

11/540.791
7540,099

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur
Université 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 :

Boutarous Khair-eddine

Khelaifia Attahir



**PRÉPARATION, CARACTÉRISATION ET ÉVALUATION DE
L'ACTIVITÉ BIOLOGIQUE DE NOUVELLES FORMULATIONS
D'UNE SÉRIE D'HYPOGLYCÉMIANTS COMMERCIALISÉS À
BASE DE CYCLODEXTRINES**

Sous la Direction de :
Encadreur: Dr. FISLI H.
Co-encadreur: Dr. CHEGHIB N.

Juin 2014

CHAPITRE 1. CARACTERISATION DES SULFAMIDES HYPOGLYCEMIANTS ET DE LEURS COMPLEXES D'INCLUSION

1. CARACTERISATION DES SULFAMIDES HYPOGLYCEMIANTS

Du fait de l'impossibilité de réaliser la synthèse des sulfamides hypoglycémiants choisis, nous avons procédé à l'extraction des principes actifs à partir de formulations médicamenteuses commercialisées.

Les sulfamides hypoglycémiants choisis (Figure 1.1) sont :

- ✓ la 1-[(4-{2-[(5-chloro-2-méthoxybenzoyl) amino] éthyl} phényl) sulfonyl]-3-cyclohexylurée (glibenclamide, 1S))
- ✓ La 1-[(4-[2-(3-éthyl-4-méthyl-2-oxo-3-pyrroline- 1 carboxamido) éthyl] phényl) sulfonyl]-3-(trans-4-méthylcyclohexyl) urée (glimépiride, 2S)
- ✓ La 1- (3, 3a, 4, 5, 6, 6a-Hexahydro-1H-cyclopenta[c]pyrrol-2-yl) -3- (4-methylphenyl) sulfonylurée (gliclazide, 3S).

Les préparations pharmaceutiques GLIBIL 5, IRIS et DIAPHAG contenant 5×100, 3×30 et 80×60 mg/boite de glibenclamide, glimépiride et gliclazide, respectivement, ont été achetées de pharmacies locales.

Ces composés ont été isolés sous forme de cristaux blancs à jaunâtres. Ils sont caractérisés par leurs rapports frontaux (Rf), leurs points de fusion (Pf) et leurs spectres IR.

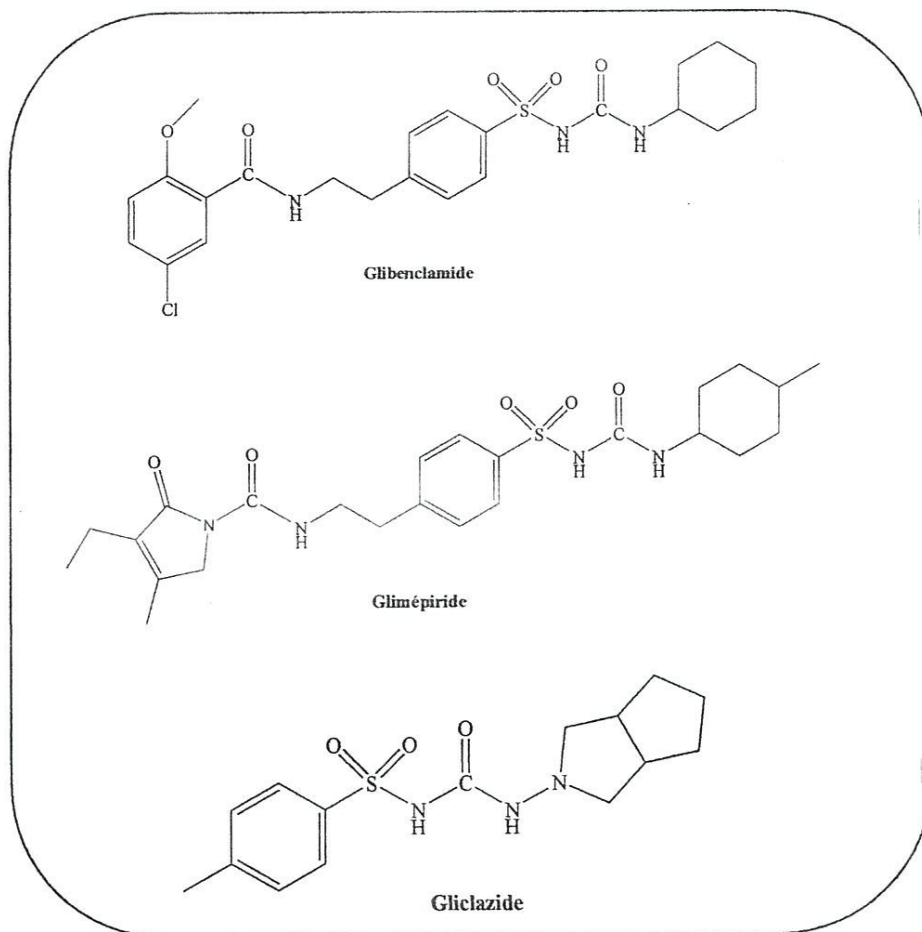


Figure 1.1. Structure des sulfamides hypoglycémisants étudiés

✓ *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 d'un composé dans un éluant donné est une grandeur caractéristique.

Les sulfamides isolés sont visibles sous UV et sont révélées à la ninhydrine. L'éluant employé est le dichlorométhane.

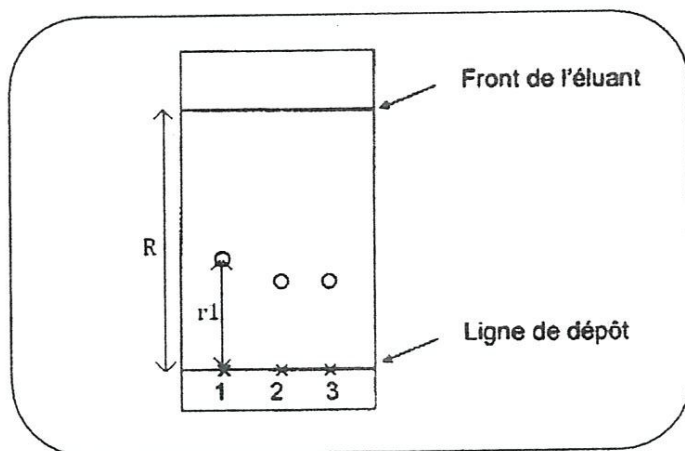


Figure 1.2. Plaque CCM

Le tableau 1.1 regroupe les différentes valeurs des R_f des produits isolés. 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 1.1. Valeurs des R_f des sulfamides hypoglycémiant étudiés

Composé	R_f (*)
1S [C ₂₃ H ₂₈ ClN ₃ O ₅ S] 490.62 g/mol	0.58
2S [C ₂₄ H ₃₄ N ₄ O ₅ S] 494 g/mol	0.61
3S [C ₁₅ H ₂₁ N ₃ O ₃ S] 323.41 g/mol	0.83

(*) éluant Dichlorométhane

✓ Point de fusion (Pf)

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 [1].

Le tableau.1.2 regroupe les différentes valeurs des Pf des produits isolés. Les points de fusion déterminés se trouvent en parfait accord avec les données tirées de la littérature.

Tableau 1.2. Valeurs des Pf des sulfamides hypoglycémiants étudiés

Composé	Pf (°C)
1S	170
2S	198
3S	165

✓ *Spectres IR*

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

Le tableau.1.3 regroupe les différentes caractéristiques spectrales des produits isolés.

Tableau 1.3. Caractéristiques spectrales des sulfamides hypoglycémiants étudiés

Composé	IR (KBr, ν en cm^{-1})		
	NH	C=O	NH
1S	3369,3316	1716	1340,1160
2S	3370,3289	1708	1364,1154
3S	3273	1710	1348,1165

1S=1-[(4-{2-[(5-chloro-2-méthoxybenzoyl)amino]éthyl}phényl)sulfonyl]-3-cyclohexylurée (glibenclamide)

2S=1-[[p-[2-(3-éthyl-4-méthyl-2-oxo-3-pyrrolinc-1-carboxamido)éthyl]phényl] sulfonyl]-3-(trans-4-méthylcyclohexyl)urée (glimépiride)

3S=1-(Hexahydrocyclopenta(c)pyrrol-2(1H)-yl)-3-(p-tolylsulfonyl)urée (gliclazide)

L'étude des spectres IR et leur comparaison avec ceux issues de la littérature ont apporté une preuve supplémentaire, et ont par la suite confirmé l'identité des structures obtenues.

2. CARACTERISATION DES COMPLEXES D'INCLUSION

La formation d'un complexe d'inclusion entre une β -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 à l'utilisation de la CCM, des points de fusion et de la spectroscopie IR. Notre démarche consistait à comparer les différents résultats obtenus pour conclure à la bonne formation des complexes.

✓ Chromatographie sur couche mince (CCM)

Le tableau 1.4 regroupe les différentes valeurs des R_f calculés des complexes préparés. La différence entre les valeurs indique clairement qu'il s'agit de composés différents.

Tableau 1.4. Valeurs des Rf des complexes préparés

Composé	Rf (*)
1C 2760.62 g/mol	0.45
2C 2764 g/mol	0.48
3C 2593.41 g/mol	0.44

1C≡Complexe glibenclamide-β-CD

2C≡Complexe glimépiride-β-CD

3C≡Complexe gliclazide-β-CD

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

✓ Point de fusion (P_f)

Les complexes sulfamides hypoglycémiant-β-CD sont des solides à points de fusion élevés, généralement compris entre ceux des sulfamides libres et de la β-CD (280°C). Le tableau 1.5 regroupe les différentes valeurs mesurées.

En comparant les valeurs des points de fusion de la β-cyclodextrine et des sulfamides hypoglycémiant libres avec ceux de leurs complexes correspondants, on constate qu'ils sont totalement différents, ce qui suppose que l'inclusion ait eu lieu.

Tableau 1.5. Valeurs des Pf des complexes préparés

Composé	Pf (°C)
1C	250
2C	260
3C	270

1C≡Complexe glibenclamide-β-CD

2C≡Complexe glimépiride-β-CD

3C≡Complexe gliclazide-β-CD

✓ Spectres IR

Les spectres des sulfamides hypoglycémiantes libres et de la β-CD sont comparés à ceux obtenus avec les complexes préparés.

L'étude par IR a été réalisée pour voir si l'interaction entre les trois sulfamides et les β-CD a donné lieu à la formation de complexes d'inclusion.

Les spectres IR (Figures 1.3, 1.4 et 1.5) comparés de chaque sulfamide, de la β-CD et du complexe S-CD montrent des différences remarquables.

β

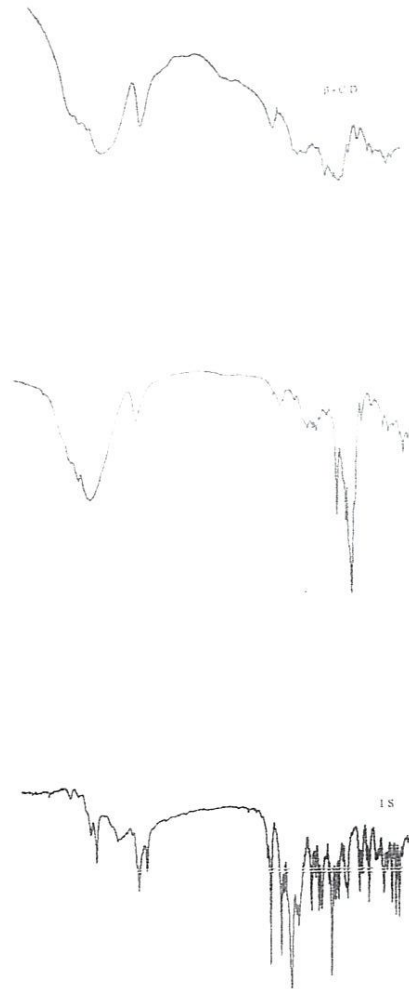


Figure 1.3. Spectres IR du 1S, de la β -CD et du 1C



Figure 1.4. Spectres IR du 2S, de la β -CD et du 2C

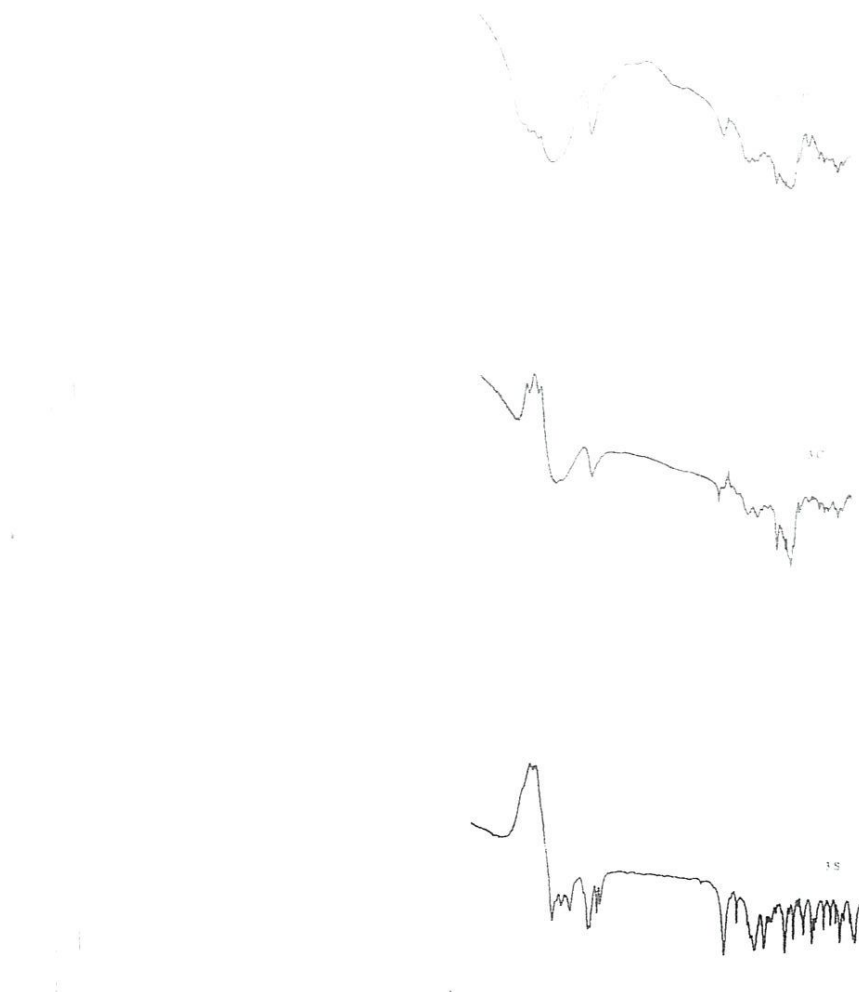


Figure 1.5. Spectres IR du 3S, de la β -CD et du 3C

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.

