

LA REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE SAAD DAHLAB DE BLIDA  
FACULTE DES SCIENCES  
DEPARTEMENT DE CHIMIE



## MEMOIRE

Pour l'obtention du diplôme de Master en chimie  
Option : chimie moléculaire des complexes métalliques

**Synthèse et caractérisation de nouveaux vecteurs hybrides  
à base de la beta-cyclodextrine, l'Hydroxyapatite et le  
Chitosane / 5, 10, 15, 20(4-hydroxyphenyl)porphyrine  
Pour le traitement du cancer par la thérapie  
photodynamique PDT**

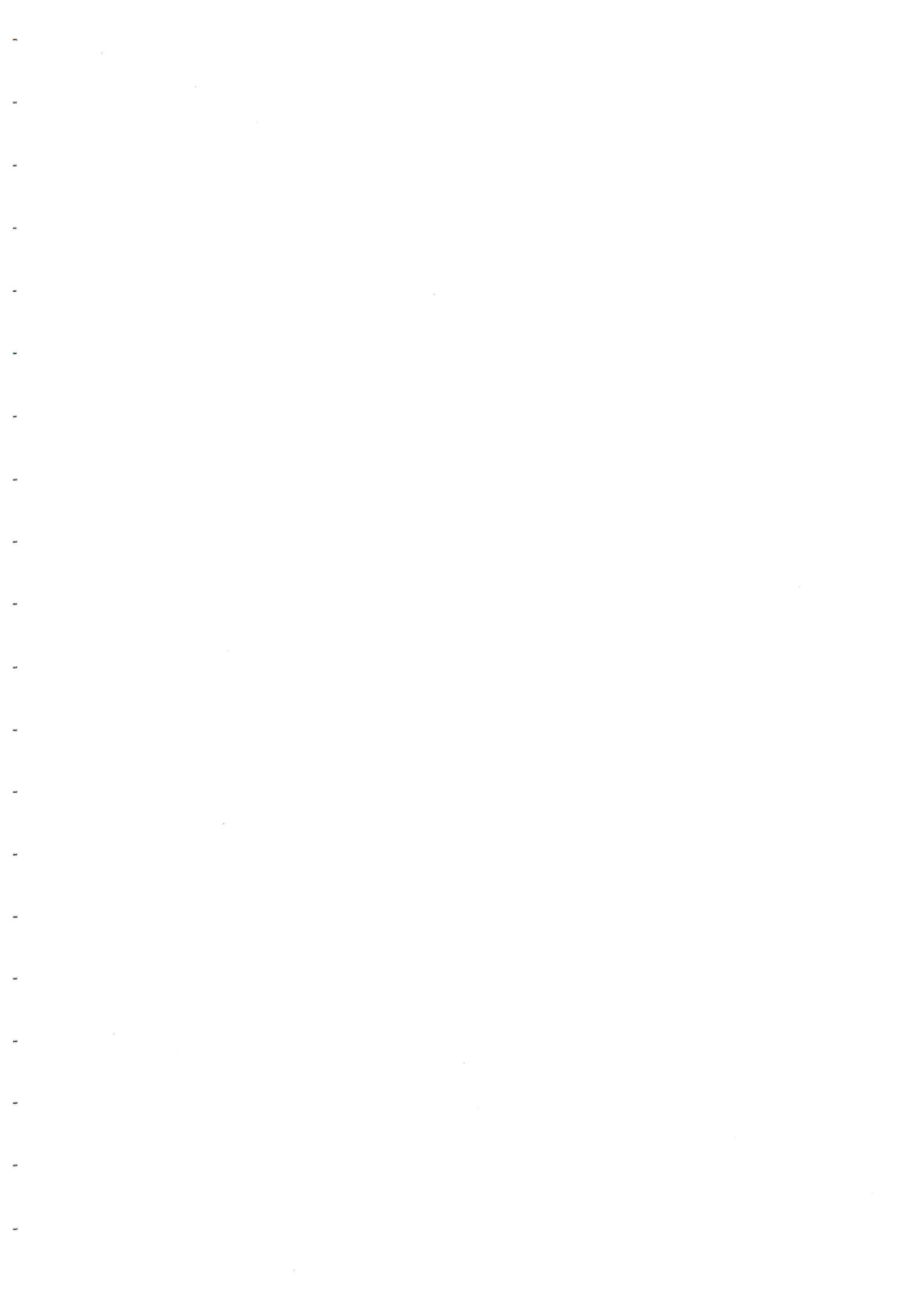
*Présenté par : Ben Mihoub Amina*

*Soutenue le 14/10/2010, devant le jury composé de :*

<i>Mr R. BELAL</i>	<i>Professeur</i>	<i>Président</i>
<i>Mr A. BOULAHOUACHE</i>	<i>Chargé de cours</i>	<i>Examineur</i>
<i>Mr K. BAL</i>	<i>Professeur</i>	<i>Responsable de la thèse</i>

*Laboratoire de Chimie-Physique organique*

2010



## Remerciement

---

### REMERCIEMENT :

En premier lieu, je remercie ALLAH le tout puissant qui me fait de chaque jours des merveilles.

J'exprime toute ma gratitude à Monsieur le Professeur K.BAL, pour l'effort fourni, les conseils prodigués, sa patience et sa persévérance dans le suivi.

J'adresse également mes remerciements, à tous mes enseignants, qui m'ont donnée les bases de la science,

Je remercie très sincèrement, les membres de jury Mr A.Boulahouache et le Professeur R.Bellal d'avoir bien voulu accepter de faire partie de la commission d'examineurs,

Je tiens à remercier aussi l'ensemble du personnel Du centre de recherches nucléaires d'Alger CRNA et le centre de recherches nucléaires de Draria CRND.

Je remercie du fond de cœur mes très chers parents pour leurs soutiens durant tout mon parcours d'études ainsi mes sœurs et mes frères.

Je remercie Mme F.Mezienne, Mlle L.Ouzeri et Dr S.Yahiaoui pour leur aide, disponibilité, soutien et la confiance qui m'ont fait pour la réalisation de ce modeste travail.

Mes vifs remerciements adressés à tous mes amis en particulier : Ibrahim, Mohamed, Karima, Soraya, Sarah, Karim, Asmae, Hanifa, Walid, Hamza, Kawthar, Redha, Ghanou, Yasmine K, Rafik ...

A toute personne qui a participé de près ou de loin pour l'accomplissement de ce modeste travail.

# SOMMAIRE

---

## SOMMAIRE

<b>Introduction générale</b>	<b>1</b>
<b>Chapitre I :Etude bibliographique</b>	
Etude bibliographique	4
Bibliographie	19
<b>Chapitre II : Synthèse et caractérisation des complexes supramoléculaires THPP :<math>\beta</math>-CD</b>	
II-1- Introduction	21
II-2- Caractérisation du photosensibilisateur THPP à base libre	21
II-2-A) Aspect physique	21
II-2-B) Etude spectroscopique	21
II-3- Synthèse et caractérisation du complexe d'inclusion THPP : $\beta$ -CD	23
II-3-1 Caractérisation du complexe supramoléculaire THPP : $\beta$ -CD	23
II-3-2 Conclusion de la synthèse	25
II-4- Synthèse et caractérisation du complexe d'inclusion M-THPP : $\beta$ -CD	26
II-4-1 Synthèse et caractérisation de la Fe(III)-THPP et Ni(II)-THPP	26
II-4-1-A) Synthèse de la Fe(III)-THPP et Ni(II)-THPP	26
II-4-1-B) Caractérisation de la Fe(III)-THPP et Ni(II)-THPP	27
II-4-1-B)1. Aspect physique	27
II-4-1-B)2. Caractérisation spectroscopique	27
II-4-2 Synthèse et caractérisation des complexes d'inclusion M-THPP: $\beta$ -CD	29
II-4-2-A)Synthèse des complexes d'inclusion M-THPP: $\beta$ -CD	29
II-4-2-B) Caractérisation des complexes d'inclusion M-THPP: $\beta$ -CD	29
II-4-2-C) Conclusion	33
Bibliographie	34
<b>Chapitre III : Synthèse et Caractérisation des microparticules HAP:<math>\beta</math>-CD :THPP biomimétiquement</b>	

## SOMMAIRE

---

III-1 Introduction	35
III-2 Synthèse de l'hydroxyapatite dans le SBF	35
III-2-A)préparation du liquide physiologique simulé (SBF)	35
III-2-B)Protocole de synthèse de l'HAP	36
III-2-C Caractérisation de l'hydroxyapatite	37
III-2-C-1 Aspect physique	37
III-2-C-2 Caractérisation structural	37
III-3 Encapsulation de THPP:β-CD par HAP par voie biomimétique	41
III-3-1 Caractérisation des micro/nanoparticules d'HAP.β-CD :THPP	43
III-3-1-A) Aspect physique	43
III-3-1-B) Caractérisation structural	43
III-3-1 Conclusion	46
Bibliographie	47
<b>Chapitre IV : Synthèse et caractérisation des nanoparticules de CS.β-CD :THPP/TPPS</b>	
IV-1Synthèse et caractérisation des nanoparticules de CS/TPPS	48
IV-1-1 Synthèse des nanoparticules de CS/TPPS	48
IV-1-2 Caractérisation des nanoparticules de CS/TPPS	49
IV-1-2-a) Aspect physique	49
IV-1-2-b) Caractérisation spectroscopique	50
IV-2 Synthèse et caractérisation des nanoparticules de CS.β-CD :THPP/TPPS	51
IV-2-1 Synthèse des nanoparticules de CS.β-CD :THPP/TPPS	51
IV-2-2Caractérisation des nanoparticules de CS.β-CD :THPP/TPPS	51
IV-2-2-a) Aspect physique	51
IV-2-2-b) Caractérisationspectroscopique	52
IV-3 Conclusion	54
Bibliographie	55
<b>Conclusion générale</b>	<b>56</b>
<b>Annexe</b>	<b>57</b>

## Liste des illustrations

### Listes des figures

- Fig. I.1:** Mécanisme photochimique de la PDT. P.4
- Fig. I.2:** Structure de la porphyrine, la plus simple des porphyrines. P.5
- Fig. I.3:** Complexation d'un noyau porphyrine avec un métal. P.5
- Fig. I.4:** Spectre UV-visible caractéristique d'une porphyrine base libre : la H2TTP (dans CHCl<sub>3</sub>). P.6
- Fig. I.5 :** Profil des bandes Q pour les quatre principaux types de spectres d'absorption de porphyrines bases libres. P.7
- Fig. I.6 :** Bandes Q de spectre d'absorption d'octaéthylporphyrines métallées par : (a) Ni(II) ; (b) Zn(II) ; (c) Cd(II). P.7
- Fig. I.7 :** Principe de la technique MALDI. P.8
- Fig. I.8 :** Spectre RMN 1H de la porphine dans CDCl<sub>3</sub> P.8
- Fig. I.9:** Synthèse de la THPP P.9
- Fig. I.10:** Spectre UV-vis de la THPP dans le THF.  $\lambda_{max}(\log \epsilon)$ : 418.96 (4.92); 514.99(3.65); 550.38(3.43); 593.20(3.25); 650.55(3.25) P.10
- Fig. I.11 :** Spectre H-RMN de la THPP P.11
- Fig. I.12 :** Spectre FT-IR de la THPP dans du KBr P.11
- Fig. I.13 :** Spectre d'émission de la THPP P.12
- Fig. I.14 :** structure de micro/nanoparticules P.12
- Fig. I.15:** Structure générale des cyclodextrines P.13
- Fig. I.16:** Structures tridimensionnelles des cyclo dextrines naturelles ( $\alpha$ ,  $\beta$ , et  $\gamma$ CD de gauche à droite), avec de haut en bas: une vue de la face des hydroxyles secondaires (« grand côté »), une vue latérale et, une vue de la face des hydroxyles primaires (« petit côté »). En bas, les dimensions respectives des CD obtenues d'après les données cristallographiques. P.13
- Fig. I.17 :** Diverses structures de complexes cyclodextrines-invités P.14
- Fig. I.18:** MEB des microsphères du CS après 14 d'immersion dans le SBF. P.15
- Fig. I.19 :** Schéma de nanoparticule de phosphate de calcium à surface fonctionnalisée comme vecteur. P.16

## Liste des illustrations

- Fig. I. 20 :** Représentation schématique de la préparation des nanoparticules de calcium phosphate chargées de photosensibilisateur (établi par Pr. BAL K.E.) P.16
- Fig. I.21 :** (a) Structure du chitosan [poly (h1- 4-d-glucosamine)]. (b) structure du chitosan lié P.17
- Fig. I.22:**MEB des microspheres du CS préparées par émulsification P.18
- Fig. II.1:**Vue macroscopique de la THPP P.21
- Fig. II. 2 :** Spectre UV-vis de THPP en DMSO. P.22
- Fig. II.3 :** Spectre FT-IR de la THPP dans KBr P.22
- Fig.II.4:**Représentation schématique du complexe d'inclusion  $\beta$ -CD<sub>2</sub>:THPP P.24
- Fig. II.5:**Spectre UV-Vis de la THPP  $2.5 \times 10^{-5} M$  dans le DMSO à différentes concentration de la  $\beta$ -CD 0; 2.5; 4; 5,5;  $6 \times 10^{-4} M$  P.24
- Fig. II.6:** Double réciproque du THPP à différentes concentration de la  $\beta$ -CD en pH 7 P.25
- Fig. II.7 :** Représentation schématique du complexe d'inclusion  $\beta$ -CD<sub>2</sub>.THPP P.25
- Fig. II.8 :** Vue macroscopique des solutions de Ni (II)-THPP et Fe(III)-THPP dans DMSO. P.27
- Fig. II.9 :** Spectre UV-Vis du Ni(II)THPP(a) et du Fe(III)THPP (b) dans DMSO P.28
- Fig. II.10 :** Spectre de transmittance FTIR de a)THPP, b) Fe(III)THPP , c)Ni(II)THPP P.29
- Fig. II.11.(a) :**Spectre UV-Vis de Fe(III)-THPP dans le DMSO dans différentes concentrations de la  $\beta$ -CD 0 ; 2 ; 4 ; 6 ;  $8 \times 10^{-4}$  ;  $10^{-3} M$  P.30
- Fig. II.11.(b) :**Spectre UV-Vis de Ni(II)-THPP dans le DMSO dans différentes concentration de la  $\beta$ -C 0 ; 2 ; 4 ; 6 ;  $8 \times 10^{-4}$  ;  $10^{-3} M$  P.31
- Fig. II.12.a:** Double réciproque du Fe-THPP à différentes concentration de la  $\beta$ -CD à pH 7 P.32
- Fig.II.12.b :** Double réciproque du Ni-THPP à différentes concentration de la  $\beta$ -CD à pH 7 P.33

## Liste des illustrations

<b>Fig.II.13</b> : Représentation schématique du complexe d'inclusion N-THPP : $\beta$ -CD 1 : 1	<b>P.33</b>
<b>Figure III.1</b> : Organigramme de synthèse de l'HAP	<b>P.36</b>
<b>Figure III.2</b> : <i>Vu macroscopique de l'HAP/SB synthétisé</i>	<b>P.37</b>
<b>Fig. III.3</b> : <i>Diffractogramme DRX standard du calcium hydroxyapatite</i>	<b>P.38</b>
<b>Fig. III.4</b> : <i>Diagramme DRX de HAP dans le SBF</i>	<b>P.38</b>
<b>Fig. III.5</b> : <i>Spectre FTIR de l'HAP dans le SBF.</i>	<b>P.39</b>
<b>Fig. III.6</b> : <i>Diagramme granulométrie laser des microparticules de HAP/SBF</i>	<b>P.40</b>
<b>Fig. III.7</b> : <i>MEB des micro/nanoparticules d'HAP biomimétique</i>	<b>P.41</b>
<b>Figure III.8</b> : <i>Organigramme de synthèse des micro/nanoparticules d'HAP.<math>\beta</math>.CD :THPP</i>	<b>P.42</b>
<b>Fig. III.9</b> : <i>Vu macroscopique de l'HAP synthétisé</i>	<b>P.43</b>
<b>Fig.III.10</b> : <i>Diagramme DRX de THPP.<math>\beta</math>-CD.HAP dans le SBF</i>	<b>P.44</b>
<b>Fig.III. 11</b> : <i>Spectre FTIR de a) THP :<math>\beta</math>-CD, b) HAP /SBF et c) HAP.<math>\beta</math>-CD :THPP</i>	<b>P.44</b>
<b>Fig. III.12</b> : <i>Diagramme granulométrie laser des microparticules d'HAP.<math>\beta</math>-CD :THPP/SBF</i>	<b>P.45</b>
<b>Fig.III.13</b> : <i>MEB des micro/nanoparticules d'HAP.<math>\beta</math>-CD :THPP biomimétique</i>	<b>P.46</b>
<b>Fig. IV.1</b> : <i>Synthèse des Nps du CS par la méthode de la gélation</i>	<b>P.48</b>
<b>Fig. IV.2</b> : <i>Principe de la technique</i>	<b>P.48</b>
<b>Fig. IV.3</b> : <i>Vumacroscopique des NPS du CS/TPP</i>	<b>P.49</b>
<b>Fig. IV.4</b> : <i>Réaction de la formation des Nps du CS/TPPS</i>	<b>P.49</b>
<b>Fig. IV.5</b> : <i>Représentation schématique de la formation des Nps du CS/TPPS</i>	<b>P.49</b>

## Liste des illustrations

---

<b>Fig. IV.6:</b> <i>Spectre FTIR de Nps du CS (a) et CS (b)</i>	<b>P.50</b>
<b>Fig. IV.7:</b> <i>Représentation schématique de la formation des Nps.CS.β-CD: THPP/TPPS</i>	<b>P.51</b>
<b>Fig. IV.8 :</b> <i>Vu macroscopique des Nps du CS.β-CD:THPP /TPPS</i>	<b>P.52</b>
<b>Fig. IV.9:</b> <i>Spectre FTIR de a) THPP :β-CD , b)Nps Cs.β-CD:THPP/TPPS</i>	<b>P.53</b>
<b>Fig IV.10 :</b> <i>MEB des nanoparticules de CS.β-CD :THPP/TPPS</i>	<b>P.54</b>

## Liste des tableaux

<b>Tab III.1 :</b> <i>Les principales bandes et angles de diffractions de l'HAP/SBF à 37°C</i>	<b>P.39</b>
<b>Tab. IV.1 :</b> <i>Principales bandes de CS et Nps du CS</i>	<b>P.51</b>

## Liste des abréviations

---

### Liste des abréviations :

**$\alpha$** : Stœchiométrie.

**$\beta$ -CD**: Beta-cyclodextrine.

***M-THPP*:  $\beta$ -CD** : Complexe d'inclusion  $\beta$ -CD avec la THPP métallée.

***THPP* :  $\beta$ -CD**: Complexe d'inclusion  $\beta$ -CD avec la THPP à base libre.

**CDs**: Cyclodextrines.

**CS**: Chitosane.

**DMSO**: Diméthyle sulfoxyde.

**DRX**: Diffraction par rayons X.

***Fe(III)-THPP***: 5, 10, 15, 20-tetrakis(4-hydroxyphenyl)porphyrin Iron(III).

**FT-IR**: Spectrophotométrie infrarouge à transformée de fourrier.

**GL**: Granulométrie Laser.

**HAP**: Hydroxyapatite.

**K**: Constante d'inclusion.

**$\lambda$** : Longueur d'onde.

**MEB**: Microscopie à balayage électronique.

***M-THPP***: Métallo-porphyrine.

***Ni(II)-THPP***: 5, 10, 15, 20-tetrakis(4-hydroxyphenyl)porphyrin Nickel(II).

**Nps**: Nanoparticules.

**nm**: Nanometre

**PDT**: Photodynamic therapy.

## Liste des abréviations

---

***Ps***: Photosensibilisateur.

***SBF***: Simulated body fluid.

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

***TPPS***: Tripolyphosphate du sodium

***UV-Vis***: Spectrophotométrie ultraviolet visible.

## Résumé

---

### Résumé :

En vue de développer de nouveaux vecteurs hybrides pouvant autoriser la libération et la stabilité du principe actif 5, 10, 15, 20- tetrakis(4-hydroxyphenyl)prophyrine (THPP), dans les cellules tumorales afin de traiter la tumeur par la thérapie photodynamique PDT.

