

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

UNIVERSITE DE GUELMA

Faculté des mathématiques et de l'informatique et des sciences de la matière  
Département des sciences de la matière



Mémoire de fin d'étude Master II

Spécialité : chimie physique et analytique

*Présenté par :*

**Kouahla Wahiba  
Bechihi Hadjer**

---

---

**Etude de l'inclusion de la Benzoxazolinone et son dérivé  
N-méthylé dans la  $\beta$ -cyclodextrine**

---

---

**Sous la Direction de:**

**DR. M. STITI  
M<sup>me</sup>. H. BOUZIT**

**Juin 2016**

# Remerciements

## **Remerciements**

Ce travail a été effectué au sein du Laboratoire de Chimie Appliquée (**LCA**), à l'université 8 Mai 1945 de Guelma. Que le professeur **Mohamed ABDAOUI**, Chef du labo; trouve ici l'expression de notre respectueuse considération et de notre sincère gratitude pour l'intérêt qu'il a accordé à notre travail ainsi que le soutien et l'aide qu'il nous a apporté durant notre stage

Nous tenons à exprimer notre très sincère reconnaissance à Monsieur le Docteur **Maamar STITI** qui nous a fait l'honneur de diriger ce travail, aussi pour sa disponibilité, sa patience, ses conseils judicieux et ses orientations précieuses et toute l'attention qu'il nous a accordée le long de la réalisation de ce travail. Qu'il trouve dans l'aboutissement de ce travail le témoignage de notre profonde gratitude et parfaite considération.

J'adresse mes plus vifs remerciements à **M<sup>me</sup> Habiba BOUZIT**, co-encadreur de ce mémoire, pour sa rigueur scientifique, sa disponibilité, son encadrement assidu pendant toute l'année et pour toute l'attention qu'elle a portée à l'avancée de ce travail.

A nos enseignants qui nous ont beaucoup aidés et encouragés durant notre formation.

Nous présentons nos remerciements pour les membres de jury d'avoir accepté de juger ce travail.

# Dédicace



## *Dédicace*

*Que ce travail témoigne de mes respects :*

*Ames parents:*

*Grâce à leurs tendres encouragements et leurs grands sacrifices, ils ont pu créer le climat affectueux et propice la poursuite de mes études. Aucune dédicace ne pourrait exprimer mon respect, ma considération et mes profonds sentiments envers eux,*

*A ma grande mère :*

*Pour sa douceur et sa bonté et d'affection.*

*A Toi ma tante « fouzia » :*

*Une spécial dédicace, qui m'a encouragé à aller de l'avant et qui m'a donné tout son amour, ma vie ne serait pas aussi magique sans ton présence et ton amour.*

*A mes cousines : sida li , manar et meriem.*

*A ma meilleure et proche amie HADJER, merci pour ton soutien plus que précieux, merci pour ton grand cœur.*

*A toutes mes chères amies :*

*Hadjer , razika, zaynéb ,sara ,Elles vont trouver ici le témoignage d'une fidélité et d'une amitié infinie.*

*A toute ma famille*

*A tous mes enseignants dès la première classe primaire.*

*A tous ceux qui j'aime et qui m'aiment*

*Je dédie ce modeste travail*

# *wahiba*





## *Dédicace*

*A mon père «Brahim», et*

*À ma très chère mère «Leïla» qui ont sacrifié leur vie pour notre bien.*

*A Mon frère: Abdoullah*

*A ma petite sœur : Roaya*

*A mes cousines : Meryem, Sara, Ahlem et Aïcha .*

*A mon cher fiancé : Oussama qui m'a beaucoup encouragé.*

*A ma belle mère*

*A celle qui ma partagé les soucis de réaliser ce travail : wahiba*

*A mes chères amies: Amina, Razika, Wahiba*

*A toute ma famille*

*A tous mes enseignants dès la première classe primaire.*

*A tous ceux qui j'aime et qui m'aiment*

*Je dédie ce modeste travail*



# *hadjer*

# Sommaire

## Sommaire

Introduction générale.....	1
<b>Chapitre(I) :Benzoxazolinone et produits de trosformation</b>	
I.1 /Introduction.....	3
I.2/Structure des principaux Benzoxazinoïdes.....	3
I.3/Description de la Benzoxazolinone (BOA).....	5
I.4/Caractéristique physicochimique de la Benzoxazolinone.....	6
I.5/Préparation de la Benzoxazolinone.....	6
I.5.a/Voie biochimique.....	6
I.5. b/ Voie chimique.....	7
1/ Préparation a partir de l'acide salicylique.....	7
2/Préparation a partir de l'orthoamino-phénol.....	7
3/ Préparation de la Benzoxazolinonea partir de certaines structures Bicycliques.....	8
4/ Extension des méthodes précédentes aux Benzoxazolinones substitués.....	8
I.6/Propriétés chimiques de la Benzoxazolinone.....	8
1/ Substitution à l'azote.....	8
2/Ouverture du cycle oxazolinonique (hydrolyse alcaline et hydrolyse acide)..	9
3/Substitution sur le noyau benzénique de la Benzoxazolinone.....	10
I.7/Relation entre la structure chimique et les propriétés pharmacodynamiques	12
I.8/Conclusion.....	15
<b>Chapitre(II) : les cyclodexstrines</b>	
II.1/Introduction.....	16
II.2/Caractéristiques structurales des cyclodexstrines.....	16
II.3/Propriétés physico-chimique des CDS.....	18



II.3.1/Solubilité dans l'eau.....	18
II.3.2/ Les complexes d'inclusion.....	19
II.3.2.1/ Propriétés de complexation des CDs et stœchiométrie.....	19
II.3.3/Facteurs influençant la complexation des molécules organiques par lesCD.....	20
a) Facteur stérique.....	20
b) Polarité et charge.....	20
II.3.4/ Mécanisme de complexation.....	20
II.4/Mise en évidence de la formation des complexes d'inclusion.....	21
II.5/ Détermination de la stœchiométrie et la constante de stabilité des complexes d'inclusion.....	22
II.5.1/ Détermination de la stœchiométrie.....	22
II.5.1.1/Méthode des variations continues.....	22
II.5.1.2/ Méthode des rapports molaires.....	22
II.5.2/ Détermination de la constante de stabilité.....	23
II.6/Conséquences de la complexation et applications.....	24
II.7/Conclusion .....	25

### **Chapitre(III) : Résultats et discussions**

III.1/ Synthèse de la methyl-3-Benzoxazolinone (Méthyl-Benzo).....	26
III.1.1/Caractérisation du produit obtenu.....	28
III.1.1.1 /Caractérisation par spectrométrie (IR).....	28
III.2/ Préparation des complexes d'inclusion de la BOA et son dérivé Méthyl-Benzo dans la $\beta$ -Cyclodextrine( $\beta$ -CD).....	29
A/ Préparation des complexes à l'état solide.....	29
A.1/Caractérisation des complexes obtenus à l'état solide.....	30
A.1.1/ Caractérisation par spectrométrie (IR).....	31
B/ Etude des complexes en solution.....	33

B.1/Mise en évidence de la formation en solution des complexes d'inclusion $C_1$ et $C_2$ .....	34
III.3 /Détermination de la stœchiométrie.....	35
III.4/ Détermination de la constante de stabilité.....	37
III.4.1/ Détermination de la constante de stabilité du Complexe $C_1$ .....	38
III.4.2 /Détermination de la constante de stabilité du Complexe $C_2$ .....	39
III.5 / Conclusion.....	41

## Chapitre (IV) : Protocoles expérimentaux

IV.1/ Remarques générales.....	42
IV.2/ Pastillage dans le KBr.....	42
IV.3 / Synthèse de la methyl-3-Benzoxazolinone.....	43
IV.4/ Préparation des complexes d'inclusion à l'état solide.....	44
IV.4.1/ Préparation du complexe Benzoxazolinone - $\beta$ CD( $C_1$ ).....	44
IV.4.2/ Préparation du complexe N- methyl-Benzoxazolinone- $\beta$ CD( $C_2$ ).....	45
IV.5/ Préparation des complexes d'inclusion en solution.....	46
IV.5.1/ Caractérisation par spectrométrie UV-visible des complexes obtenus en solution.....	46
IV.5.1.1/ Complexe d'inclusion BOA- BCD( $C_1$ ).....	46
IV.5.1.2/ Complexe d'inclusion Méthyl-Benzo- BCD( $C_2$ ).....	46
Conclusion générale .....	47

# Liste des figures, schémas et tableaux

## Liste des figures

N <sup>o</sup>	Titre	Page
I-1	Structure des benzoxazinoïdes les plus connus.	4
I-2	Structure générale de la benzoxazolinone.	5
I-3	Structure générale des acyl-6-Benzoxazolinones.	10
I-4	Analogie structurale entre la benzoxazolinone et les uréthanes.	12
I-5	Structurale entre la benzoxazolinone, les oxazolidinediones, les barbituriques et les hydantoïnes.	13
I-6	Similitude structurale entre la Benzoxazolinone et la coumarine.	13
I-7	Analogie structurale entre la méthoxy-6-benzoxazolinone et la mélatonine.	14
I-8	Exemples d'acyle-6-benzoxazolinone et ses dérivés utilisés en thérapeutique.	14
II-1	Structure moléculaire et forme géométrique des cyclodextrines ( $\alpha$ , $\beta$ , $\gamma$ ).les dimensions respectives des CDs obtenues d'après les données cristallographiques.	16
II-2	Représentations de la structure chimique des cyclodextrines naturelles.	17
II-3	Représentation schématique de la formation d'un complexe d'inclusion.	19
II-4	Représentations schématiques de complexes d'inclusion de stœchiométries différentes.	19
II-5	Mise en évidence de la formation de complexe d'inclusion.	21
III-1	Montage pour synthèse de la methyl-3-Benzoxazolinone.	26
III-2	Isolement du produit de synthèse par rotavapeur.	27
III-3	Traitement par filtration du composé obtenu.	27
III-4	Similitude structurale entre la Benzoxazolinone , la méthyl-3-Benzoxazolinone et la coumarine.	28
III-5	Spectre (IR) de la Méthyl-Benzo.	29

III-6	Montages pour synthèse des complexes C <sub>1</sub> et C <sub>2</sub> .	30
III-7	Spectres(IR) de la β-CD(en vert) de la BOA (en noir) et leur complexe d'inclusion C <sub>1</sub> (en rouge).	31
III-8	Spectres(IR) de la β-CD(en bleu), de la Méthyl-Benzo (en rouge) et leur complexe d'inclusion C <sub>2</sub> (en vert).	32
III-9	Comparaison des absorptions en (IR) des complexes C <sub>1</sub> et C <sub>2</sub> par superposition de leurs spectres.	32
III-10	Processus de formation des complexes d'inclusion C <sub>1</sub> et C <sub>2</sub> sous ultrason.	33
III-11	Mise en évidence de la formation des complexes d'inclusion C <sub>1</sub> et C <sub>2</sub> dans l'eau à 10 <sup>-4</sup> M.1- β-CD libre, 2- Complexes C <sub>1</sub> ou C <sub>2</sub> et 3- BOA ou Méthyl-Benzo.	34
III-12	Evolution des spectres d'absorption en fonction des rapports molaires pour les deux complexes C <sub>1</sub> et C <sub>2</sub> .	36
III-13	Détermination de la stœchiométrie des complexes C <sub>1</sub> et C <sub>2</sub> par la méthode des rapports molaires.	36
III-14	Spectres d'absorbance des BOA et Méthyl-Benzo (1.00 X 10 <sup>-5</sup> M) dans l'eau contenant différentes concentrations de β-CD (2.00 x 10 <sup>-5</sup> et 1.00 x 10 <sup>-4</sup> M) à température ambiante.	37
III-15	La courbe [BOA] / Abs = f (1 / [β-CD]) de la méthode de Benessi-Hildbrand pour la complexation 1:1 à 270 nm.	38
III-16	La courbe [BOA] / Abs = f (1 / [β-CD] <sup>2</sup> ) de la méthode de Benessi-Hildbrand.	39
III-17	La courbe [Méthyl-Benzo] / Abs = f (1 / [β-CD]) de la méthode de Benessi-Hildbrand pour la complexation 1:1 à 272 nm.	40
III-18	La courbe [Méthyl-Benzo] / Abs = f (1 / [CD] <sup>2</sup> ) de la méthode Benessi-Hildbrand pour la complexation 2:1 à 272 nm.	40

## Liste des schémas

<i>N<sup>o</sup></i>	Titre	Page
I-1	Biosynthèse de la Benzoxazolinone.	6
I-2	Préparation de la Benzoxazolinone par fusion de l'urée avec de l'ortho-amino-phénol.	7
I-3	Préparation de la la Benzoxazolinone par action du phosgène sur l'ortho-amino-phénol.	7
I-4	Préparation de la la Benzoxazolinone par action du chloroformiate d'éthyle sur l'ortho-amino-phénol.	8
I-5	Préparation de la Benzoxazolinone à partir de certaines structures bicycliques.	8
I-6	Réaction de substitution sur l'azote de la Benzoxazolinone.	9
I-7	Réaction de formation des bases de Mannich avec la Benzoxazolinone.	9
I-8	Hydrolyse alcaline de la Benzoxazolinone.	10
I-9	Réaction d'acylation de la Benzoxazolinone.	11
III-1	Synthèse de la methyl-3-Benzoxazolinone.	26
III-2	Mécanisme proposé pour la synthèse de la methyl-3-Benzoxazolinone.	27

## Liste des tableaux

<b>N°</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
I-1	Certaines caractéristiques physicochimiques de la Benzoxazolinone.	6
II-1	Propriétés physico-chimiques et structurales des principales cyclodextrines.	18
II-2	Exemples de propriétés améliorées par l'utilisation de CDs dans divers domaines d'applications.	24
III-1	Caractéristiques physicochimiques et spectroscopiques de la méthyl-3-Benzoxazolinone.	28
III-2	Caractéristiques physicochimiques et spectroscopiques des complexes obtenus.	30
III 3	Résultats d'analyse par spectrométrie UV des complexes C <sub>1</sub> et C <sub>2</sub> dans l'eau à 10 <sup>-4</sup> M.	35
III-4	Résultat de détermination de la constant de stabilité.	41

# Liste des abréviations



**Liste des abréviations**

Symbole	Signification
$\alpha$ -CD	Alfa -cyclodextrine
BOA	Benzoxazolinone
$\beta$ -CD	Béta -Cyclodextrine
CDs	Cyclodextrines
C1	Complex BOA- $\beta$ -CD
C2	Complexe MBOA- $\beta$ -CD
CGTASE	Cyclodextrines Glycole Transférase
DIBOA	2,4Dihydroxy-1,4Benzoxazine3-one
DIMBOA	2,4 Dihydroxy-7-Méthoxy 1,4-Benzoxazine-3-one
DMF	Diméthyl formamide
HBOA	4-Benzoxazine 3-one-2-Hydroxy-1
HMBOA	2- Hydroxy-7-Méthoxy-1-4-Benzoxazine
MBOA	Methoxy6-Benzoxazolinone
MRM	Méthode rapport poalaire
MVC	Méthode variation continue
PPA	Acide polyphosphorique
QSAR	Quantitative Structure Activity Relationship
R-X	Un halogénure d'alkyle
RMN	Résonance magnétique nucléaire
IR	Infrarouge
UV-vis	Ultraviolet visible
VDW	Van Der Waals
$\gamma$ -CD	Gama-Cyclodextrine

# Introduction générale

## ***Introduction***

L'accumulation des herbicides / pesticides conventionnels et leurs produits de dégradation souvent très toxiques est un problème majeur. Un autre problème est leur persistance dans les eaux souterraines et dans le sol. Certains de ces composés ne sont pas seulement génotoxique, cancérigène, neurotoxique et immunotoxiques, mais aussi ils ont des effets négatifs sur la fertilité des vertébrés et sont toxiques pour les abeilles. Cela exige des stratégies innovantes et respectueuses de l'environnement sur la base de ressources durables en utilisant des composés naturels.

