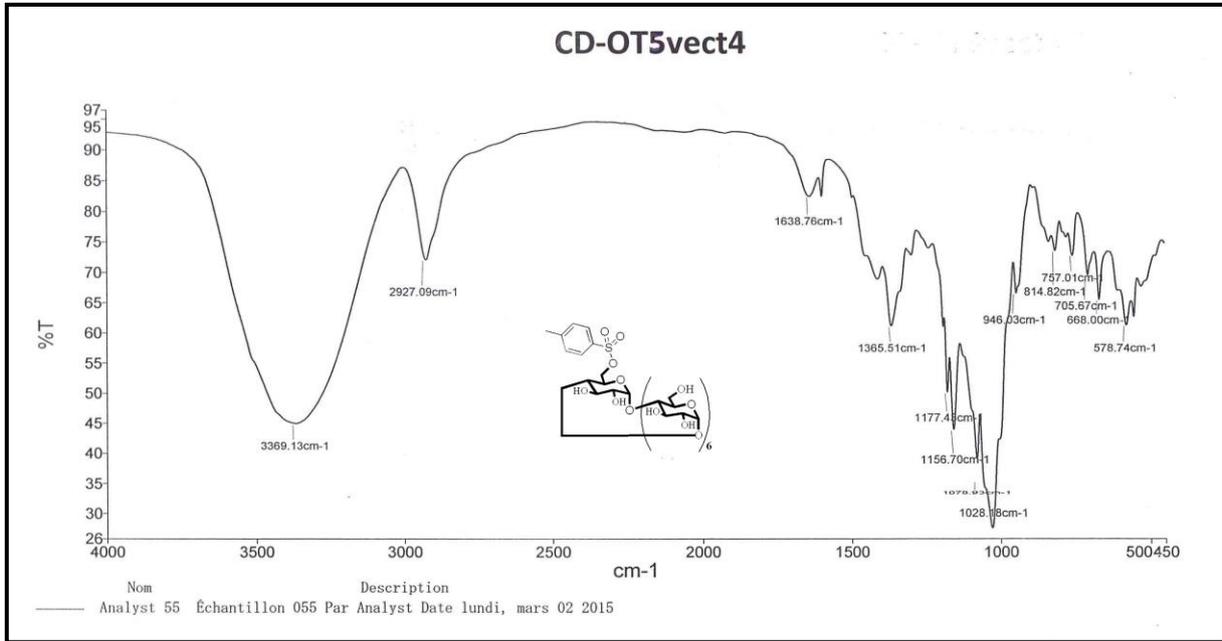
- [25] J.Szetjli, *Chem. Rev*, **1998**, 98, 1743.
- [26] D.W.Fitzpatrick, H.J.Ulrich, *Macrocyclic chemistry: new research developments*, **2010**.
- [27] (a) F.Hapiot, S.Tilloy, E.Monflier, *Chem. Rev*, **2006**, 106, 767; (b) E.Engeldinger, D.Armospach, D.Matt, *Chem. Rev*, **2003**, 103, 4147; (c) J.M.Haider, Z.Pikramenou, *Chem. Soc. Rev*, **2005**, 34, 120; (d) E.Rizzarelli, G.Vecchio, *Coord. Chem. Rev*, **1999**, 188, 343.
- [28] P.Farmer, M.M.Meier, M.Luiz, B.Szpoganicz, *J. Incl. Phenom*, **2001**, 40, 291.
- [29] F.Djedaini-Pilard, B.Perly, S.Dupas, M.Miocque, H.Galons, *Tetrahedron*, **1993**, 34, 1145.
- [30] A.John Wiley, *Inc. Hoboken*, **2011**.
- [31] E.Fisher, *Chem. Ber*, **1894**, 27, 2985.
- [32] W.Linert, L.Han, I.Lukovits, *Chem. Phys*, **1989**, 139, 441.
- [33] J.H.Park, T.H.Nah, *J. Chem. Soc. Perkin Trans.2*, **1994**, 1359.
- [34] W.Saenger, *Angew. Chem. Int*, **1980**, 19, 344.