Les spectres obtenus montrent une superposition des spectres de chacun des constituants si on étudie leur mélange physique, en revanche les spectres des complexes présentent généralement un léger déplacement des pics. Ces modifications discrètes indiquent qu'il n'y a pas de liaisons chimiques fortes (type liaison covalente) entre les composés, mais

seulement une interaction: différence de géométrie dans la molécule invitée, dissociation de liaisons hydrogènes intermoléculaires dans cette même molécule, ou encore établissement de liaisons hydrogènes de faible énergie entre les deux composés. Chaque bande du spectre caractérise un groupe fonctionnel de la molécule, et leur déplacement permet de désigner quelle partie de la molécule invitée interagit avec la CD [2]. L'analyse par spectrométrie infrarouge a permis, de par l'absence de superposition des bandes caractéristiques de l'hôte et de l'invité, de déterminer les bandes d'absorption spécifiques à chaque sulfamide. Les principales bandes caractéristiques de chaque sulfamide se trouvent également dans les spectres des complexes quoique avec un léger décalage en plus d'un changement de l'intensité. Il n'y a aucunes nouvelles bandes observées dans les spectres, ce qui confirme qu'aucunes nouvelles liaisons chimiques n'ont été formées entre les sulfamides et les CD. Ceci est généralement le résultat de l'interaction entre la molécule invitée et la CD hôte et s'explique par l'établissement de liaisons non covalentes entre la molécule invitée et la CD dans le système complexé.

3. CONCLUSION

Nous avons utilisé les β -cyclodextrines, comme molécules cages pour l'inclusion d'une série de sulfamides ayant une activité hypoglycémiant très significative. L'étude structurale des sulfamides hypoglycémiant, glibenclamide, glimépiride et gliclazide, de la β -cyclodextrine et de leurs complexes potentiels se révèle être indispensable pour la compréhension du mécanisme de complexation. Les caractéristiques physico-chimiques et spectrales des sulfamides hypoglycémiant et de leurs complexes d'inclusion à l'état solide (Rf, Pf et IR) nous ont permis d'élucider les structures propres des composés caractérisés et de conclure à la bonne formation des complexes d'inclusion.

4. REFERENCES

[1] Patani G.A., LaVoie E.J. : J. Chem. Rev. 96: 3147-3176 (1996)

[2] Yung-Huang L., Chu-Ping H., Tong-Rong T.,Thau-Ming C. : J. Food drug anal. 14(3): 230-235 (2006)

CHAPITRE 2.

MESURE DE L'HYDROSOLUBILITE

L'organisme humain est assimilé à plusieurs compartiments aqueux séparés entre eux par des membranes cellulaires lipidiques qu'un médicament doit traverser pour passer d'un compartiment à un autre. L'hydrosolubilité d'un médicament est un facteur important en ce qui concerne son efficacité. En effet pour pouvoir être actif au niveau des cellules, un médicament doit dans un premier temps être véhiculé jusqu'à ces dernières. Cela ne pourra être fait que s'il possède une hydrosolubilité suffisante. Nous décrivons dans ce chapitre l'ensemble des résultats et discussion des travaux de mesure de l'hydrosolubilité des sulfamides hypoglycémiants et de leurs complexes préparés.

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur
Université 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 :
Boutarous Khair-eddine
Khelaifia Attahir

**PRÉPARATION, CARACTÉRISATION ET ÉVALUATION DE
L'ACTIVITÉ BIOLOGIQUE DE NOUVELLES FORMULATIONS
D'UNE SÉRIE D'HYPOGLYCÉMIANTS COMMERCIALISÉS À
BASE DE CYCLODEXTRINES**

Sous la Direction de :
Encadreur: Dr. FISLI H.
Co-encadreur: Dr. CHIEGHIB N.

Juin 2014



Je dédie ce travail à :
Mes très chers Parents,
A toute ma famille,
A tous mes amis,
A tous ceux qui m'ont soutenu et
encouragé pendant mes études de
près ou de loin,
A tous ceux qui me sont chers.



REMERCIEMENTS

Nos sincères remerciements iront à nos encadreur et co-encadreur : les docteurs M^{me} FISLI H. et M^{lle} CHEGHIB N., qui ont rivalisées de qualités humaines et de compétences scientifiques tout au long de ce travail.

Nous souhaitons remercier les membres du jury pour l'attention qu'ils ont porté à notre travail.

Nous tenons à remercier M. le Pr. ABDAOUI Mohamed, Directeur du laboratoire de Chimie Appliquée (LCA), pour nous avoir autorisés et bien accueillis dans son laboratoire.

Nous tenons également à remercier toutes les personnes qui nous ont aidés à réaliser les tests et les analyses de caractérisation: M. le Dr. CHELAGHMA Mohamed Lyamine pour la centrifugation, M^{elle} NIGRI Soraya pour avoir réalisé les spectres IR et M. DERABLA Tahar pour la réalisation des mesures des points de fusion.

Nous remercions tout particulièrement M. le Pr. BEN OUIARETH Djamel Eddine, Doyen de la faculté de la SNV, M^{elle} HAMDIKENE Sabrina, enseignante en biologie, M^{me} Bahia, M^{me} HIMEUR Ratiba et M^{me} BOUGHAZI Ghania, techniciennes aux laboratoires de chimie et de biologie ainsi que M. MENASRI Abd'Enour et Asmapour l'aide et le support qu'ils nous ont apportés par leurs conseils et leur gentillesse et sans qui la partie biologique n'aurait pas eu lieu.

TABLE DES MATIERES

TABLE DES MATIERES.....	I
LISTE DES ABREVIATIONS.....	IV
LISTE DES FIGURES ET SCHEMAS	V
LISTE DES TABLEAUX	VII
INTRODUCTION GENERALE	1

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE 1

DIABETE SUCRE

1. MECANISMES CELLULAIRES DE LA SECRETION D'INSULINE.....	5
1.1. Homéostasie du glucose	5
1.2. Pancréas.....	6
1.3. Insuline	7
1.3.1. Structure.....	7
1.3.2. Mode d'action.....	8
2. DIABETE SUCRE.....	8
2.1. Etymologie	8
2.2. Epidémiologie	8
2.3. Définition.....	9
2.4. Diagnostic.....	9
2.5. Types de diabète.....	10
2.5.1. Diabète de type 1	10
2.5.1.1. Définition.....	10
2.5.1.2. Causes.....	10
2.5.1.3. Prévention.....	10
2.5.1.4. Traitement.....	10
2.5.2. Diabète de type 2.....	11
2.5.2.1. Définition.....	11
2.5.2.2. Causes et personnes à risque.....	11
2.5.2.3. Symptômes.....	11
2.5.2.4. Diagnostic.....	12

2.5.2.5. Traitement.....	12
2.5.2.6. Prévention.....	12
2.6. Complications du diabète	12
2.7. Stratégie médicamenteuse du contrôle glycémique	13
3. REFERENCES.....	14

CHAPITRE 2

SULFAMIDES HYPOGLYCEMIANTS

1. SULFAMIDES OU SULFONYLUREES ?.....	16
2. SULFAMIDES HYPOGLYCEMIANTS	17
2.1. Historique	17
2.2. Molécules de première, de deuxième et de troisième génération.....	18
2.3. Indication.....	20
2.4. Effets et mécanisme d'action.....	21
2.5. Métabolisme	21
2.6. Pharmacodynamie des effets utiles en clinique.....	22
2.7. Effets secondaires.....	22
2.8. Choix d'une sulfonylurée.....	23
3. REFERENCES.....	24

CHAPITRE 3

CYCLODEXTRINES ET LEURS COMPLEXES D'INCLUSION

1. CYCLODEXTRINES	26
1.1. Structure	26
1.2. Caractéristiques physicochimiques	27
1.3. β -cyclodextrine naturelle.....	27
1.4. Cyclodextrines modifiées.....	27
1.5. Toxicité.....	28
1.6. Applications.....	28
2. COMPLEXES D'INCLUSION	29
2.1. Généralités sur la complexation	29
2.1.1. Formation d'un complexe d'inclusion.....	29
2.1.2. Conséquences de la complexation	30

2.2. Méthodes de caractérisation des complexes d'inclusion	30
2.3. Préparation des complexes d'inclusion	31
2.3.1. Complexation en solution.....	31
2.3.2. Complexation en système hétérogène.....	31
2.4. Exemples de complexes d'inclusion	32
3. REFERENCES	33

RESULTATS ET DISCUSSION

CHAPITRE 1

CARACTERISATION DES SULFAMIDES HYPOGLYCEMIANTS ET DE LEURS COMPLEXES D'INCLUSION

1. CARACTERISATION DES SULFAMIDES HYPOGLYCEMIANTS.....	35
2. CARACTERISATION DES COMPLEXES D'INCLUSION.....	39
3. CONCLUSION	45
4. REFERENCES.....	46

CHAPITRE 2

MESURE DE L'HYDROSOLUBILITE

1. GENERALITES	48
2. DETERMINATION DE L'HYDROSOLUBILITE.....	49
3. CONCLUSION	50
4. REFERENCES.....	51

CHAPITRE 3

EVALUATION DE L'ACTIVITE BIOLOGIQUE

1. TEST DE L'ACTIVITE ANTI-HYPERGLYCEMIANTE.....	53
2. CONCLUSION	55
3. REFERENCES.....	56

CONCLUSION GENERALE

1. CONCLUSION GENERALE	57
------------------------------	----

PROTOCOLES EXPERIMENTAUX

1. CONDITIONS GENERALES	59
1.1. SOLVANTS ET REACTIFS	59
1.2. METHODES DE CARACTERISATION	59
2. EXTRACTION ET CARACTERISATION DES PRINCIPES ACTIFS	59
3. ESSAI DE FORMULATION AVEC LA β -CYCLODEXTRINE	61
4. MESURE DE L'HYDROSOLUBILITE	62
5. TESTS BIOLOGIQUES	63

ANNEXE

ANNEXE.....	64
-------------	----

LISTE DES ABREVIATIONS

HGPO	Test d'Hyperglycémie Provoquée Orale
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
DID	Diabète Insulinodépendant
DNID	Diabète Non Insulinodépendant
HbA _{1c}	Hémoglobine Glyquée (glycosylée)
UKPDS	United Kingdom Prospective Diabetes Study
CD	Cyclodextrine(s)
α -, β - et γ -CD	Alpha, Bêta et Gama cyclodextrine(s)
RMN	Spectrométrie de résonance magnétique nucléaire
IR-TF	Infrarouge à transformé de Fourier
UV	Ultraviolet
CENS	Chloroéthylnitrososulfamides
CENU	Chloroéthylnitrosourées
S	Sulfamide hypoglycémiant
1S	Glibenclamide
2S	Glimépiride
3S	Gliclazide
C	Complexe sulfamide hypoglycémiant- β -cyclodextine (S-CD)
1C	Complexe glibenclamide-CD
2C	Complexe glimépiride-CD
3C	Complexe gliclazide-CD
CCM	Chromatographie sur couche mince
Pf	Point de fusion
Rf	Rapport frontal
Log P	Coefficient de partage