Les Benzoxazinoïdes qui sont des métabolites secondaires (produits naturels) produits par certaines plantes pourraient être un groupe d'allélochimiques qui semblent être très efficaces dans les cultures agricoles avec un impact bénéfique sur la sécurité de l'environnement ainsi que la santé des consommateurs. La Benzoxazolinone et certains nombre de ces dérivés qui appartiennent à la famille des Benzoxazinoïdes étaient déjà connus à la fin du siècle dernier époque où ils avaient fait l'objet de travaux orientés exclusivement sur l'aspect chimique. D'autres études ont suscité depuis lors un intérêt énorme et avaient apporté une importante contribution à la connaissance de la Benzoxazolinone tant sur le plan chimique que sur celui de ses propriétés biologiques. Cependant, la Benzoxazolinone souffre d'un inconvénient majeur qui est sa faible solubilité dans l'eau.

La pharmacie galénique moderne développe des systèmes de délivrance susceptibles de promouvoir le passage transmembranaire et/ou intracellulaire vers la cible souhaitée tout en protégeant le principe actif de la dégradation. De nombreux systèmes de délivrance de molécules actives, possédant des propriétés spécifiques avantageuses pour des applications dans le domaine de la vectorisation, ont été élaborés.

Les cyclodextrines qui sont des oligosaccharides cycliques pouvaient être utilisées comme vecteurs de choix par formation des complexes d'inclusion avec les molécules hydrophobes et permettre ainsi la solubilisation de ces molécules dans des milieux aqueux.

De nombreuses applications ont été proposées pour tirer profit de ce phénomène, en particulier dans le domaine pharmaceutique.

L'objectif de notre travail vise à synthétiser un nouveau dérivé : la N-méthyl Benzoxazolinonique (Méthyl-Benzo), et étudier la possibilité de former des complexes d'inclusion de ce dérivé et son homologue la Benzoxazolinone (BOA) avec la  $\beta$ -cyclodextrin ( $\beta$ CD), et ce dans le but d'améliorer leurs propriétés physico-chimiques et pharmacologiques.

En plus de l'introduction et de la conclusion générale, ce mémoire comprend quatre chapitres:

Le premier chapitre expose un aperçu bibliographique sur les Benzoxazinoïdes, en particulier la Benzoxazolinone et ses produits de transformation.

Le deuxième chapitre rapporte une synthèse bibliographique sur les cyclodextrines et leurs intérêts en tant que vecteurs biologiques par formation de complexes d'inclusion, ainsi que les méthodes et les techniques les plus utilisées pour la détermination de la stœchiométrie et la constante de stabilité de ces complexes.

Le troisième chapitre présente les résultats et discussions sur la synthèse et caractérisation du dérivé N-méthyle- Benzoxazolinone.

Une étude de la formation de complexes d'inclusion de la Benzoxazolinone et son dérivé N-méthylé avec la  $\beta$ -CD à l'état solide et en solution au moyen des méthodes spectrales IR et UV-visible a été également rapportée.

Le quatrième chapitre est réservé à la description des protocoles expérimentaux et des essais que nous avons conduits au cours de ce travail, ainsi que les caractéristiques des produits obtenus.

Chapitre (I)  
Benzoxazolinone et produits  
de transformation

## Benzoxazolinone et produits de transformation

### I.1) INTRODUCTION

Au cours des dernières années il y a eu un intérêt croissant pour les perspectives d'exploitation des produits chimiques naturels comme une stratégie alternative pour contrôler les mauvaises herbes, les insectes et les différents types de maladies.

Les produits chimiques naturels appelé également écomones sont des métabolites secondaires qui interviennent dans les interactions entre les organismes. Ils sont subdivisés en composés allélochimiques et phéromones selon que les interactions sont interspécifique ou intra-spécifique, respectivement.

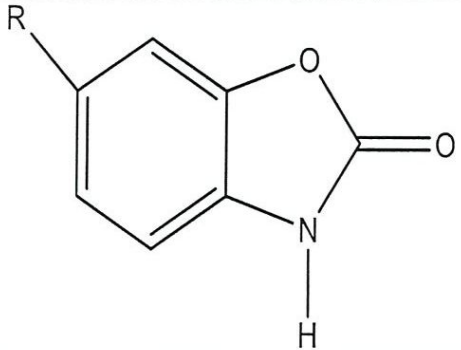
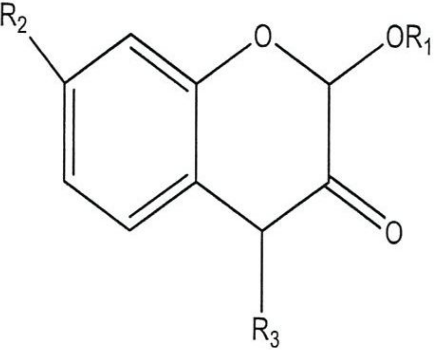
Il y a une énorme diversité d'allélochimiques dans la nature. Environ 10 000 composés sont connus [1] Un groupe d'allélochimiques qui a été fortement mise au point au cours des dernières décennie est les Benzoxazinoïdes ; Ce groupe de métabolites secondaires des plantes, se trouvent principalement dans les céréales, à savoir le blé, le seigle et le maïs, mais aussi dans certaines plantes dicotylédones [2]. Ils ont tout d'abord un rôle remarquable comme des armes chimiques contre les autres organismes [3].

### I.2) STRUCTURES DES PRINCIPAUX BENZOXAZINOÏDES

Les Benzoxazinoïdes sont divisés en trois groupes en fonction de leurs différences de structure (Figure. 1) [4]:

- (1) Benzoxazolinone, y compris 2-Benzoxazolinone (BOA) et 6-méthoxy-2-Benzoxazolinone (MBOA).
- (2) Les lactames, y compris, 4-Benzoxazine-3-one 2-hydroxy-1 (HBOA), 2-hydroxy-7-méthoxy-1, 4-Benzoxazine-3-one (HMBOA) et leurs glucosides 2-B-D respectifs.
- (3) les acides hydroxamiques, y compris 2, 4-dihydroxy-1,4-Benzoxazine-3-one (DIBOA), 2, 4-dihydroxy-7-méthoxy-1,4-Benzoxazine-3-one (DIMBOA), ainsi que leurs glucosides 2-B-D correspondant.

La figure 1 montre aussi les hexoses de DIBOA et HBOA :

	<b>BOA</b>	<b>R</b>			<b>Abréviation</b>	
		H			BOA	
		OCH <sub>3</sub>			MBOA	
	<b>Lactames</b>	<b>R1</b>	<b>R2</b>	<b>R3</b>	<b>Abréviation</b>	
		H	H	H	HBOA	
		H	OCH <sub>3</sub>	H	HMBOA	
		Gle	H	H	HBOA-gle	
		Gle	OCH <sub>3</sub>	H	HMBOA-gle	
		Gle	OCH <sub>3</sub>	-	HMBOA-gle -hexaxe*	
		H	H	OH	DIBOA	
		H	OCH <sub>3</sub>	OH	DIMBOA	
		Gle	H	OH	BIDOA-gle	
		Gle	OCH <sub>3</sub>	OH	DIMBOA-gle	
		Gle	OCH <sub>3</sub>	-	DIBOA-gle -hexose*	
		<b>Acide hydroxamique</b>				

**Figure.1** : structure des Benzoxazinoïdes les plus connus.

Lorsqu'ils sont produits en quantités excessives, les Benzoxazinoïdes sont stockés sous forme de glycosides [5], et ces glucosides moins toxiques sont convertis par voie

enzymatique aux formes aglycones très actives dans des conditions de stress ou d'attaques par des herbivores [6].

La réactivité de DIBOA et DIMBOA avec par exemple  $\text{NH}_2$  et les groupes nucléophiles SH des biomolécules [7] conduit à une protection contre une large gamme d'herbivores, de champignons et de bactéries pathogènes. En dehors de leurs activités comme insecticides, fongicides et bactéricides, les benzoxazinoïdes sont phytotoxiques pour les plantes sensibles.

Les réactions souvent observées sont une germination inhibée, mais en particulier une réduction de la croissance des plantes.

### I.3) DESCRIPTION DE LA BENZOXAZOLINONE(BOA)

Découverte en 1876 par « GROENWK » [8] ; la Benzoxazolinone (BOA) est un uréthane cyclique, formé de l'accolement d'un noyau benzénique et d'un ensemble oxazolinonique, elle répond à la formule générale suivante :

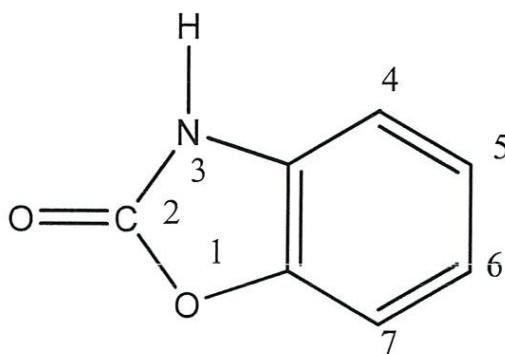


Figure .2 : Structure générale de la Benzoxazolinone.

Durant ces dernières années, la Benzoxazolinone (BOA) a fait l'objet de nombreux travaux chimiques et pharmacodynamiques, qui ont démontré son intérêt en allélopathie et en chimie médicamenteuses, [9, 10,11].



## I.4) CARACTERISTIQUES PHYSICOCHIMIQUES DE LA BENZOXAZOLINONE

Tableau.1 : Certaines caractéristiques physicochimiques de la benzoxazolinone

État physique	Solide
Aspect	brun clair
Odeur	sans odeur
Point/intervalle de fusion	137 - 141°C
Hydrosolubilité	soluble dans l'eau chaude
Formule moléculaire	C <sub>7</sub> H <sub>5</sub> NO <sub>2</sub>
Poids moléculaire	135.12 g/mole

## I.5) PREPARATION DE LA BENZOXAZOLINONE

La Benzoxazolinone est accessible par voie biochimique ainsi que par voie chimique.

## 5.a) Voie biochimique

Selon VIRTAREN [12], il existait dans certains plantes de seigle, un composé, qui par dégradation donne naissance à la Benzoxazolinone (BOA), il s'agirait d'un glucoside dont l'aglycone, libéré par l'action des enzymes est un dérivé Benzoxazinique que la chaleur décompose en Benzoxazolinone.

En effet, la Benzoxazolinone est facilement absorbée par les plantes et affecte de nombreux processus physiologiques, notamment la germination des graines et la croissance des semis. Différents mécanismes ont été proposés pour l'inhibition de la croissance des plantes par le BOA.

Le schéma simplifié de la biosynthèse de la Benzoxazolinone est le suivant:

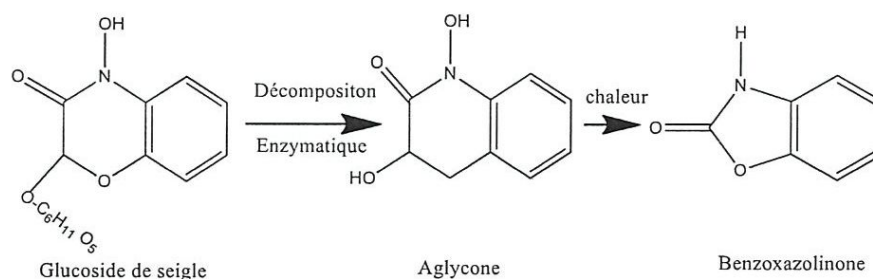


Schéma.1 : Biosynthèse de la Benzoxazolinone.

### 5.b) Voie chimique

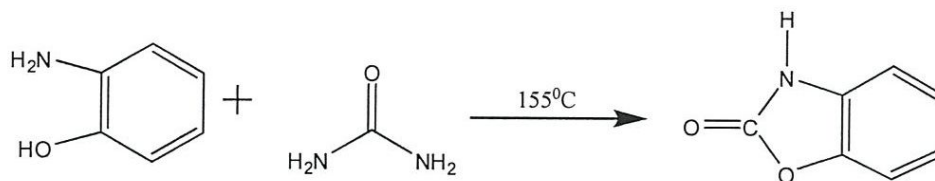
La Benzoxazolinone est obtenue par synthèse pour la première fois à partir de l'ortho-hydroxyphényl-uréthane et depuis, elle a été préparée par de nombreuses voies [13].

#### 1) Préparation à partir de l'acide salicylique [14]

- Le salicylamide traité par l'hypochlorite de sodium conduit à la Benzoxazolinone par le mécanisme du procédé d'Hoffman de dégradation des amides. La formation de l'isocyanate est suivie d'une cyclisation et non d'une hydrolyse en amine.
- L'action du chlorure de thionyle sur l'acide salicyl-hydroxamide conduit au même isocyanate que dans le cas précédent (transposition de Lossen), puis après cyclisation à la Benzoxazolinone.
- Le traitement de l'hydracide salicylique par l'acide nitreux, conduit lui aussi à la Benzoxazolinone par l'intermédiaire du même isocyanate (dégradation de Curtius)

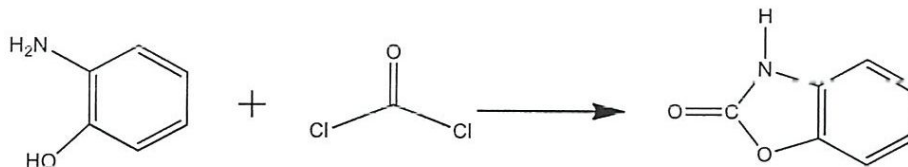
#### 2) Préparation à partir de l'ortho-amino-phénol

- Par fusion avec l'urée: cette préparation a été mise en œuvre à l'échelle industrielle.



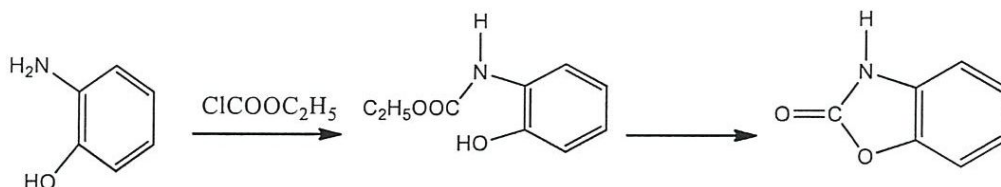
**Schéma .2:** Préparation de la Benzoxazolinone par fusion de l'urée avec de l'ortho-amino-phénol.

- Par action du phosgène en milieu alcalin:



**Schéma .3 :** Préparation de la la Benzoxazolinone par action du phosgène sur l'ortho-amino-phénol.

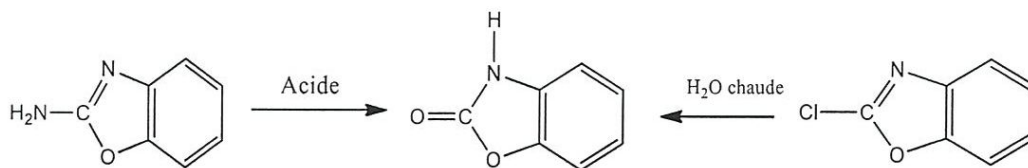
c) Par action du chloroformiate d'éthyle on obtient intermédiairement un hydroxyphényluréthane qui est ensuite cyclisé. C'est le procédé le plus ancien de synthèse de la Benzoxazolinone.



**Schéma. 4 :** Préparation de la Benzoxazolinone par action du chloroformiate d'éthyle sur l'ortho-aminophénol.

### 3) Préparation de la Benzoxazolinone à partir de certaines structures bicycliques:

L'action d'un acide sur l'amino-2 benzoxazole ou traitement par l'eau chaude du chloro-2 benzoxazole conduisent à la Benzoxazolinone.



**Schéma .5 :** Préparation de la Benzoxazolinone à partir de certaines structures bicycliques.

### 4) Extension des méthodes précédentes aux Benzoxazolinones substitués

Les méthodes de préparation de la Benzoxazolinone elle-même ont été étendues à la préparation de Benzoxazolinone substitués sur le noyau aromatique ou sur l'atome d'azote par l'utilisation d'aminophénols ou de dérivés salicylés eux-mêmes convenablement substitués [14,15].

