

LA REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE SAAD DAHLAB DE BLIDA
FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DE CHIMIE



MEMOIRE

Pour l'obtention du diplôme de Master en chimie moléculaire
Option : organique

**Synthèse et caractérisation de complexes d'inclusions à
partir de β -cyclodextrine et de porphyrines**

Présenté par : Hanane Saihi

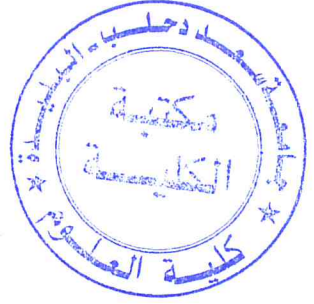
Soutenue le 08/10/2013, devant le jury composé de :

Mr W. Mohamedi
Mr M. Kars
Mr S. Moulay
Mme F. Mzeyene

Professeur
maitre assistant
Professeur
maitre assistante

Président
Examineur
Responsable du mémoire
co-promotrice

*Laboratoire de Chimie moléculaire et macromoléculaire
2013*



Dédicaces

*Aux lumières qui ont toujours éclairé mon
chemin*

Aux sources de mon énergie

*A ce que j'ai de plus chers au monde :
Mes chers parents.*

A mes chers frères et sœurs

A toute ma famille.

A tous mes professeurs.

A mes copines

Remerciements :

EN PREMIER LIEU, JE REMERCIE ALLAH, LE TOUT PUISSANT, À QUI
NOUS DEVONS LE TOUT.

Je tiens à remercier Mr Saâd Moulay pour avoir accepté de diriger ce travail.

Je remercie Mme. Mohamedi pour l'honneur qu'elle me fait en acceptant la présidence du jury de ce travail.

Mes remerciements vont aussi à l'égard du Professeur Y. Bal qui a bien voulu accepter d'examiner ce travail.

J'adresse mes remerciements à tous mes enseignants qui m'ont donné les bases de la science.

Je remercie mes parents, mes frères et sœurs, qui étaient toujours à mes côtés, et m'ont tant aidée et soutenue. Qu'ils trouvent ici l'expression de ma sincère gratitude et ma profonde reconnaissance.

Que mes copines, amis, collègues, croient en ma sincère reconnaissance, pour leur soutien et leur encouragement.

Mes remerciements vont aussi à ceux qui, de près ou de loin, ont eu l'amabilité de m'aider et ont contribué à la réalisation de ce travail.

Résumé :

La capacité de β -CD à encapsuler la THPP est étudiée par spectroscopie UV-vis et FT-IR. La formation de complexe d'inclusion supposée d'ordre 1 : 1 avec une constante calculée $K=9,75 \times 10^4 \text{ L}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1}$. À pH=2, on ne remarque aucune complexation en vue de la protonation de l'azote de pyrrole d'où la cavité préfère se lier avec une porphyrine apolaire neutre. À l'état solide, la formation de complexe d'inclusion a été caractérisée par FT-IR, dont aucun changement n'est observé entre le spectre de THPP pur et celui de mélange avec la β -CD.

Les interactions de l'hémo-porphyrine et l'ALA avec la β -CD ont été étudiées par spectroscopie UV-vis en milieu neutre. Pour l'hémo-porphyrine, une constante d'inclusion est estimée $K=2,9 \cdot 10^4 \text{ L}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1}$ pour un ordre d'inclusion supposé 1 : 1. La formation du complexe de l'ALA avec β -CD n'a pas été confirmée.

Mots clés : 5, 10, 15, 20 (4-hydroxyphenyl) porphyrine, hématoporphyrine, ALA, complexe d'inclusion, IR, spectroscopie UV-vis, porphyrine, cyclodextrine.

Abstract

The ability of β -CD to encapsulate the THPP is studied by UV-vis spectroscopy and FT-IR. The formation of inclusion complex of supposed order 1: 1 with a constant $K = 9.75 \times 10^4 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}$. At pH = 2, we did not notice any formation of complex because the protonation of the nitrogen in pyrrole where prefers the cavity to bind with a neutral apolar porphyrin. In the solid state, the formation of inclusion complex was characterized by FT-IR, which no change is observed between the spectrum of pure THPP and the mixing with β -CD.

The interactions of hematoporphyrin and ALA with β -CD were studied by UV-vis spectroscopy. For hematoporphyrin, a constant inclusion is estimated $K = 2,9.10^4 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}$ for a supposed order of inclusion 1: 1. Complex formation of ALA with β -CD has not been confirmed.

Keywords: 5, 10, 15, 20 (4-hydroxyphenyl) porphyrin, hematoporphyrin, ALA, inclusion complex, IR, spectroscopy uv-vis, porphyrin, cyclodextrin.

Listes des figures

Figure I.1: Structure la plus simple des porphyrines	p.03
Figure I.2 : Spectre UV-visible caractéristique d'une porphyrine à base libre : la H ₂ TTP (dans CHCl ₃).	P.04
Figure I.3 : Profil des bandes Q pour les quatre principaux types de spectres d'absorptions des porphyrines.	P.05
Figure I.4 : Spectre RMN ¹ H de la porphyrine dans CDCl ₃ .	P.06
Figure I.5: Principe de la technique MALDI	P.06
Figure I.6 : Synthèse de la THPP	P.07
Figure I.7 : spectroscopie UV-vis de la THPP dans le THF . λ_{MAX} (log ξ) :418.96 (4.92) ; 514.99 (3.65) ; 550.38 (3.43) ; 593.20(3.25) ; 650.55 (3.25)	P.08
Figure I.8 : Spectre FT-IR de la THPP dans du KBr	P.09
Figure I.9 : spectre H-RMN de la THPP	P.09
Figure I.10 : spectre d'émission de la THPP	P.10
Figure I .11 : structure de l'hématoporphyrine	P.10
Figure I. 12 : spectre UV-vis de l'hématoporphyrine	P.11
Figure I.13.structure de l'acide 5-Aminolevulinique	P.11
Figure I.14 : ALA précurseur de la protoporphyrine IX (Pp-IX)	P.11
Figure I. 15 : spectre d'absorption de la protoporphyrine IX (Pp-IX).	P.12
Figure I.16 : schéma Simplifié de la biosynthèse de l'hème	P.12
Figure I.17: description et numérotation des groupes fonctionnels et des carbones de l'ALA	P.12
Figure I.18 : différente pka de ALA	P.13
Fig. I.19: Structure chimique de la purpurine	P.14
Figure I.20 : Structure général des cyclodextrines	P.14
Figure I.21 : propriétés physicochimiques des cyclodextrines	P.15

Listes des figures

Figure I.22 : Représentation schématique de complexes d'inclusions de stœchiométries différentes	P.16
Figure II-1: aspect physique de la THPP	P.19
Figure II-2: Spectre UV-vis de THPP dans le DMSO	P.20
Figure II-3: Spectre UV-vis de THPP en milieu acide	P.20
Figure II.4 : Spectre IR de THPP pure.	P.21
Figure II-5: spectre UV-vis de la THPP ($2,5 \cdot 10^{-5}$ M) dans le DMSO à différentes concentration de β -CD ($18 \cdot 10^{-5}$, $9 \cdot 10^{-5}$, $6 \cdot 10^{-5}$, $4,5 \cdot 10^{-5}$, $3 \cdot 10^{-5}$, $2 \cdot 10^{-5}$ M)	P.22
Figure II-6 : Spectre UV-vis de la THPP ($2,5 \cdot 10^{-4}$ M) dans le DMSO à différentes concentration de β -CD à PH=2	P.22
Figure II-7 : courbe double réciproque de la THPP à différentes concentrations de la β -CD en milieu neutre.	P.24
Figure II.8 : Spectre IR du complexe d'inclusion THPP: β -CD.	P.24
Figure II.9 : Aspect physique de l'Hématoporphyrine	P.26
Figure II-10 : Spectre UV-vis de l'Hématoporphyrine dans le DMSO	P.27
Figure II.11 : spectre IR de l'hématoporphyrine pur	P.27
Figure II-12 : spectre UV-vis de l'hémato-porphyrine dans le DMSO à différentes concentrations de β -CD	P.28
Figure II-13 : courbe double réciproque de la Hp à différentes concentrations de la β -CD en milieu neutre.	P.30
Figure II.14 : aspect physique de L'ALA	P.31
Figure II.15 : spectre UV-vis de l'ALA	P.32
Figure II.16 : Le spectre IR de l'ALA pure	P.32
Figure II-17 : spectre UV-vis de l'ALA dans le DMSO à différentes concentrations de β -C	P.33

Liste des abréviations :

ALA : Acide 5-AminoLevulinique

ALA : β -CD : Acide 5-AminoLevulinique : β -cyclodextrine.

α : Stœchiométrie.

β -CD: Beta-cyclodextrine.

C: concentration de la β - cyclodextrine

CD: Cyclodextrine.

C_x : concentration initial de la THPP

DMSO: Diméthyle sulfoxyde.

ΔA : difference d'absorption de la THPP en présence et en absence de la β -CD.

FT-IR: Spectrophotométrie infrarouge à transformée de fourrier.

Hp : Hématoporphyrine.

Hp : β -CD : complexe d'inclusion Hématoporphyrine : Beta-cyclodextrine .

H₂THPP : THPP déprotonée

IX (Pp-IX) : protoporphyrine

K: Constante d'inclusion.

λ : Longueur d'onde.

MALDI :Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization

P_{ka}: constante d'acidité.

RMN : Résonance magnétique nucléaire.

THF: tetrahydroxyfurane

THPP: 5, 10, 15, 20-tetrakis (4-hydroxyphenyl)porphyrine.

THPP : β -CD: Complexe d'inclusion β -CD avec la THPP.

Table Des Matières

Introduction générale.....	1
CHAPITRE I :Etude théorique	
I.Généralité sur les porphyrines.....	3
I.1/Structure chimique.....	3
I.2/Caractérisation.....	3
a)Spectroscopie UV-visible.....	4
b) Résonance Magnétique Nucléaire : RMN du proton	5
c)Spectrométrie de masse	5
d) spectre IR	6
I.3/Utilisation	6
II.10,15,20-tétrakis (4-hydroxy-phényl)porphine(THPP)	7
II.1/Synthèse de THPP.....	7
II.2/Caractérisation	7
a) spectroscopie UV-visible	7
b) Spectroscopie IR	8
c) Résonance magnétique nucléaire.....	9
d) Spectroscopie de fluorescence	9
III.Hématoporphyrine Hp :	10
IV .Acide 5-AminoLevulinique ALA :	11
IV.1/Structure de l'ALA :	11
IV.2 /Propriétésdel'acideγ-aminolévulinique :	12
IV.3 / Utilisation de l'ALA :	13
V. La purpurine :	13

Table Des Matières

VI.Les cyclodextrines .	14
<i>VI-1/Structure et propriétés de cyclodextrine :</i>	14
<i>VI-2/Applications des cyclodextrines</i>	15
VII.Complexe d'inclusion :	16
VII.phénomène de complexation	16
VII.2/Formation des complexes d'inclusion .	17
VII.3/Avantage de la complexation	17
CHAPITRE II :ETUDE EXPERIMENTAL	
Etude du complexe d'inclusion THPP : β -CD	19
I.1/Caractéristique de la THPP :	19
a) Aspect physique :	19
b) Spectre UV-visible de THPP:	19
c) spectre IR	21
I.2/Synthèse et caractérisation du complexe supramoléculaire THPP : β -CD :	21
a) mode opératoire	21
b) Caractérisation du complexe d'inclusion THPP : β -CD.....	21
c)Discussion des résultats.....	24
II .Etude du complexe d'inclusion Hp :	26
II.1/Caractéristique de Hp.....	26
a) Aspect physique.....	26
b) Spectre UV-visible de Hp..... ;;	26
c) Spectre IR de Hp	27
I.2/Synthèse et caractérisation du complexe supramoléculaire Hp: β -CD :	28
a) Mode opératoire	28

Table Des Matières

b) Caractérisation du complexe d'inclusion Hp: β -CD.....	28
c) Discussion des résultats.....	30
III. Etude du complexe d'inclusion ALA : β -CD	31
III.1/Caractéristique de L'ALA.....	31
a) Aspect physique.....	31
b)Spectre UV-vis de l'ALA	31
c) spectre IR	32
III.2/Synthèse et caractérisation du complexe d'inclusion ALA : β -CD.....	33
a) Mode opératoire.....	33
b) Caractérisation du complexe d'inclusion ALA : β -CD	33
c)Spectroscopie UV-vis.....	33
d)Discussion des résultats.....	34
Conclusion générale.....	35

Introduction générale

Introduction générale

Les porphyrines d'origines synthétiques ou naturelles sont très convoités en médecine vue leurs propriétés thérapeutique potentielles.

Ces dernières sont une classe de composés, macrocycliques qui contiennent quatre molécules pyrroles. Les porphyrines et leurs dérivés constituent le noyau des biomacromolécules, tel que les cytochromes, hémoprotéines, chlorophylles, vitamine B12, etc.....

Les recherches ont montré que les porphyrines sont importantes, non seulement comme photosensibilisateurs, mais aussi comme des médicaments anticancéreux potentiels. Par conséquence le développement de la médecine des porphyrines attire de plus en plus l'attention des scientifiques (chimistes ; biologistes, etc....).

Hors, ces porphyrines de nature organiques hydrophobes, doivent être amphiphile pour qu'elles puissent se solubiliser dans les milieux aqueux. Pour modifier cette propriété d'hydrophobie, notre travail consiste à essayer d'encapsuler ces porphyrines dans des molécules cages, afin qu'elles deviennent hydrophiles et passer en solution facilement ; aussi cela leurs permettra de franchir toutes les barrières biologiques rencontrées lors de leur introduction dans l'organisme vivant.

