

UNIVERSITE SAAD DAHLAB DE BLIDA
FACULTÉ DES SCIENCES
DÉPARTEMENT DE CHIMIE



Mémoire

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de

Master

Option : Chimie Appliquée

Par

Aimeur Chaimaa

Teffat Djaouida

Intitulé

**Préparation des Complexes d'insertions
Nitroène / β -Cyclodextrine
et leurs activités antioxydantes**

Soutenu publiquement le 30. 09. 2019 devant le jury :

Mr HAMANI Salim

MCA à l'USDB

Président du jury

Mme BESSI Assia

MCB à l'USDB

Examinatrice

Mme HAMZA Kahina

MAA à l'USDB

Invité

Mr AIT YAHIA Ahmed

MAA à l'USDB

Encadreur

2018/2019

Remerciements

Avant tout, on souhaite adresser quelques lignes pour remercier d'abord notre Dieu tout puissant de nous avoir accordé la Force, le courage la patience pour dépasser toutes les difficultés rencontrées pendant notre travail.

Toutes nos reconnaissances vont à notre promoteur qu'on admire tant, « Mr Ait Yahia Ahmed » pour son encadrement, ses précieux conseils, son encouragement et sa serviabilité.

On a profité pendant longtemps du savoir et du savoir-faire dont on a pu bénéficier au cours de nombreuses discussions.

Nos remerciements vont également à Madame « Ait Yahya née Kahina Hamza » de nous avoir aidée, encouragée et pour sa disponibilité tout au long du travail.

Nous remercions très sincèrement à Mr « Hamani. s » et Mme « Bessi A. » d'avoir accepté d'être membres de jury et d'examiner ce travail.

Nos gratitudes vont aussi à

Nos enseignants et nos professeurs qui ont assuré notre formation tout au long du cursus, sans oublier les personnels De département de Chimie de Blida.

Nous tenant à remercier spécialement tout les personnels du « Laboratoire de recherche sur les produits bioactifs et valorisation de la biomasse de Kouba » de leur accueil chaleureux, leur aide et encouragement.

En fin, nous remercions les amis et les étudiants de notre promotion pour leur soutien ainsi à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour la réalisation de ce travail.

Dédicaces

*Tout d'abord Je souhaite dédier cette thèse à l'âme de **mon père**, mon premier maître Je ne saurais exprimer mon grand chagrin en ton absence. J'aurais aimé que tu sois à mes côtés ce jour. Que ce travail soit une prière pour le repos de ton âme*

*A Ma très chère **Maman**, lumière de ma vie. Je n'aurai pas pu arriver à accomplir ce travail sans elle. Tout ce que j'ai fait, c'est grâce à elle et pour elle. Je lui souhaite tout le bonheur du monde. Que Dieu me la protège*

A Ma très chère Grand-mère, pour son soutien, je la remercie pour l'influence positive qu'elle impose dans ma vie.

*A Mon très cher Grand père, qui m'a toujours soutenu tout au long de mes études.
Qu'Allah vous bénisse*

*Aux étoiles qui me guident me soutiennent toujours : mes Trois sœurs : **Khadija, Amina Et Romassa***

*A mes chers frères, **Abdelkader, Ishak** pour leur appui et leur encouragement,*

*À Mes Chers petits Neveux et nièces **Alla, Ritadj, Omar, Tadjeldine***

*A Mes chers tantes et oncles **Khadija, Nadia, Mouhamed, Yacine, wahid**
aussi à leurs époux et épouses*

*A mon Binôme **Djaouida** pour tous les efforts qu'elle a fournis durant la réalisation de ce travail*

*A Mes chers Cousin(e)s qui mon beaucoup apportée, quelques lignes ne suffisent pas à les
Remercier : **Ichrak, Tasnime, Nawel, Haythem, Nassim, Naoufel, Abdeljalil***

*A toutes mes chères copines pour leur amour, aide, et encouragement mes sœurs :
Maroua, Souhila, Bouthaina, Kaouther, Mounia, Nesrine*

Toute la promotion de master Chimie Appliqué 2018/2019

Chaimaa.....

DEDECACE.

✿ *Je dédie ce travail ...*

A ma chère et tendre maman, ma raison de vivre, sans qui je ne serais arrivé là.

A mon père, pour son éducation et ses sacrifices depuis que je suis née.

A mes chère frères : Ismail, Ishak,

A mes sœurs : weddad, ikram, roumaissa anfel

A mes amis (es) sans exception sortant Chibani Zoubir, Hichem Zane, Oumeriche saber,

Khoukfi Khalil et mouhamed, Mouhamed Mahmoudé Thoraya, Negara Soumia, Elkdim Asma, brahmin Djamilia, Rafai Fatiha

*Maoui, Si nacer Hassiba, Zineb, Houria
Pour leur Présence et Leur soutien Inconditionnel.*

A mes collègues de travail pour leur aide

A toutes personnes me connaissant de près ou de loin

A la promotion chimie appliquée 2018-2019

*A ma chère copine : **chaimaa***

Djaouida.....

Résumé

Les cyclodextrine ont trouvé de nombreuses applications en synthèse organique ,vu leur capacité à former des complexes d'inclusion avec des molécules insolubles,à savoir les nitrone pour favoriser la solubilité et augmenter leur biodisponibilité, pour améliorer la stabilité des complexes d'inclusion.

L'objectif de notre travail,est la synthèse des complexes d'inclusion ,à partir des interactions entre les cyclodextrines et une série de nitrones.

Les analyses de complexes d'inclusion obtenus par la technique spectroscopie infrarouge FT-IR et DRX ,nous a permis de vérifier la stoechiométrie et identifier l'existence des fonctions nitrones et β -cyclodextrines dans les complexes d'inclusion.

L'évaluation de l'activité antioxydante des complexes d'inclusion et nitrone par trois méthode a montré que les complexes possèdent une activité plus importante à celle des nitrones.

Motsclé : Nitrone,Cyclodextrine,complexed'inclusion ,lstoichiométrie,antioxydante.

ملخص

يوجد العديد من التطبيقات ل cyclodextrine في التركيب العضوي، بسبب قدرتها على تشكيل معقدات حيث يتم إدراجها مع جزيئات غير قابلة الذوبان، وعلى سبيل المثال مركبات nitrone بحيث يتم تشكيل معقدات الضم ، بهدف تحسين القابلية للذوبان و زيادة توافر بيولوجي لتحسين استقرار معقدات الضم .

الهدف من عملنا هو تحضير معقدات الضم من التفاعلات بين cyclodextrine وسلسلة من Nitrones
سمح تحليل معقدات الضم المتحصل عليها عن طريق تقنية التحليل الطيفي من أشعة تحت الحمراء FT_IR و الاشعة X, التحقق من القياس المتكافئ و التعرف على وجود روابط بين Nitrone و B- cyclodextrine في معقدات الضم.

و أظهر تقييم النشاط المضاد للأكسدة للمعقدات الضم المحصل عليها و سلسلة nitrones بواسطة ثلاث طرق ان هناك نشاط أعلى في معقدات الضم منه في nitrones.

كلمات البحث: Nitrones, cyclodextrine و معقدات

Summary :

Cyclodextrins have found many applications in synthesis ,because of their ability ,to form inclusion complexes with insoluble molecules , namely to promote solubility and

Increase their bioavailability to improve the stability of inclusion complexes , from interactions between cyclodextrin and series of nitrones.

Analysis of inclusion complexes obtained by the technique infrared FT-IR Spectroscopy

X-ray diffraction, Allowed us to verify the stoichiometric and identify the existence of nitrones functions and β -cyclodextrine inclusion complexes

The evaluation of the antioxidant activity of inclusion complexes and nitrones by three methods showed that the latter has a higher activity than the nitrones

Keywords : nitrons , cyclodextrin , inclusion complexes ,stoichiometric ,antioxidant

Liste des Abréviations

CD :	Cyclodextrine
IR :	Spectrométrie infrarouge
ml:	millilitres
mn :	minute
m :	masse en gramme
M :	masse molaire
STZ :	La streptozotocine
PBN :	l'a-phényl-N-tertbutylnitron
α-CD :	Alpha-cyclodextrine
β-CD :	Beta-cyclodextrine
γ-CD :	Gamma-Cyclodextrine
λ :	longueur d'onde
λ_{\max} :	longueur d'onde qui correspond a l'absorbance maximal.
DPPH :	2,2-diphenyl -1- picrylhrazyl
EOR :	espace oxygénée réactives
LMH :	largeur a mi-hauteur
P-No2 :	C-p –Nitrophenyle-N-Phenyle nitron :
P-cl :	C-P –Chloro N-Phenylenitron
P-H :	C-N- déphynilnitron
P-OCH3	C- P- méthoxy – N-phynél-nitron :
P-OH :	C-p- hydroxyle phenyl-nitron :
N1 :	P-NO2
N2 :	p-CL
N3:	H
N4 :	OCH3
N5 :	OH
Comp1 :	β -CD/N1
Comp2 :	β -CD/N2
Comp3 :	β -CD/N3
Comp4 :	β -CD/N4
Comp5 :	β -CD/N5

Liste des tableaux

Tableau 1 :	Propriétés physicochimiques des cyclodextrines natives.....	5
Tableau 2 :	Produits utilisés ainsi que leurs Origines et degré de pureté.....	17
Tableau 3 :	Quantités des réactifs utilisé et de complexes obtenues	18
Tableau 4 :	Récapitulatif des rendements obtenus du chaque complexe NIT/ β -CD	21
Tableau 5 :	Les valeurs des nitrones à de 2θ	43
Tableau 6 :	Les valeurs des complexes à de 2θ	43
Tableau 7 :	Valeur LMH, Taux cristallinité et la taille de cristaux de la β -CD et différents Nitrons ainsi que leurs complexes	49
Tableau 8 :	les pourcentages de l'activité antioxydant Dpph des nitrones et leur .Complexes	47
Tableau9 :	Absorbances des solutions des nitrones de la méthode β -carotène à 490nm.....	51
Tableau10:	Absorbances des solutions des nitrones de la méthode FRAP à 700 nm....	53

Liste des figures

Figure1 :	Représentationnel la Bêta-cyclodextrine et de l'unité glucose.....	4
Figure2 :	l'inclusion d'une molécule dans la cavité d'une cyclodextrine.....	6
Figure3 :	Processus de complexation des cyclodextrine.....	7
Figure 4 :	Formule générale des nitrones.....	11
Figure 5 :	Formes de résonance de la fonction nitrone.....	11
Figure6 :	Sites réactifs de la nitrone.....	12
Figure7 :	Cycloaddition 1,3-dipolaire entre une nitrone et un alcène.....	12
Figure 8 :	Précurseurs de nitrones par voie oxydative.....	13
Figure9 :	Mécanisme général de la formation d'une nitrone à partir d'un imine.....	13
Figure 10 :	Oxydation des amines secondaires catalysée par Na ₂ WO ₄	14
Figure 11 :	Réaction de condensation entre un composé carbonylé et une hydroxylamine.....	14
Figure 12 :	Produits dérivés de l'oxydation d'oxime.....	15
Figure 13 :	structure de nitrons utilisé Ar : p-NO ₂ Ph p-Cl Ph PhPh p-OCH ₃ Ph p-OH.....	
Figure14:	Histogramme des rendements de chaque complexe nitrone/ β-CD.....	25
Figure 15:	Spectre infra rouge de β-cyclodextrine.....	27
Figure 16 :	Agrandissement explicatif à 1703 cm ⁻¹ dans C-N- déphynilnitrone.....	28
Figure 17 :	Agrandissement explicatif à 1651 et 1581 cm ⁻¹ dans C-N- déphynilnitrone.....	28
Figure 18 :	Agrandissement explicatif à 1549 cm ⁻¹ dans C-N- déphynilnitrone.....	29
Figure19 :	Agrandissement explicatif à 1159 cm ⁻¹ dans C-N- déphynilnitrone.....	29
Figure 20:	Agrandissement explicatif à 1705 cm ⁻¹ dans C-P –Chloro N-Phenylenitrone.....	30
Figure 21:	Agrandissement explicatif à 1548cm ⁻¹ dans Chloro N-Phenylenitrone.....	30
Figure 22:	Agrandissement explicatif à 1199 cm ⁻¹ dans C-P –Chloro N-Phenylenitrone.....	31
Figure 23:	Agrandissement explicatif à 840 cm ⁻¹ -1dans C-P –Chloro N- Phenylenitrone.....	31
Figure 24	Agrandissement explicatif à 1590 cm ⁻¹ dans C-P- Nitrophenyle- N- .Phenylenitrone.....	32
Figure 25:	Agrandissement explicatif à 1196 cm ⁻¹ dans C-P- Nitrophenyle- N-Phenylenitrone.....	32
Figure 26 :	Agrandissement explicatif à 1342 cm ⁻¹ dans C-P- Nitrophenyle- N-Phenylenitrone.....	33
Figure 27:	Agrandissement explicatif à 1515 cm ⁻¹ dans C-P- Nitrophenyle- N-Phenylenitrone.....	33
Figure 28 :	Agrandissement explicatif à 1604 cm ⁻¹ dans C- p- hydroxyle phenylnitrone.....	34
Figure29 :	Agrandissement explicatif à 1575 cm ⁻¹ dans C- p- hydroxyle phenylnitrone.....	34
Figure 30 :	Agrandissement explicatif à 1190 cm ⁻¹ dans C- p- hydroxyle phenylnitrone.....	35
Figure 31 :	Agrandissement explicatif à 1159 cm ⁻¹ dans C- p- hydroxyle phenylnitrone.....	35
Figure 32 :	Agrandissement explicatif à 1603 cm ⁻¹ dans C- P- méthoxy – N-phynél-nitrone.....	36
Figure 33 :	Agrandissement explicatif à 1259 cm ⁻¹ .dans C- P- méthoxy – N-phynél-nitrone.....	36
Figure 34 :	Agrandissement explicatif à 1336 cm ⁻¹ dans C- P- méthoxy – N-phynél-nitrone.....	37
Figure 35:	Agrandissement explicatif à 2929 cm ⁻¹ dans C- P- méthoxy – N-phynél- nitrone.....	37
Figure 36:	Agrandissement explicatif à 1547 cm ⁻¹ . C,n-diphénylnitrone /β-cyclodextrine.....	38

Figure 37 :	Agrandissement explicatif à 1199 cm-1 C-p-chlorophényl-N-phénylnitron /β-CD.....	38
Figure 38 :	Agrandissement explicatif à 1199 cm-1 C-p-chlorophényl-N-phénylnitron /β-CD.....	39
Figure 39 :	Agrandissement explicatif à 1081 cm-1 C-p-chlorophényl-N-phénylnitron /β-CD.....	39
Figure 40:	Agrandissement explicatif à 842 cm C-p-chlorophényl-N-phénylnitron.....	40
Figure41 :	Agrandissement explicatif à 1547 cm-1.C-p-nitrophényl-N-phényl nitron /β-cyclodextrine-.....	40
Figure42:	Agrandissement explicatif à 2875 et 2474 cm-1. C-p-hydroxyphényl-n-phénylnitron /β- cyclodextrine.....	41
Figure 43 :	Agrandissement explicatif à 1606 cm-1 C-p-hydroxyphényl-N-phénylnitron /β-cyclodextrine.....	41
Figure 44 :	Agrandissement explicatif à 1514 à 1253 cm-1C-p-hydroxyphényl-N-phényl nitron /β-cyclodextrine.....	42
Figure 45 :	Agrandissement explicatif à 1060 cm-1. C-p-hydroxyphényl-n-phénylnitron /β-cyclodextrine.....	42
Figure 46 :	Agrandissement explicatif à 1606 cm-1. C-p-méthoxyphényl-n-phénylnitron /β-cyclodextrine....	43
Figure 47 :	Diffractogramme de la nitron(N2) en rouge et celui de la β-cyclodextrine en bleu en (A) et celui du complexe en (B).....	43
Figure 48 :	Diffractogramme de la nitron(N3) en rouge et celui de la β-cyclodextrine en bleu en (A)et celui du complexe en (B).....	44
Figure 49 :	Diffractogramme de la nitron(N5) en rouge et celui de la β-cyclodextrine en bleu en (A) et celui du complexe en (B).....	45
Figure 50 :	Diffractogramme de la nitron(N1) en rouge et celui de la β-cyclodextrine en bleu en (A) et celui du complexe en (B).....	45
Figure 51 :	diffractogramme de la nitron(N1) en rouge et celui de la β-cyclodextrine en bleu en (A)et celui du complexe en (B).....	46
Figure 52 :	principe de la technique de piéger de spin par la nitron.....	52
Figure 53 :	mécanisme explique l'activité antiradicalaire des phénols.....	52
Figure 54 :	Réduction du radical DPPH (1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl)	53
Figure 55:	Comparaison de l'activité antioxydante des complexes avec celle des nitrones méthode DPPH.....	54
Figure 56:	Histogramme comparatifs de l'absorbance des nitrones et lors complexes de test β-carotène.....	57
Figure 57:	Histogramme comparatifs de l'absorbance des nitrones et lors complexes de test FRAP.....	58

SOMMAIRE

Remerciements	
Dédicaces	
Résumé	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
INTRODUCTION GENERALE	
I	Données bibliographiques
I.1	CHAPITRE I: CYCLODEXTRINES
I.1.1	Introduction..... 3
I.1.2	Définition..... 3
I.1.3	Structure..... 3
I.1.4	Caractéristiques et Propriétés des cyclodextrines..... 4
I.1.5	Complexes d'inclusion 6
I.1.6	Mécanisme de formation d'un complexe d'inclusion..... 6
I.1.7	Préparation d'un complexe d'inclusion..... 7
I.1.7.1	Méthode de précipitation..... 7
I.1.7.2	Méthode de pétrissage (Kneading)..... 7
I.1.7.3	Mélange physique ou mélange à sec..... 7
I.1.7.4	Lyophilisation..... 8
I.1.7.5	Complexation par CO ₂ à l'état supercritique..... 8
I.1.7.6	Co évaporation..... 8
I.1.8	Techniques de caractérisation des complexes d'inclusions..... 8

I.1.8.1	Méthode spectrophotométrie UV-visible.....	8
I.1.8.2	Résonance Magnétique Nucléaire (RMN).....	9
I.1.8.3	Spectroscopie infrarouge (IR).....	9
I.1.8.4	Diffraction des rayons X (DRX).....	9
I.1.9	Applications.....	9
I.1.9.1	Domaine pharmaceutique.....	9
I.1.9.2	Industrie alimentaire.....	10
I.1.9.3	Applications diverses.....	11
I.2	CHAPITRE II : NITRONE	
I.2.1	Définition	11
I.2.2	Voies générales de synthèse des nitrones.....	12
I.2.2.1	Méthodes oxydatives	12
I.2.2.2	Oxydation d'imines.....	13
I.2.2.3	Oxydation d'amines secondaires.....	13
I.2.3	Méthodes non-oxydatives.....	13
I.2.3.1	Condensation entre une hydroxylamine N-monosubstituée et un dérivé carbonylé.....	13
I.2.3.2	N-alkylation d'oximes	14
I.2.2.4	Application des nitrones.....	14
I.2.4.1	Activité neuroprotectrice	15
I.2.4.2	Activité sur la vision et l'ouïe	15
I.2.4.3	Autres activités protectrices.....	15
I.2.3.4	Activité sur le vieillissement.....	16

PARTIE EXPERIMENTALE

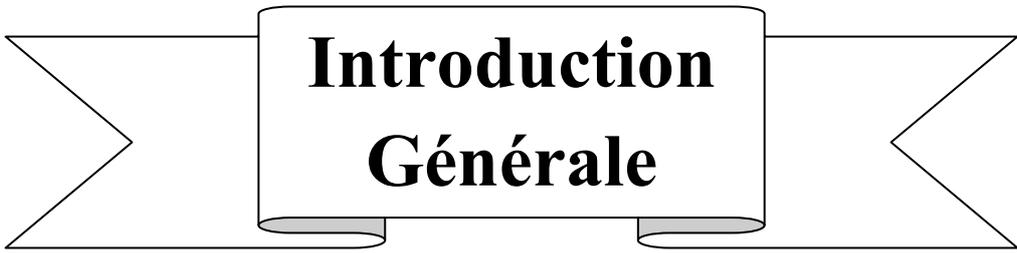
II Chapitre III

II.1	Appareillages et produits	17
II.1.1	Produits	17
II.1.2	Appareils.....	17
II.2	Synthèse des complexes nitrone/ β -CD.....	17
II.3	Evaluation de l'activité Antioxydant des nitrones et leur complexes.....	18
II.3.1	Méthode de piégeage du radical libre 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl..(DPPH) (DPPH radical scavenging.. ability.....	18
II.3.2	Méthode de blanchissement de β -carotène.....	19
II.3.3	Méthode de réduction du fer ferrique FRAP.....	20
III	Résultats et Discussions	
III.1	CHAPITRE IV :SYNTHESE ET CARACTRESATION DES COMPLEXES D'INCLUSION	
III.1.1	Synthèse du complexe C ,aryl, N-phénylnitronne/ β -CD.....	21
III.1.2	Caractérisation du complexe nitronne / β -cyclodextrine	22
III.1.2.1	Analyse par infra-rouge IR.....	23
III.1.2.2	Diffraction de rayon X.....	40
III.1.3	Conclusion.....	45
III.2	CHAPITRE V : ACTIVITE ANTIOXYDANT DES NITRONS ET LEURS COMPLEXES	
III.2.1	Activité antioxydant des nitrons et leur complexes.....	46
III.2.1.1	Méthode de piégeage du radical libre 2,2-diphényl -1- picrylhdrazyl (DPPH) ..	46
III.2.1.2	Principe.....	46
III.2.2	Méthode de β –carotène.....	50
III.2.2.1	Principe.....	50

III.2.3	La méthode FRAP.....	52
III.2.3.1	Principe	52
III.2.4	Conclusion :.....	54

CONCLUSION GENERALE

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES



**Introduction
Générale**

INTRODUCTION GENERALE :

Les antioxydants sont des substances qui, à faible concentration, sont capable d'inhiber ou de retarder de manière significative les oxydations des molécules. Les antioxydants protègent les molécules in vitro mais également au sein de notre organisme en empêchent le vieillissement prématuré des cellules.

Si l'équilibre entre la formation des radicaux libres et la protection assuré par les antioxydants est rompu, les radicaux libres peuvent devenir nocifs pour l'organisme ; il est alors question de stress oxydatif. L'utilisation d'antioxydants est alors nécessaire pour établir cet équilibre. Le développement de nouveaux antioxydants et l'amélioration de leur activité est en demande constante.

Les nitrones sont des composés caractérisés par la présence d'une fonction comportant une double liaison carbone-azote et une liaison covalente entre l'azote et l'oxygène. Ces molécules ont trouvé de nombreuses applications en synthèse organique, à savoir comme des substrats de choix pour les réactions de cycloaddition. Elles représentent des composés intermédiaires de beaucoup des produits d'intérêt biologique. D'autre part, elles sont aussi très utilisées comme pièges de spin in vivo et in vitro. Elles se sont révélées comme des agents thérapeutiques potentiels, tels que des agents neuroprotecteurs, anti-vieillessement, anti cancers...ect. Seulement, les nitrones présentent l'inconvénient d'être peu soluble dans les milieux aqueux. Ce qui risque de réduire leurs activités biologiques.

L'objectif de notre travail est l'utilisation de la β -cyclodextrine pour l'amélioration de la solubilité et par conséquent l'activité antioxydante d'une série de nitrones aromatiques.

Le travail présenté dans ce mémoire sera partagé en trois parties :

- Nous aborderons dans la première partie une étude bibliographique qui est subdivisée en deux chapitres
 - Le premier chapitre contient l'essentiel concernant les β -Cyclodextrines leurs propriétés, les complexes d'inclusion, leurs préparations, leurs méthodes de caractérisation et leurs domaines d'application
 - le deuxième chapitre comporte un bref aperçu sur les méthodes de synthèses des nitrones et leurs activités.

- La deuxième partie est consacrée aux résultats expérimentaux.
- La troisième partie est consacrée à l'exposition de l'ensemble des résultats et discussion. Elle sera subdivisée en deux Chapitres :
 - le premier, regroupe les résultats de la préparation des complexes et leurs caractérisations.
 - Le deuxième chapitre concerne les résultats de l'évaluation de l'activité antioxydant des nitrones et leurs complexes.

On terminera par une conclusion générale.



**Partie
théorique.**



Chapitre I

I.1.1 Introduction :

En 1891, Villiers obtient à partir des produits de dégradation d'un kilogramme d'amidon par la bactérie *Bacillus macerans*, trois grammes de substance cristalline. Ce fut la première fois que des cyclodextrines furent isolées. Les cyclodextrines (CDs) font partie de la famille des glucides et sont des oligosaccharides cycliques qui furent appelées Cellulosine, cristallinedextrine, α -dextrine, β -cyclodextrine, dextrines de Sharding, cyclo-amyloses, cyclo-, oligoglucanes... Actuellement, le terme cyclodextrine reste le plus utilisé[1].