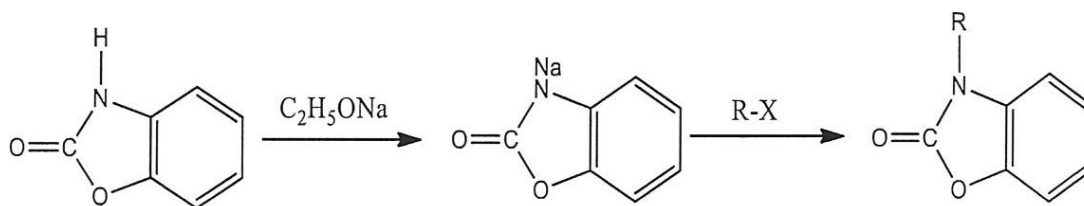
## I.6) PROPRIETES CHIMIQUES DE LA BENZOXAZOLINONE

Sur le plan chimique, la réactivité de la Benzoxazolinone peut être classée en trois grandes séries de réactions [16]:

### 1) Substitution à l'azote

- a) L'atome d'hydrogène porté par l'azote de la Benzoxazolinone (hydrogène labile) est facilement remplacé par un ion sodium sous l'action de l'éthylate de sodium en milieu

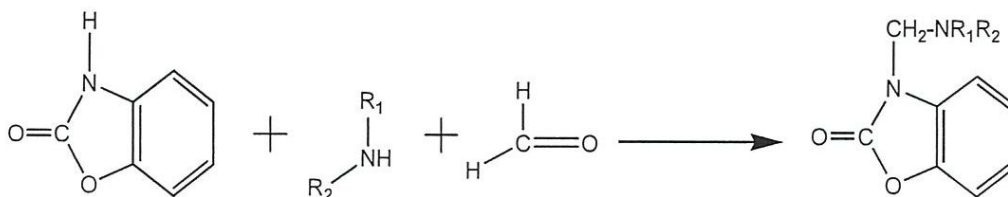
alcoolique, ou même de soude en solution aqueuse, le dérivé sodé ainsi obtenu constitue l'intermédiaire de synthèse des alkyles -3- Benzoxazolinones.



R-X : est un halogénure d'alkyle

**Schéma.6** : Réaction de substitution sur l'azote de la Benzoxazolinone.

b) La mobilité de l'hydrogène lié à l'azote (hydrogène acide) permet également à la Benzoxazolinone de réagir avec des réactifs variés, citons par exemple la formation des bases de Mannich à partir du formol et les amines secondaires [17].



**Schéma.7** : Réaction de formation des bases de Mannich avec la Benzoxazolinone.

## 2) Ouverture du cycle oxazolinonique (Hydrolyse alcaline et hydrolyse acide)

L'ouverture du cycle oxazolinonique en milieu acide et surtout alcalin conduit à des aminophénols diversement substitués.

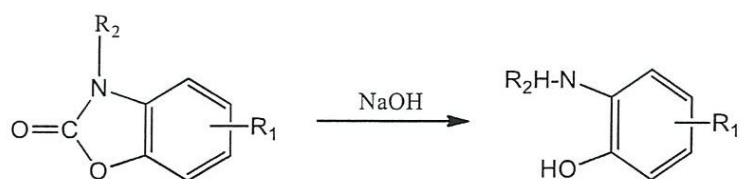


Schéma.8 : Hydrolyse alcaline de la Benzoxazolinone.

### 3) Substitution sur le noyau benzénique de la Benzoxazolinone

Le comportement général du noyau aromatique de la Benzoxazolinone vis-à-vis des réactifs de substitution électrophiles classiques (agent de nitration, halogénéation, sulfonation, alkylation ...etc.) est connu depuis longtemps.

Cette substitution conduit selon les conditions expérimentales et la nature des réactions, à des dérivés monosubstitués en position 6 et souvent accompagnés de dérivés disubstitués ce qui montre une particulière réactivité du noyau aromatique.

#### - Acylation de la Benzoxazolinone

L'acylation de la Benzoxazolinone n'a été décrite que beaucoup plus récemment (1973) [14], elle se déroule commodément par l'action d'acides organiques utilisés comme agents acylants en présence d'acide phosphorique (P.P.A), qui joue le rôle de solvant et de catalyseur. Ce procédé ne s'est pas révélé général, puisqu'il s'applique uniquement aux acides ou aux chlorures d'acides aliphatiques, aromatiques et aussi à quelques acides hétérocyclique et halogéno-acides qui conduit aux dérivés acyles monosubstitués en position 6.

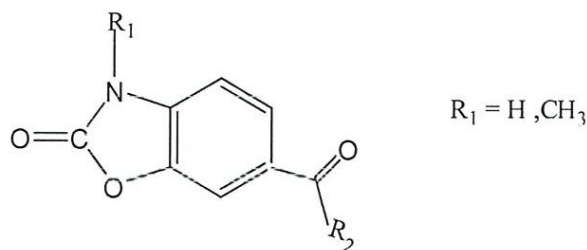
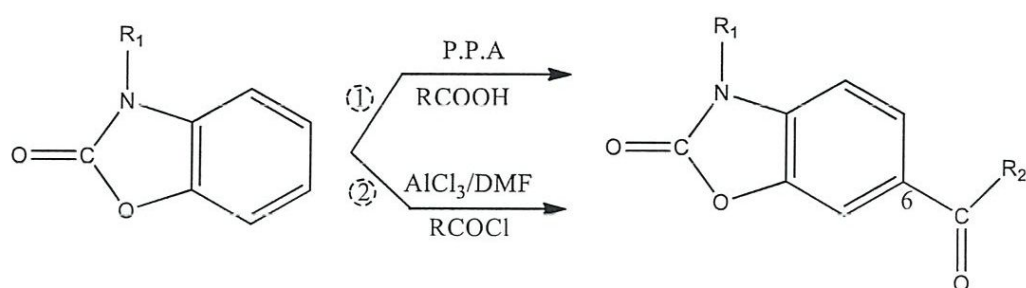


Figure.3 : Structure générale des acyl-6-Benzoxazolinones

Les limites de cette méthode d'acylation ont été remédiées par d'autres conditions utilisant le chlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ )- diméthyle formamide (DMF) et les halogénures d'acides organiques ou leurs anhydrides comme agents acylants [18].

Cette nouvelle méthode avait permis non seulement d'obtenir des acyl-6 - Benzoxazolinones non accessible avec la première méthode utilisant le P.P.A mais également d'améliorer sensiblement les rendements.

Cette méthode est donc plus générale, elle à été appliquée aux dérivés aliphatiques, aromatiques, halogéno-aliphatiques, et surtout aux anhydrides et aux diacides organiques.



**Schéma.9** : Réaction d'acylation de la Benzoxazolinone.

Les composés obtenus selon cette méthode se sont révélés dans tout les cas identiques aux produits obtenus dans le P.P.A (même propriétés physico-chimiques et spectrales).

Il est intéressant de remarquer que malgré la grande réactivité de noyau aromatique de la Benzoxazolinone qui est très riche en électrons appartenant à des orbitales " $\pi$ " et " $n$ ", une tentative d'acylation ou d'une alkylation cyclisante en position 5 de la molécule avec des réactifs tels que les anhydrides d'acides et les halogéno-3propionyle n'avait pas eu lieu, et que cette cyclisation intramoléculaire ne se produisait pas dans les conditions expérimentales et que l'on obtient uniquement dans tout les cas des dérivés acyles en position 6 de la molécule, ceci traduit parfaitement l'influence désactivante du groupement carbonyle sur le noyau aromatique de l'ensemble Benzoxazolinone.

### I.7) RELATION ENTRE LA STRUCTURE CHIMIQUE ET LES PROPRIETES PHARMACODYNAMIQUES

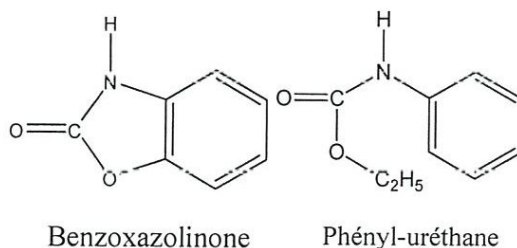
Certaines relations entre structure chimique et activité pharmacodynamique connues en chimie pharmaceutique par **QSAR** (Quantitative Structure-Activity Relationships), et qui consistent à rechercher les points communs pouvant exister par exemple au niveau structural, fonctionnel, géométrique etc, entre les structures moléculaires ayant la même activité, ont servi comme hypothèse dans les recherches des propriétés biologiques de la Benzoxazolinone.

L'intérêt et l'intensité des recherches consacrées à cette molécule se justifient par le fait qu'il s'agit d'une structure biologique. En effet la structure de la Benzoxazolinone existe à l'état naturel dans le règne végétal, plus particulièrement chez les graminées.

La Benzoxazolinone elle-même a été isolée de certaines variétés de seigles. Mais c'est surtout la méthoxy-6 Benzoxazolinone qui semble la plus répandue, elle a été identifiée dans le blé, maïs et autres graminées. Elles seraient (Benzoxazolinone et dérivés homologues) responsables de la résistance des graminées à certaines maladies bactériennes et fongiques [19].

Parmi les propriétés pharmacologiques de la Benzoxazolinone, on peut citer les propriétés antiallergiques et anti-inflammatoires, ainsi que les activités sédatives du système nerveux central, antibactériennes, analgésiques, herbicides, insecticides et antifongiques.

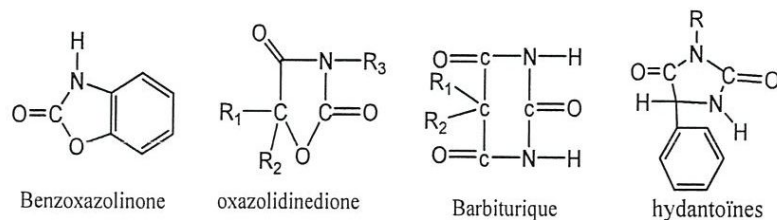
a) La particularité structurale qui a attiré initialement l'attention sur la Benzoxazolinone est la présence dans la molécule d'un fragment qui l'apparente aux uréthanes.



**Figure.4 :** Analogie structurale entre la Benzoxazolinone et les uréthanes.

Cette analogie de structure a orienté les premiers travaux pharmacodynamiques vers la recherche de propriétés rencontrées dans la série des uréthanes : propriété hypnotiques, antipyrétiques, analgésiques.....Etc.

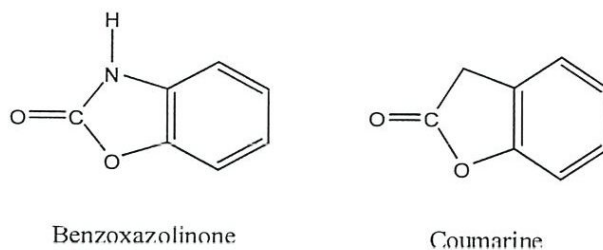
b) la Benzoxazolinone est un uréthane cyclique ce que la rapproche des oxazolidinone-diones dont certaines sont utilisées en thérapeutique comme antiépileptique et dont le pouvoir analgésique a été signalé.



**Figure.5** : Analogie structurale entre la Benzoxazolinone, les oxazolidinediones, les barbituriques et les hydantoïnes.

D'autre part le groupement  $\text{-NH-CO-O}$  qui existe dans la Benzoxazolinone, et l'ensemble  $\text{NH-CO-NH}$ , qui se trouve fréquemment dans les hypnotiques et antiépileptiques (barbituriques, hydantoïnes .etc), sont analogues au titre de la loi de GRIMM (loi de bioisostérie).

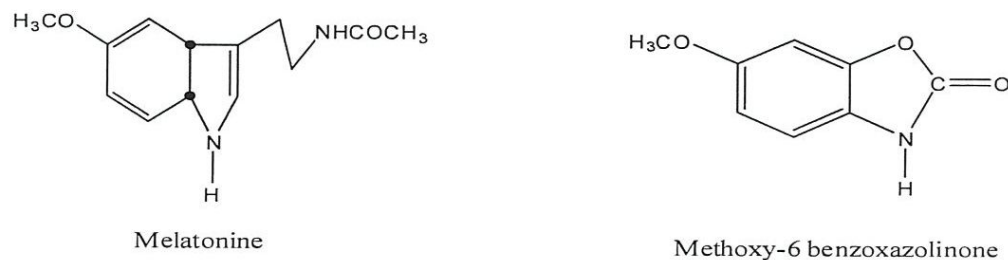
c) Il existe une similitude structurale entre la Benzoxazolinone et la coumarine, identique à celle qui se retrouve entre le benzène et le pyrrole (remplacement du groupement  $\text{-NH}$  par  $\text{-HC=CH-}$ ).



**Figure.6** : Similitude structurale entre la Benzoxazolinone et la coumarine.

d) L'intérêt pharmacologique de la Benzoxazolinone s'est trouvé considérablement confortée en partie par des publications récentes décrivant la méthoxy-6-Benzoxazolinone comme analogue de la mélatonine, capable de stimuler la fertilité de divers espèces animales [20].

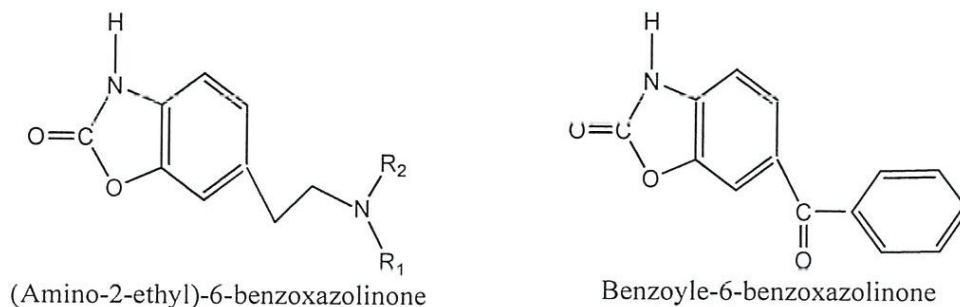




**Figure.7 :** Analogie structurale entre la méthoxy-6-benzoxazolinone et la mélatonine.

e) De nombreux dérivés de la Benzoxazolinone ont été décrits en thérapeutique comme possédant des activités pharmacologiques très variées. Parmi ces dérivés on peut citer les acyl-6benzoxazolinones et leurs dérivés (Figure.7). C'est ainsi que la benzoyle-6-Benzoxazolinone possède une activité analgésique intense ; Développé jusqu'au stade des essais cliniques, ce composé se montre dépourvu d'activité anti-inflammatoire et possède un profil pharmacologique apparenté à celui de la glafinine avec l'avantage d'une toxicité nettement moindre.

Récemment, l'affinité exceptionnelle de divers (amino-2-ethyl)-6-Benzoxazolinone pour les récepteurs sérotoninergiques (traitement des troubles du sommeil et des troubles du caractère et du comportement) a été indiquée [21].



**Figure.8 :** Exemples d'acyle-6-benzoxazolinone et ses dérivés utilisés en thérapeutique.

Le choix d'agents d'acylation trouve sa justification dans les arguments suivants orientés par les études pharmacologiques [22]:

-L'introduction d'un substituant acyle sur le noyau Benzoxazolinone étant en effet susceptible de renforcer le pouvoir hypnotique et neurolipémiant de la molécule fondamentale.

-La substitution par un reste de type acide gras devrait permettre l'obtention de composés lipophiles et améliorer ainsi leur passage au niveau du système nerveux central.

En outre, les acyl-6-Benzoxazolinones sont doués d'une activité analgésique dépourvue d'activité anti-inflammatoire et d'un niveau nettement plus intéressant que la plupart des substances analgésiques non morphiniques connues à ce jour par exemples : les salicylés et les pyrazolés, ces derniers possèdent également une activité anti-inflammatoire et ils interviennent par conséquent sur les processus impliqués dans l'inflammation.; il s'ensuit donc de multiples effets secondaires dont les plus connus sont : attaque de la muqueuse gastrique avec possibilité d'ulcères.

## I.8) CONCLUSION

Les Benzoxazinoïdes et en particulier la Benzoxazolinone ont été intensivement étudiée dans les plantes comme sources endogènes de résistance contre les champignons, les insectes et les mauvaises herbes. Par conséquent, ces composés pourraient jouer un rôle important dans les systèmes agricoles durables pour lutter contre les ravageurs dans les systèmes agricoles innovants. En plus de leur activité comme insecticides, fongicides et bactéricides, ces produits pourraient être considérés comme une plateforme pour la conception et la synthèse de nouveaux dérivés présentant un large spectre d'activités biologiques.