Nous avons préparé plusieurs systèmes :

- Des systèmes supramoléculaires de type « Host-guest » THPP :  $\beta$ -CD d'ordre 1 :2 dans un milieu neutre.
- Des systèmes supramoléculaires de type « Host-guest » M-THPP :  $\beta$ -CD d'ordre 1 :1 dans un milieu neutre.
- Des microsphères d'HAP.  $\beta$ -CD : THPP synthétisées par voie biomimétique dans le SBF en milieu alcalin.
- Des nanosphères CS. $\beta$ -CD : THPP/TPPS en milieu acide.

**Mots clés :** *vecteur hybride, 5, 10, 15, 20(4-hydroxyphenyl)porphyrine, thérapie photodynamique, complexe d'inclusion, beta-Cyclodextrine, chitosane, hydroxyapatite biomimétique.*

## Abstract

---

### Abstract:

In the aim to develop a new hybrid vectors able to liberate and stabilize the principal active 5, 10, 15, 20- tetrakis(4-hydroxyphenyl)porphyrin (THPP) in the tumoral's cells using the photodynamic therapy PDT.

We prepared many Systems:

- Inclusion complexes, type « Host-guest » THPP:β-CD with stoichiometry of 1 :2 in a neutral medias.
- Inclusion complexes, type « Host-guest » M-THPP: β-CD with stoichiometry of 1: 1 in a neutral medias.
- Microspheres of HAP. β-CD : THPP synthesized by biomimetic method in the SBF in an alkaline medias.
- Nanospheres of CS. β-CD : THPP/TPPS an alkaline medias.

***Key words:*** hybrid vectors, 5, 10, 15, 20-tetrakis(4-hydroxyphenyl)porphyrin, photodynamic therapy, inclusion complex, beta-Cyclodextrin, chitosan, biomimetic hydroxyapatit.

## الملخص

### الملخص :

بهدف الحصول على أشعة هجينة قادرة على تحرير و استقرار العامل الفعال 5،10،15،20- نيتراكيس(4-هيدروكسي-فينيل) بورفيرين THPP في الخلايا السرطانية لهدف التخلص من الورم الخبيث بتقنية العلاج الديناميكية الضوئية PDT.

قمنا بتحضير عدة أنظمة :

- مركبات جزيئية كبيرة من الصنف  $\beta$ -CD : THPP «Host-Guest» برتبة 2:1 في وسط كيميائي معتدل.
- مركبات جزيئية كبيرة من الصنف  $\beta$ -CD : M-THPP «Host-Guest» برتبة 1:1 في وسط كيميائي معتدل.
- كريات مجهرية THPP :  $\beta$ -CD : HAP المحصل عليها بالطريقة البيوميميتيكية في المحيط القاعدي.
- كريات نانومترية THPP/TPPS :  $\beta$ -CD : CS في وسط حامضي.

**كلمات المفتاح :** أشعة هجينة 5، 10، 15، 20 (4-هيدروكسيفينيل) بورفيرين، العلاج الفوتوديناميكي مركب التداخل، بيتا-سيكلودكسترين، الكيتوزان، هيدروكسيباتيت البيوميميتيكي

# Introduction générale

---

# **Introduction générale**

---

## **Introduction générale :**

De divers accomplissements ont été obtenus ces dernières années, grâce au développement et la recherche de substances ou de systèmes supramoléculaires et méthodes pour traiter des cancers, tels que l'antileptics d'apoptosis, d'inhibiteurs d'angiogenesis, de chimiothérapie et de radiothérapie. Accompagné avec l'extension rapide de la chimie supramoléculaire en sciences pharmaceutiques, les super-molécules en tant que drogues anticancéreuses sont devenus un champ de point culminant de recherche ces dernières années, particulièrement les composés d'inclusion de cyclodextrine, les liposomes, les particules nanométriques et les complexes en métal comme les types de platine, porphyrines et metalloporphyrines comme photosensibilisateur.

Une des méthodes les plus intéressantes dans le domaine de traitement du cancer est la thérapie photodynamique (PDT), une méthode basée sur l'accumulation d'un photosensibilisateur dans les tissus malins suivis de l'illumination avec la lumière à une longueur d'onde appropriée induisant les réactions photochimiques (l'activité de l'oxygène dans l'environnement de tumeur) qui ont comme conséquence la destruction de tissu. Dans plusieurs études impliquant la porphyrine, il a été montré qu'une corrélation existe entre la prise de PS-tumeur et hydrophobicité. En effet, il a été constaté que la rétention de PS en cellules tumorales augmente avec la diminution de la polarité.

Ces dernières années, le développement des systèmes de la livraison (vectorisation du PS) permettant l'administration intraveineuse du PS hydrophobe a suscité une attention particulière. Plusieurs recherches et stratégies telles que la conjugaison chimique avec des divers polymères hydrosolubles et l'encapsulation dans divers vecteurs (micelles, liposomes, nanoparticules,..) ont été considérées pour l'administration parentérale des PSs hydrophobes dans le but additionnel d'augmenter leur sélectivité. Ainsi, les raisons rapportées pour incorporer ou encapsuler les photosensibilisateurs tels les porphyrines, nous les résumons par les points essentiels suivants : L'action de l'oxygène de singulier lors de l'irradiation de la porphyrine au voisinage là où elle est produite, ainsi que leurs effets indésirables à cause de leur longue durée dans l'organisme ou la peau pour des semaines ou des mois...etc. Par conséquence, la propriété d'hydrophobie peut être modifiée suite à l'inclusion de ces porphyrines dans des molécules cages hydrophiles. Ces complexes d'inclusion sont composés de deux molécules (invité et hôte), et généralement stabilisés par des liaisons hydrogènes, des

## Introduction générale

---

liaisons ioniques, d'interaction  $\pi$ - $\pi$ , des liaisons de Van Der Waals ; etc.... Ainsi les processus d'interactions et de reconnaissances moléculaires sont gouvernés uniquement par des forces dites « faibles ». De nombreuses classes de macromolécules peuvent ainsi former des complexes d'inclusion, comme par exemple les xéolithes, les clathrates, les éthers couronnes, les calixarènes, les cyclodextrines, etc... Autres progrès et efforts plus intéressants pour la PDT du cancer font associer ce système supramoléculaire (porphyrine-molécule cage) à des agents de reconnaissance pour que ces porphyrines soient capables d'atteindre spécifiquement les cellules cancéreuses, en assurant la protection de la molécule active vis-à-vis des dégradations dans le tractus gastro-intestinal en l'isolant des milieux biologiques traversés, en augmentant la cinétique de dissolution du principe actif en le présentant sous une forme finement dispersée et à la fin en favorisant l'absorption du principe actif à travers la muqueuse intestinale.

L'objectif du travail entrepris dans ce mémoire consiste en :

- 1- La synthèse et la caractérisation des complexes d'inclusion « Host-Guest » à partir de la molécule cage  $\beta$ -CD et la molécule invitée THPP à base libre et métallée.
- 2- La vectorisation des complexes d'inclusion par microparticules d'Hydroxyapatite biomimétiquement et nanoparticules de chitosane.

Ce manuscrit est organisé en trois chapitres.

Dans le premier chapitre on cite un rappel bibliographique sur la thérapie photodynamique PDT, les photosensibilisateurs, les cyclodextrines, les vecteurs.

Le deuxième chapitre traite la synthèse et la caractérisation des complexes d'inclusion « Host-Guest »

- Synthèse et caractérisation des complexes d'inclusion THPP: $\beta$ -CD
- Synthèse et caractérisation des complexes d'inclusion M. THPP: $\beta$ -CD

Le troisième chapitre traite la synthèse et caractérisation des microparticules d'HAP. $\beta$ -CD.THPP

- Synthèse et caractérisation des microparticules d'HAP biomimétique
- Synthèse et caractérisation des microparticules d'HAP. $\beta$ -CD:THPP biomimétique

## Introduction générale

---

Le quatrième chapitre traite la synthèse et la caractérisation des nanoparticules d'CS.β-CD:THPP/TPPS.

- Synthèse et caractérisation des nanoparticules de CS/TPPS
- Synthèse et caractérisation des nanoparticules de CS.β-CD:THPP/TPPS

Les complexes d'inclusion « Host-Guest » ont été caractérisés par spectrophotométrie UV. Vis.

Les microparticules de HAP et HAP.β-CD:THPP ont été caractérisés par granulométrie laser, diffraction des rayons spectrométrie infrarouge et la microscopie à balayage électronique.

Les nanoparticules de CS/TPPS et CS.β-CD:THPP/TPPS ont été caractérisés par spectrométrie infrarouge et microscopie à balayage électronique.

# CHAPITRE I

---

## *Etude bibliographique*

I-1 Photosensibilisateurs et la PDT

I-1-2 Définition des photosensibilisateurs

Un photosensibilisateur est une molécule capable d'être excitée par capture d'un photon et de transférer son énergie à un composé accepteur [1].

Les photosensibilisateurs les plus couramment utilisés se répartissent en deux classes :

1. **Les photosensibilisateurs non tétrapyrroliques:** Les psoralènes, le bleu de méthylène et l'hypericine ;
2. **Les photosensibilisateurs tétrapyrroliques:** On distingue trois générations de photosensibilisateurs tétrapyrroliques ;
  - *de première génération:* les molécules d'origine naturelle, telles que l'hématoporphyrine et ses dérivés (Hp, HpD),
  - *de deuxième génération:* les molécules de synthèse telles que les chlorines, phtalocyanines et les porphyrines,
  - *de troisième génération:* les molécules vectorisées.

I-1-3 Mécanisme de la photosensibilisation

Il s'agit d'une voie de traitement de certains types de cancer, Elle est basée sur la combinaison de deux facteurs : *une molécule photosensibilisante* qui n'est pas toxique par elle-même et une *source lumineuse*. Cette molécule est capable d'absorber un photon, entraînant par la suite une série de réactions causant des dommages irréversibles aux tissus concernés.[2]

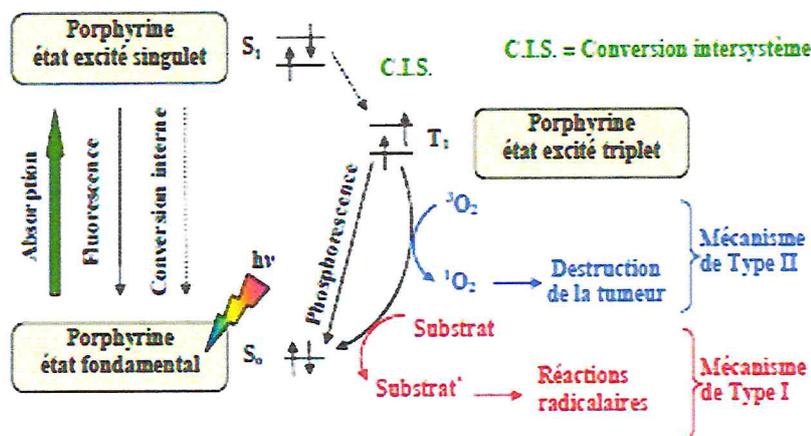


Fig. I.1: Mécanisme photochimique de la PDT [2].

# CHAPITRE I

## Etude bibliographique

### I-1-3 Les porphyrines

#### ➤ Introduction

Le terme porphyrine provient du grec *porphura* qui signifie violet (pourpre). Sa découverte est intimement liée aux travaux menés sur la chlorophylle. En 1896, Nencki propose pour la première fois une structure chimique des porphyrines basée sur le motif pyrrolique. [1, 3, 5]

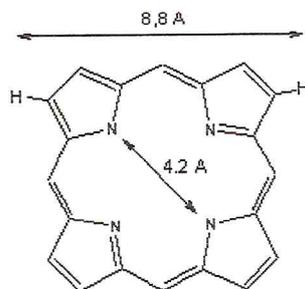


Fig. I.2: Structure de la porphyrine, la plus simple des porphyrines [3].

#### ➤ Description des porphyrines

Une porphyrine est un macrocycle hétérocyclique constitué de quatre sous-unités de pyrrole jointes sur les carbones "alpha" par quatre ponts méthine. Mesurant environ 9 Å de long pour un diamètre de 4,2 Å. En effet, il est possible d'insérer au centre de la cavité formée un ion métallique : on parlera alors de métallo-porphyrines. Le complexe formé possède des propriétés tout à fait particulières mises à profit dans diverses activités biologiques. Notons que cette insertion peut se faire directement par les organismes vivants ou par les chimistes [3].

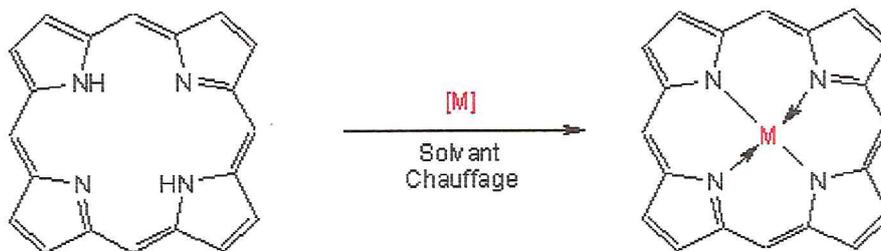


Fig. I.3: Complexation d'un noyau porphyrine avec un métal. [3]

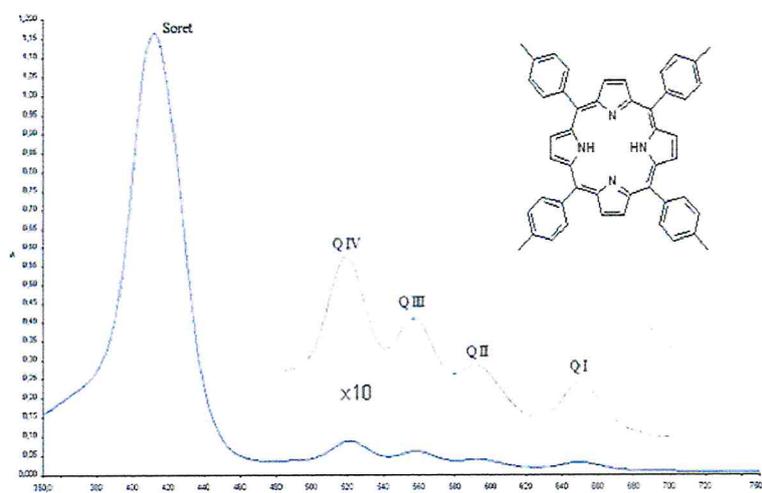
## CHAPITRE I

### Etude bibliographique

#### ➤ *Caractérisations :*

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

**Spectroscopie UV-Visible :** Les porphyrines possèdent un système d'électrons  $\pi$  fortement conjugué. Ces molécules absorbent donc dans le domaine du visible et présentent des spectres d'absorption très caractéristiques qui sont fonction de la structure et de la présence ou non d'un métal (Fig. I.4). Ils se composent d'une bande intense ( $\epsilon > 10^5 \text{ mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ) entre 390 et 430 nm (proche UV) appelée bande Soret ou bande B et de quatre bandes de moindre intensité aux plus grandes longueurs d'ondes (entre 500 et 680 nm) nommées bandes Q. [3, 6]



**Fig. I.4:** Spectre UV-visible caractéristique d'une porphyrine base libre : la H2TTP (dans CHCl3). [3]

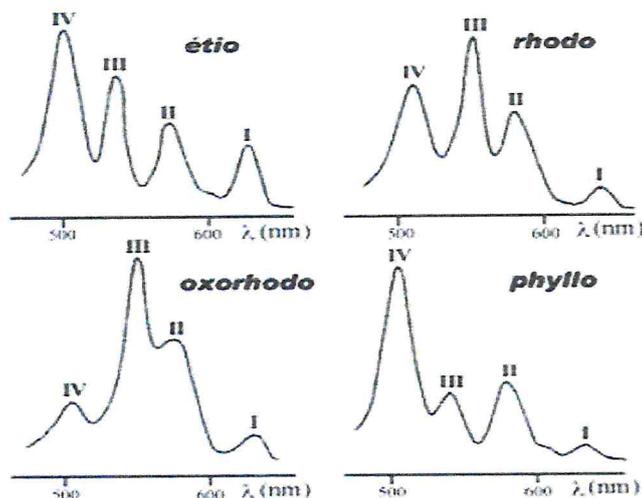
La région du spectre située dans le domaine du visible, généralement sensible aux variations de structure, renseigne sur la substitution du macrocycle. En effet, les quatre bandes Q, numérotées de I à IV en partant des énergies les plus basses, voient leurs intensités relatives varier notablement en fonction de la nature et de la position des substituants. On distingue ainsi essentiellement quatre types de spectres, appelés : *etio*, *rhodo*, *oxorhodo* et *phyllo* (Fig. I.5)[3, 4]

On rencontre principalement le type *etio* dans le cas de porphyrines  $\beta$ -substituées par au moins 6 groupements, ou dans le cas de la plupart des *meso*-arylporphyrines. Si ces dernières portent un substituant saturé (par exemple une chaîne alkyle) à la place de l'aryle, elles auront généralement un spectre de type *phyllo*. La présence de groupements riches en électrons  $\pi$  en position  $\beta$ -pyrrolique génère un profil de spectre de type *rhodo*, alors que la

## CHAPITRE I

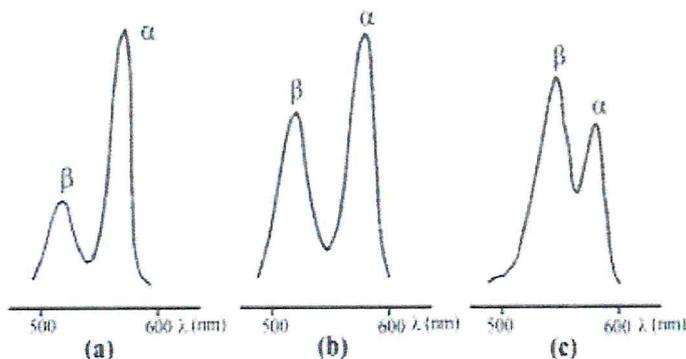
### Etude bibliographique

présence de deux de ces mêmes groupements en position  $\beta$ -pyrrolique sur deux pyrroles opposés conduit plutôt à un spectre de type *oxorhodo*.



**Fig. I.5:** Profil des bandes Q pour les quatre principaux types de spectres d'absorption de porphyrines bases libres. [3]

Dans le cas des métallo-porphyrines ou protonée, on observe toujours la présence de la bande Soret, mais le nombre de bandes Q est réduit à deux ou trois en fonction de la nature du métal et de son degré d'oxydation. Ces dernières sont nommées  $\alpha$  et  $\beta$  en partant des grandes longueurs d'onde (Fig. I-6). En effet, un rapport  $\alpha/\beta > 1$  indique généralement la présence d'un métal impliqué dans le complexe plan, stable avec la porphyrine (c'est le cas par exemple du Ni(II) ou encore du Zn(II)). Par contre, lorsque le métal peut être facilement remplacé par deux protons, on observe un rapport  $\alpha/\beta < 1$  (par exemple avec du Cd(II)).



**Fig. I.6:** Bandes Q de spectre d'absorption d'octaéthylporphyrines métallées par : (a) Ni(II) ; (b) Zn(II) ; (c) Cd(II). [3]

## CHAPITRE I

### Etude bibliographique

**Spectroscopie de masse MALDI :** Les porphyrines étant très faiblement volatiles, les techniques classiques d'ionisation ne sont généralement pas adaptées. Il est nécessaire d'utiliser les méthodes de désorptions directes comme le MALDI (Fig. I.16).[3]

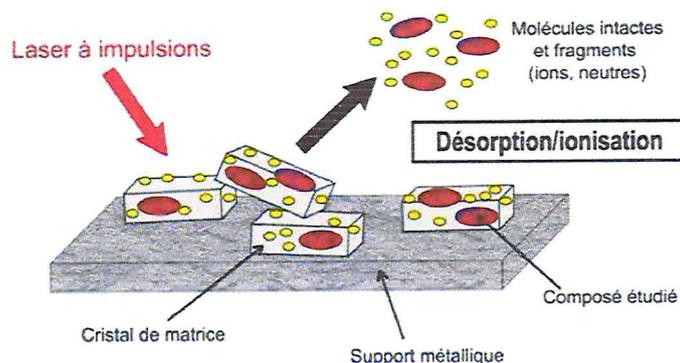


Fig. I.7: Principe de la technique MALDI.[3]

**Résonance magnétique nucléaire (H.RMN) du proton :** Le spectre RMN  $^1\text{H}$  de la porphine (porphyrine sans aucun substituant), est constitué de 3 singulets à -3,76, 9,74 et 10,50 ppm. Ces signaux sont attribués respectivement aux protons liés aux atomes d'azote, aux protons des positions  $\beta$ -pyrroliques et aux protons méthine (position *méso*). Puisque ces derniers sont liés à des carbones essentiellement déficients en électrons, ils sont plus déblindés que les protons  $\beta$ -pyrroliques [3, 4]. De plus l'unicité des signaux des protons  $\beta$ -pyrroliques s'explique par la tautomérie des protons NH internes (Fig. I-7).

