

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE 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'études
Master II



Spécialité : Chimie Physique et Analytique

Présenté par :

**BOUTEKRI Hadjer
SEBBAK Sara**

**PREPARATION, CARACTERISATION ET ETUDE DE LA
SOLUBILITE DES COMPLEXES CYCLODEXTRINES-
MEDICAMENTS ANTITHYROÏDIENS**

Sous la Direction de :

**Dr. FISLI H.
Dr. CHEGHIB N.**

Juin 2015

A mes cousines, Takoua, Hana et Asma et leur frère Abdou que je considère comme mes sœurs et frère, pour leur fidèle compagnie dans les moments les plus délicat, je vous dis merci;

A mes amies, Soumia Amira et Sonia Bouabdallah pour leur présence dans tous mes moments difficiles et leur soutien moral, en témoignage de l'amitié qui nous uni et des souvenirs de tous les moments que nous avons passé ensemble, je vous dédie ce travail;

A tous les membres de ma famille Boutekri et Boumazza, petits et grands, Veuillez trouver dans ce modeste travail l'expression de mon affection;

Et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que ce projet soit possible, je vous dis merci.

Hadjer

TABLE DES MATIERES

TABLE DES MATIERES.....	I
LISTE DES ABREVIATIONS.....	IV
LISTE DES FIGURES	VI
LISTE DES TABLEAUX	VIII
INTRODUCTION GENERALE	1

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE 1

THYROÏDE ET PATHOLOGIES

1. GLANDE THYROÏDE.....	5
1.1. Fonctions des hormones thyroïdiennes	5
1.2. Structure des hormones thyroïdiennes.....	6
1.3. Métabolisme des hormones thyroïdiennes	6
2. PATHOLOGIES DE LA THYROÏDE.....	7
2.1. Facteurs de risques des pathologies de la thyroïde.....	7
2.2. Symptômes des problèmes de thyroïde	7
2.3. Dépistage des pathologies thyroïdiennes.....	8
2.4. Bilan thyroïdien	8
2.5. Pathologies de la thyroïde.....	9
3. REFERENCES.....	10

CHAPITRE 2

MEDICAMENTS ANTITHYROÏDIENS

1. TRAITEMENTS DE LA THYROÏDE : DIFFERENTES PRISES EN CHARGE ...	12
1.1. Traitement médicamenteux de la thyroïde	12
1.1.1. Hyperthyroïdie.....	12
1.1.2. Hypothyroïdie.....	13
2. ANTITHYROÏDIENS DE SYNTHÈSE	13
2.1. Historique	13
2.2. Grandes classes des antithyroïdiens de synthèse.....	13
3. REFERENCES.....	17

CHAPITRE 3

CYCLODEXTRINES ET COMPLEXES D'INCLUSION

1. CYCLODEXTRINES	19
1.1. Historique	19
1.2. Nature, structure et propriétés des CDs.....	20
1.3. Cyclodextrines modifiées	22
2. COMPLEXES D'INCLUSION	22
2.1. Généralités sur la complexation	22
2.2. Forces régissant la complexation.....	23
2.3. Conséquences de la complexation.....	23
2.4. Domaines d'applications	24
2.5. Méthodes de caractérisation des complexes d'inclusion.....	24
2.6. Etude des complexes d'inclusion.....	25
2.6.1. Stœchiométrie	25
2.6.2. Constante de formation.....	25
2.7. Exemples de complexes d'inclusion.....	26
3. REFERENCES.....	27

RESULTATS ET DISCUSSION

CHAPITRE 1

CARACTERISATION DE L'ANTITHYROÏDIEN DE SYNTHÈSE CARBIMAZOLE ET DE SES COMPLEXES D'INCLUSION

1. CARACTERISATION DE L'ANTITHYROÏDIEN DE SYNTHÈSE CARBIMAZOLE.....	29
2. CARACTERISATION DES COMPLEXES D'INCLUSION.....	31
2.1. Etude en solution des complexes d'inclusion CD-CARB.....	32
2.1.1. Mise en évidence de la formation des complexes CD-CARB.....	32
2.1.2. Détermination de la stœchiométrie.....	34
2.2. Etude à l'état solide des complexes d'inclusion CD-CARB	35
3. CONCLUSION.....	39
4. REFERENCES.....	40

CHAPITRE 2

MESURE DE L'HYDROSOLUBILITE

1. GENERALITES.....	42
2. DETERMINATION DE L'HYDROSOLUBILITE.....	43
3. CONCLUSION.....	44
4. REFERENCES.....	45

CONCLUSION GENERALE.....	46
---------------------------------	-----------

PROTOCOLES EXPERIMENTAUX

1. CONDITIONS GENERALES.....	48
1.1. Solvants et réactifs.....	48
1.2. Méthodes de caractérisation.....	48
2. EXTRACTION ET CARACTERISATION DU PRINCIPE ACTIF.....	48
3. ETUDE EN SOLUTION DES COMPLEXES D'INCLUSION.....	49
3.1. Mise en évidence de la formation des complexes d'inclusion CD-CARB.....	49
3.2. Détermination de la stœchiométrie des complexes CD-CARB.....	49
4. ETUDE A L'EAT SOLIDE DES COMPLEXES D'INCLUSION.....	50
5. MESURE DE L'HYDROSOLUBILITE.....	52

ANNEXE

LISTE DES ABREVIATIONS

T3	Tri-iodothyronine
FT3	Tri-iodothyronine libre
T4	Thyroxine = Tétrai-iodothyronine
FT4	Thyroxine libre
$\mu\text{U/L}$	Micro-unité par Litre
TSH	Thyroid-Stimulating Hormone
CD	Cyclodextrine(s)
α -, β - et γ -CD	Alpha, Bêta et Gama cyclodextrine(s)
HP β -CD	Hydroxypropyl- β -cyclodextrine
RMN	Spectrométrie de résonance magnétique nucléaire
IR	Infrarouge
UV	Ultraviolet
CENS	Chloroéthylnitrososulfamides
CENU	Chloroéthylnitrosourées
DCI	Dénomination Commune Internationale
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry
CARB	CARBIMAZOLE
C1	Complexe β -CD-CARB préparé par la méthode de co-précipitation
C2	Complexe β -CD-CARB préparé par la méthode de pétrissage

Figure 1.2. Plaque CCM.....	30
Figure 1.3. Mise en évidence de la formation du complexe β -CD-CARB.....	33
Figure 1.4. Mise en évidence de la formation du complexe HP β -CD-CARB.....	33
Figure 1.5. Détermination de la stœchiométrie.....	34
Figure 1.6. Illustration de l'inclusion du carbimazole dans la cavité de la CD	35
Figure 1.7. Superposition des spectres IR du CARB, de la β -CD et du complexe C1	38
Figure 1.8. Superposition des spectres IR du CARB, de l'HP β -CD et du complexe C1'	38

LISTE DES TABLEAUX

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

Tableau 2.1. Présentation des antithyroïdiens de synthèse	16
Tableau 3.1. Principales caractéristiques physico-chimiques des CDs	21

RESULTATS ET DISCUSSION

Tableau 1.1. Dénominations de l'antithyroïdien de synthèse étudié.....	29
Tableau 1.2. Caractéristiques physicochimiques et spectrales du produit isolé.....	31
Tableau 1.3. Valeurs des RI des complexes préparés.....	36
Tableau 1.4. Valeurs des Pf des complexes préparés.....	37
Tableau 2.1. Résultats des mesures de l'hydrosolubilité du carbimazole et de ses complexes d'inclusion.....	43

PROTOCOLES EXPERIMENTAUX

Tableau 1. Fractions molaires de la CD utilisées dans la méthode des variations continues.....	50
--	----

INTRODUCTION GENERALE

INTRODUCTION GENERALE

On ne connaît pas forcément la thyroïde et pourtant elle est essentielle pour notre corps. Cette glande, située à la base du cou à l'endroit même du col de chemise, est indispensable pour le bon développement et fonctionnement de notre corps, de l'enfance à l'âge adulte. Elle peut également se dérégler, ce qui perturbe le quotidien.

Des millions de personnes dans le monde souffrent d'une maladie de la thyroïde, telle que l'augmentation du volume de la glande thyroïde (goitre), les nodules thyroïdiens cancéreux ou non, l'hypothyroïdie ou l'hyperthyroïdie. Certaines pathologies de la thyroïde peuvent être traitées avec des médicaments, tandis que pour d'autres, la chirurgie est le meilleur traitement [1]

Les hyperthyroïdies sont après le diabète, les plus fréquentes des endocrinopathies [2]. Elles résultent d'un hyperfonctionnement de la glande thyroïde. Le goitre exophtalmique ou maladie de Graves-Basedow représente la plus fréquente des hyperthyroïdies.

Les méthodes utilisées dans les processus de découverte de médicaments entraînent souvent l'obtention de molécules de faible hydrosolubilité. La faible hydrosolubilité peut provoquer une faible biodisponibilité ou donner lieu à des fluctuations de la fraction absorbée qui ne peut pas être compensée par une perméabilité élevée dans beaucoup de cas. Par ailleurs, la faible hydrosolubilité peut être associée à des problèmes de stabilité et à des difficultés d'élaborer une formulation acceptable [3].

Pour les antithyroïdiens, le champ de recherche est ouvert. Tous les antithyroïdiens de synthèse sont des molécules liposolubles. Ils présentent de très faibles taux d'hydrosolubilité, de très faibles vitesses de dissolution, et montrent souvent une biodisponibilité faible et irrégulière après administration orale [4]. L'amélioration de la biodisponibilité orale des médicaments peu hydrosolubles demeure l'un des aspects les plus difficiles du développement de formulations médicamenteuses.

Plusieurs techniques peuvent être utilisées pour améliorer la vitesse de dissolution de médicaments faiblement solubles dans l'eau, parmi lesquelles la formation de complexes d'inclusion avec les cyclodextrines est largement utilisée [5]. Les cyclodextrines apparaissent

donc comme d'excellents candidats pour optimiser l'action des médicaments, en particulier pour ceux très peu solubles dans l'eau. L'utilisation des dérivés des cyclodextrines est également un élément incontournable de l'amélioration de leurs propriétés.

Dans le cadre de l'amélioration des propriétés physicochimiques de médicaments antithyroïdiens, nous envisageons la préparation de nouvelles formulations à base de cyclodextrines naturelles et modifiées selon le plan de travail suivant:

- 1-l'extraction et la caractérisation d'un antithyroïdien de synthèse commercialisé;
- 2-la préparation et l'étude physicochimique de ses complexes d'inclusion dans les cyclodextrines;
- 3- et enfin, l'évaluation de l'hydrosolubilité des formulations préparées.

Ce mémoire sera divisé en trois grandes parties. La première partie va consister en une mise au point bibliographique, en trois chapitres, qui exposent de manière non exhaustive des généralités sur la thyroïde, les antithyroïdiens de synthèse, les cyclodextrines et les complexes d'inclusion, respectivement. Dans la deuxième partie, qui est décomposée en deux chapitres, seront exposés les travaux réalisés et la discussion des résultats obtenus. Le premier chapitre décrira l'obtention du médicament antithyroïdien et la préparation de ses complexes d'inclusion avec les cyclodextrines. La caractérisation des différents produits par plusieurs techniques sera présentée. Le deuxième chapitre montrera les résultats et la discussion de l'étude de la mesure de l'hydrosolubilité. Enfin, la dernière partie rendra compte des protocoles expérimentaux que nous avons menés concernant les axes détaillés dans la partie précédente.