- [35] K.Connors, *Chem. Rev*, **1997**, 97, 1325.
- [36] H.Connors, *J. Pharm. Sci*, **1995**, 84, 843.
- [37] F.Cramer, W.Saenger, H.Spatz, *J. Am. Chem. Soc*, **1967**, 89, 14.
- [38] A.Douhal, Chemical, physical and biological aspects of confined systems, Cyclodextrine Materials , Photochemistry Photophysics and photobiology, *Elsevier*, **2006**, 1, 15.
- [39] A.Villiers, *Rend. Acad. Sci*, **1891**, 112, 536.
- [40] G.Wenz, B.Keller, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl*, **1992**, 31, 197.
- [41] H.Saito, H.Yonemura, H.Nakumura, T.Matsuo, *Chem. Lett*, **1990**, 535.
- [42] P.C.Job, *R. Acad. Sci*, **1925**, 918.
- [43] H.A.Benesi, J.H.Hildebrand, *J. Am. Chem. Soc*, **1949**, 71, 2703.
- [44] R.Foster, C.A.Fyfe, *spectroscopy. Trans. Faraday Soc*, **1965**, 61, 1626.
- [45] N.J.Rose, R.S.Drago, *J. Am. Chem. Soc*, **1959**, 81, 6138.
- [46] S.Gibaud, et al, *International journal of pharmaceutics*, **2005**, 306, 107.
- [47] Y.Bakkour, et al, *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, **2006**, 54, 109.
- [48] L.Fielding, S.C.McKellar, A.J.Florence, *Magn.Reson.Chem*, **2011**, 49, 405.
- [49] T.Higuchi, K.A.Connors, *Adv. Anal. Chem. Instr*, **1965**, 4, 117.

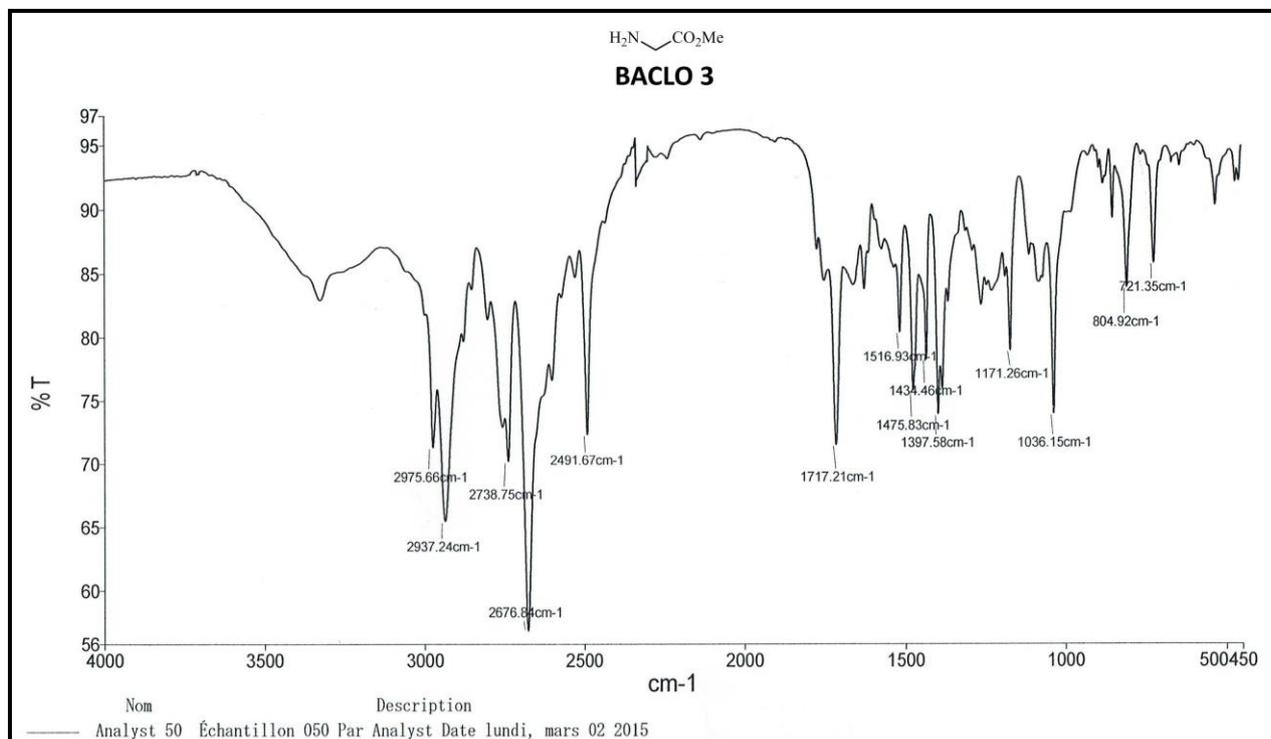
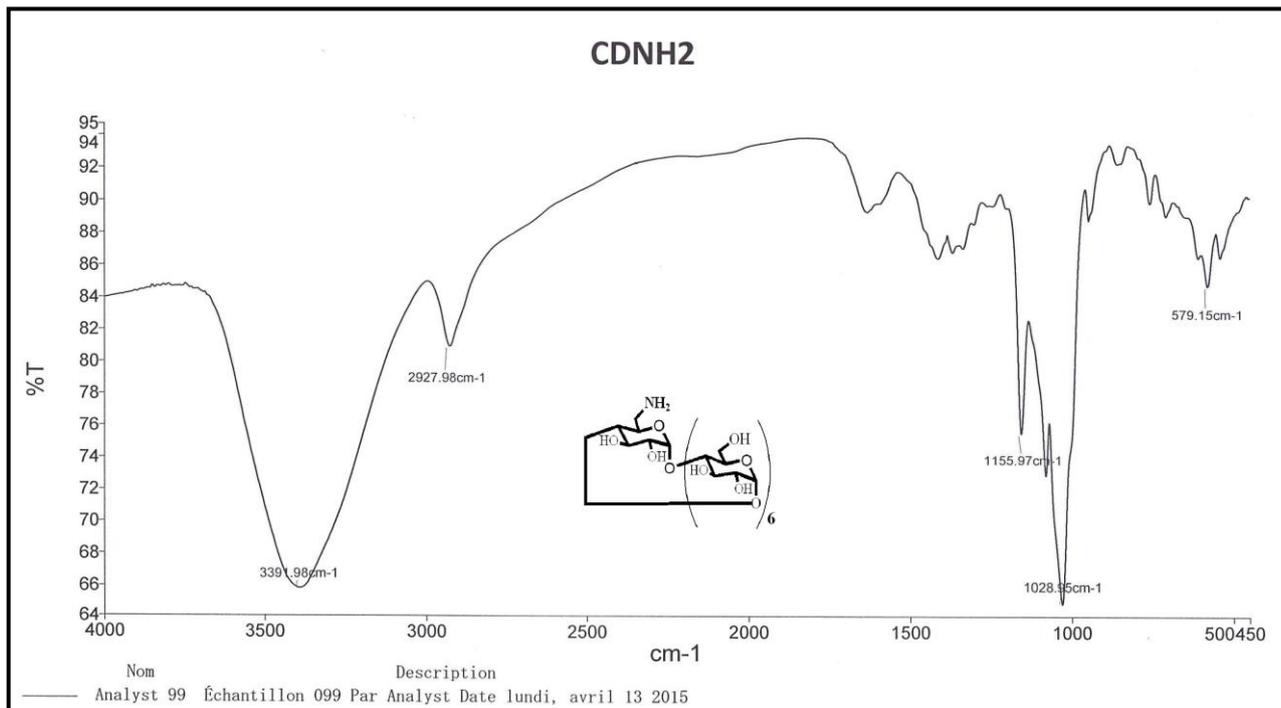
- [50] T.Loftsson, M.Másson, M.E.Brewster, *J.Pharm.Sci*, **2004**, *93*, 1091.
- [51] T.Loftsson, P.Jarho, M.Másson, T.Järvinen, *Expert Opinon. Drug. Delivery*, **2005**, *2*, 335.