De nombreuses classes de macromolécules peuvent ainsi former des complexes d'inclusion, comme par exemple les xéolithes, les clathrates, les éthers couronnes, les calixarènes, les cyclodextrines, etc.... 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 cyclodextrines semblent être très intéressantes

Le travail que nous avons effectué, consiste en la synthèse et la caractérisation de quatre complexes d'inclusion à partir de la β -cyclodextrine (β -Cd) et les porphyrines suivantes : le 5, 10, 15, 20(4-hydroxyphenyl) porphyrine (THPP), l'hématoporphyrine (Hp), la purpurine (Pr), et l'acide aminolévulinique (Ala).

- Etape 1 : préparation des complexes d'inclusion : β -Cd :THPP, β -Cd :hp, β -Cd :ALA, β -Cd :Pr
- Etape2 : Caractérisation de ces complexes d'inclusions par la spectroscopie UV-visible pour confirmer l'inclusion et déterminer l'ordre d'inclusion, et la spectroscopie infrarouge FT-IR.

CHAPITRE I :

Etude théorique

I. Généralité sur les porphyrines :

Le terme porphyrine provient du grec *porphura* qui signifie violet (pourpre). Sa découverte est intimement liée aux travaux menés sur la chlorophylle. En 1896, Nencki propose pour la première fois une structure chimique des porphyrines fondée sur le motif pyrrolique.

I.1/Structure chimique :

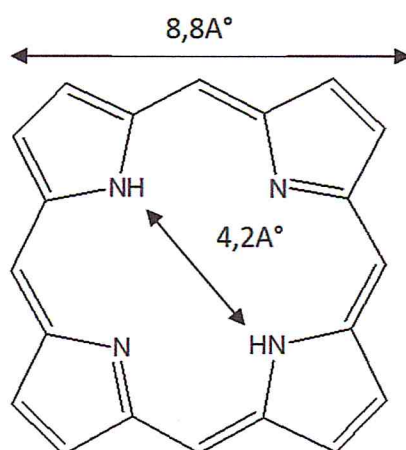


Figure I.1 : structure la plus simple des porphyrines

Les porphyrines sont des macrocycles fortement conjugués constitués de quatre unités pyrroliques liées entre elles par des ponts méthine. Mesurant environ 9 Å de long pour un diamètre de 4,2 Å (figI.1). Le squelette de base est aromatique et l'aromaticité est due à la règle de Hückel, à un système de 18 électrons π (figure I-1). Ces macrocycles sont d'une part particulièrement stables et d'autre part très fortement colorés. En outre, les porphyrines se comportent en fonction du pH comme des diacides ou des di-bases et peuvent alors être métallées par presque tous les métaux de la classification périodique. Elles constituent sous cette forme d'excellents agents d'oxydoréduction, thermiques ou photochimiques. [1]

I.2/Caractérisation:

Les porphyrines sont des molécules complexes, il existe cependant des méthodes spectroscopiques qui permettent de les caractériser.

a) Spectroscopie UV-visible:

Les porphyrines possèdent un système d'électrons π fortement conjugué. Ces molécules absorbent dans le domaine du visible et présentent un spectre d'absorption très caractéristique qui résulte de transitions $\pi \rightarrow \pi^*$ et se compose d'une bande intense ($\epsilon > 100000 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) entre 390 et 430 nm (proche UV) appelée bande de Soret ou bande B et de quatre autres bandes situées entre 480 et 700 nm (Visible) d'intensité dix à vingt fois plus faible appelées bandes Q. [3]

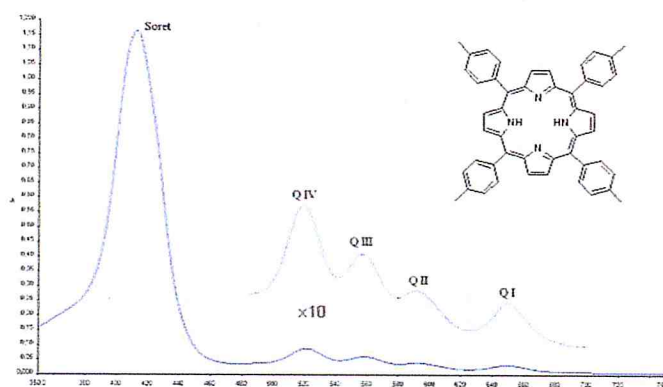


Figure I.2 : Spectre UV-visible caractéristique d'une porphyrine à base libre : la H₂TTP (dans CHCl₃). [2]

La région du spectre située dans le domaine du visible, généralement sensible aux variations de structures, renseigne sur la substitution du macrocycle. En effet, les quatre bandes Q, numérotées de I à IV en partant des énergies les plus basses, voient leurs intensités relatives varier notablement en fonction de la nature et de la position des substituants. On distingue ainsi essentiellement quatre types de spectres, appelés : éthio, rhodo, oxorhodo et phyllo. (fig.I.3)

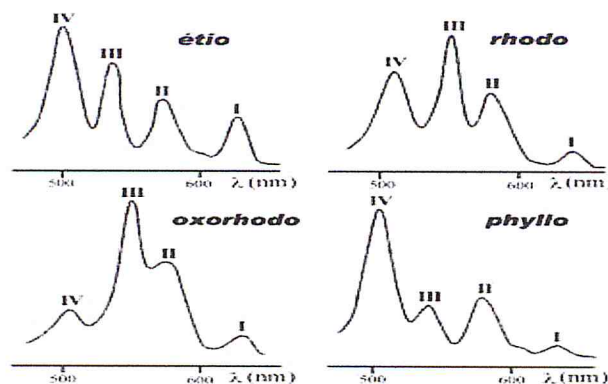


Figure I.3 : Profil des bandes Q pour les quatre principaux types de spectres d'absorption des porphyrines. [2]

On rencontre principalement le type *étio* dans le cas de porphyrines b-substituées par au moins 6 groupements ou dans le cas de la plupart des *méso*-arylporphyrines. Si ces dernières portant un substituant saturé (par exemple une chaîne alkyle) à la place de l'aryle, elles auront généralement un spectre de type *phyllo*. La présence de groupements riches en électrons π en position b-pyrrolique génère un profil d spectre de type *rhodo* alors que la présence de deux de ces mêmes groupements en position β -pyrrolique sur deux pyrrole opposés conduit à un spectre de type *oxorhodo*. [2]

b) Résonance Magnétique Nucléaire : RMN du proton :

Le spectre RMN ^1H de la porphyrine la plus simple non substituée, est constitué de 3 singlets à -3,76 ; 9,74 et 10,50 ppm. Ces signaux sont attribués respectivement aux protons liés aux atomes d'azote, aux protons des positions β -pyrroliques et aux protons *méso*. L'existence du courant de cycle se traduit par un très fort blindage des protons NH pyrroliques. Notons par ailleurs que l'unicité du signal correspondant aux 8 protons β -pyrroliques résulte de la tautomérie des protons N-H internes.(fig.I.4). [2]

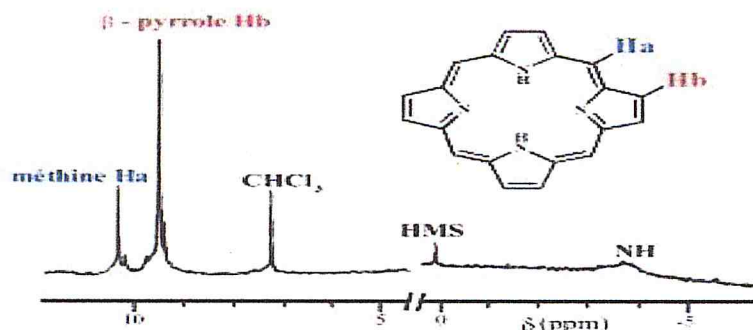


Figure I.4 : Spectre RMN 1H de la porphine dans CDCl_3 . [2]

c) Spectrométrie de masse :

Les porphyrines étant très faiblement volatiles, les techniques classiques d'ionisation ne sont généralement pas adaptées. Il est nécessaire d'utiliser les méthodes de désorptions directes comme le MALDI (Figure I-5). [2]

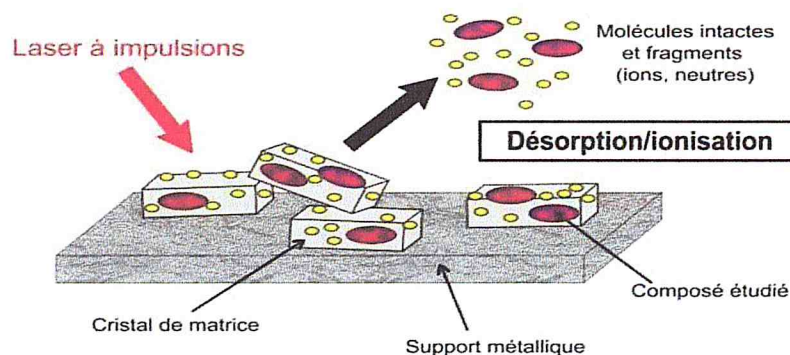


Figure I.5: Principe de la technique MALDI.[2]

La technique MALDI (Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization : désorption-ionisation laser assistées par matrice) permet le passage en phase gazeuse de molécules ionisées intactes à hauts poids moléculaires. Le produit à analyser, mélangé à un excès de molécules d'un composé servant de matrice, est adsorbé sur un support métallique. Le dépôt est ensuite irradié par des impulsions lasers courtes (quelques nanosecondes) dont la longueur d'onde correspond à une bande d'absorption de la matrice. L'énergie délivrée par le laser est absorbée de manière sélective par la matrice conduisant à un phénomène de désorption et d'ionisation. Une faible partie de l'énergie absorbée est transmise sous forme d'énergie cinétique et d'énergie interne à la substance analysée ce qui provoque l'éjection d'espèces moléculaires essentiellement intactes [2].

a) Spectroscopie IR :

La spectroscopie infrarouge est très peu utilisée pour la caractérisation de macrocycles porphyriques. Cependant quelques bandes de vibration sont caractéristiques et notamment celles des liaisons N-H pyrrole à $3310-3326\text{ cm}^{-1}$, des liaisons C-H à $3075-3150\text{ cm}^{-1}$ ou encore celles des liaisons C-N à $2208-2212\text{ cm}^{-1}$.

I.3/Utilisation:

Les porphyrines ont se trouver de nombreuses applications :

- La fabrication de cellules solaires pour la conversion directe de la lumière en électricité avec un rendement maximal de conversion de 7,1 %
- La préparation de cristaux liquides utilisables dans l'ensemble des dispositifs d'affichages (des montres aux écrans d'ordinateurs)
- L'utilisation comme catalyseurs en chimie organométallique (réactions d'époxydation, d'oxydation, de cyclopropanation, formation de pyrrolines, de furanes...)
- Utilisation en chimie thérapeutique avec la thérapie photodynamique associant un colorant tétrapyrrolique (tel que les porphyrines), de la lumière et l'oxygène dissout dans le sang pour détruire des cellules cancéreuses.

II .Le 5,10,15,20-tétrakis (4-hydroxy-phényl)-21, 23H-porphyrine (THPP) :

II.1/Synthèse de THPP :

La THPP est obtenue par la méthode d'Adler. La porphyrine (THPP) est préparée selon la littérature de cette méthode qui est figuré dans la figure (figl.6).

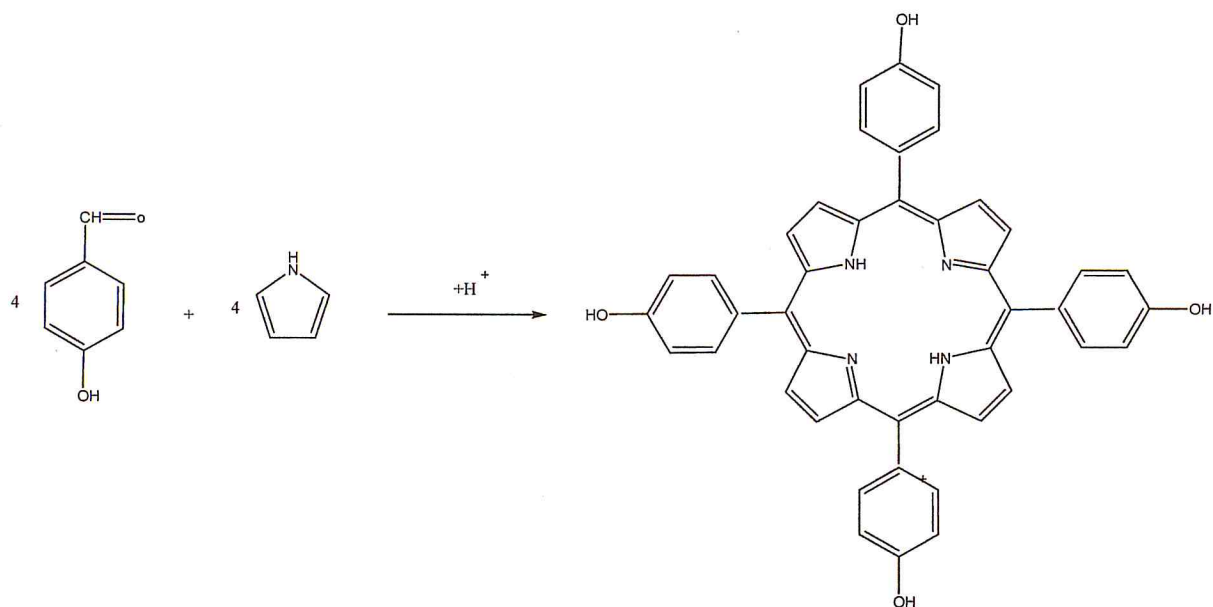


Figure I.6 Synthèse de la THPP [3]