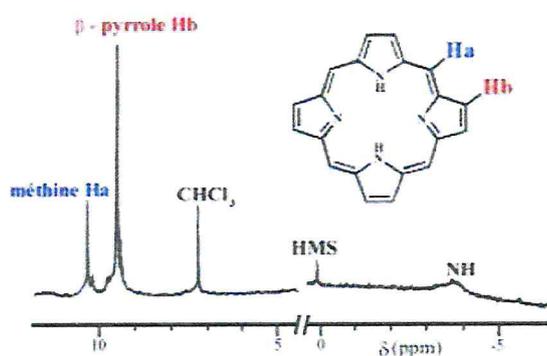


Fig. I.8: Spectre RMN  $^1\text{H}$  de la porphine dans  $\text{CDCl}_3$ . [3]

**Spectroscopie Infrarouge :** La spectroscopie Infrarouge est très peu utilisée pour la caractérisation des macrocycles porphyriniques. Cependant, quelques bandes de vibration sont

## CHAPITRE I

### Etude bibliographique

caractéristiques et notamment celles des liaisons N-H pyrrole à  $3310-3326\text{ cm}^{-1}$ , des liaisons C-H à  $3075-3150\text{ cm}^{-1}$  ou encore celles des liaisons C-N à  $2208-2212\text{ cm}^{-1}$ . [3, 4, 7]

#### ➤ *Quelques utilisations des porphyrines*

Les principales applications des porphyrines sont citées au dessous :

- La fabrication de cellules solaires pour la conversion directe de la lumière en électricité avec un rendement maximal de conversion de 7,1 %,
- La préparation de cristaux liquides utilisables dans l'ensemble des dispositifs d'affichages (des montres aux écrans d'ordinateurs),
- L'utilisation comme catalyseurs en chimie organométallique (réactions d'époxydation, d'oxydation, de cyclopropanation, formation de pyrrolines, de furanes...),
- Utilisation en chimie thérapeutique avec la thérapie photodynamique associant un colorant tétrapyrrolique (telles les porphyrines), de la lumière et l'oxygène dissout dans le sang pour détruire des cellules cancéreuses. [4,5]

#### I-3 La THPP

##### ➤ *Synthèse et purification de la 5, 10, 15, 20-tetrakis(4-hydroxyphenyl)-porphyrine (THPP)*

La THPP est obtenue par la méthode d'Adler .la THPP est préparée suite à la littérature de la méthode [6], comme il est figuré sur la Fig. I.9.

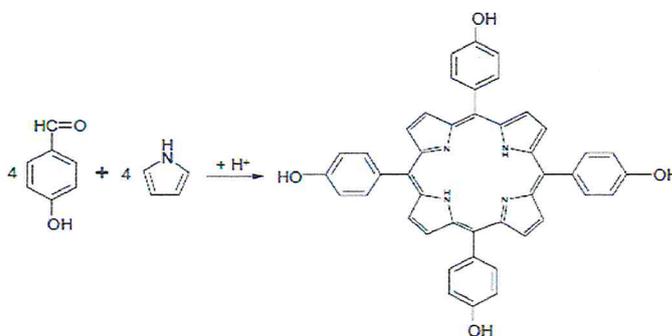
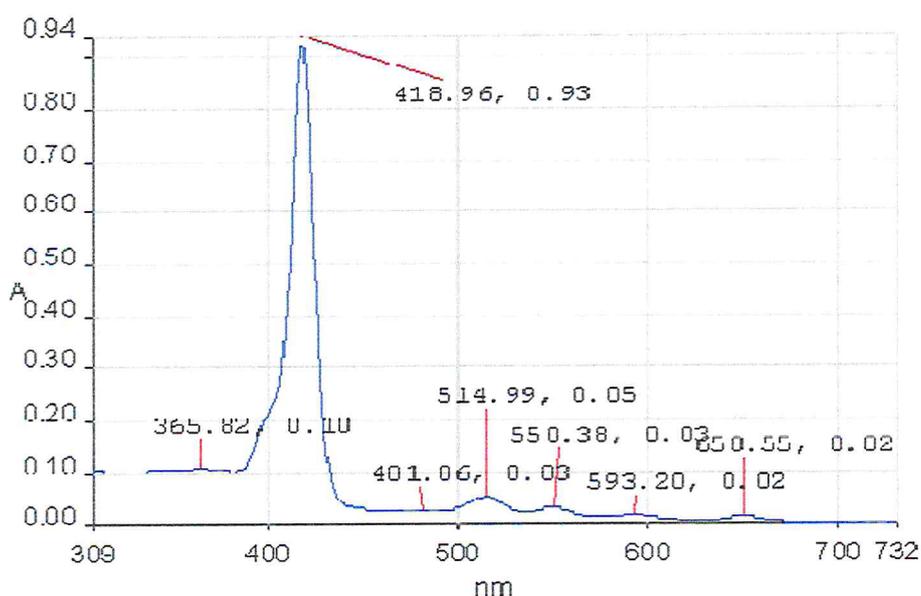


Fig. I.9: Synthèse de la THPP [6]

➤ Etudes caractéristiques

**Spectrophotométrie UV. Vis :** Les absorptions caractéristiques de la THPP à base libre sont montrées sur le spectre UV. Vis de l'échantillon étudié, comme il est figuré sur la Fig. I.10, avec la bande Soret typique et les quatre autres bandes Q dans la région du visible. la bande vers 419 nm est assignée à la bande Soret, due à la transition  $a_{1u}(\pi) - e_g^*(\pi)$ , et les quatre autres maximum d'adsorptions vers 515, 550, 593, and 650 nm peuvent être attribuées aux bandes Q dues aux transitions  $a_{2u}(\pi) - e_g^*(\pi)$ . [6, 7, 8]



**Fig. I.10:** Spectre UV-vis de la THPP dans le THF.  $\lambda_{max}(\log \epsilon)$ : 418.96 (4.92); 514.99(3.65); 550.38(3.43); 593.20(3.25); 650.55(3.25) [6]

**Spectre H-RMN :** Le spectre H-RMN de la THPP, le signal du proton porphyrinique (N-H) résonne dans la région des grands déplacements (-2.81 ppm) à cause de l'interaction au niveau du noyau pyrrolique. Les autres pics, correspondent aux protons phényliques et pyrroliques ou bien ceux du OH résonnants dans les régions des faibles déplacements de 7.36-8.11ppm (*orto*- and *mé*ta- H-Ph), 8.98 ppm ( $\beta$ -H-pyrrole), respectivement à 10.01 ppm (OH). Fig. I.11 [4]

**Spectre FT-IR :** Le spectre FFT-IR de la THPP, Fig. I.22, conforme à la structure de la THPP. Les bandes d'absorption d'intensité maximale enregistrées vers  $3415 \text{ cm}^{-1}$  est assignée aux O-H stretching vibration et celles enregistrées à  $3317$  et  $967 \text{ cm}^{-1}$  sont attribuées aux stretching et bending vibrations de N-H et C-N, respectivement, ce sont les

## CHAPITRE I

### Etude bibliographique

absorptions caractéristiques de la THPP à base libre. Les bandes entre  $1500 - 1600 \text{ cm}^{-1}$  sont dues aux stretchings vibration de C=C dans le noyau aromatique du benzène. [6, 7, 8]

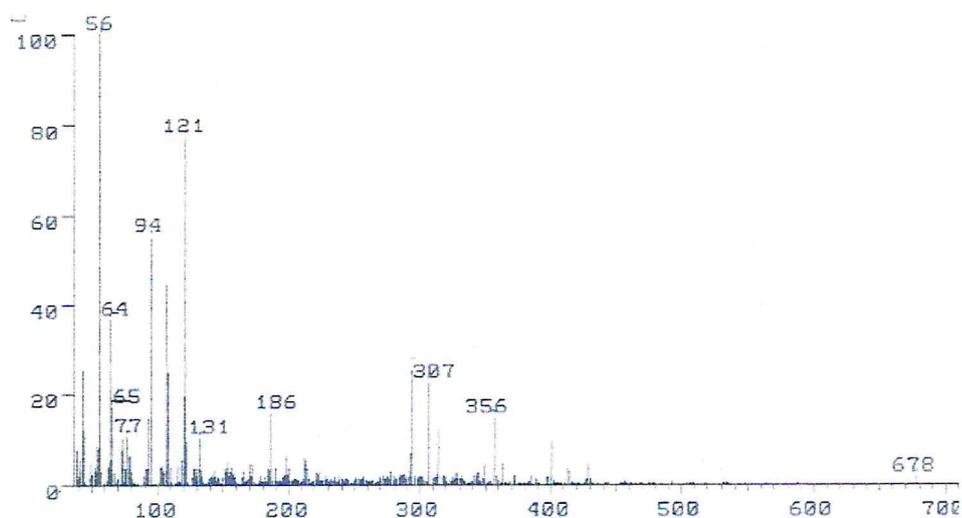


Fig. I.11: Spectre H-RMN de la THPP [6]

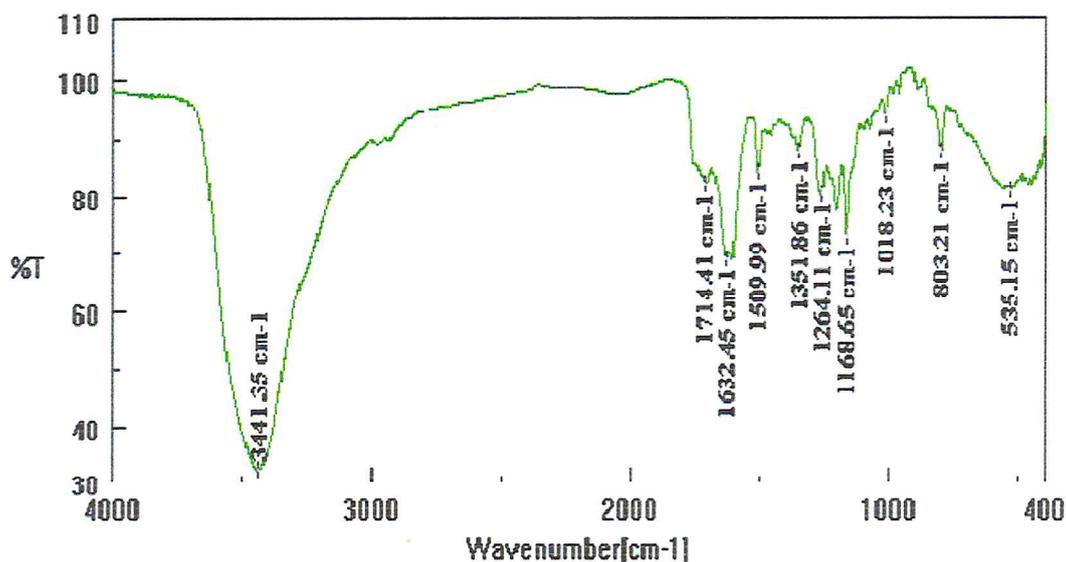


Fig. I.12: Spectre FT-IR de la THPP dans du KBr [6]

**Spectre de la fluorescence :** L'étude de la fluorescence de la THPP, a donné des résultats très intéressants. Dans la Fig. I.13, il peut être observé la dépendance des maximums de différentes émissions avec l'énergie d'excitation, l'émission avait une grande intensité et se trouvait dans les régions de grandes  $\lambda_{\text{ex}}$  avec la diminution de l'énergie d'excitation (augmentation de  $\lambda_{\text{ex}}$ ). [6, 7, 8]

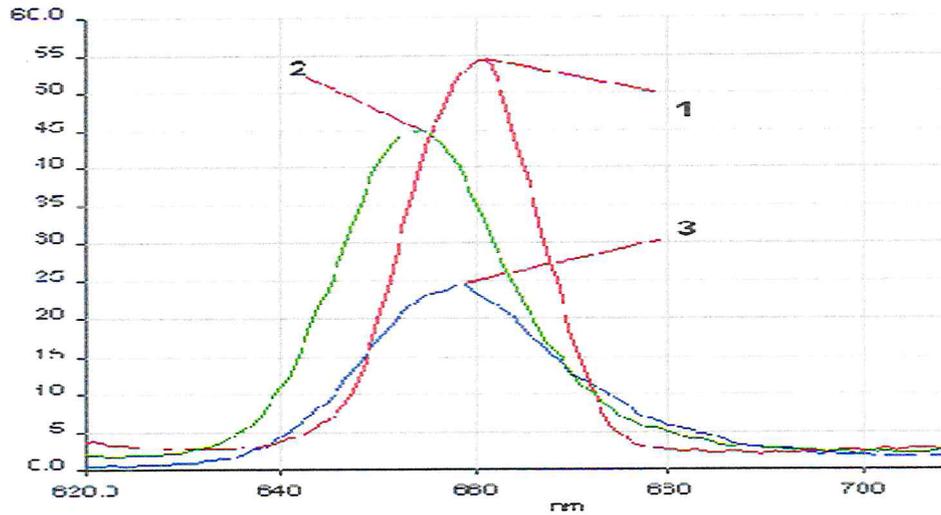


Fig. I.13 : Spectre d'émission de la THPP [6]

### I-4 Encapsulation

**Définition :** Technique permettant d'emprisonner des liquides des solides dans une enveloppe qui les isole du milieu dans le but de les protéger ou de maîtriser leur libération

Obtention de particules solides et sphériques : *microparticules* de taille  $\mu\text{m}$  et *nanoparticules* de taille nm. Selon leur structure : capsule système réservoir ou sphère système matriciel.

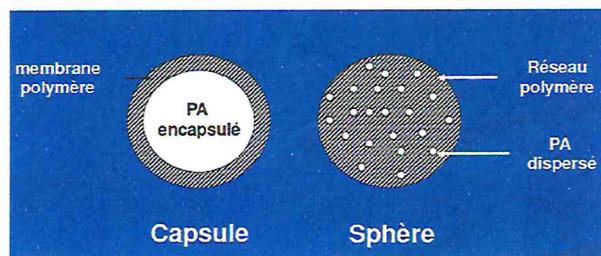


Fig. I.14: Structure de micro/nanoparticules [9]

### I-5 Vecteurs

**Définition :** Structures capables de véhiculer un principe actif en modifiant sa distribution tissulaire et/ ou cellulaire, ou ses interactions avec des cellules cibles.

A. Les cyclodextrines

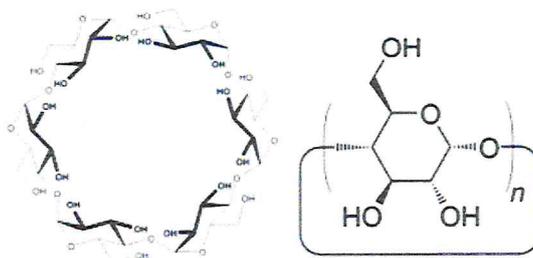


Fig. I.15: Structure générale des cyclodextrines [10]

➤ Structure chimique

Les cyclodextrines sont une famille d'oligosaccharides cycliques composés de sous-unités glucopyranose liées en  $\alpha$ -(1,4). Ces produits naturels résultant de la dégradation de l'amidon par la bactérie *Bacillus macerans*. Trois familles sont principalement utilisées ou étudiées les  $\alpha$ -,  $\beta$ - et  $\gamma$ -cyclodextrines formées de 6, 7 ou 8 sous-unités (des familles de plusieurs dizaines de sous-unités ont été synthétisées dans des buts de recherche). [10, 11]

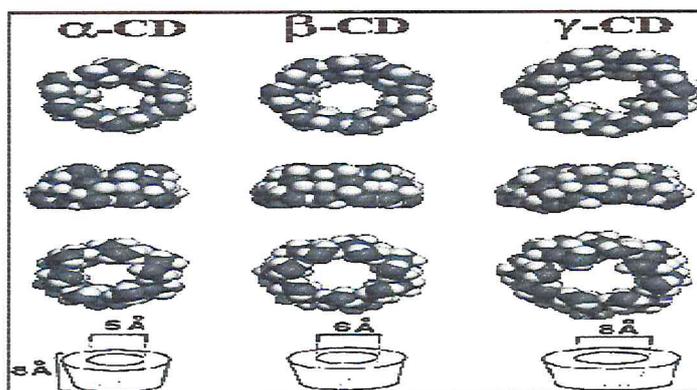


Fig. I.16: Structures tridimensionnelles des cyclo dextrines naturelles ( $\alpha$ ,  $\beta$ , et  $\gamma$ CD de gauche à droite), avec de haut en bas: une vue de la face des hydroxyles secondaires (« grand côté »), une vue latérale et, une vue de la face des hydroxyles primaires (« petit côté »). En bas, les dimensions respectives des CD obtenues d'après les données cristallographiques. [11]

➤ **Toxicité**

En général les cyclodextrines et leurs dérivés hydrophiles sont considérés comme pratiquement non-toxiques en administration par voie orale. [10,12]

➤ **Propriétés remarquables**

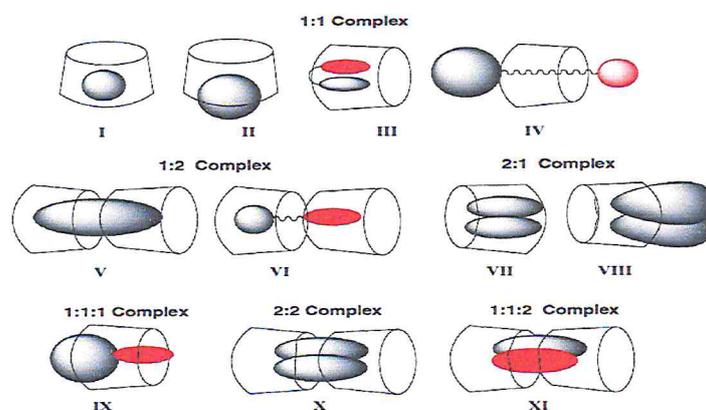
Les cyclodextrines possèdent une structure en tronc de cône, délimitant une cavité en leur centre. Cette cavité présente un environnement hydrophobe. Grâce à cette cavité apolaire, les cyclodextrines sont capables de former des complexes d'inclusion en milieu aqueux avec une grande variété de molécules-hôtes hydrophobes. Une ou plusieurs molécules peuvent être encapsulées dans une, deux ou trois cyclodextrines. [10]

➤ **Applications des cyclodextrines :**

La principale application des cyclodextrine est la **vectorisation** des principes actifs en formant des complexes d'inclusion avec ces derniers (dans notre cas le principe actif est la porphyrine). [10, 11]

➤ **Complexes d'inclusion :**

Possédant une cavité plutôt hydrophobe, elles peuvent encapsuler des substances ou des parties de molécules à caractère lipophile. Des complexes de stœchiométries diverses peuvent être formés (Figure 16) molécule invitée:CD 1:1, 1:2, 1:3, 2:1 ... etc. La taille, l'encombrement stérique, la charge et la polarité de la molécule invitée jouent donc un rôle important dans le processus de Complexation. [11]



**Fig. I.17 :** Diverses structures de complexes cyclodextrines-invités [12]

## CHAPITRE I

### Etude bibliographique

#### B. Les phosphates de calcium Hydroxyapatite comme vecteurs de photosensibilisateur (PS)

Des études récentes du Pr Bal K.E. (travaux de doctorat de Melle Maachou et Melle Rahmani) sur l'étude de la synthèse des nano-hydroxyapatites carbonatées (nCHA) (biomatériaux biocompatibles, non toxique se trouvant dans les tissus durs humain) par voie biomimétique en utilisant comme matrice de nucléation le chitosane un polymère naturel cationique (de charge positif), ont permis de préparer des nanoparticules de taille de 50-300 nm ayant une morphologie fine très intéressante. Les nCHA sont constituées par des « paquets de clusters » pouvant incorporer des molécules actives tel le PS à base de porphyrine (THPP) ou autre molécule à effet thérapeutique Fig. I.33. A cet effet, nous notons que les travaux antérieurs du Pr. Bal sur la vectorisation *in vitro* des antibiotiques de la gentamycine et l'Oxytétracycline par l'Hydroxyapatite ont laissé des résultats encourageants.