I.1.2 Définition

Les CDs sont des oligosaccharides cycliques de forme torique contenant six à douze unités de glucose. Chaque unité de D-glucose en conformation chaise est liée par son carbone monomérique à l'autre unité par des liaisons glucosidiques 1-4. Les CD sont obtenus industriellement par dégradation enzymatique de l'amylose (forme linéaire de l'amidon) à l'aide d'une enzyme, la CD glucosyl transférase (CGTase). Les plus abondantes sont les hexamères (α -cyclodextrine), heptamères (β -CD-cyclodextrine) et octamères(γ -CD-cyclodextrine)[2].

I.1.3 Structure :

Les CDs ont attiré l'attention des chercheurs grâce à leurs propriétés spécifiques qui sont principalement dues à leurs structures uniques. Ces molécules se présentent sous forme d'un cône tronqué à l'extérieur duquel se trouvent les groupements hydroxyles. La partie extérieure est donc hautement hydrophile. Les hydroxyles secondaires portés par les carbones C2 et C3 se situent sur le côté le plus large du cône appelé face secondaire tandis que les hydroxyles primaires en C6 se trouvent du côté le plus étroit (face primaire). La libre rotation des hydroxyles primaires diminue le diamètre effectif de la cavité du côté où ils se trouvent alors que les hydroxyles secondaires sont en position plus figée. L'intérieur de la cavité est constitué par des atomes d'hydrogène portés par les carbones C3 et C5 ainsi que par les atomes d'oxygène participant à la liaison glycosidique ce qui lui confère un caractère apolaire(hydrophobe. C'est grâce à ce caractère amphiphile remarquable (hydrophile à l'extérieur, hydrophobe à l'intérieur) que les CD sont capables d'inclure dans leur cavité apolaire des molécules hydrophobes pour former des complexes d'inclusion solubles dans l'eau (voir la figure1)[3].

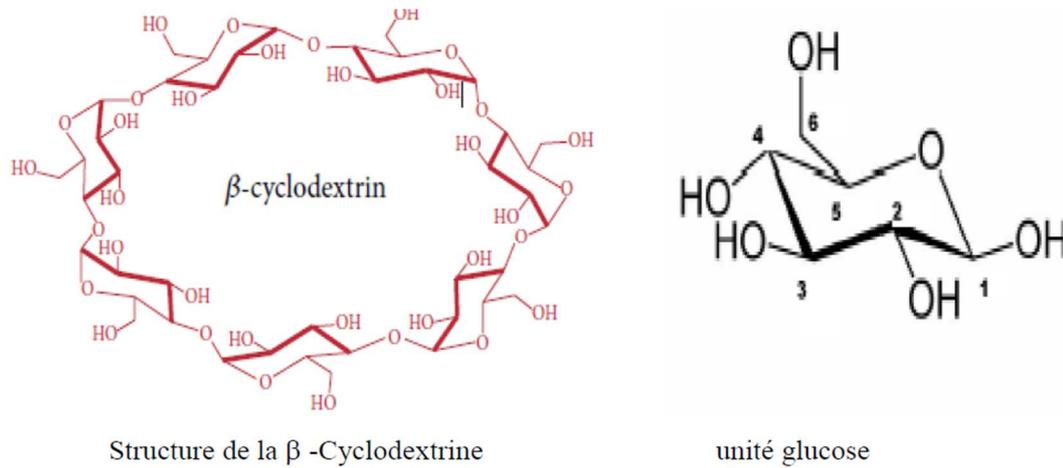
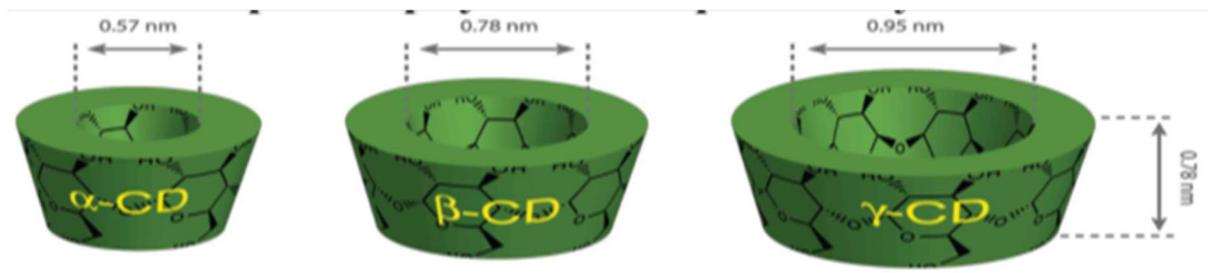


Figure 1 : Représentation de la Bêta-cyclodextrine et de l'unité [3]

I.1.4 Caractéristiques et Propriétés des cyclodextrines :

Les trois principales CDs natives sont des composés cristallins, homogènes et non hygroscopiques. Leurs principales caractéristiques physicochimiques sont rassemblées dans le Tableau 1.1 [4]

Tableau 1 : Propriétés physicochimiques des cyclodextrines natives[5].

Propriétés	α -CD	β -CD	γ -CD
Unités de glucose	6	7	8
Formule brute	$C_{36}H_{60}O_{30}$	$C_{42}H_{70}O_{35}$	$C_{48}H_{80}O_{40}$
Carbones asymétriques	30	35	40
Masse moléculaire	972	1135	1297
Diamètre de la cavité (Å)	5,7	7,8	9,5
Diamètre de la périphérie (Å)	14,6-15	15,4-15,8	17,5-17,9
Volume de la cavité (Å)	173	262	427
Solubilité dans l'eau à 25°C (g/100 mL)	14,5	1,85	23,2
Hauteur du cône (Å)	7,8	7,8	7,8
Molécules d'eau retenues dans la cavité	6-8	11-12	13-17
Température de fusion (°C)	275	280	275
pKa à 25°C	12,3	12,2	12,1
LogP à 25°C	-13	-14	-17
Pouvoir rotatoire à 25°C	+150,5	+162,5	+177,4
Constante de diffusion à 40 °C	3,4	3,2	3
H donneur	18	21	24
H accepteur	30	35	40
Hydrolyse par les amylases digestives	négligeable	lent	Rapide

La hauteur de ces trois molécules est la même mais les autres dimensions varient avec le nombre d'unités glucopyranose. Ainsi, le diamètre externe et le volume de la cavité augmentent de l' α -CD à la γ -CD. De par la taille de sa cavité, la β -CD est celle qui complexe le plus grand nombre de composés et elle et ses dérivés sont les plus utilisées de toutes les CDs[6].

I.1.5 Complexes d'inclusion

Définition :

Un complexe d'inclusion est une espèce chimique constituée par l'association de deux ou plusieurs molécules. La molécule hôte est capable d'inclure la molécule invitée dans sa cavité, ce qui donne une encapsulation stable sans formation de liaison covalente. Dans le but d'améliorer la solubilité, la stabilité ou la biodisponibilité des molécules invitées (voir la figure I.2)[7].

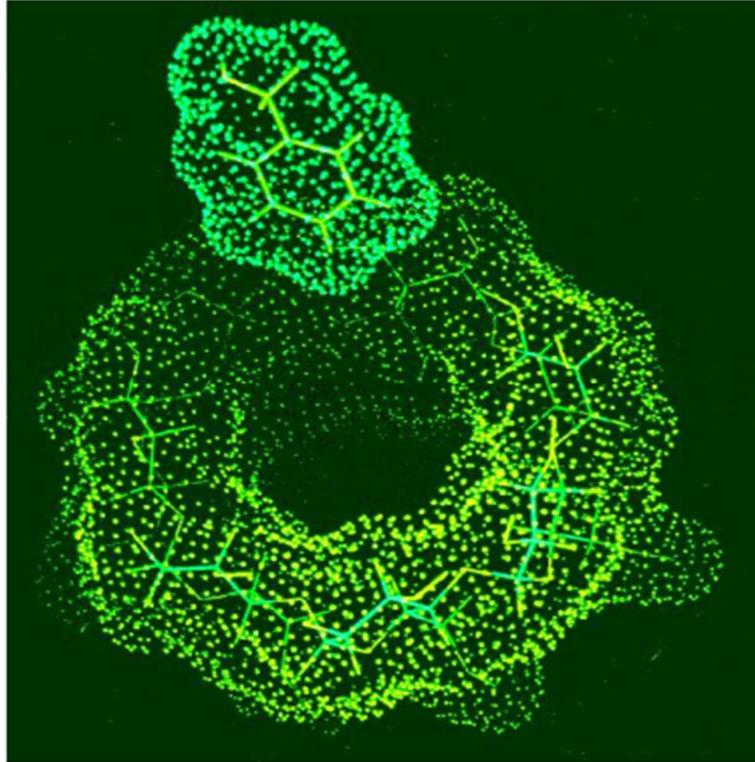


Figure 2 : Inclusion d'une molécule dans la cavité d'une cyclodextrine[8].

I.1.6 Mécanisme de formation d'un complexe d'inclusion :

Le caractère amphiphile des cyclodextrines leur permet de solubiliser dans l'eau des molécules hydrophobes par formation de complexes d'inclusion. Ces molécules pénètrent dans la cavité par la plus grande ouverture et le côté le plus accessible. La molécule invitée est incluse d'une manière à éloigner sa portion polaire pour avoir un maximum de contact avec la cavité hydrophobe, et sa partie polaire interagit avec la surface hydrophile de la CD(voir Figure I. 3au dessous)[9].

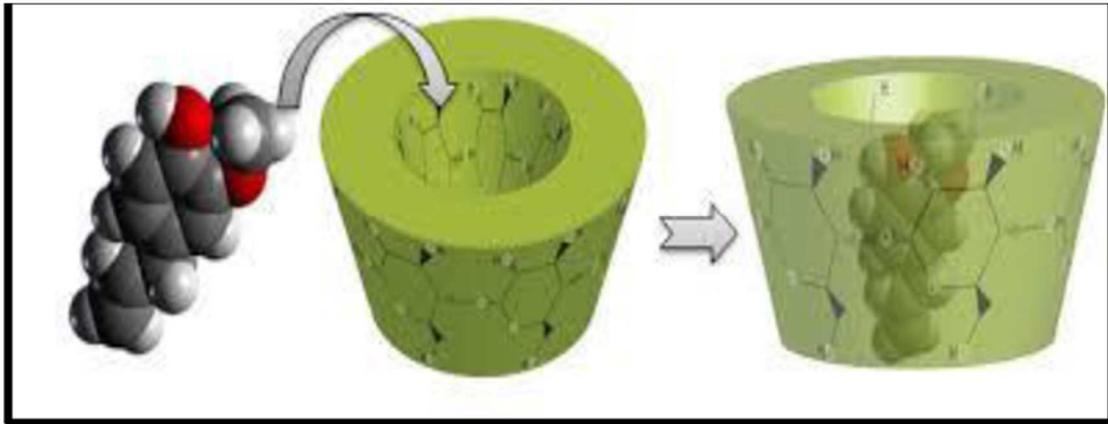


Figure3 : Processus de complexation des cyclodextrine[10].

I.1.7Préparation d'un complexe d'inclusion

Il existe différents procédés pour réaliser des complexes d'inclusion. Pour toutes ces techniques et pour chaque molécule invitée, les quantités d'eaux, la vitesse et le temps d'agitation, la température et le temps de chauffage doivent être optimisés[11].

I.1.7.1 Méthode de précipitation :

Le complexe d'inclusion est préparé par mélange du principe actif et des cyclodextrines. Le mélange des deux constituants est ensuite dispersé dans l'eau. La solution est agitée et chauffée pour obtenir un liquide concentré, visqueux et translucide. Le complexe est obtenu par précipitation du mélange réalisé, qui est séparé et sèche pour obtenir l'inclusion

I.1.7.2 Méthode de pétrissage (Kneading) :

La cyclodextrine est triturée dans un mortier avec une petite quantité d'eau pour obtenir une pâte homogène. La molécule invitée est alors ajoutée. Préalablement, une petite quantité de solvant (méthanol, éthanol) peut être ajoutée pour faciliter la dissolution de la molécule invitée[12].

I.1.7.3 Mélange physique ou mélange à sec :

La méthode est basée sur un mélange homogène des cyclodextrines et du substrat dans un mortier, le mélange s'effectue sans ajout de solvant. Les molécules invitées peuvent être complexées par simple mélange des deux poudres ensemble. Le temps de mélange nécessaire dépend de l'invité. Son principal avantage est de ne pas utiliser d'eau et ses inconvénients sont le risque de formation de croûtes des poudres et l'obtention d'un mélange incomplet conduisant à une complexation insuffisante[13].

I.1.7.4 Lyophilisation :

La lyophilisation, appelée autrefois cryodessiccation, est une opération de déshydratation à basse température qui consiste à éliminer la majeure partie de l'eau contenue dans le produit par sublimation.

La molécule invitée est ajoutée à la solution aqueuse de CDs, après mélange sous agitation, la substance obtenue est congelée puis lyophilisée dans un lyophilisateur[14].

I.1.7.5 Complexation par CO₂ à l'état supercritique :

Grace à sa faible température critique, le CO₂ supercritique permet de développer des procédés à basse température pour des produits thermosensibles. A la fin de l'encapsulation une phase de détente est réalisée. Elle consiste à abaisser la pression ce qui provoque le passage du gaz carbonique de l'état supercritique à l'état gazeux et permet de récupérer le complexe à l'état solide exempt de tout résidu de solvant[15].

I.1.7.6 Co-évaporation :

Cette méthode est basée sur la préparation d'un mélange des cyclodextrines et des principes actifs avec l'ajout d'un solvant approprié, son principe se base sur l'évaporation et la condensation des solvants à l'aide d'un ballon d'évaporation par rotation sous vide afin de récupérer un complexe d'inclusion sous forme d'une poudre[15].

I.1.8 Techniques de caractérisation des complexes d'inclusions :

Les structures des complexes d'inclusion peuvent être caractérisées en employant divers techniques d'analyse physico-chimiques parmi lesquelles on distingue :

I.1.8.1 Méthode spectrophotométrie UV-visible :

La spectrophotométrie est une méthode analytique quantitative qui consiste à mesurer l'absorbance ou la densité optique d'une substance chimique donnée en solution. Elle est particulièrement intéressante pour la mise en évidence de la formation des Complexes d'inclusion. Mais il faut que la molécule étudiée absorbe à des longueurs d'onde différentes de celle des CDs[16].

I.1.8.2 Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) :

La spectrométrie RMN est une méthode importante qui permet d'expliquer la structure des composés organiques, particulièrement à l'état liquide. Le principe de l'étude des complexes d'inclusion repose sur le fait que si la molécule invitée pénètre dans la cavité des CDs, les atomes d'hydrogène situés à l'intérieur de la cavité (H-3 et H-5) seront considérablement perturbés, tandis que ceux qui se trouvent sur la surface externe (H-2, H-4 et H-6) ne seront pas influencés[17].

I.1.8.3 Spectroscopie infrarouge (IR) :

La spectroscopie infrarouge est une méthode d'analyse qui permet d'étudier l'arrangement des atomes et les distances interatomiques. Ces mesures sont généralement réalisées avec un échantillon à l'état solide[18]. Dans ce cas, elle est utilisée pour estimer l'interaction entre les cyclodextrines et les molécules invitées. L'application de la spectroscopie infrarouge est limitée aux invités ayant quelques bandes caractéristiques [19].

I.1.8.4 Diffraction des rayons X (DRX)

C'est une méthode qui permet de prouver l'inclusion mais aussi d'obtenir des informations sur la structure du complexe formé [14] nécessitant des faibles quantités de composés. Elle repose sur l'observation des différences entre le mélange physique simple des deux composés et le complexe d'inclusion potentiel. La formation d'un complexe CD les modèles de diffraction et change la nature cristalline de la molécule invitée[18].

I.1.9 Applications

Les applications des cyclodextrines sont nombreuses, ils présentent des intérêts très importants dans différents domaines tel que le domaine pharmaceutique, Industrie alimentaire, Applications diverses.

I.1.9.1 Domaine pharmaceutique :

Les cyclodextrines sont des molécules intéressantes pour la formulation de médicaments, c'est pourquoi elles sont couramment utilisées dans le domaine de la technologie pharmaceutique. Les principales applications de ces excipients résident dans leur capacité à solubiliser des substances actives peu solubles en milieu aqueux et à améliorer potentiellement la biodisponibilité de molécules hydrophobes. Elles permettent parfois d'augmenter la stabilité, de diminuer la perception du mauvais goût voire les effets

indésirables de certains principes actifs. De nombreux complexes à base de cyclodextrines ont été étudiés en solution ou à l'état solide pour être délivrés par différentes voies d'administration. Certaines de ces « associations » sont disponibles sur le marché pharmaceutique[11].

I.1.9.2 Industrie alimentaire

Les cyclodextrines peuvent notamment être utilisées pour l'encapsulation des arômes)[20]. Ces composés volatils peuvent être encapsulés dans le but de limiter leur dégradation ou les pertes durant les étapes de fabrication et de stockage (protection contre l'oxydation, la lumière, la chaleur). L'utilisation de complexes d'inclusion cyclodextrines arômes peut aussi permettre d'utiliser les arômes en quantité moindre[21]. On peut également utiliser des cyclodextrines pour enlever ou masquer des composés conférant une odeur ou un goût désagréable mais aussi pour enlever le cholestérol de produits d'origine animale comme les œufs et les produits laitiers. Ainsi, les caractéristiques nutritionnelles de nombreux produits laitiers comme le lait, la mayonnaise ou la crème, ont pu être améliorées via l'utilisation des propriétés complexantes de la β -CD. Par ailleurs, la production du beurre pauvre en cholestérol présent sur le marché belge implique l'utilisation de β -CD dans le procédé de fabrication[22].

I.1.9.3 Applications diverses

Vu leurs propriétés, les cyclodextrines trouvent des applications non seulement dans l'industrie pharmaceutique et alimentaire mais également en agriculture et dans l'industrie textile, cosmétique ou chimique. Elles peuvent être utilisées dans les méthodes séparatives (séparation d'isomères et d'énantiomères) et dans les réactions catalytiques vu leur faculté à mimer les enzymes[23].



Chapitre II

I.2.1 Définition des nitrones :

Les nitrones sont des composés caractérisés par la présence d'une fonction du type $-XCH=NO-Y$, comportant une double liaison carbone-azote et une liaison covalente entre l'azote et l'oxygène (figure 4)[24]

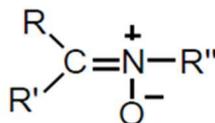


Figure 4: Formule générale des nitrones[24].

La structure électronique de la fonction nitronne rappelle celle des anions allyliques et des énols. Comme ces derniers, elles sont stabilisées par résonance(figure 5)[25]



Figure 5 : Formes de résonance de la fonction nitronne[25]

La première description de composés ayant la fonction nitronne remonte à la fin du 19^{ème} siècle. La présence simultanée, dans la même molécule, d'un atome d'oxygène chargé négativement et d'une double liaison carbone-azote polarisée confère à ces composés un caractère soit nucléophile, soit électrophile[26].

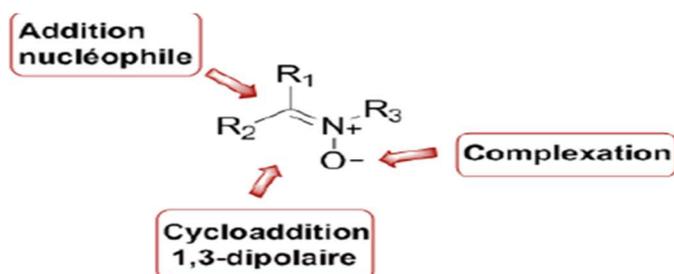


Schéma 6 : Sites réactifs de la nitronne[25].

Le fort caractère 1,3-dipolaire des nitrones permet de les utiliser dans nombreuses réactions de cycloaddition (schéma 7). Ce type de réactions constitue une importante voie d'accès aux composés azotés fonctionnalisés, ce qui entraîne une utilisation fréquente des nitrones pour la synthèse d'espèces à activité biologique telles que des antibiotiques β Lactames[27].

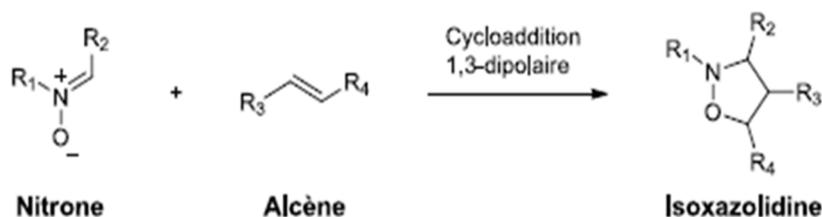


Schéma 7: Cycloaddition 1,3-dipolaire entre une nitronne et un alcène[27]

I.2.2 Voies générales de synthèse des nitrones

La synthèse de nitrones a donné lieu à plusieurs revues; deux stratégies de synthèses sont généralement mises en œuvre: les méthodes oxydatives, généralement à partir de composés aminés, et les méthodes qui n'impliquent pas d'oxydation. L'accessibilité du composé précurseur est l'élément principal pour choisir l'une de ces méthodes[26].

I.2.2.1 Méthodes oxydatives :

Des nombreuses méthodes utilisées pour la synthèse de nitrones sont basées sur l'oxydation de composés aminés. Les produits précurseurs les plus utilisés sont les imines, les amines secondaires et les hydroxylamines[26]. (schéma 8).

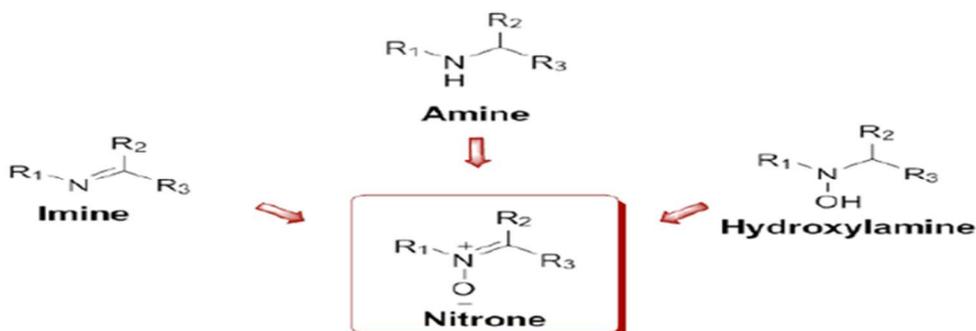


Schéma 8 : Précurseurs de nitrones par voie oxydative[26].

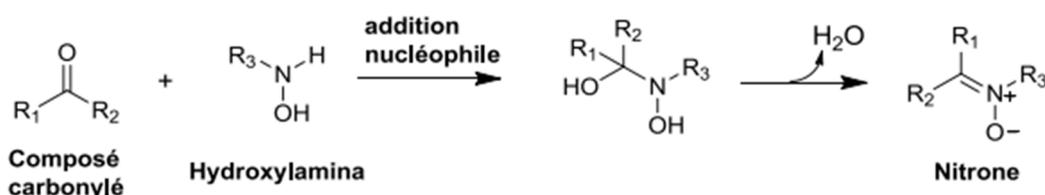


Schéma 11: Réaction de condensation entre un composé carbonyle et une hydroxylamine[30].

I.2.2.2 N-alkylation d'oximes :

La synthèse à partir des oximes est une autre voie permettant d'obtenir les nitrones sans l'utilisation d'oxydation, la réaction est une alkylation de l'atome d'azote de l'oxime avec des alcènes électrophiles activés par un groupement .électron -attracteur.

Cette méthode a peu d'intérêt car conduisant à la formation simultanée de produit d'O-alkylation qui sont difficilement séparables (Schéma 12). la nature de l'oxime utilisée peut influencer la régiosélectivité de la réaction : les aldoximes favorisent la formation de la nitrone, alors que les cétoximes, pour des raisons stériques, favorisent l'O-alkylation[31].

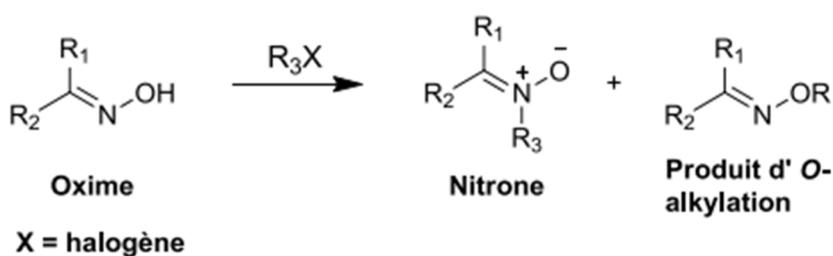


Schéma 12 : Produits dérivés de l'oxydation d'oxime[31].