REFERENCES

- [1] Hegedus L., Perrild H., Poulsen L.R., Andersen J.R., Holm B., Schnohr P., Jensen G., Hansen J.M., *J. Clin. Endocrino. Metab.*, 1983, 56, 260-26
- [2] Knudsen N., Bols B., Bulow I., Jorgensen T., Perrild H., Ovesen L., Laurberg P., *Thyroid*, 1999, 9, 1069-1074
- [3] Lipinski C.A., Lombardo F., Dominy B.W., Feeny P.J., *Adv. Drug Delivery Rev.*, 1997, 23, 3-25
- [4] Mutalik S., Anju P., Manoj K., Usha A.N., *Int. J. Pharm.*, 2008, 350(1-2), 279-290
- [5] Szejtli, J., *Med. Res. Rev.*, 1994, 14(3), 353-386

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE 1.

THYROÏDE ET PATHOLOGIES

Située à la base du cou, la thyroïde produit des hormones essentielles au bon fonctionnement de nombreux organes vitaux, à tous les âges de la vie. Mais parfois, ce chef d'orchestre déraile, donnant un rythme trop rapide ou trop lent à l'organisme. Elle peut également voir sa taille grossir ou des nodules apparaître, dont certains peuvent cacher des cancers. Ce chapitre regroupe l'essentiel sur la thyroïde et ses pathologies.

CHAPITRE 1. THYROÏDIE ET PATHOLOGIES

1. GLANDE THYROÏDE [1,2]

La glande thyroïde ou thyroïde est une glande en forme de papillon située au milieu du cou en avant de la trachée. Formée de deux lobes situés de part et d'autre de la trachée en dessous du larynx (Figure 1.1), elle produit des hormones libérées dans le sang qui ont un rôle important dans le fonctionnement, le développement et la régulation des principales fonctions de l'organisme.

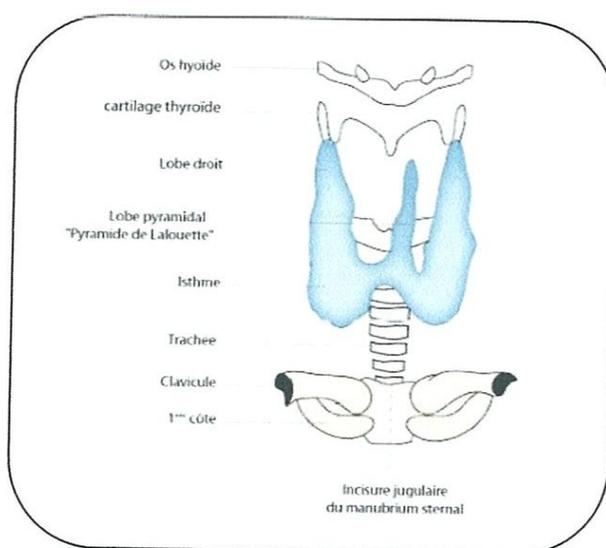


Figure 1.1. Glande thyroïde

La synthèse de ces hormones est régulée par deux structures situées dans le cerveau (l'hypophyse et l'hypothalamus) via une autre hormone, la thyroïdostimuline (TSH).

1.1. Fonctions des hormones thyroïdiennes

La thyroïde sécrète des hormones grâce à l'iode qu'elle se procure dans le sang : la tri-iodotyronine, contenant 3 atomes d'iode (T3) (Figure 1.2), la thyroxine ou tétra-iodothyronine, avec 4 iodes (T4) (Figure 1.3) et la thyrocalcitonine (ou calcitonine).

Les hormones T3 et T4 stimulent les métabolismes lipidique, glucidique et protidique, ainsi que la croissance.

Le rôle de la calcitonine est d'abaisser le taux sanguin du calcium et du phosphore en empêchant la destruction osseuse.

1.2. Structure des hormones thyroïdiennes

Les hormones thyroïdiennes possèdent une même structure organique : la thyronine, formée par deux noyaux aromatiques reliés par un pont éther. Les hormones se différencient entre elles par le nombre et la place variables des atomes d'iode qu'elles portent (Figures 1.2 et 1.3).

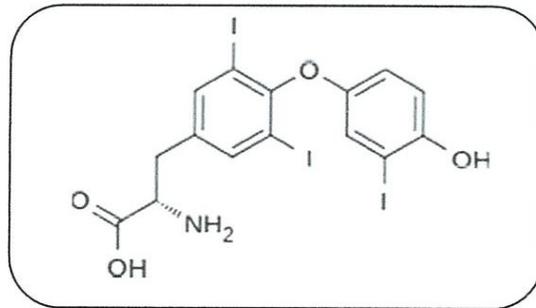


Figure 1.2. Structure de la tri-iodotyronine (T3)

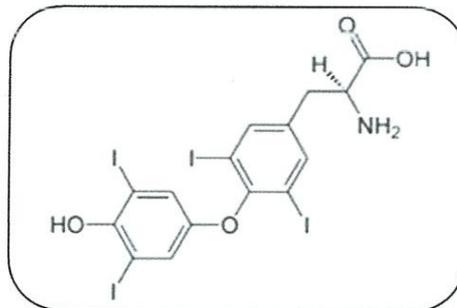


Figure 1.3. Structure de la tetra-iodotyronine (T4)

1.3. Métabolisme des hormones thyroïdiennes

Les hormones thyroïdiennes sont hydrophobes et se lient donc à des protéines de transport non spécifiques et spécifiques.

Il est important de rappeler que seule la fraction libre (FT3 et FT4), même très minoritaire est active.

La totalité de la T4 circulante provient de la production thyroïdienne, tandis que la plus grande partie de la T3 est issue de la conversion périphérique de T4 en T3.

2. PATHOLOGIES DE LA THYROÏDE

2.1. Facteurs de risques des pathologies de la thyroïde [3]

Aujourd'hui, les facteurs de risque des pathologies thyroïdiennes sont relativement bien identifiés. Certains facteurs peuvent augmenter le risque de développer un trouble de la thyroïde :

- Le sexe : les femmes ont 6 à 8 fois plus de risque de développer une pathologie de la thyroïde que les hommes.
- L'âge : les personnes de plus de 50 ans ont un risque accru de maladie de la thyroïde.
- L'hérédité.
- Le tabagisme.
- La consommation d'iode : la carence ou l'excès de consommation d'iode peut accroître le risque de problèmes de la thyroïde.
- Certains médicaments augmentent le risque de problèmes de la thyroïde.
- Les pesticides et autres polluants chimiques pourraient également avoir un rôle, bien qu'il ne soit pas encore clairement établi.
- Un stress majeur.
- L'irradiation.

2.2. Symptômes des problèmes de thyroïde

Les symptômes susceptibles d'orienter vers une pathologie thyroïdienne sont fort nombreux. La complexité du diagnostic réside dans le fait que ces symptômes peuvent appartenir à de nombreux tableaux cliniques qui n'ont aucun lien avec la thyroïde. C'est la raison pour laquelle les examens complémentaires jouent un rôle de premier plan dans le diagnostic.

Toutefois, certains symptômes sont assez typiques : les nodules thyroïdiens, l'exophtalmie. Ils sont en effet représentatifs de maladies thyroïdiennes spécifiques et ils ne se rencontrent pas aussi fréquemment que les autres symptômes [4].

2.3. Dépistage des pathologies thyroïdiennes [5]

Pour détecter les maladies de la thyroïde, plusieurs examens sont disponibles :

- La palpation du cou. C'est le premier examen, le plus simple et le plus direct, pour apprécier les caractéristiques de la glande thyroïde et déceler éventuellement un goitre ou des nodules.
- Les examens biologiques (dosage de T3, T4 et TSH) par une prise de sang permettent de déceler d'éventuelles anomalies dans leur production.
- L'échographie du cou permet d'en savoir plus sur les éventuels nodules présents (nombre, dimensions, contenu solide ou liquide, autres caractéristiques).
- La ponction cytologique. Ce geste peu douloureux et sans danger (souvent effectué sous contrôle échographique) consiste à prélever des cellules dans un nodule avec une aiguille fine. Le produit de la ponction est ensuite étalé sur des lames de verre pour analyse au microscope.
- La scintigraphie consiste en l'injection par voie intraveineuse d'un produit radioactif (isotope de technétium ou iode). Le patient est ensuite allongé sur le dos et une caméra est placée au-dessus de lui. Cela va permettre de détecter les rayonnements émis par le produit radioactif et ainsi de distinguer des nodules "chauds" ou "froids", selon qu'ils fixent ou non l'isotope radioactif injecté.

2.4. Bilan thyroïdien [6]

Le dosage de la TSH demeure l'examen de référence du bilan thyroïdien. Son dosage suffit le plus souvent à dépister une anomalie de fonctionnement de la thyroïde. Si nécessaire, d'autres examens sont effectués : le dosage sanguin des hormones thyroïdiennes T3 et T4 et une échographie de la thyroïde.

- ✓ Le taux de TSH doit normalement se situer entre 0,3 et 5 $\mu\text{U}/\text{mL}$.
- ✓ Entre 5 et 10, il s'agit d'une hypothyroïdie minime.

- ✓ Au-delà de 10, c'est réellement une hypothyroïdie.
- ✓ Entre 0,3 et 0,10, le taux de TSH est un peu bas et pourrait indiquer une hyperthyroïdie, sans certitude.
- ✓ En-dessous de 0,10, c'est clairement une hyperthyroïdie.

2.5. Pathologies de la thyroïde [7]

La thyroïde pathologique peut :

- Produire trop d'hormones thyroïdiennes (hyperthyroïdies) ;
- Produire insuffisamment d'hormones thyroïdiennes (hypothyroïdies) ;
- Etre cancéreuse (cancer de la thyroïde) ;
- Etre augmentée de volume (goitre) avec un fonctionnement normal, augmenté ou diminué ;
- Etre le siège d'une inflammation (thyroïdites).

3. REFERENCES

- [1] Allanic H., La thyroïde : de la physiologie cellulaire aux dysfonctions des concepts à la pratique clinique, 1992, Paris, expansion scientifique française Ed, 1Vol,p 351-359
- [2] (a) Bricaire H., Baulieu E., Leprat J., Joly J ., Glandes endocrines In : pathologie médicale (Glandes endocrines), Paris, Flammarion, Ed.,1 Vol (3^{ème} Edition) p.233-245,
(b) Parma J., Duprez L., van Sande J., J. Clin. Endocrinol. Metab., 1997, 82, 2695-701
- [3] Allanic H .,Guilhem I., Rev .Prat., 1995, 45(232), 1281-1286
- [4] Andrés E., Kalatenbach G., Schlienger JL., Rev. franç. Endocrinol. Clin.,1996, 37(1), 25-30
- [5] Andris C., Rev. Méd . Liège, 2002, 57(5), 334-339
- [6] (a) Bartalena L., Pinchera A., Marcocci C., Endocrine Reviews, 2000, 21 (2), 168-199, (b) Nadeau A., Cote M., Les troubles thyroïdiens. Québec, Pharmacie, 2003,50(8), 603-614
- [7] Becks G.P., Burrow G.N., Les affections thyroïdiennes. La Fondation canadienne de la thyroïde, 1998, 1-7

CHAPITRE 2.