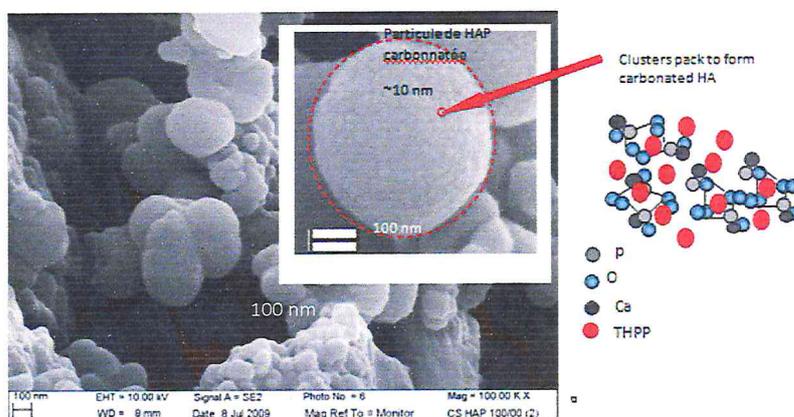


Fig. I.18: MEB des microsphères du CS après 14 d'immersion dans le SBF. [12]

Peu de travaux ont été publiés sur les hydroxyapatites comme vecteur de PS, mais dans le sens de nos idées que nous avons entamé il ya plus d'une année, tout récemment, [14] ont montré l'intérêt et les possibilités d'utiliser des nanoparticules de phosphate de calcium comme vecteurs pour les photosensibilisateurs. Epple et al. [11] considèrent que le phosphate de calcium (PC) a une excellente biocompatibilité dû à sa similitude chimique du tissu dur humain (os et dents). Dans la forme dispersée en nanoparticule, il peut être employé comme vecteur dans les systèmes biologiques. La Fig. I.34 représente le schéma type de la morphologie des microparticules à surface fonctionnalisée qui peut être développée.

# CHAPITRE I

## Etude bibliographique

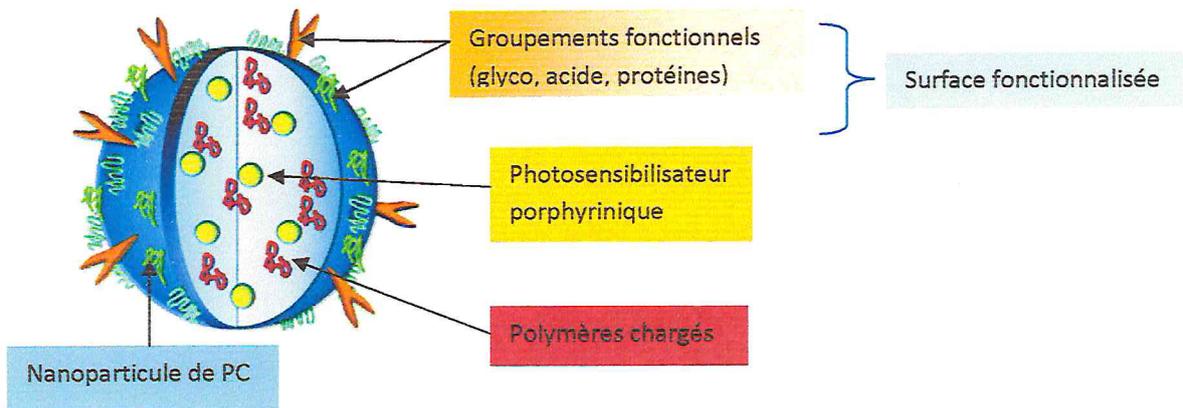


Fig. I.19 :Schéma de nanoparticule de phosphate de calcium à surface fonctionnalisée comme vecteur

Ainsi, il est possible de préparer un système des nanoparticules dispersées dans une solution aqueuse chargées en colorant de phosphate de calcium, mais l'efficacité dépend d'un certain nombre de paramètres, par exemple la charge de particules, type de polymère, et milieu de culture de cellules (par exemple la présence des protéines).

A cet effet, différentes méthodes ont été adoptées et qui peuvent se résumer par les schémas de synthèse illustrés dans la Fig. I.35 (méthode A et méthode B).

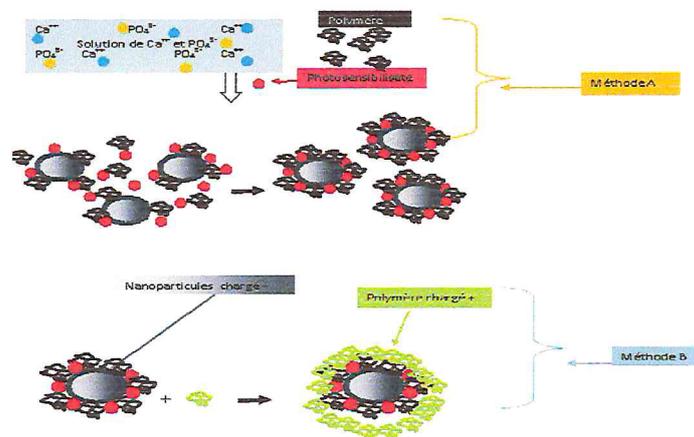


Fig. I. 20 : Représentation schématique de la préparation des nanoparticules de calcium phosphate chargées de photosensibilisateur (établi par Pr. BAL K.E.)

# CHAPITRE I

## Etude bibliographique

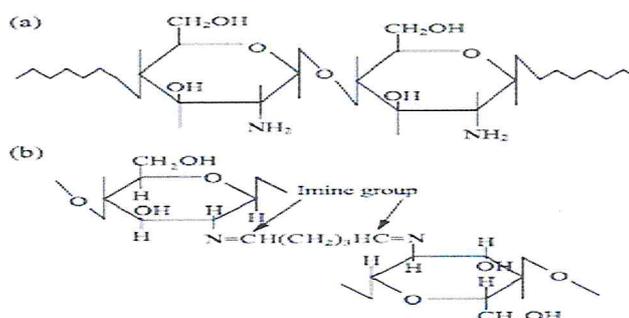
### C. Le chitosane

**Définition :** Le chitosane, dérivé désacétylé de la chitine, est un copolymère linéaire  $\beta$  (1-4) de N-acétyl D-glucosamines et de D-glucosamines. Le chitosane est obtenu à partir des carapaces de crustacés après les traitements suivants :

- lavage, séchage et broyage le plus fin possible
- déprotéination par voie chimique ou enzymatique
- déminéralisation par traitement à l'acide chlorhydrique dilué (la chitine contient environ 30 à 35 % de matière minérale), filtration et rinçage.
- Désacétylation.

### Caractérisation :

**Le degré de d'acétylation (D.A):** Le degré d'acétylation (DA) est le pourcentage d'unités acétylées comparé au nombre d'unités totales, il peut être déterminé par spectrométrie infrarouge à transformée de Fourier (IR-TF) ou par un titrage par une base forte. La frontière entre chitosane et chitine correspond à un DA de 50% : en-deçà le composé est appelé chitosane, au-delà, chitine.



**Fig. I.21 :** (a) Structure du chitosane [poly ( $\beta$ 1-4-d-glucosamine)].  
(b) structure du chitosane lié [13]

**Viscosité :** La viscosité du chitosane dépend de :

- Son degré d'acétylation : plus il est désacétylé, plus il y a de groupements amine libre, plus le chitosane est soluble et plus sa viscosité est importante ;
- Sa concentration : la viscosité augmente en fonction de la concentration ;
- La température : comme pour les autres polysaccharides, la viscosité chute lorsque la température augmente ;
- Le pH : plus il est bas plus la viscosité est forte.

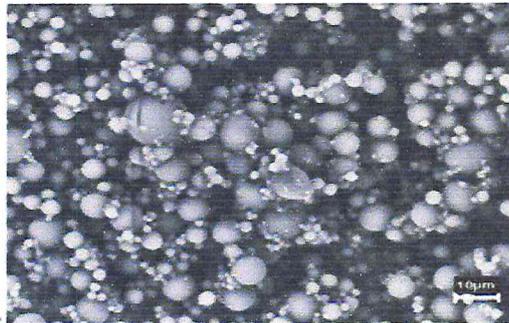
## CHAPITRE I

### Etude bibliographique

**Solubilité :** La solubilité du chitosane varie donc en fonction de son DA et de la méthode de désacétylation mise en œuvre.

**Dérivés du chitosane et propriétés complexantes :** Aux pH acides, sous sa forme protonée, il peut s'associer à des polyanions pour former des complexes polyanions-polycations. Aux pH plus élevés (supérieur à 6,5) il peut former des complexes avec des colorants et des métaux lourds. Cependant il peut également y avoir interaction par simple phénomène d'absorption, d'attractions électrostatiques ou échange d'ions. Deux procédés peuvent être cités :

- greffage de fonctions carboxyliques
- solubilisation, substitution et précipitation du polymère.



**Fig. I.22:**MEB des microsphères du CS préparées par émulsification [14]

**Propriétés biologiques :** Le chitosane est biodégradable et biocompatible. Il ne présente aucun comportement antigénique, mais possède un caractère antithrombogène et hémostatique. Il montre des propriétés cicatrisantes remarquables. Le chitosane a également des propriétés inhibitrices sur la croissance de nombreux parasites et infections. Il a de plus de propriétés immunologiques, antitumorales, antibactériennes, et antifongiques.[ 15]

**Quelques utilisations du chitosane :** Traitement des eaux usées, Industrie agro-alimentaire, Médecine, Cosmétologie [16]

### Bibliographie:

- [1] Poulin L., Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures de l'Université Laval pour l'obtention du grade de maître ès sciences en biochimie, 2005
- [2] Bonnett R.; Chemical aspects of photodynamic therapy, Gordon and Breach Science Publishers, 2000
- [3] Fraolini-Robréau A.N. ; Thèse de doctorat de biologie cellulaire et moléculaire : Contribution à l'étude des bases moléculaires des porphyrines hépatiques aiguës et de la protoporphyrine érythropoïétique, 2002
- [4] Varamo M., Thèse de chimie organique : Stratégies de synthèses de macrocycles tétrapyrroliques *méso*-substitués dissymétriques : application en thérapie photodynamique, Faculté des Sciences Orsay, 2005
- [5] Croisy A., Lucas B., Maillard P. ; Les macrocycles tétrapyrroliques glucoconjugués. Utilisation en photothérapie dynamique, Actualités de Chimie Thérapeutiques – 31<sup>e</sup> série, 181-244, 2005.
- [6] Adler A.D., Longo F.R., Goldmacher J., Assour J. and Korsakoff L., A simplified synthesis for meso-tetraphenylporphine, *J. Org. Chem.*, vol. 32, 1967, pp. 476-482.
- [7] Jing Z., Yang G., Shaokui C., Wennan Z., Dongmei W., Huifang C. and Tianxuan L., A modified Adler method for the synthesis of meso-hydroxyl substituted tetraphenylporphyrins, *Chemistry Mag.Org.*, vol. 8, 2002, pp. 39-42.
- [8] Fagadar-Cosma E., Maranescu B., Enache C., Savii C. and Fagadar-Cosma G., Alternatives for obtaining of 5,10,15,20-tetrakis(4-hydroxyphenyl)-21H,23H-porphine. Physico-chemical characterisation, *Revista de Chimie*, vol. 57, 2006, pp.1144-1147.
- [9] S.Weisse, These : Complexes cyclodextrines / ester de vitamine A : stabilisation, solubilisation et promotion de l'absorption cutanée N°741, 2002
- [10] D. Castagne, These : Etude des interactions entre les cyclodextrines et les membranes liposomales ou biologiques, 2010
- [11] A.Douhal, Cyclodextrin Materials Photochemistry, Photophysics and Photobiology pp5, 2006
- [12] Bal et al. Preparation and in vitro characterisation of Chitosan/Hydroxyapatite composite microspheres through emulsification as hard tissue substitution, submitted to J Mat Sci 2010

## Bibliographie

---

[13] S.A. Agnihotri et al. / *Journal of Controlled Release* 100 (2004) 5–28

[14] A.K. Anal et al. / *International Journal of Pharmaceutics* 312 (2006) 166–173

[15] H.S. Kas, Chitosan: properties, preparations and application to microparticulate systems, *J. Microencapsulation* 14 (1997)689– 711

[16] L. Illum, Chitosan and its use as a pharmaceutical excipient, *Pharm. Res.* 15 (1998) 1326– 1331.

# CHAPITRE II

---

*Synthèse et caractérisation des complexes  
supramoléculaires THPP : $\beta$ -CD*

#### II-1- Introduction

Dans ce chapitre des systèmes supramoléculaires hybrides de type Host-Guest THPP :  $\beta$ -CD et M-THPP :  $\beta$ -CD ont été synthétisés et caractérisés par spectrophotométrie UV-Vis afin de déterminer leur ordre et constante de complexation.

#### II-2- Caractérisation du photosensibilisateur THPP base libre

##### *a) Aspect physique*

La 5, 10, 15, 20-Tetrakis(4-hydroxyphenyl)porphyrine (THPP) est une poudre, fine de couleur violette et sans odeur caractéristique. La Fig. II.1 représente une vue macroscopique de la THPP.



**Fig. II.1:** *Vue macroscopique de la THPP.*

##### *b) Etude spectroscopique*

**Spectre UV-Vis :** Le spectre UV-Vis d'une solution  $2.5 \times 10^{-5}$  M de THPP dans du DMSO est représenté sur la Fig. II.2. La bande environ 424 nanomètre a été assignée à la bande Soret, qui résulte de la transition  $a_{1u}(\pi) - eg^*(\pi)$ , tandis que les quatre autres maximum d'absorption environ 510, 540, 580, et 640 nanomètre pourraient être attribués aux bandes Q correspondant aux transitions  $a_{2u}(\pi) - eg^*(\pi)$  [1].

**Spectre FT-IR :** Le spectre infrarouge de la THPP dans le KBr est représenté sur la Fig. II.3. La bande la plus intense située à  $3443 \text{ cm}^{-1}$  est assignée à -NH et -OH à la vibration d'allongement et la bande vers  $1659 \text{ cm}^{-1}$  est due la vibration d'allongement de  $\text{C}=\text{C}_{\text{pyr}}$  dans l'anneau aromatique du benzène. Les bandes vers  $1445$  et  $1280 \text{ cm}^{-1}$  sont attribuées à la vibration d'allongement du C=N et C-O-H, respectivement [1-2].

## CHAPITRE II

### Synthèse et caractérisation des systèmes supramoléculaires THPP : $\beta$ -CD

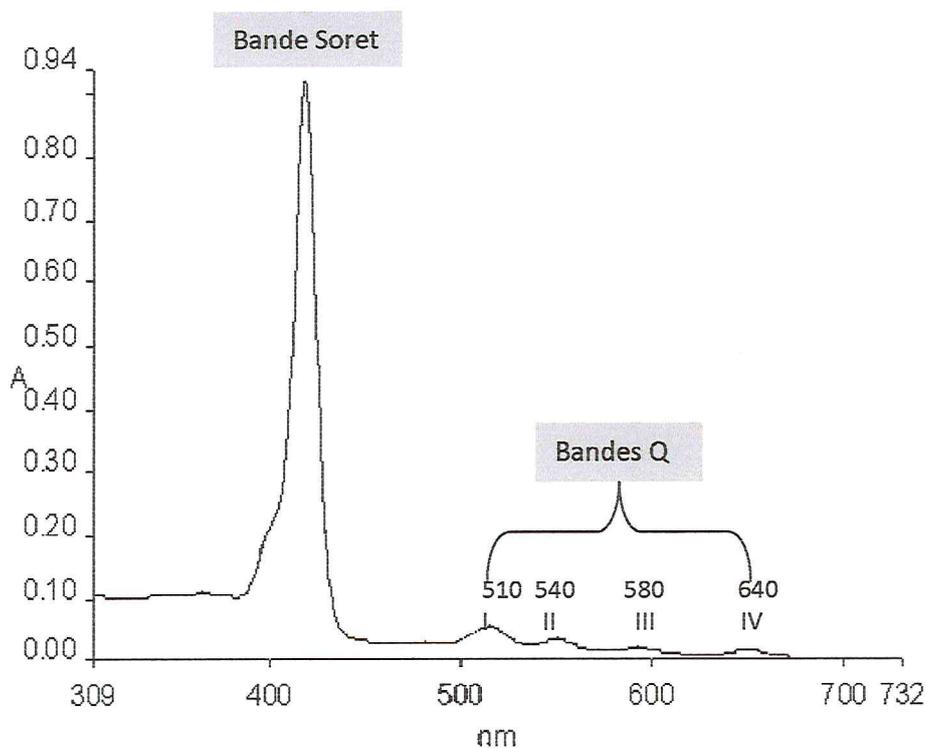


Fig.II. 2 : Spectre UV-vis de la THPP en DMSO.

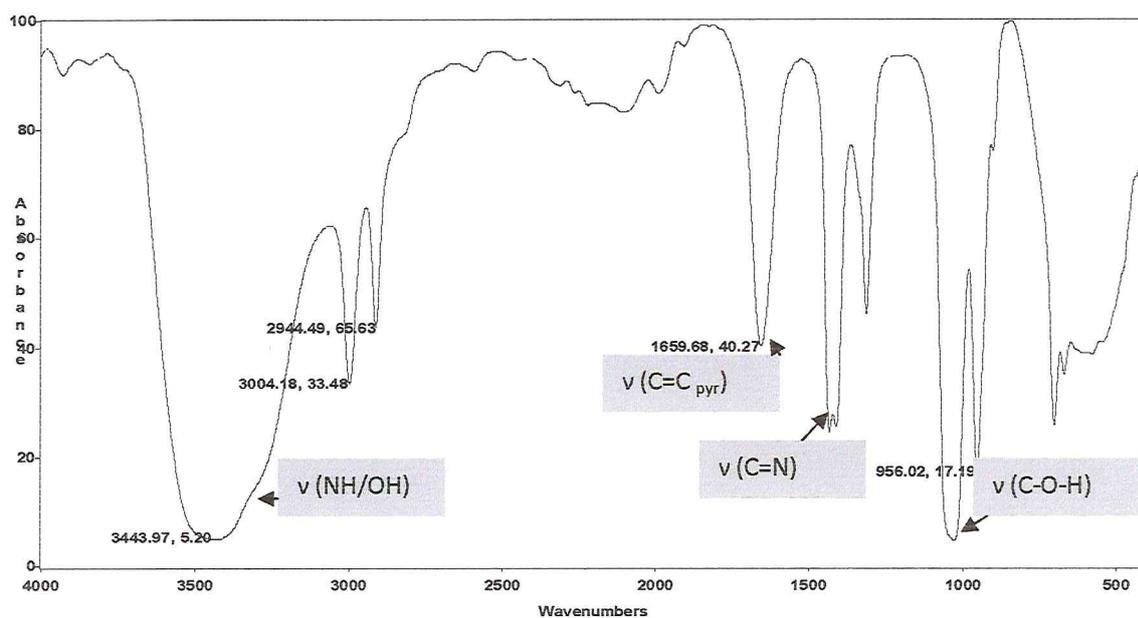


Fig. II.3 : Spectre FT-IR de la THPP dans KBr.

### II-3- Synthèse et caractérisation du complexe d'inclusion THPP : $\beta$ -CD

➤ *Mode Opératoire :*

Dans un flacon de 20 ml, on introduit respectivement : 2 ml d'une solution  $2.5 \times 10^{-5}$  M de THPP dans du DMSO et une quantité appropriée d'une solution  $10^{-4}$  M de  $\beta$ -CD dans de l'eau distillée. On ajuste le pH du milieu avec une solution tampon pH=7.33 puis on complète au volume total par l'eau distillée. On agite pendant 30 min dans le noir et à température ambiante (20 – 25°C) [3]. Les intensités des absorptions dans l'UV-Vis sont mesurées et enregistrées par un spectrophotomètre UV-Vis.

#### II-3-1- Caractérisation du complexe d'inclusion THPP : $\beta$ -CD

*Spectre UV-Vis :* Le spectre UV-Vis d'une solution  $2.5 \times 10^{-5}$  M de THPP dans du DMSO en présence d'une solution tampon pH = 7.33 à différentes concentrations d'une solution de  $\beta$ -CD (0; 2.5; 4.5; 5;  $6 \times 10^{-4}$  M) est présenté sur la Fig. II.5.

*Formation du complexe d'inclusion THPP :  $\beta$ -CD :* L'ajout d'un excès d'une solution de  $\beta$ -CD à la solution de THPP, provoque des changements dans les propriétés photo-physiques de la THPP, en outre un léger déplacement accompagné par une augmentation dans les intensités d'absorbances en fonction de l'augmentation de la concentration de la  $\beta$ -CD dans le mélange, celles ci sont accompagnées par l'apparence du point isobestique vers 417 nm, ce qui suggère la formation d'un système supramoléculaire ou complexe d'inclusion d'une stœchiométrie et une constante de complexation précises [4].