II.2/Caractérisation :

a) Spectroscopie UV-visible :

Les absorptions caractéristiques de la porphyrine à base libre apparaissent dans le spectre UV-vis dans la fig.II.2, avec une bande de Soret typiques et les quatre Q-bandes dans le domaine visible. La bande autour de 419 nm a été attribué à la bande de Soret, qui est due à la transition de $A_{1u}(\pi) - e_g^*(\pi)$, et les quatre autres maximum d'absorption autour de 515, 550, 593, et 650 nm peut être attribuée à la Q bandes correspondant à $A_{2u}(\pi) - e_g^*(\pi)$ transitions. [3]

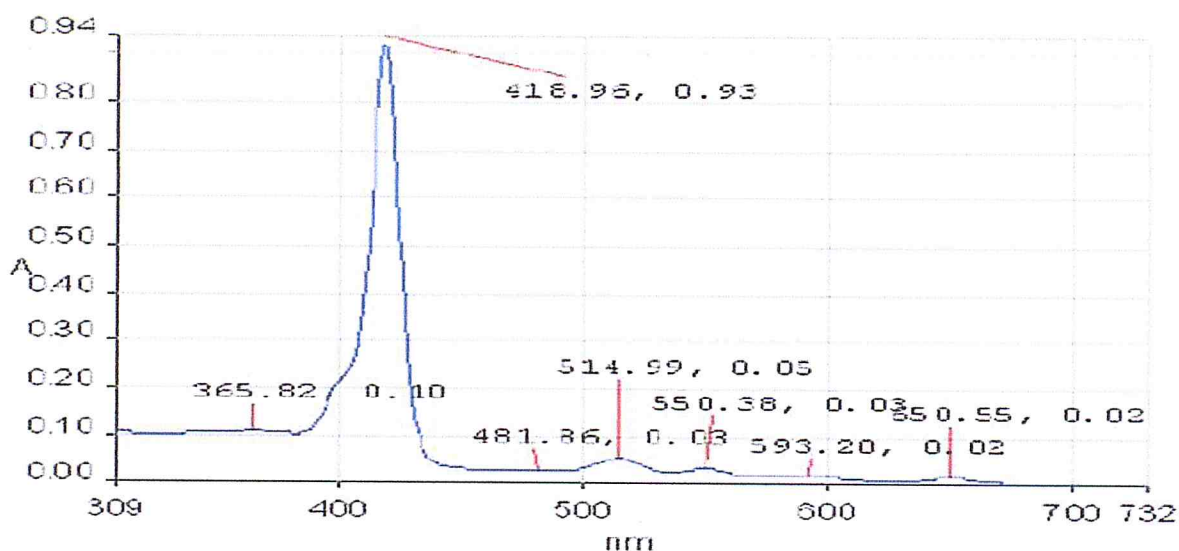


Figure I.7 : spectroscopie UV-vis de la THPP dans le THF. λ_{MAX} (log ϵ) : 418.96 (4.92) ; 514.99 (3.65) ; 550.38 (3.43) ; 593.20 (3.25) ; 650.55 (3.25) [3]

b) Spectroscopie IR :

Le spectre FT-IR de THPP (Fig.II.3) est conforme à sa structure. La bande d'absorption de forte intensité située à 3415 cm^{-1} est attribué à OH vibration d'élongation et les absorptions à 3317 et 967 cm^{-1} sont attribuées à l'étirement et la flexion des vibrations de NH et CN, respectivement, qui sont les absorptions caractéristiques de porphyrine à base libre. Les bandes de la gamme 1500 - 1600 cm^{-1} sont dues à la vibration d'élongation de C=C dans le cycle aromatique du benzène. [3]

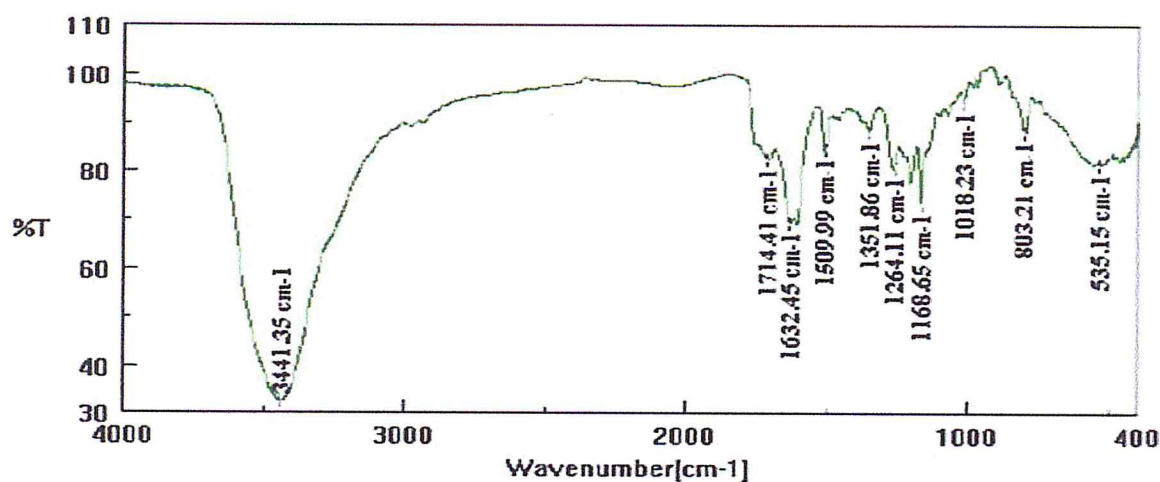


Figure I.8 : spectre FT-IR de la THPP dans du KBr [3]

c) Résonance magnétique nucléaire (RMN):

Le spectre RMN ^1H du THPP, les protons des signaux internes (NH) de porphyrine sont localisés à la région de champ le plus élevé (-2,81 ppm) en raison de l'interaction en cours de noyau pyrrolique. Les autres pics correspondent aux protons phényle et pyrrolique ou OH résonnent dans la région de champ faible de 7,36-8,11 ppm (orto- et méta-H-Ph), 8,98 ppm (β -H-pyrrole), respectivement à 10,01 ppm (OH). (fig.I.9) [3]

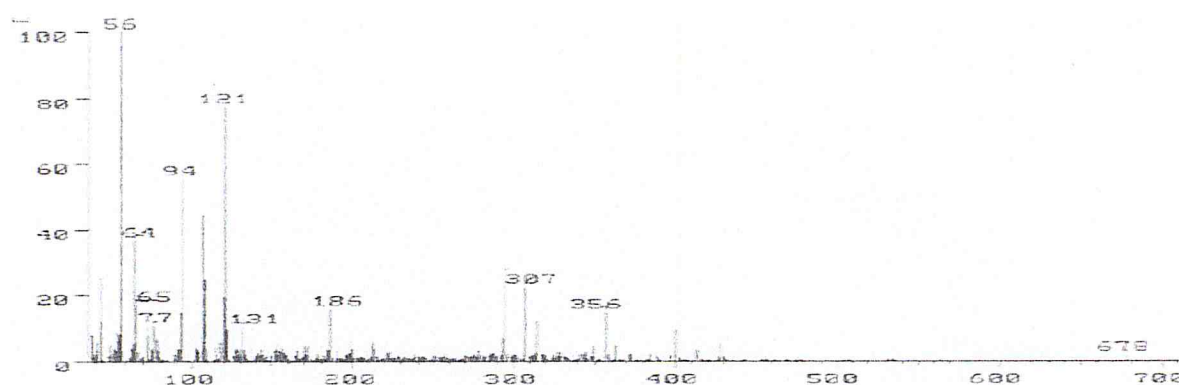


Figure I.9 : Spectre H-RMN de la THPP [3]

d) Spectroscopie de fluorescence :

L'étude de fluorescence de la THPP, a donné des résultats intéressants. Dans la figure II.5, il peut être la dépendance des maximum des différentes émissions avec l'énergie d'excitation, l'émission avait une grande intensité et se trouve dans les régions de grandes λ_{ex} , avec la diminution de l'énergie d'excitation (augmentation de λ_{ex}). [3]

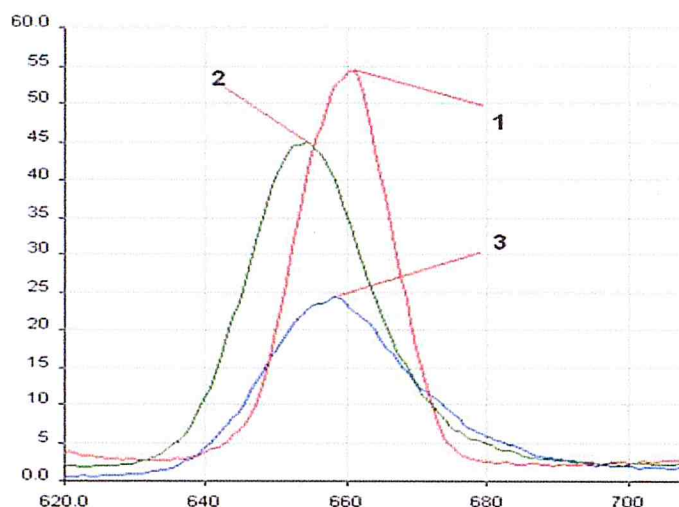


Figure I.10 : spectre d'émission de la THPP [3]

II. Hémato-porphyrine Hp :

L'hématoporphyrine et ses dérivés (Hp, HpD) constituent la première génération des porphyrines utilisées comme photosensibilisateurs dans la PDT.

L'HpD est obtenue par Lipson à partir de l'hémoglobine du sang par un traitement avec un mélange d'acides sulfurique et acétique, suivi d'un traitement alcalin. Il ne s'agit pas d'un composé unique mais d'un mélange de monomères et d'oligomères (polymères de porphyrines reliés par des ponts ester, éthers et carbone) qui peuvent être partiellement séparés par HPLC [2].

Les figures (I.11) et (I.12) présentent la structure et le spectre UV-visible de l'hématoporphyrine [2]

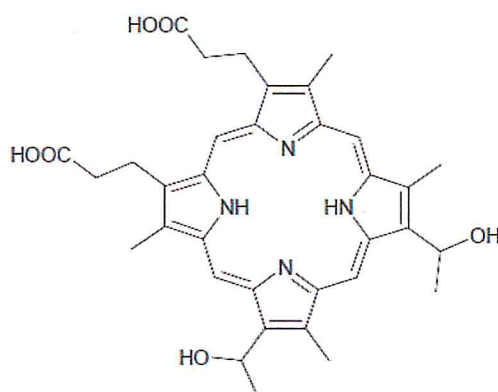


Figure I.11 : structure de l'hématoporphyrine [2]

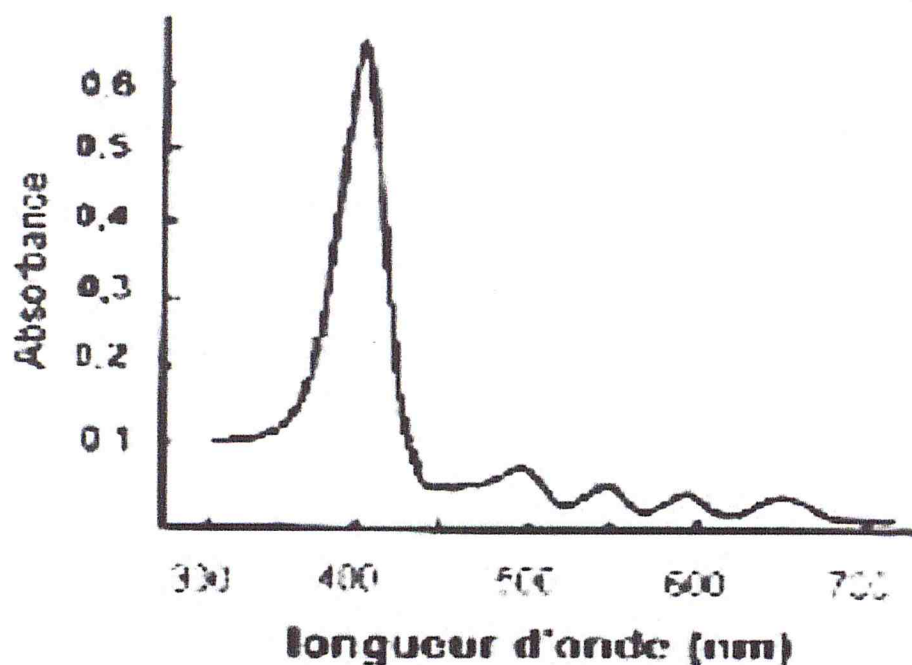


Figure I. 12 : spectre UV-vis de l'hématoporphyrine [4]

III. Acide 5-AminoLevulinique ALA :

IV.1- Structure de l'ALA :

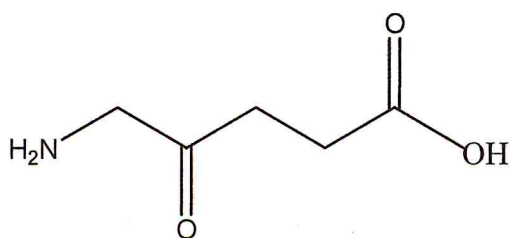


Figure I.13. structure de l'acide 5-Aminolevulinic

L'ALA est une molécule endogène, à demi-vie courte (50 minutes) intermédiaire dans la synthèse de l'hème et précurseur de la protoporphyrine IX (Pp-IX) qui est un photosensibilisant impliqué dans le traitement par PDT (Figure I.14) [4]

Celle-ci possède un spectre d'absorption caractéristique avec cinq pics (Figure I.15). En pratique clinique, le pic à 630 nm est le plus utilisé.