LISTE DES FIGURES ET SCHEMAS

Figure 1.1. Les deux cas de la régulation de la glycémie autour de la valeur consigne.....	6
Figure 1.2. Les systemes endocriniens du pancreas.....	7
Figure 1.3. Structure de l'insuline.....	7
Figure 1.4. Structure covalente de l'insuline.....	8
Figure 1.5. Le cercle universel bleu, symbole du diabète.....	8
Schéma 2.1. Famille des sulfamides.....	16
Figure 2.1. Sulfanilamide	16
Figure 2.2. Groupe sulfonyle.....	17
Figure 2.3. Structures chimiques des sulfamides de première génération.....	18
Figure 2.4. Structures chimiques des sulfamides de deuxième génération.....	19
Schéma 2.2. Synthèse du glimépiride.....	20
Figure 3.1. Structure des cyclodextrines.....	26
Figure 3.2. Localisation des hydroxyles sur des unités α -D-glucopyranose de la CD.....	28
Figure 3.3. Cavité d'une CD - effet d'encapsulation.....	30
Figure 3.4. Exemple de complexe d'inclusion CENS- β -CD (issu de la pipéridine).....	32
Figure 3.5. Exemple de complexe d'inclusion CENS d'ainoester- β -CD (issu de la L-glycinate de méthyle).....	32
Figure 1.1. Structure des sulfamides hypoglycémisants étudiés.....	36
Figure 1.2. Plaque CCM.....	37
Figure 1.3. Spectres IR du 1S, de la β -CD et du 1C.....	42
Figure 1.4. Spectres IR du 2S, de la β -CD et du 2C.....	43
Figure 1.5. Spectres IR du 3S, de la β -CD et du 3C.....	44
Figure 3.1. Opération de gavage.....	54
Figure 3.2. Mesure du taux de glycémie	55
Figure 3.3. Test anti-hyperglycémique (série 1 : eau physiologique, série 2 : S à dose de 80 mg, série 3 : 3C à dose de 80 mg, série 4 : 3C à dose de 500 mg).....	55

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 2.1. Pharmacodynamie des effets utiles en clinique.....	22
Tableau 3.1. Caractéristiques physicochimiques des principales CD natives.....	27
Tableau 1.1. Valeurs des Rf des sulfamides hypoglycémiants étudiés	37
Tableau 1.2. Valeurs des Pf des sulfamides hypoglycémiants étudiés	38
Tableau 1.3. Caractéristiques spectrales des sulfamides hypoglycémiants étudiés	39
Tableau 1.4. Valeurs des Rf des complexes préparés	40
Tableau 1.5. Valeurs des Pf des complexes préparés.....	41
Tableau 2.1. Résultats des mesures de l'hydrosolubilité des sulfamides hypoglycémiants.....	50
Tableau 2.2. Résultats des mesures de l'hydrosolubilité des complexes d'inclusion.....	50

INTRODUCTION GENERALE

INTRODUCTION GENERALE

A l'origine, le terme "diabète" désignait diverses maladies caractérisées par une élimination importante d'urines, une déshydratation et une soif intense [1]. Cette pathologie se distinguait par la saveur sucrée des urines et fut nommée diabète sucré [2,3]. Elle est répandue dans le monde où on dénombre 5 à 7% de la population mondiale [3] et l'on estime que plus de 5 millions d'Algériens souffrent de cette maladie [4].

Le diabète sucré est un groupe de maladies métaboliques caractérisées par une hyperglycémie chronique résultant d'un défaut de la sécrétion de l'insuline et/ou de l'action de cette hormone [1,2]. La maladie provoque de graves complications tardives, qui viendront altérer la vue, le système rénal, le système nerveux et la circulation sanguine. Essentiellement, l'appellation diabète sucré coiffe deux formes de la maladie: le diabète de type 1 et le diabète de type 2. Le diabète de type 2, la forme la plus fréquente, affecte environ 90% des diabétiques [5].

Au niveau des sociétés industrielles, les recherches et les tentatives en pharmacothérapie ont permis d'établir l'insulinothérapie pour lutter contre le diabète de type 1 et le contrôle du régime alimentaire associé à la prise de molécules antidiabétiques pour le traitement et la lutte contre le diabète de type 2 [6]. Le principal objectif du traitement par les antidiabétiques oraux disponibles pour le traitement du diabète de type 2 consiste à prévenir les complications diabétiques à courte et à longue échéance. Dans la plupart des cas, le contrôle glycémique préviendra l'apparition ou retardera la progression des complications à long terme.

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 [7].

Pour le diabète de type 2, le champ de recherche est encore ouvert. Tous les sulfamides hypoglycémiantes 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 [8-10]. 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 [11].

Dans le cadre de l'amélioration des propriétés physicochimiques d'une série de sulfamides hypoglycémiantes, nous envisageons la préparation de nouvelles formulations à base de cyclodextrines selon le plan de travail suivant:

- 1-l'extraction et la caractérisation d'une série d'hypoglycémiantes commercialisés;
- 2-la préparation et l'étude physicochimique de leurs complexes d'inclusion dans les cyclodextrines ;
- 3- et enfin, l'évaluation de l'activité biologique de certaines 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 le diabète, les sulfamides hypoglycémiantes et les cyclodextrines, respectivement. Dans la deuxième partie, qui est décomposée en trois chapitres, seront exposés les travaux réalisés et la discussion des résultats obtenus. Le premier chapitre décrira l'obtention des sulfamides hypoglycémiantes et la préparation de leurs 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. Le troisième chapitre s'attachera à présenter l'ensemble des résultats de l'étude de l'évaluation de l'activité biologique. Enfin, la dernière partie rendra compte des protocoles expérimentaux que nous avons menés concernant les axes détaillés dans la partie précédente.

REFERENCES

- [1] Calop J., Limat S., Fernandez C.: Pharmacie clinique et thérapeutique. 3ème Ed. Masson, Elsevier Masson, Paris. 417-427 (2008)
- [2] Rodier M.: Définition et classification du diabète. Médecine Nucléaire – Imagerie fonctionnelle et métabolique. 25(2): 5-18 (2001)
- [3] Sharma B., Viswanath G., Salunke R., Roy P.: Effects of flavonoid-rich extract from seeds of *Eugenia jambolana* (L.) on carbohydrate and lipid metabolism in diabetic mice. Food Chemistry. 110: 697-705 (2008)
- [4] Guermaz R., Zekri S., Hatri A., Kessal F., Brouri M.: Le diabète de type 2 en Algérie: poids actuel et à venir. La Revue de Médecine Interne. 29(1): S49-S50 (2008)
- [5] Johnson I.S.: Human insulin from recombinant DNA technology. American Association for the Advancement of Science. Science. 219(4585): 632-637 (1983)
- [6] Dey lucey M.D., Anoja S., Attele D.D.S., Chun-Su Yuan M.D.: Alternative therapies for type 2 diabetes. Alternative medicine Review. 7(1): 45-58 (2002)
- [7] Lipinski C.A., Lombardo F., Dominy B.W., Feeny P.J.: Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. Adv. Drug Delivery Rev. 23: 3-25 (1997)
- [8] Mutalik S., Anju P., Manoj K., Usha A.N.: Enhancement of dissolution rate and bioavailability of aceclofenac: a chitosan-based solvent change approach. Int. J. Pharm. 350(1-2): 279-290 (2008)
- [9] Özkan Y., Atay T., Dikman N., Isimer A., Aboul-Enein Y.H.: Improvement of water solubility and in vitro dissolution rate of gliclazide by complexation with β -cyclodextrin. Pharm. Acta. Helv. 74: 365-370 (2000)
- [10] Ammar H.O., Salama H.A., Ghorab M., Mahmoud A.A.: Formulation and biological evaluation of glimepiride-cyclodextrin-polymer systems. Int. J. Pharm. 309: 129-138 (2006)
- [11] Szejtli, J.: Medicinal applications of cyclodextrins. Med. Res. Rev. 14(3): 353-386 (1994)

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE 1.

DIABETE SUCRE

Parmi les pathologies affectant la population mondiale, on cite le plus souvent le paludisme, l'hypertension artérielle, différents cancers, le SIDA, l'hépatite C et dernièrement les encéphalopathies spongiformes transmissibles. De grands efforts ont été consentis, à juste titre, pour le dépistage, le traitement ou la prévention de ces fléaux. Mais on oublie souvent le diabète dont le coût humain et économique est, soit équivalent, soit très supérieur à celui de ces pathologies. peut-être plus médiatisées.

CHAPITRE 1. DIABETE SUCRE

1. MECANISMES CELLULAIRES DE LA SECRETION D'INSULINE

1.1. Homéostasie du glucose

La concentration plasmatique de glucose varie peu malgré des apports et des besoins extrêmement variables d'un moment à l'autre de la journée. Le maintien de la glycémie normale fait appel à deux systèmes de régulation distincts selon qu'il s'agisse d'une période de jeûne ou d'une période suivant la prise d'un repas, la période postprandiale (Figure 1.1).

En période de jeûne la concentration de glucose circulant est faible, l'organisme doit donc utiliser ses réserves afin de maintenir la glycémie constante. Le glucagon, sécrété par le pancréas, mais aussi la noradrénaline ou le cortisol vont orienter le métabolisme vers la néoglucogenèse et la glycogénolyse. La néoglucogenèse a essentiellement lieu dans le foie, mais également dans les reins. Elle permet la conversion en glucose des triglycérides venant du tissu adipeux ainsi que des protéines et du glycogène stockés dans le foie. En complément de la néoglucogenèse, la glycogénolyse permet aux muscles d'utiliser localement le glycogène stocké. Lors d'un jeûne prolongé, les organes périphériques mettent en place des systèmes "d'économie" au profit du système nerveux pour lequel la principale source d'énergie reste le glucose.

En période postprandiale le taux de glucose circulant est élevé, l'augmentation de la sécrétion d'insuline et la diminution de la sécrétion de glucagon permettent d'orienter le métabolisme vers la mise en réserve des nutriments. Le foie, par la glycogenèse, stocke le glucose sous forme de glycogène et métabolise les acides aminés en triglycérides. Les acides gras sont accumulés dans le tissu adipeux également sous forme de triglycérides. Les acides aminés circulant sont utilisés par les muscles pour la synthèse de protéines [1].

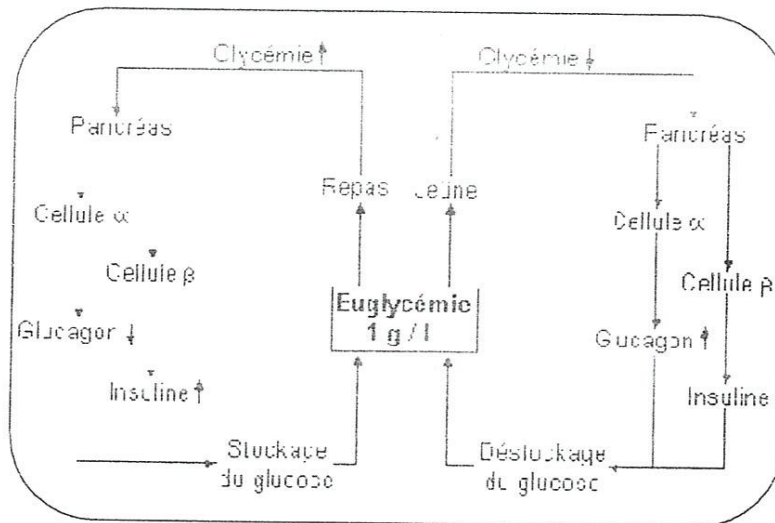


Figure 1.1. Les deux cas de la régulation de la glycémie autour de la valeur consignée

1.2. Pancréas

Le pancréas est une glande mixte, située dans une anse du duodénum, composée de cellules exocrines et de cellules endocrines. Les cellules exocrines représentent environ 98% des cellules pancréatiques, elles sont organisées en acini et produisent des enzymes qui seront libérées dans la lumière duodénale au cours de la digestion. Les cellules endocrines sont organisées en îlots appelés "îlots de Langerhans"; disséminés dans le parenchyme exocrine dont le diamètre varie de 100 à 300 μ m et dont le total ne représente guère que de 1 à 3% environ de la glande, soit un poids total de 1 à 2 g [2].

Quatre types de cellules endocrines ont été identifiés (Figure 1.2):

- les cellules A ou α synthétisent, stockent et sécrètent le glucagon, hormone hyperglycémisante et hyperlipidémisante. Ces cellules représentent environ 25% des cellules endocrines ;
- les cellules D ou δ synthétisent, stockent et sécrètent la somatostatine, qui inhibe l'activité sécrétoire des cellules α et β . Elles sont minoritaires et représentent moins de 5% des cellules endocrines ;
- les cellules F ou PP synthétisent, stockent et sécrètent le polypeptide pancréatique (PP) qui agit sur les cellules bordantes de l'estomac et les cellules acineuses pancréatiques. Elles sont très minoritaires et présentent moins de 1% parmi les cellules endocrines ;
- enfin, les cellules β synthétisent, stockent et sécrètent l'insuline, une hormone hypoglycémisante et hypolipidémisante. Elles représentent près de 70% des cellules endocrines.

L'îlot de Langerhans est une structure parcourue de capillaires sanguins, ce qui permet une libération immédiate des hormones sécrétées dans la circulation sanguine [3].



Figure 1.2. Les systèmes endocriniens du pancréas [2]

Ainsi, le rôle du pancréas endocrine se situe dans le maintien de l'homéostasie du glucose. Il est capable de sécréter des hormones hyper et hypoglycémiantes : l'insuline, le glucagon, la somatostatine et le peptide PP. L'insuline est la seule hormone hypoglycémiante alors que le glucagon, avec l'adrénaline et la cortisone, est une des hormones hyperglycémiantes.