- [52] G.Piel, S.Moutard, B.Perly, S.Hassonville, P.Bertholet, V.Barillaro, M.Piette, L.Delattre, B.Evrard, *J.Durg.Del.Sci.Tech*, **2004**, *14*, 87.
- [53] K.H.Fromming, T.Gelder, W.Mehnert, *Acta Pharma Technol*, **1988**, *34*, 152.
- [54] T.Loftsson, and al, *Int.J.Pharm*, **1998**, *163*, 115.
- [55] A.Gerlocsy, S.Antal, J.Szejtli, *Int. Symp. On cyclodextrins*, **1998**.
- [56] T.Loftsson, S.Byskov Vogensen, M.E.Brewster, *J. Pharm. Sci*, **2007**, *96*, 2532.
- [57] G.Piel, et al, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, **1997**, *86*, 475.
- [58] V.Barillaro, et al, *Journal of Pharmaceutics*, **2007**, *342*, 152.
- [59] S.Warrington, *European Journal of Rheumatology & Inflammation*, **1993**, *12*, 29.
- [60] G.A.Linde, et al, *Food research international*, **2009**, *42*, 814.
- [61] T.R.Sekharan, et al, *Journal of Pharmacy Research*, **2010**, *3*, 3018.
- [62] A.Hybl, R.E.Rundle, D.E.William, *J. Am. Chem. Soc*, **1965**, *87*, 2779.
- [63] K.Takeo, K.Uemura, H.J.Mitoh, *Carbohydr. Chem*, **1988**, *7*, 293.
- [64] F.Cramer, G.Mackensen, K.Kensee, *Chem. Ber*, **1969**, *102*, 494.
- [65] D.Rong, V.T.D'Souza, *Tetrahedron Lett*, **1990**, *31*, 4275.
- [66] K.Takeo, H.Mitoh, K.Uemara, *Carbohydr. Res*, **1989**, *187*, 203.
- [67] A.R.Kahn, P.Forgo, K.J.Stine, V.T.D'Souza, *Chem. Rev*, **1998**, *98*, 1977.
- [68] S.Cottaz, H.Driguez, *Synthesis*, **1989**, *10*, 755.
- [69] P.Elwood, C.M.Spencer, N.Spencer, J.F.Stoddart, R.J.Zarzycki, *J. Inclusion Phenom.Mol. Recognit. Chem*, **1992**, *12*, 121.
- [70] J.Szejtli, A.Lipták, I.Jodál, P.Fügedi, P.Nánási, A.Neszmélyi, *Starch / Staerke*, **1980**, *32*,165.
- [71] S.Umezawa, K.Tatsuta, *Bull.Chem. Soc. Jpn*, **1968**, *41*, 464.
- [72] K.Takeo, T.Sumimoto, T.Kuge, *Staerke*, **1974**, *24*, 111.
- [73] A.Gadelle, J.Defaye, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl*, **1991**, *1*, 78.
- [74] Y.Murakami, J.Kikuchi, Y.Hisaeda, O.Yayashida, *Chem. Rev*, **1996**, *96*, 721.
- [75] A.Ueno, R.Breslow, *Tetrahedron Lett*, **1982**, *23*, 3451.