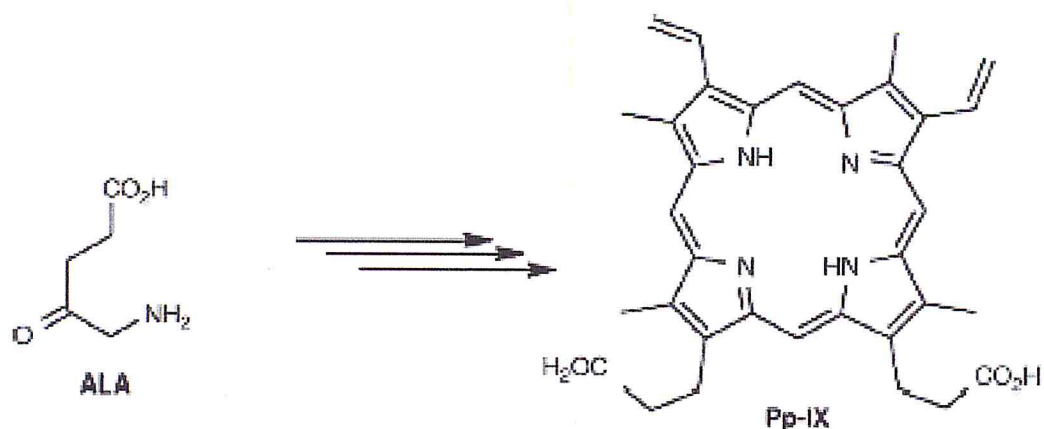


Figure I.14 : ALA précurseur de la protoporphyrine IX (Pp-IX) [4]

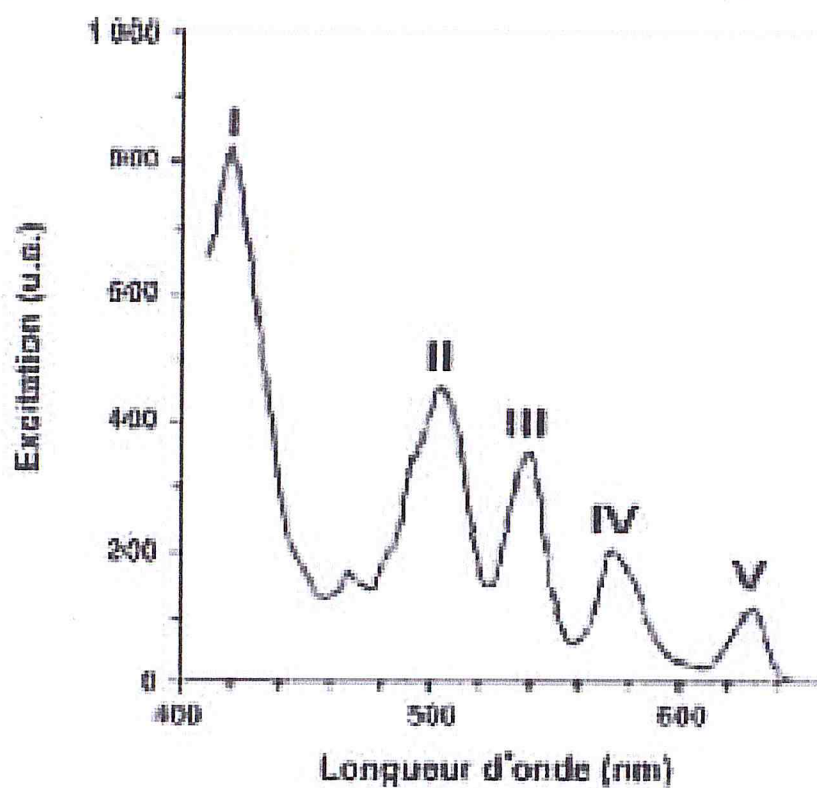
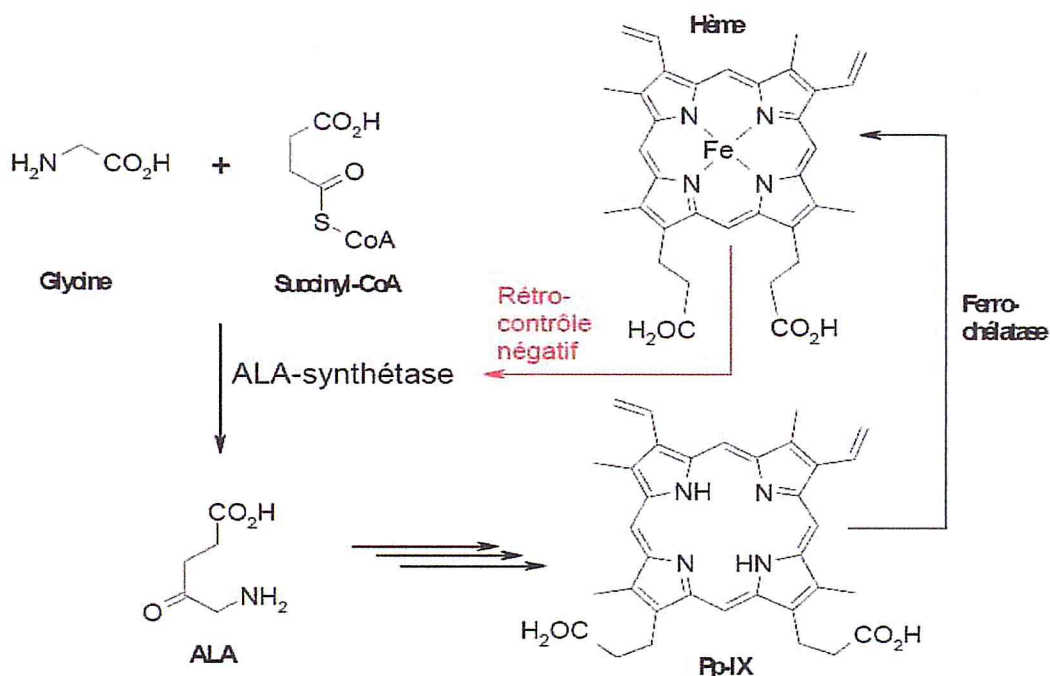
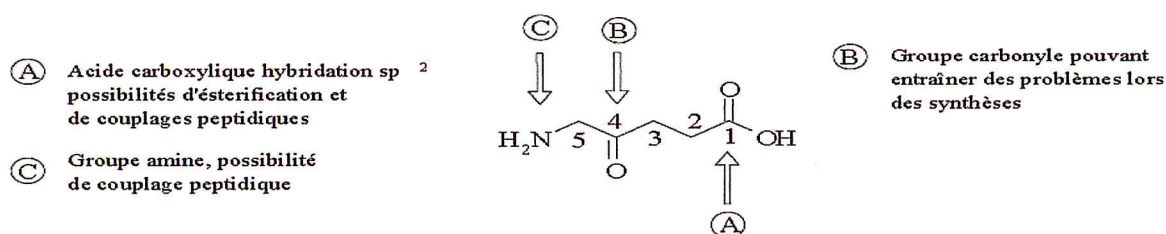


Figure I. 15 : spectre d'absorption de la protoporphyrine IX (Pp-IX). [4]

Dans la cellule, la biosynthèse de l'hème est finement contrôlée [5]:



IV.2- Propriétés de l'acide γ -aminolévulinique :



- la fonction de l'acide carboxylique et la fonction de l'amine ne se sont pas fixées sur le même carbone. Il y a quatre atomes de carbone séparent les deux fonctions.
- L'ALA possède sur le carbone C4 une fonction cétone qui amène de nombreuses complications lors des synthèses et entraîne également des problèmes de stabilité.
- pour l'ALA, le premier pKa est à 4.05 et le deuxième est à 8.90. [6]

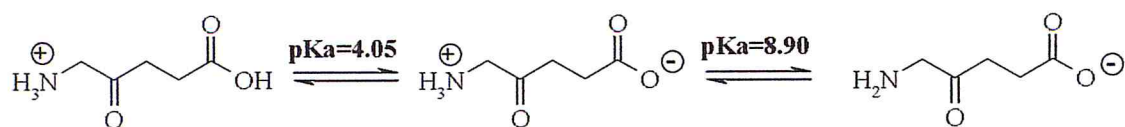


Figure I.18 : différente pka de l'ALA [6]

IV.3- Utilisation de l'ALA :

- L'acide lévulinique est un précurseur de polymères (polyesters, polyamides), de caoutchouc synthétique et de plastiques.
- C'est un intermédiaire synthétique polyvalent, utilisé par exemple dans la synthèse de composés pharmaceutiques.
- un précurseur dans la production industrielle d'autres produits chimiques, tels que le méthyltétrahydrofurane, la γ -valérolactone et le lévulinate d'éthyle.
- un photosensibilisant utilisé en photochimiothérapie.
- un additif utilisé dans les cigarettes pour augmenter la libération de nicotine dans la fumée et améliorer la liaison de la nicotine aux récepteurs neuronaux.
- En biochimie, l'acide δ -aminolévulinique, un dérivé de l'acide lévulinique est un intermédiaire dans la biosynthèse de porphyrine. [6]

V. La purpurine :

Les purpurines sont des molécules de la famille des chlorines qui possèdent un cycle accolé au squelette porphyrinique de base. La stabilité recherchée pour les chlorines de synthèse est ainsi obtenue et l'exocycle confère à cette molécule une absorption vers 660 nm.

L'éthylétiopurpurine d'étain est un dérivé commercialisé sous le nom de Purlytin® (Figure I.19). Il est étudié pour le cancer de la prostate^{ss} et est utilisé pour la dégénérescence maculaire liée à l'âge (DMLA). Cependant la faible stabilité de cette molécule dans l'eau pose un problème pour le traitement in vivo. Les recherches s'orientent vers une dilution de ces composés avec des agents émulsifiants composés d'acide gras (Cremophor®). [2]

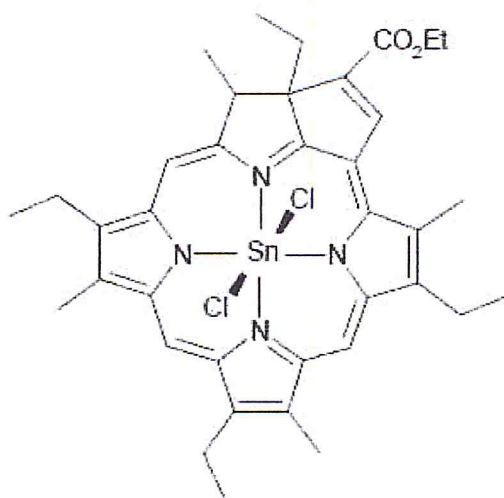


Fig. I.19: structure chimique d'une purpurine [2]

VI. Les cyclodextrines :

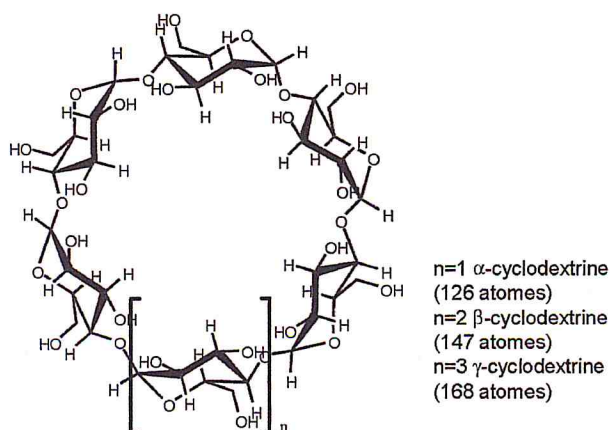


Figure I.20 : structure général des cyclodextrines.