*Détermination de la constante et l'ordre d'inclusion :* Afin de déterminer la constante et l'ordre de complexation caractéristique du THPP :  $\beta$ -CD, on trace une courbe  $1/\Delta A f(C_{\beta-CD}^n)$  [5], on se basant sur les résultats de la Fig. II.5 et la relation II.1

$$1/\Delta A = 1/K \cdot C_x \cdot \alpha \cdot 1/C_{\beta-CD}^n + 1/\alpha \cdot C_x \quad (II.1) [5]$$

Tel que  $\Delta A$  est la différence d'absorbance de la THPP en présence et en absence de la  $\beta$ -CD,  $C_x$  est la concentration initiale de la THPP,  $\alpha$  est le coefficient d'absorption du système supramoléculaire THPP :  $\beta$ -CD et  $K$  c'est la constante d'inclusion. La courbe  $1/\Delta A f(C_{\beta-CD}^2)$  Fig. II.6 est une droite d'équation mathématique de la forme :

## CHAPITRE II

### Synthèse et caractérisation des systèmes supramoléculaires THPP : $\beta$ -CD

$$Y = 3E - 06X + 5.085 \quad (\text{II.2})$$

Où  $E$  est la base décimale.

- Par superposition avec l'équation donnée ci-dessus, on a :

$$\begin{array}{ccc}
 \boxed{3E - 06 = 1/K \cdot C_x \cdot \alpha} & & \boxed{1/\alpha \cdot C_x = 5.085} \\
 \boxed{K = 1.695 \cdot 10^6 \text{ mol/l}} & \text{Et} & \boxed{\alpha = 7.866 \cdot 10^3}
 \end{array}$$

- Le ratio d'inclusion est donc 1 : 2 une THPP incluse dans deux  $\beta$ -CD avec une constante d'inclusion  $K = 1.695 \times 10^6 \text{ mol/l}$ , selon la supposition du schéma de la Fig. II.4.

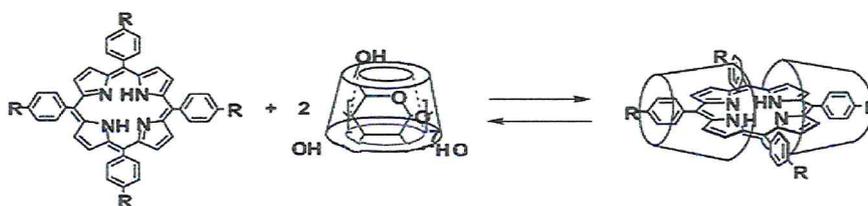


Fig. II.4: Représentation schématique du complexe d'inclusion THPP :  $\beta$ -CD<sub>2</sub>.

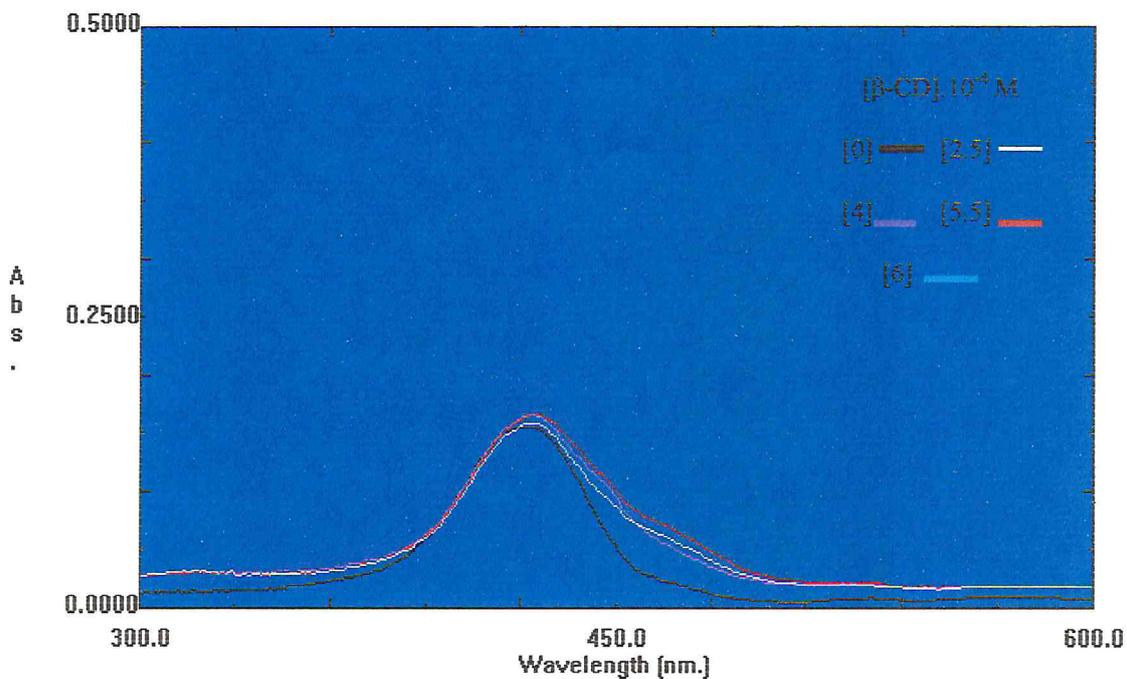


Fig. II.5: Spectre UV-Vis de la THPP  $2.5 \times 10^{-5} \text{ M}$  dans le DMSO à différentes concentrations de la  $\beta$ -CD 0; 2,5; 4; 5,5;  $6 \times 10^{-4} \text{ M}$ .

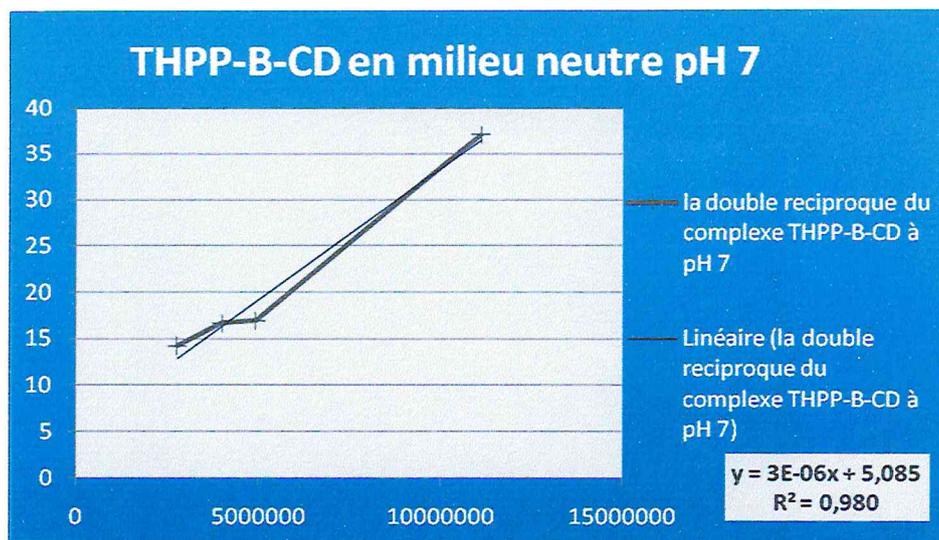


Fig. II.6: Double réciproque du THPP à différentes concentrations de la  $\beta$ -CD en pH 7.

### II-3-2- Conclusion de la synthèse

L'ajout d'un excès de  $\beta$ -CD à la solution de la THPP (ratio molaire THPP :  $\beta$ -CD 1 :100 ) dans une solution tampon pH neutre, donne lieu à la formation d'un système supramoléculaire ou d'un complexe d'inclusion THPP :  $\beta$ -CD due aux interactions électrostatiques entre les deux molécules. Justement Le point isobestique obtenu par l'étude spectroscopique UV-Vis suggère la formation du complexe d'inclusion d'une stœchiométrie et constante d'inclusion précises qui seront déterminées par la courbe double réciproque. Les résultats de notre travail dans les conditions citées au-dessus ont donné lieu à la formation d'un complexe d'inclusion THPP :  $\beta$ -CD « 1 : 2 »,  $K = 1.695 \times 10^{+6}$  mol/l selon le schéma proposé sur la Fig. II.7.

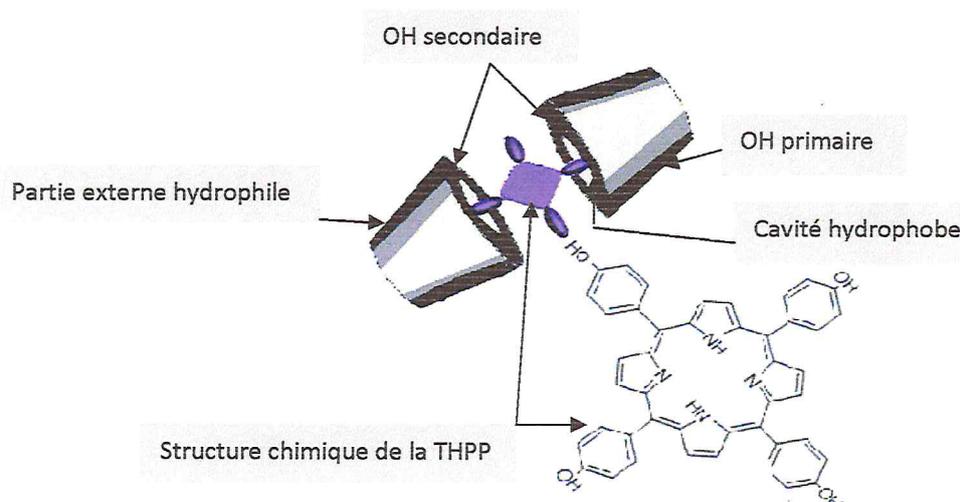


Fig. II.7 : Représentation schématique du complexe d'inclusion THPP :  $\beta$ -CD<sub>2</sub>.

#### **II-4- Synthèse et caractérisation des complexes d'inclusion M-THPP: $\beta$ -CD**

Afin de former des systèmes supramoléculaires d'ordre 1 : 1, un excès de  $\beta$ -CD a été ajouté à des faibles portions de M-THPP dans un milieu neutre. Ces nouvelles structures ont été caractérisées par spectrophotométrie UV-Vis.

##### ***II-4-1- Synthèse et caractérisation de la Fe(III)-THPP et Ni(II)-THPP***

###### ***A. Synthèse de la Fe(III)-THPP et Ni(II)-THPP***

Le Fer (III) et Ni(II) de Porphyrine ont été préparés par la metallation de la porphyrine THPP base libre par le métal Fer (III) et Ni(II) respectivement, le rapport ratio du système THPP : M est de 1 : 20.

###### ***➤ Mode opératoire***

Dans un ballon de 100 ml, on introduit 40 ml d'une solution 0.5 M de THPP dans EtOH absolue et 10 ml d'une solution 1 M de  $M(n)Cl_n$  dans EtOH absolue. On porte le mélange (THPP et  $M(n)Cl_n$ ) à reflux sous agitation et à température 60-68 C° pendant 3 h. On porte le mélange à température ambiante et on évapore le solvant, puis on dissout le produit sec obtenu dans 400 ml de  $CH_2Cl_2$ . Des impuretés de couleur marron sont observées, on les élimine par filtration. On lave le filtrat obtenu 3 fois par l'eau distillée chaude (70 C°) pour éliminer l'excès du  $M(n)Cl_n$ . On sépare les deux phases par décantation. On lave plusieurs fois la phase organique par une solution saturée de  $NaHCO_3$ , on la sèche par  $Na_2SO_4$  puis on filtre et on élimine le solvant sous vide afin de récupérer le solide.

On fait dissoudre la masse obtenue dans un volume approprié du DMSO afin d'obtenir une solution du M-THPP de concentration molaire  $10^{-5}M$ .

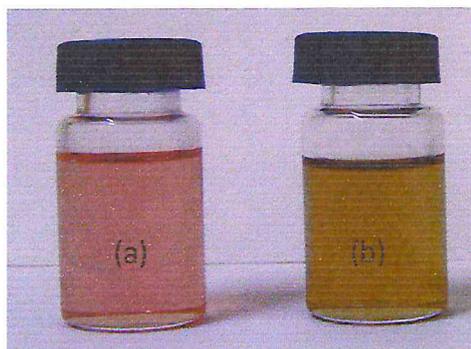
***➤ PS :  $M(n)Cl_n$  représente  $Fe(III)Cl_3$  et  $Ni(II)Cl_2$  respectivement.***

###### ***B. Caractérisation de la Fe(III)-THPP et Ni(II)-THPP***

###### ***1. Aspect physique***

Les métallo-porphyrines synthétisés sont des solutions transparentes de couleurs rouge-marron pour le Ni(II)-THPP et vert pour le Fe(III)-THPP. La Fig. II.8 (a et b)

représente une vue macroscopique des deux metalloporphyrines Fe(III)-THPP et Ni(II)-THPP respectivement.



**Fig. II.8 :** *Vue macroscopique des solutions de Ni (II)-THPP(a) et Fe(III)-THPP (b) dans DMSO.*

## 2. Caractérisation spectroscopique

**Spectre UV-Vis :** Les spectres UV-vis des solutions  $10^{-5}$  M de Fe(III)-THPP et Ni(II)-THPP dans du DMSO sont présentés sur la Fig. II.9 (a et b) respectivement. Les bandes vers 417 nm et 420 nm enregistrées sur le spectre UV-vis Fig. II.9 correspondent à la bande Soret de Ni(II)-THPP et Fe(III)-THPP respectivement qui est due à la transition  $a_{1u}(\pi)-e_g^*(\pi)$  [6]. Comparée à celle de la THPP à base libre, la bande Soret de Fe(III)-THPP ne fait apparaître aucun déplacement tandis que celle de Ni(II)-THPP est déplacée vers les petites longueurs d'ondes (du 424 vers 417 nm), cela est due à la délocalisation du système  $\pi$  de la Ni(II)-THPP qui génère une diminution dans la densité électronique de la Ni(II)-THPP. Le nombre des bandes Q attribuées aux transitions électroniques  $a_{2u}(\pi)-e_g^*(\pi)$  [6] observées dans le cas de la THPP (3 bandes Q) vers 515,550 et 593 nm a diminué dans le cas de Ni(II)-THPP (2 bandes Q) et aucune bande dans le cas du Fe(III)-THPP cela peut être justifié par la nouvelle forme de la THPP. Quand l'ion métallique se coordonne avec les atomes « N pyrroliques », la symétrie de la molécule augmente ce qui provoque une diminution dans le nombre des bandes Q, ce qui indique la formation de la porphyrine du métal correspondant [7], qui se fait en deux étapes :

Quand le métal est immergé dans une phase aqueuse, des molécules d'eau s'adsorbent sur sa surface, les molécules de la porphyrine s'adsorbent à leur tour à la surface du métal en remplaçant les molécules d'eau [8], cela est considéré comme la première étape d'interaction porphyrine-métal.

## CHAPITRE II

### Synthèse et caractérisation des systèmes supramoléculaires THPP : $\beta$ -CD

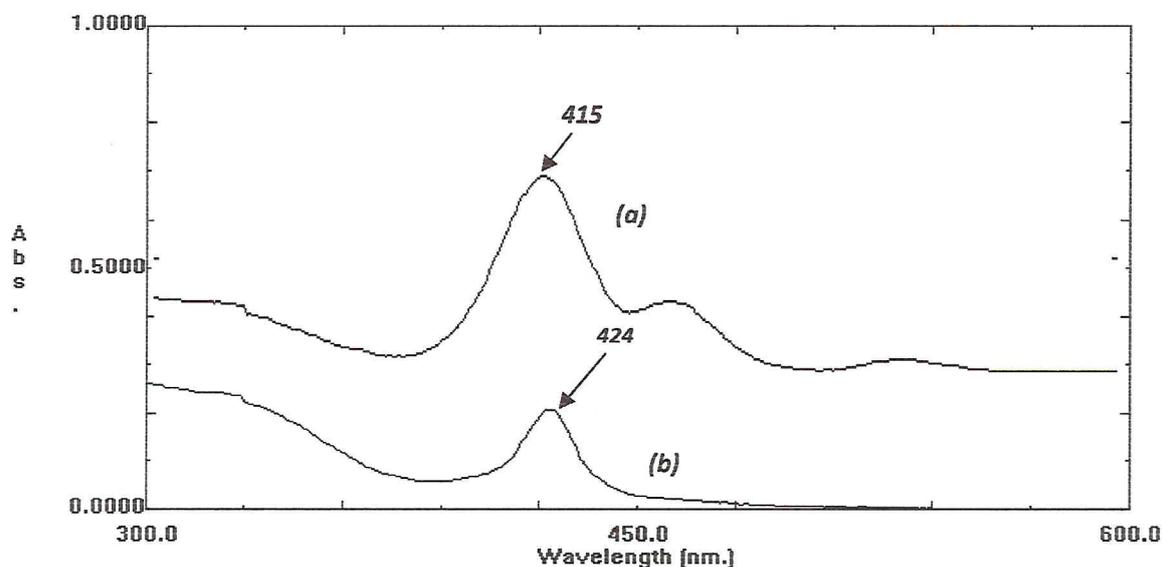


Dans la deuxième étape, la THPP à son état adsorbé peut former un complexe de coordination Fe(III) et complexe de coordination Ni(II) avec  $\text{Fe}^{3+}$  et  $\text{Ni}^{2+}$  respectivement sur la surface métallique.

Généralement, La caractérisation des métallo-porphyrines se fait par spectrophotométrie UV-Vis mais cela ne nous empêche pas de faire leur caractérisation par spectroscopie FTIR.

**Spectre FTIR :** Le spectre infrarouge de la THPP, Fe-THPP et Ni-THPP est représenté sur la Fig. II.10.

Le même squelette que celui de la THPP est rencontré dans le spectre des métallo-porphyrines, sauf que des petits changements sont observés, qui peuvent être attribués à la présence de l'ion métallique dans l'environnement porphyrinique. Un élargissement et déformation de la bande vers  $3440\text{cm}^{-1}$  attribuée à la vibration de d'allongement des groupements NH et OH  $\text{cm}^{-1}$ , cela suggère la présence de l'ion métallique dans l'environnement porphyrinique (*étirement et allongement*). Ainsi, un affaiblissement d'intensité dans la bande vers  $1445\text{cm}^{-1}$  attribuée à la vibration d'allongement du groupement C=N caractéristique de la THPP libre, cet affaiblissement suggère la formation des ponts métalliques.



**Fig. II.9 :** Spectre UV-Vis du a) Ni(II)THPP et du b) Fe(III)THPP dans DMSO.

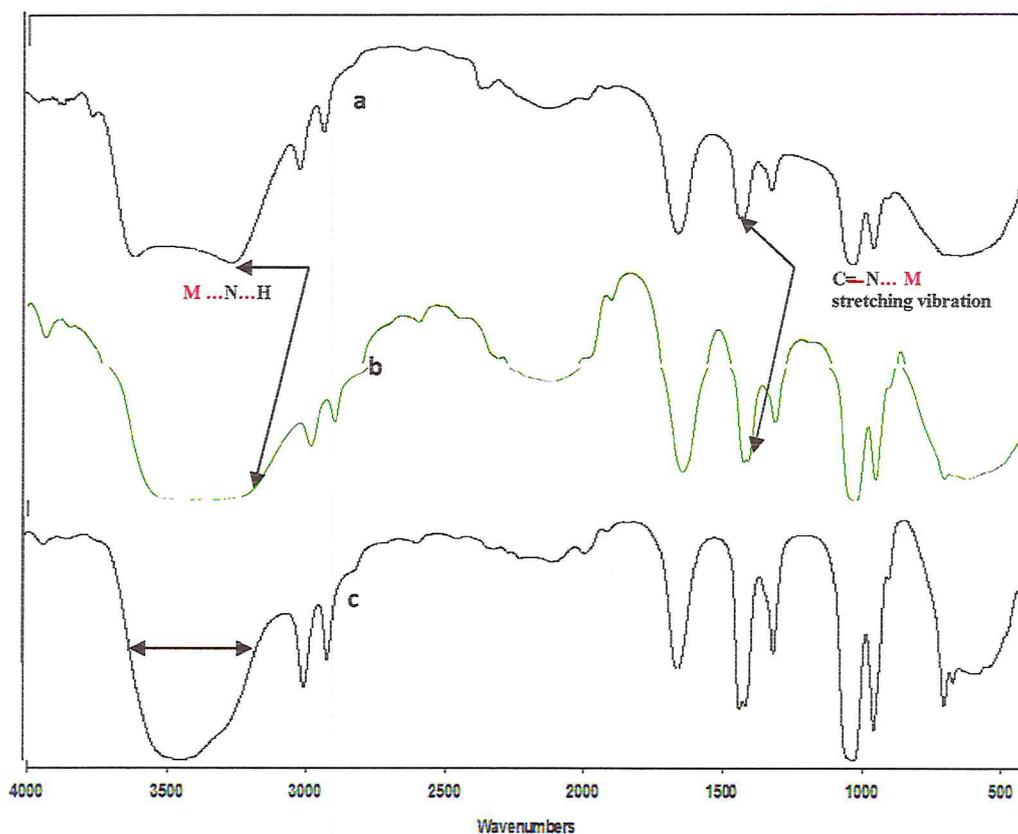


Fig. II.10 : Spectre de transmittance FTIR de a) THPP, b) Fe(III)THPP, c) Ni(II)THPP.