MÉDICAMENTS ANTITHYROÏDIENS

De nombreux problèmes de thyroïde peuvent être traités sans chirurgie. Le traitement choisi dépendra de la pathologie. Le chapitre 2 regroupe les différentes options thérapeutiques pour les pathologies de la thyroïde.

CHAPITRE 2.

MÉDICAMENTS ANTITHYROÏDIENS

1. TRAITEMENTS DE LA THYROÏDE : DIFFÉRENTES PRISES EN CHARGE [1]

Le traitement des pathologies thyroïdiennes permet de prendre en charge avec succès la majeure partie des maladies thyroïdiennes quelles qu'elles soient.

Plusieurs approches existent en fonction de la maladie exacte, les deux principales étant :

- le traitement médicamenteux ;
- la chirurgie de la thyroïde.

1.1. Traitement médicamenteux de la thyroïde [2]

La première approche concernant les pathologies de la glande thyroïde est médicamenteuse.

La médecine ne sait pas guérir la majeure partie des maladies thyroïdiennes, comme l'hypothyroïdie par exemple, en revanche elle parvient à les contenir, à les contrôler en partie.

1.1.1. Hyperthyroïdie

Dans le cas du traitement de l'hyperthyroïdie, il est dans un premier temps primordial de retrouver un fonctionnement normal.

Pour cela, il existe:

- des médicaments antithyroïdiens qui visent à empêcher la glande thyroïde de produire des hormones puisqu'elles sont déjà présentes en excès ;
- des traitements à l'iode radioactif qui vont détruire certaines cellules thyroïdiennes afin que celles-ci cessent de fabriquer des hormones (les nodules thyroïdiens et les cellules persistantes d'un cancer de la thyroïde sont concernés).

1.1.2. Hypothyroïdie

Le traitement de l'hypothyroïdie vise à remplacer le système défaillant en proposant des hormones de substitution.

- Celles-ci sont des hormones de synthèse, mais agissent exactement comme le feraient les hormones naturellement produites par l'organisme si celui-ci fonctionnait normalement.
- C'est la thyroxine (T4) qui est la plus imitée. La lévothyroxine sodique (Lévothyrox) est proposée en comprimés à prendre chaque jour et le plus souvent à vie.
- Dans certains cas, on peut prescrire une supplémentation en T3 (médicament baptisé Cynomel ou TA3).

Dans ce mémoire, nous nous intéresserons aux antithyroïdiens de synthèse.

2. ANTITHYROÏDIENS DE SYNTHÈSE

2.1. Historique

L'obtention des antithyroïdiens de synthèse remonte à 1943 lorsque l'action de la thiourée a été démontrée par Mackenzie et Astwood à partir de la sulfaguanidine et du phénylthiocarbamide sur lesquels travaillaient respectivement Mackenzie, Richter et Clisby [3].

On les appelle « antithyroïdiens de synthèse » afin de les différencier des autres substances à action antithyroïdienne qui sont également employées, telle que le lithium, l'iode stable et le perchlorate [4].

2.2. Grandes classes des antithyroïdiens de synthèse

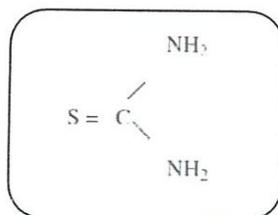


Figure 2.1. Structure générale commune : la thiourée

Les antithyroïdiens de synthèse ont la thiourée (Figure 2.1) comme base commune et se divisent en deux familles (Tableau 2.1):

1. Les dérivés du thiouracile (Figure 2.2.):

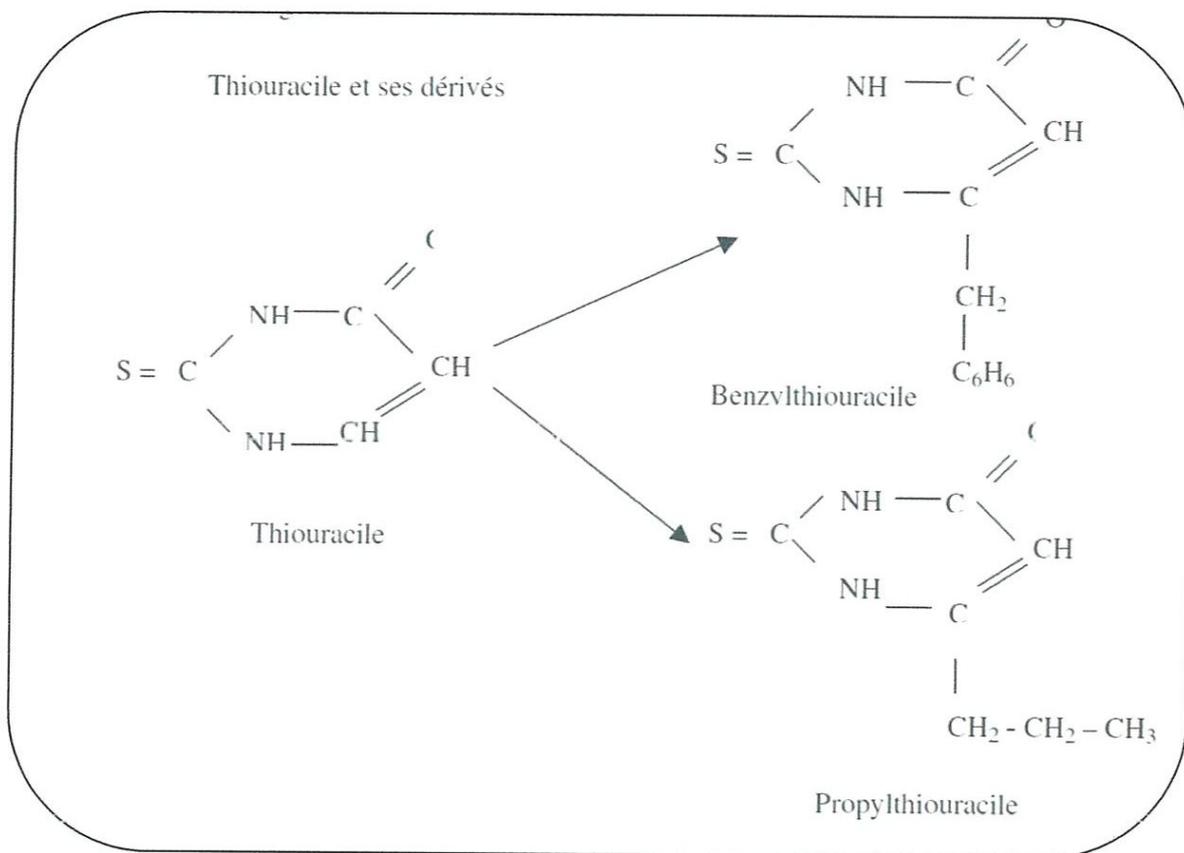


Figure 2.2. Structure générale des antithyroïdiens de synthèse dérivés du thiouracile [3]

2. Les dérivés du mercaptoimidazole (Figure 2.3):

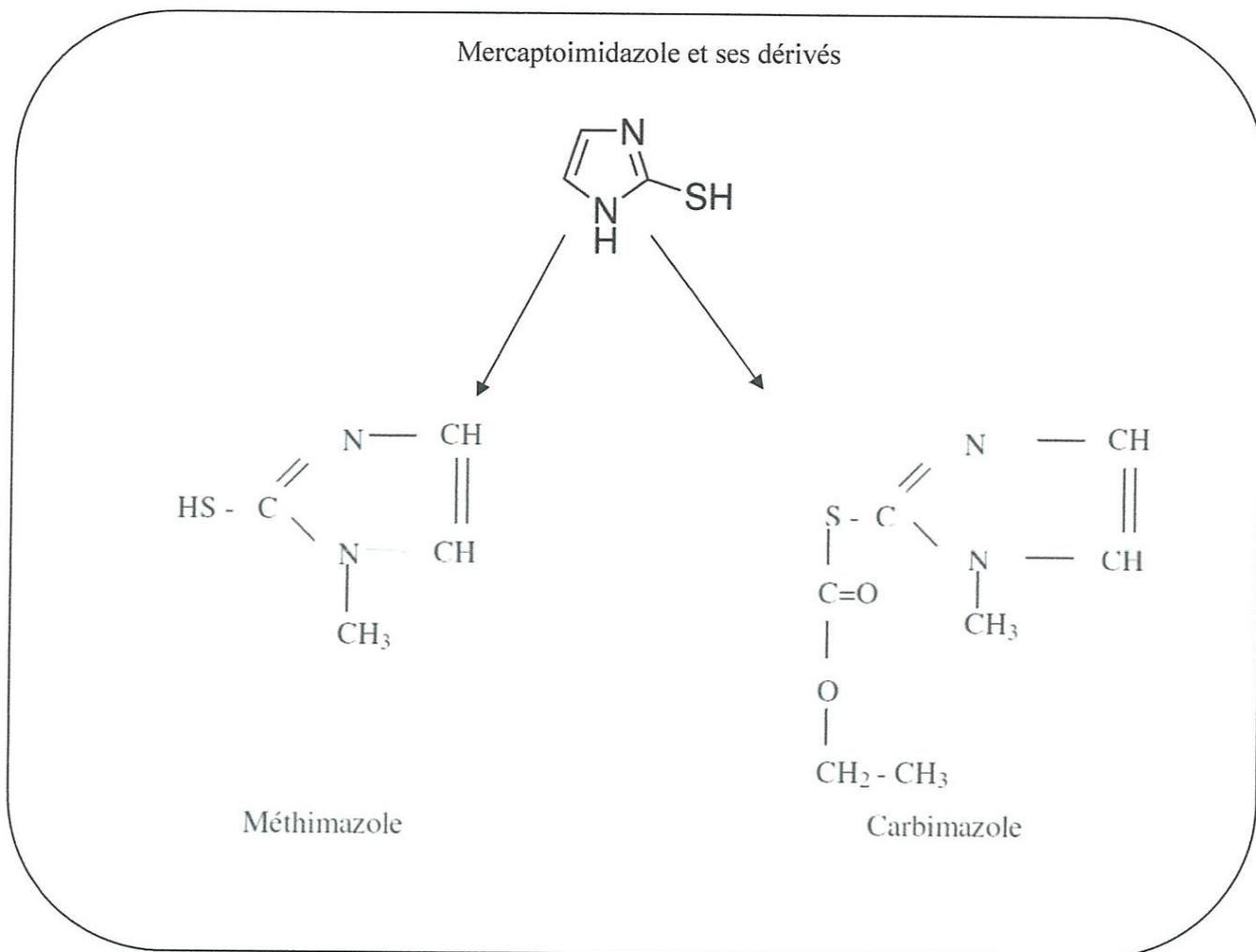


Figure 2.3. Structure générale des antithyroïdiens de synthèse dérivés du mercaptoimidazole [3]

Tableau 2.1. Présentation des antithyroïdiens de synthèse [5]

Classification chimique	DCI	Nom commercial	Présentation
Thiouracile	Propyl-thiouracile	Propylthiouracile®	Cp à 50 mg
	Benzylthiouracile	Basdène ®	Cp à 25 mg
Mercaptoimidazole	Carbimazole	Neomercazole®	Cp à 5 et 20mg
	Méthimazole	Tapazole®	Cp à 5 et 20mg

Les antithyroïdiens de synthèse, en particulier ceux issus du mercaptoimidazole sont très peu solubles dans l'eau, et présentent par suite certains inconvénients liés à leur liposolubilité. Pour améliorer l'hydrosolubilité des médicaments, la complexation avec les cyclodextrines est une approche largement utilisée. A cet effet le chapitre (3) suivant, reprendra quelques rappels bibliographiques sur les cyclodextrines et leurs complexes d'inclusion.