VI-1/Structure et propriétés des cyclodextrines :

Les cyclodextrines sont des oligosaccharides cycliques non-réducteurs de l' α -D-glucopyranose. Elles sont obtenues industriellement par dégradation enzymatique de l'amylose (forme linéaire de l'amidon) à l'aide d'une enzyme, la cyclodextrine glucosyltransférase (CGTase). Les familles les plus courantes sont l' α , la β et la γ -

cyclodextrine contenant respectivement 6, 7 et 8 unités D-glucopyranosiques (FigureI-20), liées en α -1,4. Il existe aussi des cyclodextrines plus grandes (appelées géantes) qui peuvent contenir jusqu'à 14 unités glucopyranosiques. Ils possèdent une cavité d'environ 5 à 8 Å° de diamètre qui leur permet d'inclure de nombreux composés organiques pour former des complexes d'inclusion à l'état solide ou en solution. [7]

Propriétés	α -CD	β -CD	γ -CD	réf.
N° de glucoses	6	7	8	-
Formule brute (anhydre)	C ₃₆ H ₆₀ O ₃₀	C ₄₂ H ₇₀ O ₃₅	C ₄₈ H ₈₀ O ₄₀	-
Masse atomique (anhydre)	972.85	1134.99	1297.14	-
Longueur de la cavité, Å	7.9±0.1	7.9±0.1	7.9±0.1	10
Diamètre de la cavité, Å	4.7-5.3	6.0-6.6	7.5-8.4	10
Diamètre extérieur, Å	14.6±0.4	15.4±0.4	17.5±0.4	10
Volume de la cavité, Å ³	174	262	427	10
pKa, 25°C	12.332	12.202	12.081	10

Figure I.21: propriétés physicochimiques des cyclodextrines [7]

VI-2/Applications des cyclodextrines :

Grâce à leur toxicité nulle, le champ d'utilisation des cyclodextrines est très large. Parmi ces applications on cite :

- Stabilisateurs de substances sensibles à la lumière et à l'oxygène.
- Stabilisateurs de substances volatiles.
- Catalyseurs chimiques.
- Inducteurs chiraux en synthèse organique asymétrique.
- Séparateurs énantiomériques en électrophorèse capillaire, en Chromatographie en phase gazeuse, en Chromatographie liquide haute performance.
- Modèles d'enzymes artificielles.
- Vecteurs en industrie pharmaceutique (solubilisation, stabilisation, masquage d'effets secondaires, augmentation de la biodisponibilité de principes actifs). [7]

VII. Complexe d'inclusion :

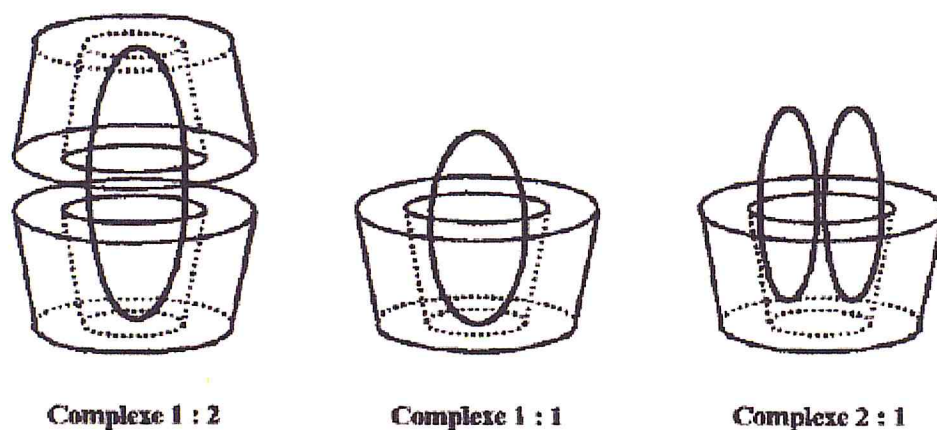


Figure I.22 : Représentation schématique de complexes d'inclusions de stœchiométries différentes [8]

Un complexe d'inclusion est une association moléculaire entre une ou plusieurs molécules dont l'une est l'hôte (le récepteur) et l'autre l'invitée (le substrat). La molécule « invitée » est alors encapsulée de façon totale ou partielle, le récepteur jouant le rôle de molécule « hôte ». Les liens entre la molécule hôte et la molécule invitée sont des interactions faibles, ce qui permet une dissociation aisée et douce. (Figure I-22).

Les CDs peuvent se comporter comme des molécules « refuges » capables d'inviter dans leurs espaces internes, de façon réversible, des molécules et donner ainsi des **complexes d'inclusion**. [9]

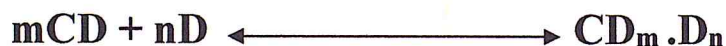
VII-1/Phénomène de complexation :

Le phénomène de complexation est la résultante d'une multitude d'interactions (substrat/solvant, solvant/solvant et CD/solvant) qui conduisent à l'état thermodynamique le plus stable. En solution aqueuse, la cavité de la CD est occupée par des molécules d'eau qui se trouvent dans un état énergétique défavorable, à cause des interactions polaire-apolaire, et sont facilement remplacées par des molécules appropriées, moins polaires que l'eau. De plus, les composés organiques dissous dans l'eau présentent une préférence pour les environnements hydrophobes. [9]

Ce processus réversible (les molécules complexées sont en équilibre avec les molécules libres

en solution) peut être quantifié par une constante d'équilibre appelée constante de stabilité (K_c ou $K_{n:m}$).

L'équation générale d'équilibre peut s'écrire [8]:



VII.2/Formation des complexes d'inclusions :

La formation d'un complexe d'inclusion CD/substrat comprend cinq étapes élémentaires :

1. Le substrat s'approche de la molécule de CD et les molécules d'eau s'échappent de la cavité de la CD et acquièrent un niveau d'énergie correspondant à celui de l'état gazeux. Les interactions de Van der Waals et le nombre de liaisons hydrogène diminuent, tandis que les degrés de liberté de translation et de rotation des molécules d'eau libérées augmentent.

2. La molécule invitée se libère de la couche d'eau qui l'enrobe et acquiert aussi un état différent et la couche d'eau se disperse et se réarrange.

3. La molécule invitée, considérée comme étant dans l'état d'un gaz parfait, pénètre à l'intérieur de la cavité vide et le complexe est stabilisé par des interactions de Van der Waals et/ou par des liaisons hydrogène.

4. Les molécules d'eau expulsées se réarrangent et créent entre elles des liaisons hydrogène.

5. La structure de l'eau est restaurée autour de la partie du substrat qui reste en contact avec le solvant, et intégrée à la couche d'eau hydratant la CD. [9]

VII.3/Avantage de la complexassions :

L'inclusion d'une molécule invitée dans une molécule de CD constitue donc une encapsulation moléculaire susceptible de modifier les propriétés physico-chimiques, biologiques du substrat.

Les avantages qui en découlent sont multiples :

- l'invité peut bénéficier d'une protection contre la dégradation thermique ou photochimique, l'oxydation, l'hydrolyse ou la sublimation, d'une amélioration de la biodisponibilité des principes actifs et de leur relargage.

- La microencapsulation peut diminuer la volatilité des produits en augmentant le point d'ébullition et augmenter la solubilité de nombreuses substances naturellement insolubles dans l'eau. [9]

CHAPITRE II :
Etude Expérimentale

I. Etude du complexe d'inclusion THPP : β -CD

I.1/Caractéristique de la THPP :

a)Aspect physique :

Le méso-térakis(4-hydroxyphenyl) porphyrine THPP est une poudre violette sans odeur caractéristique, la figureII-1 représente l'aspect physique de la THPP dans le DMSO



Figure II-1 : aspect physique de la THPP

b)Spectre UV-visible de la THPP:

➤ Dans un milieu neutre PH=7

Le spectre UV-visible d'une solution $2,5 \cdot 10^{-5} \text{M}$ de THPP dans le DMSO est représenté sur la figureII-2. La bande Soret enregistré est aux environ de 422 nm, qui résulte de la transition $a_{1u}(\pi)\text{-eg}^*(\pi)$, les quatre bandes Q d'absorption sont aux environ de 553, 594, 559 et 520 nm, correspondant à la transition $a_{2u}(\pi)\text{-eg}^*(\pi)$.

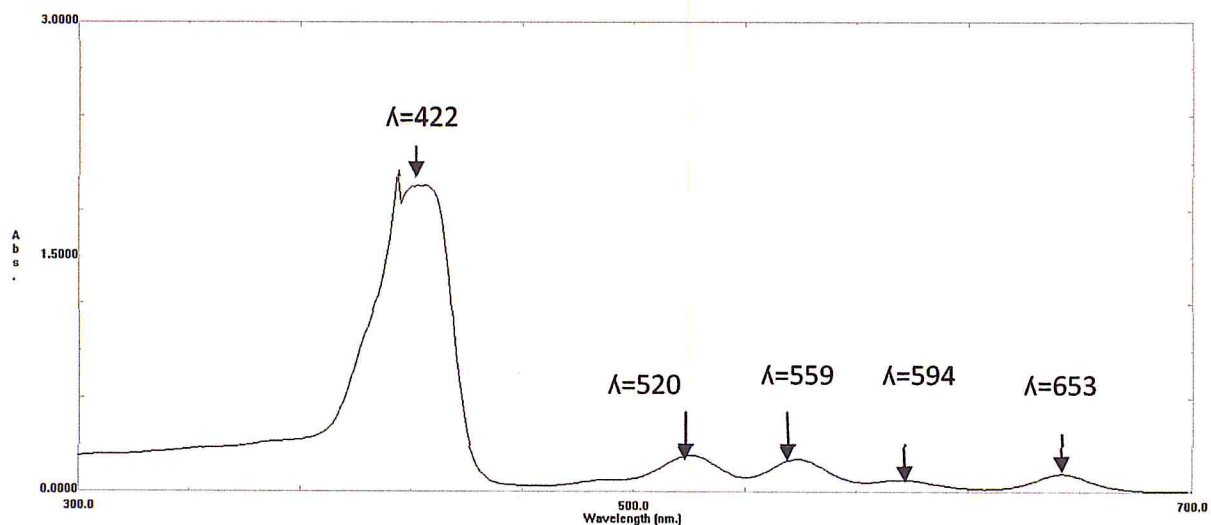


Figure II-2- spectre UV-vis de la THPP dans le DMSO

➤ Spectre UV-vis de la THPP dans un milieu acide :

La figure II.3 montre le spectre UV-vis de la THPP à PH=2. En milieu acide la THPP existe à l'état diprotonée H_4THPP^{2+} , La bande Soret est vers 445 nm, nettement différente de la bande soret de la H_2THPP observé sur le spectre UV-visible de cette dernière en milieu neutre PH=7 (422nm).

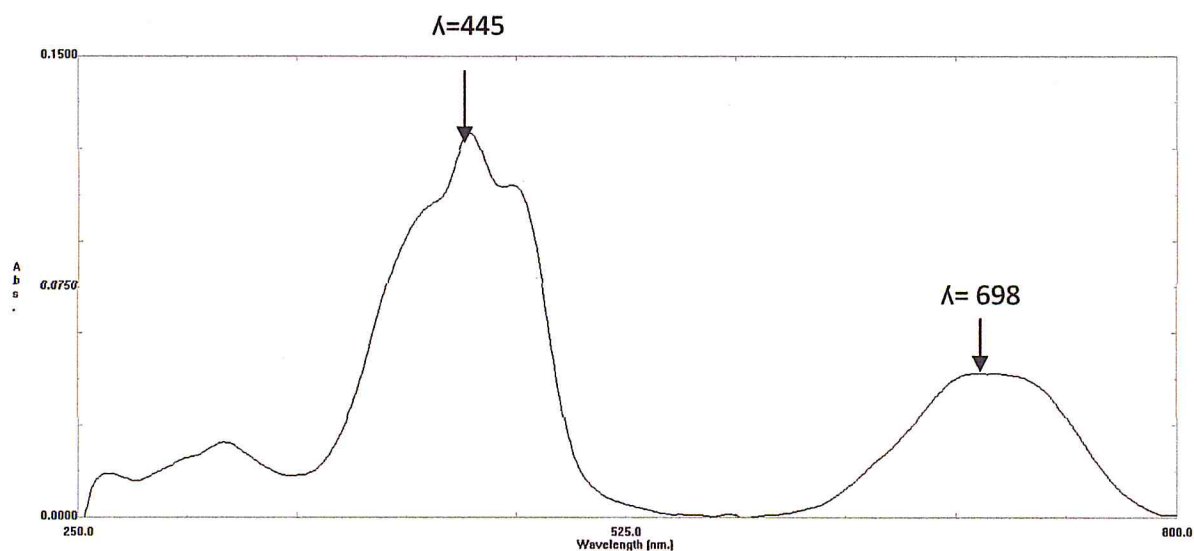


Figure II-3-spectre UV-vis de la THPP en milieu acide

c) Spectre IR :

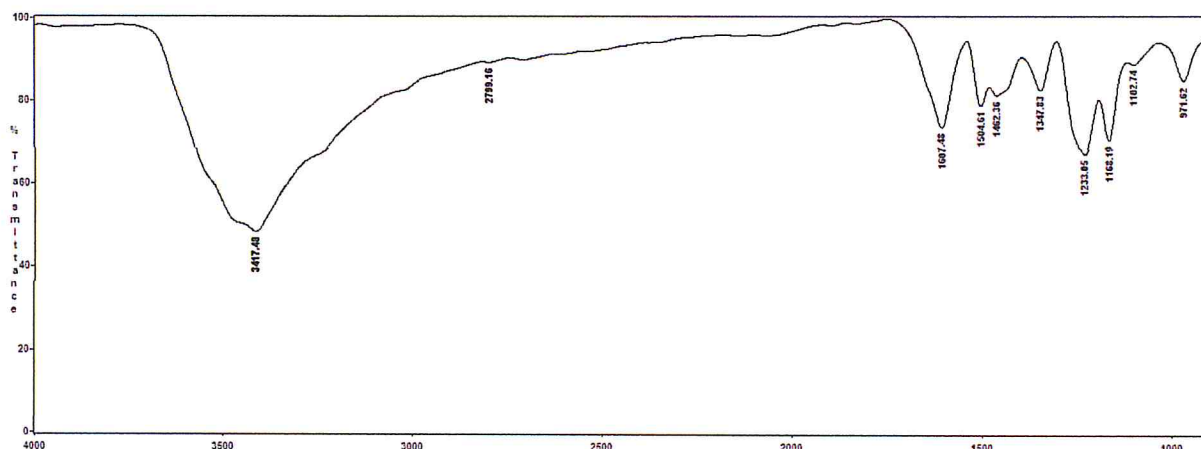


Figure II.4 : spectre IR de la THPP pure.

La figure II.4 montre le spectre IR de la THPP dans le KBr.

La bande intense située à 3417 cm^{-1} , est assignée à la vibration de l'amine secondaire N-H et celle de l'alcool primaire du phénol. Celle situé vers 1462 cm^{-1} correspond à la vibration C=N. la bande 1604 cm^{-1} est due à la vibration C=C . la bande située à 1233 cm^{-1} est attribuée à la liaison C-OH.