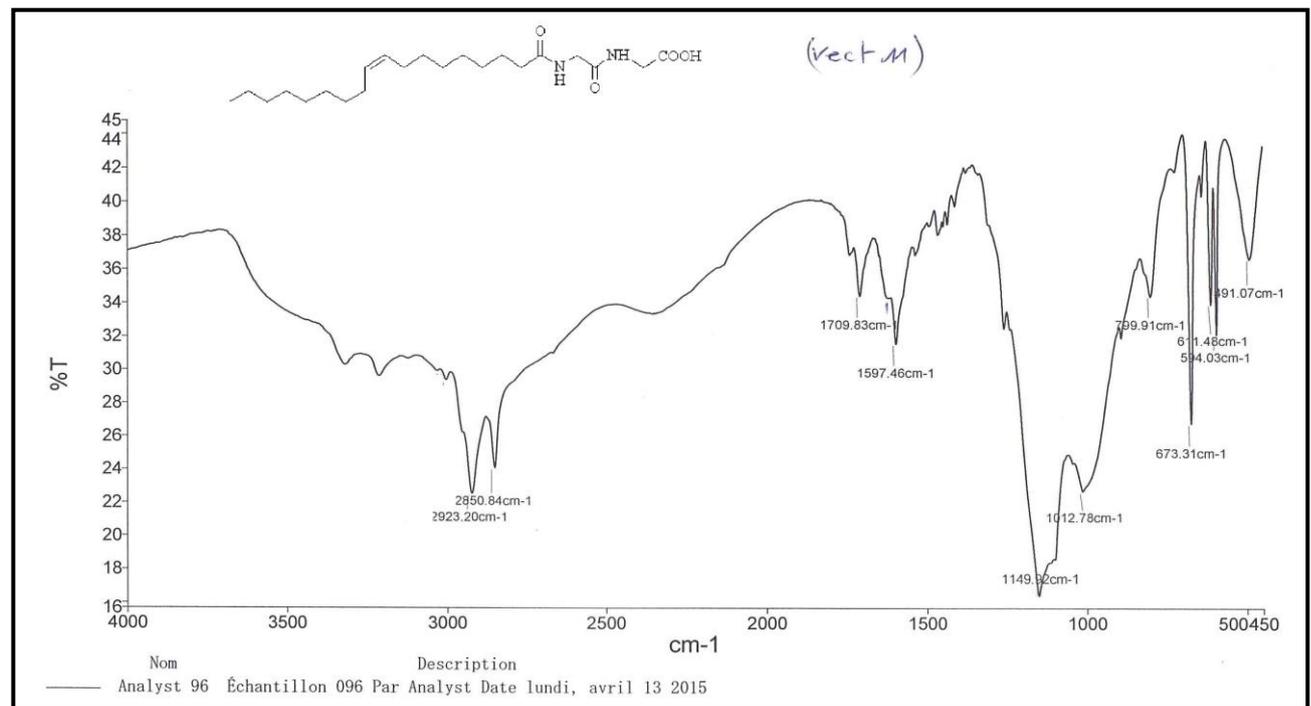
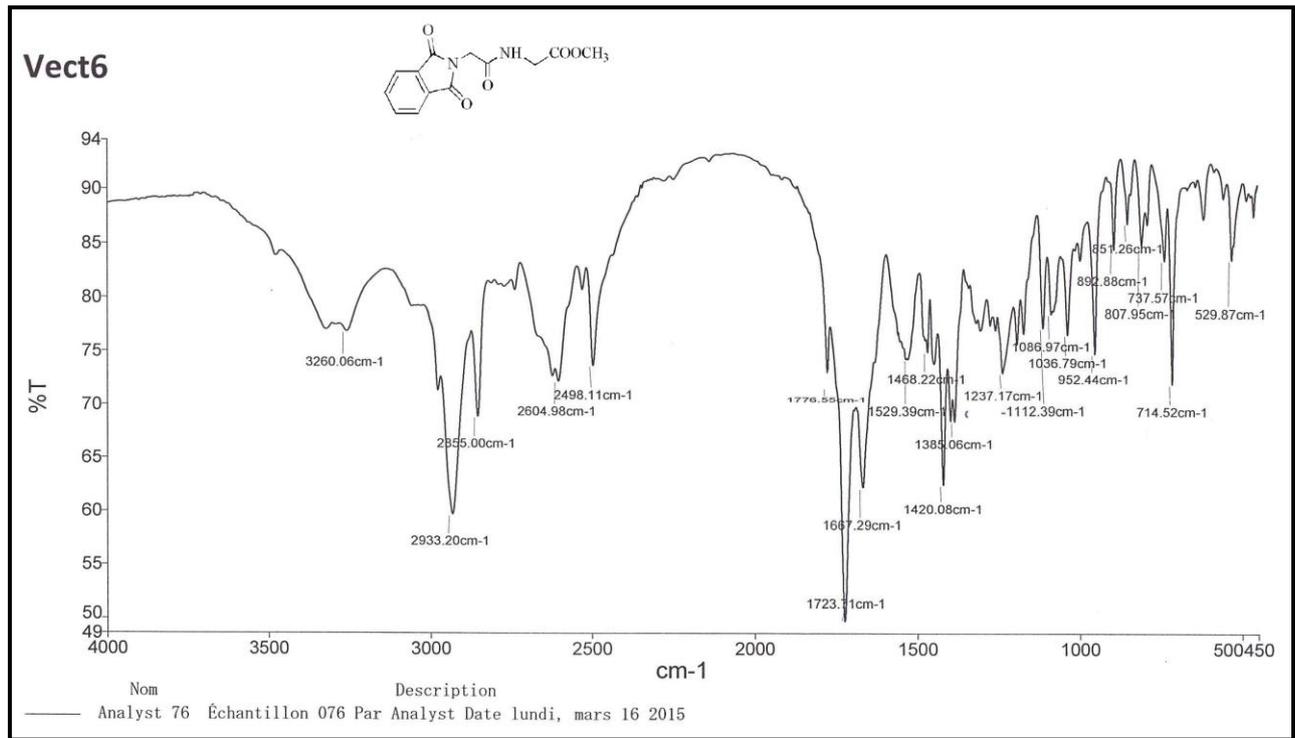
- [76] K.Tsujihara, H.Kurita, M.Kawazu, *Bull. Chem. Soc. Jpn*, **1977**, *50*, 1567.
- [77] V.Lainé, A.Coste-Sarguet, A.Gadelle, J.Defaye, B.Perly, F.Djedäini-Pilard, *J. Chem. Soc. Perkin Trans 2*, **1995**, 1479.
- [78] L.D.Melton, K.N.Slessor, *Carbohydr. Res*, **1971**, *18*, 29.
- [79] S.Hanessian, A.Benalil, C.J.Laferriere, *J. Org. Chem*, **1995**, *60*, 4786.
- [80] G.WENZ, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl*, **1994**, *33*, 803.
- [81] D.Rong, V.T.D'Souza, *Tetrahedron Lett*, **1990**, *31*, 4275.
- [82] T.MURAKAMI, K.HARATA, S.MORIMOTO, *Tetrahedron Lett*, **1987**, *28*, 321.
- [83] M.Suzuki, Y.Nozone, *Carbohydr. Res*, **2002**, *337*, 2393.
- [84] S.Tisse, et al, *Tetrahedron: Asymmetry*, **2003**, *14*, 2259.