3. REFERENCES

- [1] Maugendre D., Guilhem I., Allanic H., Traitement des hyperthyroïdies. RPMG ,1996,10, 361,1-5
- [2] Manuila L., Levalle P., Nicarlin M., Dictionnaire Médical Ed Masson., 1998, 8^{ème} édition
- [3] (a) Léger A., Traitement des hyperthyroïdies Encycl .Méd.Chir (Elsevier ,Paris), Endocrinologie -Nutrition, 1998
(b) Leclère J., Médicaments à action antithyroïdienne In : La thyroïde : de la physiologie cellulaire aux dysfonctions des concepts à la pratique clinique , 1992, Paris, Expansion scientifique française Ed, 1Vol, P 283-285
- [4] Mornex R., La thyroïde : de la physiologie cellulaire aux dysfonctions des concepts à la pratique clinique, 1992, Paris, Ed expansion scientifique française , 1Vol, P 360- 363
- [5] Radko F, Muller B, Diem P. Hyperthyroïdies : diagnostic et traitement, Suisse, 2003, 5,103-108

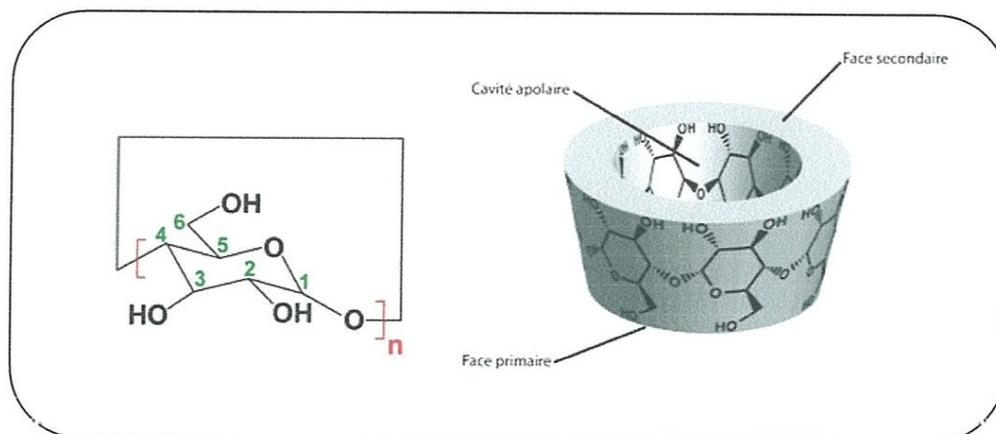


Figure 3.2. Numération et conformation des unités glucopyranosiques en conformation α -1,4 et structure tridimensionnelle des CDs (α -CD ($n=6$), β -CD ($n=7$) et γ -CD ($n=8$))

Les CDs naturelles (α -, β - et γ -CD) ont des propriétés physico-chimiques variables (Tableau 3.1). Leurs structures chimiques et leurs dimensions reflètent le nombre de molécules de glucose dans chaque CD. Elles se présentent sous une forme cristalline blanche. Leurs dimensions et certaines caractéristiques physico-chimiques [13] sont présentées dans le tableau 3.1.

Tableau 3.1. Principales caractéristiques physico-chimiques des CDs

Caractéristique	α -CD	β -CD	γ -CD
Nombre d'unités	6	7	8
Masse molaire (g/mol)	972,9	1135	1297,1
Volume de la cavité (\AA^3)	174	262	427
Diamètre de la cavité (\AA)	4,7-5,3	6,0-6,5	7,5-8,3
Diamètre de la périphérie (\AA)	$14,6 \pm 0,4$	$15,4 \pm 0,4$	$17,5 \pm 0,4$
Hauteur du cône (\AA)	$7,9 \pm 0,1$	$7,9 \pm 0,1$	$7,9 \pm 0,1$
Nombre de molécules d'eau dans la cavité	6-8	11-12	13-17
Solubilité dans l'eau à 25°C (g/100mL)	14,5	1,85	23,2
Température de fusion (°C)	275	280	275

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

1.3. Cyclodextrines modifiées

La modification chimique des CDs offre à la fois d'énormes opportunités et de réels défis pour les chimistes. Les CDs sont modifiées chimiquement afin d'améliorer ou modifier certaines propriétés de ces molécules hôtes. Leur modification peut en effet permettre d'améliorer leurs propriétés physico-chimiques (augmenter leur solubilité dans un solvant donné) et/ou le pouvoir de complexation de leur cavité avec une molécule invitée. C'est également un moyen de créer des molécules originales avec des fonctions spécifiques, trouvant des applications variées au-delà des frontières de la chimie classique (une activité catalytique de type enzymatique, des propriétés de vectorisation, etc.).

De nombreux dérivés peuvent ainsi être obtenus à partir des CDs naturelles. Les CDs possèdent trois types de fonctions hydroxyles situées sur les positions 2, 3 et 6 des unités glucoses (Figure 3.3). Seules ces trois positions peuvent être modifiées. Ces groupements hydroxyle sont les points d'ancrage de modifications structurales de ces molécules, et de nombreux groupements peuvent y être greffés, ils peuvent être aminés, estérifiés ou étherifiés [14].

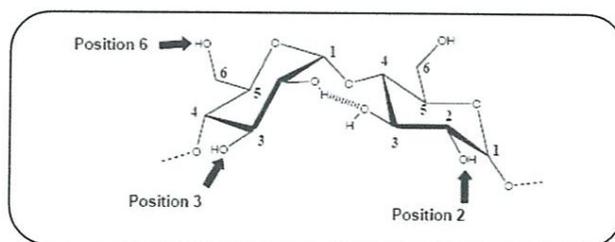


Figure 3.3. Localisation des hydroxyles sur des unités α -D-glucopyranose de la CD

2. COMPLEXES D'INCLUSION

2.1. Généralités sur la complexation

Dès lors, la caractéristique la plus intéressante des CDs est certainement leur capacité à former des complexes d'inclusion [15].

Un complexe d'inclusion est une association d'au moins deux molécules dont l'une, le substrat ou "l'invité" est encapsulé de façon totale ou partielle par l'autre, le récepteur ou "l'hôte" sous l'effet d'interactions faibles. Aucune liaison covalente n'est créée, ce qui permet une dissociation aisée et douce du complexe formé.

D'un point de vue géométrique, l'inclusion va dépendre de la taille relative de la cavité de la CD par rapport à la taille de la molécule invitée : si l'invité est de taille trop importante, il ne pourra pas pénétrer à l'intérieur de la cavité de la CD, par contre, si sa taille est trop petite, il aura peu d'interactions avec la CD. L'effet stérique joue donc un rôle important dans le phénomène de complexation. Ainsi, l' α -CD complexe plus facilement les petites molécules comme les chaînes aliphatiques, la β -CD peut complexer les composés aromatiques ou les hétérocycles et la γ -CD s'accommode de grandes molécules comme les macrocycles et les stéroïdes [16,17].

2.2. Forces régissant la complexation

Les interactions intermoléculaires responsables de la stabilité du complexe sont encore sujettes à discussion. Ainsi plusieurs forces intermoléculaires coexistent simultanément afin de favoriser et de préserver la stabilité du complexe, la relativité de chacune des forces dépendant de la molécule invitée et du solvant.

Les interactions les plus étudiées sont les suivantes [18] :

- Interactions de Van der Waals.
- Interactions hydrophobes.
- Liaisons hydrogène.
- Interactions électrostatiques.

2.3. Conséquences de la complexation

Les conséquences de l'inclusion d'un composé faiblement soluble en milieu aqueux par la CD sont très nombreuses et sont à la base du très grand intérêt porté aux CDs et à leurs complexes d'inclusion. Les propriétés spectroscopiques et thermodynamiques de l'invité sont très souvent modifiées dont on donne ci-dessous les principales contributions :

- Décalage et élargissement des déplacements chimiques de l'invité en RMN.

- Augmentation de la fluorescence.
- Réactivité chimique modifiée.
- Diminution importante de la diffusion, de la volatilité (en solution) et de la sublimation (à l'état solide) de l'invité.

2.4. Domaines d'applications

Les principaux domaines d'application des complexes d'inclusion formés à partir des CDs profitent essentiellement du caractère biocompatible de la CD et des modifications du comportement physico-chimique de l'invité introduites par l'inclusion d'un invité dans la cavité moléculaire. Ainsi on trouve un très grand nombre d'applications dans les domaines:

- pharmaceutique : solubilisation, stabilisation, augmentation de la biodisponibilité de principes actifs ;
- agroalimentaire : stabilisateurs d'arômes, de colorants, d'odeurs ;
- chimie analytique et catalyse : avec des applications en tant que stabilisateurs de substances sensibles à la lumière ou à l'oxygène, catalyseurs chimiques, inducteurs chiraux en synthèse organique asymétrique ou encore en tant que séparateurs énantiomériques en électrophorèse capillaire, en chromatographie en phase gazeuse ou en chromatographie liquide haute performance,

2.5. Méthodes de caractérisation des complexes d'inclusion

L'encapsulation moléculaire peut se produire à l'état liquide ou à l'état solide. Les molécules complexées voient certaines de leurs propriétés physico-chimiques modifiées telles que la solubilité dans l'eau, la biodisponibilité (dans le cas de principes actifs), la réactivité, les propriétés spectrales, etc. Les méthodes utilisées pour détecter l'inclusion, se basent sur les mesures de ces propriétés [19].

Parmi les méthodes utilisées pour détecter l'inclusion on trouve:

- La diffraction des rayons-X.
- Les techniques d'analyse de l'état solide.
- Les techniques spectrophotométriques.

2.6. Etude des complexes d'inclusion

Selon la nature de la CD et de l'invité, un complexe d'inclusion possède des propriétés propres comme sa stœchiométrie, sa constante d'association et sa structure spatiale.

2.6.1. Stœchiométrie

L'association entre la molécule hôte (CD) et l'invité (I) est un équilibre chimique en solution. Cette association a lieu entre une ou plusieurs molécules hôte et invitée. On définit la stœchiométrie d'un complexe d'inclusion par le rapport a:b, a et b étant les coefficients stœchiométriques respectifs de la CD et de l'invité.

Il existe dans la littérature de nombreux exemples de complexes d'inclusion avec divers arrangements structuraux comme des stœchiométries « hôte/invité » 1/1[20], 2/1[21]; 1/2 [22] et 2/2 [23] représentées sur la figure 3.4.