# Chapitre (II)

## Les cyclodextrines

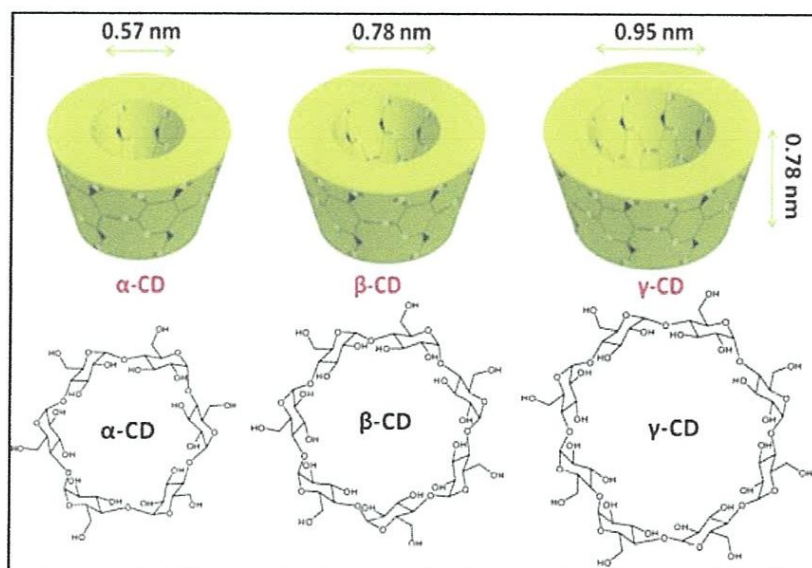
## Les cyclodextrines

### II.1) Introduction

Les cyclodextrines (CDs) sont des oligosaccharides cycliques non-réducteurs obtenues industriellement par la dégradation enzymatique de l'amidon, ou plus précisément de l'amylose. L'enzyme impliquée, la Cyclodextrine Glycosyl Transférase (CGTase) est produite par différents microorganismes comme *Bacillus macerans*, *Klebsiella oxytoca*,...etc [1]. Les trois types de CD les plus couramment rencontrés sont les hexamères ( $\alpha$ -CD), héptamères ( $\beta$ -CD) et octamères ( $\gamma$ -CD) contenant respectivement 6, 7 et 8 unités D-glucopyranosiques liées entre elles par des liaisons glucosidiques  $\alpha$  1-4 (Figure.1). La  $\beta$ -CD étant la plus accessible, la moins chère et la plus utile.

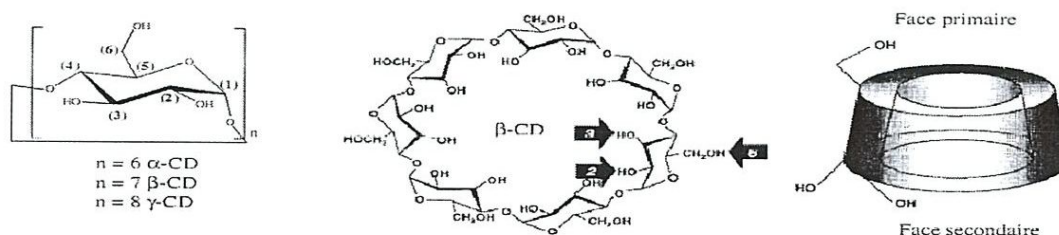
### II.2) Caractéristiques structurales des Cyclodextrines

Les structures tridimensionnelles des CDs ont pu être obtenues à partir de l'étude de leurs monocristaux par diffraction des rayons X, ce qui a permis de mettre en évidence la structure tronconique des CDs ainsi que de déterminer les dimensions des cavités de chacune d'elles [2]. La paroi de ces cônes est constituée par les unités glucoses, en conformation chaise  ${}^4C_1$  [3,4]. Les cyclodextrines sont des molécules chirales, chaque unité de glucose ( $C_6H_{10}O_5$ ) contient 5 atomes de carbone asymétriques. La  $\beta$ -CD contient donc 35 atomes de carbone asymétriques.



**Figure.1:** Structure moléculaire et forme géométrique des Cyclodextrines ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ).les dimensions respectives des CDs obtenues d'après les données cristallographiques.

Conformément aux figures 1 et 2, les hydroxyles secondaires O2H et O3H se trouvent sur la partie la plus large du cône appelée face secondaire et peuvent présenter des ponts Hydrogène conduisant à la rigidité du macrocycle et stabilisant la forme tronconique. Sur l'extrémité la plus étroite (face primaire) se trouvent les hydroxyles primaires O6H, les oxygènes interglucosidiques (O4) sont situés sur l'équateur du cône et dirigés vers l'intérieur de la cavité. Ils produisent une forte densité électronique donnant aux cyclodextrines le caractère d'une base de «Lewis». Les hydrogènes H1, H2 et H4 sont dirigés vers l'extérieur de la cavité tandis que les hydrogènes H3 (près de la face secondaire), et H5 (près de la face primaire) sont orientés vers l'intérieur. Ces derniers sont les seuls pouvant interagir avec un substrat inclus dans la cavité. A cause de la structure tronconique et de la position particulière des hydroxyles, les cyclodextrines sont amphiphiles et possèdent donc deux zones de polarité distinctes : L'extérieur de la cavité et les extrémités sont polaires: Ceci est dû essentiellement aux hydroxyles et favorise ainsi la solubilisation dans des solvants très polaires. En revanche, l'intérieur de la cavité où se trouvent uniquement les oxygènes interglucosidiques, est moins polaire (polarité de type éther) et cette zone est plus hydrophobe (surface de contact avec la molécule invitée).



**Figure.2:** Représentations de la structure chimique des cyclodextrines naturelles.

## II.3) Propriétés physico-chimiques des Cyclodextrines

### II.3.1) Solubilité dans l'eau

Malgré la forte similitude structurale, les cyclodextrines n'ont pas un comportement comparable vis à vis des molécules d'eau. La solubilité en milieu aqueux dépend des contraintes dans les anneaux, de l'orientation et de l'intensité des liaisons hydrogène.

Justement, il est à remarquer la faible solubilité de la  $\beta$ -CD en comparaison avec celles de l' $\alpha$  et de la  $\gamma$ -CD (Tableau.1). Cette perte de solubilité, dont les causes n'ont pas été totalement éclaircies, semble due au réseau de liaisons hydrogène particulièrement fort au sein de la  $\beta$ -CD, une ceinture complète de ces liaisons est formée, ce qui lui confère une structure relativement rigide et une plus faible solubilité dans l'eau [5]. Sa limitation a aussi été attribuée à la formation d'agrégats de  $\beta$ -CD [6]. Lors de la synthèse de  $\beta$ -cyclodextrine modifiées, de mono ou poly-modifications, les solubilités obtenues sont alors très largement augmentées par rapport à la cyclodextrine naturelle, y compris après greffage de groupements relativement hydrophobes renforçant l'hypothèse du réseau stabilisant. Dans le cas de  $\alpha$ -CD, la ceinture de liaisons H est incomplète, l'une des unités étant dans une position distordue, il n'y a donc que 4 liaisons formées (au lieu des 6 prévues). La  $\gamma$ -CD non planaire et plus flexible, possède la plus grande solubilité dans l'eau. Cette déformation va en s'accroissant avec les CDs dont le nombre d'unités glucose est supérieur à 8 et agit de façon défavorable sur leurs propriétés d'inclusion.

**Tableau.1:** Propriétés physico-chimiques et structurales des principales cyclodextrines[1].

	$\alpha$ -CD	$\beta$ -CD	$\gamma$ -CD
Nombre d'unités glucose	6	7	8
Formule brute	$C_{36}H_{60}O_{30}$	$C_{42}H_{70}O_{35}$	$C_{48}H_{80}O_{40}$
Masse molaire ( $g\ mol^{-1}$ )	972	1135	1297
Solubilité dans l'eau à 25°C (g/l)	145	18,5	232
$[\alpha]_D^{25\ ^\circ C}$	$150 \pm 0,5$	$162,5 \pm 0,5$	$177,4 \pm 0,5$
Point de fusion (°C)	275	280	275
Diamètre de la cavité (nm)	0,47 - 0,53	0,6 - 0,65	0,75 - 0,83
Diamètre externe (nm)	1,4 - 1,5	1,5 - 1,6	1,7 - 1,8
Hauteur du tore (nm)	0,8	0,8	0,8
Volume de cavité ( $nm^3$ )	0,174	0,262	0,427

## II.3.2) Les complexes d'inclusion

### II.3.2.1) Propriété de complexation des CDs et stœchiométrie

De par leur structure cyclique tridimensionnelle, leur cavité et leur caractère amphiphile, les CDs sont les composés de premier choix pour la formation de complexes d'inclusion de type hôte-invité avec un grand nombre de molécules (neutres, chargées, polaires ou apolaires), où aucune liaison covalente n'est créée. Des complexes de stœchiométries diverses peuvent être formés (Figure.3).

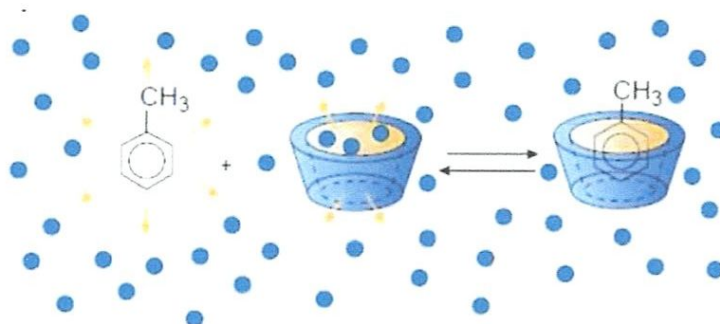


Figure.3: Représentation schématique de la formation d'un complexe d'inclusion.

On parle de complexe 1:1 lorsqu'une molécule invitée interagit avec une molécule de cyclodextrine. Un complexe 1:2 voire 1:3 est formé si la molécule invitée est de grande taille et si plusieurs molécules de cyclodextrines peuvent interagir avec elle. Par contre, un rapport 2:1 est obtenu dans le cas où la cavité de la cyclodextrine est suffisamment spacieuse pour accueillir deux molécules. La taille de la cavité et de la molécule invitée jouent donc un rôle important dans le processus de complexation [7].

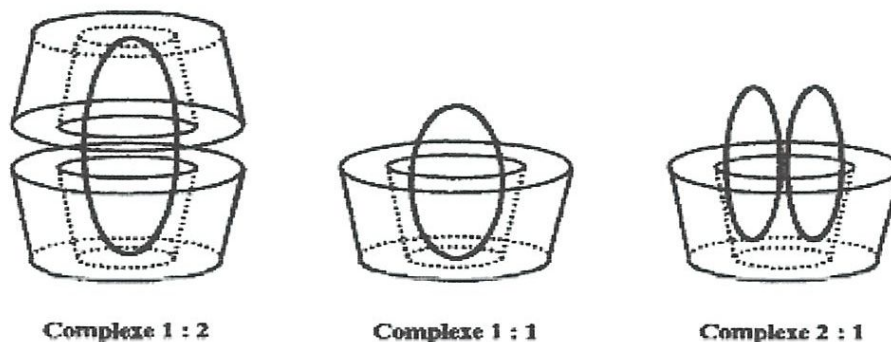


Figure.4 : Représentations schématiques de complexes d'inclusion De stœchiométries différentes

### II.3.3) Facteurs influençant la complexation des molécules organiques par les CD

#### a) Facteurs stériques

Le mécanisme de formation du complexe fait intervenir des paramètres stériques, c'est-à-dire les dimensions et la géométrie des deux molécules qui interagissent. En effet, des molécules trop grosses pour pénétrer même partiellement dans la cavité de cyclodextrine ne pourraient pas former de complexes stables. Il en est de même pour des molécules trop petites, qui pourront pénétrer dans la cavité mais les interactions entre ces dernières et la cavité seront trop faibles pour les maintenir à l'intérieur et par conséquent elles en sortiront très rapidement [8].

#### b) Polarité et charge

La charge et la polarité de la molécule invitée sont importantes pour la formation de complexes d'inclusion. En général, ce sont des molécules hydrophobes ou des groupements hydrophobes de molécules qui présentent une affinité pour la cavité interne des cyclodextrines en solution aqueuse. L'hydratation d'un complexe d'inclusion d'un composé hydrophobe est énergiquement favorisée par rapport à l'hydratation de chacun des composants pris séparément. C'est la cohésion des molécules d'eau qui favorise l'interaction hydrophobe, plutôt que l'attraction entre l'hôte et l'invité.

### II.3.4) Mécanisme de complexation

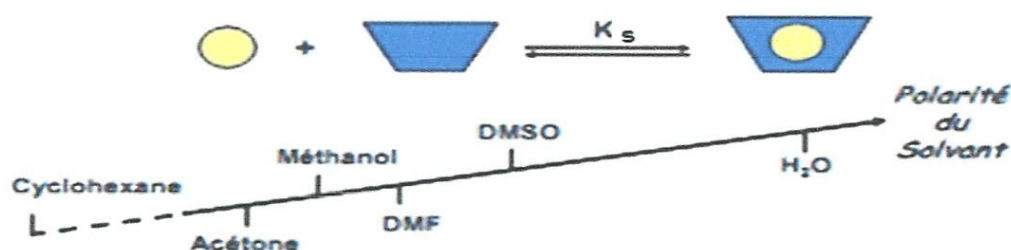
En solution aqueuse, la cavité des CDs est occupée par des molécules d'eau énergiquement défavorables à cause des interactions polaire-apolaire, ce qui permet une substitution aisée par des molécules invitées de moindre polarité que l'eau. Cette exclusion s'accompagne d'une diminution de l'enthalpie. On peut séparer la formation d'un complexe en plusieurs étapes [9] :

- \* Approche de l'invité vers la cyclodextrine.
- \* Rupture de la structure de l'eau à l'intérieur de la cavité de la CD et éviction de certaines de ces molécules, car elles sont énergiquement défavorisées ( $\Delta H$  élevé en raison de l'interaction polaire-apolaire).
- \* Rupture de la structure de l'eau autour de la molécule invitée et transport de molécules d'eau vers la solution.
- \* Interaction des groupement non polaires de la molécule invitée avec la cavité hydrophobe de la cyclodextrine (modification entropique et enthalpique).



- \* Eventuellement, création de la liaison hydrogène entre l'invité et la cyclodextrine;
- \* Reconstitution de la structure de l'eau autour des parties exposées de l'invité après l'inclusion (Figure.3).

Les énergies mises en jeu pour stabiliser le complexe d'inclusion sont en effet attribuées à divers facteurs comme les forces de van der Waals, les interactions hydrophobes, les effets électroniques et les facteurs stériques. La synergie de ces faibles interactions conduit à un équilibre dynamique entre la molécule invitée(I) et la cyclodextrine (CD). Aussi, les constantes de stabilité des complexes « I/CD » dépendent fortement du solvant. Comme indiqué dans la Figure 5, la complexation entre un substrat et une cyclodextrine sera d'autant plus forte que la polarité du solvant sera élevée.



**Figure 5.** Stabilité des complexes d'inclusion en fonction de la polarité du solvant

#### II.4) Mise en évidence de la formation des complexes d'inclusion

Les méthodes utilisées pour détecter l'inclusion à l'état solide sont: la diffraction par rayons X, les méthodes thermiques, la chromatographie sur couches minces, la spectroscopie infrarouge, la microscopie électronique à balayage, et le test de dissolution. En solution, on peut détecter la formation du complexe par les méthodes spectroscopiques (spectroscopie UV/ visible, spectroscopie de fluorescence, spectroscopie de résonance magnétique nucléaire...etc), et les méthodes électrochimiques et micro calorimétriques.

## **II.5) Détermination de la stœchiométrie et la constante de stabilité [10-12] des complexes d'inclusion**

### **II.5.1) Détermination de la stœchiométrie**

Les méthodes les plus utilisées pour la détermination de la stœchiométrie des complexes d'inclusion sont la méthode des variations continues (MVC) et la méthode des rapports molaires (MRM) [13, 14].

#### **II.5. 1.1) Méthode des variations continues [15-18]**

Une détermination fiable des stœchiométries des complexes d'inclusion peut être fournie par la méthode des variations continues (méthode de Job). C'est une méthode générale qui peut s'appliquer à de nombreuses techniques analytiques. Cette technique est basée sur l'évolution d'une variable physico-chimique (ex: déplacement chimique, coefficient de diffusion, absorbance...etc.) en fonction de la concentration du complexe formé en solution. Cette méthode exige deux conditions :

- les concentrations initiales des solutions mères utilisées sont identiques.
- le volume du mélange des deux solutions doit rester constant.