I.2/Synthèse et caractérisation du complexe supramoléculaire THPP : β -CD :

a) Mode opératoire :

Dans une fiole de 10ml, on introduit 1ml d'une solution de THPP dans le DMSO et une quantité appropriée d'une solution de β -CD dans l'eau distillé, on complète le volume avec l'eau bi-distillée tamponnée à PH=7, et on laisse sous agitation pendant 30 minutes dans le noir à température ambiante. Les intensités des absorptions dans l'UV-visible sont mesurées et enregistrées par le spectrophotomètre UV-visible.

b) Caractérisation du complexe d'inclusion THPP : β -CD

➤ **Spectroscopie UV-vis :**

❖ Dans un milieu neutre PH=7 :

Le spectre UV-visible d'une solution de THPP dans le DMSO ($2,5 \cdot 10^{-5}$ M), dans un milieu neutre (PH= 7) à différentes concentrations d'une solution de β -CD ($18 \cdot 10^{-5}$, $9 \cdot 10^{-5}$, $6 \cdot 10^{-5}$, $4,5 \cdot 10^{-5}$, $3 \cdot 10^{-5}$, $2 \cdot 10^{-5}$) M est présenté sur la figure (II.5)

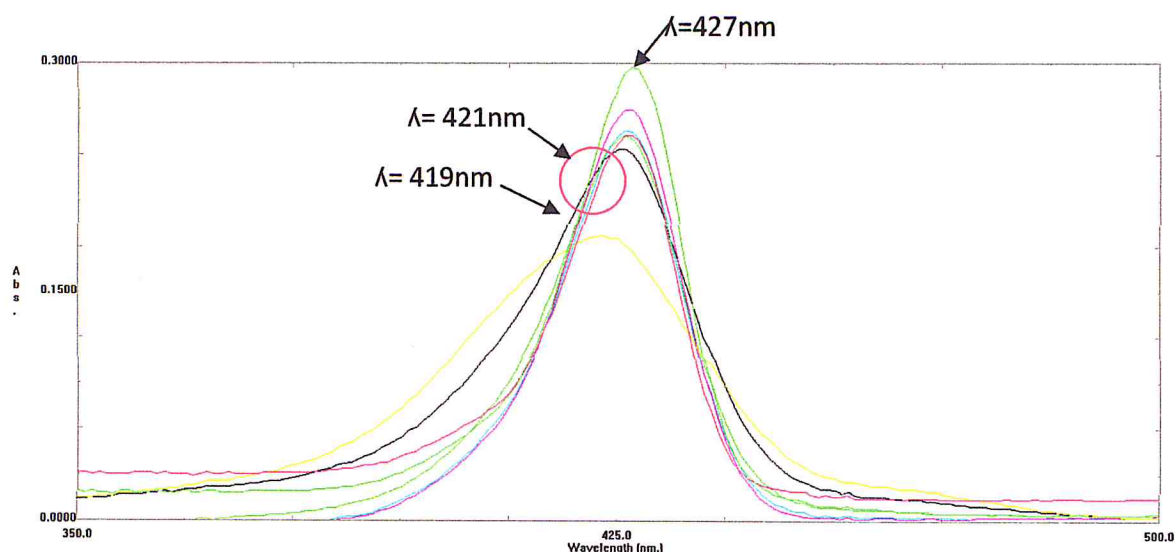


Figure II-5 : spectre UV-vis de THPP $2,5 \cdot 10^{-5}$ M dans le DMSO à différentes concentration de β -CD ($18 \cdot 10^{-5}$, $9 \cdot 10^{-5}$, $6 \cdot 10^{-5}$, $4,5 \cdot 10^{-5}$, $3 \cdot 10^{-5}$, $2 \cdot 10^{-5}$ M

➤ **Formation du complexe d'inclusion THPP : β -CD :**

L'addition d'une solution de β -CD à la solution de THPP engendre des modifications dans les caractéristiques photochimiques de la THPP. L'augmentation des intensités d'absorption en fonction de l'augmentation de la concentration de la β -CD dans le mélange, est accompagnée par un déplacement des longueurs d'ondes de 427 nm vers 419 nm et par l'apparition d'un point isobestique vers 421 nm. Cela suggère la formation d'un complexe d'inclusion ou d'un système supramoléculaire **THPP : β -CD** d'une stœchiométrie et constante de complexation bien précises.

➤ **Détermination de la constante et de l'ordre d'inclusion:**

Pour déterminer la constante et l'ordre d'inclusion caractéristique du système supramoléculaire THPP : β -CD, on trace la courbe appelée « double reciprocal plot » $1/\Delta A = f(1/C^n)$

$$1/\Delta A = 1/\alpha K C_x C^n + 1/\alpha C_x \quad (\text{II-1})$$

ΔA : difference d'absorption de la THPP en présence et en absence de la β -CD.

α : coefficient d'absorption.

C: concentration de la β - cyclodextrine

C_x : concentration initial de la THPP

K : constante d'inclusion

n : ordre d'inclusion

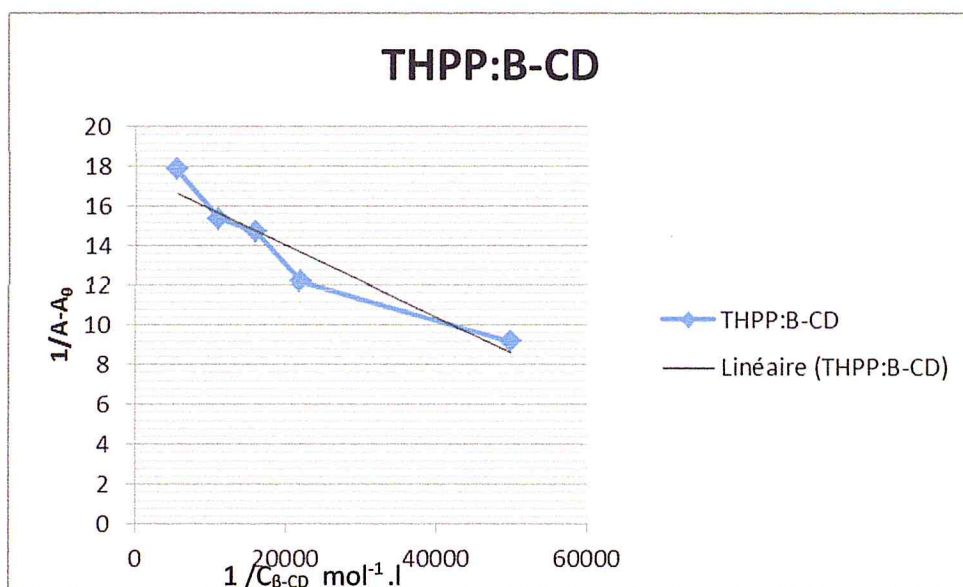
La courbe $1/\Delta A = f(1/C^n)$ présenté sur la figure II-7 est une courbe pas tellement linéaire de forme mathématique :

$$Y=18.10^{-5} X+17,65$$

Pour un ordre d'inclusion supposant 1:1 de la THPP dans la β -CD, ainsi par superposition avec l'équation théorique donnée ci-dessus on obtient la constante d'inclusion :

$$K=9,75 \times 10^4 \text{ L}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1}.$$

Figure II-7 : courbe double réciproque de la THPP à différentes concentrations de la β -CD en milieu neutre.



❖ Dans un milieu acide PH=2 :

Le spectre UV-visible d'une solution de THPP dans le DMSO ($2,5 \cdot 10^{-5}$ M) en milieu acide (PH= 2) à différentes concentrations d'une solution de β -CD ($0,18 \cdot 10^{-6}$, $2 \cdot 10^{-5}$,

6.10^{-5} , 18.10^{-5}) est présenté sur la Figure(II.6), Un nette déplacement de la bande Soret vers 414nm accompagné avec de la diminution des intensités à chaque addition de β -CD.

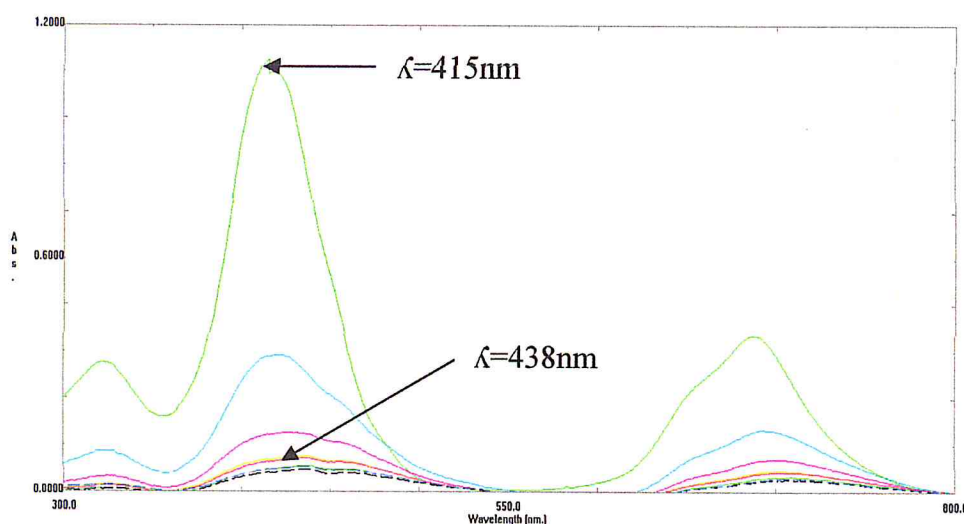


Figure II-6 : Spectre UV-vis de la THPP $2,5.10^{-5}M$ dans le DMSO à différentes concentration de β -CD à PH=2

➤ Spectre IR :

Dans un mortier, une quantité de 10^{-2} g de THPP est ajouté à une quantité approprié de β -CD (rapport 1/100) en broyant le mélange. Le spectre IR dans le KBr est représenté dans la figure (II.8).

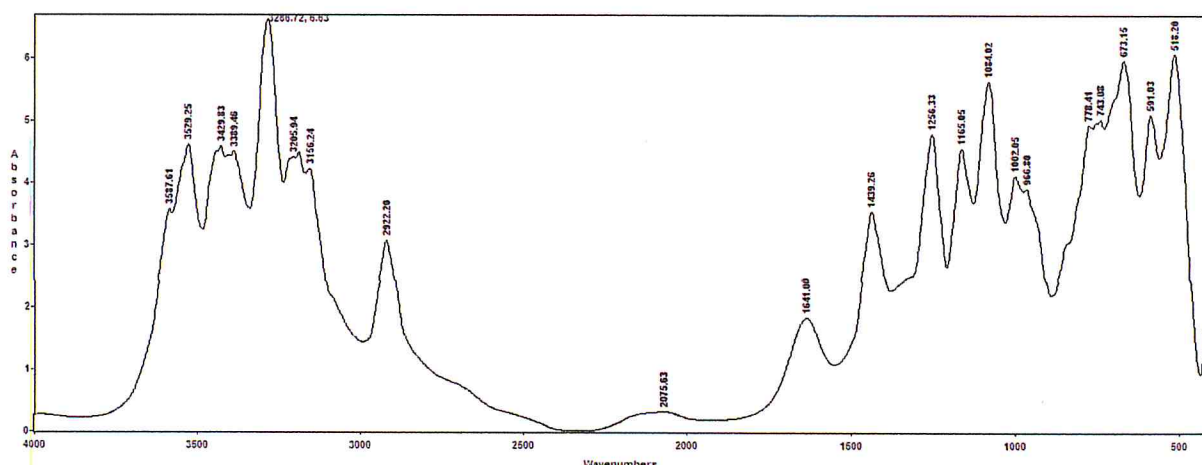


Figure II.8 : Spectre IR du complexe d'inclusion THPP: β -CD.

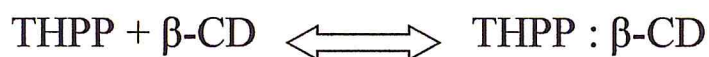
Il ya pas un grand changement au niveau des bandes caracteristiques par rapport au spectre FT-IR de la THPP pure.

c)Discussion des résultats:

➤ *Milieu neutre :*

Le travail effectué a donné des résultats expérimentaux , qui démontre que la β -CD à une grande habilité à former des complexes d'inclusions avec la THPP, vue le microenvironnement hydrophobe protecteur qu'elle lui confère. Les interactions responsables de cet assemblage sont d'ordre électrostatiques, cela permet une libération aisé de la THPP par la β -CD, ce qui qualifie ce système supramoléculaire de « drug delivery system ».

Le complexe d'inclusion supposé d'ordre 1:1 ainsi formé, dans les conditions opératoires décrite ci-dessus, à une constante d'inclusion de $9,75 \times 10^4 \text{ L}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1}$.



La conformation spatiale de ce dernier reste à confirmer par la résonance magnétique nucléaire RMN, analyse primordiale dans ce genre de discipline.

➤ *Milieu acide PH=2 :*

Le but de cette partie était de rendre le phénomène de complexation « visible », en observant un déplacement spectaculaire des bandes soret de la $\text{H}_4\text{THPP}^{+2}$ observé vers 445 nm (forme diprotonée de la THPP dans un milieu acide) en diminution, vers les longueurs d'ondes des bandes soret de la H_2THPP (forme déprotonée de la THPP) en augmentation (en ajoutant différentes concentration de la β -CD); cela signifie que la THPP sous sa forme unprotonée qui absorbe vers 422 nm se transforme en $\text{H}_4\text{THPP}^{+2}$ en milieu acide absorbant vers 445 nm, en ajoutant la β -CD l'espèce $\text{H}_4\text{THPP}^{+2}$ fuit le milieu aqueux acide pour se réfugier dans la cavité hydrophobe de la β -CD, en se transformant en H_2THPP (forme déprotonée de la THPP) qui est favorable et compatible avec le milieu hydrophobe à l'intérieure de la β -CD. C'est ce phénomène-là qu'on voulait mettre en évidence expérimentalement.