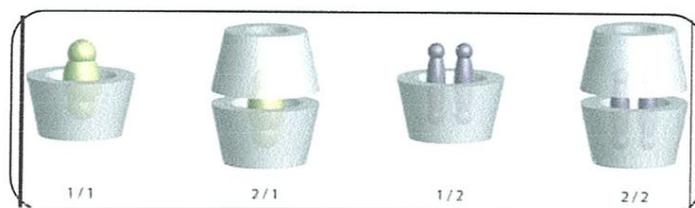


Figure 3.4. Représentation de différents types de complexes « hôte/invité »

2.6.2. Constante de formation

La stabilité d'un complexe d'inclusion est fonction de plusieurs paramètres : la taille de la CD, la nature du substrat, le milieu réactionnel... Il est possible de comparer la force relative de plusieurs complexes au moyen de la constante de formation " K_f ". Le calcul de la constante requiert la connaissance de la stœchiométrie. Plus la valeur de K_f est élevée, plus le complexe est stable.

De nombreuses techniques expérimentales permettent le calcul de la constante d'association, on peut citer : la chromatographie [24], les méthodes potentiométriques [25], la spectrométrie de fluorescence [26], la spectroscopie UV-visible [27], ou encore la spectrométrie RMN [28].

2.7. Exemples de complexes d'inclusion

Les CDs apparaissent donc comme d'excellents candidats pour optimiser l'action des médicaments, en particulier pour ceux instables ou très peu solubles dans l'eau. Ces propriétés sont dues essentiellement au pouvoir complexant de ces molécules par la formation de complexes d'inclusion.

Dans ce contexte, dans des travaux antérieurs, des complexes de 2-chloroéthylnitrososulfamides (CENS) d'amines secondaires- β -CD [29], de CENS d'ainoesters- β -CD [30], de sulfamoyloxazolidinones- β -CD [31], de 2-chloroéthylnitrosourées (CENU)- β -CD [32-34] et de sulfonylurées hypoglycémiantes- β -CD [35] ont été étudiées en solution et à l'état solide par différentes méthodes. La caractérisation des complexes a été établie et montre que l'inclusion dans la β -CD apparaît comme un mode de formulation prometteur pour les différentes familles des molécules étudiées.

Quelques exemples montrant la structure de complexes d'inclusion de CENS (Figure 3.5) et de CENS d'ainoester (Figure 3.6) sont représentés ci-dessous.

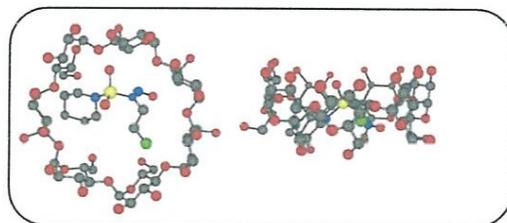


Figure 3.5. Exemple de complexe d'inclusion CENS- β -CD (issu de la pipéridine)

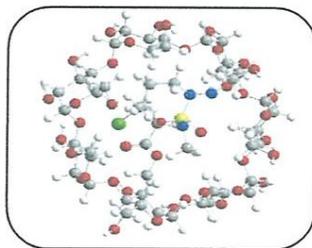


Figure 3.6. Exemple de complexe d'inclusion CENS d'ainoester- β -CD (issu de la L- glycinate de méthyle)

3. REFERENCES

- [1] Villiers A., *Rend. Acad. Sci.*, 1891, 112, 536
- [2] Scharinger F., *Wien Klin. Wochenschr.*, 1904, 17, 207
- [3] (a) Freudenberg F., Meyer-Delius M., *Ber. Dtsch. Chem. Ges.*, 1938, 71, 1596 (b) Freudenberg K., Plankenhorn E., Knauber H., *Chem. Ind. (London)*, 1947, 731
- [4] Freudenberg K., Cramer F., *Naturforsch.*, 1948, B.3, 464
- [5] Cramer F., Henglein F. M., *Chem. Ber.*, 1957, 90, 2561
- [6] French D., Levine M.L., Pazur J.H., Norberg E., *J. Am. Chem. Soc.*, 1949, 71, 353-356
- [7] Bender M.L., Komiyama M., *Cyclodextrin Chemistry*, 1978, Springer Verlag, Berlin
- [8] Thoma J.A., Steward L., *Starch: chemistry and technology*, 1965, eds. R.L. Whistler and E.F. Paschall, Academic Press, New York
- [9] Senti F.R., Erlander S.R., *Non-stoichiometric compounds*, 1964, ed. L. Mandelcorn, Academic Press, New York
- [10] Szejtli J., *Cyclodextrins and their inclusions complexes*, 1982, *Académiai Kiadó*, Budapest
- [11] Szejtli J., *Introduction and general overview of cyclodextrin chemistry.*, *Chem. Rev.* 1998, 98, 1743-1753
- [12] Zsádon B., Szilusi M., Tüdös F., Szejtli J., *J. Chromato. A*, 1981, 208, 109-112
- [13] Easton C.J., Lincoln S.F., *Modified Cyclodextrins*, 2000, Imperial College Press, London
- [14] Duchene, D.: *New trends in cyclodextrins and derivatives*, 1991, Editions de Santé, Paris
- [15] Del Valle E.M.M., *Process Biochem.*, 2004, 39, 1033
- [16] Tabushi I., Kuroda Y., Mizutani T., *J. Am. Chem. Soc.*, 1986, 108, 4514-4518
- [17] Van Etten R.L., Clowes G.A., Sebastian J.F., Bender M.L., *J. Am. Chem. Soc.*, 1967, 89, 3253-3262
- [18] Liu L., Guo Q-X., *J. Incl. Phenom.*, 2002, 42, 1-14
- [19] Szejtli J., Osa T.: *Comprehensive Supramolecular Chemistry, Cyclodextrins*, vol. 3., 1996, Elsevier, Oxford
- [20] Tabushi I., Yamamura K., Fujita K., Kawakubo H., *J. Am. Chem. Soc.*, 1979, 101, 1019
- [21] Ueno A., Yoshimura H., Saka R., Osa T., *J. Am. Chem. Soc.*, 1979, 101, 2779
- [22] Atwood J.L., Barbour L.J., Raston C.L., Sudria I.B.N., *Angew. Chem., Int. Ed.*, 1998, 37, 981
- [23] Hamai S., *Recent Res. Devel. Photochem. Photobiol.*, 1999, 3, 1
- [24] Ravelet C., Geze A., Villet A., Grosset C., Ravel A., Wouessidjewe D., Peyrin E., *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 2002, 29, 425
- [25] Retna Raj C., Ramaraj R., *Electrochimica Acta*, 1998, 44, 279
- [26] French R.R., Holzer P., Leuenberger M., Nold M.C., Woggon W-D., *J. Inorg. Biochem.*, 2002, 88, 295
- [27] Hirose K., *J. Incl. Phenom. Macro. Chem.*, 2001, 39, 193
- [28] Pean C., Crémillon C., Goussi I., Pouelleux P., Perly B., Djedjaini-Pilard F., *J. Incl. Phenom. Macro. Chem.* 1999, 33, 307
- [29] Kadri M., Dhaoui N., Abdaoui M., Winum J.Y., Montero J.L., *Eur. J. Med. Chem.*, 2004, 39(1), 79-84
- [30] Cheghib N.: *Synthèse et étude structural de 2- chloroéthylnitrososulfamide d'aminoestere et de leurs complexes d'inclusion correspondant.* Mémoire de magister Université de Guelma, 2004
- [31] Kadri M., Djemil R., Abdaoui M., Winum J., *Bioorg & Méd. Chem. Lett.*, 2005, 15, 889-894
- [32] Fisli H.: *Etude spectrofluorimétrique des complexes d'inclusion des CENU par la β -cyclodextrine.* Mémoire de magister Université de Guelma, 2008
- [33] Fisli H., Abdaoui M., *Algerian J. Adv. Mat.*, 2008, 5, 273
- [34] Fisli H., Bensouilah N., Dhaoui N., Abdaoui M., *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.*, 2012, 73: 369-376
- [35] Fisli H.: *Synthèse, structure et formulation des sulfonylurées.* Thèse de doctorat. Université de Guelma, 2012

RESULTATS ET DISCUSSION

CHAPITRE 1.

CARACTERISATION DE L'ANTITHYROÏDIEN DE SYNTHÈSE CARBIMAZOLE ET DE SES COMPLEXES D'INCLUSION

La chimie et la santé sont deux domaines intimement liés et les grandes évolutions médicales actuelles (allongement de la vie, recul des maladies graves, combat contre la douleur...) doivent leurs avancées aux programmes de recherches dans le domaine des médicaments.

Un médicament est constitué d'un ou de plusieurs principe(s) actif(s) ainsi que de plusieurs excipients. Le principe actif étant l'espèce chimique qui assure l'effet thérapeutique. Les excipients sont les espèces non actives médicalement. Ils assurent la consistance, la forme, la couleur, la stabilité du médicament et facilitent son absorption par l'organisme. Une extraction du principe actif consiste à isoler une ou plusieurs substances de son milieu d'origine. Ainsi, dans ce chapitre on va présenter les résultats des opérations d'extraction, de préparation et de caractérisation du carbimazole, médicament antithyroïdien de synthèse et de ses complexes d'inclusion.

CHAPITRE 1. CARACTERISATION DE L'ANTITHYROÏDIEN DE SYNTHÈSE CARBIMAZOLE ET DE SES COMPLEXES D'INCLUSION

1. CARACTERISATION DE L'ANTITHYROÏDIEN DE SYNTHÈSE CARBIMAZOLE

Il existe un grand nombre d'antithyroïdiens de synthèse utilisés dans la prise en charge des différentes pathologies de la thyroïde. Notre choix s'est porté sur le CARBIMAZOLE, (Figure 1.1 et Tableau 1.1), un antithyroïdien de synthèse utilisé comme traitement des hyperthyroïdies, qui sont après le diabète, les plus fréquentes des endocrinopathies [1].

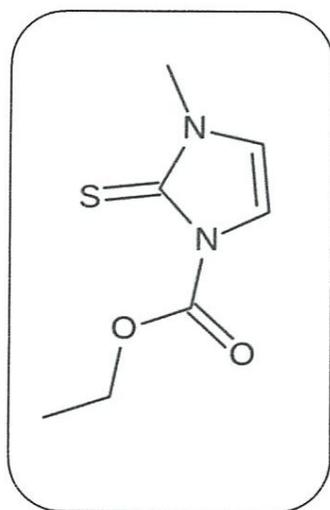


Figure 1.1. Structure chimique du carbimazole

Le tableau 1.1 regroupe les différentes dénominations de l'antithyroïdien de synthèse étudié: commerciale, selon la dénomination commune internationale (DCI) et selon l'union internationale de chimie pure et appliquée (UICPA).

Tableau 1.1. Dénominations de l'antithyroïdien de synthèse étudié

Abrév. utilisée	Nom commercial	DCI	UICPA
CARB	CROVIMAZOL	CARBIMAZOLE	3- méthyl-2-thioxo-4-imidazole-1-carboxylate d'éthyle

Du fait de l'impossibilité de réaliser la synthèse de l'antithyroïdien de synthèse choisi, nous avons procédé à l'extraction du principe actif à partir d'une formulation médicamenteuse commercialisée.

La préparation pharmaceutique de nom commercial CROVIMAZOL contenant 5×50 mg/boîte de carbimazole a été achetée d'une pharmacie locale.

Ce composé a été isolé après extraction et recristallisation sous forme de cristaux blancs, et a été par la suite caractérisé par son rapport frontal (Rf), son point de fusion (Pf) et son spectre IR.