- [85] D.Duchene, G.Ponchel, D.Wouessidjewe, *Advanced Drug Delivery Reviews*, **1999**, *36*, 29.
- [86] H.Parrot-Lopez, F.Perreta, B.Bertino-Ghera, *Annales Pharmaceutiques Françaises*, **2010**, *68*, 12.
- [87] A.Gadelle, J.Defaye, *Angew.Chem.Int .Ed.Engl*, **1991**, *30*, 78.
- [88] D.P.Parazak, A.R.Khan, V.T.D'Souza, K.J.Stine, *Langmuir*, **1996**, *12*, 4046.
- [89] K.Inamura, H.Ikeda, A.Ueno, *chem. Lett*, **2002**, *1*, 516.
- [90] E.Memisoglu, A.Bochot, M.Sen, D.Charon, D.Duchène, A.A.Hincal, *J. Pharm. Sci*, **2002**, *91*, 1214.
- [91] P.Zhang, C.C.Ling, A.W.Coleman, H.Parrot-Lopez, H.Galons, *Tetrahedron Lett*, **1991**, *32*, 2769.
- [92] S.Lesieur, D.Charon, P.Lesieur, C.Ringard-Lefebvre, V.Muguet, D.Duchene, *Chem. Phys. Lipids*, **2000**, *106*, 127.
- [93] M.J.Pregel, L.Jullien, J.Canceill, L.Lacombe, J.M.Lehn, *J. Chem. Soc. Perkin Trans*, **1995**, *3*, 417.