1.3. Insuline

1.3.1. Structure

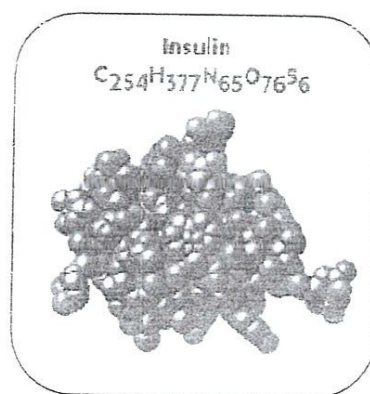


Figure 1.3. Structure de l'insuline

L'insuline est une hormone polypeptidique (Figure 1.3) formée de deux chaînes, A et B, de 21 et 30 acides α -aminés, reliées par deux ponts disulfures interchaînes qui relient A7 à

B7 et A20 à B19. Un troisième pont disulfure intrachaine relie les résidus 6 et 11 de la chaîne A (Figure 1.4).

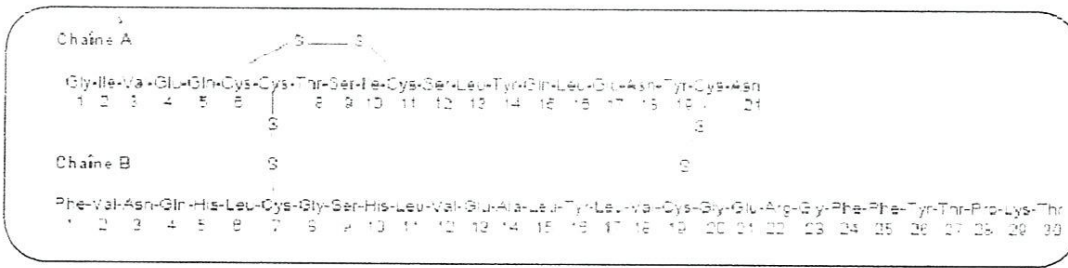


Figure 1.4. Structure covalente de l'insuline [3]

1.3.2. Mode d'action

L'insuline promeut le stockage du glucose en agissant principalement sur le foie, les muscles et le tissu adipeux. Elle intervient en assurant le transfert du glucose du sang vers de nombreuses cellules et stimule le dépôt cellulaire du glucose sous forme d'acides gras et de glycogène et inhibe la néoglucogenèse [4].

2. DIABETE SUCRE



Figure 1.5. Le cercle universel bleu, symbole du diabète [5]

2.1. Etymologie

Le mot diabète vient du grec "διαβήνω" passer au travers. Les médecins grecs anciens avaient observé ce syndrome: les malades semblaient uriner aussitôt ce qu'ils venaient de boire, comme s'ils étaient "traversés par l'eau" sans pouvoir la retenir. Puis ils maigrissaient, malgré une nourriture abondante, et mouraient en quelques semaines ou mois [5].

2.2. Epidémiologie

Le diabète est une maladie métabolique grave menaçant, d'une manière croissante, la santé publique dans le monde. Elle touche environ 4% de la population mondiale et on s'attend à une augmentation de 5,4% en 2025 [6]. En 1995, il y avait environ 135 millions

d'individus diabétiques (types 1 et 2 confondus) selon l'OMS, ce nombre est passé à 171 millions en 2000 et tous les experts pronostiquent que ce nombre passera à 300 millions d'ici 2025 [7]. Selon l'OMS [8], l'Algérie en compte 5 millions de diabétiques (types 1 et 2 confondus).

2.3. Définition

Le diabète est une affection métabolique caractérisée par la présence d'une hyperglycémie chronique résultant d'une déficience de la sécrétion d'insuline, d'anomalies de l'action de l'insuline sur les tissus cibles, ou de l'association des deux [9].

La mise en évidence de la relation entre l'insuline et le diabète sucré, par Banting et Best en 1921, est relativement récente compte tenu que, dès les années 1860, Langerhans avait identifié les îlots pancréatiques, et qu'en 1889, Von Mering et Minkowski avaient démontré qu'une pancréatectomie provoquait systématiquement un diabète sucré. Banting et Best ont finalement extrait, des îlots de Langerhans, un facteur cellulaire à forte activité hypoglycémique qui fut baptisé "insuline".

2.4. Diagnostic

Le diagnostic du diabète repose sur la mesure de la glycémie réalisée soit à jeun, soit deux heures après ingestion de 75 grammes de glucose (test d'hyperglycémie provoquée orale (HGPO)). Les critères diagnostiques du diabète revus par l'OMS en 1999 indiquent que le diagnostic peut être établi de trois façons différentes :

- présence de symptômes de diabète (polyurie, polydipsie, amaigrissement) et glycémie (sur plasma veineux) $\geq 2,00$ g/L (11,1 mmol/L),
- glycémie (sur plasma veineux) après un jeûne de 8 heures $\geq 1,26$ g/L (7,0 mmol/L),
- glycémie (sur plasma veineux) à deux heures de l'HGPO $\geq 2,00$ g/L (11,1 mmol/L).

En l'absence de symptômes cliniques, le diagnostic de diabète, avant d'être retenu, doit être confirmé par une deuxième mesure montrant un nouveau résultat anormal

Le plus souvent, l'hyperglycémie modérée est asymptomatique. On peut constater parfois une discrète perte de poids (1 à 3 kg) et une asthénie, mais le malade peut se sentir parfaitement bien. Le syndrome cardinal diabétique, qui comporte polyuropolydipsie, amaigrissement, hyperphagie, n'existe que pour des glycémies supérieures à 3 g/l. Il existe

alors une glycosurie importante, responsable de polyurie osmotique, entraînant à son tour une polydipsie.

2.5. Types de diabète

Actuellement le diabète sucré est classé selon les mécanismes étiopathogéniques mis en jeu. On distingue deux grands types : diabète de type 1 et diabète de type 2.

2.5.1. Diabète de type 1

2.5.1.1. Définition

Le diabète de type 1, forme de la maladie qui touche de 5 à 10 % de la population atteinte de diabète [10], autrefois connu sous le nom de diabète insulino-dépendant (DID) ou diabète juvénile, se manifeste soit dès l'enfance, à l'adolescence ou chez les jeunes adultes. Il se caractérise par l'absence totale de la production d'insuline.

2.5.1.2. Causes

Les causes exactes de l'apparition du diabète de type 1 demeurent inconnues. Dans la majorité des cas, les cellules β productrices d'insuline, sont détruites par le système immunitaire. On ne sait pas ce qui déclenche cette attaque ni pourquoi elle débute. Les chercheurs pensent qu'une prédisposition génétique et certains facteurs liés à l'environnement contribuent au développement du diabète de type 1.

2.5.1.3. Prévention

Il est présentement impossible de prévenir ce type de diabète. Les recherches s'effectuent principalement vers la compréhension des mécanismes détruisant les cellules responsables de la production d'insuline.

2.5.1.4. Traitement

Le traitement du diabète de type 1 comprend un plan d'alimentation personnalisé, de l'activité physique, et, dans tous les cas, des injections d'insuline quotidiennes. Une bonne gestion du stress contribue également au contrôle de la maladie [11].

2.5.2. Diabète de type 2

2.5.2.1. Définition

Le diabète de type 2 autrefois appelé diabète non insulino-dépendant (DNID), diabète insulino-résistant ou diabète de l'âge mûr et parfois diabète acquis, est une maladie métabolique touchant la glycorégulation provoquant à terme un diabète sucré [12].

C'est la forme la plus fréquente de la maladie, elle affecte environ 90 % des personnes souffrant de diabète [10].

L'affection découle principalement d'une insulino-résistance accompagnée d'une diminution, plutôt que d'un arrêt absolu, de la sécrétion d'insuline [13,14]. L'insulino-résistance se manifeste par la diminution de la sensibilité des tissus périphériques à l'effet de captation du glucose déclenché par l'insuline [15]. Cet état conduit à l'hyperglycémie. En réaction, le pancréas accroît sa production d'insuline, à l'origine de l'hyperinsulinémie.

2.5.2.2. Causes et personnes à risque

Les causes du diabète de type 2 commencent à être mieux connues. Elles sont nombreuses et, dans bien des cas, c'est la combinaison de plusieurs facteurs qui déclenche l'apparition de la maladie. Une prédisposition génétique, un surplus de poids et un manque d'activité physique contribuent à l'apparition du diabète de type 2. De plus, certaines études tendent à démontrer qu'une alimentation riche en gras pourrait aussi être un facteur de risque.

2.5.2.3. Symptômes

Les symptômes, lorsqu'ils sont présents, sont les mêmes que pour le diabète de type 1: fatigue, somnolence, augmentation du volume des urines, soif intense, faim exagérée, amaigrissement, vision embrouillée, cicatrisation lente, infection des organes génitaux, picotements aux doigts ou aux pieds, changement de caractère.

Dans bien des cas, les symptômes sont tellement mineurs qu'ils passent inaperçus pendant plusieurs années. On estime qu'il faut en moyenne sept ans pour qu'un diagnostic soit posé par un médecin.

2.5.2.4. Diagnostic

Seule une prise de sang faite en laboratoire déterminera avec certitude l'état de santé. Elle mesurera le taux de glucose (sucre) dans le sang. À partir de 40 ans, il est recommandé que toute personne qui ne présente pas de facteurs de risques fasse mesurer sa glycémie à jeun tous les trois ans.

2.5.2.5. Traitement

Il existe plusieurs approches de traitement pour le diabète de type 2. Le but à atteindre est un meilleur contrôle de la glycémie. Cet objectif peut être atteint par une alimentation équilibrée, une augmentation de l'activité physique, le maintien ou l'atteinte d'un poids santé, une bonne gestion du stress, des antidiabétiques oraux et/ou l'injection quotidienne d'insuline.

2.5.2.6. Prévention

L'apparition du diabète de type 2 est étroitement liée au mode de vie. Environ 80% des personnes diabétiques de type 2 présentent un surplus de poids ou sont obèses. Il est donc primordial d'accorder une attention particulière aux habitudes de vie afin d'apporter les modifications qui s'imposent, au niveau de l'alimentation et de la pratique d'activité physique. Prendre trois repas équilibrés par jour, choisir des collations nutritives et augmenter la quantité d'activité physique contribuent à améliorer de façon significative la santé des personnes à risque.

En adoptant de saines habitudes de vie dès le jeune âge, il est possible de retarder l'apparition du diabète de plusieurs années et même de le prévenir [16].

2.6. Complications du diabète

L'absence d'insuline entraîne une déficience en glucose dans les muscles striés et les tissus adipeux et, en raison de l'hyperglycémie, un excès dans les cellules où il pénètre librement en absence d'insuline. L'excès de glucose a des conséquences néfastes. Ces divers troubles participent à la genèse de microangiopathies (rétinopathie, néphropathie), de macroangiopathies (angor, infarctus, artérite) et de neuropathies périphériques [17].

D'autres facteurs contribuent à l'apparition des complications : l'âge, l'hérédité, la durée du diabète et les habitudes de vie. Les complications du diabète peuvent modifier

CHAPITRE 2.

SULFAMIDES HYPOGLYCEMIANTS

Les sulfamides hypoglycémiant ou sulfonylurées constituent la famille la plus ancienne des antidiabétiques oraux stimulant la sécrétion d'insuline par les cellules β du pancréas. Un traitement hypoglycémiant optimal devrait stabiliser le profil glycémique entraînant ainsi rapidement un mieux-être du patient et permettre de prévenir les complications de micro et macroangiopathie à long terme. Les sulfamides remplissent ces conditions dans plus de 80% des situations et sont les antidiabétiques oraux les plus utilisés dans le traitement du diabète de type 2. Elles restent d'actualité malgré l'apparition de nouvelles molécules.

CHAPITRE 2.SULFAMIDES HYPOGLYCEMIANTS

1. SULFAMIDES OU SULFONYLUREES ?

Les sulfamides constituent une très grande famille chimique de diverses molécules qui ont en commun un groupement sulfonamide ($-\text{SO}_2-\text{NH}_2$). On peut les diviser en trois groupes (Schéma 2.1), les sulfonylarylamines où le groupement sulfonamide est fixé sur un cycle benzène comportant une fonction amine ($-\text{NH}_2$) en position 4 (arylamine), les non sulfonylarylamines où le groupement sulfonamide est fixé sur un cycle benzène ou un autre cycle mais sans fonction amine en position 4, enfin un troisième groupe où le groupement sulfonamide n'est pas directement fixé sur un cycle benzène (Figure 2.1).