I.2.3 Application des nitrones :

Les nitrones ont également été utilisées dans le cadre d'expérience biologiques afin d'évaluer si leurs propriétés de pièges à radicaux libres pouvaient avoir un effet protecteur sur des cellules ou des organismes exposés à un stress oxydant. Les premières recherches ont débuté dès 1985, lorsque Novelli et al ont découvert que la PBN possédait une activité protectrice dans les cas d'ischémies cérébrales[32]

I.2.3.1 Activité neuroprotectrice :

La PBN est capable de franchir la barrière hémato-méningée, notamment dans le cas d'ischémies cérébrales, en raison de son hydrophobie suffisante. Elle est par conséquent capable de lutter contre le phénomène désignant l'arrêt de l'apport sanguin artériel dans le cerveau : l'ischémie cérébrale. Les lésions cérébrales dépendent évidemment de la gravité de l'ischémie, les conséquences pouvant être réversibles ou non mais ce phénomène s'accompagne d'une surproduction d'EOR pouvant conduire à une mort cellulaire importante. L'activité protectrice de la PBN sur des modèles d'ischémie cérébrale globale a pu être mise en évidence par Olivier et al [33]. ainsi que par Clough-Helfman[34] , attribuant à la PBN ses effets protecteurs par capture du radical superoxyde, empêchant ainsi la formation d'EOR plus toxiques.

I.2.3.2 Activité sur la vision et l'ouïe:

De nombreuses recherches ont montré que le stress oxydant joue un rôle primordial dans l'induction de maladies touchant l'oreille interne et dans la perte de l'audition lors d'exposition à des nuisances sonores excessives[35][36]. En effet, Fechter et al ont démontré que de nombreux composés comme, le monoxyde de carbone, le cyanure d'hydrogène et l'acrylonitrile peuvent, en association avec des nuisances sonores, engendrer une perte de l'audition par une surproduction d'EOR et d'EAR dans l'oreille interne[37]. C'est ainsi que la PBN a été testée sur des rats soumis à une exposition sonore intense et en présence de monoxyde de carbone ou d'acrylonitrile et il a été démontré que l'administration de PBN avant et pendant la période d'exposition à la toxine et l'intensité sonore permettait de diminuer fortement la perte auditive chez les rats soumis à l'expérience[38][39]. En revanche, la PBN s'est avérée inefficace lorsque les rats ont été soumis uniquement à une exposition sonore intense.

La PBN s'est également montrée à plusieurs reprises capable de réduire les effets néfastes des radicaux libres sur un modèle expérimental de dégénérescence rétinienne, qui consiste à exposer des rats à une lumière intense[39][40]

I.2.3.3 Autres activités protectrices :

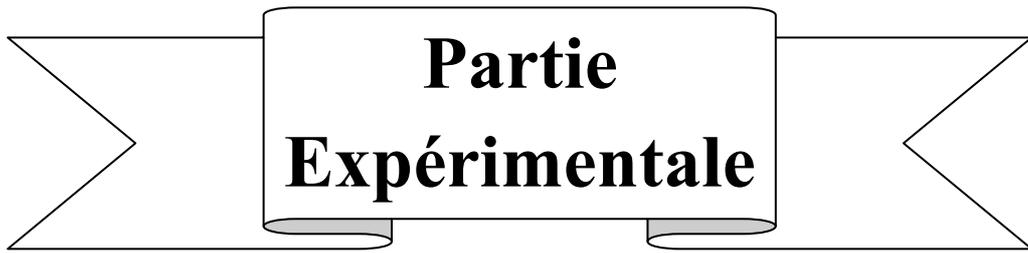
Les diabètes insulino-dépendants sont notamment caractérisés par une réaction inflammatoire localisée au niveau du pancréas et une destruction des cellules β produisant l'insuline. La streptozotocine (STZ) est une molécule capable de reproduire les diabètes insulino-dépendants en induisant la formation de radicaux libres et une hyperglycémie.

Ainsi, il a été démontré que la PBN est capable d'inhiber cette hyperglycémie induite par la STZ tout en réduisant très fortement la production de radicaux [41].

La PBN réduit également les dommages induits par des agents anticancéreux ou des agents anti-angiogéniques. En effet, la PBN est capable de diminuer la cardiotoxicité de la doxorubicine [42] en maintenant son activité cytotoxique. De plus, la PBN est également capable de réduire l'action tératogène du thalidomide par pré-traitement, indiquant que la toxicité de ce xéniobiotique pourrait être liée à la formation d'espèces radicalaires [43].

I.2.3.4 Activité sur le vieillissement:

De nombreuses études ont mis en évidence le fait que l'administration de PBN chez des sujets âgés s'accompagnait d'un allongement de la durée de vie. En effet, dès 1991 Carney et coll. [44] démontrèrent pour la première fois les effets bénéfiques d'une administration chronique de PBN sur la restauration des fonctions cognitives de rats âgés. Sack et al. [45] ont par la suite démontré que l'administration de PBN à des rats âgés (24 mois) pendant plus de 9 mois permettait d'augmenter de façon étonnante leur durée de vie (4 fois plus de sujets en vie à la fin de l'étude), entraînant de surcroît l'augmentation des performances cognitives des rats traités. Enfin, Saito et al. [46] sont arrivés à prolonger de deux mois la durée de vie de rats âgés (30 ou 32 mois) en leur faisant absorber de manière journalière de la PBN contenue dans l'eau qu'ils buvaient. La PBN possède donc une activité anti-âge marquée qui serait en partie due d'après Saito, à sa capacité à former des radicaux nitroxydes *in vivo*, qui produits en conditions normales, auraient diverses propriétés pharmacologiques positives. Ames et al. [47] ont également suggéré que la N-tert-butylhydroxylamine, le produit d'hydrolyse de la PBN, protégerait la mitochondrie des dommages causés par la sénescence à des concentrations 100 fois inférieures à celles de la PBN nécessaires pour aboutir à la même protection.



**Partie
Expérimentale**

Matériels et Méthodes

II.1 Appareillages et produits :

II.1.2 Appareils :

- Les spectres infra-rouge des nitrones et des complexes sont réalisés à l'aide d'un appareil de marque PerkinElmer Spectrum ES Version 10.5.2
- Les spectres UV-visible des complexes sont réalisés à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible, JASCO, type v-630 à double faisceaux.
- Les différentes pesées de précision ont été faites en utilisant une balance analytique de marque PERKIN 550

II.1.3 Produits :

Les produits utilisés dans notre travail et leurs origines sont rassemblés dans le tableau 02.

Tableau 02 : Produits utilisé ainsi que leur origine et degré de pureté.

Produit	Origine	Pureté %
Diéthyl Ether	Fluka	99,5
Chloroforme	//	Spectroscopie
Dichlorométhane	Prolabo	99,5
DMSO	//	//
β -carotène	//	98
Tween 40	//	//
Acide linoléique	//	//
DPPH	Fluka	99
DMSO	//	//
BHT	//	//
BHA	//	//
TCA	//	//
FeCl ₃	//	//
K ₃ fe(CN) ₆	//	//
β -Cyclodextrine	//	//
Nitron	Elles ont été synthétisées et caractérisées au laboratoire de recherche sur les Produits Bioactifs et Valorisation de la Biomasse de l'Ecole Normale Supérieure, BP 92 Vieux – Kouba Alger	

II.2 Synthèse des complexes nitron/ β -CD

Dans un tube à essai on fait introduire un mélange équimolaire de nitron β -cyclodextrine $n=12,5 \cdot 10^{-3}$ mol avec l'eau distillée sous agitation pendant 36 à 48h. Le complexe est obtenu par une agitation, après un certain temps on remarque que les nitrones restent en suspension puis au fur à mesure que la réaction avance, cette suspension disparaît.

A la fin, on obtient un précipité. On filtre le mélange puis on lave le filtra avec de L'eau distillée pour éliminer le reste de β -CD non complexé. Puis, on lave encore avec de l'ether froid pour dégager la nitrone non complexée. le solide récupéré est sèche à 65°C pendant 6 à 12h et conservé entre 0 à 4°C. Les masses expérimentales et théoriques sont regroupées dans le tableau suivant :

Tableau03 : Quantités des réactifs utilisés et des complexes obtenues

Les produits	p-NO ₂	P-cl	p-OCH ₃	p-OH	p-H
Masses molaires des nitrones(g/mol)	242	231.5	227	213	197
Masses utilisées des Nitrones	0.060	0.057	0.050	0.053	0.056
Masse utilisée de β -cyclodextrine	0.142	0.142	0.142	0.142	0.142
Masses expérimentales obtenues (mg)	0.0091	0.0218	0.0150	0.0121	0.0035
Masse théorique(mg)	0.062	0.057	0.050	0.056	0.053

II. 3 Evaluation de l'activité antioxydant des nitrones et leurs complexes :

Le pouvoir antioxydant de nos nitrones et leurs complexes a été testé par trois méthodes : La méthode de piégeage du radical libre 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), La méthode de blanchissement de la bêta-carotène et la méthode de réduction du fer ferrique.

II.3.1 Méthode de piégeage du radical libre 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

Le radical libre DPPH est Solubilisé dans DMSO absolu à une concentration de 4 mg dans 100ml DMSO. Des solutions des nitrons et des complexes dans DMSO de concentration de 0,5 μ mol/l'ont été fraîchement préparées .En parallèle, des solutions des antioxydants de synthèse :Hydroxyanisolebutylè (BHA) ,vitamine C, β -CD ont été préparées avec la même concentration que les nitrones.

Dans des tubes secs et stériles, on introduit un volume de 0,2 ml des solutions à tester et on complète à 1 ml avec de DMSO. A ces dernières, on ajoute 1ml de la solution DPPH.

Après à l'aide d'un vortex, les tubes sont placés à l'obscurité, à température ambiante (25°C) pendant 30 min, le test est répété 3 fois. La lecture est effectuée par la mesure d'absorbance à 517nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible, en utilisant des cuves en quartz de 2 ml.

% activité est mesuré par la relation suivante :

$$\% \text{ activité} = \frac{\text{Abs}_{\text{control}} - \text{Abs}_{\text{testé}}}{\text{Abs}_{\text{control}}} * 100$$

Soit :

Abs_{control} : Absorbance à la longueur d'onde de 517nm de la solution DMSO +DPPH

Abs_{test} : Absorbance à 517nm de l'échantillon

II.3.2 Méthode de blanchissement de β -carotène :

La méthode décrit par Tepe et ces collaborateurs. [48] a été employée. Une émulsion β -carotène /acide linoléique a été préparée par solubilisation de 2mg de β -carotène dans 1 ml de chloroforme, ensuite 25 μ l de l'acide linoléique et 400mg de tween 40 sont additionnés. Le chloroforme est complètement évaporé et 100 ml d'eau sont ajoutés, l'émulsion est vigoureusement agitée.

À 2 ml du mélange précédent, 350 μ L de chaque solution de nitrones synthétisées, complexe 1/1, ou complexe 1/2 ou de références (à une concentration de 5mmol/ml dans le DMSO) est ajoutée. L'opération est répétée à trois reprises pour chaque solution. Les tubes à essai ont été incubés à l'abri de la lumière à température ambiante pendant 48h. La décoloration de l'émulsion en présence et en absence d'antioxydant est mesurée à 490 nm. L'activité antioxydant relative des extraits (AAR) est calculée après 48 h selon l'équation suivante :

$$\text{AAR}\% = \left[\frac{\text{Abs}_{48\text{h}}^{\text{échantillon}}}{\text{Abs}_{48\text{h}}^{\text{BHT}}} \right] . 100$$

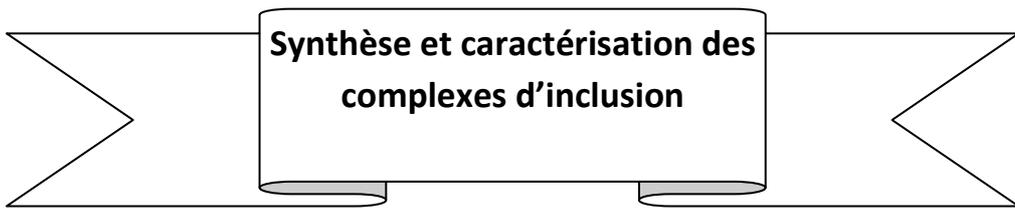
Où AAR, Abs 48h (échantillon) et Abs 48h (BHT) représentent respectivement l'activité antioxydante relative, l'absorbance de l'échantillon après 48 heures est l'absorbance du BHT après 48.

II.3.3 Méthode de réduction du fer ferrique FRAP (ferricreducing antioxydant power) :

Ce test a été déterminé suivant la méthode préconisée par Oyaizu [49]. 200 ml des solutions des nitrones ou des complexes synthétisés à 0.5 $\mu\text{mol/l}$ dans le DMSO sont dilués dans 800 μl de DMSO. Ces dernières sont mélangées avec 2,5 ml de la solution tampon phosphatée (0,2M ; pH 6,6) et 2,5 ml de ferricyanure de potassium ($\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$) à 1%. Les mélanges sont incubés à 50°C pendant 30 min. après 2,5 ml de l'acide trichloracétique (10 %) est additionné. Le tout est centrifugé à 3000 tours pendant 10 min. 2,5 ml du surnageant de chaque concentration est mélangé avec 2,5 ml d'eau distillée et 0,5 ml FeCl_3 (0,1%). L'absorbance de ces solutions est mesurée à 700 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible [49].



**Résultats et
discussions**

A decorative banner consisting of a central rectangular box with rounded corners and a drop shadow, flanked by two ribbon-like shapes that extend to the left and right. The text is centered within the central box.

**Synthèse et caractérisation des
complexes d'inclusion**

Les CDs sont entourés de molécules d'eau d'hydratation et leur cavité polaire de la cyclodextrine est occupée par des molécules d'eau, peuvent être facilement substituées par une ou plusieurs molécules « invitées » hydrophobes, tel que les nitrones, pour former des complexes de type « hôte-invité ». Ces complexes d'inclusion de type « hôte-invité », à base de molécules de cyclodextrines permettent l'amélioration des propriétés biologiques des molécules hôtes.

Dans notre travail, une série de complexes d'inclusions 1/2 à base de C-aryl, N-phénylnitrones (schéma 13) et de β -cyclodextrine sera préparée. Ces nitrones sont choisies parce qu'ils sont stables et se trouvent sous la seule forme trans.

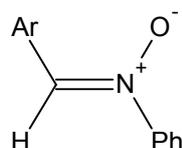


Schéma 13: structure des nitrones utilisées

Ar : *p*-NO₂ph; *p*-Clph; ph; *p*-OCH₃ph; *p*-OH ph

III.1.1 Synthèse du complexe C-aryl, N-phénylnitron/ β -CD :

La complexation a été effectuée en utilisant la méthode standard, le complexe 1/2 a été obtenu par agitation pendant 36 à 48 heures à 25 C d'une quantité équimolaire de nitron avec une solution saturée de β -CD dans l'eau distillée. Lors de la formation du complexe, nous avons remarqué que la nitron qui flottait au début de la réaction sur la surface de l'eau disparaît dans la solution qui devient claire. Ce dernier a été séparé par filtration. Un tableau récapitulatif des rendements obtenus de chaque complexe NIT/ β -CD est résumé dans le tableau et représenté sur histogramme

Tableau 4 : récapitulatif des rendements obtenus du chaque complexe NIT/ β -CD

Complexe 1/2	NO ₂	CL	H	OH	OCH ₃
Rdt (%)	11,67	38,24	30	6,6	21,6

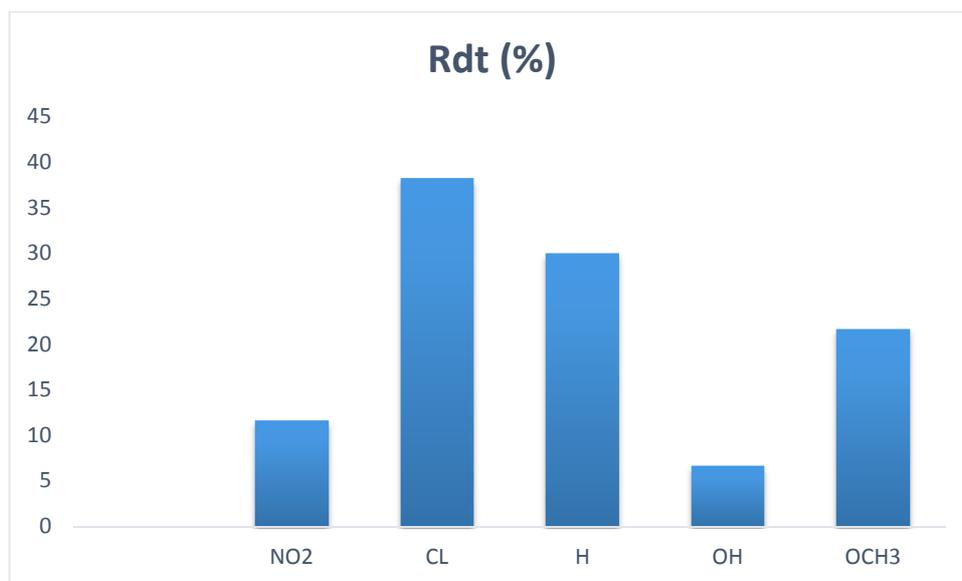


Figure14 : histogramme des rendements de chaque complexe nitrone/ β -CD

On remarque que les rendements sont globalement faible cela est due au fait que ces complexes sont régis par des interactions inter moléculaire de type van der Waals et liaison d'hydrogène et l'absence des liaisons covalents

III.1.2 Caractérisation du complexe nitrone / β -cyclodextrine :

La formation d'un complexe d'inclusion entre la β -CD et une molécule invitée peut être vérifiée à l'aide de différentes techniques d'analyse. Ces techniques reposent sur les modifications des propriétés physicochimiques ou optiques de la molécule complexée liées à la modification de sa solubilité ou de son microenvironnement. Les techniques couramment utilisées sont : la spectroscopie infrarouge IR, diffraction de rayon X, Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) et spectrophotométrie UV visible.

Dans notre travail, nous avons utilisé pour la caractérisation des complexes synthétisés deux techniques :

- a) la spectroscopie infrarouge
- b) diffraction de rayon X

III.2.2 Caractérisation des complexes d'inclusion 1/2 par spectroscopie infrarouge :

La spectrophotométrie FTIR est utilisée depuis de nombreuses années pour identifier directement la formation des complexes d'inclusion CD/invité dans la cavité de CD, en comparant le spectre du complexe à ceux de l'invité et de la CD en question.

Généralement, les bandes de CD ne subissent qu'un simple changement suite à la complexation, alors que les bandes correspondant à la partie de l'invité bloquée dans la cavité de la CD seront facilement masquées ou altérées par celles du spectre de la CD. Ces modifications sont indicatives de l'inclusion et sont dues à la perte de la vibration et de la transition de l'invité à cause du changement de son environnement et de ses interactions avec la CD. De plus, les spectres FTIR donnent des informations sur l'implication des hydrogènes dans les interactions entre les groupes fonctionnels absorbant à des fréquences relativement constantes, donnant ainsi la possibilité d'obtenir des informations structurales détaillées sur les molécules étudiées à partir de leurs spectres IR [50].

La lecture du spectre infrarouge de la β -cyclodextrine, voir la figure 15 nous a permis de constater ce qui suit :

- Une bande intense à 3410 cm^{-1} correspondant aux vibrations des liaisons hydrogènes des groupes hydroxyles
- Une bande à 2927 cm^{-1} correspondant à la vibration des groupes CH et CH₂
- Une bande forte à 1634 cm^{-1} relative aux liaisons H-O-H
- de 2452 cm^{-1} à 1258 cm^{-1} nous constatant les vibrations de déformation des liaisons C-H et dont les carbones portent les hydroxyles primaire et secondaire
- à 1159 cm^{-1} nous observons la bande de vibration d'élongation de la liaison éther C-O
- une bande intense de 1110 à 1074 cm^{-1} correspondant aux liaisons C-O des carbones hydroxylés
- une bande intense et forte à 1031 cm^{-1} caractérisant la vibration des groupes d'atomes C-O-C éther
- entre 940 et 700 cm^{-1} nous pouvons constater les modes de vibration de déformation des liaisons C-H et de pulsation dans le cycle glucopyranose.

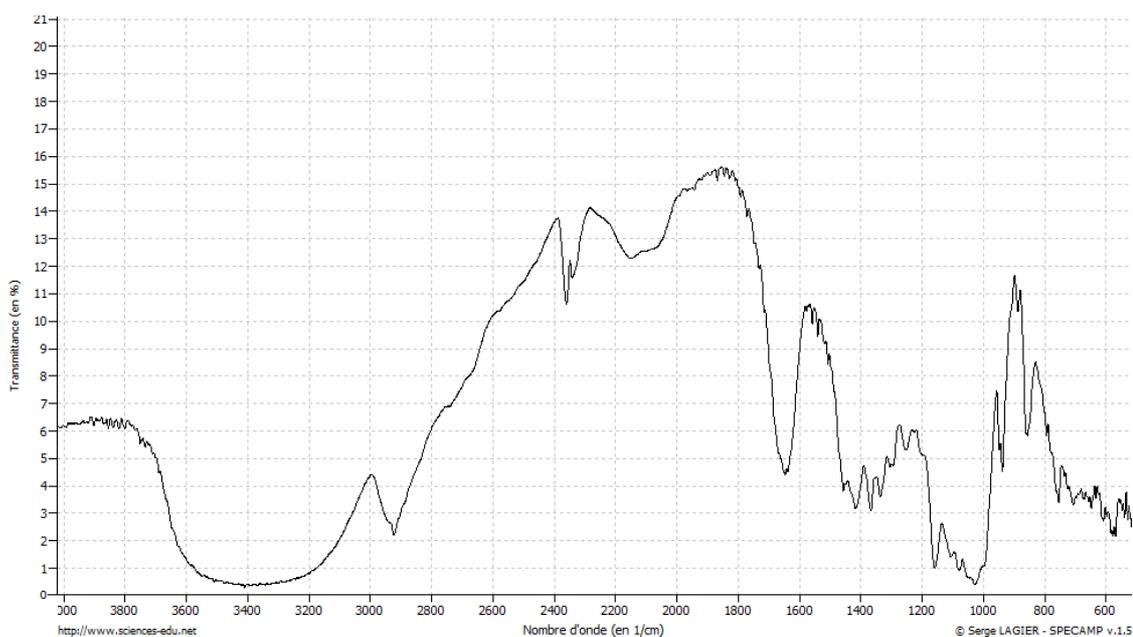


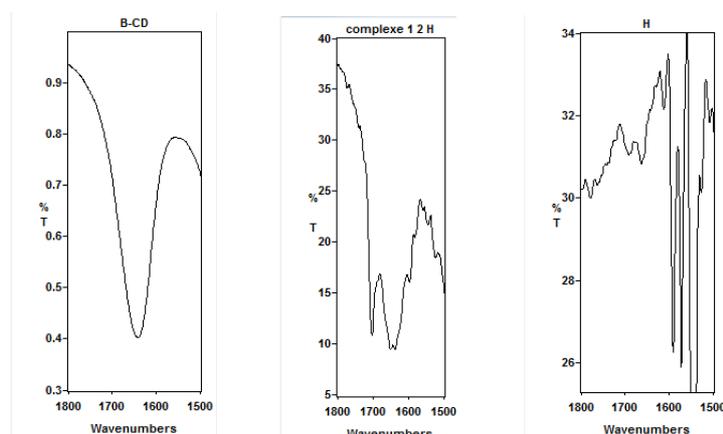
Figure 15 : Spectre infra rouge de la β -cyclodextrine.