Le procédé consiste à préparer une série de mélanges en proportions variables de solutions équimolaires des deux corps susceptibles de se complexer et à en mesurer une propriété physique additive. Le procédé est particulièrement rapide et économique .Il évite l'usage de solutions à concentrations élevées, avantage à la fois théorique et pratique.

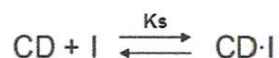
#### **II.5. 1. 2) Méthode des rapports molaires [19, 20]**

Cette méthode consiste à maintenir la concentration totale de la molécule invitée [I] constante et à faire varier la concentration de la molécule hôte [CD]. Le tracé d'une propriété, propre au complexe, par exemple l'absorbance maximale en fonction du rapport molaires [CD]/[I] est étudié afin de détecter une éventuelle discontinuité ou un changement brutal de pente correspondant au rapport stœchiométrique (n/m) pour le complexe  $CD_nI_m$ . Si la constante de formation du complexe est suffisante on obtient deux droites de pentes différentes dont le point d'intersection correspond au rapport molaire [CD]/[I].

### II.5.2) Détermination de la constante de stabilité

La stabilité d'un complexe d'inclusion est caractérisée par sa constante de stabilité. Cette constante est un paramètre thermodynamique important et largement utilisé.

Pour un complexe de stœchiométrie 1:1, l'équation de la réaction s'écrit:



La stabilité du complexe peut être exprimée par la constante de stabilité  $K_s$  :

$$K_s = K_{1/1} = \frac{[\text{CD}\cdot\text{I}]}{[\text{CD}]\cdot[\text{I}]}$$

(CD) représente la molécule hôte soit la cyclodextrine, (I) la molécule invitée et  $K_{1/1}$  est la constante de stabilité du complexe pour un rapport entre la cyclodextrine et la molécule invitée de 1 pour 1.

Un certain nombre d'étude physico-chimique décrite dans la littérature, pour déterminer la constante de stabilité reposent sur des techniques variées [21]: RMN, spectroscopie UV visible, fluorimétrie, solubilité, électrophorèse capillaire, potentiométrie...etc.

Les méthodes graphiques (ou de linéarisation) sont conçues pour générer une relation linéaire entre la propriété observée  $\delta(\text{obs})$  et  $K_s$ , de sorte que les données de la méthode choisie peuvent être traitées graphiquement. La méthode développée par Benessi-Hildebrand [22, 23], est parmi ces méthodes les plus utilisées.

La caractéristique-clé de cette méthode, est que la concentration de la molécule invitée est généralement maintenue constante, alors que celle de la molécule hôte varie dans un intervalle donné de concentrations. Cette approche permet de déterminer graphiquement  $K_s$  à condition que l'espèce non observée soit en large excès (d'au moins un facteur 10) par rapport à l'espèce observée. On établit alors la relation qui correspond à l'équation d'une droite de type  $y = a x + b$  où  $a$  : représente la pente.

Par extrapolation à l'origine, on peut déterminer la valeur permettant le calcul de  $K_s$ .

## II.6) Conséquences de la complexation et applications

L'inclusion des molécules invitées dans la cavité des CDs constitue une encapsulation moléculaire et ces molécules voient leurs propriétés physicochimiques modifiées. Parmi ces modifications, on peut citer [24]:

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

L'exploitation des capacités d'inclusion et la biocompatibilité des CDs ont entraîné un accroissement du nombre et de la diversité des applications scientifiques et industrielles. (Le tableau II.1) en résume les plus importantes [25].

En outre, comme les CDs sont capables de différencier les énantiomères et, plus généralement, les composés structurellement proches comme les isomères, les homologues...etc, cette propriété est mise à profit dans le domaine de la chimie analytique et plus particulièrement dans celui des méthodes séparatives.

**Tableau 2:** Exemples de propriétés améliorées par l'utilisation de CDs dans divers domaines d'applications.

Propriétés	Domaines d'application
Amélioration de la solubilité Amélioration de la biodisponibilité Diminution des effets secondaires Stabilisation	pharmaceutique
Stabilité des produits volatils Extraction de composantes indésirables	alimentaire
Masquage d'odeurs désagréables	Agrochimique : herbicides, fongicides
Stabilité des parfums	cosmétologie

**II.7) Conclusion**

Les cyclodextrines (CDs) sont des oligosaccharides cycliques ayant des cavités hydrophobes au centre, permettant ainsi la formation des complexes d'inclusion avec une gamme de composés organiques menant au changement des propriétés des molécules invitées. L'affinité remarquable des CDs pour les molécules apolaires (hydrophobes) peut être mise à profit pour améliorer leurs propriétés physicochimiques et pharmacologiques. Ce qui engendre des applications importantes en particulier dans le domaine pharmaceutique.

# Chapitre (III)

## Résultats et discussions

## Résultats et discussions

### III.1) Synthèse de la methyl-3-Benzoxazolinone (Méthyl-Benzo)

Nous avons préparé ce produit intéressant par action de l'iodure de méthyle sur le dérivé sodé Benzoxazolinonique dans l'éthanol à la température ambiante (une synthèse one-pot) (Schéma.1). Le solvant est chassé par le rotavapeur, le composé isolé est mis dans l'eau et porté sous agitation pendant 1 heure, le précipité obtenu est essoré, lavé ensuite recristallisé dans l'éthanol-eau (80 /10, V/V).

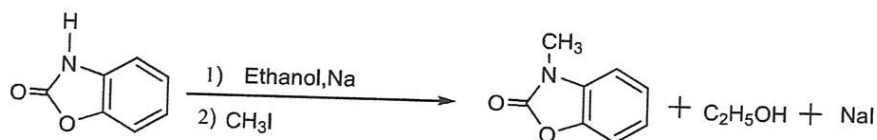


Schéma.1 : Synthèse de la methyl-3-Benzoxazolinone.



Figure.1: Montage pour synthèse de la (Méthyl-Benzo).

### III.1.1) Caractérisation du produit obtenu

Outre ses propriétés odorantes rappelant celles de la coumarine, la Méthyl-Benzo possède un point de fusion très bas (88°C) comparativement à celui de la Benzoxazolinone (BOA) (147°C), cette dernière présente également une similitude structurale avec la coumarine, mais il est surprenant que la Benzoxazolinone elle-même est dépourvue d'odeur (Figure.4) [1].



**Figure. 4:** Similitude structurale entre la Benzoxazolinone, la méthyl-3-Benzoxazolinone et la coumarine.

Les résultats de caractérisation de cette molécule bioactive sont rassemblés dans le tableau suivant:

**Tableau.1 :** Caractéristiques physicochimiques et spectroscopiques de la méthyl-3-Benzoxazolinone.

M (g/mol)	Rf*	Pf (°C)	IR(KBr), $\nu$ (cm <sup>-1</sup> )			UV-vis
			C-H(CH <sub>3</sub> )	C=O	N-H <sub>3</sub>	H <sub>2</sub> O(10 <sup>-5</sup> M) $\lambda$ (nm)
149	0.83	88	2932	1762	1261	272

\* éluant : Acétate d'éthyle/cyclohexane

#### III.1.1.1) Caractérisation par spectrométrie (IR)

En spectrométrie (IR) à Transformée de Fourier (FTIR), la Méthyl-3-Benzoxazolinone montre une absorption vers 2932 cm<sup>-1</sup> caractéristique de la liaison C-H du groupement CH<sub>3</sub> et une bande d'absorption vers 1261 cm<sup>-1</sup> correspondant aux vibrations de valence de N-CH<sub>3</sub>. Le groupement C=O oxazolinonique absorbe à 1762 cm<sup>-1</sup> et les C- H aromatiques vers 3063cm<sup>-1</sup> (Figure.5).



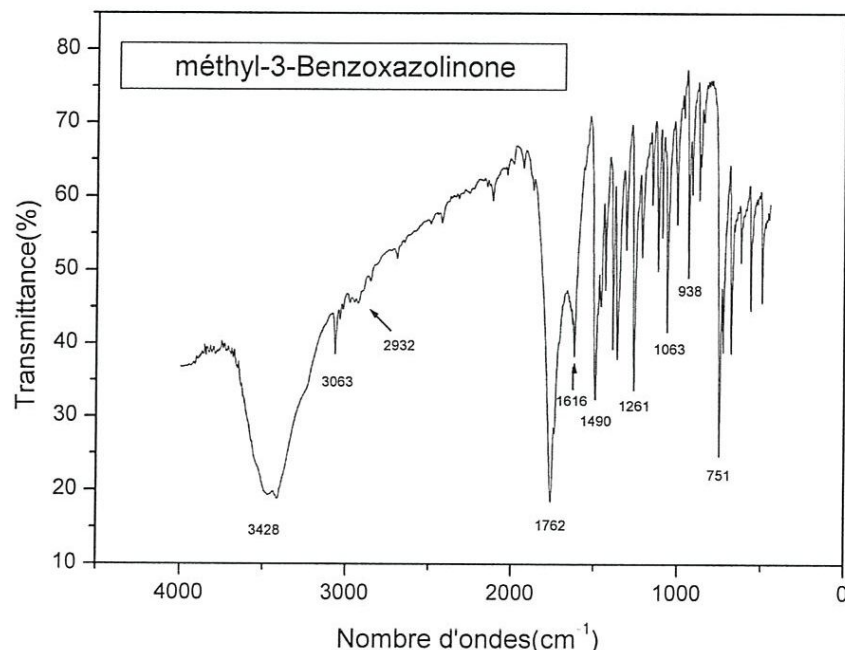


Figure.5 : Spectre (IR) de la Méthyl-Benzo.

### III.2) Préparation des complexes d'inclusion de la BOA et son dérivé Méthyl-Benzo dans la $\beta$ -cyclodextrine ( $\beta$ -CD)

Les complexes d'inclusion de la BOA et son dérivé Méthyl-Benzo avec la  $\beta$ -CD ont été obtenus soit à l'état solide soit en solution.

#### A) Préparation des complexes à l'état solide

Des quantités équivalentes de Benzoxazoline ou de son dérivé N-méthylé sont mélangées avec des quantités équivalentes de  $\beta$ -cyclodextrine dans l'éthanol. Le mélange est laissé agité à température ambiante pendant 24 heures jusqu'à l'apparition de précipités stables (méthode de co-précipitation) [2]. La réaction a été suivie par chromatographie sur couches minces (CCM), qui montre l'apparition d'un nouveau produit et disparitions des précurseurs. Les précipités formés sont essorés, lavés et séchés puis caractérisés par les méthodes physicochimiques et spectroscopiques usuelles.



Figure.6: Montages pour synthèse des complexes  $C_1$  et  $C_2$  .

### A.1) Caractérisation des complexes obtenus à l'état solide

Les différentes méthodes disponibles pour la caractérisation des complexes d'inclusion sont généralement basées sur la détection de la variation d'une propriété physique ou chimique de l'invité à la suite de la formation de son complexe d'inclusion [3]. Les complexes à l'état solide correspondants à l'inclusion de la BOA ou son dérivé Méthyl-Benzo dans la  $\beta$ -CD sont désignés respectivement par  $C_1$  et  $C_2$ . Les résultats de leurs caractérisations sont rapportés dans le tableau.2.

Les valeurs des rapports frontaux ( $R_F$ ) par rapport au système d'élution: ammoniacque / isopropanol, montrent que le complexe  $C_1$  est plus polaire que le complexe  $C_2$ , car ce dernier renferme un groupement méthyle à caractère aliphatique lipophile. Les deux complexes présentent des points de fusion comparables.

Tableau.2 : Caractéristiques physicochimiques et spectroscopiques des complexes obtenus.

C	M (g/mol)	$R_F^*$	$T_f(C^\circ)$	IR(KBr), $\nu$ ( $cm^{-1}$ )						
				OH	C-H <sub>CD</sub>	CH <sub>2</sub>	C=C	C-O	C-C	C-O-C
$C_1$	1270	0.75	278	3383	3199	2929	1658	1157	1074	1022
$C_2$	1284	0.2	280	3407	-	2929	1626	1157	1074	1021

\*Eluant : ammoniacque/isopropanol.

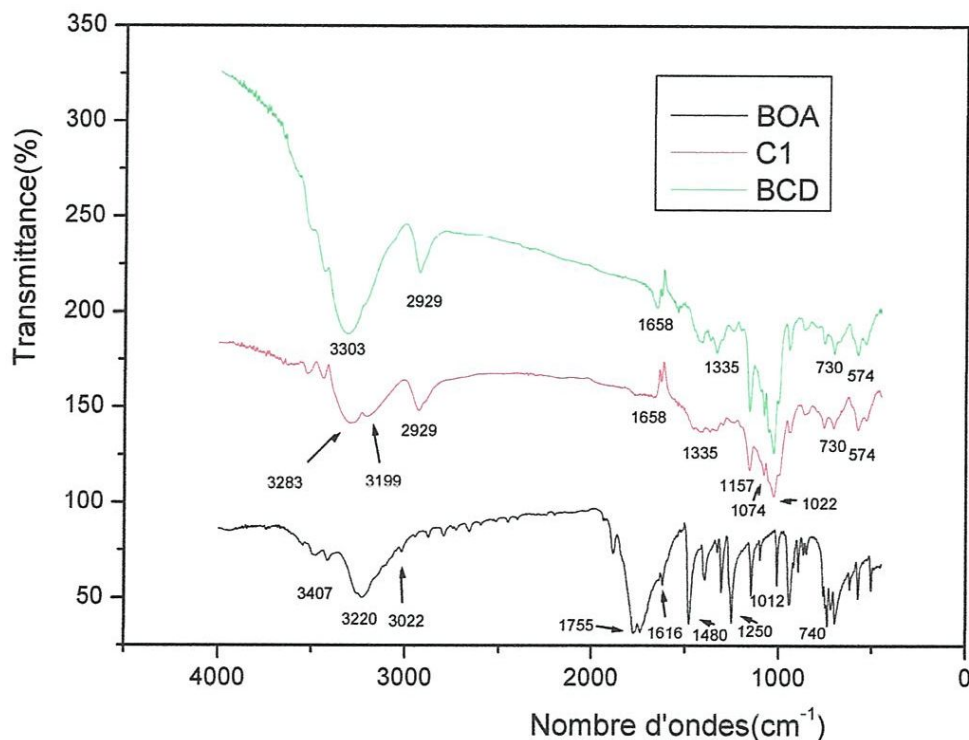
### A.1.1) Caractérisation par spectrométrie (IR)

Les spectres (IR) des complexes  $C_1$  et  $C_2$  et leurs précurseurs sont présentés sur les (figures.7 et 8). Ils présentent tous deux une série de bandes exprimées en transmittance (%). Les complexes d'inclusion  $C_1$  et  $C_2$  conservent toujours certaines absorptions caractéristiques de leurs précurseurs: Une bande intense vers 1157 attribuée au vibration du groupement C-O oxazolinonique, et une autre vers 1658  $\text{cm}^{-1}$  et 1626  $\text{cm}^{-1}$  assignées au C=C aromatiques, une bande caractéristique aux vibrations C- C $_{\beta\text{-CD}}$  vers 1074  $\text{cm}^{-1}$ .

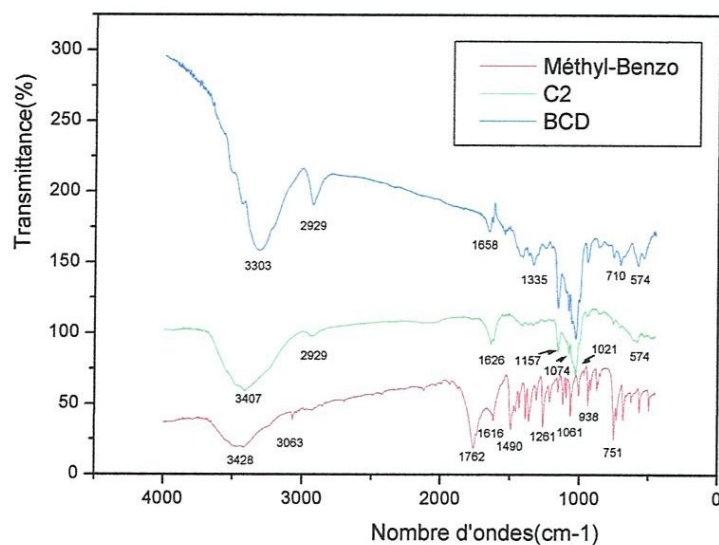
De nouvelles bandes apparaissent: Une bande large vers 3383  $\text{cm}^{-1}$ , dans le complexe  $C_1$  et une bande vers 3407  $\text{cm}^{-1}$  dans le complexe  $C_2$  attribuées aux groupements OH $_{\beta\text{-CD}}$ .