- [94] B.J.Ravoo, R.Darcy, *Angew. Chem. Int. Ed*, **2000**, *39*, 4324.
- [95] F.Sallas, K.Niikura, S.L.Nishimura, *Chem. Commun*, **2004**, *5*, 596.
- [96] M.Roux, B.Perly, F.Djedäini-Pilard, *Eur.Bio.phys.J*, **2007**, *36*, 861.
- [97] N.Bellanger, B.Perly, *J. Mol. Struct*, **1992**, *273*, 215.
- [98] K.Uekama, F.Hirayama, T.Irie, *Chem. Rev*, **1998**, *98*, 2045.
- [99] A.Dubes, G.Degobert, H.Fessi, H.Parrot-Lopez, *Carbohydr.Res*, **2003**, *338*, 2185.

- [100] J.C.Ravey, M.J.Stebe, *Colloids Surf. A*, **1994**, *84*, 11.
- [101] J.Diakur, Z.Zuo, L.I.Wiebe, *J. Carbohydr. Chem*, **1999**, *18*, 209.
- [102] C.E.Granger, C.P.Felix, H.P.Parrot-Lopez, B.R.Langlois, *Tetrahedron. Lett*, **2000**, *41*, 9257.
- [103] K.Fujita, H.Yamamura, A.Matsunaga, T.Imoto, K.Mihashi, T.Fijioka, *J. Org. Chem*, **1990**, *55*, 877.
- [104] C.C.Ling, A.W.Coleman, M.Miocque, *Carbohydr. Res*, **1992**, *223*, 287.
- [105] Y.W.Cho, et al, *J. Pharm. Pharmacol*, **2003**, *55*, 721.
- [106] P.L.Felgner, et al, *Hum.Gene. Ther*, **1997**, *8*, 511.
- [107] S.A.Cryan, A.Holohan, R.Donohue, R.Darcy, C.M.O'Driscoll, *J. Pharm. Sci*, **2004**, *21*, 625.
- [108] A.McMahon, E.Gomez, R.Donohue, D.Forde, R.Darcy, C.M.O'Driscoll, *J. Drug. Deliv. Sci. Technol*, **2008**, *18*, 303.

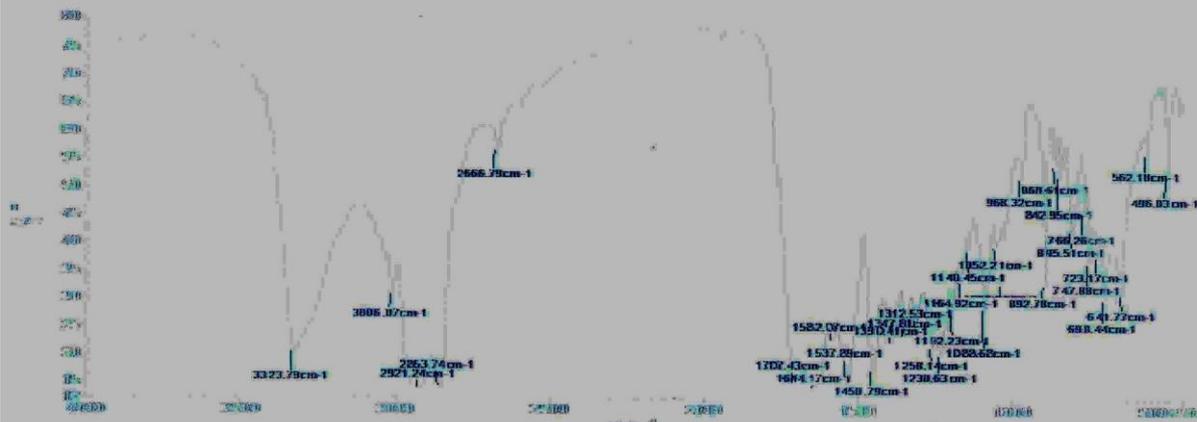
# Annexe











Name:   
 Description:   
 Analyst: 001, Reagent: 111cm, 101, Proc: Analyst, Date: mod5, size: 3.14, 20114