✓ *Chromatographie sur couche mince (CCM)*

On peut réaliser une CCM pour vérifier la pureté d'un produit et/ou l'identifier. Parce que le rapport frontal ($R_f = r_l/R$; Figure 1.2) d'un composé dans un éluant donné est une grandeur caractéristique.

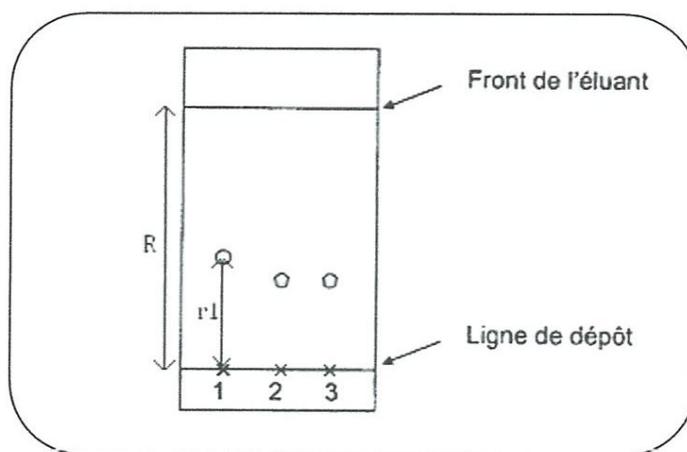


Figure 1.2. Plaque CCM

L'antithyroïdien de synthèse isolé est visible sous UV et est révélé à la ninhydrine.

✓ *Point de fusion (P_f)*

La phase cristalline d'une substance passe à l'état liquide au point de fusion, qui est une propriété caractéristique.

Le point de fusion est utilisé dans le contrôle de la qualité pour l'identification et la vérification de la pureté des substances les plus diverses [2].

✓ *Spectre IR*

L'IR est l'une des méthodes les plus répandues utilisées pour la caractérisation des différents composés.

Le tableau.1.2 regroupe les différentes caractéristiques physicochimiques et spectrales du produit isolé.

Tableau 1.2. Caractéristiques physicochimiques et spectrales du produit isolé

Composé	Rf (*)	Pf (°C)	IR (KBr, ν en cm^{-1})		
			C=O	N-H	C-H
CARB [C ₇ H ₁₀ N ₂ O ₂ S] 186 g/mol	0.38	88-90	1780-1700	3200	1300-1000 950-800

(*) Eluant dichlorométhane/méthanol (95/5)
 CARB=carbimazole

La comparaison du point de fusion du produit isolé avec celui de la substance cristalline pure, le carbimazole, et l'étude du spectre IR et sa comparaison avec celui issu de la littérature ont apporté chacune une preuve supplémentaire, et ont par la suite confirmé l'identité de la structure obtenue: on a pu extraire le carbimazole pur.

2. CARACTERISATION DES COMPLEXES D'INCLUSION

La formation d'un complexe d'inclusion entre une CD et une molécule invitée peut être vérifiée à l'aide de différentes méthodes d'analyse. Ces techniques ont des approches qualitatives et/ou quantitatives.

Nous avons procédé pour la caractérisation et la confirmation de la formation des complexes d'inclusion entre le carbimazole (CARB) et les cyclodextrines naturelle (β -CD) et modifiée (HP β -CD) à deux approches: l'étude en solution et l'étude à l'état solide.

2.1. Etude en solution des complexes d'inclusion CD-CARB

Cette étude comprend la mise en évidence de la formation des complexes d'inclusion et la détermination de leurs stœchiométries.

2.1.1. Mise en évidence de la formation des complexes CD-CARB

La complexation en solution a été suivie par spectroscopie UV-Visible, à température ambiante. Les solutions utilisées sont de concentration 10^{-5} M dans le solvant approprié.

Notre méthodologie pour mettre en évidence la formation des complexes β -CD-CARB et HP β -CD-CARB, consistait à comparer les spectres d'absorption des CD naturelle et modifiée, et du CARB avec les spectres de leurs complexes correspondants dans les mêmes conditions, et de ce fait, de suivre les changements spectraux subis, suite à la perturbation du milieu environnant, due à l'inclusion: la formation d'un complexe est accompagnée par une perturbation spectrale.

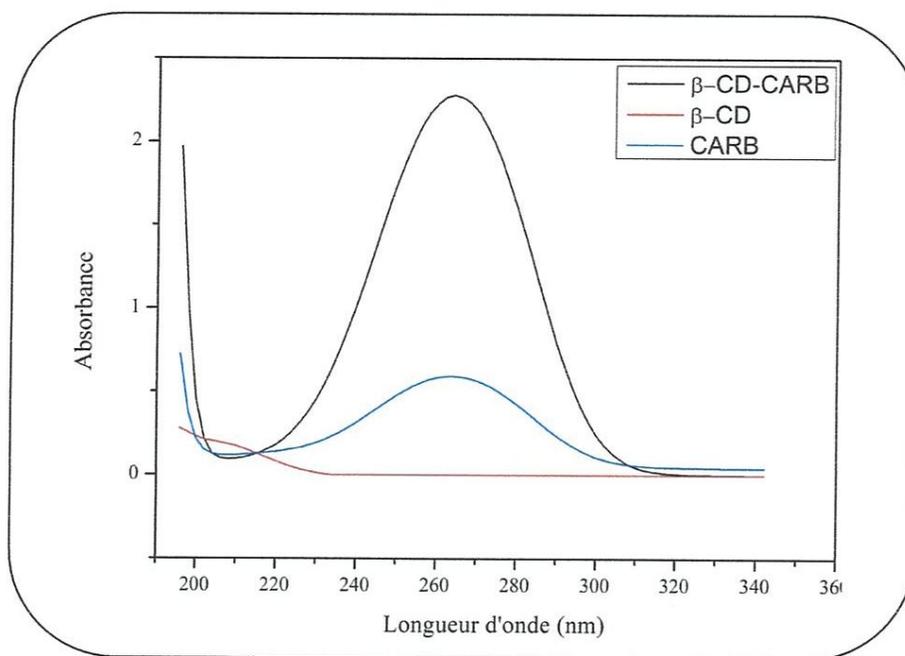


Figure 1.3. Mise en évidence de la formation du complexe β -CD-CARB

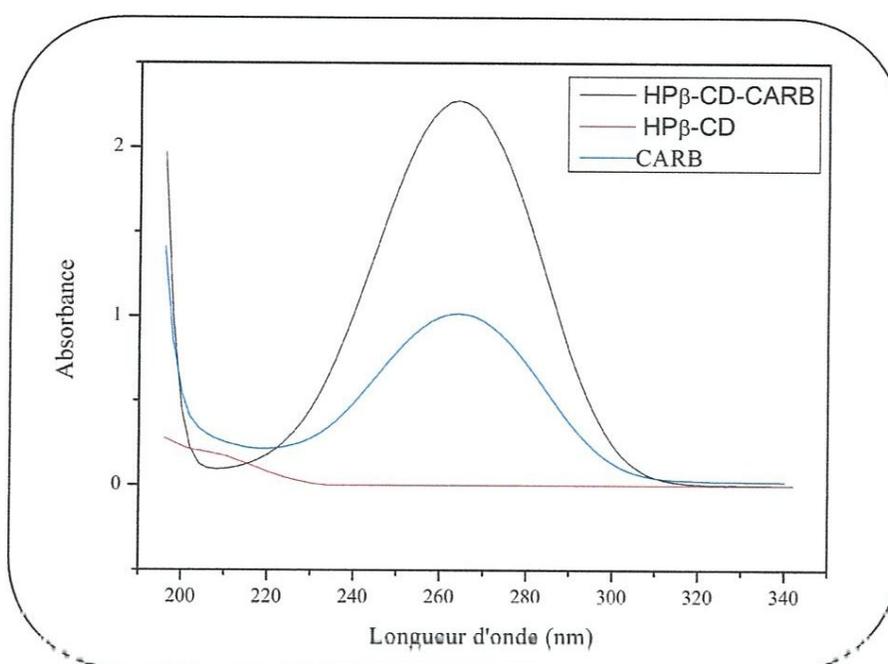


Figure 1.4. Mise en évidence de la formation du complexe HP β -CD-CARB

En effet, et comme le montrent les figures 1.3 et 1.4, qui représentent les spectres d'absorption des solutions du CARB, de la β -CD, de l'HPBC et de leurs mélanges, les molécules hôtes et invitée donnent chacune des signaux discernables pour les formes libres et complexées.

En conclusion, la formation des complexes entre le CARB et les CD naturelle et modifiée est clairement mise en évidence par la différence entre les spectres d'absorption des composés de départ et ceux des complexes: il y a apparition de nouvelles bandes caractéristiques différentes de celles des réactifs.

2.1.2. Détermination de la stœchiométrie

La stœchiométrie des complexes d'inclusion a été déterminée par la méthode des variations continues [3].

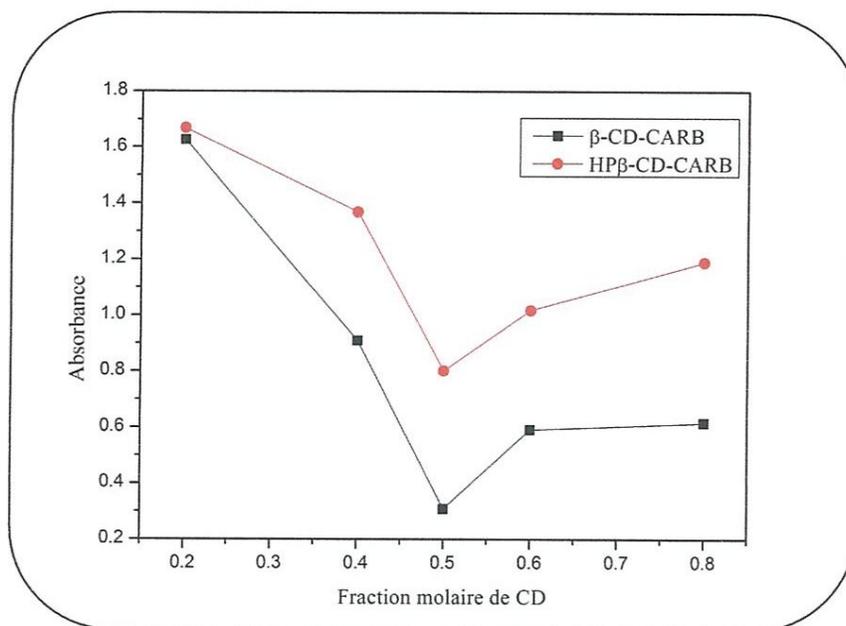


Figure 1.5. Détermination de la stœchiométrie

Le maximum de chaque courbe (Figure 1.5), correspondant à l'absorbance maximale est atteint pour une fraction molaire de CD dans le mélange égale à 0.5, ce qui signifie que la stœchiométrique des complexes d'inclusion étudiés est 1:1.

2.2. Étude à l'état solide des complexes d'inclusion CD-CARB

Parallèlement à l'étude des complexes en solution, une autre étude a été menée sur des complexes d'inclusion à l'état solide.