Les bandes d'élongation caractéristiques du groupement CH $_2$  se situent à 2929 $\text{cm}^{-1}$ .

On constate également la disparition de certaines bandes caractéristiques comme la bande d'élongations du groupement C-H aromatique et la bande très intense des élongations du groupement C=O oxazolidinonique qui est totalement masqué; ce qui est une preuve pour la formation de ces complexes d'inclusion.

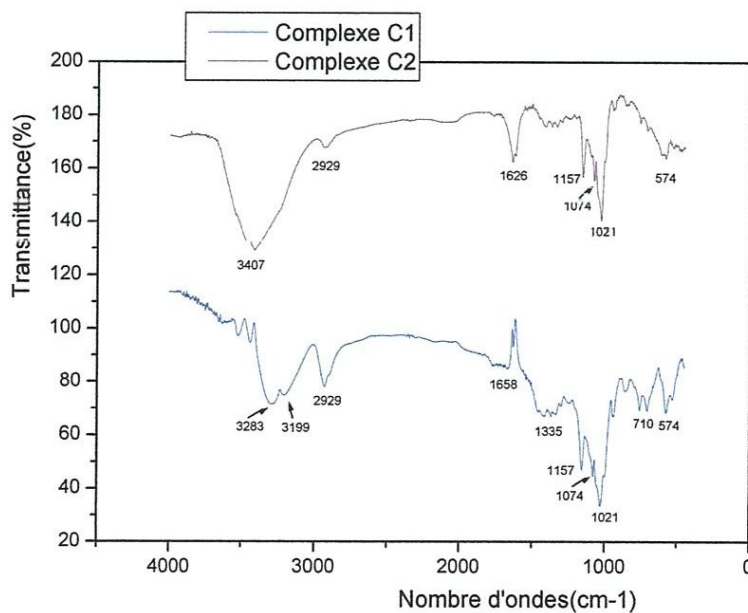


**Figure.7 :** Spectres(IR) de la  $\beta$ -CD(en vert) de la BOA (en noir) et leur complexe d'inclusion  $C_1$ (en rouge).



**Figure.8** : Spectres(IR) de la  $\beta$ -CD(en bleu), Méthyl-Benzo (en rouge) et leur complexe d'inclusion  $C_2$ (en vert).

Et Pour faire une comparaison entre les spectres des deux complexes  $C_1$  et  $C_2$  nous les avons superposés dans (la figure.9), qui montre une nette ressemblance entre ces deux spectres.



**Figure.9**: Comparaison des absorptions en (IR) des complexes  $C_1$  et  $C_2$  par superposition de leurs spectres.

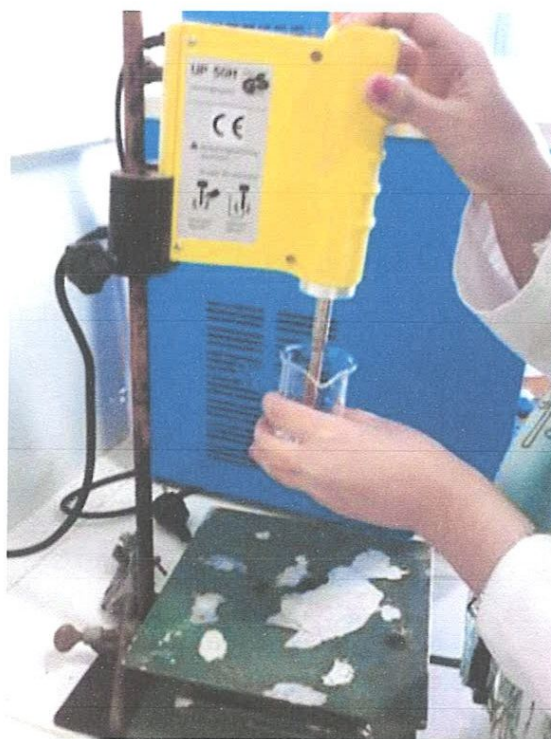
### B) Etude des complexes en solution

Comme dans l'étude à l'état solide, les complexes correspondants à la (BOA) et son dérivé (Méthyl-Benzo) avec la  $\beta$ -CD sont désignés respectivement par  $C_1$  et  $C_2$ .

Cette étude comprend la mise en évidence de la formation des complexes d'inclusion  $C_1$  et  $C_2$  et la détermination de leurs stœchiométries ainsi que leurs constantes de stabilité.

La complexation en solution a été suivie par spectroscopie UV-Visible à température ambiante dans l'eau.

A l'aide d'une sonde ultrason (sonificateur) de fréquence bien modulée, des quantités équivalentes de  $\beta$ -CD et des molécules invités BOA ou son dérivé N-méthylé sont agitées à température ambiante pendant un laps de temps jusqu'à atteindre un équilibre dynamique entre la forme libre et la forme complexée de chacune des molécules invités [4].



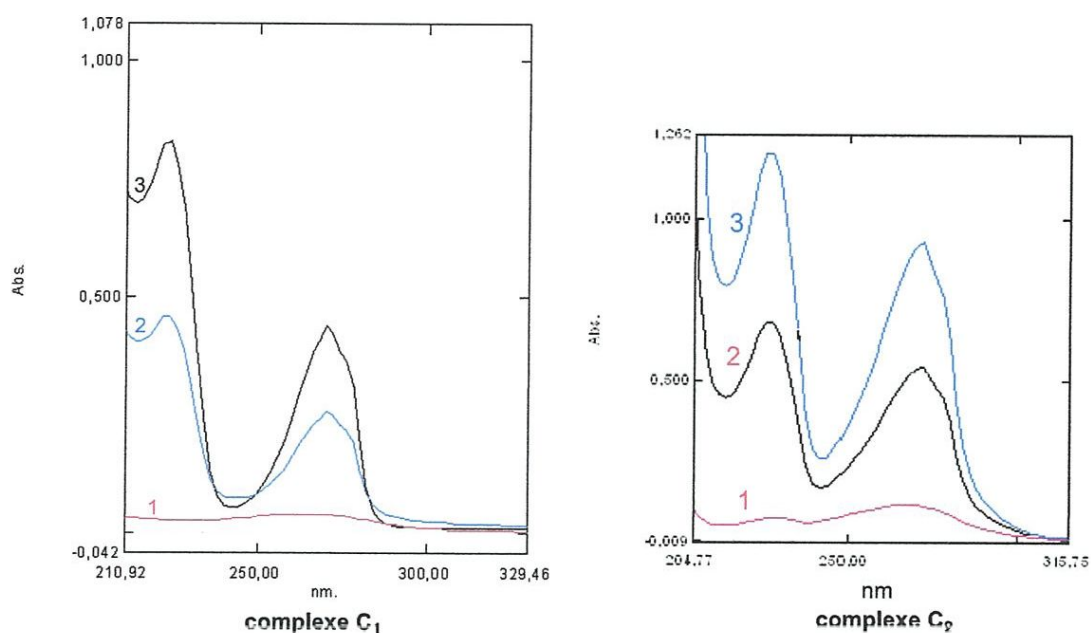
**Figure.10** : Processus de formation des complexes d'inclusion  $C_1$  et  $C_2$  sous ultrasons.

### B.1) Mise en évidence de la formation en solution des complexes d'inclusion $C_1$ et $C_2$

Suite à l'inclusion de molécules invitées dans la cavité de la  $\beta$ -CD, leurs spectres UV-Visible se retrouvent perturbés.

Le principe utilisé pour mettre en évidence la formation des complexes, consiste donc à comparer les spectres d'absorption de la  $\beta$ -CD, BOA et du Méthyl-Benzo avec les spectres de leurs complexes correspondants dans les mêmes conditions et suivre les changements spectraux subis suite au phénomène d'inclusion.

Nous illustrons sur la figure 11 les spectres enregistrés par spectroscopie UV-Visible dans l'eau à température ambiante des solutions équimolaires  $1.00 \times 10^{-4}$  M de la  $\beta$ -CD, du BOA, du Méthyl-Benzo et de leurs complexes  $C_1$  et  $C_2$  respectivement .



**Figure.11:** Mise en évidence de la formation des complexes d'inclusion  $C_1$  et  $C_2$  dans l'eau à  $10^{-4}$  M. 1-  $\beta$ -CD libre, 2- Complexes  $C_1$  ou  $C_2$  et 3- BOA ou Méthyl-Benzo.

Le tableau.3 ci-après résume les absorptions caractéristiques des molécules BOA et Méthyl-Benzo ainsi que leurs complexes  $C_1$  et  $C_2$ .

**Tableau.3** : Résultats d'analyse par spectrométrie UV des complexes C<sub>1</sub> et C<sub>2</sub> dans l'eau à 10<sup>-4</sup>M.

BOA		C1		Méthyl-Benzo		C2	
λ (nm)	Abs	λ (nm)	Abs	λ (nm)	Abs	λ (nm)	Abs
224	0,828	224	0,458	226	1,203	226	0,675
270	0,440	270	0,258	272	0,927	272	0,543

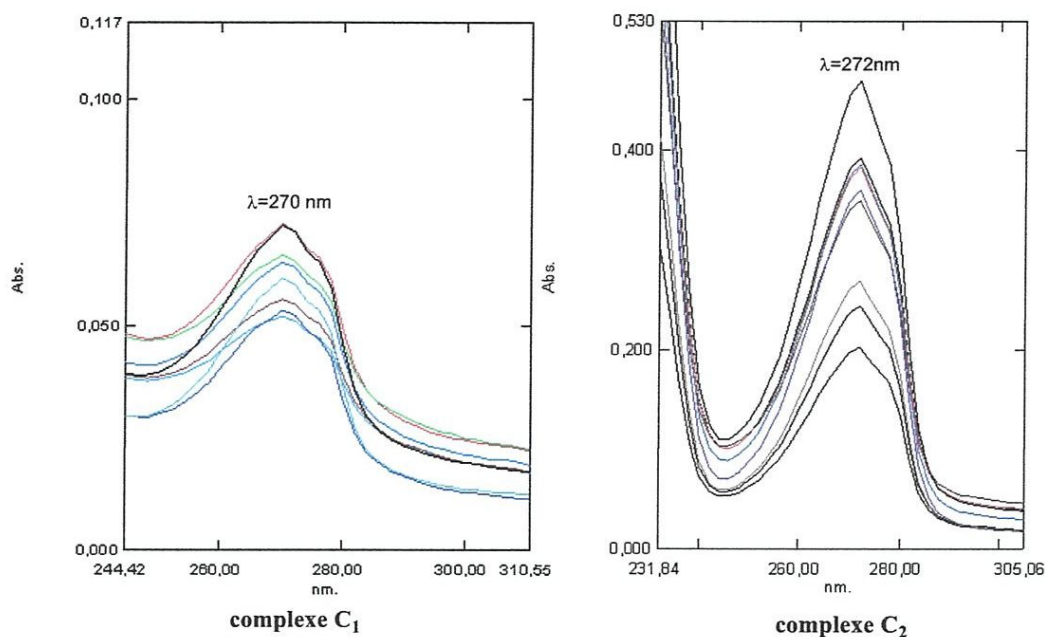
Le processus d'inclusion des molécules BOA et Méthyl-Benzo dans la  $\beta$ -cyclodextrine est démontrée sans ambiguïté par la comparaison de leurs spectres d'absorption à l'état libre avec ceux de leurs mélanges.

Tout d'abord la  $\beta$ -CD présente une bande large située à  $\lambda=264$  nm avec une faible absorption (Abs= 0,041), en revanche, on constate que les molécules invitées (BOA et Méthyl-Benzo) libres et complexées (C<sub>1</sub> et C<sub>2</sub>) donnent chacune deux bandes d'absorption intenses et discernables dues aux transitions  $\pi-\pi^*$  et  $n-\pi^*$  et que les nouvelles bandes dans les deux complexes montrent une diminution significative de leurs absorbances et qu'un effet hypochrome est observé indiquant la formation de nouvelles espèces.

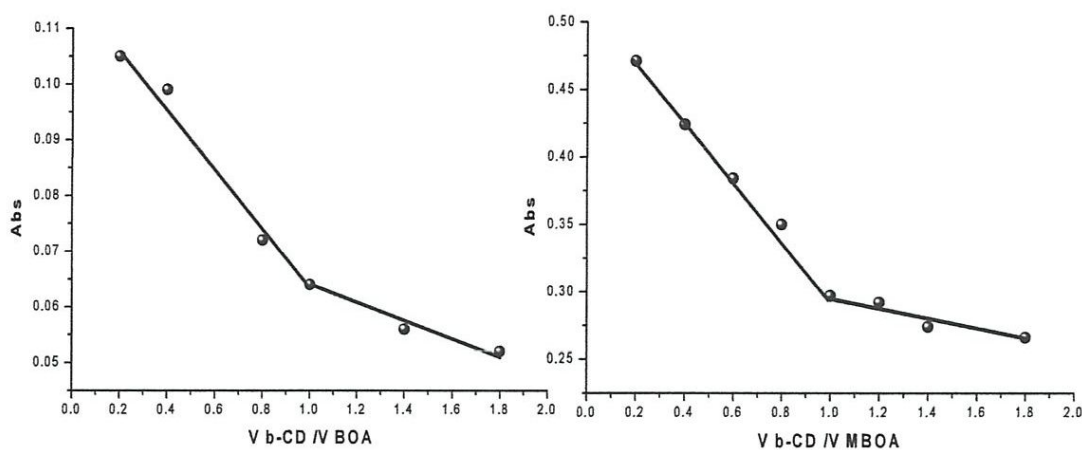
Ces résultats fournissent une preuve directe de la formation des complexes d'inclusion BOA - $\beta$ -CD (C<sub>1</sub>) et Méthyl-Benzo- $\beta$ -CD (C<sub>2</sub>) dans l'eau.

### III.3) Détermination de la stœchiométrie

Pour déterminer la stœchiométrie des complexes C<sub>1</sub> et C<sub>2</sub>, on a recours à la méthode, des rapports molaires (MRM) [5]. Avec cette méthode, on a suivi à température ambiante l'évolution de l'absorbance maximale à  $\lambda = 270$  nm et  $\lambda = 272$  nm des solutions de la  $\beta$ -CD et celles de BOA ou de la  $\beta$ -CD et celles de Méthyl-Benzo successivement, en fonction de leurs rapports molaires (figure .12 et 13).



**Figure.12** : Evolution des spectres d'absorption en fonction des rapports molaires pour les deux complexes  $C_1$  et  $C_2$ .



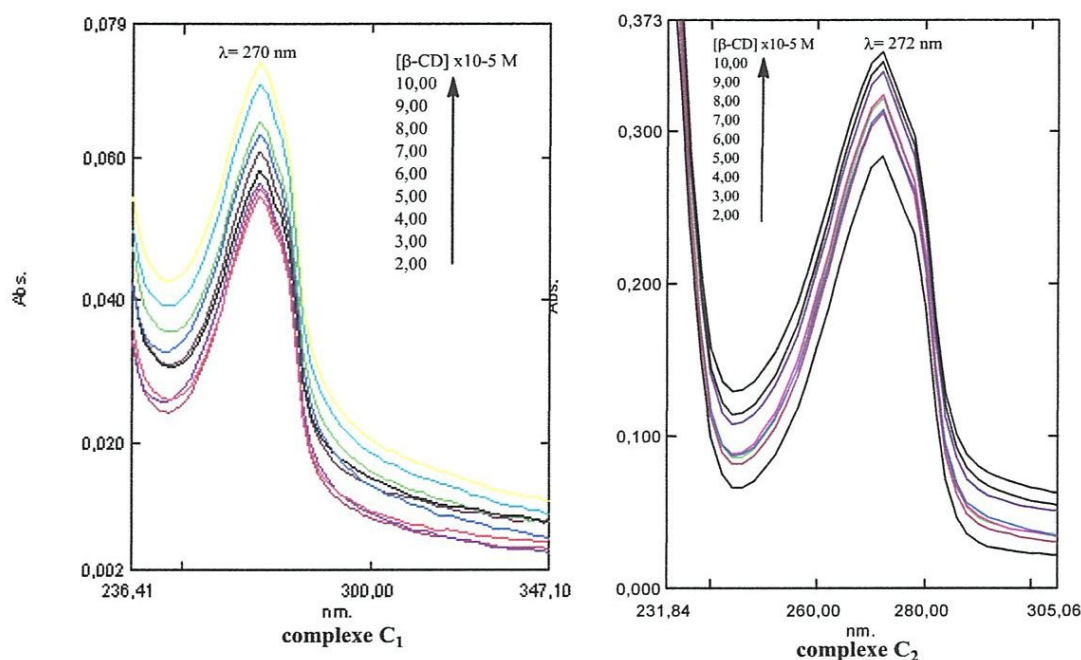
**Figure.13**: Détermination de la stœchiométrie des complexes  $C_1$  et  $C_2$  par la méthode des rapports molaires.