#### II-4-2- Synthèse et caractérisation des complexes d'inclusion M-THPP: $\beta$ -CD

M = Fe(III), Ni(II)

##### A. Synthèse des complexes d'inclusion M-THPP: $\beta$ -CD

M = Fe(III), Ni(II)

##### ➤ Mode opératoire

Une quantité de 1 ml de la solution  $2.5 \times 10^{-5}$  M de Fe(III)THPP ou de la solution  $2.5 \times 10^{-5}$  M de Ni(II)THPP dans du DMSO a été transférée dans un flacon de 10 ml, on introduit par la suite une quantité appropriée d'une solution 0.001 M de  $\beta$ -CD dans de l'eau distillée, on ajuste le pH par une solution tampon du phosphate pH = 7, on complète le volume avec de l'eau distillée. On agite le mélange pendant 30 min à température ambiante (20- 25 °C).

## CHAPITRE II

### *Synthèse et caractérisation des systèmes supramoléculaires THPP : $\beta$ -CD*

#### **B. Caractérisation des complexes d'inclusion M-THPP: $\beta$ -CD**

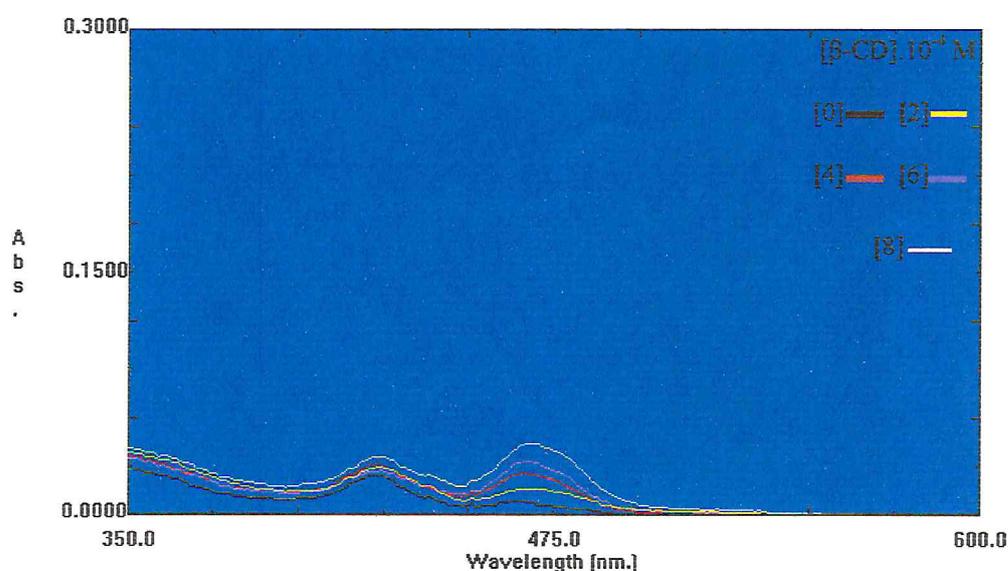
**M = Fe(III), Ni(II)**

**Spectre UV-Vis :** Les spectres UV-Vis des complexes d'inclusion de M-THPP :  $\beta$ -CD sont représenté sur la Fig. II.11 (a et b) respectivement.

**Formation des complexes d'inclusion M-THPP :  $\beta$ -CD :** Par l'ajout de la  $\beta$ -CD à la solution de M-THPP, des changements sont observés dans le spectre d'absorption UV-Vis :

**Cas de Fe(III)-THPP :** Un déplacement léger de l'absorbance maximale vers les grandes longueurs d'ondes [7] et une augmentation dans les intensités des absorbances des bandes B et Q ont été observés accompagnés par l'apparence d'un point isobestique vers 449 nm ,ce qui suggère la formation d'un système supramoléculaire [4] ou complexe d'inclusion d'une stœchiométrie et une constante de complexation précises.

**Cas de Ni(II)-THPP :** Un déplacement léger de l'absorbance maximale vers les grandes longueurs [7] d'ondes et une diminution dans les intensités des absorbances des bandes B et Q ont été observés accompagnés par l'appariation d'un point isobestique vers 400 nm, ce qui suggère la formation d'un système supramoléculaire [4] ou complexe d'inclusion d'une stœchiométrie et une constante de complexation précises.



**Fig. II.11. (a) :** Spectre UV-Vis de Fe(III)-THPP dans le DMSO dans différentes concentrations de la  $\beta$ -CD 0 ; 2 ; 4 ; 6 ; 8  $\times 10^{-4}$  ;  $10^{-3}$  M.

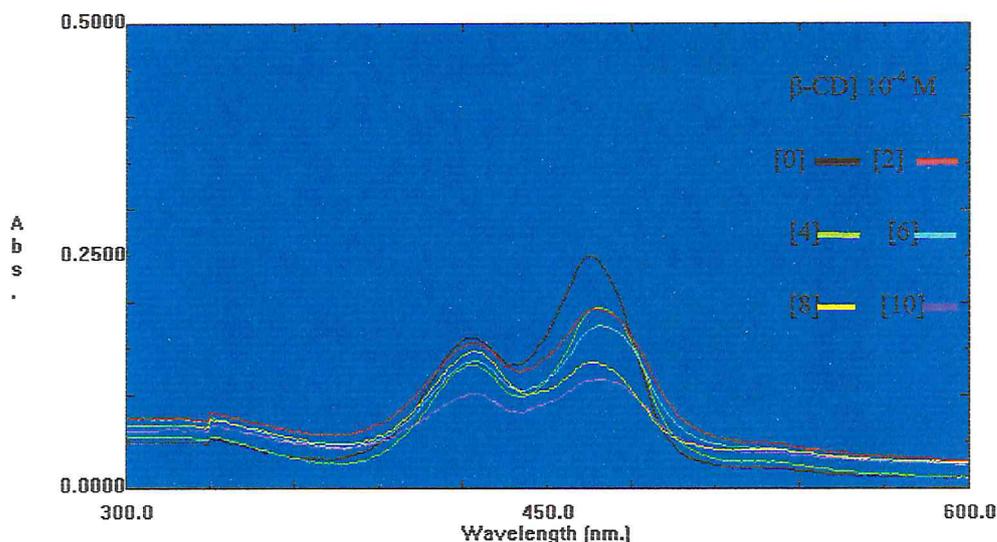


Fig. II.11. (b) : Spectre UV-Vis de Ni(II)-THPP dans le DMSO dans différentes concentrations de la  $\beta$ -C 0 ; 2 ; 4 ; 6 ; 8  $\times 10^{-4}$  ;  $10^{-3}$ -M.

**Détermination de l'ordre et la constante d'inclusion:** Afin de déterminer la constante et l'ordre de complexation caractéristique du M-THPP :  $\beta$ -CD, on trace une courbe  $1/\Delta A f(C_{\beta-CD}^{\alpha})$  [5] Fig. II.12.(a-b), en se basant sur les résultats de les Fig. II.11 a-b et la relation II.1, tel que  $\Delta A$  est la différence d'absorbance de la M-THPP en présence et en absence de la  $\beta$ -CD,  $C_x$  est la concentration initiale de la M-THPP,  $\alpha$  est le coefficient d'absorption du système supramoléculaire M-THPP :  $\beta$ -CD et K c'est la constante d'inclusion.

**Cas de Fe(III)THPP :** La courbe  $1/\Delta A f(C_{\beta-CD}^1)$  est une droite de la forme :

$$Y=9E-06X+1681 \quad (II.6)$$

Par superposition avec l'équation donnée ci-dessus, on a :

$$\begin{array}{ccc} \boxed{9E-06x = 1/K.C_x.\alpha} & & \boxed{1.681 = 1/.C_x.\alpha} \\ \boxed{K=1.86 \times 10^5 \text{ mol/l}} & \text{Et} & \boxed{\alpha = 2.97 \times 10^4} \end{array}$$

➤ Le ratio d'inclusion est donc 1 : 1 une Fe(III)THPP incluse dans une  $\beta$ -CD avec une constante d'inclusion  $K=1.86 \times 10^5 \text{ mol/l}$ , selon la réaction suivante :

## CHAPITRE II

### Synthèse et caractérisation des systèmes supramoléculaires THPP : $\beta$ -CD



*Cas de Ni(II)THPP* : La courbe  $1/\Delta A$  f( $C_{\beta\text{-CD}}^1$ ) est une droite de la forme :

$$Y = -2\text{E-}03X - 4.796 \quad (\text{II.8})$$

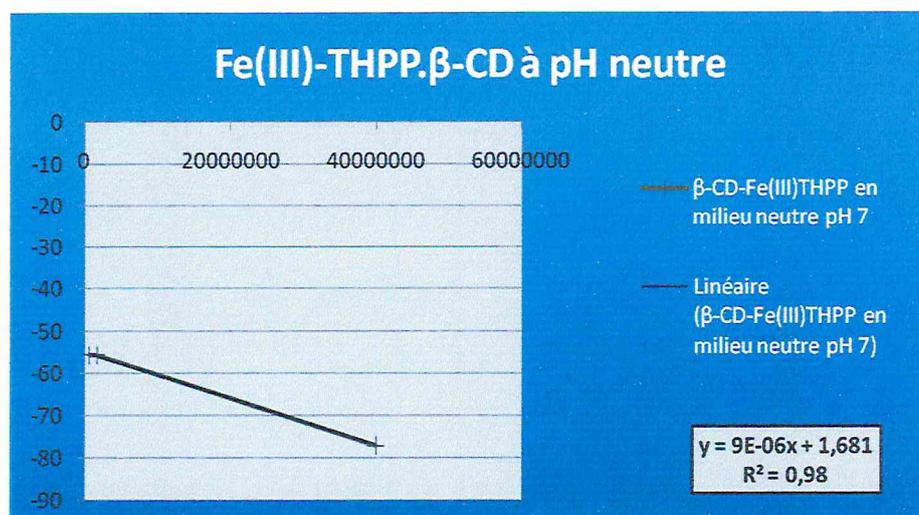
Par superposition avec l'équation donnée ci-dessus, on a :

$$\begin{array}{ccc} \begin{array}{l} -2\text{E-}03x = 1/K \cdot C_x \cdot \alpha \\ K = 2.398 \times 10^3 \text{ mol/l} \end{array} & \text{Et} & \begin{array}{l} -4796 = 1/C_x \cdot \alpha \\ \alpha = 1.042 \times 10^4 \end{array} \end{array}$$

- Le ratio d'inclusion est donc 1 : 1 une THPP incluse dans une  $\beta$ -CD avec une constante d'inclusion  $K = 2.398 \times 10^3$  mol/l, selon la réaction suivante :



- *Le complexe d'inclusion Fe(III)-THPP :  $\beta$ -CD*



**Fig. II.12.a :** Double réciprocité de Fe-THPP à différentes concentrations de la  $\beta$ -CD à pH 7.

➤ Complexe d'inclusion Fe(III)-THPP :  $\beta$ -CD

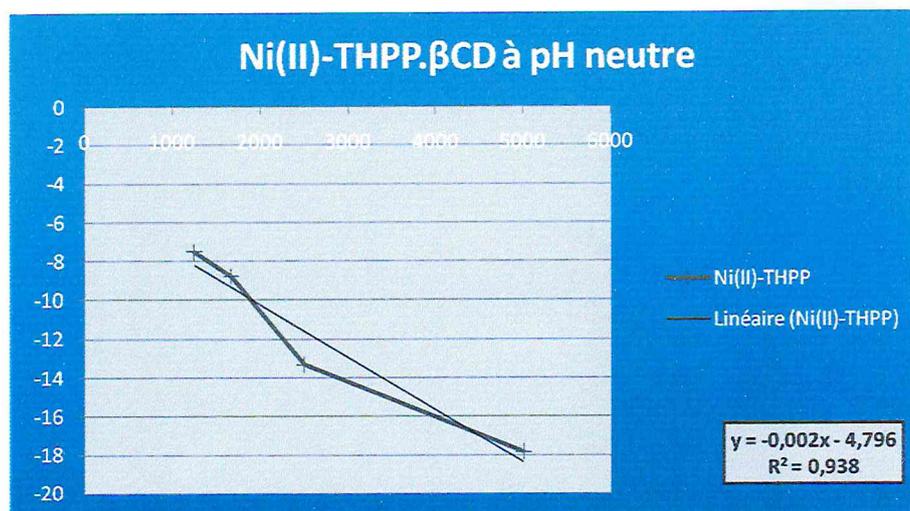


Fig. II.12.b. Double réciproque du Ni-THPP à différentes concentrations de la  $\beta$ -CD à pH 7.

C. Conclusion

Effectivement, L'ajout d'un excès de la  $\beta$ -CD à des métallo-porphyrines donne lieu à la formation des complexes d'inclusion 1 : 1 comme il est proposé sur le schéma II.13.

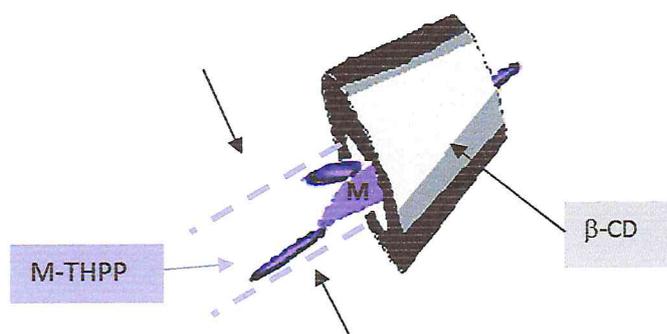


Fig. II.13: Représentation schématique du complexe d'inclusion M-THPP :  $\beta$ -CD 1 :1.

### Bibliographie:

- [1] Fagadar-Cosma E., Maranescu B., Enache C., Savii C. and Fagadar-Cosma G., Alternatives for obtaining of 5,10,15,20-tetrakis(4-hydroxyphenyl)-21H,23H-porphine. Physico-chemical characterization, *Revista de Chimie*, vol. 57, 2006, pp.1144-1147.
- [2] Fagadar-Cosma G., Badea V., Vlascici D., Fagadar-Cosma E. and Simon M., Analysis of some Derivatives of Tetraphenylporphyrin by FT-IR and Mass Spectrometry, *XIII<sup>th</sup> Symposium on Analytical and Environmental Problems*, SZAB- Szeged, Hungary, 25 September 2006, pp. 88-91.
- [3] X.Guo et al. / journal of photochemistry and photobiology A: Chemistry 173, 2005, pp. 258-263.
- [4] S. Hamai, T. Ohshida, J. Incl. Phenom. Macro. 50, 2004, pp.209.
- [5] s. Hamai, T. Ohshida, J. Incl. Phenom. Macro. 50, 2004, pp. 209.
- [6] Zhang, W. Q.; Shan, N.; Yu, L. X.; Wang, X. Q. UV-visible, Fluorescence and EPR Properties of Porphyrins and Metalloporphyrins. *Dyes Pigm.* 2008, 77, pp.153–157.
- [7] Zhang et al, J. Phys. Chem. A, Vol. 113, No. 18, 2009, pp.5368.
- [8] Chem. Bull. "POLITEHNICA" Univ. (Timișoara) Volume 52(66), 1-2, 2007.

# CHAPITRE III

---

*Synthèse et caractérisation des  
microparticules de HAP.  $\beta$ -CD :THPP*

#### III-1 Introduction

Des microsphères d'HAP de rayon moyen 10 μm ont été synthétisées par voie biomimétique dans le SBF à pH=9. Ces microsphères ont une grande gamme d'applications. Dans ce chapitre, notre objectif est d'encapsuler le système supramoléculaire THPP : β-CD dans ces microsphères (HAP/SBF) afin de synthétiser de nouveaux vecteurs hybrides dans le but d'assurer la stabilité et la libération du photosensibilisateur (THPP) dans les cellules tumorales pour le traitement du cancer par PDT. La cristallinité, les groupements fonctionnels caractéristique, le rayon et la morphologie des microsphères synthétisées sont caractérisées par: *Diffraction des Rayon X (RDX)*, *Infrarouge à Transformée de Fourier (FT-IR)*, *Granulométrie Laser (GL)* et la *Microscopie à Balayage Electronique (MEB)*.

#### III-2 Synthèse de l'Hydroxyapatite dans le SBF

Les solutions du  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  dissous dans le SBF et le  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  dissous dans le SBF sont utilisées pour la préparation de l'HAP comme des précurseurs de calcium et de phosphate respectivement, la solution de triéthanolamine est utilisée pour maintenir le pH. L'Hydroxyapatite synthétisé par voie biomimétique est préparé pour avoir un rapport stœchiométrique Ca/P=1.67.

##### *A. Préparation du liquide physiologique simulé (SBF)*

Le SBF est une solution saline, possédant un pH neutre et libre d'enzymes, sa préparation se fait selon le protocole expérimental suivant [1] :

- On lave la verrerie avec l'HCl (1M), Puis avec l'eau distillée.
- On met une quantité de l'eau distillée dans un flacon en polyéthylène pour dissoudre les réactifs suivant en quantité bien définie pour avoir les mêmes concentrations en ion que le plasma sanguin :

NaCl,  $\text{NaHCO}_3$ , KCl,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ,  $\text{MgCl}_2$ .

- On Ajoute du HCl (1M).
- On Ajoute les réactifs ;  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ .
- On Titre avec HCl jusqu'à pH=7.4.
- On Ajoute  $(\text{HO CH}_2\text{CH}_2)_3\text{N}$  à T=37°C.
- On Transforme la solution dans une fiole jaugée de 1000 ml et on complète avec l'eau distillée jusqu'au trait de jauge.

### CHAPITRE III

#### *Synthèse et caractérisation des microparticules de HAP.β-CD : THPP biomimétiquement*

- On Maintien le pH à 7.4 à une T=37°C.
- On Conserve au réfrigérateur à 5°C dans un flacon en polyéthylène.

#### **B. Protocole de synthèse de l'HAP**

La procédure adoptée a été rapportée par [5, Bal, Rahmani et Maachou] qui peut être décrite selon l'organigramme de la Fig.III. 1.

##### ➤ *Mode Opérateur*

Dans un ballon Bicol de 250 ml, on introduit un volume de 100 ml d'une solution de  $\text{CaCl}_2$  de 0.51 M dans le SBF, on ajoute à cette solution goutte à goutte et sous agitation un volume de 13.4 ml d'une solution de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  de 2.29 M dans le SBF tout en maintenant le pH à 9. On porte le mélange réactionnel à reflux sous agitation à une  $T^\circ = 85^\circ\text{C}$  pendant 30 min. Un précipité blanc est récupéré sous vide puis séché à une température entre 30-37  $^\circ\text{C}$ . En fin, on disperse doucement les petits cailloux jusqu'à l'obtention d'une poudre fine blanche.