Les complexes étudiés ont été préparés à partir de la β -CD naturelle et de l'HP β -CD, une cyclodextrine modifiée, par deux méthodes chacun afin de comparer entre les caractéristiques de chaque méthode d'une part et entre la cyclodextrine naturelle et modifiée d'autre part.

Les méthodes utilisées pour la préparation des complexes sont:

✓ *Le pétrissage:* ✗

Dans cette méthode la CD (β -CD ou HP β -CD) n'est pas dissoute; elle se mélange avec une petite quantité d'eau dans laquelle la substance 'invitée' a été rajoutée préalablement. Nous avons obtenu une pâte qu'on a séchée, puis caractérisée par son Pf, Rf et IR.

✓ *La co-précipitation:* ✓

À partir d'une solution à 2 % de β -CD (ou d'HP β -CD) dans l'eau, une solution de CARB dans peu de méthanol, est ajoutée goutte à goutte, sous agitation magnétique et à température ambiante. Le précipité formé, obtenu après filtration de la solution aqueuse, est séché puis caractérisé par son Pf et Rf.

Le schéma général de la formation des complexes d'inclusion peut être représenté comme suit:

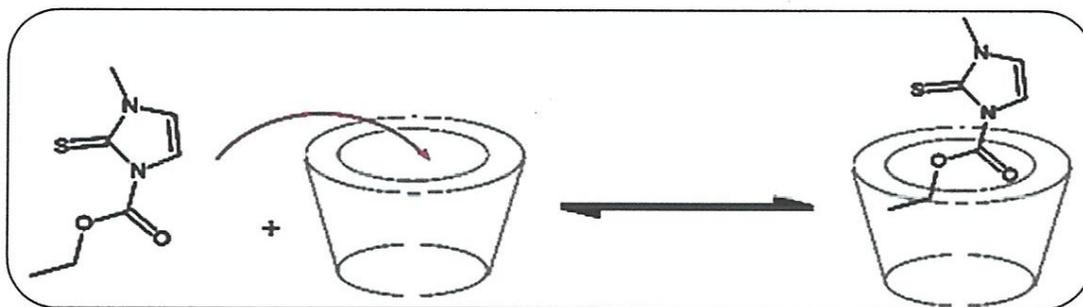


Figure 1.6. Illustration de l'inclusion du carbimazole dans la cavité de la CD

Nous présentons dans ce qui suit les résultats de l'étude de caractérisation des complexes formés à l'état solide. Notre démarche consistait à comparer les différents résultats obtenus pour conclure à la bonne formation des complexes.

Chromatographie sur couche mince (CCM)

Le tableau 1.3 regroupe les différentes valeurs des Rf calculés des complexes préparés à partir des cyclodextrines naturelle et modifiée, par les deux méthodes. Ces résultats reflètent la plus ou moins grande affinité de chaque constituant pour la phase stationnaire (plaque de silice) et la phase mobile (éluant).

Tableau 1.3. Valeurs des Rf des complexes préparés

Composé	C1	C2	C1'	C2'
Rf*	0.87	0.71	0.78	0.76

(*) Éluant isopropanol/ammoniaque (1/1)

C1≡Complexe β-CD-CARB préparé par la méthode de pétrissage

C2≡Complexe β-CD-CARB préparé par la méthode de co-précipitation

C1'≡Complexe HPβ-CD-CARB préparé par la méthode de pétrissage

C2'≡Complexe HPβ-CD-CARB préparé par la méthode de co-précipitation

✓ *Point de fusion (Pf)*

Les complexes CD-CARB sont des solides à points de fusion élevés. Le tableau 1.4 regroupe les différentes valeurs mesurées.

En comparant les valeurs des points de fusion de la β-CD (280 °C), de l'HPβ-CD (305 °C) et du CARB libre avec ceux de leurs complexes correspondants (Tableau 1.4), on constate qu'ils sont totalement différents, ce qui suppose que l'inclusion ait eu lieu.

Tableau 1.4. Valeurs des Pf des complexes préparés

Composé	C1	C2	C1'	C2'
Pf (°C)	104	270	330	325

C1≡Complexe β -CD-CARB préparé par la méthode de pétrissage

C2≡Complexe β -CD-CARB préparé par la méthode de co-précipitation

C1'≡Complexe HP β -CD-CARB préparé par la méthode de pétrissage

C2'≡Complexe HP β -CD-CARB préparé par la méthode de coprécipitation

✓ Spectres IR

La spectroscopie infrarouge mesure l'excitation vibrationnelle des atomes autour des liaisons qui les unissent suite à l'exposition à des radiations électromagnétiques. La position des bandes d'absorption dépend de la nature des groupes fonctionnels qui sont présents dans une molécule. Cette méthode d'analyse permet d'étudier l'arrangement des atomes et les distances interatomiques.

L'étude par IR a été réalisée pour déceler l'éventuelle interaction entre le CARB et les CD, conduisant à confirmer la formation des complexes d'inclusion.

Pour la caractérisation des complexes par IR, nous avons choisi les complexes formés par la méthode de pétrissage C1 et C1' obtenus à partir de la β -CD et de l'HP β -CD, respectivement. Notre méthodologie consistait à comparer les spectres du CARB libre, de la β -CD ou de l'HP β -CD avec ceux de leurs complexes correspondants.

Les figures 1.7 et 1.8 représentent la superposition des spectres IR du CARB, de la β -CD et de l'HP β -CD et de leurs complexes correspondants, respectivement.

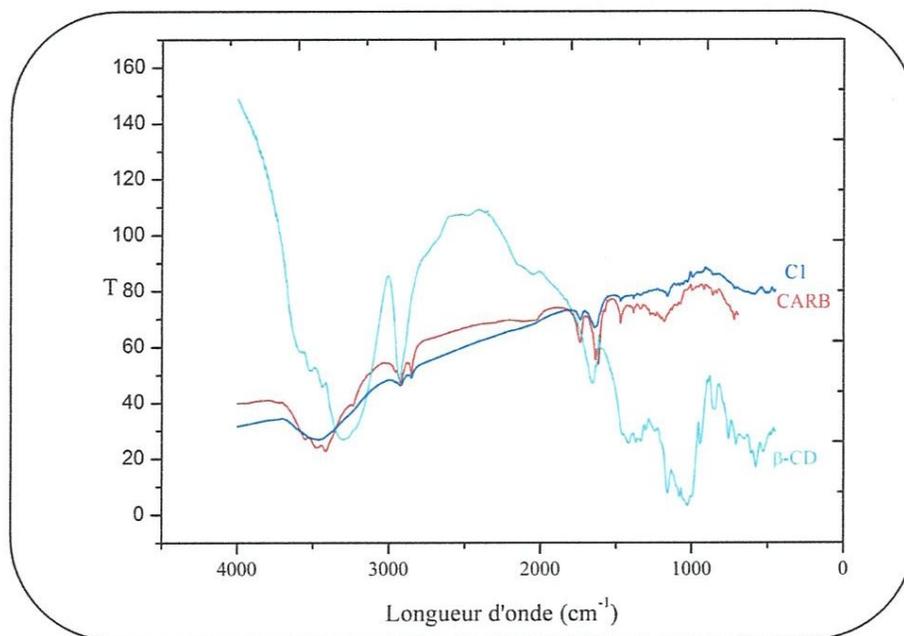


Figure 1.7. Superposition des spectres IR du CARB (—), de la β -CD (—) et du complexe C1 (—)

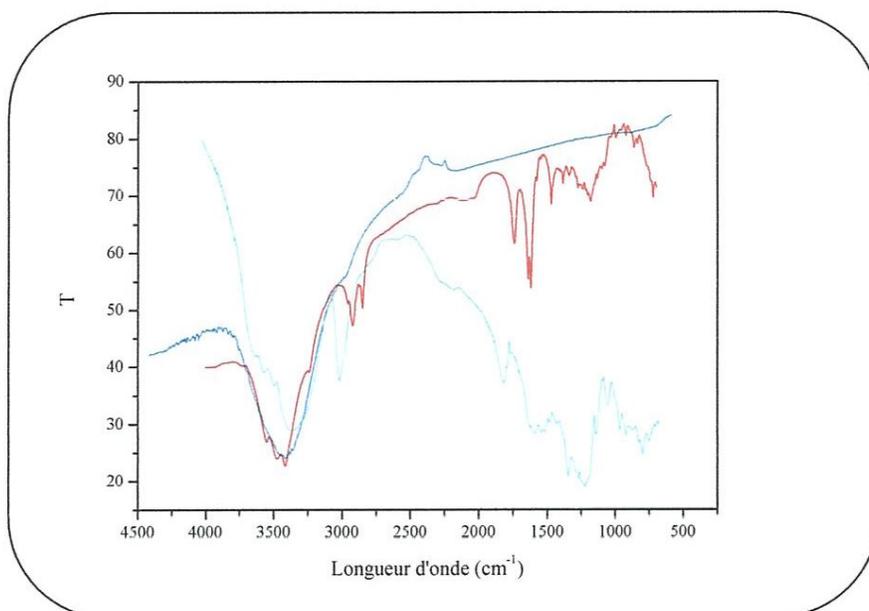


Figure 1.8. Superposition des spectres IR du CARB (—), de l'HP β -CD (—) et du complexe C1' (—)

CHAPITRE 2. MESURE DE L'HYDROSOLUBILITE

1. GENERALITES

La lipophilie peut se comprendre comme étant une mesure de la tendance relative d'un soluté à préférer un environnement non aqueux à un environnement aqueux. De ce fait elle joue un rôle important dans le comportement biologique et physico-chimique de nombreuses molécules organiques [1]. La lipophilie traduit le partage d'un soluté entre l'eau et un solvant peu polaire, le plus souvent l'eau et l'octanol ($\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-OH}$), qui reproduit de manière simplifiée la structure des lipides biologiques.

Pour évaluer les effets imputables à la lipophilie, on détermine le coefficient de partage, ou plus communément le logarithme du coefficient de partage entre une phase aqueuse et une phase lipophile.

Le LogP est égal au logarithme du rapport des concentrations de la substance étudiée dans l'octanol et dans l'eau.

$$\text{LogP} = \text{Log} (C_{\text{oct}}/C_{\text{eau}}) \quad (1)$$

Cette valeur permet d'appréhender le caractère hydrophile ou hydrophobe (lipophile) d'une molécule. En effet, si le LogP est positif, cela exprime le fait que la molécule considérée est bien plus soluble dans l'octanol que dans l'eau, ce qui reflète son caractère lipophile, et inversement. Un LogP nul signifie que la molécule est aussi soluble dans un solvant que dans l'autre [2].

Concentration	P	Log P	Composé
$C_{\text{oct}} > C_{\text{eau}}$	> 1	> 0	Lipophile
$C_{\text{oct}} < C_{\text{eau}}$	< 1	< 0	Hydrophile

L'hydrosolubilité des complexes préparés est un facteur important en ce qui concerne leur efficacité en tant qu'antithyroïdiens. En effet pour pouvoir être actifs au niveau des cellules, ces antithyroïdiens potentiels doivent dans un premier temps être véhiculés jusqu'à ces dernières. Cela ne pourra être fait que s'ils possèdent une hydrosolubilité suffisante.

2. DETERMINATION DE L'HYDROSOLUBILITE

La méthode des flacons agités est la plus classique et la plus fiable des méthodes de détermination du LogP. Cette méthode consiste à mélanger une quantité connue de soluté dans un volume connu d'octanol et d'eau, puis de mesurer la distribution du soluté dans chaque solvant. La méthode la plus courante pour mesurer cette distribution est la spectroscopie UV/Visible.