La comparaison des spectres infrarouges, représentés sur les différentes figures de superposition de l'annexe I, et selon la nitroène et le complexe d'inclusion correspondant, nous ont permis d'écrire les observations suivantes :

a- Cas de la C-N- déphynilnitroène :

L'exploitation des spectres infrarouge de la figure N°1 de l'annexe 1 a permis de relever les observations suivantes :

-l'apparition de la bande de vibration d'élongation de la double liaison benzylique à 1703 cm^{-1} , voir la figure des zooms explicatif n 16, en plus de sa mise en évidence entre 1651 et 1581 cm^{-1} comme le montre la figure des zooms explicatif suivantes :

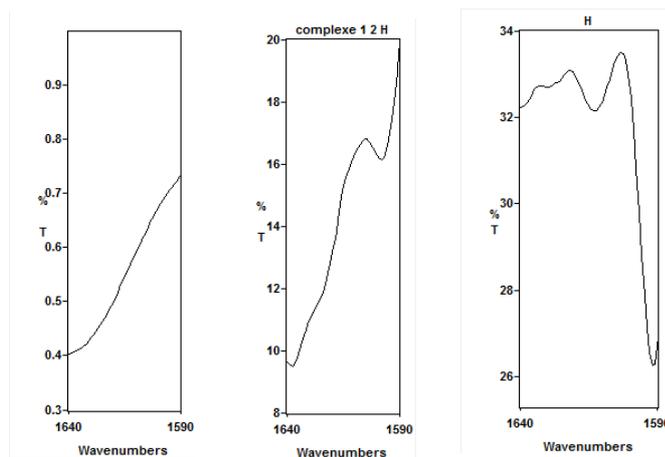


16-a β -CD

16-b complexe1/2

16-c -H

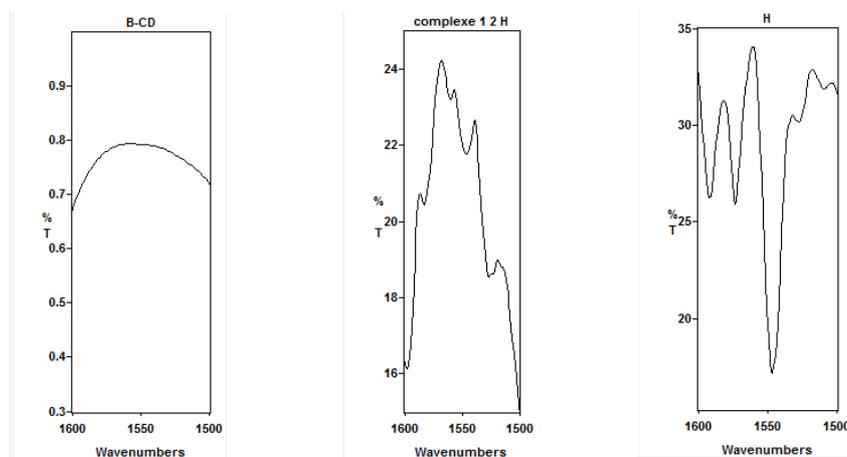
Figure 16: Agrandissement explicatif à 1703 cm^{-1} dans C-N- déphynilnitroène



17-a β -CD 17-b complexe 1/2 17-c -H

Figure 17 : Agrandissement explicatif à 1651 et 1581 cm^{-1} dans C-N- déphynilnitro

- le mode de vibration d'élongation de la liaison C=N de le nitro à 1549 cm^{-1} , voir la figure suivant :



18-a β -CD 18-b complexe 1/2 18-c -H

Figure 18 : Agrandissement explicatif à 1549 cm^{-1} dans C-N- déphynilnitro

- à 1202 cm^{-1} c'est le mode de vibration d'élongation de la liaison N-O qui apparait presque totalement masquée par la bande de vibration de liaison éther- C-O à 1159 cm^{-1} et celles des liaisons C-O des carbones hydroxylés, voir la figure suivant :

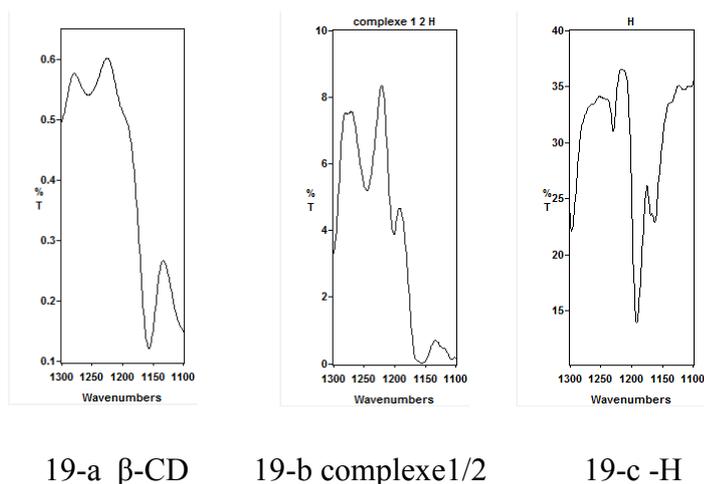


Figure 19: Agrandissement explicatif à 1159 cm^{-1} dans C-N- déphénylnitrone.

b- cas de la C-p –Chlorophenyl-N-Phénylnitrone :

L'investigation des spectres de la figure N 19, montre comme précédemment une apparition de mode de vibration d'élongation des liaisons conjuguées C=C Benzylque à 1705 cm^{-1} , voir la figure suivant :

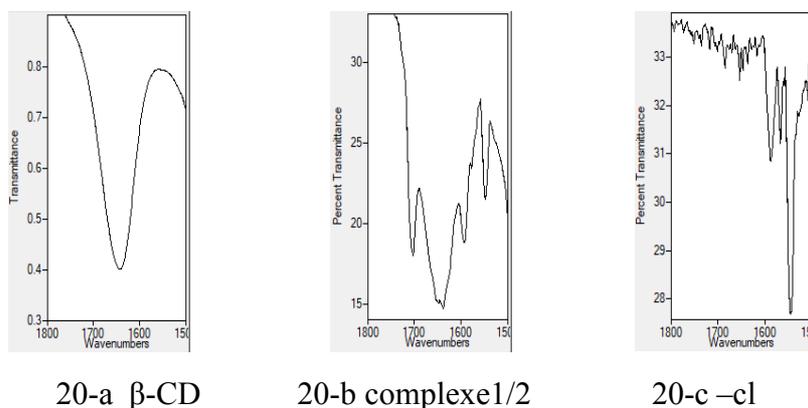


Figure 20: Agrandissement explicatif à 1705 cm^{-1} dans C-P –Chloro N-Phénylnitrone.

- comme la montre la figure 20 on détecte à 1548 cm^{-1} la bande de vibration d'élongation de la liaison double C=N qui apparaît de façon plus nette que précédemment.

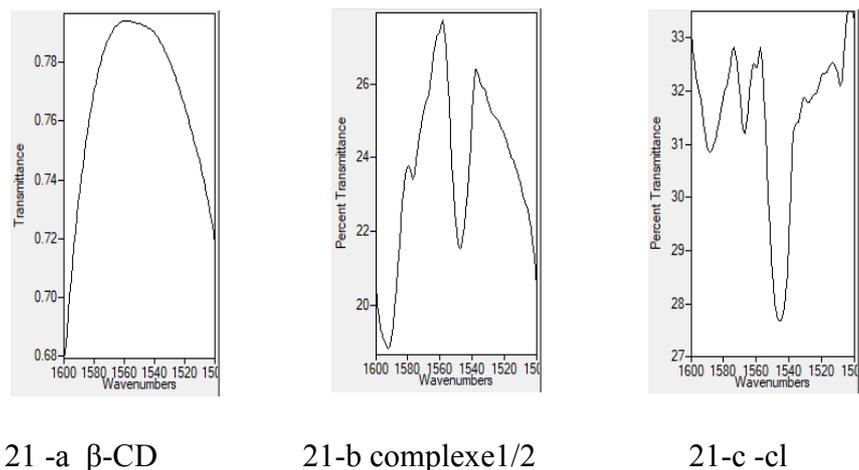


Figure 21 : Agrandissement explicatif à 1548cm^{-1} dans Chloro N-Phénylenitron

Aussi, selon la figure 22 l'absorption de la liaison N-O apparaît à 1199 cm^{-1}

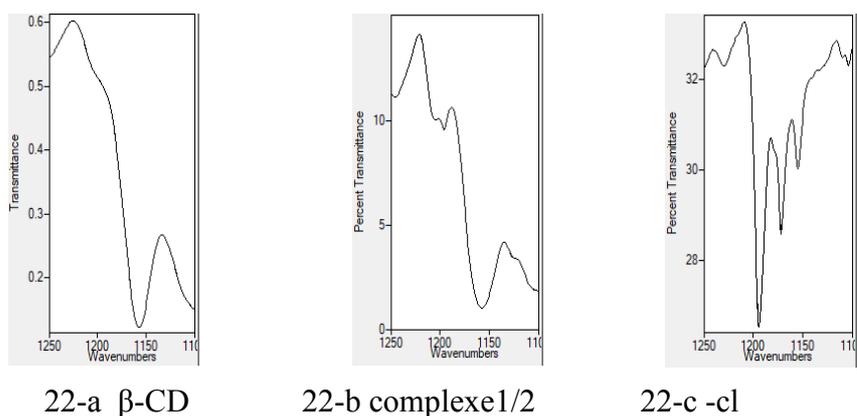


Figure 22: Agrandissement explicatif à 1199 cm^{-1} dans C-P –Chloro N-Phénylenitron

nous avons pu aussi détecter la présence de la liaison C-Cl à 840 cm^{-1} comme le montre la figure 23.

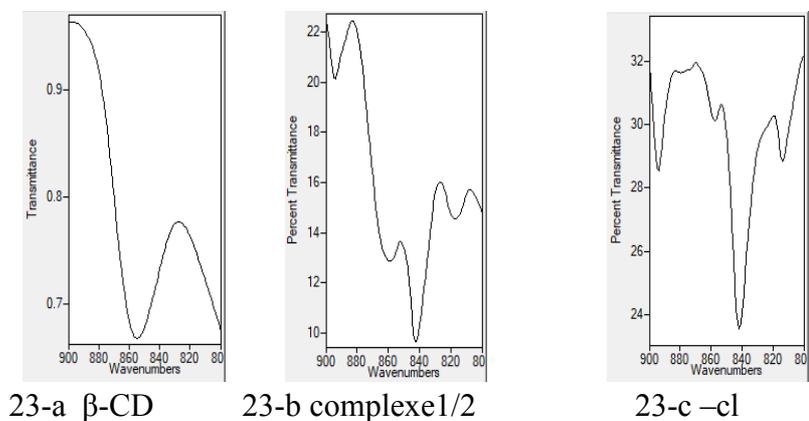


Figure 23: Agrandissement explicatif à 840 cm^{-1} dans C-P –Chloro N-Phénylenitron

c- Cas de la C-p –Nitrophenyle-N-Phenylnitro

La lecture des spectres infrarouge de la figure N 23, montre clairement la présence de la liaison C=N à 1590 cm^{-1}

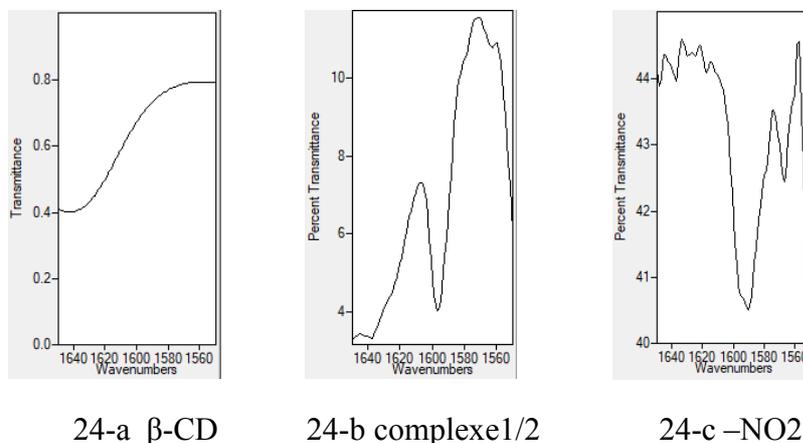


Figure 24 : Agrandissement explicatif à 1590 cm^{-1} dans C-P- Nitrophenyle- N-Phenylnitro

La liaison N-O est détectable à 1196 cm^{-1} voir dans la figure ci-dessous :

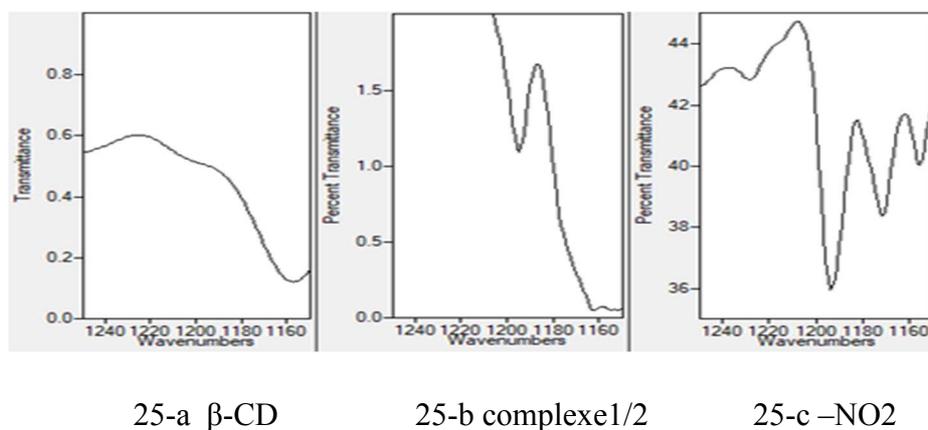


Figure 25: Agrandissement explicatif à 1196 cm^{-1} dans C-P- Nitrophenyle- N-Phenylnitro

De même, l'élongation symétrique de la liaison Ar-NO₂ s'affiche dans le spectre du complexe 1:2 selon une bande intense et forte à 1342 cm^{-1} .

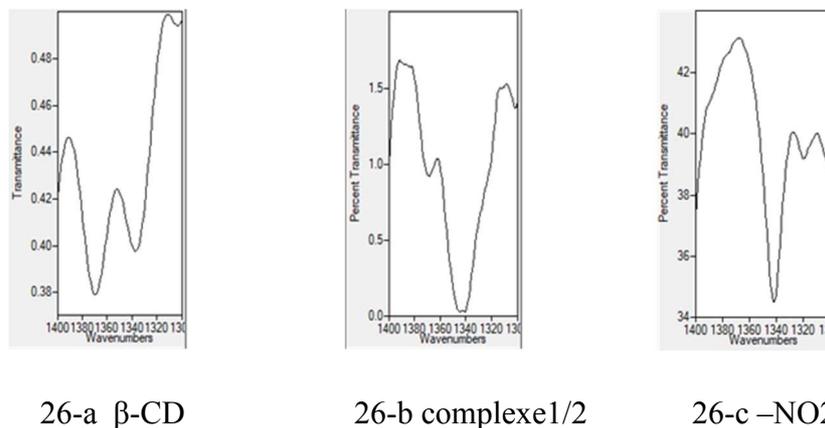


Figure 26 : Agrandissement explicatif à 1342 cm^{-1} dans C-P- Nitrophenyle- N-phenylenitronne
 Pareille à la vibration d'élongation des liaisons C=C benzénique à 1515 cm^{-1}

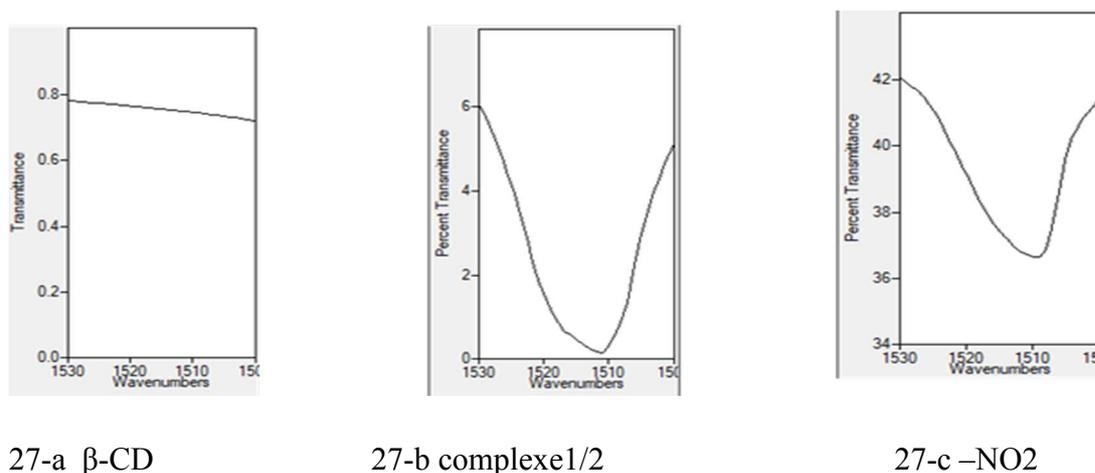


Figure 27: Agrandissement explicatif à 1515 cm^{-1} dans C-P- Nitrophenyle- N-Phenylenitronne

d- Cas de la C-p- hydroxyle phényl-N-phenylenitronne :

On remarque dans ce cas et d'après l'exploitation des spectres de la figure N 23 une bande d'absorption très intense à 1604 cm^{-1} correspondant au mode de vibration d'élongation de la liaison C=N.

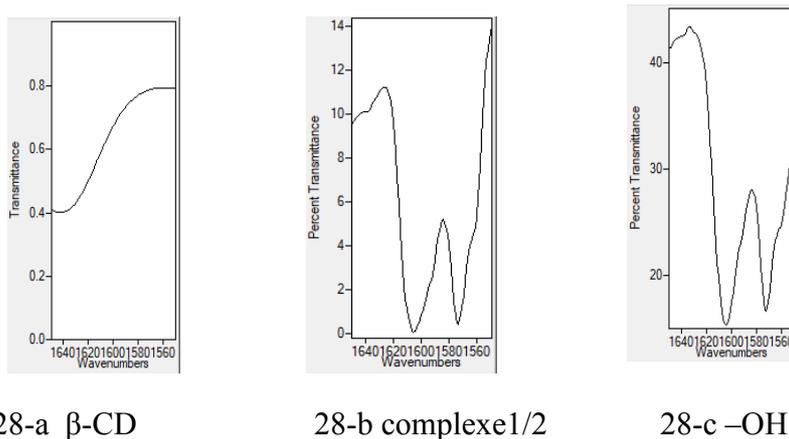


Figure 28 : Agrandissement explicatif à 1604 cm^{-1} dans C- p- hydroxyle phenylnitronne

à 1575 cm^{-1} c'est l'élongation des liaisons C=C benzénique qui s'affiche nettement selon la figure29

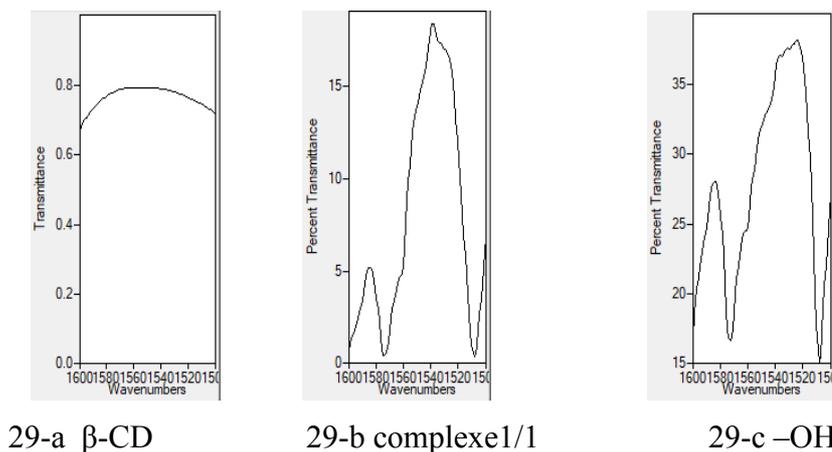
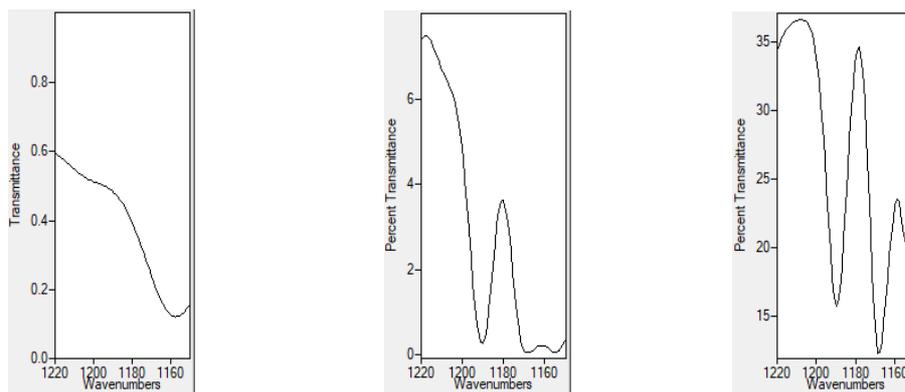


Figure29 : Agrandissement explicatif à 1575 cm^{-1} dans C- p- hydroxyle phenylnitronne

Concernant la liaison Ar-O phénolique elle est clairement détectable à 1190 cm^{-1} , voir la figure suivant :



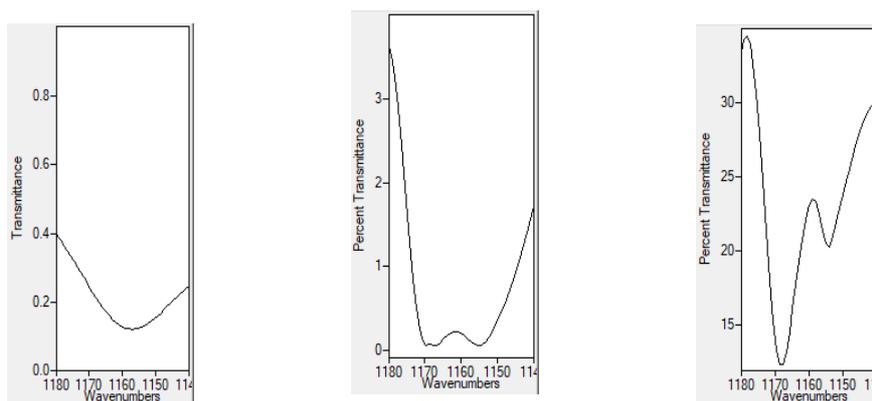
30-a β-CD

30-b complexe 1/2

30-c -OH

Figure 30 : Agrandissement explicatif à 1190 cm⁻¹ dans C- p- hydroxyle phenylnitronne *

Enfin, et comme le montre la figure 30, la liaison N-O est caractérisée par la bande à 1165 cm⁻¹ qui est juxtaposé à celle des liaisons éthers C-O à 1159 cm⁻¹.



31-a β-CD

31-b complexe 1/2

31-c -OH

Figure 31: Agrandissement explicatif à 1159 cm⁻¹ dans C- p- hydroxyle phenylnitronne

e- Cas de la C- p- méthoxyphényl-N-phényle nitronne :

- Comme pour les nitrones précédentes le spectre infrarouge du complexe d'inclusion 1 :2, entre la C- p- méthoxyphényl-N-phényle nitronne et la β-cyclodextrine ,indique clairement l'existence du mode de vibration d'élongation de la liaison C=N à 1603 cm⁻¹. Ceci est indiqué dans la figure 31

-

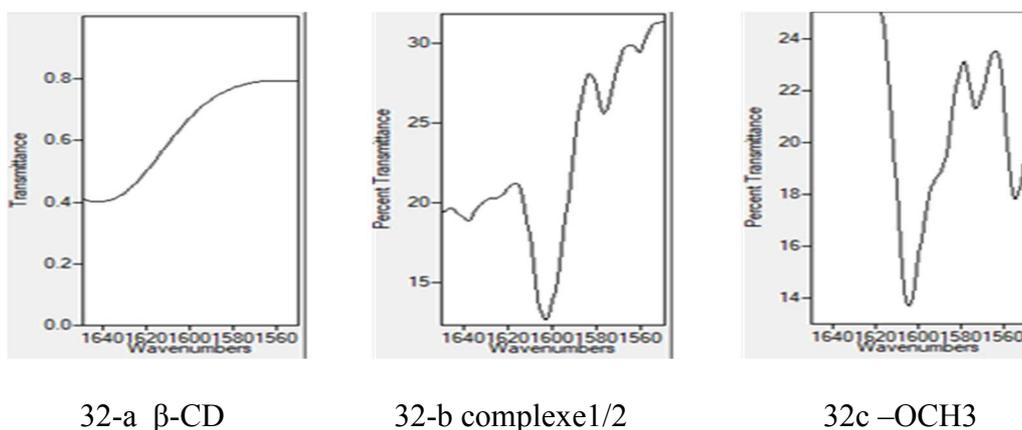


Figure 32 : Agrandissement explicatif à 1603 cm^{-1} dans C- P- méthoxy – N-phynél-nitrone

Toutefois, la bande d'absorption de la liaison N-O à 1177 cm^{-1} est totalement masquée par celle des liaisons éthers C-O.

- la liaison éther aromatique Ar-O-C s'affiche à 1262 cm^{-1} ,

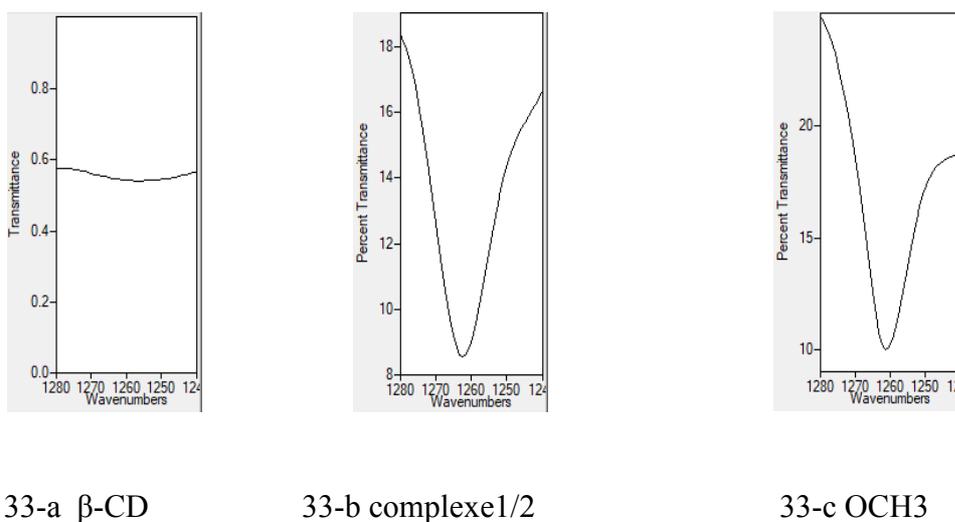
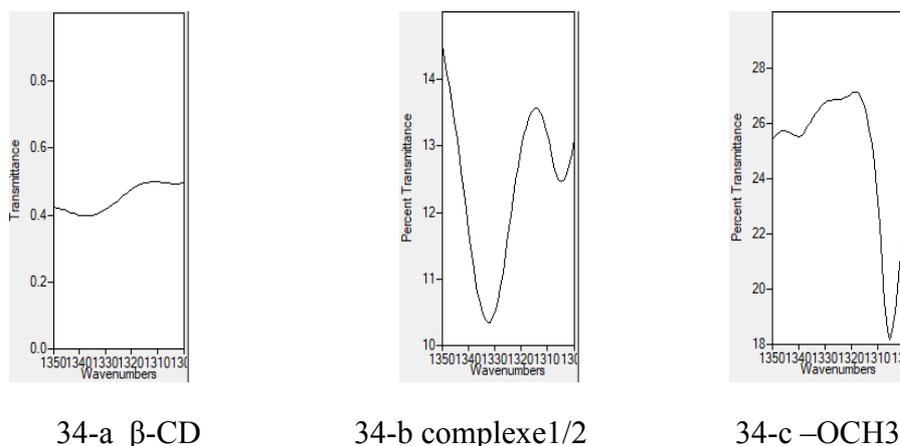


Figure 33: Agrandissement explicatif à 1259 cm^{-1} . dans C- P- méthoxy – N-phynél-nitrone

- nous remarquons aussi que la bande d'absorption à 1336 cm^{-1} devient plus intense à cause du mode de vibration de déformation dont le plant des liaisons Csp³-H.