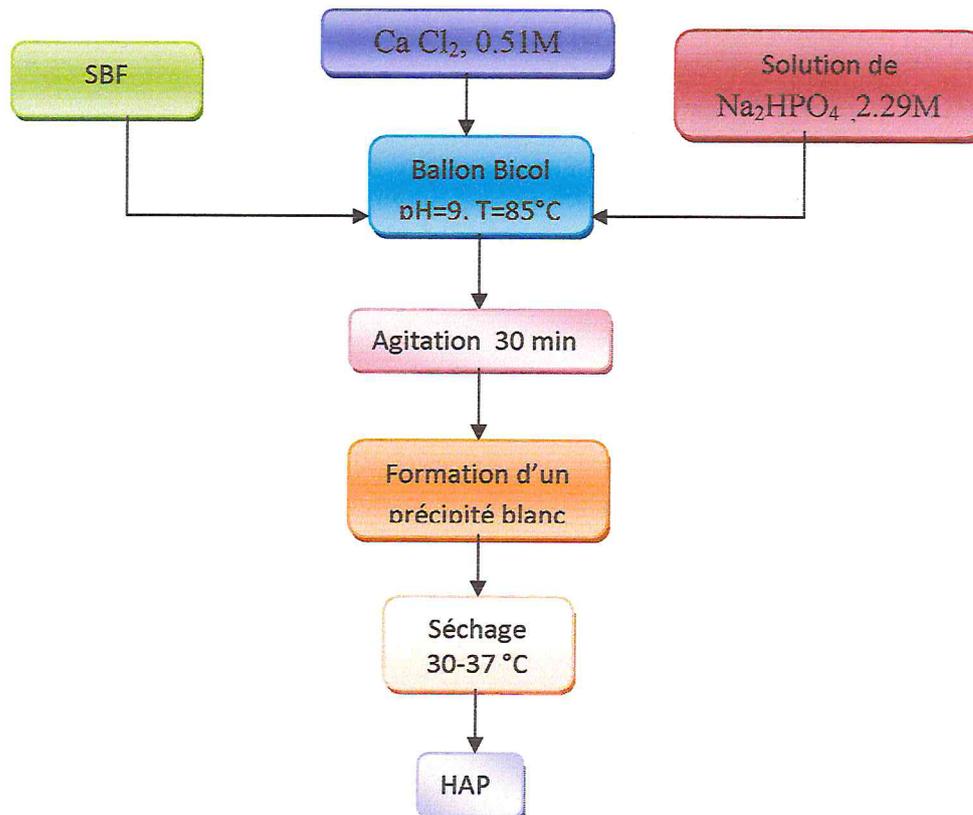


Figure III.1: Organigramme de synthèse de l'HAP

**C. Caractérisation de l'Hydroxyapatite :**

La réaction chimique de la synthèse de l'hydroxyapatite peut être décrite par la réaction suivante :



**1. Aspect physique**

L'HAP se trouve sous forme de poudre, blanche, fine, sans odeur caractéristique. La Fig.III.2 représente une vue macroscopique de l'HAP.



**Fig. III.2:** *Vue macroscopique de l'HAP/SB synthétisé*

**2. Caractérisation structurale**

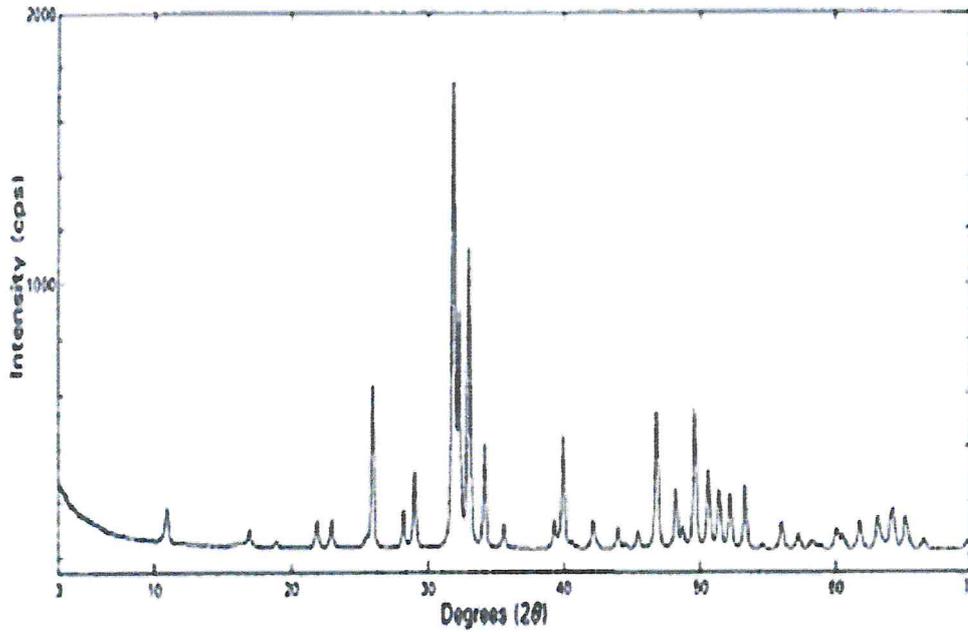
**Diffraction des rayons X :** Les pics caractéristiques de l'échantillon analysé par RDX appartenant à la gamme  $20^\circ < 2\theta < 60^\circ$  Fig. III.4 correspondent à la diffraction du HAP standard (JCPDS 09-432) par RDX (Fig. III.3). L'apparition des pics caractéristiques de  $\text{PO}_4^{3-}$  à  $2\theta = 31.73, 32.23$  et  $32.93$  suggère la cristallinité de la structure apatite, comme ils apparaissent d'autres pics tels le pic caractéristique du groupement OH à  $26.07^\circ$  et ceux de l'eau absorbée H-O-H à  $45.49^\circ$  ainsi que le pic caractéristique du  $\text{CO}_3^{2-}$  à  $50.73^\circ$  qui est en faible portion et qui n'influe pas sur la cristallinité de la forme apatite. Ainsi, La présence des pics étroits indique une cristallinité plus ou moins élevée [2, 3, 4].

**La spectroscopie d'absorption infrarouge FTIR:** La bande large vers  $3446 \text{ cm}^{-1}$  est attribuée à l'eau adsorbée. Les deux pics vers  $1637$  et  $637 \text{ cm}^{-1}$ , ils sont attribués à la vibration de déformation du groupement OH<sup>-</sup> due à la présence de l'eau associée avec l'HAP. La présence des pics vers  $1467$  et  $874 \text{ cm}^{-1}$  suggère la présence des ions carbonates  $\text{CO}_3^{2-}$  (on

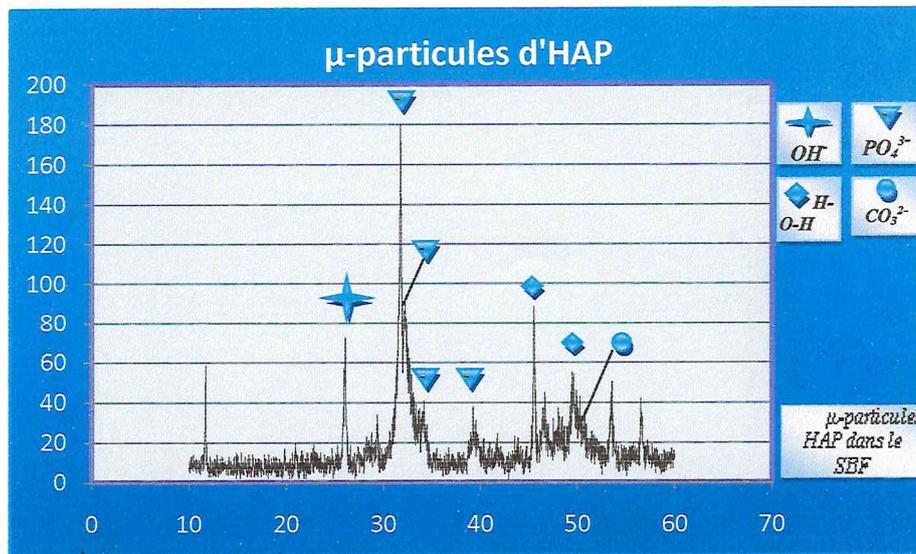
### CHAPITRE III

#### *Synthèse et caractérisation des microparticules de HAP.β-CD : THPP biomimétiquement*

suppose que leur source est le SBF et l'air lors le processus de précipitation) et à la fin, les pics vers 1040, 1095, 965 et 569  $\text{cm}^{-1}$  correspondent aux ions  $\text{PO}_4^{3-}$  [2, 3, 4].



**Fig. III.3:** *Diffractogramme RDX standard du calcium hydroxyapatite*



**Fig. III.4:** *Diffractogramme RDX de l'HAP dans le SBF*

### CHAPITRE III

#### Synthèse et caractérisation des microparticules de HAP- $\beta$ -CD : THPP biomimétiquement

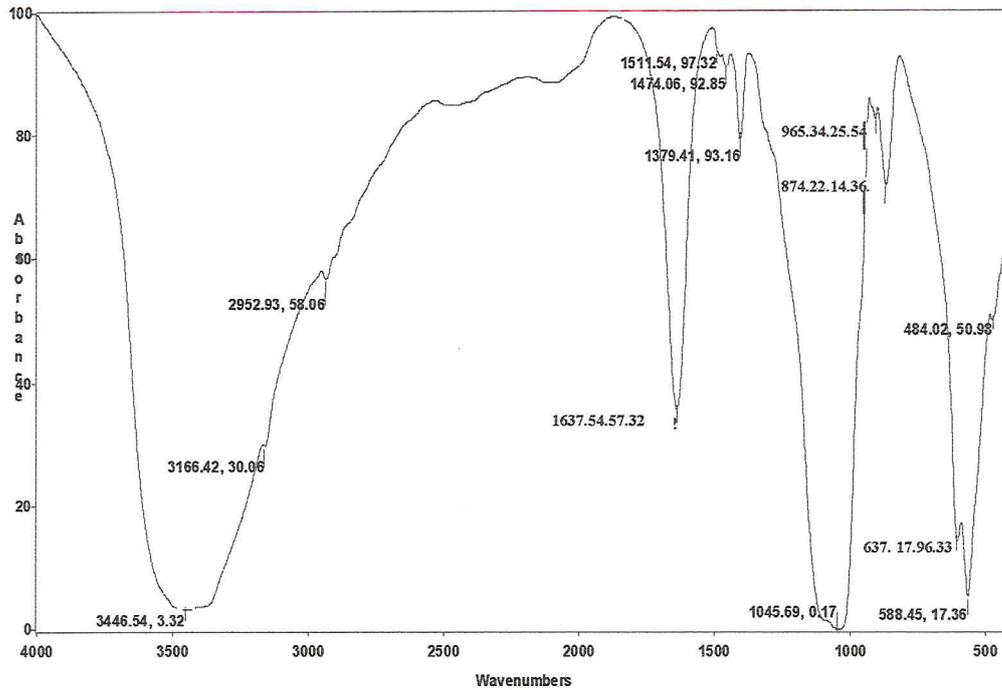


Fig. III.5: Spectre FTIR de l'HAP dans le SBF.

Bandes FTIR	$\nu$ ( $\text{cm}^{-1}$ )	$2\theta$	I (%)
H-O-H	3446	45.49	88
$\nu(\text{OH})$	1637	26.07	73
	637		
$\text{CO}_3^{-2}$	1474	50.73	36
	874		
$\nu(\text{PO}_4^{3-})$	1045	31.73	180
	965	32.23	92
	588	32.93	41

Tab III.1: Les principales bandes et angles de diffractions de l'HAP/SBF à 37°C

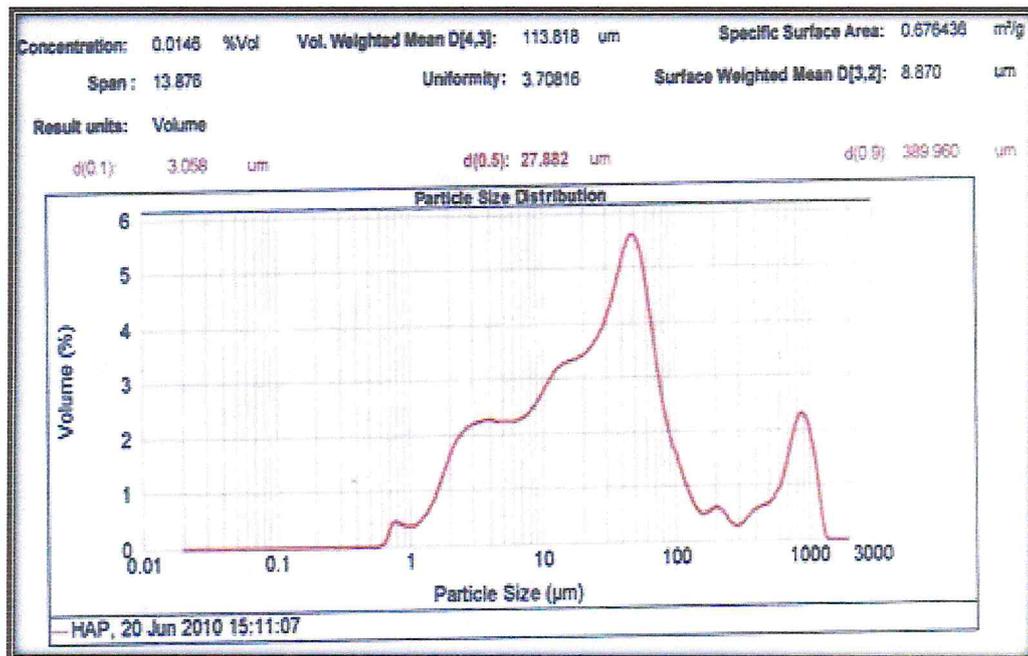
**Granulométrie laser :** La distribution granulométrique de la poudre HAP/SBF immergée dans l'eau minérale (élément dispersant), a été déterminée par granulométrie laser est présentée sur la Fig.III.6.

### CHAPITRE III

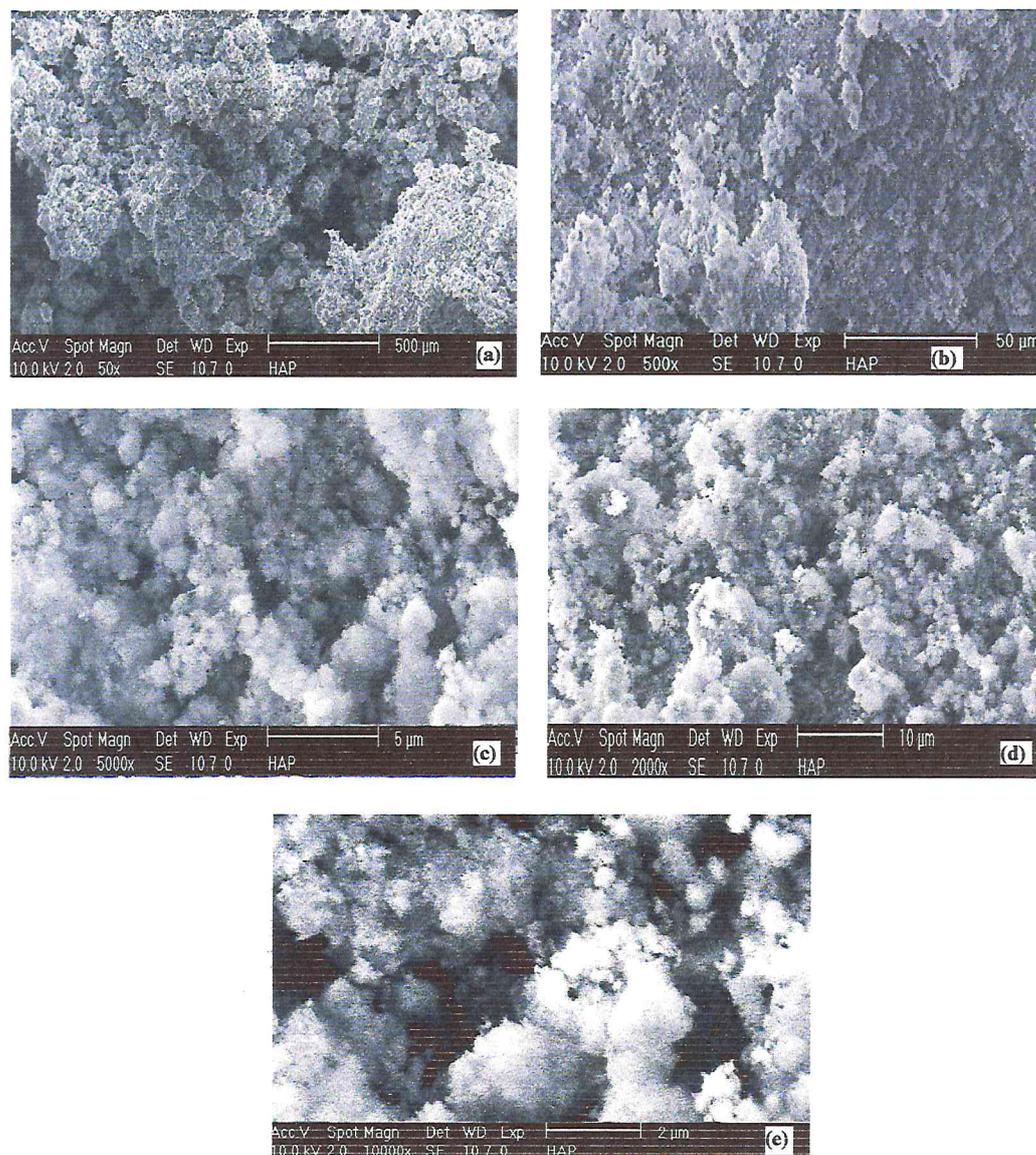
#### *Synthèse et caractérisation des microparticules de HAP.β-CD : THPP biomimétiquement*

La courbe Volume (%) = f (taille de la particule (μm)), fait apparaître que les particules de l'Hydroxyapatite synthétisées dans le SBF ont une surface spécifique  $S_s = 0.67 \text{ m}^2/\text{g}$  et des tailles comprises entre 3.0 et 389.9 μm d'où la taille moyenne est de 27.8 μm.

**Microscopie à balayage électronique MEB :** La Fig. III.7 représente l'analyse par Microscopie à Balayage Electronique MEB avec différents agrandissements de microparticules d'HAP/SBF. Un agrandissement de 50 (Fig. III.7.a) fait apparaître un assemblage de petits grains de différentes tailles et formes formants des structures semblables à celles des roches ou roses de sable. L'examen des mêmes espèces avec un agrandissement plus grand 500 (Fig III.7. b), fait apparaître l'architecture macroporeuse d'HAP/SBF. Des examens plus approfondis sur les mêmes microparticules d'Hydroxyapatite avec différents agrandissements partants de 2000,5000 à 10000 (Fig. III.7.c, d et e) respectivement, permettent d'identifier la morphologie épongee et sphérique des microsphérulites étudiées avec des tailles comprises entre 0.4 et 3.3 μm.



**Fig. III.6:** Diagramme granulométrie laser des microparticules de HAP/SBF



**Fig.III.7:** *MEB des micro/nanoparticules d'HAP biomimétique*

### **III-3 Encapsulation de THPP:β-CD par HAP par voie biomimétique**

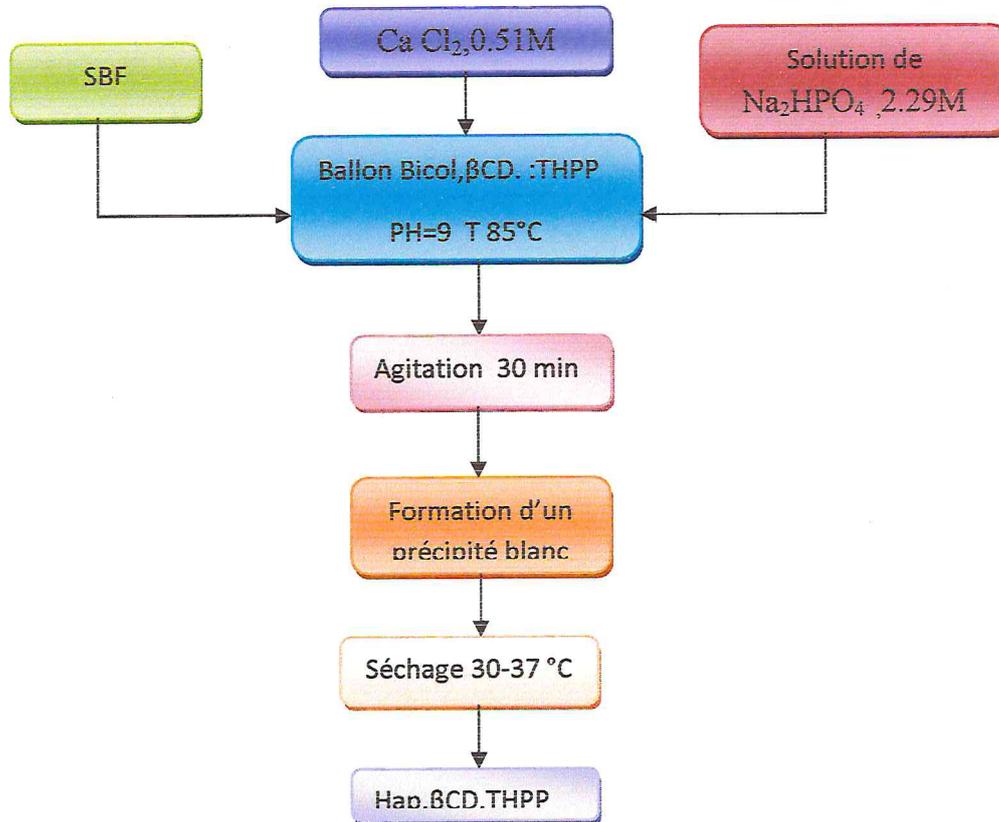
#### ➤ *Mode opératoire*

Dans un ballon Bicol, on introduit 100ml d'une solution 0.51 M de  $\text{CaCl}_2$ , 20 ml du complexe THPP : β-CD en ajoutant goutte à goutte et sous agitation 13,4 ml d'une solution 2.29 M de  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ , on maintient le pH du milieu réactionnel à pH 9 puis on le porte à reflux sous agitation à  $T^\circ = 85^\circ\text{C}$  pendant 30 min. On récupère le précipité blanc, sous vide .On

### CHAPITRE III

#### *Synthèse et caractérisation des microparticules de HAP.β-CD : THPP biomimétiquement*

sèche ce dernier à température 30-37°C. On disperse les petits cailloux jusqu'à l'obtention d'une poudre fine.