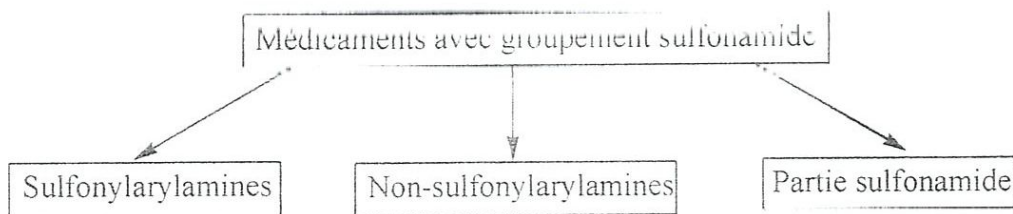


Schéma 2.1. Famille des sulfamides

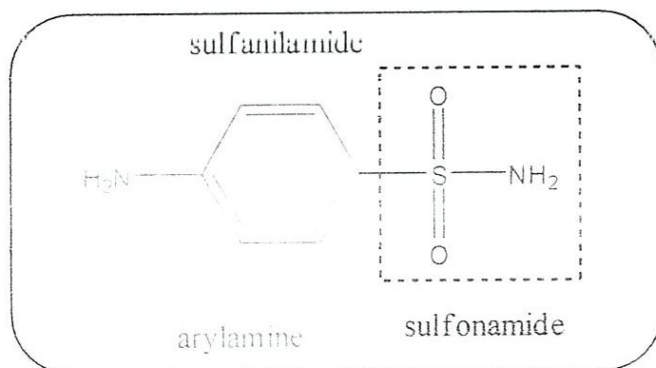


Figure 2.1. Sulfanilamide

Dans ce mémoire nous nous intéresserons aux sulfamides hypoglycémiant, qui appartiennent au groupe des non sulfonylarylamines où le groupement sulfonamide est fixé sur un cycle benzène mais sans fonction amine en position 4.

Les sulfamides hypoglycémiant représentent une des classes principales des antidiabétiques oraux. Après l'insuline, les sulfamides sont les médicaments les plus

anciennement utilisés dans le traitement du diabète. Ce sont les premiers activateurs de la sécrétion d'insuline à être connus.

Tous les sulfamides hypoglycémiant sont des sulfonylurées (Figure 2.2). Les sulfamides hypoglycémiant ont une structure chimique se rapprochant des sulfamides antibactériens. C'est la partie hydrophile, qui est commune aux sulfonylurées, qui a un effet hypoglycémiant. La partie hydrophobe qui caractérise les différents agents médicamenteux intervient dans l'affinité de la liaison avec la membrane cellulaire [1].

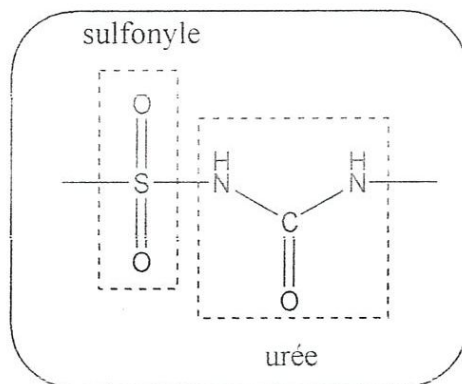


Figure 2.2. Groupe sulfonylurée

2. SULFAMIDES HYPOGLYCEMIANTS

2.1. Historique

La mise en évidence de l'effet hypoglycémiant des sulfamides remonte à plusieurs décennies (1942), lorsque plusieurs accidents hypoglycémiques sévères furent observés après administration d'un sulfamide à propriété antibactérienne chez des patients atteints de fièvre typhoïde [2]. Les travaux d'Auguste Loubatières confirmèrent dans les années qui suivirent que certains sulfamides présentaient en effet un tropisme particulier pour les cellules insulinosécrétrices des îlots de Langerhans, entraînant une libération accrue d'insuline endogène [3]. Malgré cette découverte très prometteuse, il fallut attendre 1956 pour voir la commercialisation de la première sulfonylurée, à savoir le tolbutamide, comme agent antidiabétique [4]. Ce nouveau médicament constituait à l'époque la seule alternative aux injections d'insuline pour les patients diabétiques non insulino-dépendants. Depuis lors, et ce malgré la commercialisation de nombreux autres hypoglycémiant, les sulfonylurées occupent toujours une place de choix dans la prise en charge des traitements du diabète de type 2 [5].

2.2. Molécules de première, de deuxième et de troisième génération

Selon leur polarité et leur liposolubilité, l'on distingue les sulfamides de première génération de ceux de seconde génération, doués de propriétés hypoglycémiantes plus puissantes [1,2].

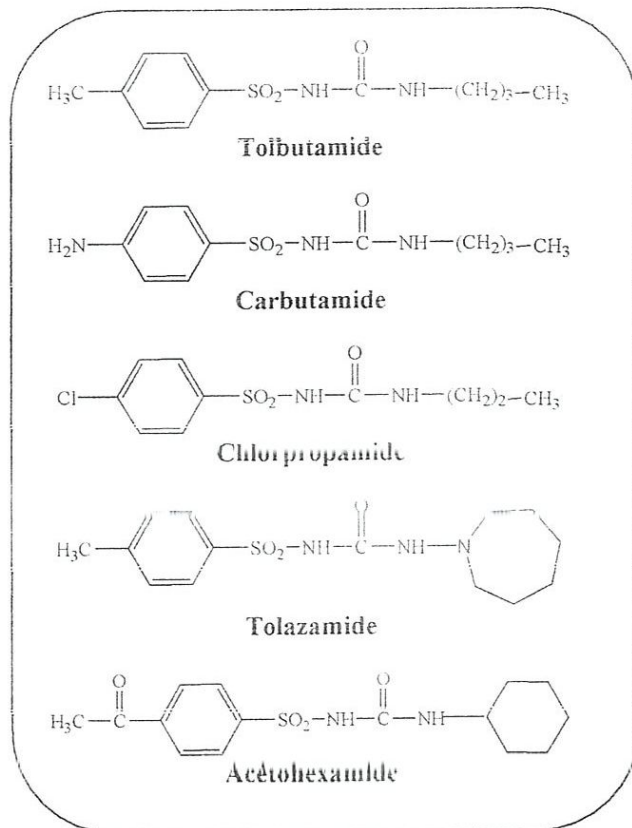


Figure 2.3. Structures chimiques des sulfamides de première génération

Les molécules dites de première génération regroupaient, outre le tolbutamide, le carbutamide, le chlorpropamide, le tolazamide et l'acétohexamide. Ces produits étaient tous des arylsulfonyles substitués à la fois sur le benzène et sur l'urée (Figure 2.3).

Le premier sulfamide hypoglycémiant de deuxième génération, à savoir le glibenclamide, fut commercialisé dix ans plus tard [6]. Sa formule chimique était également une arylsulfonyle, porteuse cependant de structure aliphatique et de cycles hydrophobes à ses deux extrémités (Figure 2.4). Ces quelques modifications apportées à la structure des sulfamides jusqu'alors commercialisés, entraînaient d'importants changements pharmacologiques, faisant du glibenclamide un hypoglycémiant extrêmement puissant, puisque actif à des posologies 100 fois plus faibles que les produits précédemment cités [4,5]. D'autres sulfamides de deuxième génération allaient alors rapidement envahir le marché

mondial, parmi lesquels on peut citer le gliclazide, le glipizide et la gliquidone (Figure 2.4), et supplanter les molécules de première génération [4].

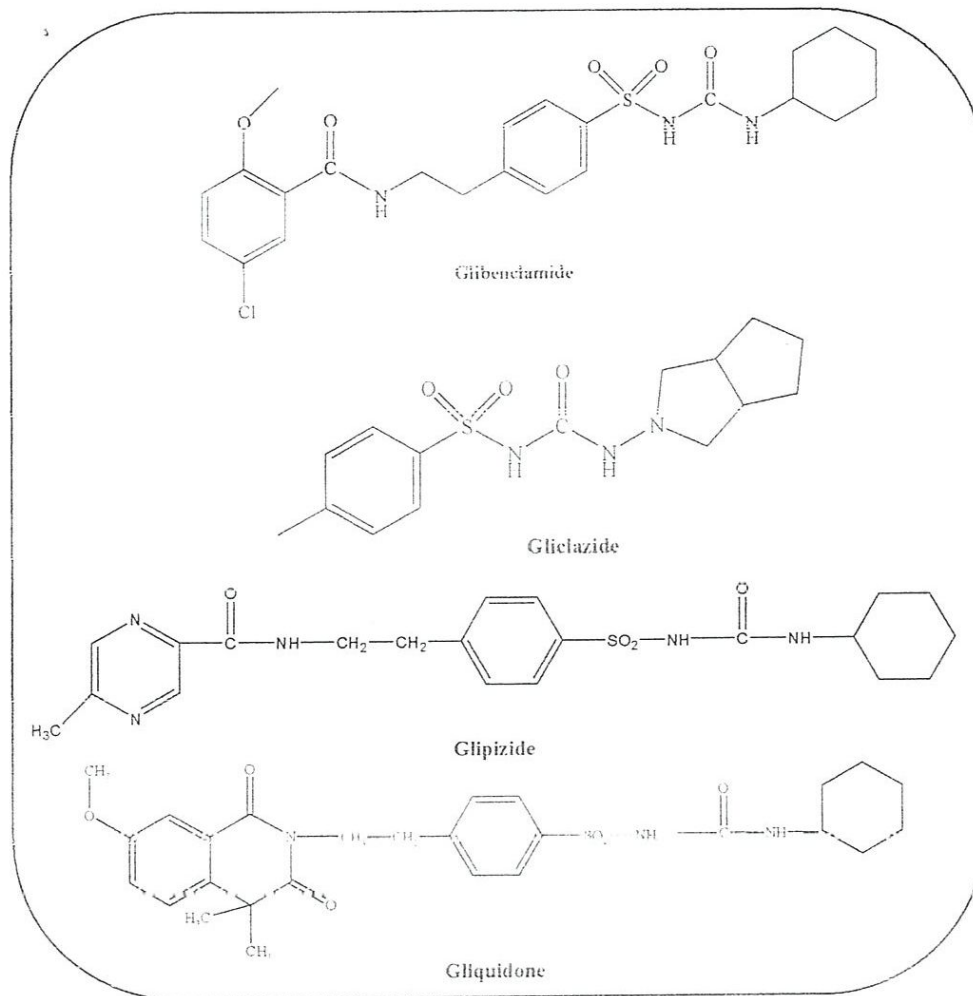


Figure 2.4. Structures chimiques des sulfamides de deuxième génération

Le glimépiride, dernier sulfamide hypoglycémiant à avoir été commercialisé, est parfois considéré comme le premier agent de troisième génération [7]. Son schéma de synthèse est représenté ci-dessous (Schéma 2.2.) [8].

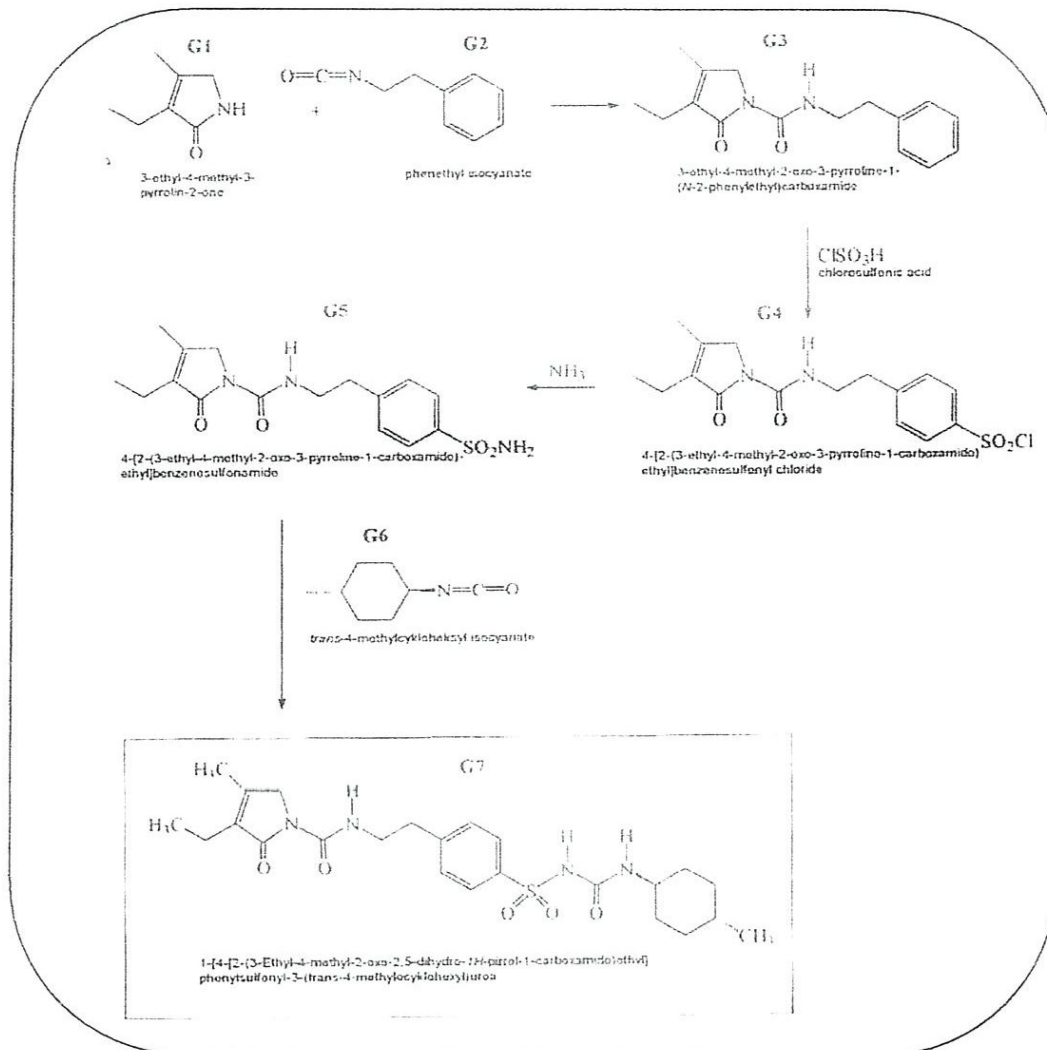


Schéma 2.2. Synthèse du glimépiride

2.3. Indication

L'indication principale de la prescription des sulfamides reste avant tout le diabète de type 2, après échec des premières mesures thérapeutiques, à savoir les règles hygiéno-diététiques et la prise de biguanides [5].