- **Figure 34** : Agrandissement explicatif à 1336 cm^{-1} dans C- P- méthoxy – N-phynél-nitrone

De même, dans la figure 34 on remarque que la bande d'absorption à 2929 cm^{-1} devient plus intense due aux vibrations d'élongation dans le plan des liaisons précédentes.

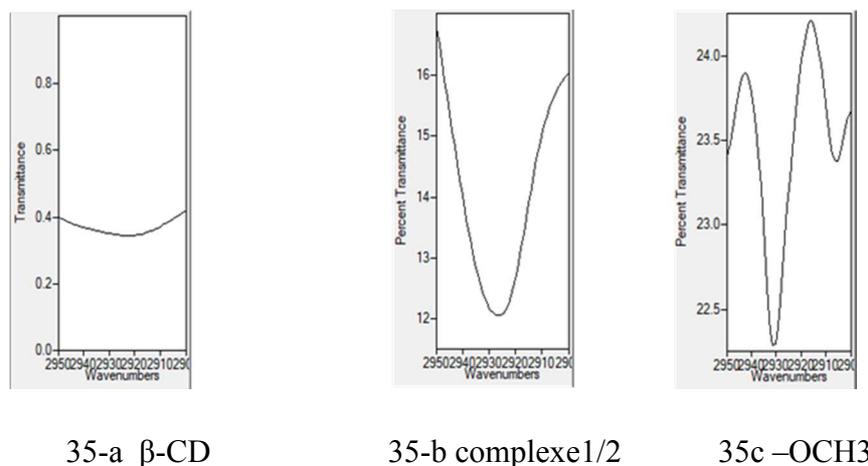


Figure 35: Agrandissement explicatif à 2929 cm^{-1} dans C- P- méthoxy – N-phynél-nitrone

Caractérisation des complexes d'inclusion 1 :1 par spectroscopie infrarouge :

Comme précédemment, les figures 35 de l'annexe I représentant la superposition respective des spectres infrarouges de la β -cyclodextrine, de la nitrone étudiée et du complexe d'inclusion 1 :1 de ces deux dernières, permettent d'en déduire les constatations suivantes :

a- **Cas du complexe 1:1 β -cyclodextrine / C,N-diphénylnitron:**

- Le spectre infrarouge du complexe β -cyclodextrine / C,N-diphénylnitron indique de façon très concrète la présence de la bande d'absorption caractéristique de la liaison C=N de la nitron à 1547 cm^{-1} . Voir la figure des agrandissements ci-dessous

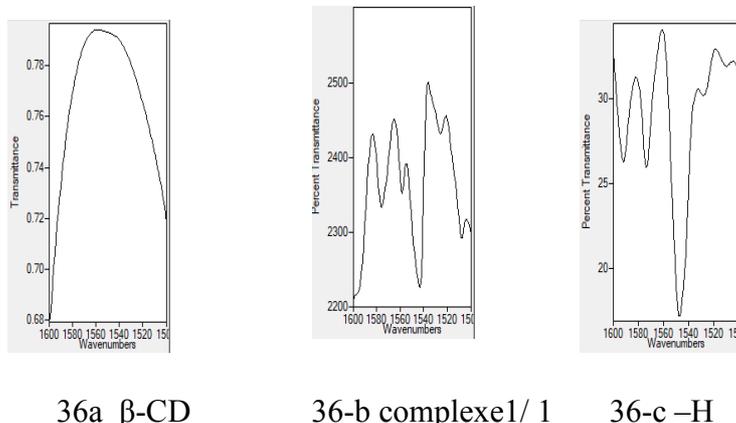


Figure 36 : Agrandissement explicatif à 1547 cm^{-1} . C,N-diphénylnitron / β -cyclodextrine

La liaison N-O est indécélable à 1194 cm^{-1} à cause de l'absorption des liaisons éther C-O de la β -cyclodextrine.

- **Cas du complexe 1:1 β -cyclodextrine /C-p-chlorophényl-N-phénylnitron**

- comme pour le complexe précédant la vibration de la liaison C=N s'affiche clairement à 1547 cm^{-1}

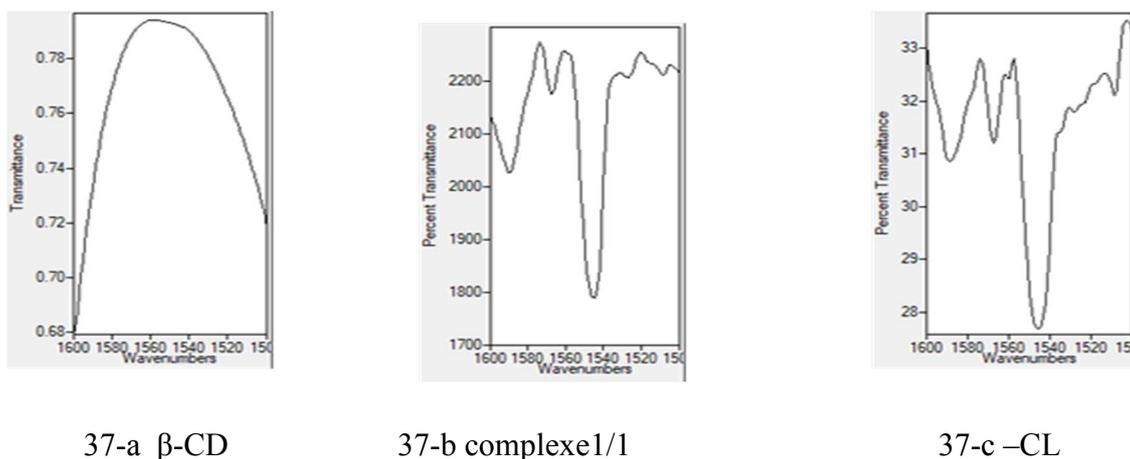
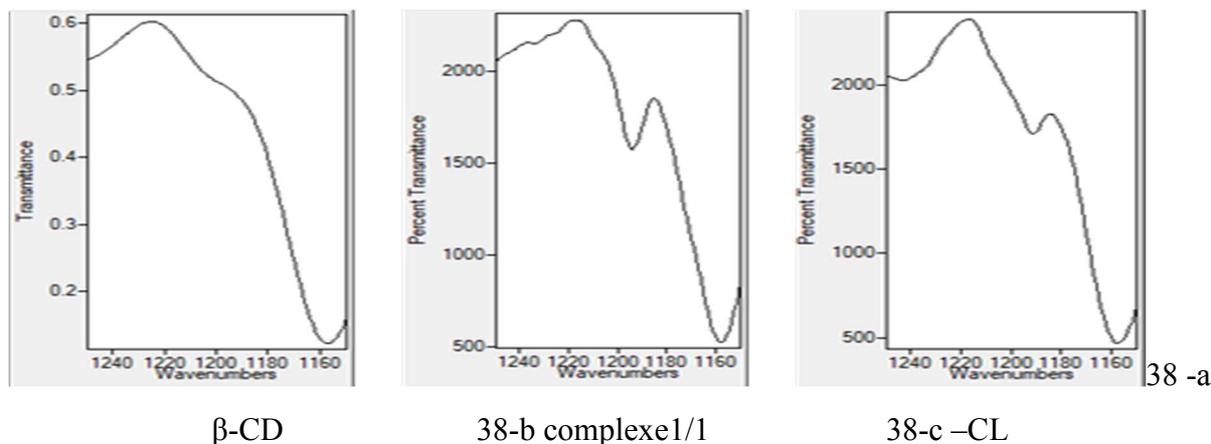


Figure 37: agrandissement explicatif à 1194 cm^{-1} β -cyclodextrine /C-p-chlorophényl-N-phénylnitron

Toutefois, la bande d'absorption, caractéristique de la liaison N-O, à 1199 cm⁻¹ est décelable de façon plus nette que dans le cas du complexe précédent. Voir la figure 37



- **Figure 38:** agrandissement explicatif à 1199 cm⁻¹ β-cyclodextrine /C-p-chlorophényl-N-phénylnitron
- Le spectre infrarouge, du complexe, présente aussi les bandes de vibrations d'élongation des liaisons C-H aromatiques à 1081 cm⁻¹ . Voir figure38

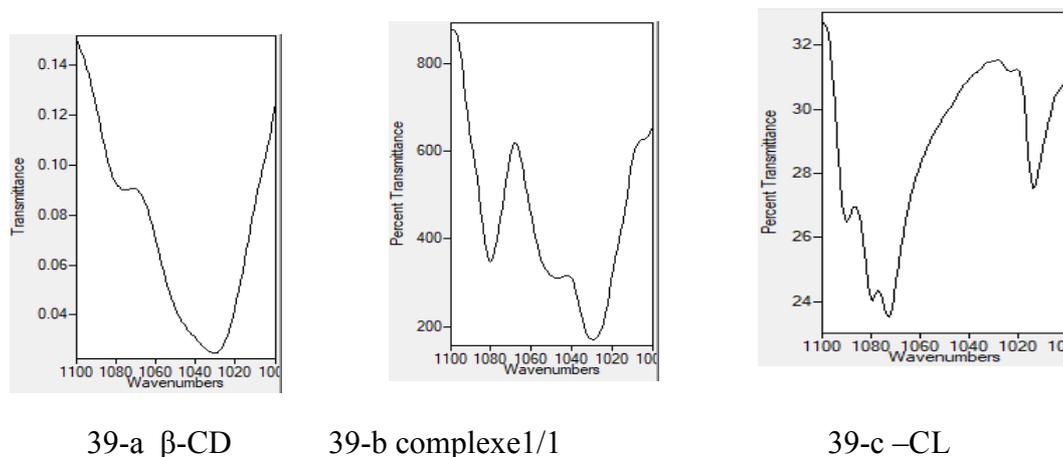


Figure 39 : agrandissement explicatif à 1081 cm⁻¹ β-cyclodextrine /C-p-chlorophényl-N-phénylnitron

D'après la figure et contrairement au complexe 1 :2 la bande de vibration d'élongation de la liaison C-Cl, à 842 cm⁻¹ est plus intense

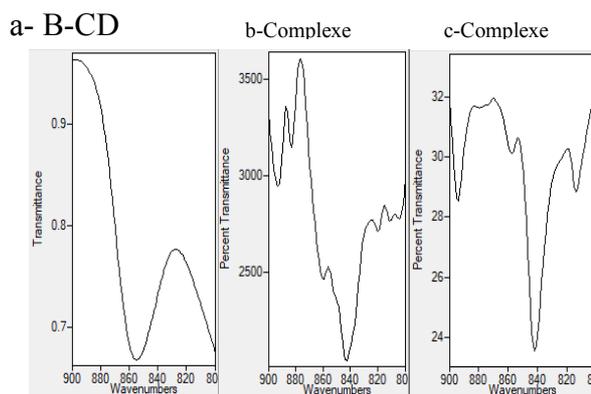


Figure 40: agrandissement explicatif à 842 cm C-p-chlorophényl-N-phénylnitronne

b- -/β-CD Cas du complexe 1:1 β-cyclodextrine /C-p-nitrophényl-N-phénylnitronne :

- L'examen du spectre infrarouge du complexe C-p-nitrophényl-N-phénylnitronne /β-cyclodextrine indique, selon la figure 40, de façon très claire l'absorption de la liaison C=N à 1547 cm⁻¹ .

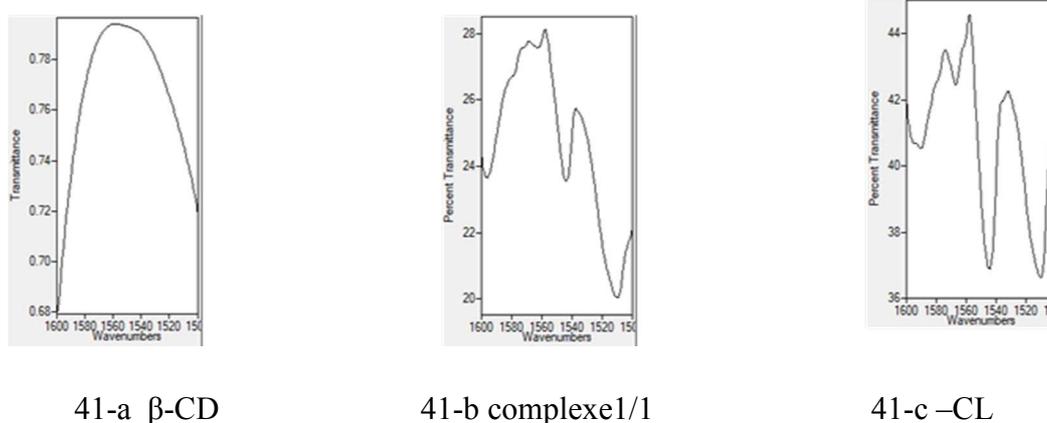
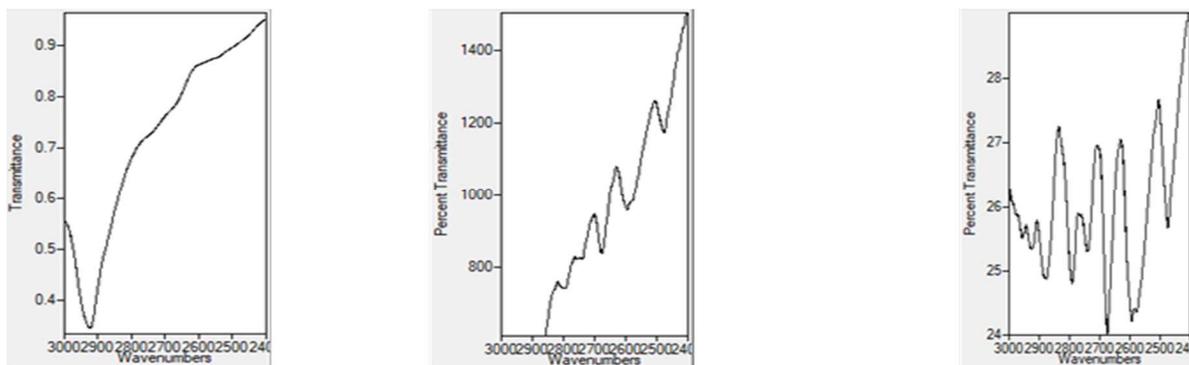


Figure 41 : Agrandissement explicatif à 1547 cm⁻¹.C-p-nitrophényl-N-phényl nitronne /β-cyclodextrine

c- Cas du complexe 1:1 β-cyclodextrine /C-p-hydroxyphényl-N-phénylnitronne

- la présence entre 2875 et 2474 cm⁻¹ des bandes d'absorption caractéristiques des liaisons C-H benzéniques. Voir la figure 42



42-a β-CD

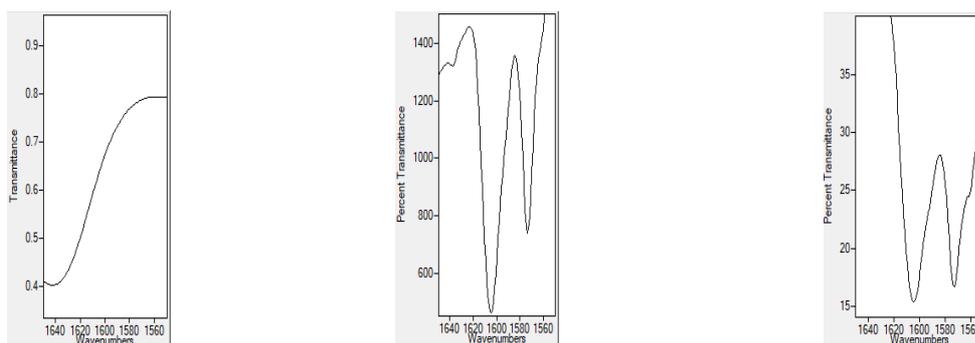
42-b complexe1/1

42- c -OH

- **Figure 42:** Agrandissement explicatif à 2875 et 2474 cm^{-1} . β -cyclodextrine /C-p-hydroxyphényl-N-phénylnitron

-

- La présence d'une bande forte et fine à 1606 cm^{-1} correspondant la liaison C=N de la nitronne comme le montre la figure suivant :



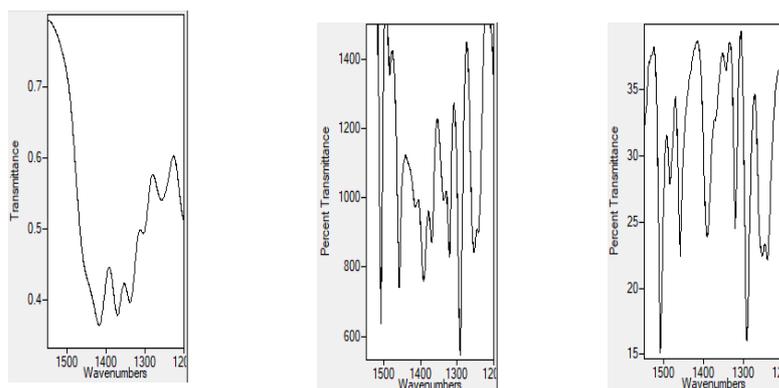
43-a β-CD

43-b complexe1/1

43-c -OH

Figure 43 : agrandissement explicatif à 1606 cm^{-1} β -cyclodextrine /C-p-hydroxyphényl-N-phénylnitron

- De 1514 à 1253 cm^{-1} , comme l'indique la figure 43,on remarque la présence simultanée des bandes d'absorption des liaisons C=C Benzénique et de la liaison OH phénolique.



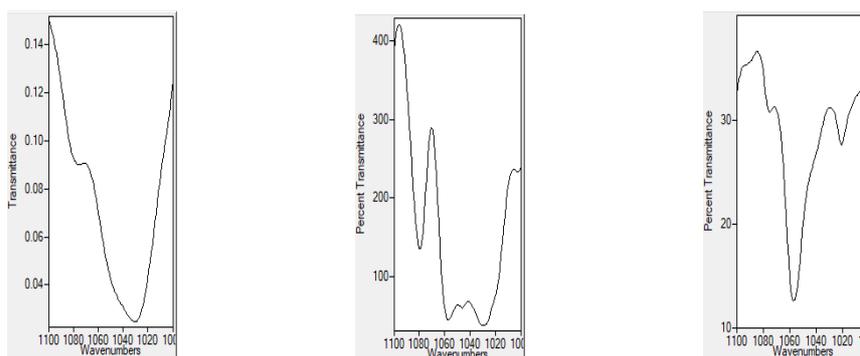
44-a-βCD

44-b complexe 1/1

44-c -OH

Figure 44 : agrandissement explicatif à 1514 à 1253 cm^{-1} β -cyclodextrine /C-p-hydroxyphényl-N-phénylnitronne

la lecture des spectres d'agrandissement de la figure 45 vérifie l'absorption de la liaison N-O dans le complexe 1 : 1 à 1060 cm^{-1} .



45-a-β-CD

45-b complexe 1/1

45-c -OH

Figure 45 : Agrandissement explicatif à 1060 cm^{-1} . β -cyclodextrine /C-p-hydroxyphényl-N-phénylnitronne

Cas du complexe 1:1 β -cyclodextrine /C-p-méthoxyphényl-N-phénylnitronne:

- la lecture des spectres de la figure 45 met en évidence l'absorption à 1606 cm^{-1} de la liaison C=N de la C-p-méthoxyphényl-N-phénylnitronne.

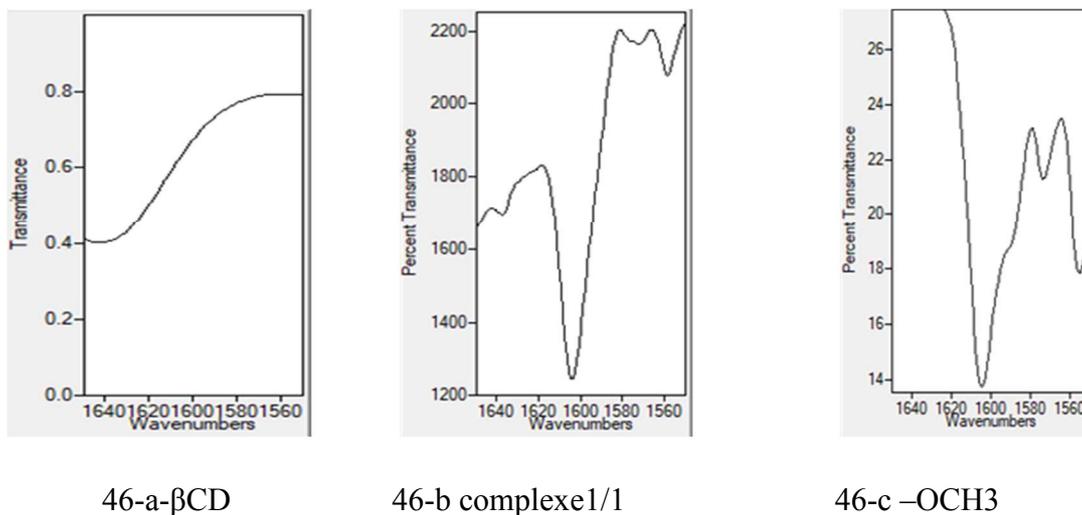


Figure 46 : Agrandissement explicatif à 1606 cm^{-1} . β -cyclodextrine /C-p-méthoxyphényl-N-phénylnitronne:

- Enfin, la bande d'absorption de la liaison N-O, à 1177 cm^{-1} est totalement masquée par celle des liaisons éther c-o de la β -cyclodextrine.
- L'ensemble des résultats de l'analyse par spectroscopie infrarouge du complexe 1 :2 nitronne/ β -cyclodextrine nous permettent de conclure que l'encapsulation des nitrones c'est faite des deux côtés de chaque nitronne en laissant libre la partie C=NO. Ce résultat est corroboré par les travaux de V. RAMAMOORTHY et col [51]. Toutefois, on suppose que la position para des différents substituants sur le C-phényle laisse ces derniers en partie à l'extérieur du tore de la molécule-cage c'est-à-dire la β -cyclodextrine.

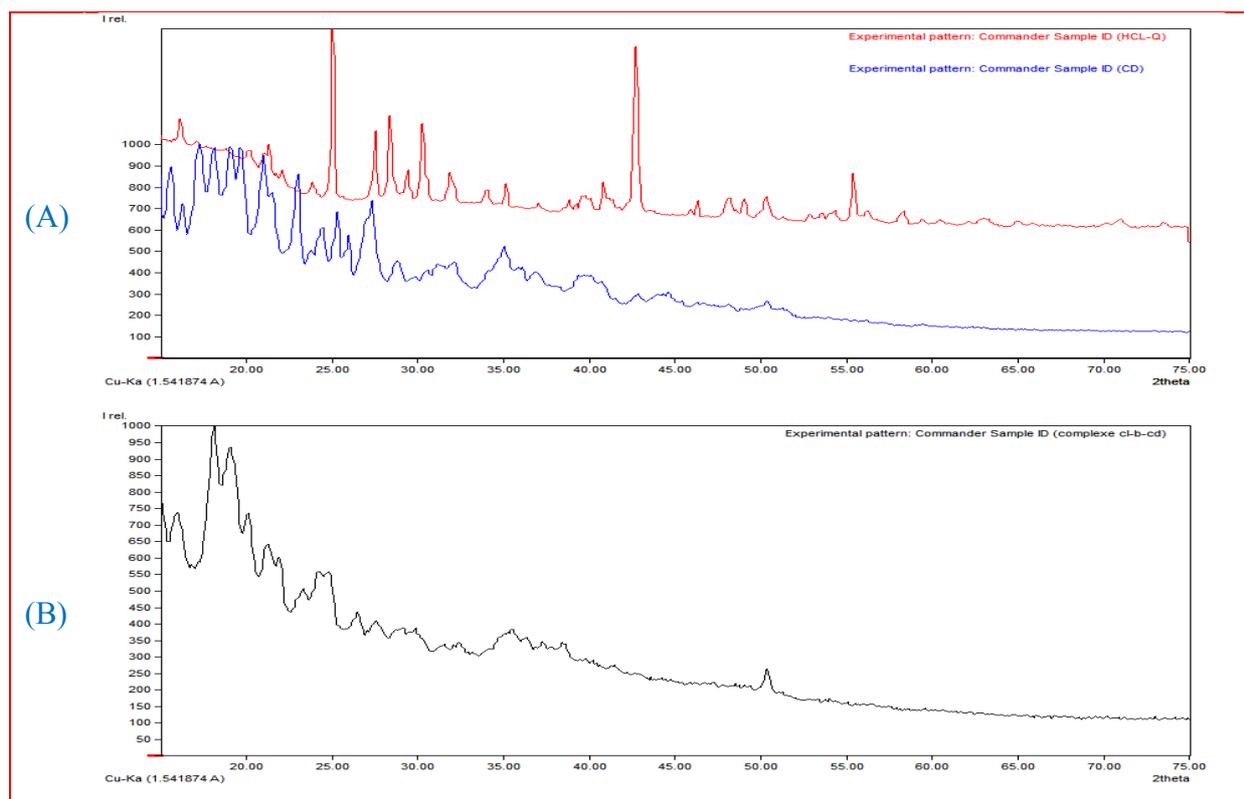
Dans le cas du complexe 1 :1 nitronne/ β -cyclodextrine l'encapsulation de la molécule invitée ce fait d'un seul côté. Les résultats de l'analyse infrarouge nous permettent de stipuler que, c'est la partie C-p-substituant phényle de chaque nitronne qui reste à l'extérieur du tore.