Le spectre UV-visible d'une solution de THPP à différentes concentrations de la β -CD dans un milieu acide est présenté sur la figure II.6, ne présente pas de point isobestique claire, ce qui nous laisse penser que le complexe d'inclusion THPP : β -CD ne se forme pas à PH=2. Cependant en reste prudent dans l'interprétation de ce spectre pour cet raison :

- ✓ On ne peut rien conclure tant qu'on n'a pas fait le même travail à d'autres valeurs de PH acides (3, 4,...), et cela à cause du manque des solutions tampons à différentes PH acide au niveau des laboratoires.

II. Etude du complexe d'inclusion Hp :

II.1/Caractéristique de Hp :

a) Aspect physique :

L'hématoporphyrine est une poudre rouge sombre sans odeur caractéristique, la figure II.9 représente son aspect physique.



Figure II.9 : aspect physique de l'Hématoporphyrine

b) Spectre UV-visible de la Hp:

➤ Dans un milieu neutre PH=7

Le spectre UV-vis d'une solution ($2,5 \cdot 10^{-5}M$) de l'hématoporphyrine dans le DMSO est représenté sur la figure II.10. la bande Soret enregistré est aux environs de 400nm, qui résulte de la transition $a_{1u}(\pi)-eg^*(\pi)$, les quatre bandes Q d'absorption dont les longueurs d'ondes sont à environ 622 , 571, 535 , 502 nm correspondent aux transitions $a_{2u}(\pi)-eg^*(\pi)$.

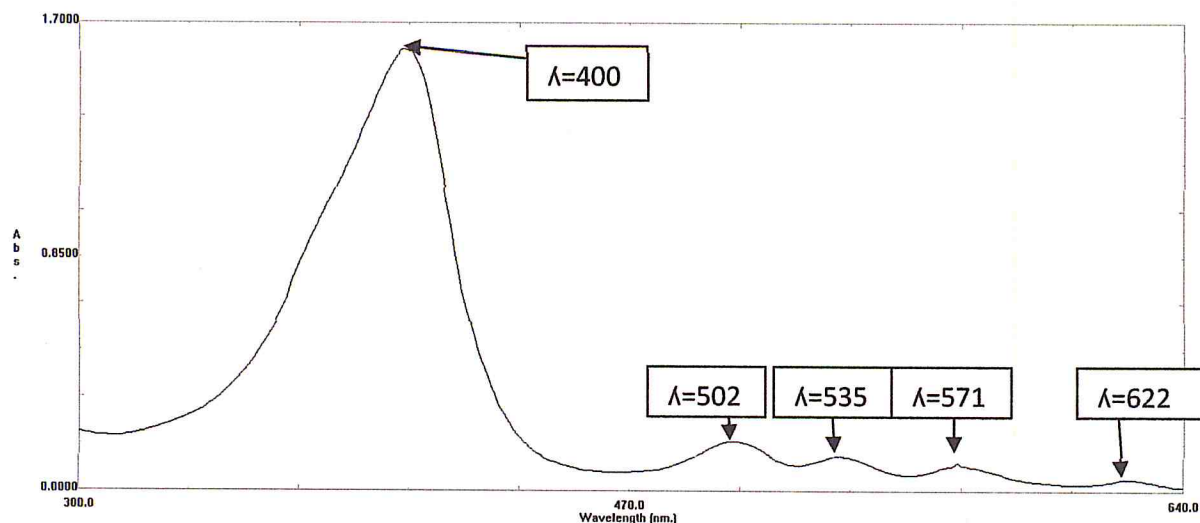


Figure II-10 : spectre UV-vis de l'Hematoporphyrine dans le DMSO

c) Spectre IR de Hp :

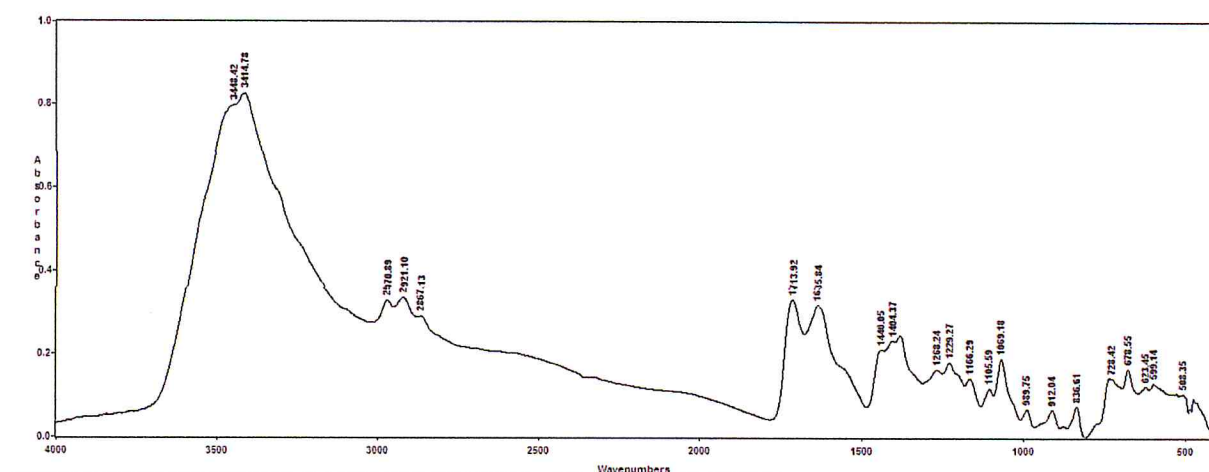


Figure II.11 : spectre IR de l'hématoporphyrine pur

Le spectre IR de l'hématoporphyrine présente une bande d'absorption intense à 3.414 cm^{-1} qui correspond à la fonction alcool secondaire associées par ponts hydrogènes. Il possède un pic d'absorption à 3.341 cm^{-1} du à une vibration de la liaison N-H. Il montre une bande d'absorption à 1.381 cm^{-1} d'une bande très intense qui correspond à la fonction alcool secondaire du fait d'une vibration de déformation de la liaison O-H. La bande à 1.069 cm^{-1} intense pourrait correspondre à une participation de la fonction hydroxy-éthyl par l'intermédiaire d'une vibration de valence C-O.

II.2/Synthèse et caractérisation du complexe supramoléculaire Hp:β-CD :

a) Mode opératoire :

Dans une fiole de 10ml, on introduit 1ml d'une solution ($1,2 \cdot 10^{-8}$ M dans le DMSO) de l'hémato-porphyrine et une quantité appropriée de solution de β-CD à différentes concentrations dans l'eau distillé, on complète le volume avec l'eau bi-distillée tamponné à PH=7 et on laisse sous agitation pendant 30minutes à température ambiante. L'intensité des bandes d'absorptions dans l'UV-vis est mesurée et enregistré par un spectrophotomètre.

b) Caractérisation du complexe d'inclusion Hp: β-CD

➤ Spectroscopie UV-vis :

Le spectre UV-visible d'une solution ($1,2 \cdot 10^{-8}$ M) de l'Hématoporphyrine dans le DMSO au milieu neutre (PH= 7) à différentes concentrations de β-CD ($3 \cdot 10^{-5}$, $5 \cdot 10^{-5}$, $6 \cdot 10^{-5}$, $9 \cdot 10^{-5}$, $18 \cdot 10^{-6}$ M) est représenté sur la figure II.12

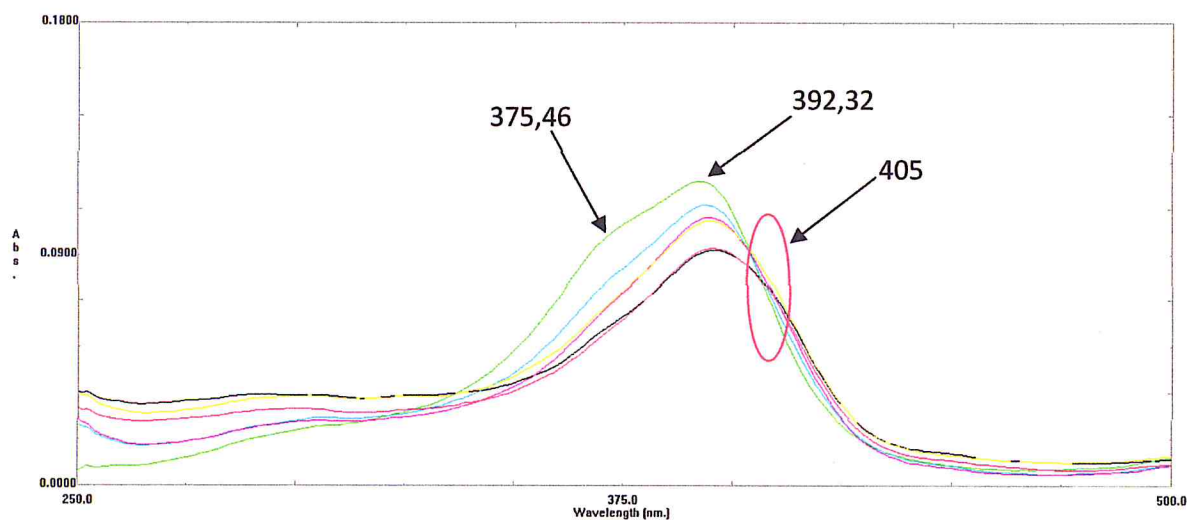


Figure II-12 : spectre UV-vis de l'hémato-porphyrine dans le DMSO à différentes concentrations de la β-CD

➤ Formation du complexe d'inclusion Hp: β-CD

L'addition d'une solution de β-CD à la solution de Hp engendre des modifications dans les caractéristiques photochimiques de la Hp. La diminution des intensités d'absorption en fonction de l'augmentation de la concentration de la β-CD dans le mélange, est accompagnée

par un déplacement des longueurs d'ondes de 392,32 nm vers 375,46 nm et par l'apparition d'un point isobestique vers 405 nm. Cela suggère la formation d'un complexe d'inclusion ou d'un système supramoléculaire Hp: β -CD d'une stœchiométrie et constante de complexation bien précises.

➤ *Détermination de la constante et de l'ordre d'inclusion:*

Pour déterminer la constante et l'ordre d'inclusion caractéristique du système supramoléculaire HP: β -CD, on trace la courbe appelé « double reciprocal plot » $1/\Delta A = f(1/C^n)$

$$1/\Delta A = 1/\alpha K C_x C^n + 1/\alpha C_x$$

II-3

ΔA : différence d'absorption de la THPP en présence et en absence de β -CD.

α : coefficient d'absorption.

C: concentration de la β -cyclodextrine.

C_x : la concentration initial de l'hématoporphyrine.

K : la constante d'inclusion

n : ordre d'inclusion

La courbe $1/\Delta A = f(1/C^n)$ présenté sur la figure II-13 est une droite linéaire de forme mathématique :

$$Y = 0,004 X + 118,6$$

L'ordre d'inclusion de la Hp dans la β -CD qui est supposé de 1:1 , ainsi, par superposition avec l'équation théorique donnée ci-dessus on obtient la constante d'inclusion $K = 2,9 \cdot 10^4 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$.

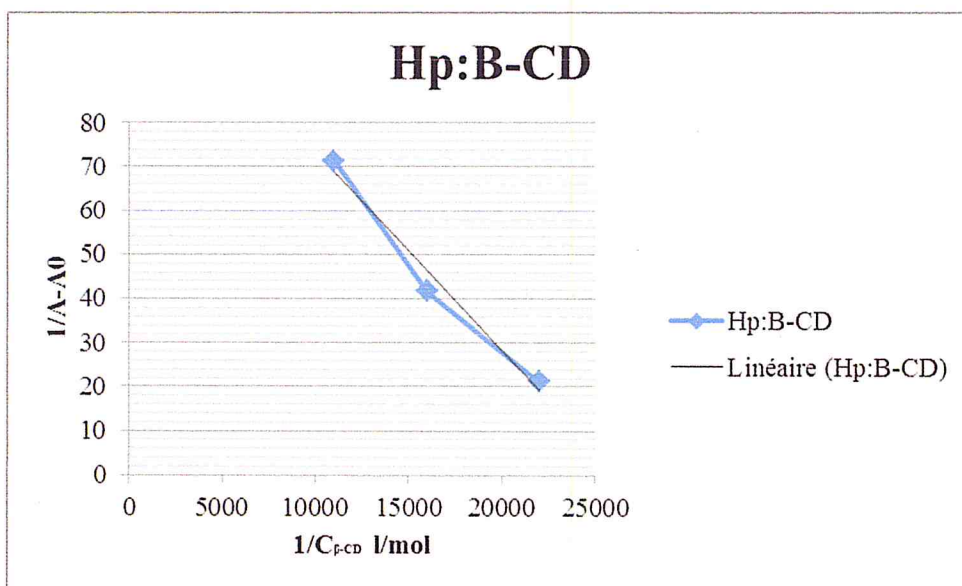


Figure II-13 : courbe double réciproque de la Hp à différentes concentrations de la β -CD en milieu neutre.