Les résultats expérimentaux obtenus montrent, comme indiqué sur la figure 13, que les courbes  $Abs = f(V_{\beta\text{-CD}}/V_{\text{BOA}})$  et  $Abs = f(V_{\beta\text{-CD}}/V_{\text{Méthyl-Benzo}})$  présentent une rupture de pente à l'abscisse  $V_{\beta\text{-CD}}/V_{\text{BOA}} = 1$  et  $V_{\beta\text{-CD}}/V_{\text{Méthyl-Benzo}} = 1$ , ce qui signifie que les complexes d'inclusion formés  $C_1$  et  $C_2$  ont une stœchiométrie 1:1 [6].



### III.4) Détermination de la constante de stabilité

La détermination des constantes de stabilité des complexes  $C_1$  et  $C_2$  repose sur la méthode de Benesi-Hildebrand [7], qui consiste à faire varier la concentration de la  $\beta$ -CD tout en fixant celle de BOA et Méthyl-Benzo. La concentration des BOA et Méthyl-Benzo est fixée à  $1.00 \times 10^{-5}$  M et on fait varier celle de la  $\beta$ -CD entre  $2.00 \times 10^{-5}$  et  $1.00 \times 10^{-4}$  M (figure.14).



**Figure.14 :** Spectres d'absorption des BOA et Méthyl-Benzo ( $1.00 \times 10^{-5}$  M) dans l'eau contenant différentes concentrations de  $\beta$ -CD ( $2.00 \times 10^{-5}$  et  $1.00 \times 10^{-4}$  M) à température ambiante.

La figure 14 ci-dessus montre que l'absorbance du BOA et Méthyl-Benzo dans l'eau croît sensiblement quand la  $\beta$ -CD est ajoutée avec des concentrations croissantes, confirmant ainsi l'interaction du BOA et de Méthyl-Benzo avec la cavité hydrophobe de la  $\beta$ -CD en formant les complexes  $C_1$  et  $C_2$ .

Pour évaluer les constantes de stabilité de ces complexes, on exprime le rapport de la concentration des BOA et Méthyl-Benzo et leurs absorbances maximales en fonction de l'inverse de la concentration de la  $\beta$ -CD.

Pour une stœchiométrie de 1:1, la constante de stabilité de ces complexes, désigné par  $K_s$  est donnée par l'équation de Benesi-Hildbrand suivante [8] :

$$\frac{[C]}{Abs} = \frac{1}{K_s \epsilon} \times \frac{1}{[\beta-CD]} + \frac{1}{\epsilon} \dots\dots\dots(1)$$

Où C= BOA ou Méthyl-Benzo

Après lissage de la courbe de Benessi et Hildbrand: [C]/Abs =f(1/[βCD]).

Les résultats expérimentaux obtenus sont linéarisés sous la forme Y = a X + b

Tel que :

a : est la pente de la droite et égale a 1/Ks ε

b : est obtenu par extrapolation à l'origine et égal à ]'inverse du coefficient d'extinction molaire 1/ ε.

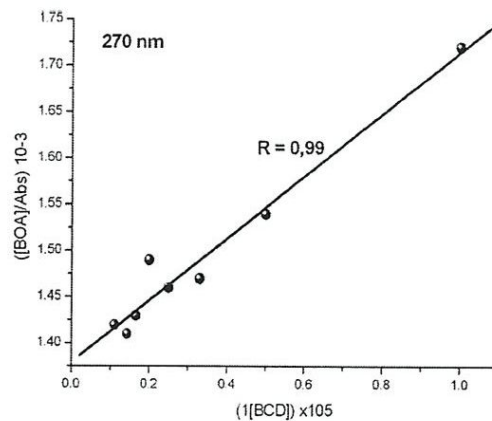
Dans le cas d'une stœchiométrie 2:1, l'équation de Benessi-Hildbrand suivante sera applicable [9]:

$$\frac{[C]}{Abs} = \frac{1}{K_s \epsilon} \times \frac{1}{[\beta-CD]^2} + \frac{1}{\epsilon} \dots\dots\dots(2)$$

Si le tracé de [C]/Abs = f(1/[β-CD]<sup>2</sup>) est une dépendance linéaire, la stœchiométrie est de 2:1 et Si le tracé de [C]/Abs = f(1/[β-CD]) est une dépendance non linéaire, ceci indique que la stœchiométrie du complexe d'inclusion ne peut en aucun cas être de type 2:1[10].

**III.4.1) Détermination de la constante de stabilité du Complexe C1**

La solution graphique de la première équation de Benessi-Hildebrand (équation 1) donnée ci-dessus pour une stœchiométrie de 1:1 est montrée sur la figure.15.



**Figure 15.** La courbe [BOA] / Abs = f(1/[β-CD]) de la méthode de Benessi-Hildbrand pour la complexation de stœchiométrie 1:1 à 270 nm.

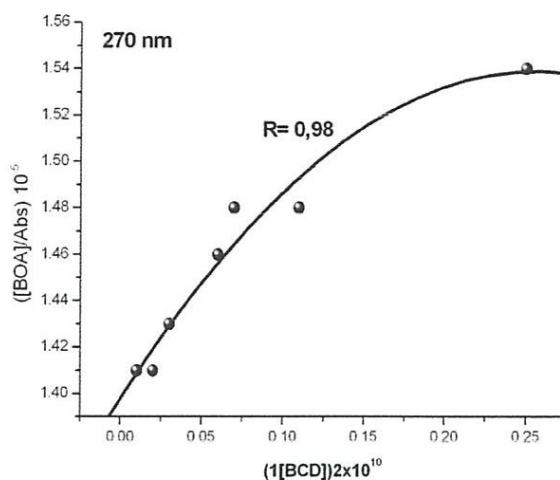
Le lissage de la courbe expérimentale obtenu dans ce cas a été effectué sur ordinateur, et a conduit à une droite à partir de laquelle on a pu obtenir:

$\epsilon = 725,063$  le coefficient de extinction

$K_s = 410000 \text{ (mol/L)}^{-1}$  constante de stabilité

Une valeur assez élevée de cette constante confirme une stabilité importante du complexe C1.

Dans le cas d'une stœchiométrie de 2:1 la deuxième équation de Benessi-Hildebrand donnée ci-dessus (équation 2) est applicable et le tracé de  $[\text{BOA}]/\text{Abs} = f(1/[\beta\text{-CD}]^2)$  montre une dépendance (courbe) non linéaire (fig.16), par conséquent la possibilité de formation d'un complexe d'inclusion de stœchiométrie 2:1 entre BOA et la  $\beta\text{-CD}$  est écartée.



**Figure 16.** La courbe  $[\text{BOA}] / \text{Abs} = f(1 / [\text{CD}])$  de la méthode de Benessi et Hildebrand pour la complexation 2:1 à 272 nm

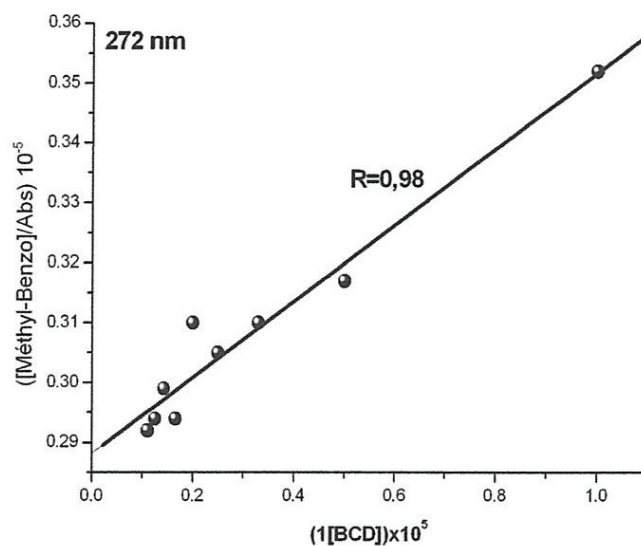
### III.4.2) Détermination de la constante de stabilité du Complexe C2

La même méthodologie et le même raisonnement utilisés pour déterminer la constante de stabilité de  $C_1$  sont suivis pour évaluer celle de  $C_2$ .

En effet, le tracé du graphique  $[\text{Méthyl-Benzo}]/\text{Abs} = f(1/[\text{CD}])$  pour une stœchiométrie 1:1, est montrée dans la figure 17. C'est une droite qui donne :

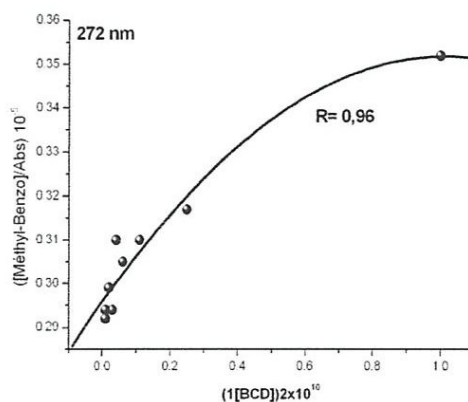
$\epsilon = 347029,428 (3.47 \times 10^5)$

$K_s = 453295,527 (4,54 \times 10^5) \text{ (mol/L)}^{-1}$  pour le complexe Méthyl-Benzo- $\beta\text{-CD}$ .



**Figure.17:** La courbe [Méthyl-Benzo] / Abs = f (1 / [β-CD]) de la methode de Benessi et Hildbrand pour la complexation 1:1 à 272 nm.

et afin de lever l'ambiguïté sur la présence d'une éventuelle stœchiométrie 2:1, Le graphe [Méthyl-Benzo]/Abs = f (1 / [β-CD]<sup>2</sup>) a été tracé. L'allure de cette courbe illustrée sur la figure 18 présente une courbure vers le haut (variation non linéaire), par conséquent la possibilité de formation d'un complexe d'inclusion 2:1 entre le Méthyl-Benzo et la B-CD est à exclure.



**Figure.18:** La courbe [Méthyl-Benzo] / Abs = f (1 / [CD]<sup>2</sup>) de la méthode Benessi-Hildbrand pour la complexation 2:1 à 272 nm.

Les résultats des constantes de stabilité des complexes  $C_1$  et  $C_2$  sont récapitulés dans le tableau 4 suivant :

**Tableau. 4 :** Résultat de détermination de la constant de stabilité.

Complexes	$C_1$	$C_2$
Solvent	H <sub>2</sub> O	H <sub>2</sub> O
$\lambda_{\max}$ (nm)	272	270
Stoechiométrie	1:1	1:1
Constanté de stabilitée $K_s$ ( (mol/L) <sup>-1</sup> )	453295,527	410000

Les valeurs des constantes de stabilité regroupées dans le tableau 4, permettent de remarquer que le complexe  $C_2$  est plus stable que le complexe  $C_1$ , ce résultat est attendu. Car, l'introduction du groupement méthyle au sein de la molécule invitée BOA augmente son hydrophobicité, conduisant à un complexe plus stable avec la  $\beta$ -CD.

En conséquence, les résultats trouvés montrent que les molécules BOA, Méthyl-Benzo et la  $\beta$ -CD forment des complexes d'inclusion de stœchiométrie 1:1, avec des valeurs de constantes de stabilités élevées ce qui confère à ces complexes une forte stabilité.

### III.5) Conclusion

Au cours de ce travail, nous avons en premier temps synthétisé et caractérisé la N-méthyl-Benzoxazolinone : Une molécule possédant un grand intérêt pharmaceutique.

Dans un deuxième temps, nous avons étudié l'interaction de la Benzoxazolinone et son dérivéN- méthylé avec la  $\beta$ -cyclodextrine connue comme vecteur biologique.

L'étude expérimentale aux moyens des techniques spectrométriques usuelles(IR et UV-vis) des complexes d'inclusion de ces molécules en état solide et en solution dans l'eau a permis de mettre en évidence leur formation.

Par conséquent, les variations illustrées sur les figures (15 ,17) montre une bonne linéarité avec des facteurs de corrélation  $R = 0,99$  (BOA-BCD) et  $R= 0,98$  (Méthyl-Benzo - BCD). Ceci confirme la formation de complexes d'inclusion entre les molécules invitées (BOA et Méthyl-Benzo) et la  $\beta$ -CD et ce avec une stœchiométrie de 1:1.et des constantes de stabilité élevées.

# Chapitre (IV)

## Protocoles expérimentaux

## Protocoles expérimentaux

### IV.1) Remarques générales

- Les rendements expérimentaux sont exprimés en pourcentage des produits purs isolés par rapport à la quantité de matières premières mise en œuvre.
- Les points de fusion ont été déterminés à l'aide d'un appareil à point de fusion sur capillaire (appareil electrothermal (IA9000)).
- L'avancement des réactions a été suivi par chromatographie sur couche mince à l'aide de plaques en aluminium enduites de silice (Merck 60 F254, épaisseur de la couche 0,25 mm).Après élution, les tâches sont visualisées sous lumière U.V ( $\lambda = 254-366$  nm),solvant de migration acétate d'éthyle/ Cyclohexaneet , ammoniacque /isopropanol.
- Les spectres d'infrarouge ont été enregistrés au Laboratoire du génie des matériaux au centre de recherche de l'université de Guelma, à l'aide d'un spectrophotomètre Perkin-Elmer Spectrum one FT-IR Spectrometer, en pastilles de bromure de potassium. Les différentes absorptions ( $\nu$ ) sont indiquées en  $\text{cm}^{-1}$ .

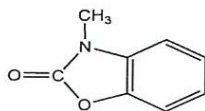
### IV.2) Pastillage dans le KBr

Il consiste à incorporer le produit solide à étudier à du KBr anhydre. Tout d'abord, il faut procéder à son séchage pendant 24H ainsi qu'au nettoyage au chloroforme et au séchage de tout le matériel à utiliser. Puis on pulvérise finement par broyage dans un mortier d'agate le mélange de substance à analyser avec le KBr anhydre avec le rapport substance/KBr variant entre 3 et 10%. La poudre est ensuite placée dans une matrice d'acier inoxydable et soumise à une très forte pression (10 tonnes) à l'aide d'une presse hydraulique. Avant et pendant l'application de la pression, on évacue l'air en reliant la matrice à une pompe à vide.

-Les spectres UV-Visible ont été enregistrés au Laboratoire (LCA) à l'aide d'un spectromètre UV-visible Shimadzu interfacé à un microordinateur.

Les longueurs d'onde ( $\lambda$ ) sont indiquées en nm.

## IV.3) Synthèse de la méthyl-3-Benzoxazolinone

**Réactifs**

Sodium	0.35 g (0.02 mol)
Ethanol	50 ml
Benzoxazolinone	2g (0.02 mol)
Iodure de méthyle	6.8ml

**Mode opératoire**

Dans un ballon rodé de 250 ml contenant 0.35 g de sodium sont dissouts dans 50.0 ml d'éthanol absolu et 2 g de Benzoxazolinone, puis goutte à goutte et sous agitation à température ambiante, on ajoute 6.8 ml de CH<sub>3</sub>I (iodure de méthyle), après 12 heures, le solvant est chassé par le rotavapeur, ensuite on ajoute (30 à 40 ml) d'eau et on porte le mélange sous agitation pendant 1 heure, le précipité obtenu est essoré, lavé ensuite recristallisé dans l'éthanol-eau (80 /10).