III.1.2.2 Analyse de la structure par diffractions des rayons X sur poudre :

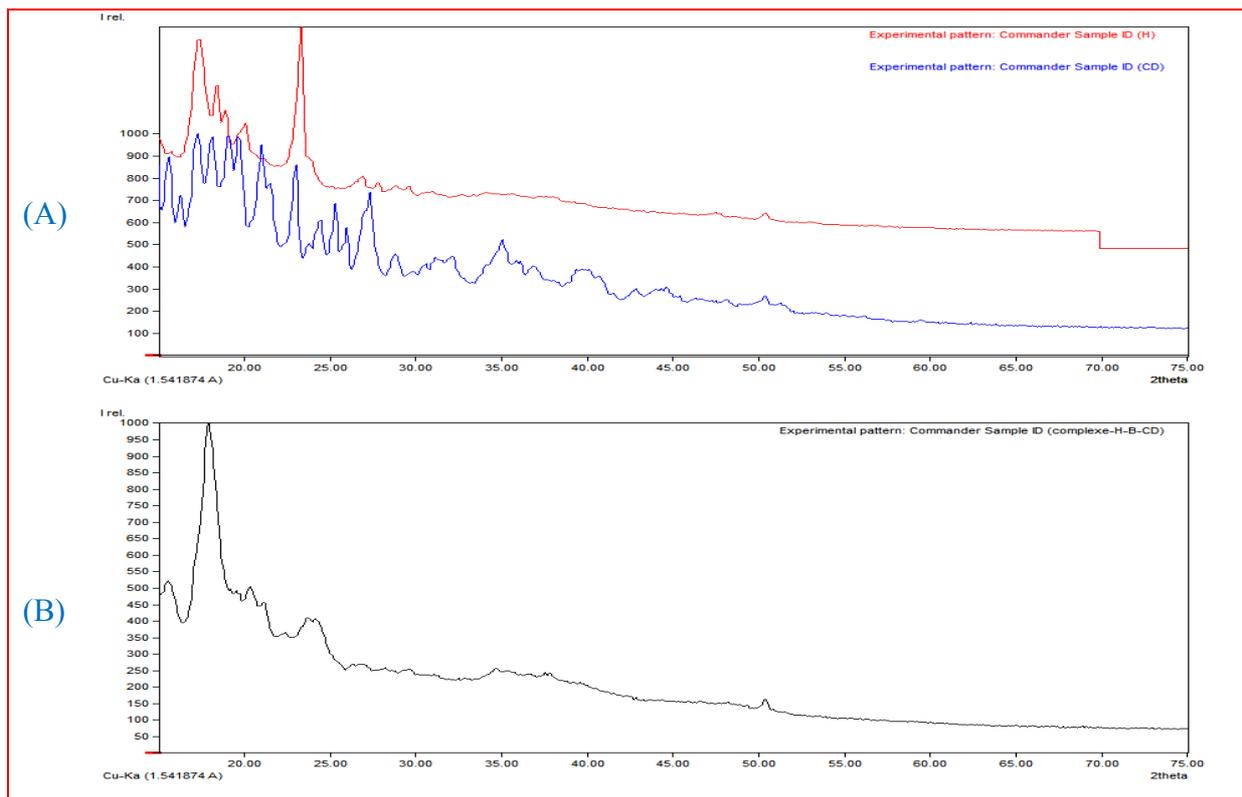
L'analyse par DRX permet de détecter les changements dans le réseau cristallin lors de la complexation,

La diffraction des rayons X sur poudre peut être utilisée pour détecter la complexation d'inclusion à l'état solide. Le schéma de diffraction d'un véritable complexe d'inclusion sera différent de celui des Composants purs [52]. Dans le cas de la complexation avec les cyclodextrines, Le diffractogramme d'une substance réellement incluse est clairement différent de celui de la cyclodextrine non complexée. Nous observons généralement, une disparition ou une diminution des pics caractéristique de l'invité reflétant la perte de cristallinité associée à son inclusion dans la CD [53-55].

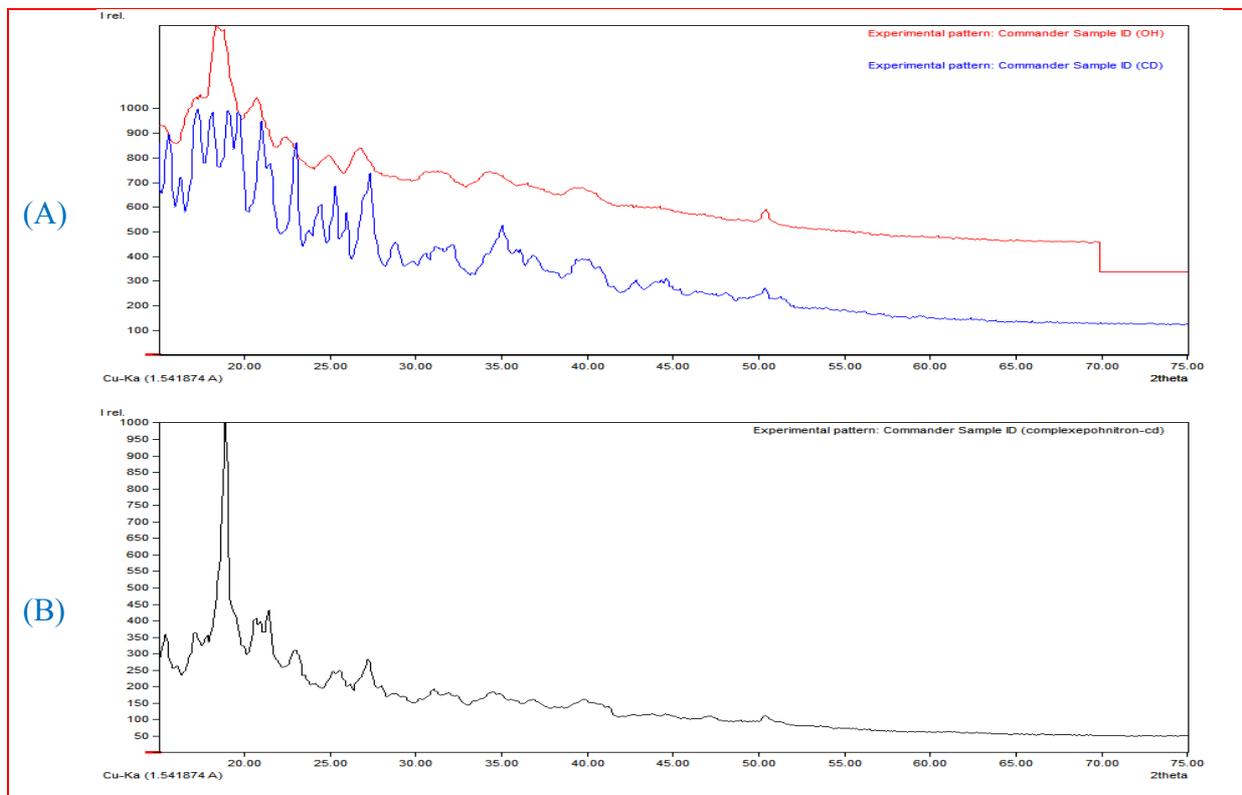
Dans notre travail et dans le but de caractériser les complexes d'insertion synthétisés, nous avons réalisé une diffraction des rayons X (DRX) sur les nitrones, la β -cyclodextrine et les complexes préparés. Les diffractogrammes obtenus sont donnés dans les figures x à z.



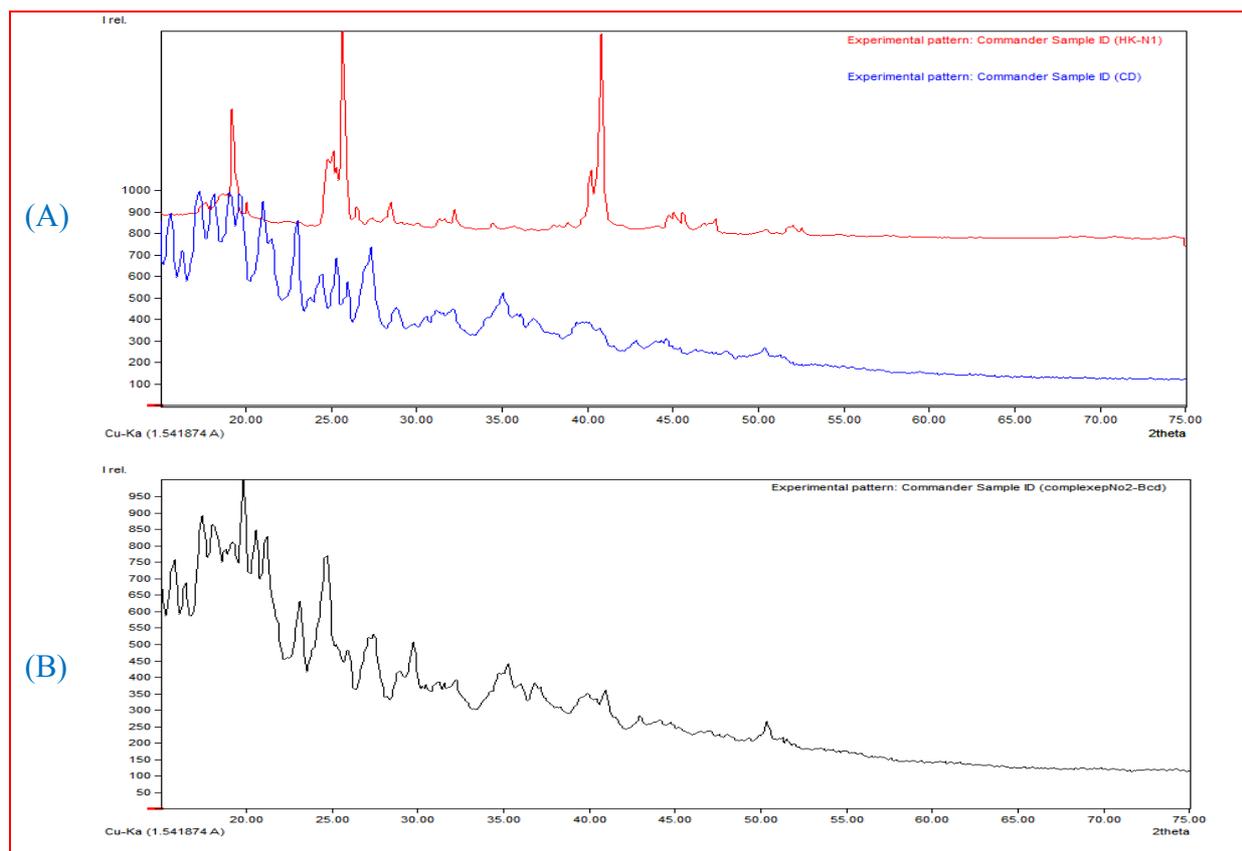
Figure(47): Diffractogramme de la nitrone (chloré) en rouge et celui de la β -cyclodextrine en bleu en (A) et celui du complexe en (B)



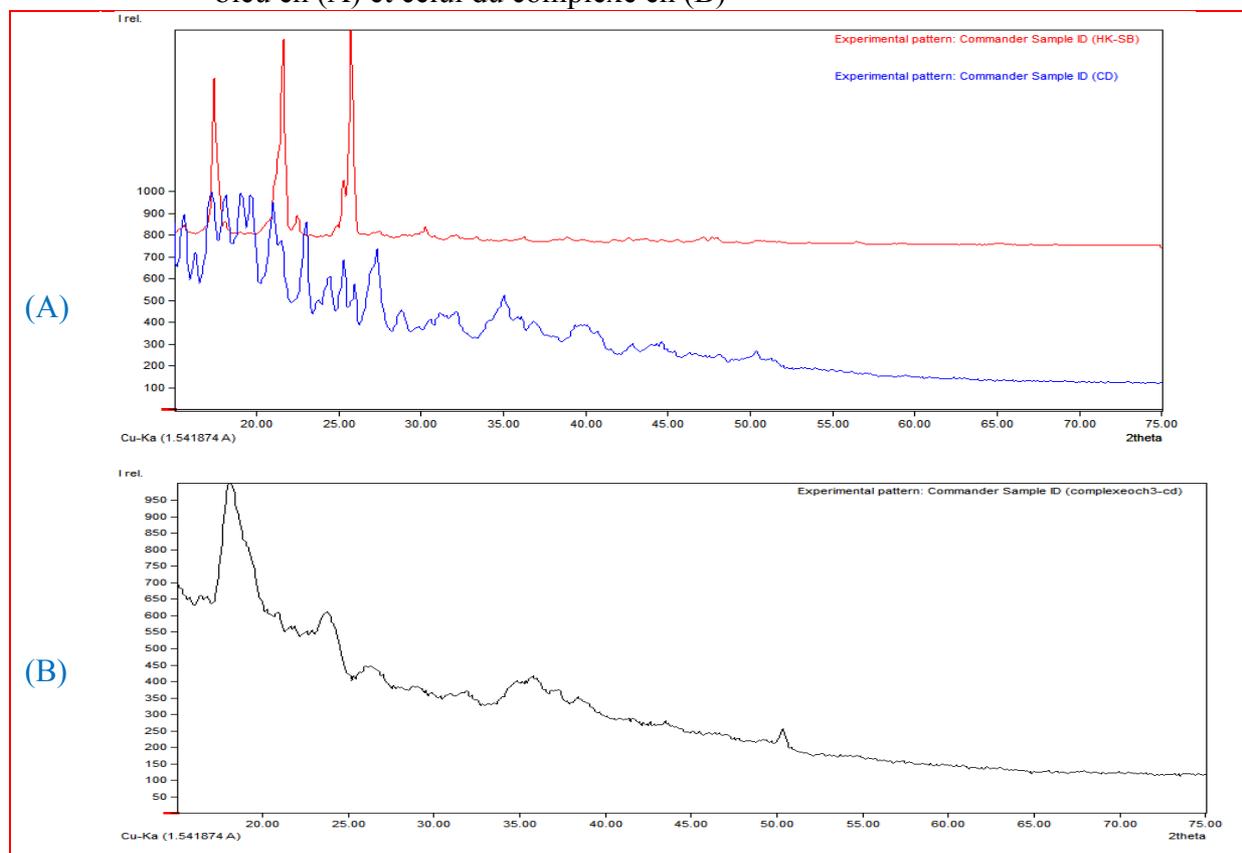
Figure(48): Diffractogramme de la nitrone (Hydrogyne) en rouge et celui de la β -cyclodextrine en bleu en (A) et celui du complexe en (B)



Figure(49): Diffractogramme de la nitrone (Hydroxylé) en rouge et celui de la β -cyclodextrine en bleu en (A) et celui du complexe en (B)



Figure(50):Diffractogramme de la nitro (nitro) en rouge et celui de la β -cyclodextrine en bleu en (A) et celui du complexe en (B)



Figure(51):Diffractogramme de la nitro (méthoxy) en rouge et celui de la β -cyclodextrine en bleu en (A) et celui du complexe en (B)

En comparant le diffractogrammes des complexes (nitroène / β -cyclodextrine) [Complexe 1/2], avec ceux des nitroènes purs et celui de la β -cyclodextrine, nous remarquons des différences dans les valeurs de 2θ .

En effet, Le diffractogramme de la β -cyclodextrine a montré des pics caractéristiques entre $2\theta = 12.3^\circ$, 21.8° et 27.4° [51]. Ces dernières ne sont pas présentes dans le diffractogramme du complexe.

Pour les nitroènes N1, N2, N3, N4 et N5, Leurs diffractogrammes ont montré des pics caractéristiques à 2θ regroupé dans les tableaux n° 5.

Tableau N5 : Valeurs à 2θ des nitroènes purs.

Nitroène	les valeurs à 2θ
N1	17,62 -19,23 - 25,64 -40,79
N2	16,17 - 25,05 - 27,53 -28,40 - 42,75
N3	19,15 - 24,11
N4	15,66 - 17,41 -21,63 – 25,71
N5	18,53 – 20,80 - 26,66

Pour les complexes d'inclusions, Leurs diffractogrammes ont montré des pics caractéristiques à 2θ regroupé dans les tableaux n° 6.

Tableau n°6 : Valeurs à 2θ des complexes nitroènes/ β -CD.

Complexe	à 2θ
N1/ β -CD.	15,80 -17,4 -18,06 -19,88 -20,61-21,12 -23,16 -24,62 -27,46 -29,86
N2/ β -CD.	15,95 -18,13 -19,15 -21,19
N3/ β -CD.	15 ,58 -17,99 -23,67 -24,32.
N4/ β -CD.	18,21 – 23,74
N5/ β -CD.	15,44 -18,86 -21,41 -27,24

On remarque que certain des pics sont disparus et de nouveaux pics sont apparus. Toutes ces différences entre les diffractogrammes peuvent être attribué à l'insertion des résidus aromatiques de la nitroène dans la cavité du CD[51]. Les intensités de certains pics sont également améliorées, confirmant ainsi la formation des complexes.

A partir de ses diffractogrammes nous avons mesurés la taille des cristaux, le taux de cristallinité ainsi que les valeurs de LMH. Les résultats obtenus sont regroupé dans le tableau N 7.

Tableau 7 : Valeurs de LMH, Taux de cristallinité, taille des cristaux de la β -CD, des nitrones et des différents complexes.

		LMH	Taille (A°)	Cristallinité(%)
NO2	CD	0.521	171.4	92.3
	Nitrone	0.244	370.6	90.9
	Complexe	0.294	304.5	93.2
Cl	CD	0.521	171.4	92.3
	Nitrone	0.274	344.9	81.9
	Complexe	0.506	176.5	88.8
H	CD	0.521	171.4	92.3
	Nitrone	0.536	168.4	92
	Complexe	0.986	90.6	86.7
OCH3	CD	0.521	171.4	92.3
	Nitrone	0.245	370.0	95.1
	Complexe	1.427	62.7	81.4
OH	CD	0.521	171.4	92.3
	Nitrone			
	Complexe	0.421	212.7	87.5

En se basant sur les résultats de l'analyse DRX regroupés dans le tableau n°7 on remarque qu'il ya une différence entre les valeurs de 2θ des produits purs avec ceux des complexes correspondants.

Pour la nitrone [N1], la cristallinité et la taille des cristaux du complexe sont plus élevées que dans le cas des molécules séparées. Alors que, Dans le cas de [N3], [N4], la taille et le taux de cristallinité diminuent légèrement donc ces composés sont plus au moins amorphes.

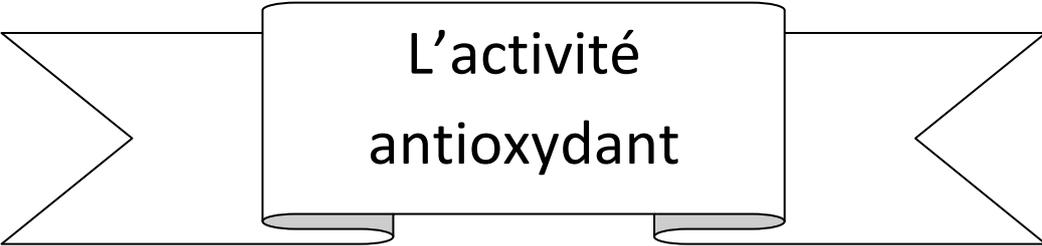
Si nous comparons les nitrones [N5] et [N2], la taille des cristaux augmente, mais la cristallinité diminue légèrement, donc elles sont plus amorphes. Ceci indique que les complexes d'inclusion obtenus n'étaient pas de nature cristalline mais plutôt d'une amorphisation semi cristalline

Conclusion :

Dans ce chapitre, nous avons synthétisé les complexes d'inclusions nitrone/ β -CD avec des rendements faibles. Cela a été attribué aux faibles interactions qui régit entre les nitrones et les cyclodextrines.

La caractérisation de ces complexes à été réalisés par la spectrophotométrie de vibrations FT-IR et par diffraction de rayon X.

L'analyse par FT-IR, nous a permis l'identification des piques des fonctions caractéristiques des nitrones et β -CD dans le spectre du complexe, donc confirmation de la formation du complexe. L'analyse par DRx nous a permis la confirmation de la formation des complexes la β -cyclodextrine/nitrone.



L'activité
antioxydant

III.2.1 Activité antioxydant des nitrones et leur complexes :

Dans le but d'évaluer l'activité antioxydante des nitrones aromatiques et de voir l'effet de leur encapsulation sur cette activité, nous avons utilisé trois tests chimiques, chacun de ces tests correspond à un des trois mécanismes de réaction qui sont :

- Mécanisme de réaction SET « simple transfert d'électron » réalisé par la méthode « frapferrireducing antioxydant »
- Mécanisme de réaction HAT « transfert d'atome d'hydrogène réalisé par la méthode de β -carotène »
- Mécanisme de réaction HHAT et SET à la fois réalisé par la méthode « 1,1-diphényl-2-picrylhydrazule » (DPPH)

III.2.1.1 Méthode de piégeage du radical libre 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

III.2.1.2 Principe :

La capacité de donation des protons ou des électrons par la nitronne et leur complexe est mise en évidence par une méthode spectrophotométrie. Cette méthode est basée sur la réduction du radical DPPH (1,1-Diphényl-2-picrylhydrazyl) qui possède un électron non apparié sur un atome du pont d'azote (Figure 52). Du fait de cette délocalisation, les molécules du radical ne forment pas des dimères et le DPPH reste dans sa forme monomère relativement stable à température ambiante. Cette délocalisation donne également lieu à la couleur violet foncé, caractérisé par une absorbance dans une solution DMSO centré à environ 517 nm [56] .

Quand une solution de DPPH est mélangée avec une substance antioxydant qui peut céder un atome d'hydrogène ou un électron, cela donne lieu à la forme réduite DP.

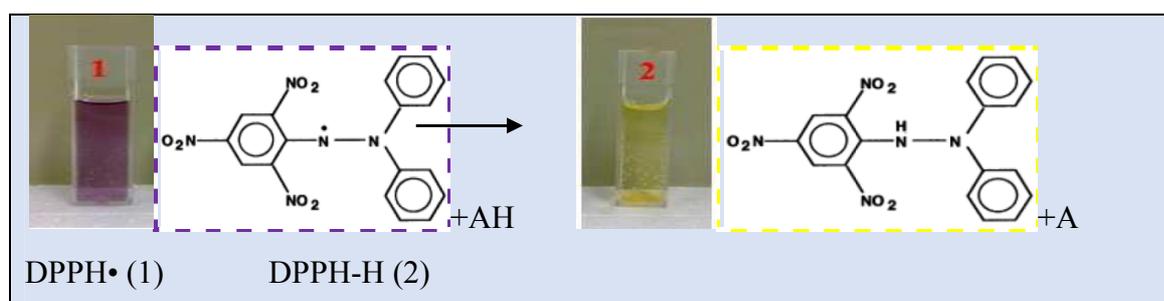


Figure 52: réaction de réduction d'un radical DPPH en présence d'un antioxydant [54].

Le teste de piégeage du radical libre DPPH sur les nitrones et leurs complexes correspondants est réalisé à une seule concertation $5 \cdot 10^{-3}$ mol/l. les résultats obtenus sont donnée dans le tableau 8 et représentés sur l'histogramme de la figure 53 :

Tableau 8: taux de l'activité antioxydant DPPH des nitrones et leurs complexes 1/1 et 1/2.