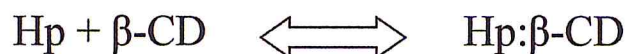
➤ **Spectre IR :**

Faute de complication lors de l'analyse IR, on n'a pas pu réaliser le spectre IR du complexe d'inclusion Hp : β -CD.

c) Discussion des résultats:

Le travail effectué a donner des résultats expérimentaux , qui démontre que la β -CD à une grande habilité à former un complexe d'inclusion avec la Hp, vue le microenvironnement hydrophobe protecteur qu'elle lui confère. Les interactions responsables de cet assemblage sont d'ordre électrostatiques, cela permet une libération aisé de la THPP par la β -CD, ce qui qualifie ce système supramoléculaire de « drug delivery system ».

Le complexe d'inclusion d'ordre supposé 1 :1 ainsi formé, dans les conditions opératoires décrite ci-dessus, à une constante d'inclusion de $2,9 \cdot 10^4 \text{ L}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1}$.



La conformation spatiale de ce dernier reste à confirmer par la résonance magnétique nucléaire RMN, analyse primordiale dans ce genre de discipline.

III. Etude du complexe d'inclusion ALA : β -CD

III.1/Caractéristique de L'ALA :

a) Aspect physique:

C'est une poudre blanche sans odeur caractéristique, la figure II.14 représente un échantillon de l'acide 5-aminolévulinique.



Figure II.14 : aspect physique de L'ALA

b) Spectre UV-vis de l'ALA :

Le spectre UV-Visible d'une solution ($7,62 \cdot 10^{-4}$ M) de l'ALA dans le DMSO est représenté sur la figure II.14. on observe bande moyenne à 414 nm correspondant au transition $n-\pi^*$ de la liaison C=O.

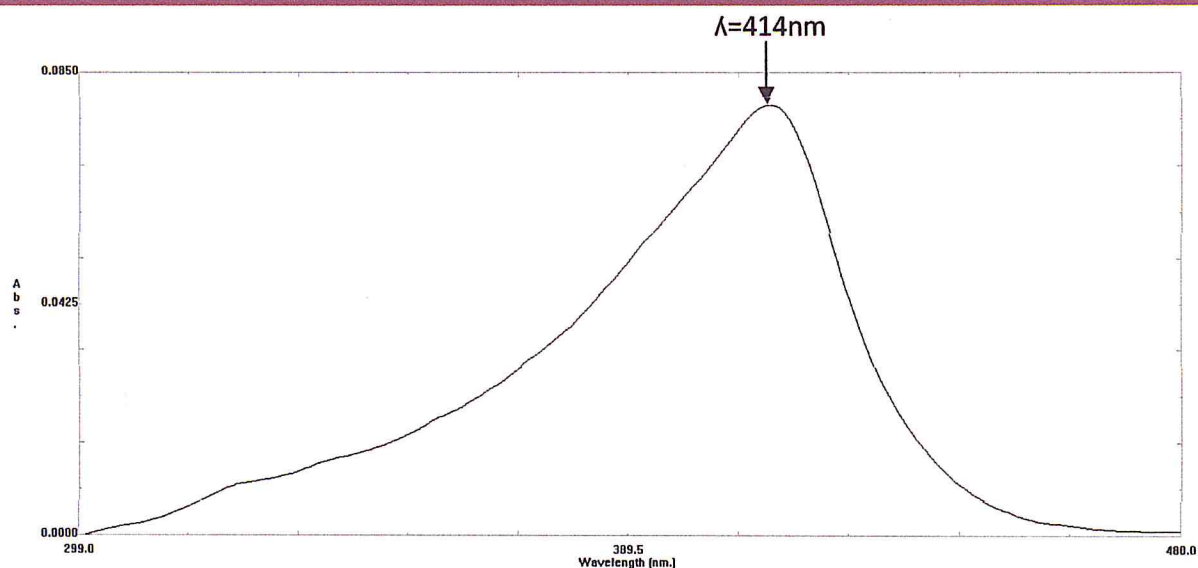


Figure II.15 : spectre UV-vis de l'ALA

c) Spectre IR :

Le spectre IR de l'ALA est représenté sur la figure II-16. Les bandes d'élongations 2925, 1729, et 1210 sont assignées respectivement au groupement OH, C=O, C-O respectivement de la fonction acide carboxylique. La vibration d'élongation vers 3429 correspond au groupement N-H de l'amine primaire et le C=O de la cétone aliphatique est caractérisé aussi par la bande intense 1729.

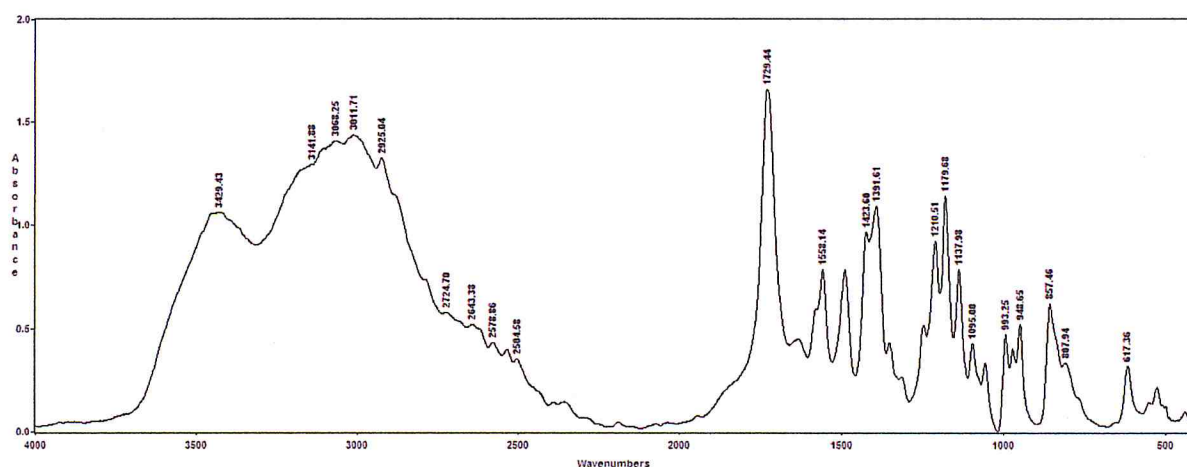


Figure II.16 : spectre IR de l'ALA pure

III.2/Synthèse et caractérisation du complexe d'inclusion ALA : β -CD :

a) Mode opératoire :

Dans une fiole de 10ml, on introduit 1ml d'une solution de l'ALA ($7,62 \cdot 10^{-4} \text{M}$ dans le DMSO) et une quantité appropriée d'une solution de β -CD dans l'eau distillée, on complète le volume avec l'eau bi-distillée tamponnée à $\text{PH}=7$, et on laisse sous agitation pendant 30minutes à température ambiante. L'intensité des bandes d'absorptions de l'ALA dans le visible sont enregistré par spectrophotomètre UV-visible.

b) Caractérisation du complexe d'inclusion ALA : β -CD

➤ Spectroscopie UV-vis :

Le spectre UV-visible d'une solution ($7,62 \cdot 10^{-4} \text{M}$) d'ALA dans le DMSO dans un milieu neutre ($\text{PH}=7$) à différentes concentrations de β -CD ($0, 4,5 \cdot 10^{-5}, 6 \cdot 10^{-5}, 9 \cdot 10^{-5}, 18 \cdot 10^{-5}$) est présenté sur la figure II.16

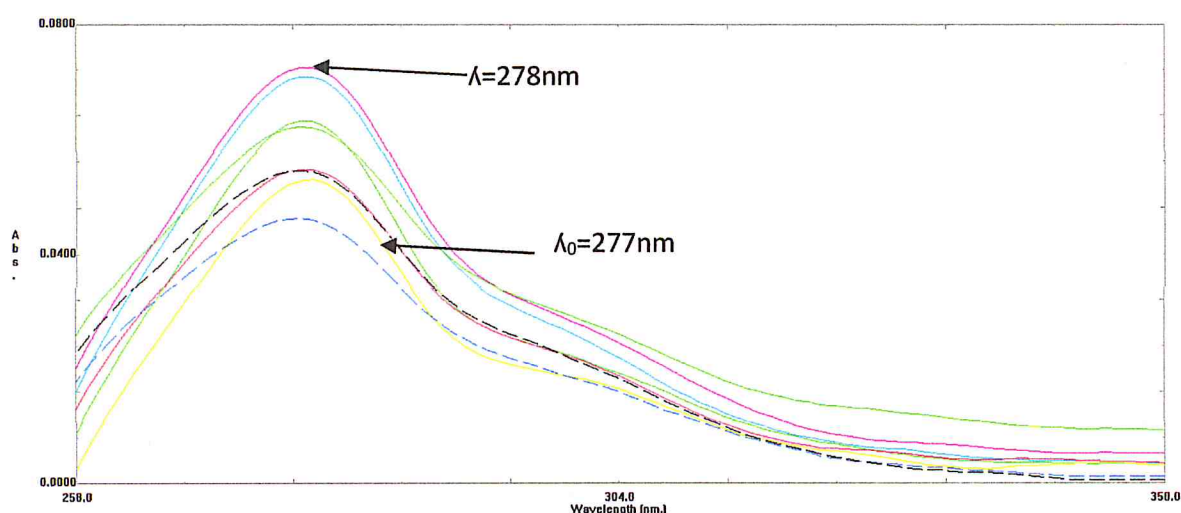


Figure II.17 : spectre UV-vis de l'ALA dans le DMSO à différentes concentration de la β -CD

➤ Formation du complexe d'inclusion ALA : β -CD :

L'addition d'une solution de β -CD à la solution de l'ALA ne cause pas de déplacement de la bande caractéristique de l'ALA dans une solution à (0M) β -CD apparue au environ de 277nm, ainsi qu'on ne remarque pas l'apparition d'un point isobestique confirmant la formation du complexe d'inclusion ALA : β -CD.

c) Discussion des résultats :

Pour préparer le complexe d'inclusion ALA : β -CD on a suivi les mêmes conditions opératoires que pour la préparation des complexes d'inclusions THPP : β -CD et Hp : β -CD ; cependant on pense qu'on doit déterminer les conditions opératoires spécifique à ce système supramoléculaire.

On a pas pu réaliser et déterminer ces condition opératoire à cause du manque de quelques produits chimiques qu'on n'a pas pu se procurer tel que le DMSO.

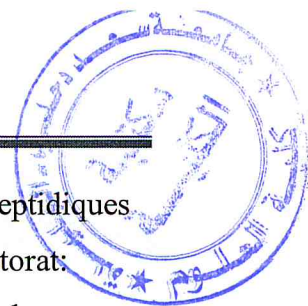
Conclusion

Conclusion générale

La formation des systèmes supramoléculaires THPP: β -CD et Hp: β -CD a été confirmée par spectroscopie UV-visible. L'ordre et la constante d'inclusion ont été calculés en utilisant la méthode du double réciproque, où la courbe est tracée à la base des données spectroscopiques. On a trouvé que le β -CD est apte à former un complexe d'inclusion avec les deux porphyrines choisies, en l'occurrence la THPP qui forme un système supramoléculaire avec le β -CD supposé d'ordre 1:1 avec une constante d'inclusion $K=9,75 \times 10^4$, et la Hp qui forme un système supramoléculaire avec le β -CD d'ordre 1:1 et une constante d'inclusion : $K=2,9 \cdot 10^4 \text{ L}^1 \cdot \text{mol}^{-1}$

La formation du complexe d'inclusion ALA : β -CD n'a pas été confirmée, et cette partie du travail reste incomplète, et doit être achevée par la suite.

Bibliographie



- [1] Vincent, C .Synthèse et caractérisation de nouvelles porphyrines glucosylées peptidiques à motif RGD en vue de leur application en photothérapie dynamique. Thèse de doctorat: chimie appliqué-chimie des substances naturelles. Université de Limoges : faculté des sciences et technique. 2003.
- [2] Guillaume,G. Nouveaux macrocycles tétrapyrroliques et dérivés vectorisables en photothérapie –Porphyrines et chlorines polyaminées et trimères.thèse de doctorat : chimie appliqué-chimie des substances naturelles. Université de Limoges : faculté des sciences et technique. 2006
- [3] Adler A.D., Longo F.R., Goldmacher J., Assour J. and Korsakoff L., A simplified synthesis for meso-tetraphenylporphine, J. Org. Chem., vol. 32, 1967, pp. 476-482.
- [4] M, Ascencio. Intérêt et place de la thérapie photo dynamique en gynécologie :Applications au traitement des micrométastases péritonéales ovariennes et des lésions malpighiennesintra-épithélialescervicales. Thèse de doctorat en biologie de santé. Université de LilleII: faculté de médecine. 2010.
- [5] <http://www.exchem.fr/Dossiers/TherapiePDT.pdf>
- [6] M,Yann Berger. Synthèse de dérivé de l'acide 5-aminolévunilique capable de cibler des cellules spécifiques en vue de leur utilisation en thérapie photodynamique. Thèse de doctorat en chimie. université de Neuchâtel : faculté des sciences.2002.
- [7] P,Bonnet. Etude par modélisation moléculaire de dimères de cyclodextrine et de leurs complexes d'inclusion. Thèse de doctorat :chimie et physicochimie des composés d'intérêt biologique. Université Autonoma de barcelona, Université d'Orléans . 2001
- [8] D, Castagne. Université de liège. Etude des interaction entre les cyclodextrines et les membranes liposomals ou biologique . 2009-2010.
- [9] Grégorio Crini, Michel Morcellet, Nadia Morin. Quelque application des complexes d'inclusion cyclodextrine/substrat. L'actualité chimique[en ligne].2001.8.p.19. Disponible à l'adresse: http://www.lactualitechimique.org/larevue_article.php?cle=26