Ils sont utilisés dans le diabète de type 2, afin d'augmenter l'insulinémie qui n'est plus suffisant pour assurer une glycémie normale.

- Chez des patients résistants à l'insuline, chez qui le traitement améliorant la sensibilité à l'insuline (par biguanide) n'est pas suffisant, mal toléré, ou contre indiqué.
- Chez des patients pour qui la carence en insuline semble être au premier plan, sans nécessiter d'emblée une insulinothérapie.

2.6. Pharmacodynamie des effets utiles en clinique [14]

L'efficacité des thérapies antidiabétiques est évaluée par la mesure de l'hémoglobine glyquée (HbA_{1c}), paramètre biologique reflétant la glycémie moyenne au cours des 60 derniers jours. Sa valeur chez le sujet non diabétique se situe entre 4 et 6% de l'hémoglobine totale, et des taux inférieurs à 7% (voire 6.5%) constituent un objectif thérapeutique à atteindre pour le sujet diabétique non insulino-dépendant.

L'efficacité des sulfamides hypoglycémisants sur la baisse de la glycémie est évaluée par l'HbA_{1c}. En outre, la diminution de survenue des complications liées au diabète sous sulfamides a récemment été mise en évidence lors de l'étude prospective UKPDS (Tableau 2.1).

Tableau 2.1. Pharmacodynamie des effets utiles en clinique

	sulfamides hypoglycémisants
Critères intermédiaires : baisse de la glycémie Baisse de l'HbA _{1c}	1 à 2 %
Critères cliniques : diminution des complications du diabète Diminution des complications du diabète	12%

2.7. Effets secondaires

L'hypoglycémie est l'effet secondaire le plus redouté des sulfonylurées [1,15-18]. Les hypoglycémies sont souvent graves car selon la molécule utilisée, elles peuvent être plus durables que sous insuline. Elles surviennent particulièrement chez la personne âgée ou lorsque le patient saute un repas, d'autant plus si la sulfonylurée a une longue durée d'action et des métabolites actifs. Elles sont plus fréquentes en cas d'insuffisance rénale, d'hépatopathie sévère, de prise d'alcool et de prise concomitante de médicaments à forte liaison aux protéines (salicylates, sulfamidés).

2.8. Choix d'une sulfonylurée

Les sulfonylurées diffèrent entre elles par leur durée d'action, leur métabolisme, leur puissance et leurs effets secondaires ainsi que la présence ou l'absence de métabolites actifs. [1,15,16]. A noter que la comparaison des demi-vies peut être un facteur confondant. En pratique clinique, il convient plutôt de regarder la demi-vie d'action biologique ainsi que la présence ou l'absence de métabolites actifs.

Le choix du traitement va tenir compte des caractéristiques du patient, à savoir essentiellement son âge, sa fonction rénale ainsi que la compliance médicamenteuse supposée. On tiendra également compte des caractéristiques du médicament à savoir son effet hypoglycémiant, sa demi-vie et sa durée d'action biologique ainsi que ses effets secondaires.

Les molécules qui ont une longue demi-vie d'action biologique (glibenclamide, glimépiride) peuvent être données une fois par jour; elles sont donc des molécules de choix dans les situations de mauvaise compliance médicamenteuse. Elles entraînent une plus grande inhibition de la production hépatique nocturne de glucose et permettent par ce mécanisme un meilleur contrôle de la glycémie à jeun. Ces bénéfices sont cependant contrebalancés par un risque accru d'hypoglycémie (particulièrement avec le glibenclamide). Chez les personnes âgées, il faut utiliser de préférence des molécules de courte demi-vie sans métabolites actifs (glipizide, gliclazide). Chez les patients présentant une insuffisance rénale, des molécules sans métabolites actifs (glipizide, gliclazide) ou dont l'élimination n'est pas exclusivement rénale (glimépiride) peuvent être utilisées. En cas d'insuffisance rénale plus sévère, l'insuline est le traitement de choix.

Dans ce travail, on s'intéresse au diabète de type 2 où les sulfamides hypoglycémiantes apportent des bénéfices dans la prise en charge de la maladie. Concernant les molécules choisies, ce sont des médicaments pratiquement insolubles dans l'eau. Notre objectif principal est d'améliorer leur hydrosolubilité en les complexant avec les cyclodextrines. Par conséquent, le dernier chapitre (chapitre 3) sera consacré à une étude bibliographique sur les cyclodextrines et leurs complexes d'inclusion.

3. REFERENCES

- [1] Tchobrousky G., Slama G., Assan R.: *Traité de diabétologie*. Paris : Ed. Pradel, 713-26 (1990)
- [2] Levine R.: Sulfonylureas: background and development of the field. *Diabetes Care*, 7 (1): 3-7 (1984)
- [3] Loubatieres-Mariani M.M.: The discovery of hypoglycemicsulfonamides. *J. Soc. Biol.* 201: 121-125 (2007)
- [4] Scheen A.: Les sulfamidés hypoglycémisants. 50 ans après Loubatières. *Rev. Med. Liege*. 51: 90-93 (1996)
- [5] Del Prato S., Pulizzi N.: The place of sulfonylureas in the therapy for type 2 diabetes mellitus. *Metabolism*. 55: 20-27 (2006)
- [6] Herrold J.N., Tzagournis M., Skillman T.G.: Acute and chronic studies using a new oral hypoglycaemic agent, glyburide. *Metabolism*. 20: 414-421 (1971)
- [7] Hamaguchi T., Hirose T., Asakawa H.: Efficacy of glimepiride in type 2 diabetic patients treated with glibenclamide. *Diabetes Res. Clin. Pract.* 66: 129-132 (2004)
- [8] Korczak K., Pietraszko A.A., Badowska-Rostonek K., Beczkowicz H.M.: Synthesis of glimepiride - crystal structure analysis step by step. <http://science24.com/paper/23114>
- [9] Owens D.R., Luzio S.D., Ismail I.: Increased prandial insulin secretion after administration of a single preprandial oral dose of repaglinide in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 23: 518-523 (2000)
- [10] Goldberg R.B., Einhorn D., Lucas C.P.: A randomized placebo controlled trial of repaglinide in the treatment of type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 21: 1897 (1998)
- [11] Dorosz Ph.: *Guide pratique des interactions médicamenteuses*. 5^{ème} Edition, Maloine, Paris. 13-15 (1995)
- [12] Amiel S.A., Dixon T., Mann R.: Hypoglycaemia in type 2 diabetes. *Diabet Med*. 25: 245-254 (2008)
- [13] Wright A.D., Cull C.A., MacLeod K.M.: Hypoglycemia in type 2 diabetic patients randomised to and maintained on monotherapy with diet, sulfonylurea, metformin, or insulin for 6 years from diagnosis: UKPDS 73 J. *Diabetes Complications*. 20: 395-401 (2006)
- [14] Silink M., Mbanya J.C.: Global standardization of the HbA1c assay – The consensus committee recommendations. *Diabetes Voice*. 52: 33-34 (2007)
- [15] Lebovitz H.E.: *Therapy for diabetes mellitus and related disorders*. 3rd ed. Alexandria (Virginia): American Diabetes Association. 160-70 (1998)
- [16] Philippe J., Marini M., Pometta D.: *Le diabète guide du praticien*. 1^{ère} éd. Genève : Médecine et Hygiène. 66-72 (1994)
- [17] Groop L.C.: Sulfonylureas in NIDDM. *Diabetes Care*. 15: 737-54 (1992)
- [18] Shorr R.I., Ray W.A., Daugherty J.R.: Incidence and risk factors for serious hypoglycemia in older persons using insulin or sulfonylureas. *Arch. Intern. Med*. 157: 1681 (1997)

CHAPITRE 3.

CYCLODEXTRINES ET LEURS COMPLEXES D'INCLUSION

De nombreuses classes de macromolécules peuvent interagir pour former des complexes d'inclusion, comme par exemple, les cyclodextrines (CD). Ces molécules cages, qui sont capables d'encapsuler d'autres molécules et qui ont des applications aussi bien en pharmacie, en agroalimentaire qu'en agriculture, intéressent de nombreux secteurs industriels. Parmi tous les hôtes potentiels, les CD semblent être très intéressantes pour plusieurs raisons : ce sont des produits "semi naturels" issus d'une simple conversion enzymatique de l'amidon. Elles sont fabriquées en grande quantité utilisant des technologies non polluantes. Leur prix initial élevé est devenu abordable grâce à une augmentation de la production. A partir des complexes d'inclusion formés, les propriétés des substances complexées peuvent être modifiées, rendant ainsi possible leur utilisation par l'Homme sous forme de médicaments, de nourriture ou de cosmétique.

CHAPITRE 3. CYCLODEXTRINES ET LEURS COMPLEXES D'INCLUSION

1. CYCLODEXTRINES

1.1. Structure

Les cyclodextrines (CD) sont une famille d'oligosaccharides de structure cyclique comportant de 6 à 12 unités D-glucose en conformations chaise liées entre elles en α -(1,4) (Figure 3.1). Elles sont également connues comme cycloamyloses, cyclomaltoses et dextrines de Schardinger. Les CD les plus courantes sont les CD natives α , β et γ qui comportent respectivement 6, 7 et 8 résidus glucopyranoses.

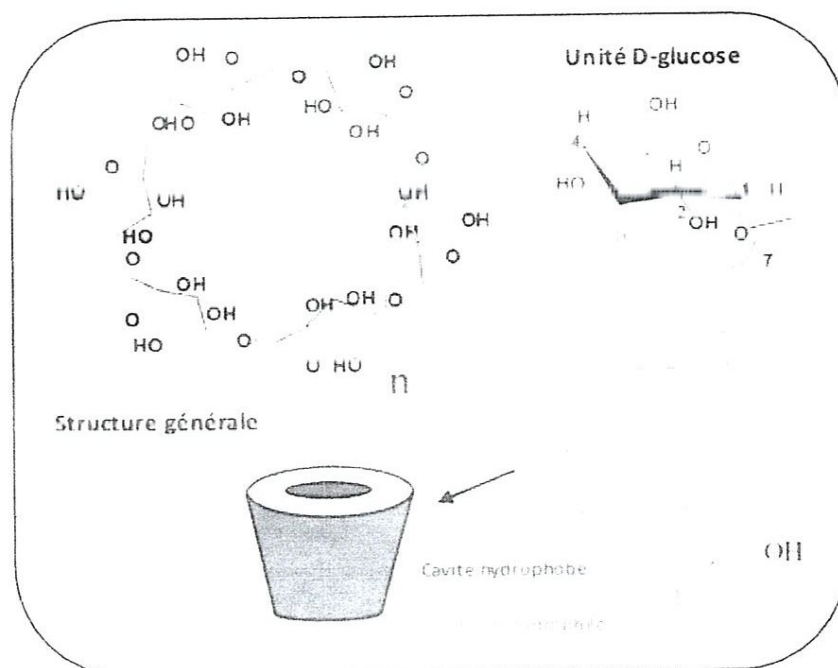


Figure 3.1. Structure des cyclodextrines

Les CD possèdent une structure en tronc de cône, délimitant une cavité en leur centre. Cette cavité présente un environnement carboné apolaire et plutôt hydrophobe, capable d'accueillir des molécules peu hydrosolubles, tandis que l'extérieur présente de nombreux groupements hydroxyles, conduisant à une bonne solubilité des CD en milieux aqueux [1] (Figure 3.1).

1.2. Caractéristiques physicochimiques

Les trois principales CD natives sont des composés cristallins, homogènes et non hygroscopiques. Leurs principales caractéristiques physicochimiques sont rassemblées dans le tableau 3.1:

Tableau 3.1. Caractéristiques physicochimiques des principales CD natives [1]

Propriétés	α -CD	β -CD	γ -CD
Nombre d'unités glucopyranose	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)	972	1135	1297
Diamètre de la cavité (Å°)	4,7-5,3	6,0-6,5	7,5-8,3
Hauteur du tore (Å°)	7,9	7,9	7,9
Diamètre extérieur (Å°)	14,6	15,4	17,5
Volume de la cavité (Å° ³)	174	262	472
Solubilité dans l'eau (g/100ml, 25° C)	14,5	1,85	23,2
Point de fusion (°C)	275	280	275
Hydrolyse enzymatique	Nulle	Lente	Rapide

1.3. β -cyclodextrine naturelle

La β -CD est la plus accessible, la moins coûteuse et généralement la plus utile des CD. Notons que les CD font l'objet de plusieurs dénominations qui varient selon les époques et les auteurs. Ainsi, la β -CD est aussi désignée sous les termes de β -dextrine de Schardinger, cyclomaltoheptaose, cycloheptaamylose, cycloheptaglucone, ou bien encore C7A [2]. Dans cette étude le terme β -CD ou β -cyclodextrine a été utilisé.