Solvant de recristallisation : éthanol/eau (80 /10)

Poids moléculaire	M=149.15 g/mol pour C <sub>8</sub> H <sub>7</sub> NO <sub>2</sub>
Rendement	95 %
$n_D^{20}$ 0.83	(Acétate d'éthyle /cyclohexane)
Point de fusion	88°C

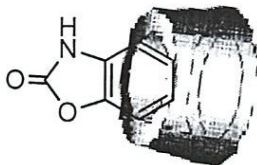
**Spectrométrie dans l'infrarouge**

1261 Cm <sup>-1</sup>	Vibration	N-CH <sub>3</sub>
2932 Cm <sup>-1</sup>	Vibration	(C-H) du CH <sub>3</sub>
1762 Cm <sup>-1</sup>	Vibration	C=O (oxazol)
1616 Cm <sup>-1</sup>	Vibration	C=C <sub>Arom</sub>
1490 Cm <sup>-1</sup>	Vibration	(C-O-)(oxazol)
751 Cm <sup>-1</sup>	Déformation	CH <sub>2</sub>



#### IV.4) Préparation des complexes d'inclusion à l'état solide

##### IV.4.1) Préparation du complexe Benzoxazolinone- $\beta$ CD (C<sub>1</sub>)



complexe d'inclusion Benzoxazolinone - $\beta$ CD

#### Mode opératoire

1g (0,00088mol) de  $\beta$ -CD(1 $\text{éq}$ ) sont dissouts dans 10ml d'éthanol absolu, ensuite 0,1188g (0,00088mol) de Benzoxazolinone(1 $\text{éq}$ ) dissouts dans 10ml du même solvant(éthanol) sont ajoutés goutte à goutte, le mélange réactionnel obtenu est laissé sous agitation magnétique et à température ambiante. Après 24 heures d'agitation on obtient un précipité, qu'on récupère par filtration suivi par lavage avec une petite quantité d'éthanol et d'eau, enfin le précipité est recristallisé dans un mélange (eau /éthano :20/80), après séchage sous vide un solide blanc est recueilli.

Solvant de recristallisation :( éthanol/eau :(80 /10)

Poids moléculaire M= 1270 g/mol

Rendement 95 %

Rf = 0.75 (ammoniaque /isopropanol (20/80)

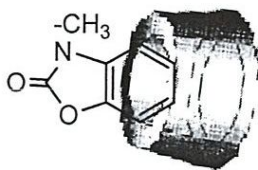
Point de fusion 278°C

#### Spectrométrie dans l'infrarouge

3383 $\text{Cm}^{-1}$	Vibration	OH
3199 $\text{Cm}^{-1}$	Vibration	(C-H ) B-CD
2929 $\text{Cm}^{-1}$	Vibration	CH <sub>2</sub>
1658 $\text{Cm}^{-1}$	Vibration	C=Carom
1157 $\text{Cm}^{-1}$	Vibration	(C-O-)(oxazol)
1074 $\text{Cm}^{-1}$	Vibration	C- C <sub>BCD</sub>
1022 $\text{Cm}^{-1}$	Vibration	C- O-C <sub>BCD</sub>

#### Spectrométrie dans l'UV-Vis

-Dans H<sub>2</sub>O à 10<sup>-4</sup>M :  $\lambda_{\text{max}}$ = 270 nm Abs= 0.258

IV.4.2) Préparation du complexe  $\beta$ CD-N- methyl-Benzoxazolinone (C<sub>2</sub>)

complexe d'inclusion Benzoxazolinone -BCD

**Mode opératoire**

1.6834g ( $1.4832 \times 10^{-3}$  mol) de  $\beta$ CD (1 $\text{éq}$ ) sont dissouts dans 10ml d'éthanol absolu, ensuite 0,221g ( $1.4832 \times 10^{-3}$  mol) de N-méthyl-Benzoxazolinone(1 $\text{éq}$ ) dissout dans 10 ml du même solvant(éthanol) sont ajoutés goutte à goutte, le mélange réactionnel obtenu est laissé sous agitation magnétique et à température ambiante.

Après 24 heures d'agitation on obtient un précipité, qu'on récupère par filtration suivi par lavage avec une petite quantité d'éthanol et d'eau, enfin le précipité est recristallisé dans un mélange (eau /éthanol:(20/80), après séchage sous vide un solide blanc jaunâtre est recueilli.

Solvant de recristallisation : (éthanol/eau (80 :10)

Poids moléculaire M=1284 g/mol

Rendement 95 %

Rf = 0.2 (ammoniaque /isopropanol: (20/80)

Point de fusion 280°C

**Spectrométrie dans l'infrarouge**

3407 $\text{Cm}^{-1}$	Vibration	OH
2929 $\text{Cm}^{-1}$	Vibration	CH <sub>2</sub>
1626 $\text{Cm}^{-1}$	Vibration	C=Carom
1157 $\text{Cm}^{-1}$	Vibration	(C-O-)oxazol
1074 $\text{Cm}^{-1}$	Vibration	C- C <sub>BCD</sub>
1021 $\text{Cm}^{-1}$	Vibration	C- O-C <sub>BCD</sub>

**Spectrométrie dans l'UV-Vis**

Dans H<sub>2</sub>O à  $10^{-4}$ M :  $\lambda_{\text{max}} = 272 \text{ nm}$   $\Delta b_{\text{E}} = 0.543$

## IV.5) Préparation des complexes d'inclusion en solution

### Mode opératoire général

Le processus expérimental de préparation des complexes d'inclusion en solution consiste tout d'abord à préparer des solutions équimolaires de la Benzoxazolinone ou son dérivé N-méthylé et la  $\beta$ -Cyclodextrine dans l'eau. Ensuite des quantités égales de benzoxazolinone ou son dérivé N-méthylé sont mélangés avec la  $\beta$ -Cyclodextrine et homogénéisés sous ultrasons pendant un laps de temps jusqu'à atteindre un équilibre thermodynamique entre les précurseurs et les complexes formés. Juste après, une cuve en quartz contenant successivement le solvant puis les échantillons en solution obtenues est exposée à la radiation ultra-violette. Les spectres sont alors automatiquement enregistrés.

### IV.5.1) Caractérisation par spectrométrie UV-visible des complexes obtenus en solution

#### IV.5.1.1) Complexe d'inclusion BOA- BCD(C<sub>1</sub>)

-Dans H<sub>2</sub>O à 10<sup>-4</sup>M :  $\lambda_{\max}$ = 270 nm      Abs= 0.258

Stoechiométrie : 1 :1

#### IV.5.1.2) Complexe d'inclusion Méthyl-Benzo-BCD(C<sub>2</sub>)

- Dans H<sub>2</sub>O à 10<sup>-4</sup>M :  $\lambda_{\max}$ = 272 nm      Abs= 0.543

Stoechiométrie : 1 :1

# Conclusion générale

## Conclusion générale

Les composés hétérocycliques naturels contenant l'azote et l'oxygène ont reçu une attention considérable en raison de leur large spectre d'activités biologiques.

La Benzoxazolinone (BOA) et ses produits de transformation constituent des briques de départ privilégiées pour la synthèse de produits pharmaceutiques, de pesticides et d'herbicides. En effet, les modifications structurales de la structure de base de la Benzoxazolinone, ont permis l'apparition de nouveaux dérivés présentant un large spectre d'activités biologiques.

Le travail que nous avons réalisé entre dans un thème général orienté essentiellement au domaine de la pharmacochimie de la Benzoxazolinone et ses produits de transformation.

Dans un premier temps, nous avons procédé à la synthèse et caractérisation de la N-méthyl benzoxazolinone (Méthyl Benzo).

Dans un deuxième temps, et en vue d'améliorer leurs propriétés physicochimiques et pharmacologiques ; Le BOA et son dérivé Méthyl-Benzo ont été complexés avec la  $\beta$ -CD dans l'eau.

Et en utilisant les méthodes spectrales IR et UV-visible, nous avons pu mettre en évidence la formation de ces complexes d'inclusion à l'état solide et en solution.

L'étude de la complexation en solution aqueuse a été suivie par spectroscopie UV-Visible, avec laquelle nous avons pu établir la stœchiométrie des complexes obtenus et trouver leurs constantes de stabilité au moyen de la méthode des rapports molaires (MRM) et la méthode de Benesi-Hildebrand respectivement.

Les résultats obtenus montrent que le complexe d'inclusion Méthyl-Benzo- $\beta$ -CD est plus stable que celui de BOA- $\beta$ -CD.

# Bibliographie

## Références Bibliographiques

### Chapitre (I)

- [1] S.S, Narwal, Potentials and prospects of allelopathy mediated weed control for sustainable agriculture (1996).
- [2] D, Sicker., M, Frey., M ,Schulz., A, Gierl., (2000).
- [3] H, Niemeyer., E, Pesel., S, Copaja., H, Bravo., S ,Franke., W , Francke., (1990).
- [4] S, Martyniuk., A ,Stochmal., F.A, Macias., D? Marín., W, &Oleszek, (2006).
- [5] A, Baumeler.,M, Hesse., C, & Werner (2000).
- [6] V, Cambier.,T, Hance., E ,& de Hoffmann (1999).
- [7] D, Sicker., M, Frey., M,Schulz.,A, &Gierl (2000).
- [8] H. Aichaoui, JH. Poupaert, D. Lesieur, JP. HeÂnichart (1992).
- [9] JP. Bonte, D. Lesieur, C. Lespagnol, M. Plat, JC. Cazin, M. Cazin Eur J Med Chem 9: 491(1974).
- [10] J –P. Bonte, benzoxazolinoncsacylées sur le noyau aromatique, thème de doctorat d'état en pharmacie – Lille- (1973)
- [11] J. Sam, J.L.Valentine, préparation and proprieties of 2- benzoxazolinones.J. Pharm ,sci , 58 (9), 1043(1969).
- [12] A. Marcinal-Le febre, Recherche dans la série des benzoxazolinones, theme de doctorat d'état en pharmacie-Lille-(1976).
- [13] M. STITI, Thèse de Magister en Pharmacochimie, Benzoxazolinones et produits de transformation, université d'Annaba, (1996).
- [14] N. Abdellatif. pharmacomodulation du modèle acyl -6- benzoxazolinones. Thèse université de lilllel(1988).
- [15]P.Renard, Etude chimique et pharmacologique d'acyl-6benzoxazolinones. J.med .chem, , 33.380-386(1990).
- [16] J. Sam, J.L.Valentine, préparationand proprieties of 2- benzoxazolinones.J. Pharm ,sci , 58 (9), 1043(1969).
- [17] U,Huseyin., V,Kim.,C, Silvia., Med. Chem., 41, , 1138-1145 (1998).
- [18] H,Ucar., K, Van derpoorten., S,Cacciaguerra., S,Spampinato., J.P,Stables., P,Depovere., S,Unlu., T,Onkol., Y,Dundar., B,Okc ,elik.,E, Kupeli., E,Yesilada.,N, Noyanalpan., M.F,Sahin., Arch. Pharm. Pharm. Med. Chem., 336, , 353–36 (2003).
- [19] J.Pharm.Soc.Japan, KOYAMA, YAMATO ET KUBOTA, 76,1002(1956) .
- [20] F.W.SWEAT, P.J.BERGER.Molecular and Cellular Endocrinology, 57, 131(1988).

- [21] CH. LESPAGNOL, A. MARCINCAL-LEFEBVRE *Chim. Ther* La benzoxazolinone et ses dérivés considérés sous l'angle de la chimie thérapeutique, (5), 395. (1967).
- [22] P. Renard, Etude chimique et pharmacologique d'acyl -6 benzoxazolinones. *J. med .chem*, 33.380-386(1990).

### Chapitre (II)

- [1] J. Szejtli, *Chem. Rev.*, 98 1743-1753(1998).
- [2] W. Saenger, J.L. Atwood, J.E.D. Davies, D.D. MC Nichol, Academic press, London, 2 131-259(1984).
- [3] W. Saenger, J. Jacob, K. Gessler, T. Steiner, D. Hoffmann, H. Sanbe, K. Koizumi, S. M. Smith, T. Takaha, *Chem. Rev.*, 98(5) 1787-1802(1998).
- [4] K. Harata., *Chem. Rev.*, 98(5) 1803-1828(1998).
- [5] J. S. Paginton; *Chem. Pharm. Bull.*, 35(11) 14609-4615(1987).
- [6] J. Szejtli, " Cyclodextrins and their inclusion complexes", *Academiai Kiado*, Budapest, Hungary, 100-109(1982) ,
- [7] V. Barillaro., Etude de l'inclusion du miconazole dans les cyclodextrines à l'aide du dioxyde de carbone supercritique : aspects galéniques et modélisation moléculaire, Thèse de Doctorat en Sciences Pharmaceutiques, Université de Liège(2006).
- [8] M. M. Meier, M. Luiz, P. Farmer, B. Szpoganicz, *J. Incl. Phenom.*, 40 291-295 (2001).
- [9] D. Kois, U.H. Brinker, *J. Am. Chem. Soc.*, 120(45) 4314-4319(1998).
- [10] B. Seal., A Mukherjee., D. Mukherjee., *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 52 (7), 2088-2090 (1979)
- [11] R. Scott., *Chim.* 75, 787-789(1956) .
- [12] V. C. Vogsburgh., G. R. Cooper., *J. Am. Chem. Soc.* 63, 437(1941).
- [13] G. Lohaus., *Chem. Ber.* 100, 2719(1997).
- [14] C. R. Dass., W. Jessup., *J. Incl. Phen. & Mol. Rec. Chem.* 24 (3), 193-210(1996).
- [15] K. A. Connors., *Chem. Rev.* 12, 54-56(1987) .
- [16] J. S. Coleman., L. P. Varga., S. H. Mastin., *Inorg. Chem.* 9, 1015-1020(1970).
- [17] K. C. Ingham., *Anal. Biochem.* 68, 660 -663(1975) .
- [18] P. Job., *Annal. Chim.* 113-203(1927).
- [19] A. C. Kinsman., M. A. Kerr., *J. Am. Chem. Soc.* 125, 46: 214120-14125(2003).
- [20] A. S. Meyer., G. H. Ayres., *J. Am. Chem. Soc.* 79, 49-53(1957).
- [21] L. Szente, L., *Comprehensive Supramolecular Chemistry*, Atwood J.L., Davies J.E.D., MacNicol D.D., Vögtle F., Lehn J.-M., Eds., vol. 3. 253-278(1996).
- [22] J. Szejtli., *Pure Appl. Chem.* 76, 1825-1845(2004).



- [23] H.-J.Schneider., F. Hacket., V. Rüdiger., H.Ikeda., Chem. Rev., 98 (5), 1755-1786(1998).
- [24] C. El fakir, M. Dreux, J. Chromatogr. A., 727 71-82(1996).
- [25] G. Crini, M. Morcell, N. Morin, L'actualité chimique, 247 18-25(2001).

**Chapitre (III)**

- [1] J –P. Bonte, benzoxazolinonesacylées sur le noyau aromatique, thème de doctorat d'état en pharmacie – Lille- (1973).
- [2] F.Djedaini-Pilard, B.Perly, S.Dupas, M.Miocque, H.Galons, Tetrahedron, , 34, 1145(1993).
- [3] A.Douhal, Chemical, physical and biological aspects of confined systems, Cyclodextrine Materials , Phtochemistry Photophysics and photobiology, Elsevier, 1, 15(2006).
- [4] M.V.Rekharsky, Y.Inoue, Cyclodextrins and their complexes. Chemistry analyticalmethods and applications, , pp.199(2006)
- [5] A. C. Kinsman., M. A. Kerr., J. Am. Chem. Soc. 125, 46: 214120-14125(2003).
- [6] W.An , H.Zhang , L.Sun, A.Hao, J.Hao, F.Xin, Carbohydrate Research, 345, 914(2010).
- [7] H.A.Benesi, J.H.Hildebrand, J.Am.Chem. Soc, 71, 2703 (1949).
- [8] L.Fielding, S.C.McKellar, A.J. Florence, Magn.Reson.Chem, 49, 405(2011) .
- [9] M.Cagno, P.Stein, N.Basnet, M.Brandl, A.Bauer-Brandl, J.Pharm.Biomedical.Analysis, 55, 446(2011).
- [10] K.A.Connors, Binding Constants, Wiley: New York, p.123(1987).