Nitrones et complexes		Abs	Activité %
No2	Nitronne	0,539225	3,19120287
	comp1/1	0,509125	8,5951526
	Comp1/2	0,4682	15,9425494
cl	Nitronne	0,5075	8,88689408
	comp1/1	0,5752	x
	comp1/2	0,50455	9,41651706
H	Nitronne	0,53255	4,38958707
	Comp1/1	0,513625	7,78725314
	comp1/2	0,4676	16,0502693
OCH3	Nitronne	0,5198	6,67863555
	comp1/1	0,31015	44,3177738
	comp1/2	0,5149	7,55834829
OH	Nitronne	0,418475	24,8698384
	comp1/1	0,3416	38,6714542
	comp1/2	0,33245	40,3141831
BHT	BHT	0,30616667	45,0329144
BHA	BHA	0,43786667	21,3883902
β -CD	β -CD	0,53395	4,13824057
PBN	PBN	0,5104	8,36624776

x : Formation de trouble.

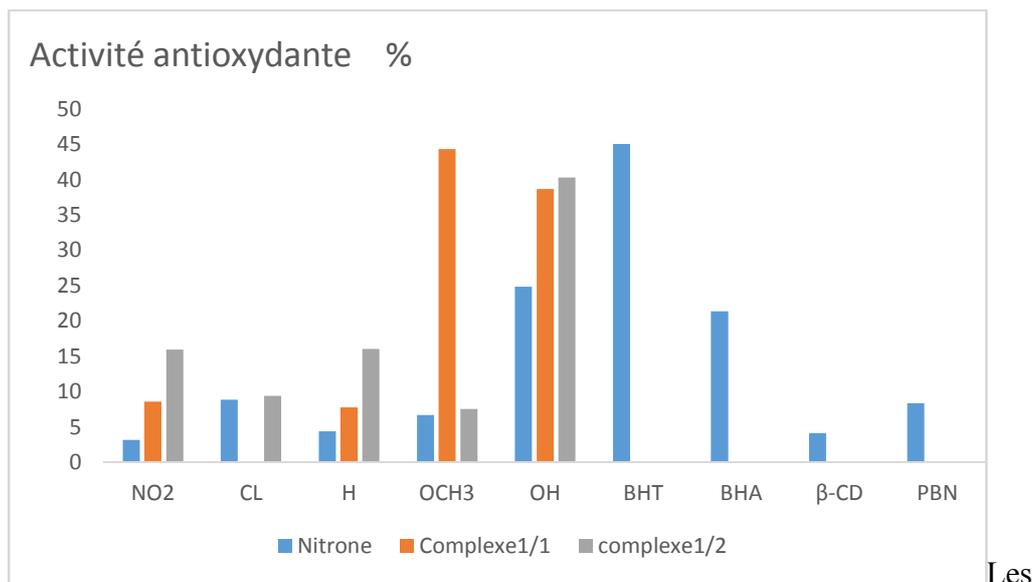


Figure 53 : Histogramme de l'activité antioxydante des nitrones et celle des complexes 1/1 et 1/2 correspondante par la méthode DPPH.

Les résultats montrent que l'activité de piégeage du radical libre DPPH varie d'une nitronne à une autre selon le substituant porté par l'aryle de la nitronne. Le classement de cette activité selon la substitution est comme suit : la nitronne hydroxylée (24,86), chlorée (8,88), méthoxylée (6,67), diphénylée (4,38) et nitrée (3,19). Ces valeurs sont intéressantes, puisqu'elles sont meilleures que celles de la PBN (utilisé comme antioxydant de référence de la même famille).

D'autre part, l'activité de ces nitrones est inférieure à celle de BHA(21,38) (utilisé comme antioxydant phénolique de référence (figure 53)), sauf dans le cas de la nitronne hydroxylée qui présente une meilleure activité (24,86%), cela est dus à son double action de piégeur. La première action est due à la présence de la fonction nitronne qui réagit avec le radical libre par l'intermédiaire du carbone situé en position α de l'atome d'azote, ce qui conduit à la formation d'un adduit de spin de type nitroxyde. L'atome d'hydrogène qui se trouve à deux liaisons du groupement nitroxyde est nommé hydrogène β (Figure54).

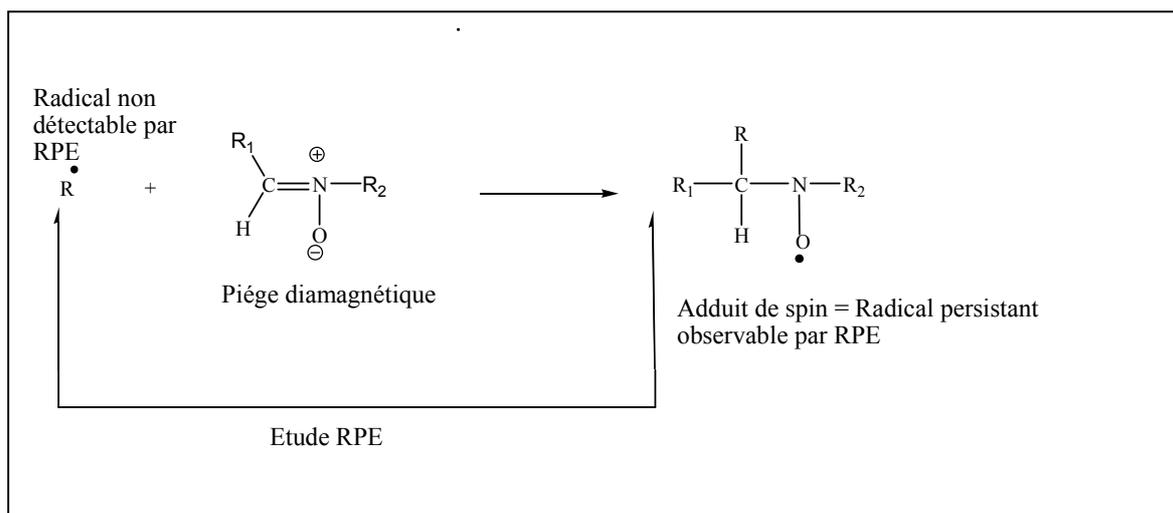


Figure 54 : Principe de la technique de piégeage de spin par une nitron

La deuxième action est due à la présence de la fonction phénol. Les composés phénoliques connus par leurs fortes activités à piéger les radicaux libres selon le mécanisme présenté par la figure (55).

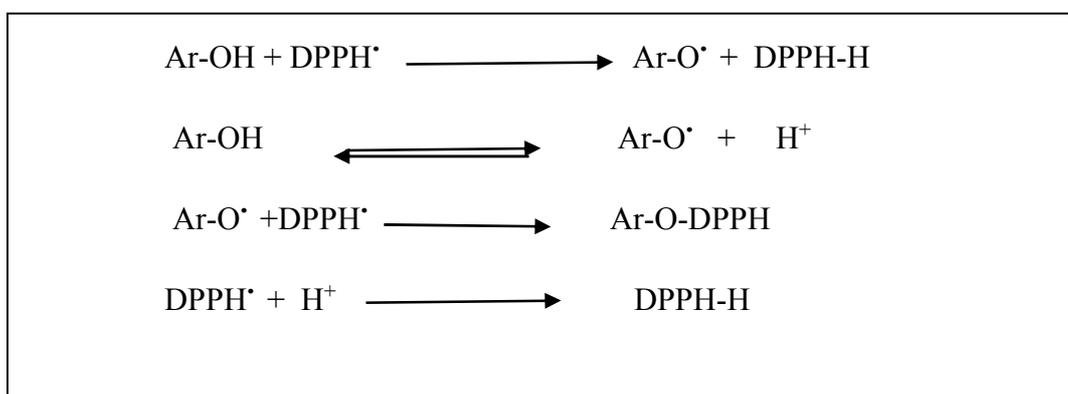


Figure (55) : mécanisme expliquant l'activité anti radicalaire des phénols

Les produits de cette réaction sont la forme réduite (RH) du radical DPPH, et le radical $\text{ArO} \cdot$ (Forme oxydée). Bien que cette réaction donne naissance à un autre radical libre, celui-ci est moins réactif.

La figure 55 montre aussi l'intérêt majeur de l'insertion des nitrones dans la cavité de la β -cyclodextrine. En effet, l'activité des complexes est augmentée comparé à celle des

nitrones libres. Cette augmentation n'est pas due à l'activité de la β -cyclodextrine, puisque cette dernière ne présente qu'une activité faible de 4,13. Cela peut être attribué au fait que ces complexants ont permis d'augmenter la solubilité des nitrones et par conséquent leur contact avec le radical libre DPPH.

On note aussi, que les complexes 1/2 présentent une meilleure activité que les complexes 1/1 dans le cas de la nitrone nitrée, diphénylée et hydroxylée. Cela peut être expliqué par le fait que la fonction nitrone est plus accessible dans le cas du complexe 1/2 comme on l'a stipulé dans l'étude des complexes par IR. La nitrone méthoxylée reste l'exception à cette règle.

III.2.2 Méthode de β -carotène

III.2.2.1 Principe :

Cette méthode se base sur la décoloration de la B-carotène résultant de son oxydation par les produits de décomposition de l'acide linoléique. La dispersion de l'acide linoléique et du β -carotène dans la phase aqueuse est assurée par du tween 40. L'addition d'antioxydant induit un retard de la cinétique de la décoloration du β -carotène. Cette méthode est sensible, Rapide et simple s'agissant d'une mesure spectrophotométrie dans le visible. La couleur jaune si elle persiste, indique la présence de substances antioxydants.

Cette méthode a été appliquée sur les nitrones et les complexes d'inclusion avec un suivi de perte de la couleur du β -carotène pendant 48 heures. Ce suivi est estimé par la mesure de l'absorbance des échantillons par spectrophotomètre UV-vis à une longueur d'onde de 490 nm. Les résultats obtenus sont donnés dans le tableau 9 et représentés sur l'histogramme de la figure n°56 :

Tableau 9 : Absorbances et activités des solutions des nitrones et leurs complexes 1/1 et 1/2 donnés par la méthode β -carotène à 490nm.

Nitrones et complexes		Abs	Activité %
No2	Nitron	0,2350	10,51
	comp1/1	0,3166	14,17
	comp1/2	0,3305	14,79
CL	Nitron	0,2868	12,83
	comp1/1	0,3762	16,84
	comp1/2	0,4801	21,49
OH	Nitron	0,2586	11,57
	comp1/1	0,3444	15,41
	comp1/2	0,4124	18,45
OCH3	Nitron	0,2935	13,13
	comp1/1	0,3720	16,65
	comp1/2	0,3161	14,15
H	Nitron	0,3777	16,90
	comp1/1	0,3700	16,56
	comp1/2	0,3883	17,37
Références	β -CD	0,1743	7,801
	BHA	0,1884	8,43
	BHT	2,2342	100

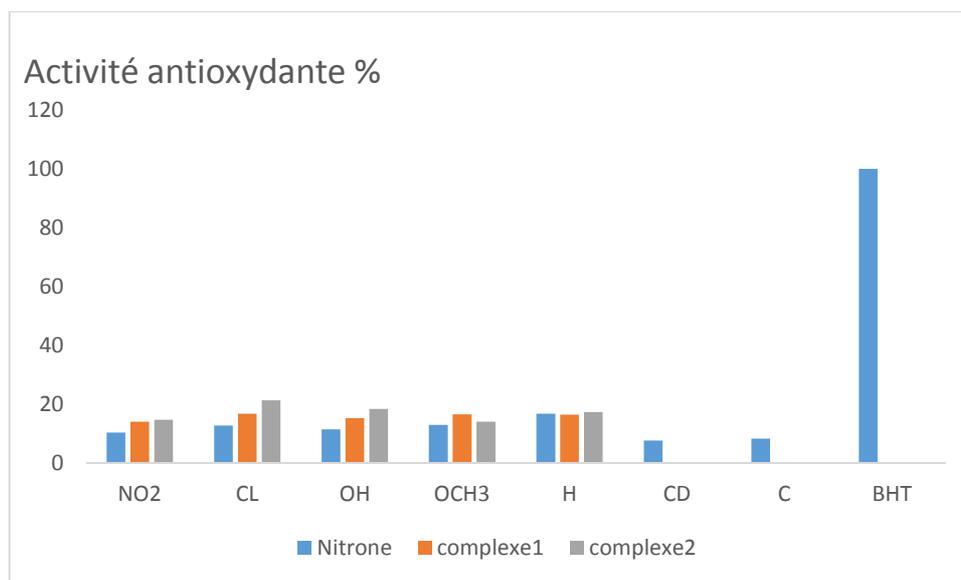


Figure 56 : Histogramme de la variation de l'activité des nitrones et leurs complexes d'inclusions correspondants par la méthode β -carotène

La figure n° 56 montre que les résultats du test par la méthode β -carotène confirment ceux obtenus par la méthode DPPH. On remarque que les complexes présentent une meilleure activité par rapport aux nitrones. Cela affirme que ces derniers sont de bons donneurs de protons et que l'insertion dans la cavité du cyclodextrine améliore leur solubilité dans l'émulsion aqueuse.

III.2.3 La méthode FRAP

III.2.3.1 Principe :

Cette méthode élaborée par « Oyaizu, a 1986 » [57] basée sur la réduction du fer ferrique Fe^{3+} présent dans le complexe ferrocyanure de potassium $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ en fer ferreux Fe^{2+} . La réaction est révélée par le virement de la couleur jaune du fer ferrique en couleur bleu vert du fer ferreux. Par conséquent, Fe^{2+} peut être évalué en mesurant et en surveillant l'augmentation de la densité de la couleur bleu dans le milieu réactionnel à 700 nm correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des antioxydants testés. Les résultats du test FRAP des nitrones et leurs complexes sont donnés dans le tableau N10 et représentés dans la figure n°57 :

Tableau 10 : Absorbances à 700 nm des solutions des nitrones et leurs complexes donnés lors du test FRAP.

Nitrones, complexes 1 et 2		Abs
No2	Nitronne	0,3064
	comp1/1	1,4180
	comp1/2	1,3170
CL	Nitronne	0,7741
	comp1/1	1,1577
	com1/2	0,9877
OH	Nitronne	1,0041
	comp1/1	1,4436
	comp12	2,1811
OCH3	Nitronne	1,4833
	Comp1/1	0,7365
	comp1/2	0,5206
H	Nitronne	0,6727
	comp1/1	1,0621
	comp1/2	1,0266

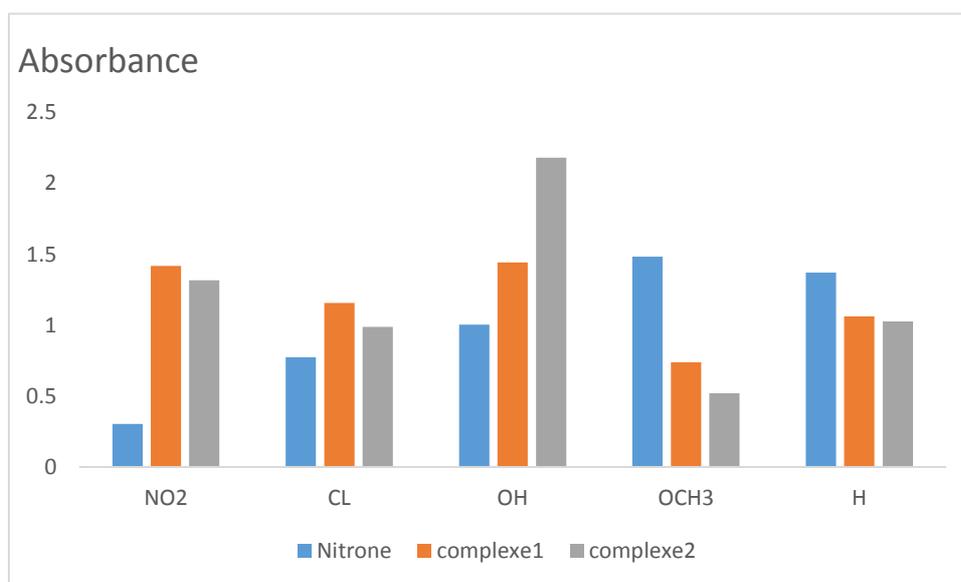


Figure 57: Histogramme des l'absorbances des nitrones et leurs complexes lors du test FRAP.

Les résultats illustrés dans la figure n°57 nous permettent de conclure ce qui suit :

- Le complexe 1/1 des nitrones nitrée et chlorée présentent une meilleure activité que celles des nitrones et des complexes 1/2 correspondants.
- pouvoir réducteur des nitrones méthoxylée et diphénylée est meilleure que celui des complexes 1/1 et 1/2 correspondant.
- Le complexe 1/2 de la nitrone hydroxylée a un pouvoir réducteur meilleur que la nitrone et le complexe 1/2.

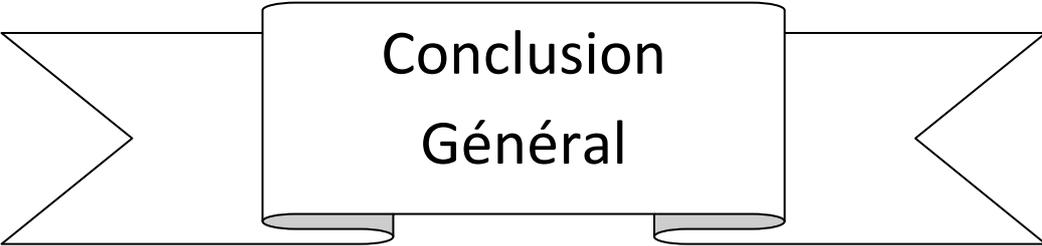
Cela nous permet de conclure que le pouvoir réducteur des nitrone ne dépend pas uniquement de la solubilité des nitrones.

III.2.4 Conclusion :

L'évaluation de l'activité antioxydante des nitrones et leurs complexes d'insertion avec la β -cyclodextrine a été réalisé par trois tests chimiques : la méthode FRAP « ferric reducing antioxydant » ; la méthode de β -carotène ; la méthode du piégeage du radical libre « 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyle ».

Les résultats des testes par les deux premières méthodes ont montré que l'activité antioxydant des nitrones est amélioré par l'amélioration de leur solubilité.

La méthode FRAP, qui repose sur le mécanisme de Transfer d'électron, a montré que l'activité antioxydant des nitrones ne dépend pas uniquement du phénomène de solubilité.



Conclusion
Général

Conclusion Générale

Le travail présenté dans ce mémoire est consacré à la préparation d'un complexe d'inclusion nitrone/ β -cyclodextrine, caractérisation et leurs activités antioxydantes .

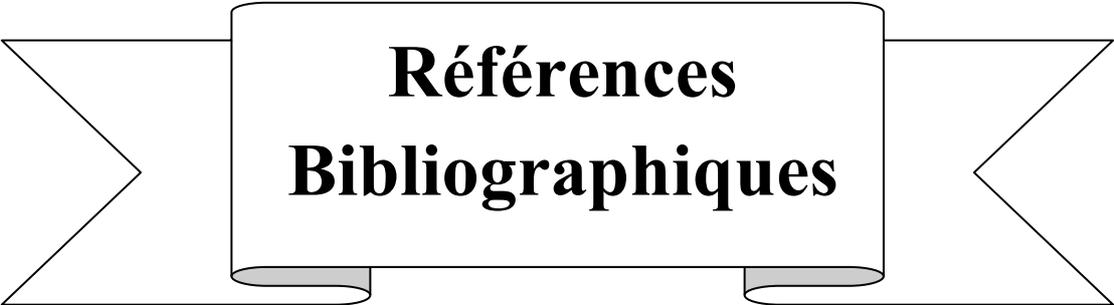
Nous avons préparé des complexes d'inclusions à partir la β -cyclodextrine et une série de nitrones C-aryl-N-phénylnitronne. Les rendements obtenus sont faibles. Cela a été attribué aux faibles interactions qui régi entre les nitrones et les cyclodextrines.

La caractérisation de ces complexes à été réalisés par la spectrophotométrie de vibrations FT-IR et par diffraction de rayon X.

L'analyse par FT-IR, nous a permis l'identification des pics des fonctions caractéristiques des nitrones et β -CD dans le spectre du complexe, donc confirmation de la formation du complexe. L'absence de changements remarquables dans les fréquences du complexe 1/2 prouvent l'insertion des deux noyaux aryles à l'intérieur deux cavités CD alors que, la fonction nitronne reste libre. Dans le cas du complexe nitronne/ β -cyclodextrine 1 :1, l'encapsulation de la molécule invitée ce fait d'un seul côté. Ces résultats, nous permettent de stipuler que, c'est la partie C-p-substituant phényle de chaque nitronne qui reste à l'extérieur du tore.

L'analyse par diffraction des rayons X *DRX* qu'on a réaliser sur la β -cyclodextrine ,les nitronne et les complexes nitrones/ β -cyclodextrine montre que la β -cyclodextrine est cristalline alors que les complexes d'inclusion représentent une diminution de la cristallinité par rapport à la la β -cyclodextrine , donc il y a un chengement au niveau de la cristallinité. Cela représente une preuve de l'encapsulation.

L'évaluation de l'activité antioxydante des nitrones et leurs complexes d'insertion avec la β -cyclodextrine a été réalisé par trois tests chimiques : la méthode FRAP « ferric reducing antioxydant » ; la méthode de β -carotène ; la méthode du piégeage du radical libre « 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyle ». Les résultats des testes par les deux premières méthodes ont montré que l'activité antioxydant des nitrones est amélioré par l'amélioration de leur solubilité. La méthode FRAP, qui repose sur le mécanisme de Transfer d'électron, a montré que l'activité antioxydant des nitrones ne dépend pas uniquement du phénomène de solubilité.



**Références
Bibliographiques**

-
- [1] K. S. Kumar, J. Kaushik, and V. Sowjanya, "Pharmacophore," vol. 1, no. 3, pp. 155–165, (2010).
- [2] Siham BENHADI "Mémoire de Magister "Greffage de cyclodextrines modifiées par traitement Corona sur matériaux celluloses "Université Henri Poincaré Nancy, (2010).
- [3] C. Marcopoulos, Mémoire de MaGISTER " Insertion de cyclodextrines amphiphiles dans des membranes lipidiques" Université de strasbourg, (2011).
- [4] R. JACQUET, Mémoire de Fin de Cycle "Cyclodextrines hydrophiles : caractérisation et étude de leurs propriétés énanti sélective et complexante. | -UNIV-ORLEANS; (2006).
- [5] M. V Bonnet, "Thèse de doctorat « Préparation , caractérisation physicochimique et évaluation des propriétés biologiques de complexes d ' inclusion à base de cyclodextrines : applications à des prince» L' Université du Littoral – Cote d' Opale et l'Université Libanaise (2015).
- [6] R. JACQUET, Mémoire de Fin de Cycle "Cyclodextrines hydrophiles : caractérisation et étude de leurs propriétés énanti sélective et complexante UNIV-ORLEANS ; (2006).
- [7] W. L. Hinze, "Applications of cyclodextrins in chromatographic separations and purification methods", J .Michigan State vol. 10, no. 2. (1981).
- [8] N. Azaroual, thèse de Doctorat "Etude par RMN des complexes d'inclusion avec des cyclodextrines natives et polymérisées," (2006).
- [9] J. Szejtli, "Introduction and General Overview of Cyclodextrin Chemistry," Chem. Rev., vol. 98, no. 5, pp. 1743–1754, (1998).
- [10] R. Ketrane, H. Belkacemi, S. Fatmi, and Y. Amrani, "Mémoire de Fin de Cycle « Optimisation et caractérisation des complexes d'inclusion vitamine E / cyclodextrine." Université A. MIRA – BEJAIA, (2016).
- [11] R. Challa, A. Ahuja, J. Ali, and R. K. Khar, "Cyclodextrins in drug delivery: An updated review," AAPS Pharm Sci Tech, vol. 6, no. 2, pp. E329–E357, (2005).
- [12] M. C. Sharma and S. Sharma, "Formulation and Spectroscopic Studies and Dissolution Behavior of Levofloxacin- β Cyclodextrins Inclusion Complex," Int.J. PharmTech Res., vol. 3, no. 3, pp. 1883–1888, (2011).
- [13] C. Bisson-Boutelliez, "Desulfovibrio spp. dans la maladie parodontale : Interactions avec les cellules épithéliales KB et activité de l'amoxicilline libre ou complexée sur ses formes extracellulaires et intracellulaires.," pp. 187, (2018).
- [14] AGUENIOU Fazi, DJEMAA Noria ; Mémoire de Master ; " Etude des complexes d'inclusion : CD/vit E et leurs applications sur la congélation du sperme aviaire"

- Université A. MIRA – BEJAIA (2012).
- [15] M. Sauceau, E. Rodier, and J. Fages, "Preparation of inclusion complex of piroxicam with cyclodextrin by using supercritical carbon dioxide," *J. Supercrit. Fluids*, vol. 47, no. 2, pp. 326–332, (2008).
- [16] M. S. A. Khan, "Solid dispersions: Formulation, characterisation, permeability and genomic evaluation," Aston University no. March, (2010).
- [17] T. Loftsson and D. Duchêne, "Cyclodextrins and their pharmaceutical applications," *Int. J. Pharm.*, vol. 329, no. 1–2, pp. 1–11, (2007).
- [18] R. Singh, N. Bharti, and J. Madan, "Characterization of Cyclodextrin Inclusion Complexes – A Review," *J. Journal*, vol. 2, no. 3, pp. 171–183, (2010).
- [19] S. Charumanee and S. Okonoki, "Improvement of the dissolution rate of piroxicam by surface solid dispersion," *C. J.*, vol. 3, no. February, pp. 77–84, (2004).
- [20] L. Szente and J. Szejtli, "Cyclodextrins as food ingredients," *Trends Food Sci. Technol.*, vol. 15, no. 3–4, pp. 137–142, (2004).
- [21] F. Marc *et al.*, "Évaluation Du Potentiel Antioxydant Dans Les Aliments," journal; vol. 20, no. December, pp. 458–463, (2012).
- [22] G. Astray, C. Gonzalez-Barreiro, J. C. Mejuto, R. Rial-Otero, and J. Simal-Gándara, "A review on the use of cyclodextrins in foods," *Food Hydrocoll.*, vol. 23, no. 7, pp. 1631–1640, (2009).
- [23] Z. Li *et al.*, " γ -Cyclodextrin: A review on enzymatic production and applications," *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, vol. 77, no. 2, pp. 245–255, (2007).
- [24] Julie ROUTIER; these de Doctorat; "Réactivité des noyaux indoliques vis à vis des nitrones alpha-chirales "Université Joseph Fourier Grenoble, (2009).
- [25] J. A. N. Hamer and A. Macaluso, "les nitrones " journal, february 24, (1964).
- [26] C. Petrocchi, these de Doctorat "Synthèse de nouvelles nitrones β -phosphorylées (PPNs) dérivées de la PBN et leurs analogues vectorisés pour le ciblage mitochondrial," Institut de Chimie Radicalaire– Université d'Aix-Marseille, (2015).
- [27] M. Michalak *et al.*, "Synthesis Of N,4-Diaryl Substituted β -Lactams Via Kinugasa Cycloaddition/Rearrangement Reaction," *Tetrahedron*, vol. 68, no. 52, pp. 10806–10817, (2012).
- [28] Y. Yen and F. Wang, "Organic Preparations and Procedures International : The New *Journal for Organic Synthesis*, no. February 2012, pp. 5–8, (2009).
- [29] S. Murahashi, H. Mitsui, T. Shiota, T. Tsuda, and S. Watanabe, "Tungstate-Catalyzed Oxidation of Secondary Amines to Nitrones. α -Substitution of Secondary Amines via Nitrones " no. d, pp. 1736–1744, (1990).