1.4. Cyclodextrines modifiées

La modification chimique des CD offre à la fois d'énormes opportunités et de réels défis pour les chimistes. Les CD 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

- A titre d'exemple, les CD peuvent être utilisées en:
- Cosmétique: elles permettent de stabiliser des émulsions et les molécules odorantes ou actives [4].
 - Désodorisation: les CD sont utilisées comme agent masquant contre les mauvaises odeurs (la complexation rend les molécules odorantes moins volatiles).
 - Textiles spéciaux: elles sont utilisées pour fixer aux tissus des composés actifs (parfums, antibactériens).
 - Catalyseur de réactions chimiques: en chimie organique, elles permettent de contrôler la régiosélectivité de certaines réactions tout en améliorant le rendement, et permettent de travailler avec des molécules hydrophobes en milieu aqueux [5].
 - Leur caractère biodégradable les prédispose à des applications importantes dans les domaines agro-alimentaires et pharmaceutiques. L'encapsulation dans les CD permet en effet de protéger des molécules fragiles, ou d'assurer leur libération lente et contrôlée. De plus, la solubilisation de médicaments insolubles dans l'eau sous forme de complexes d'inclusion dans les CD permet de disposer de préparations injectables. Ce processus s'applique à de très nombreux médicaments insolubles dans l'eau et dans les fluides physiologiques (anti-inflammatoires, stéroïdes, anti-tumoraux,...) [6-10].

2. COMPLEXES D'INCLUSION

2.1. Généralités sur la complexation

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.

2.1.1. Formation d'un complexe d'inclusion

On peut séparer la formation d'un complexe en plusieurs étapes (Figure 3.3):

- Approche de l'invité vers la CD;
- Rupture de la structure de l'eau à l'intérieur de la cavité de la CD et éviction de certaines de ces molécules;
- Rupture de la structure de l'eau autour de la molécule invitée et transport de molécules d'eau vers la solution;

- Interaction de certains groupements de la molécule invitée avec l'extérieur ou l'intérieur de la CD;
- Eventuellement, création de liaisons hydrogène entre l'invitée et la CD;
- Reconstitution de la structure de l'eau autour des parties exposées de l'invité après l'inclusion.

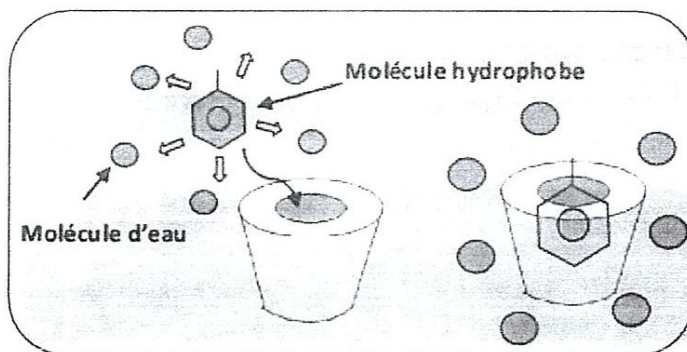


Figure 3.3. Cavité d'une CD - effet d'encapsulation

2.1.2. Conséquences de la complexation

L'inclusion des molécules invitées dans la cavité des CD constitue une encapsulation moléculaire et ces molécules voient leurs propriétés physicochimiques modifiées. Parmi ces modifications, on peut citer [1]:

- 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.

2.2. 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 [11].

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.

2.3. Préparation des complexes d'inclusion

Pour préparer les complexes d'inclusion, il existe différentes méthodes [12], la plus commune consiste à agiter une solution de CD en présence du composé à inclure. Dans ce cas on obtient une solution dont la formulation doit être optimisée, c'est-à-dire dont la proportion du complexe par rapport aux espèces libres est maximale.

Quelques méthodes opératoires d'obtention de complexes en solution homogène ou en solution hétérogène sont résumées comme suit:

2.3.1. Complexation en solution

- Les CD et les molécules invitées sont mélangés de 60 à 80 °C dans des stœchiométries définies, pour atteindre la solution saturée de la CD et de l'invitée. Le mélange est agité à température ambiante pendant 8 à 16 heures. Le complexe ainsi formé peut être cristallisé par refroidissement.
- Méthode d'ajout progressif: la quantité calculée de molécules invitées est dissoute séparément dans un solvant approprié et est ajoutée goutte à goutte à la solution de la CD. Après agitation intensive (de 16 à 24 heures), le complexe peut être cristallisé par refroidissement.

2.3.2. Complexation en système hétérogène

- Complexation en suspension: les CD ne sont pas dissoutes, mais finement suspendues dans l'eau. La substance invitée est dissoute dans une quantité de solvant définie ou directement ajoutée à la suspension de CD en agitation. Le mélange réactionnel est mis sous agitation continue pendant 4 heures ou plusieurs jours selon la substance invitée.
- Complexation par malaxage: la CD est intensivement malaxée pendant 1 à 2 heures avec un peu d'eau au quelle l'invité a été ajouté directement sans aucun solvant.

2.4. Exemples de complexes d'inclusion

Les CD 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 [13], de CENS d' aminoesters- β -CD [14], de sulfamoyloxazolidinones- β -CD [15] et de 2-chloroéthylnitrosourées (CENU)- β -CD [16-18] 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 de molécules étudiées.

Quelques exemples montrant la structure de complexes d'inclusion de CENS (Figure 3.4) et de CENS d' aminoester (Figure 3.5) sont représentés ci-dessous.

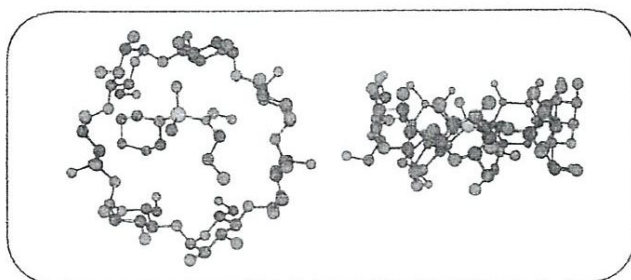


Figure 3.4. Exemple de complexe d'inclusion CENS- β -CD (issu de la pipéridine)

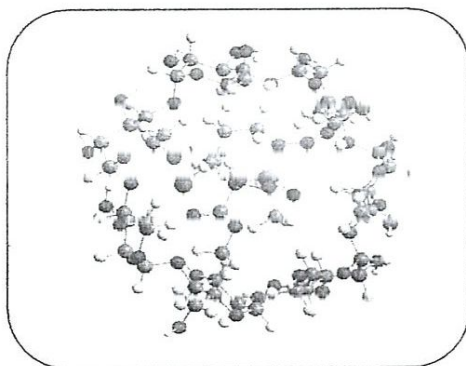


Figure 3.5. Exemple de complexe d'inclusion CENS d' aminoester- β -CD (issu de la L-glycinate de méthyle)

3. REFERENCES

- [1] Szejtli J.: Cyclodextrins and their inclusion complexes. Kluwer, Academic Publishers, Dordrecht (1988)
- [2] Duchene, D.: New trends in cyclodextrins and derivatives. Editions de Santé, Paris (1991)
- [3] Duchêne D., Debruyères B., Brétilon A.: Les cyclodextrines. Nature, Origine et intérêts en pharmacie galénique. *Labo. Pharma. Prob. Tech.* 32: 842-850 (1984)
- [4] Numanoglu U., Sen T., Tarimci N., Kartal M., Koo O.M., Onyüksel H.: Use of cyclodextrins as a cosmetic delivery system for fragrance materials: linalool and benzyl acetate. *AAPS Pharm. Sci. Tech.* 8: 85 (2007)
- [5] Chen Q.C., Jeong S.J., Hwang G.S., Kim K.H., Kang J.S.: Enantioselective determination of chlorpheniramine in various formulations by HPLC using carboxymethylbeta-cyclodextrin as a chiral additive. *Arch. Pharm. Res.* 31: 523-529 (2008)
- [6] Nicolazzi C., Abdou S., Collomb J., Marsura A., Finance C.: Effect of the complexation with cyclodextrins on the in vitro antiviral activity of ganciclovir against human cytomegalovirus. *Bioorg. Med. Chem.* 9: 275-282 (2001)
- [7] Leeson R.M., Harrison S., Ernst C.C., Hamilton D.A., Mermelstein F.H., Gawarecki D.G., Moshman M., Carr D.B.: Dyloject, a novel injectable diclofenac formulation, offers greater safety and efficacy than voltarol for postoperative dental pain. *Reg. Anesth. Pain Med.* 32: 303-310 (2007)
- [8] Cappello B., De Rosa G., Gianni L., La Rotonda M.L., Mensler G., Mio A., Quaglia F., Russo R.: Cyclodextrin-containing poly(ethyleneoxide) tablets for the delivery of poorly soluble drugs: potential as buccal delivery system. *Int. J. Pharm.* 319: 63-70 (2006)
- [9] Stevens D.A.: Itraconazole in cyclodextrin solution. *Pharmacotherapy.* 19: 603-611 (1999)
- [10] Holvoet C., Heyden Y.V., Plaizier-Vercammen J.: Development of an omeprazole parenteral formulation with hydroxypropyl-beta-cyclodextrin. *Pharm. Dev. Technol.* 12: 327-336 (2007)
- [11] Szejtli J., Osa T.: *Comprehensive Supramolecular Chemistry, Cyclodextrins*, vol. 3. Elsevier, Oxford (1996)
- [12] Tsai Y., Tsai H.H., Wu C.P., Tsai F.J.: Preparation, characterization and activity of the inclusion complex of paeonol with β -cyclodextrin. *Food Chem.* 120(3): 837-841 (2010)
- [13] Kadri M., Dhaoui N., Abdaoui M., Winum J.Y., Montero J.L.: Inclusion complexes of 2-chloroethylnitrososulfamides (CENS) with β -cyclodextrin. *Eur. J. Med. Chem.* 39(1): 79-84 (2004)
- [14] Cheghib N.: Synthèse et étude structural de 2-chloroéthylnitrososulfamide d'aminoestère et de leurs complexes d'inclusion correspondant. Mémoire de magister Université de Guelma, (2004)
- [15] Kadri M., Djemil R., Abdaoui M., Winum J.: Inclusion of complexes of N-Sulfamoyloxazolidinones with β -cyclodextrine. *Bioorg & Méd. Chem. Lett.* 15: 889-894 (2005)
- [16] Fisli H.: Etude spectrofluorimétrique des complexes d'inclusion des CFNU par la β -cyclodextrine. Mémoire de magister Université de Guelma, (2008)
- [17] Fisli H., Abdaoui M.: Etude de la fluorescence des complexes d'inclusion des chloroéthylnitrosourées d'arylamines dans la β -cyclodextrine. *Algerian Journal of Advanced Materials* 5: 2/3 (2008)
- [18] Fisli H., Bensouilah N., Dhaoui N., Abdaoui M.: Effects of solvent, pH and β -cyclodextrin on the fluorescent behaviour of lomustine. *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* 73: 369-376 (2012)

3

RESULTATS ET DISCUSSION

CHAPITRE 1.

CARACTERISATION DES SULFAMIDES HYPOGLYCEMIANTS ET DE LEURS 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 des principes actifs et de leurs complexes d'inclusion.

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	Hydrophilo

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

Avant d'entamer une évaluation approfondie de l'activité biologique, il est intéressant d'estimer et de mesurer l'hydrosolubilité de ces molécules.

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 des sulfamides hypoglycémiants et de leurs 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 de chaque sulfamide hypoglycémiant et de leurs complexes 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 sont ensuite séparées par centrifugation et les mesures des absorbances aux longueurs d'onde correspondantes sont effectuées par un spectrophotomètre UV-Visible à double faisceau Shimadzu model UV1800.

Les résultats obtenus sont rassemblés dans les tableaux 2.1 et 2.2 suivants :

Tableau 2.1. Résultats des mesures de l'hydrosolubilité des sulfamides hypoglycémiant

Composé	λ (nm)		Abs (A)		P	LogP
	Octanol	Eau	Octanol	Eau		
1S	298	264	3.974	2.482	1.6011	0.2044
2S	216	264	3.995	1.940	2.0592	0.3137
3S	234	258	4.000	1.252	3.1948	0.5044

Tableau 2.2. Résultats des mesures de l'hydrosolubilité des complexes d'inclusion

Composé	λ (nm)		Abs (A)		P	LogP
	Octanol	Eau	Octanol	Eau		
1C	210	264	3.688	2.535	1.4548	0.1628
2C	226	264	4.000	3.281	1.2191	0.0860
3C	298	266	0.590	3.471	0.1699	-0.7696

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 les trois sulfamides hypoglycémiant ont un $\text{Log } p > 0$ et confirment ainsi le fait qu'ils soient liposolubles.