L'hydrosolubilité de l'antithyroïdien de synthèse étudié et de ses complexes d'inclusion a été mesurée par la méthode dite des flacons agités.

Nous avons préparé des solutions de concentration de l'ordre de 10^{-5} M du médicament antithyroïdien CARB et de ses complexes C1 avec la β -CD et C1' avec l'HP β -CD dans l'octanol. Nous avons prélevé par la suite 2.5 ml de chacune de ces solutions et on y a ajouté le même volume d'eau. Nous avons agité par un appareil ultrason (UP50 H) pendant 5 minutes. Les deux phases ont été ensuite séparées par centrifugation et les mesures des absorbances aux longueurs d'onde correspondantes ont été effectuées par un spectrophotomètre UV-Visible à double faisceau Shimadzu model UV1800.

Les résultats obtenus sont rassemblés dans le tableau 2.1 suivant:

Tableau 2.1. Résultats des mesures de l'hydrosolubilité du carbimazole et de ses complexes d'inclusion

Composé	P	Log P
CARB	2.533	0.403
C1	0.709	-0.149
C1'	0.616	-0.210

CARB=carbimazole

C1=Complexe β -CD-CARB préparé par la méthode de pétrissage

C1'=Complexe HP β -CD-CARB préparé par la méthode de pétrissage

La solubilité des complexes d'inclusion des CD peut varier considérablement en fonction de la molécule invitée. L'ordre des solubilités peut être très différent de celui des CD non-complexées. Ainsi quelques composés forment des complexes peu solubles ou même insolubles dans l'eau, tandis que d'autres complexes sont parfois plus solubles que les CD non-complexées.

Les résultats regroupés au tableau 2.1 montrent que le carbimazole a un $\text{Log } p > 0$ et confirment ainsi le fait qu'il soit liposoluble.

L'hydrosolubilité du carbimazole, médicament antithyroïdien, objet de cette étude, se trouve améliorée suite à sa complexation avec la β -CD et l'HP β -CD par diminution du $\text{Log } P$. On peut constater en plus de l'amélioration de l'hydrosolubilité que, cette dernière est plus importante pour le complexe formé avec l'HP β -CD par rapport au complexe formé avec la β -CD.

3. CONCLUSION

Les résultats de l'étude de la mesure de l'hydrosolubilité nous ont permis de confirmer que la formation des complexes d'inclusion permet d'améliorer l'hydrosolubilité du médicament étudié, et ont pu démontrer l'importance de la nature de la cyclodextrine sur l'amélioration de l'hydrosolubilité.

4. REFERENCES

[1] Renxiao W., Ying G., Luhua L.: J. Chem. Inf. Compta. Sci. 37: 615-621 (1997)

[2] Carpy A.: Importance de la lipophilie en modélisation moléculaire. Analysis magazine. 18-21(1999)

CONCLUSION GENERALE

CONCLUSION GENERALE

En vue de l'intérêt thérapeutique du carbimazole, un antithyroïdien de synthèse commercialisé, et sa solubilité limitée et aux cyclodextrines et leur capacité à former des complexes d'inclusion, il nous a semblé important de tenter notre contribution en essayant de former des complexes d'inclusion entre ce médicament et des cyclodextrines naturelles (la β -CD) et modifiées (l'HP β -CD), afin d'augmenter son hydrosolubilité.

Dans un premier temps, le carbimazole a fait l'objet d'extraction du principe actif à partir de formulation médicamenteuse commercialisée. Le composé isolé a fait l'objet d'une étude détaillée en déterminant différentes caractéristiques physicochimiques et spectrales dans le but d'élucider sa structure.

Les propriétés physicochimiques des complexes préparés ont fait l'objet d'une étude détaillée en solution et à l'état solide. Plusieurs types de caractérisation ont été utilisés. Chacune de ces caractérisations a apporté plusieurs éléments soutenant la thèse de l'inclusion du carbimazole au sein des cavités des β -CD et d'HP β -CD.

Une autre étude concernant la mesure de l'hydrosolubilité des complexes a été entreprise. Les résultats obtenus indiquent que la complexation agit en faveur de l'amélioration de l'hydrosolubilité.

PROTOCOLES EXPERIMENTAUX

PROTOCOLES EXPERIMENTAUX

1. CONDITIONS GENERALES

Les conditions indiquées ci-dessous sont valables pour tous les chapitres.

1.1. Solvants et réactifs

Les produits chimiques et solvants utilisés lors de toutes les études effectuées ont été employés sans autre purification, sauf indication contraire.

1.2. Méthodes de caractérisation

- ✓ Les chromatographies sur couche mince (CCM) ont été réalisées sur feuilles d'aluminium (0.2 mm) recouvertes de gel de silice Merck 60 F354. Les spots sont détectés à la lumière UV, et révélés par pulvérisation de ninhydrine dans l'éthanol, puis chauffage.
- ✓ Les points de fusion non corrigés ont été déterminés à l'aide d'un banc Kofler.
- ✓ Les spectres UV-visible ont été obtenus sur un spectrophotomètre UV-visible à double faisceau Shimadzu model UV1800, à température ambiante.
- ✓ Les spectres IR ont été effectués sur un spectromètre Perkin-Elmer FT-IR spectrometer, les échantillons sont analysés sous forme de pastilles avec KBr, les bandes d'absorption sont exprimées en cm^{-1} .

2. EXTRACTION ET CARACTERISATION DU PRINCIPE ACTIF

L'extraction liquide-liquide est une technique de séparation, consistant en une extraction par transfert entre deux phases liquides. Elle repose sur la différence d'affinité d'un soluté entre deux phases non-miscibles entre elles. L'extraction liquide-liquide permet de transférer un soluté d'une phase liquide à une autre phase liquide non-miscible à la première.

Le principe actif a été isolé par extraction liquide-liquide (eau/dichlorométhane), à partir de la formulation médicamenteuse commercialisée CROVIMAZOL contenant 5×50 mg/boîte de carbimazole.

Ainsi, après extraction, décantation, séchage, évaporation et recristallisation dans l'éthanol, nous avons isolé le:

CARB≡ 3- méthyl-2-thioxo-4-imidazoline-1-carboxylate d'éthyle (carbimazole)

M = 186 g/mol [C₇H₁₀N₂O₂S]

Pf = 88-90°C

Rf = 0.38 (Dichlorométhane/methanol 95/5)

IR (KBr,ν en cm⁻¹): 3200 (NH), 1780-1700 (CO), 1300-1000 et 950-800 (C-H)

3. ETUDE EN SOLUTION DES COMPLEXES D'INCLUSION

Nous relatons dans cette partie de travail, les différentes méthodes utilisées ayant conduit à l'observation et à l'étude en solution de la complexation du CARB par la CD naturelle et modifiée, β-CD et HPβ-CD, respectivement.

3.1. Mise en évidence de la formation des complexes d'inclusion CD-CARB

Les solutions du CARB, de chaque CD et de leurs complexes correspondants sont préparées dans le dichlorométhane à une concentration de 10⁻⁵ M.

Les essais effectués ont été réalisés à température ambiante et ont permis d'obtenir les spectres UV-VIS du CARB, des CD et de leurs complexes correspondants.

3.2. Détermination de la stœchiométrie des complexes CD-CARB

Les solutions du CARB et de la β-CD (ou de l'HPβ-CD) ont été préparées dans le même solvant et à la même concentration (10⁻⁵ M).

On fait varier la teneur en CD dans le mélange à analyser, de la façon représentée ci-dessous, de sorte qu'on obtienne les fractions molaires de CD (FM_{CD}), indiquées dans le tableau suivant:

Tableau 1. Fractions molaires de la CD utilisées dans la méthode des variations continues

Solution	1	2	3	4	5
V_{CD} (ml)	1.00	2.00	2.50	3.00	4.00
V_{CARB} (ml)	4.00	3.00	2.50	2.00	1.00
FM_{CD}	0.20	0.40	0.50	0.60	0.80

Les données tirées des spectres UV-VIS obtenus nous ont permis de tracer les courbes des variations continues et d'en déduire la stœchiométrie de chaque complexe.

4. ETUDE A L'ETAT SOLIDE DES COMPLEXES D'INCLUSION

La préparation des complexes d'inclusion de l'antithyroïdien de synthèse carbimazole dans la β -CD et dans l'HP β -CD a été réalisée par deux méthodes: la méthode de co-précipitation et la méthode de pétrissage dans le rapport molaire 1:1 (CD:CARB).

- ✓ *Pétrissage:* Dans cette méthode la CD (β -CD ou HP β -CD) n'est pas dissoute; elle se mélange avec une petite quantité d'eau dans laquelle le carbimazole a été rajouté préalablement. Grâce au fait que le complexe CD-eau est habituellement moins favorable que celui avec la molécule invitée et, parce que leurs structures cristallines sont différentes, la réaction d'inclusion peut avoir lieu. Nous avons obtenu une pâte qu'on a séchée, puis caractérisée (Rf, Pf et IR).
- ✓ *Co-précipitation:* Ces complexes ont été préparés à partir d'une solution à 2% de β -CD (ou d'HP β -CD) dans l'eau et sous agitation magnétique à température ambiante et de carbimazole (CARB) dissout dans peu de méthanol. La réaction a été suivie par UCM qui montre l'apparition d'un nouveau produit et la disparition des précurseurs. Le précipité formé après 24 heures est séché puis caractérisé (Rf, Pf).

Nous avons isolé:

C1≡Complexe β-CD-CARB préparé par la méthode de pétrissage

M = 1321 g/mol

Rf = 0.87 (isopropanol/ammoniaque)

Pf = 104 °C

IR (KBr, ν en cm⁻¹): 3241 (NH), 1640 (CO)

C2≡Complexe β-CD-CARB préparé par la méthode de co-précipitation

M = 1321 g/mol

Rf = 0.71 (isopropanol/ammoniaque)

Pf = 270 °C

C1'≡Complexe HPβ-CD-CARB préparé par la méthode de pétrissage

M = 1646 g/mol

Rf = 0.78 (isopropanol/ammoniaque)

Pf = 330 °C

IR (KBr, ν en cm⁻¹): 3230 (NH)

C2'≡Complexe HPβ-CD-CARB préparé par la méthode de co-précipitation

M = 1646 g/mol

Rf = 0.76 (isopropanol/ammoniaque)

Pf = 325 °C

5. MESURE DE L'HYDROSOLUBILITE

Des solutions de concentration de l'ordre de 10^{-5} M de carbimazole et de ses complexes correspondants (C1 et C1') dans l'octanol ont été préparées. 2.5ml de chaque solution ont été ajoutés au même volume d'eau et le mélange ainsi obtenu est agité par un appareil ultrason (UP50 H) pendant 5 minutes. Les deux phases sont par la suite séparées par centrifugation et les mesures des absorbances sont réalisées par un spectrophotomètre UV-Visible à double faisceau Shimadzu model UV 1800.



Préparation des complexes par pétrissage



Agitation des solutions avec un appareil ultrason



Etude en solution par spectrophotomètre UV-Visible



Evaporation du solvant avec le rotavap



Détermination de la stoechiométrie