- [30] Black, D. S.; Edwards, G. L.; Evans, R. H.; Keller, P. A.; Laaman, S. M. " Synthèse de nouvelles nitrones β -phosphorylées (PPNs) dérivées de la PBN et leurs analogues vectorisés pour le ciblage mitochondrial Tetrahedron, 56, 1889–1897, (2000).
- [31] Huie, R.; Cherry, W. R. Synergistic bacterial compositions and methods of production and use thereof *J. Org. Chem.* 50, 1531–1532, (1985).
- [32] G. P. Novelli, P. Angiolini, R. Tani, G. Consales, and L. Bordi, "Phenyl-*t*-butylnitronone is active against traumatic shock in rats," *Free Radic. Res.*, vol. 1, no. 5, pp. 321–327, (1986).
- [33] C. N. Oliver, P. E. Starke-Reed, E. R. Stadtman, G. J. Lidt, J. M. Carneyt, and R. A. Activity, "And Production Of Free Radicals During Ischemia/ Reperfusion-Induced Injury gerbil brain," *Neurobiology*, vol. 87, no. July, pp. 5144–5147, (1990).
- [34] C. Clough-helfman and J. W. Phillis, "The free radical trapping agent *n*-tert.-butyl- α -phenylnitronone (PBN) attenuates cerebral ischaemic injury in gerbils," *Free Radic. Res.*, vol. 15, no. 3, pp. 177–186, (1991).
- [35] L. D. Fechter, S. F. L. Klis, N. A. Shirwany, T. G. Moore, and D. B. Rao, "Acrylonitrile Produces Transient Cochlear Function Loss And Potentiates Permanent Noise-Induced Hearing Loss," *Toxicol. Sci.*, vol. 75, no. 1, pp. 117–123, (2003).
- [36] P. Evans and B. Halliwell, "Free radicals and hearing. Cause, consequence, and criteria" *Ann. New York Acad. Sci.*, pp. 19–40, (2004).
- [37] L. D. Fechter, Y. Liu, and T. A. Pearce, "Cochlear protection from carbon monoxide exposure by free radical blockers in the guinea pig," *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, vol. 142, no. 1, pp. 47–55, (1997).
- [38] D. Rao and L. D. Fechter, "Protective effects of phenyl-*N*-tert-butyl nitronone on the potentiation of noise-induced hearing loss by carbon monoxide," *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, vol. 167, no. 2, pp. 125–131, (2000).
- [39] I. Ranchon, S. Chen, K. Alvarez, and R. E. Anderson, "Systemic administration of phenyl-*n*-tert-butyl nitronone protects the retina from light damage," *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.*, vol. 42, no. 6, pp. 1375–1379, (2001).
- [40] I. Ranchon, M. M. LaVail, Y. Kotake, and R. E. Anderson, "Free radical trap phenyl-*N*-tert-butyl nitronone protects against light damage but does not rescue P23H and S334ter rhodopsin transgenic rats from inherited retinal degeneration," *J. Neurosci.*, vol. 23, no. 14, pp. 6050–6057, (2003).
- [41] T. Tabatabaie, Y. Kotake, G. Wallis, J. M. Jacob, and R. A. Floyd, "Spin trapping agent phenyl *N*-tert-butyl nitronone protects against the onset of drug-induced insulin-dependent diabetes mellitus," *FEBS Lett.*, vol. 407, no. 2, pp. 148–152, (1997).
- [42] A. JOTTI, L. PARACCHINI, G. PERLETTI and F. PICCININI "cardiotoxicity induced by doxorubicin in vivo" *J Pharmacological Research.*, vol. 26, no. 2, pp. 5–6, (1992).

- [43] P. G. Wells, T. Parman, and M. J. Wiley, "Free Radical-Mediated Oxidative DNA Damage in the mechanism of thalidomide teratogenicity" *Nat. Med.*, vol. 5, no. 5, pp. 582–585, (1999).
- [44] J. M. Carney *et al.*, "Reversal of age-related increase in brain protein oxidation, decrease in enzyme activity, and loss in temporal and spatial memory by chronic administration of the spin-trapping compound N-tert-butyl-alpha-phenylnitronone.", *Proc. Natl. Acad. Sci.*, vol. 88, no. 9, pp. 3633–3636, (1991).
- [45] Candice A. Sack, Debra J. Socci, Blane M. Crandall, Gary W. "Antioxidant treatment with phenyl-a-tert-butyl nitronone (PBN) " *Neuroscience Letters*, 181- 184; (1996).
- [46] Kieko Saito, Hisashi Yoshioka Et Richard G.Cutler "A Spin Trap, N-Tert-Butyl-alpha-phenylnitronone Extends the life Span Of Mice " *BioSci.Biotechnol.Biochem*, 62 (4) ,792-794, (1998).
- [47] H. Atamna, C. Robinson, R. Ingersoll, H. Elliott, and B. N. Ames, "N-t-Butyl hydroxylamine is an antioxidant that reverses age-related changes in mitochondria in vivo and in vitro.," *FASEB J.*, vol. 15, no. 12, pp. 2196–204, (2001).
- [48] Pulido, R ;Bravo, L ;Saura-Calixto ,F. "Antioxydant activity of dietary polyphenols as determined by modified Ferric Reducing/antioxidant power Assay" *J Agric Food Chem*,48 (8), pp: 3396-3402; (2000).
- [49] Moure ,A ;France,D ;Sineiro ,J ;Dom nugz ,H ;N, , Lema, J.M. (2000).
- [50] Ayala-zavala, JF « Microencapsulation of cinnamon leaf (*Cinnamomum zeylanicum*) and garlic (*Allium sativum*) oils in β -cyclodextrine" *J.Incl.phenom.macro*.603; pp. 359-368; (2008).
- [51] V. Ramamoorthy, A. Ramasubbu, S. Muthusubramanian, and S. Sivasubramanian, "Inclusion of α -phenyl-N-p-methylphenyl nitronone in β -cyclodextrin: Formation of 1G : 1H and 1G : 2H complexes and the remarkably fast 1,3-dipolar cycloaddition of the 1G : 2H complex with olefins in the solid state," *J. Incl. Phenom.*, vol. 33, no. 1, pp. 69–80, (1999).
- [52] M. Ceborska, M. Asztemborska, R. Luboradzki, and J. Lipkowski, "Interactions with cyclodextrin as a way for encapsulation and separation of camphene and fenchene," *Carbohydr. Polym.*, vol. 91, no. 1, pp. 110–114, 2013.
- [53] W. Saenger: *Angew. Cyclodextrin Inclusion Compounds in Research and Industry* Chem. Intl. Ed. Engl. 19, 344 (1980).
- [54] S. Baboota, M. Dhaliwal, K. Kohli and J. Ali. "Inclusion complexation of Rofecoxib with dimethyl Beta-cyclodextrin". *Indian J. Pharm. Sci.* 67(2): 226-229; (2005).
- [55] B.P. Rao, S. Sarasija and C. Narendra. "Physicochemical characterization of Hydroxypropyl- β -cyclodextrin complexes of Rifampicin for improved anti-tubercular

- activity and stability”. J. Indian Drugs. 43(8):679-682; (2006).
- [56] M. E. Cuvelier and C. Berset, “Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity,” vol. 30, pp. 25–30, (1995).
- [57] Oyaizu- the japanese journal of nutrition and dietetics 44(6) ,p307-315 , 1986



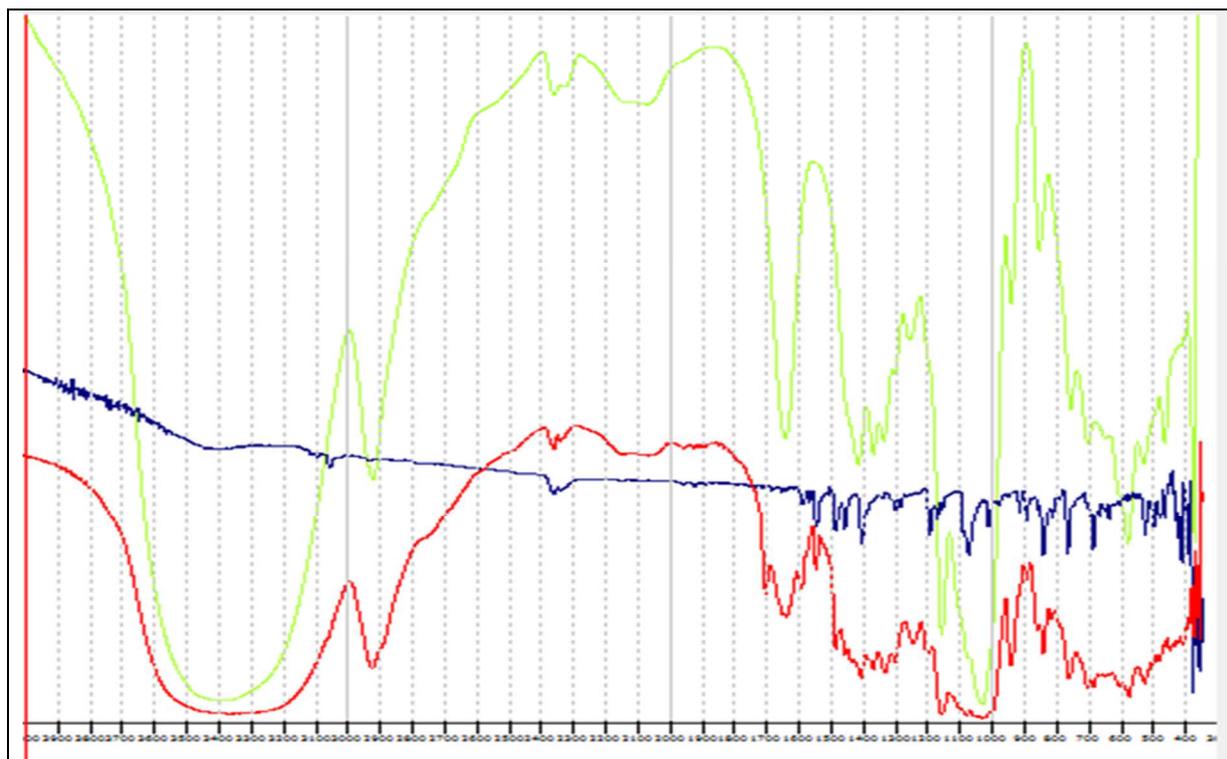


Figure A1 : Superposition des spectres FT-IR du complexe β -CD/N2 en rouge, de la nitrone N2 en bleu et de la β -CD en vert.

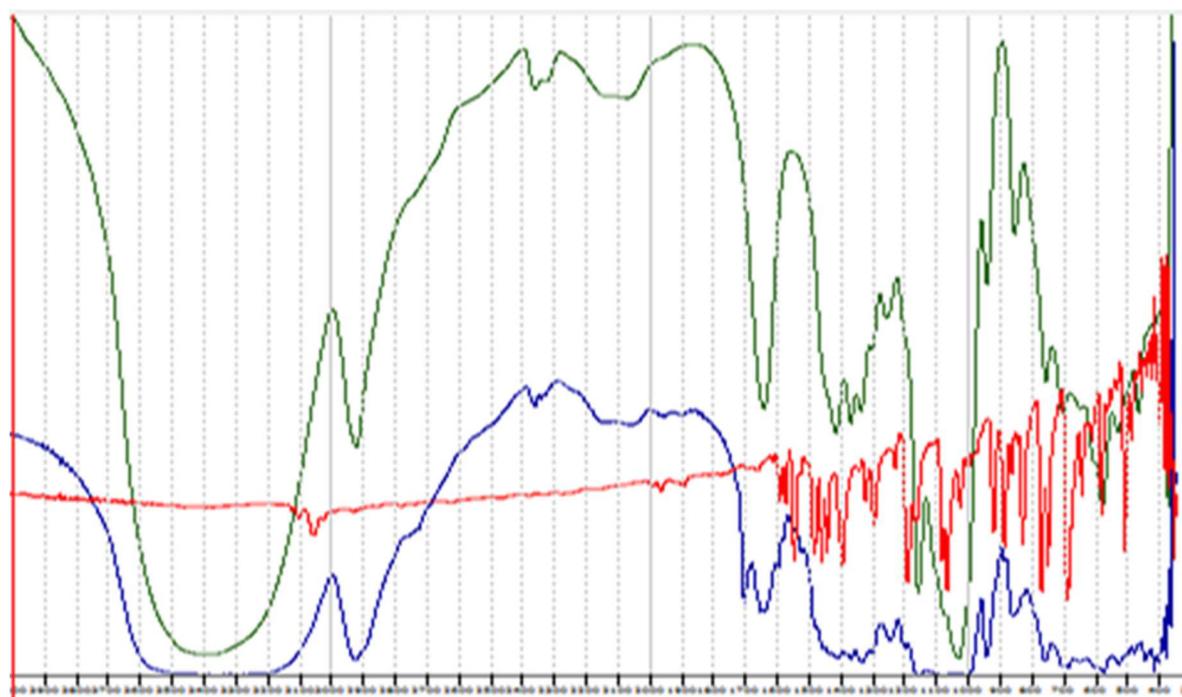


Figure A2 : Superposition des spectres FT-IR du complexe β -CD/N3 en rouge, de la nitrone N3 en bleu et de la β -CD en vert.

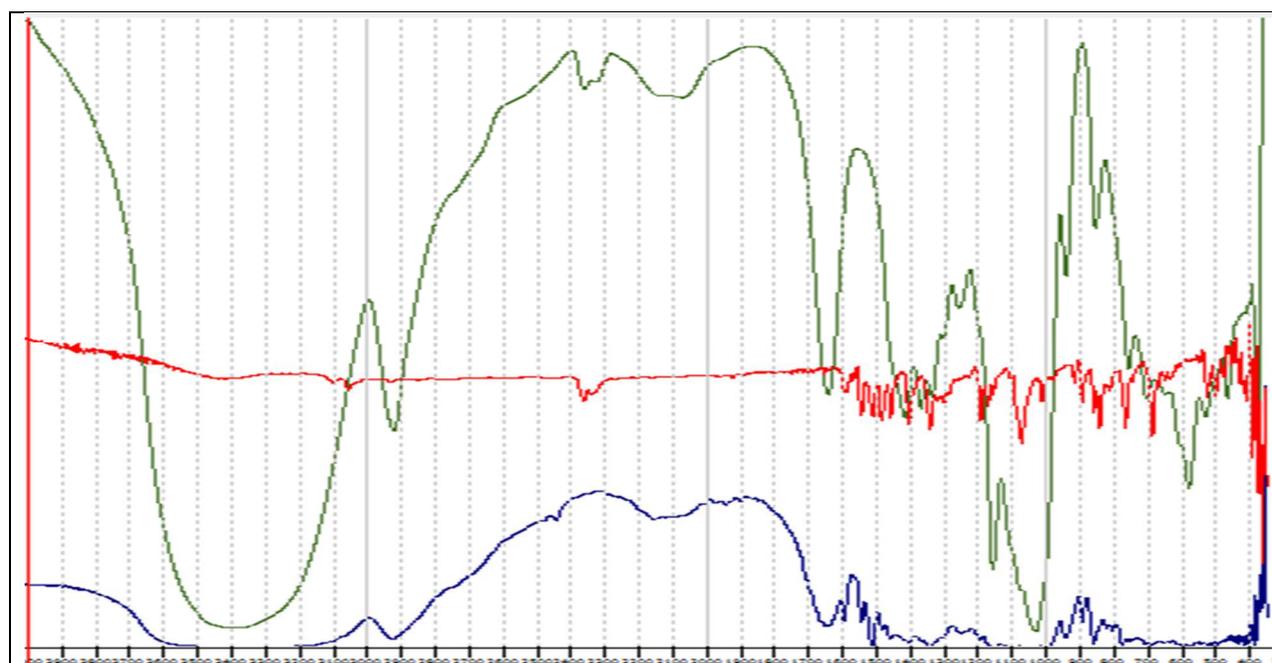


Figure A3 : Superposition des spectres FT-IR du complexe β -CD/N1 en rouge, de la nitrone N1 en bleu et de la β -CD en vert.

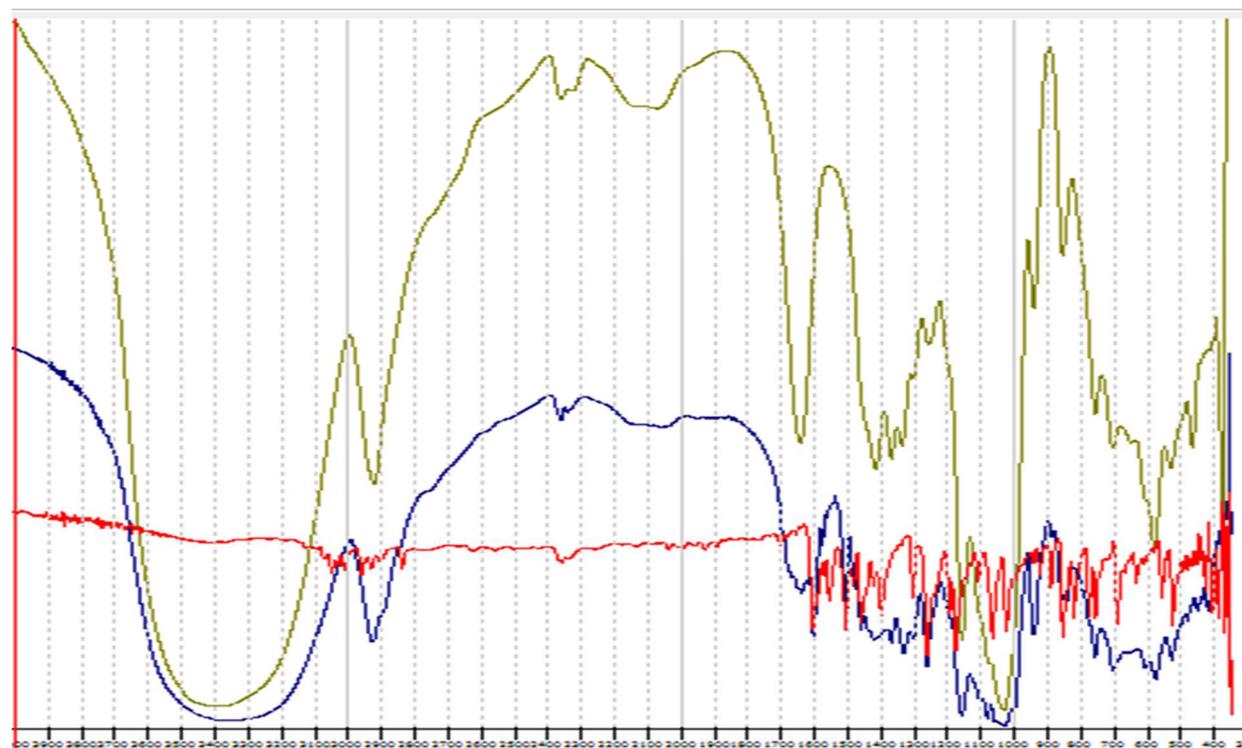


Figure A2 : Superposition des spectres FT-IR du complexe β -CD/N4 en rouge, de la nitrone N4 en bleu et de la β -CD en vert.

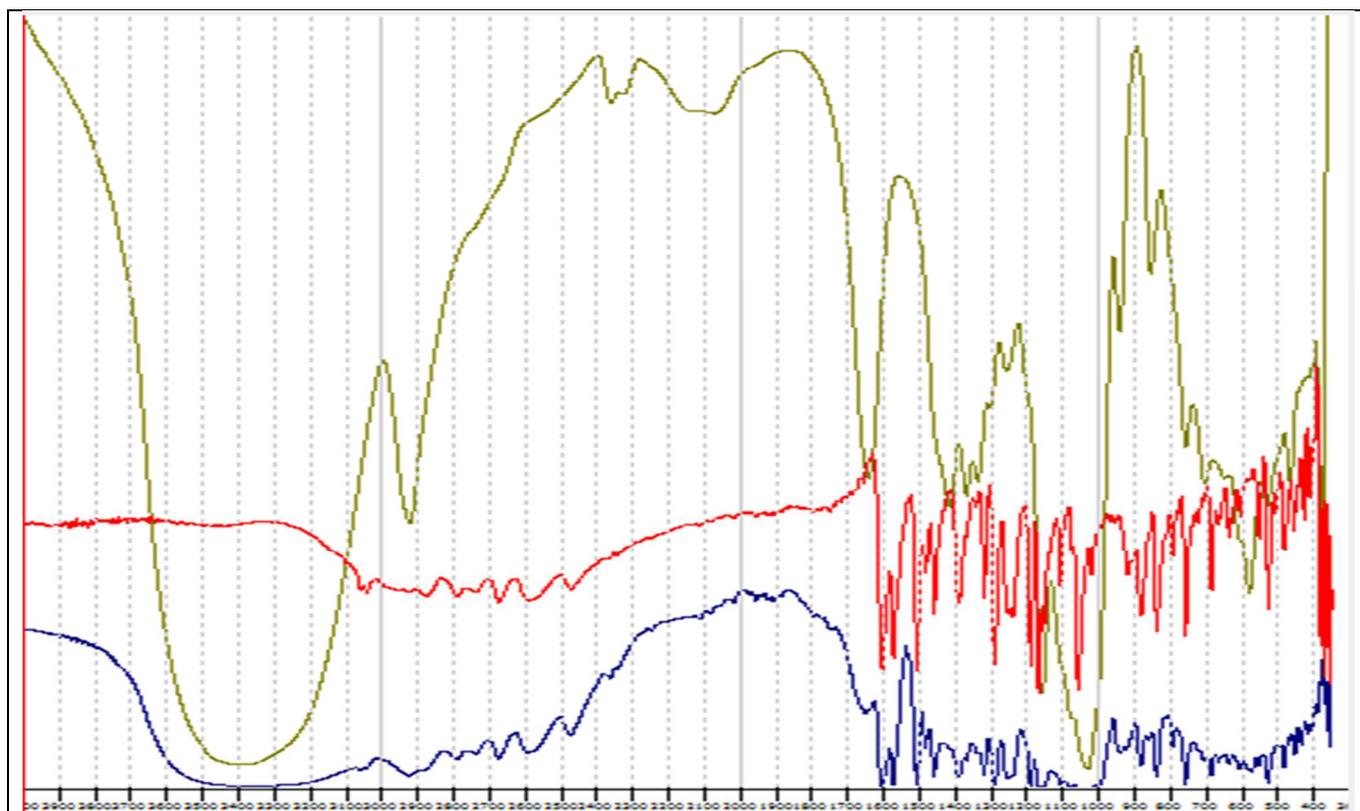


Figure A2 : Superposition des spectres FT-IR du complexe β -CD/N5 en rouge, de la nitrone N5 en bleu et de la β -CD en vert.