L'hydrosolubilité des sulfamides, objet de cette étude, se trouve améliorée suite à leur complexation avec la β -cyclodextrine (tableau 2.2) par diminution du $\text{Log } P$, surtout dans le cas du complexe 3C.

3. CONCLUSION

Les résultats de l'étude de la mesure de l'hydrosolubilité nous a permis de confirmer que la formation des complexes d'inclusion permet d'améliorer les hydrosolubilités des sulfamides hypoglycémiant étudiés.

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)

CHAPITRE 3.

EVALUATION DE L'ACTIVITE BIOLOGIQUE

Une fois les mesures de l'hydrosolubilité effectuées, il serait intéressant d'entamer une évaluation de l'activité biologique. Nous décrivons dans ce chapitre l'ensemble des protocoles et des résultats des travaux de l'évaluation de l'activité biologique.

CHAPITRE 3. EVALUATION DE L'ACTIVITE BIOLOGIQUE

1. TEST DE L'ACTIVITE ANTI-HYPERGLYCEMIANTE

Des criblages préliminaires ont été effectués sur les complexes décrits dans les chapitres précédents. Ils concernent la recherche d'éventuelles propriétés hypoglycémiantes.

Il nous a semblé intéressant de tester un complexe sur un modèle expérimental préliminaire largement utilisé pour les tests de cette nature. Notre choix s'est porté sur le complexe 3C issu de la complexation de la β -cyclodextrine avec le gliclazide 3S. Ce choix est justifié par la meilleure hydrosolubilité obtenue lors des mesures de l'hydrosolubilité.

Afin de tester l'activité anti-hyperglycémiant [1] du 3C, nous avons poursuivi l'évolution de l'effet anti-hyperglycémiant pendant 2 heures, suivant les étapes suivantes :

- ✓ *Induction de l'hyperglycémie* : l'hyperglycémie est provoquée par l'administration de glucose aux souris à raison de 4 g/kg (Figure 3.1).
- ✓ *Protocole du traitement des souris* : pour ce test, un total de 20 souris répartis en quatre lots à cinq souris est traité ainsi :

Lot1 : Représente le groupe contrôle qui reçoit 10 ml/kg d'eau physiologique + 4g/kg de glucose après 90 minutes.

Lot2 : Reçoit 80mg/10 ml/kg de 3S + 4g/kg de glucose après 90 minutes.

Lot3 : Reçoit 80mg/10 ml/kg de 3C + 4g/kg de glucose après 90 minutes.

Lot4 : Reçoit 500mg/10 ml/kg de 3C + 4g/kg de glucose après 90 minutes.



Figure 3.1. Opération de gavage

La glycémie des quatre lots est évaluée à l'aide d'un glucomètre sur un intervalle de 30 minutes pendant 2 heures (Figure 3.2).



Figure 3.2. Mesure du taux de glycémie

Les résultats de l'évolution de l'activité anti-hyperglycémiant chez les souris traités sont illustrés dans la figure 3.3.

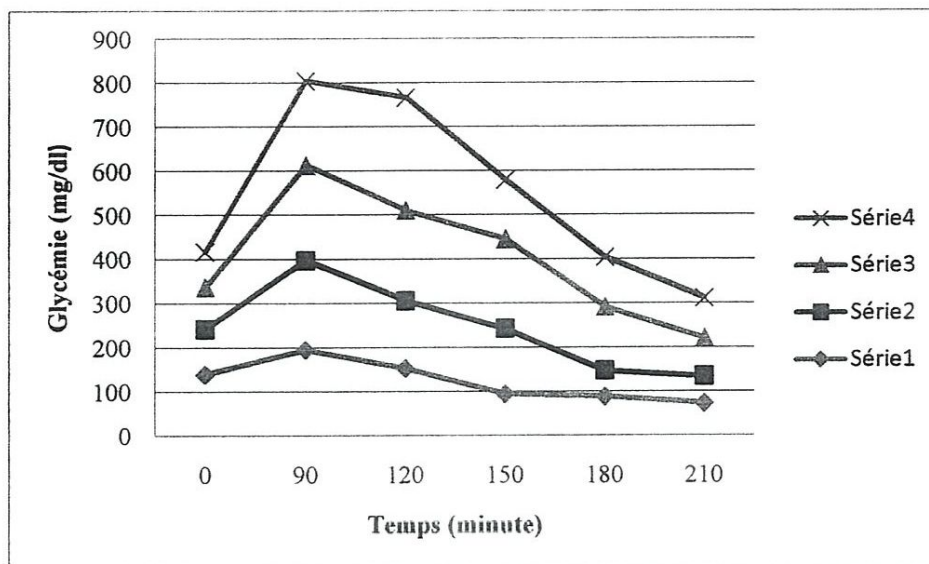


Figure 3.3. Test anti-hyperglycémique (série 1 : eau physiologique, série 2 : S à dose de 80 mg, série 3 : 3C à dose de 80 mg, série 4 : 3C à dose de 500 mg)

Nous constatons un effet bénéfique [?] du complexe aux doses administrées lorsque les souris sont prétraitées par ces substances.

2. CONCLUSION

Cette étude a été entreprise pour évaluer l'effet sur le glucose sanguin d'un complexe sulfamide hypoglycémiant-CD. L'effet anti-hyperglycémique a été testé chez des souris normoglycémiques. D'après les résultats obtenus, on peut conclure que le complexe testé semble présenter un profil pharmacologique intéressant.

3. REFERENCES

[1]Holmes B.: Drugs. 27: 301 (1984)

[2] Gupta R., Samta J., Saxena A.M.: Asian J. Exp. Sci. 23(1): 261-268 (2009)

L'étude de la formulation de molécules possédant une activité biologique et présentant des limites de solubilité ouvre de nombreuses perspectives pour l'amélioration des propriétés physicochimiques.

Des travaux complémentaires sont, bien entendu, nécessaires afin d'affirmer les concepts et résultats liés à cette étude.

L'étude de la formulation de molécules possédant une activité biologique et présentant des limites de solubilité ouvre de nombreuses perspectives pour l'amélioration des propriétés physicochimiques.

Des travaux complémentaires sont, bien entendu, nécessaires afin d'affirmer les concepts et résultats liés à cette étude.

2

CONCLUSION GENERALE

CONCLUSION GENERALE

En vue de l'intérêt thérapeutique des sulfamides hypoglycémiants et leur solubilité limitée et aux CD 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 une série de sulfamides hypoglycémiants commercialisés et les CD, afin d'augmenter leur hydrosolubilité.

Dans un premier temps, une série de sulfamides hypoglycémiants, le glibenclamide, le glimépiride et le gliclazide, a fait l'objet d'extraction des principes actifs à partir de formulations médicamenteuses commercialisées. Tous les composés isolés ont fait l'objet d'une étude détaillée en déterminant les différentes caractéristiques physicochimiques dans le but d'élucider leur structure.

Les propriétés physicochimiques des complexes préparés ont fait l'objet d'une étude détaillée. Plusieurs types de caractérisation ont été utilisés. Chacune de ces caractérisations a apporté plusieurs éléments soutenant la thèse de l'inclusion des sulfamides au sein des cavités des β -CD.

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

Des tests biologiques sur un des complexes préparés ont été effectués afin d'évaluer l'impact de la complexation sur les propriétés biologiques du médicament étudié et les résultats semblent être encourageants.

•

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 DES PRINCIPES ACTIFS

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.

Les principes actifs ont été isolés par extraction liquide-liquide (eau/chloroforme), à partir de formulations médicamenteuses commercialisées GLIBIL 5, IRIS et DIAPHAG

contenant 5×100, 3×30 et 80×60 mg/boite de glibenclamide, glimépiride et gliclazide, respectivement.

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

1-[(4-{2-[(5-chloro-2-méthoxybenzoyl) amino] éthyl} phényl) sulfonyl]-3-cyclohexylurée (glibenclamide, 1S)

M = 490.62 g/mol [C₂₃H₂₈ClN₃O₅S]

Pf = 170°C

Rf = 0.58 (Dichlorométhane)

IR (KBr,ν en cm⁻¹): 3316 (NH), 1716 (C=O amide), 1524, 1619(NH urée) 1376, 1160 (SO₂)

1-[(4-{2-(3-éthyl-4-méthyl-2-oxo-3 pyrrolinc 1 carboxamido)éthyl}phényl)sulfonyl]-3-(trans-4-méthylcyclohexyl)urée (glimépiride, 2S)

M = 404 g/mol [C₂₄H₃₄N₄O₃S]

Pf = 198 °C

Rf = 0.61 (Dichlorométhane)

IR (KBr,ν en cm⁻¹): 3370 (NH), 1708 (C=O amide), 1675 (C=O urée), 1364 (NH), 1708, 1675 (SO₂)

1-(3,3a,4,5,6,6a-Hexahydro-1H-cyclopenta[c]pyrrol-2-yl)-3-(4methylphenyl)sulfonylurée (gliclazide, 3S)

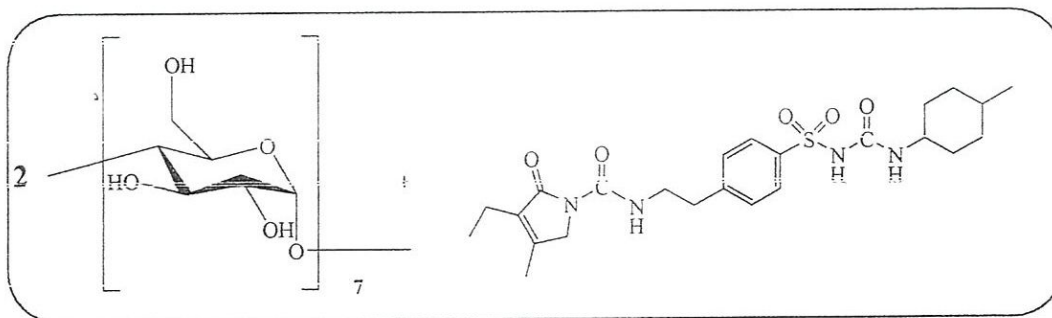
M = 323.41 g/mol [C₁₅H₂₁N₃O₃S]

Pf = 165 °C

Rf = 0.83 (Dichlorométhane)

IR (KBr,ν en cm⁻¹): 3273 (NH), 1710 (C=O), 1436 (NH), 1348, 1165 (SO₂)

2C \equiv 2S-2CD



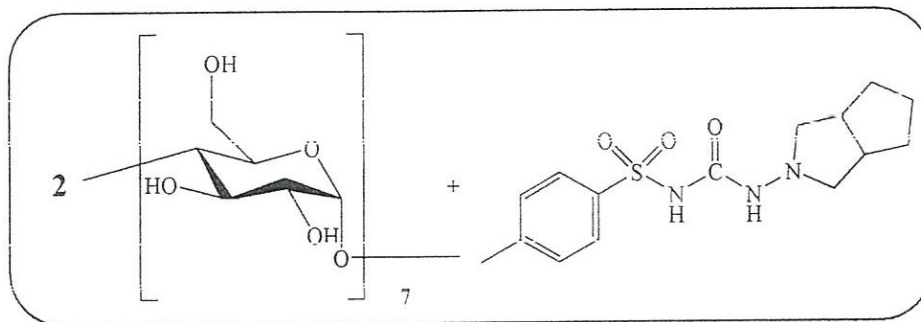
M = 2764 g/mol

Rf = 0.48 (isopropanol/ammoniaque)

Pf = 260 °C

IR (KBr, ν en cm^{-1}): 3291 (NH et OH), 1675 (C=O), 1445 (NH), 1378 (SO_2)

3C \equiv 3S-2CD



M = 2593.41 g/mol

Rf = 0.44 (isopropanol/ammoniaque)

Pf = 270 °C

IR (KBr, ν en cm^{-1}): 3295 (NH et OH), 1542 (C=O), 1463 (NH), 1028 (SO_2)

4. MESURE DE L'HYDROSOLUBILITE

Des solutions de concentrations de l'ordre de 10^{-5} M des trois sulfamides hypoglycémiantes et de leurs complexes correspondants 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.

5. TESTS BILOGIQUES

Afin de tester l'activité anti-hyperglycémiant, une dose de 4 g/kg de glucose est administrée par voie orale aux souris normo-glycémiques, qui étaient à jeun depuis 16 heures. Un total de 20 souris répartis en quatre lots à cinq rats est traité ainsi :

Lot1: Représente le groupe contrôle qui reçoit 10 ml/kg d'eau physiologique + 4g/kg de glucose après 90 minutes.

Lot2 : Reçoit 80mg/10 ml/kg de 3S + 4g/kg de glucose après 90 minutes.

Lot3 : Reçoit 80mg/10 ml/kg de 3C + 4g/kg de glucose après 90 minutes.

Lot4 : Reçoit 500mg/10 ml/kg de 3C + 4g/kg de glucose après 90 minutes

A l'aide d'un glucomètre, la glycémie est déterminée au bout de 2 heures.

ANNEXE

EVALUATION DE L'ACTIVITE BIOLOGIQUE