**Figure III.8 :** Organigramme de synthèse des micro/nanoparticules d'HAP.β-CD.THPP

La formation des nouvelles espèces, se fait en deux étapes, qu'elles peuvent être décrites par les relations III.2 et III.3 respectivement :

- *Etape (1) :*



- *Etape (2) :*



#### III-3-1- Caractérisation des micro/nanoparticules d'HAP.β-CD :THPP

##### *a) Aspect physique :*

Les microparticules d' HAP.β-CD :THPP synthétisées par voie biomimétique se trouvent sous forme de poudre , blanche, fine et sans odeur caractéristique. Fig.III.9 représente une vue macroscopique d'HAP.β-CD :THPP.



Fig. III.9 : *Vue macroscopique de l'HAP synthétisé*

##### *b) Caractérisation structurale*

**Diffraction des rayons X :** les pics caractéristiques dans l'intervalle  $20^\circ < 2\theta < 60^\circ$  d'HAP.β-CD :THPP/SBF sont présentés sur la Fig.III.10. Dans la majorité des points les pics sont devenu plus étroits et plus intenses en intensité, cela indique que la cristallinité est plus ou moins bonne. Sauf que l'intensité du pic  $2\theta = 31.73$  est devenue moins intense 180 - 160 %, cette diminution dans l'intensité de ce pic indique la diminution dans la cristallinité au niveau de ce point qui peut être attribué à la formation des ponts d'hydroxyles P-OH durant le processus de la préparation de THPP :β-CD encapsulé par HAP dans le SBF.

**La spectrométrie d'absorption infrarouge :** Le spectre FTIR de la poudre synthétisée d'HAP.β-CD :THPP/SBF est présenté sur la Fig.III.11. Le pic caractéristique de OH<sup>-</sup> vers 3446 vibration stretching est déplacé par  $11 \text{ cm}^{-1}$  cela indique qu'il ya une interaction de coordination entre le  $\text{Ca}^{2+}$  et THPP :β-CD plus précisément entre  $\text{Ca}^{2+}$  et β-CD, ce résultat montre que le groupement OH<sup>-</sup> de la β-CD est le site d'interaction major entre la β-CD et  $\text{Ca}^{2+}$ . Ainsi il est remarqué que des changements apparaissent sur les pics caractéristiques du

### CHAPITRE III

#### Synthèse et caractérisation des microparticules de HAP- $\beta$ -CD : THPP biomimétiquement

$\text{PO}_4^{3-}$  d'où la disparition du pic caractéristique du  $\text{PO}_4^{3-}$  vers  $967\text{ cm}^{-1}$  et la bande vers  $1040\text{ cm}^{-1}$  attribuée au OH vibration de  $\beta$ -CD est devenue plus large cela est du à l'augmentation du nombre de pants OH entre le  $\beta$ -CD et l'HAP, ainsi il apparait un nouveaux pic vers  $880\text{ cm}^{-1}$  attribué à la nouvelle la formation d'une nouvelle liaison P-OH [5].

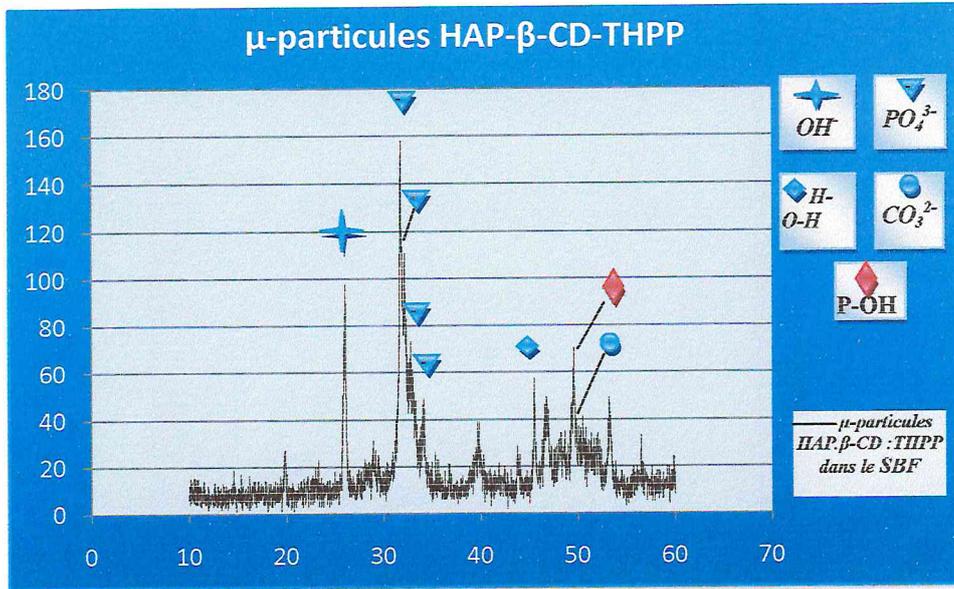


Fig.III.10: Diagramme DRX d' HAP- $\beta$ -CD : THPP dans le SBF

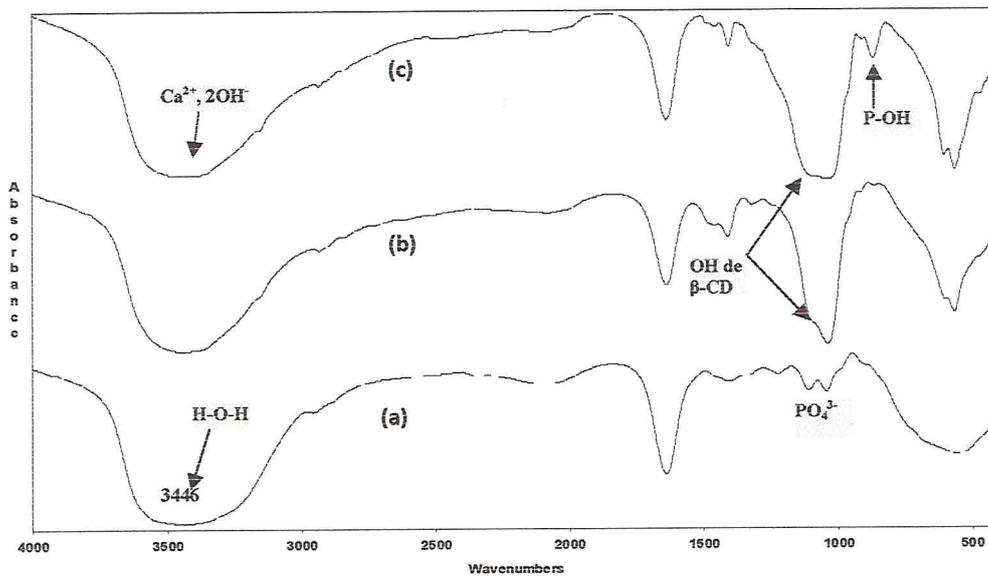


Fig.III. 11 : Spectre FTIR de a) THPP :  $\beta$ -CD, b) HAP /SBF et c) HAP- $\beta$ -CD : THPP

### CHAPITRE III

#### *Synthèse et caractérisation des microparticules de HAP.β-CD : THPP biomimétiquement*

**Granulométrie laser:** La distribution granulométrique de la poudre HAP.β-CD:THPP/SBF immergée dans l'eau minérale (élément dispersant), a été déterminée par granulométrie laser est présentée sur la Fig.III.12. La courbe Volume (%) = f (taille de la particule (μm)), fait apparaître que les nouvelles microparticules synthétisées ont une surface spécifique  $S_s = 0.93 \text{ m}^3/\text{g}$  et des tailles comprises entre 2.4 et 34.8 μm d'où la taille moyenne est de 10.4μm.

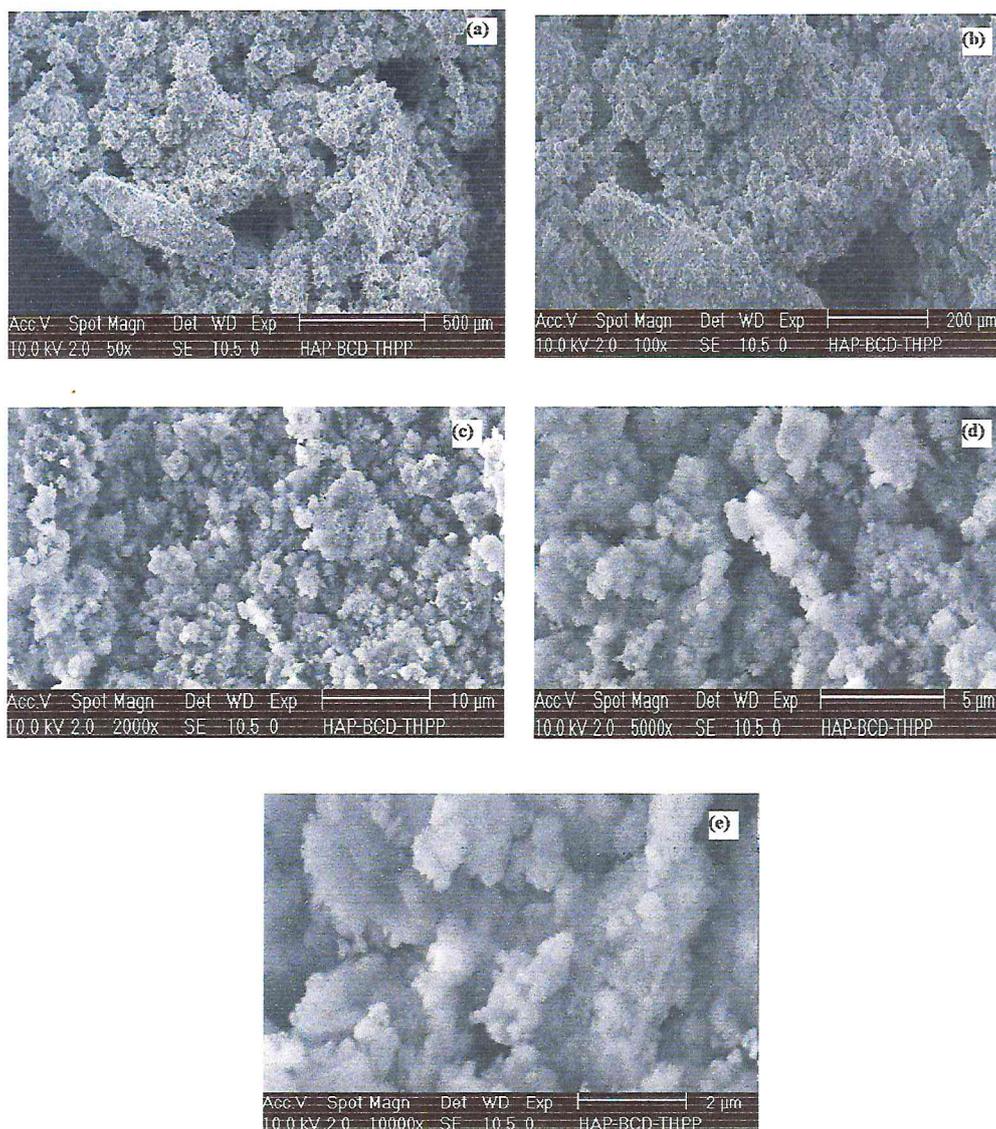
#### **Microscopie à balayage électronique MEB :**

La Fig. III.13 représente l'analyse par Microscopie à Balayage Electronique MEB avec différents agrandissements des microparticules HAP.β-CD : THPP/SBF. Des agrandissements de 50 et 100 (Fig. III.13.a-b) respectivement font apparaître un assemblage de petits grains de différentes tailles et formes. L'examen des mêmes espèces avec différents agrandissements 2000, 5000 et 10000 Fig. III.13. (c , d et e) respectivement permettent d'identifier la morphologie époncée des microsphérulites étudiées avec des tailles comprises entre 0.4 et 1.1 μm.

Donc, effectivement si on fait une petite comparaison, on constatera que la morphologie des grains d'HAP/SBF sans la présence du complexe supramoléculaire a une morphologie moyennement régulière et les grains ou granules s'agglomèrent. En présence du complexe supramoléculaire THPP :β-CD les particules deviennent plus sphériques et leur surface devient plus régulière et bien évidemment la taille des particules devient plus petite.



**Fig. III.12:** *Diagramme granulométrie laser des microparticules d'HAP.β-CD : THPP/SBF*



**Fig.III.13 :** MEB des micro/nanoparticules d'HAP.β-CD :THPP biomimétique

### III-3-2-Conclusion

Des microsphères ou sphérulites d'HAP.β-CD:THPP /SBF ont été synthétisées par voie biomimétique dans un milieu alcalin pH=9. Ces sphérulites de taille comprise entre 4-3.3 μm ont été synthétisées à base de  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  et  $(\text{NH}_4)_3\text{PO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  comme sources du phosphate et du calcium et le THPP : β-CD comme principe actif encapsulé. Des changements du rayon, de cristallinité et de surface spécifique d' HAP sont constatés par l'ajout du THPP : β-CD ces changements sont attribués à la formation de nouvelles microsphères avec un diamètre de 0.4 à 1.1μm. La formation de ces dernières est le résultat des interactions entre l'HAP et le groupement OH<sup>-</sup> de la β-CD.

## **Bibliographie**

---

### **Bibliographie :**

- [1] Tas A C, "Biomimetic Synthesis of Carbonated Calcium Hydroxyapatite Powders at 37°C with Urea- or Enzyme Urease-containing Synthetic Body Fluids," Patent Pending, No:99/00037, Turkish Patent Institute, Ankara, Turkey, January 11, 1999.
- [2] Ebrahim pour E, Johnson M, Richardson C F, Nancollas G H, "The Characterization of HA Precipitation," J. Coll. Int. Sci., 159: 158-63, 1993.
- [3] Lazic S, "Microcrystalline Hydroxyapatite Formation from Alkaline Solutions," J. Cryst. Growth, 147: 147-54, 1999.
- [4] Asada M, Miura Y, Osaka A, Oukami K, Nakamura S, "Hydroxyapatite Crystal Growth on Calcium Hydroxyapatite Ceramics," J. Mat. Sci., 23: 3202-5, 1988.
- [5] Jarcho M, Bolen C H, Thomas M B, Babock J, Kay J F, Doremus R H, "Hydroxyapatite Synthesis and Characterization in Dense Polycrystalline Form," J. Mat. Sci., 11: 2027-35, 1976.

# CHAPITRE IV

---

*Synthèse et caractérisation des  
nanoparticules de CS.β-CD :THPP/TPPS*

## CHAPITRE IV

### *Synthèse et caractérisation des nanoparticules du CS.β-CD : THPP/TPPS*

#### IV-1 Introduction

Dans le but de former de nouveaux vecteurs hybrides à l'échelle nanométrique, des nanoparticules de CS.β-CD : THPP ont été synthétisées puis caractérisées par spectroscopie FTIR et le MEB.

#### IV-1 Synthèse et caractérisation des nanoparticules de CS/TPPS

##### IV-1-1 Synthèse des nanoparticules de CS/TPPS

➤ *Mode opératoire :*

Dans un bêcher, on introduit 2 ml d'une solution aqueuse du TPPS (1.125 mg/ml) et une quantité appropriée d'une solution aqueuse de CS (0.2% m/v, pH4.9), on maintient l'agitation pendant 10 min à température ambiante puis on isole les nanoparticules formées par centrifugation dans le glycérol (16.000xg, 30 min, 25°C).



Fig. IV.1 : Synthèse des Nps du CS par la méthode de la gélotion

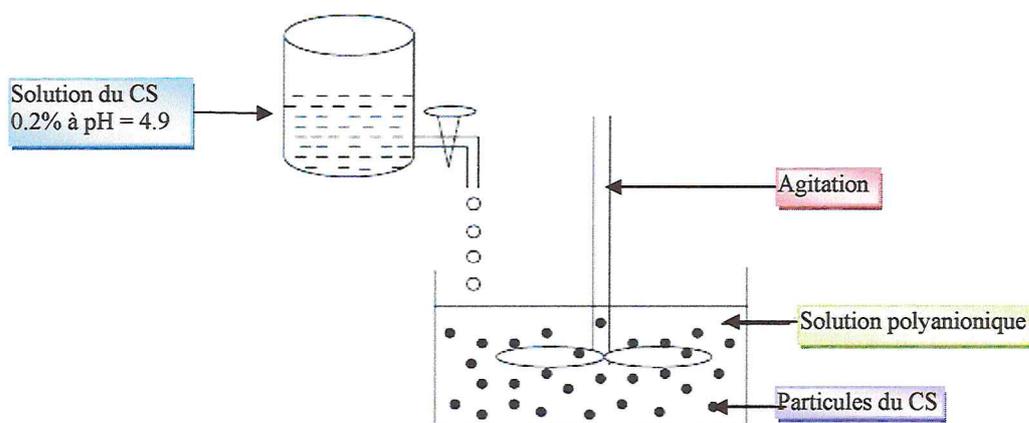


Fig. IV.2 : Principe de la technique [1]

IV-1-2- Caractérisation des nanoparticules du CS/TPP

a) Aspect physique

Les Nps du CS.TPPS obtenues sont des petites particules blanches opaques, sans odeur caractéristique, suspendues en solution, isolées par centrifugation dans le glycérol sous forme de gel. La Fig. IV.3 représente une vue macroscopique des nanoparticules du CS/TPPS suspendues dans le glycérol.

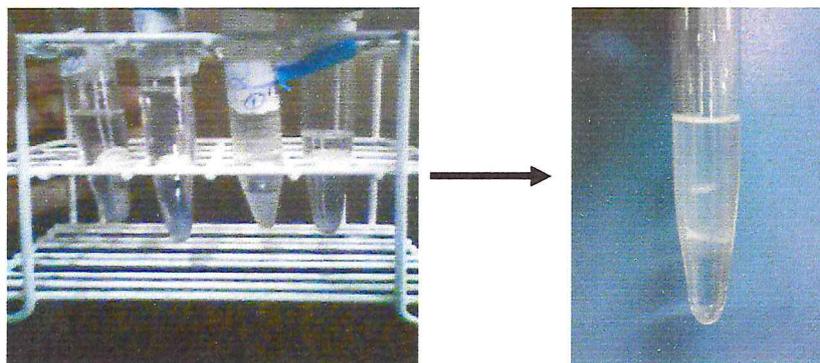


Fig. IV.3 : Vue macroscopique des NPS du CS/TPPS

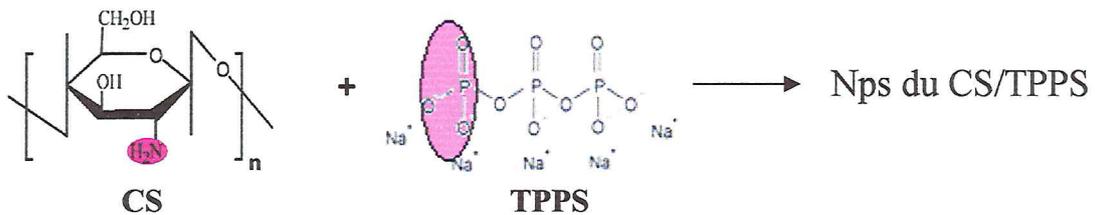


Fig.IV.4: Réaction de la formation des Nps du CS/TPPS

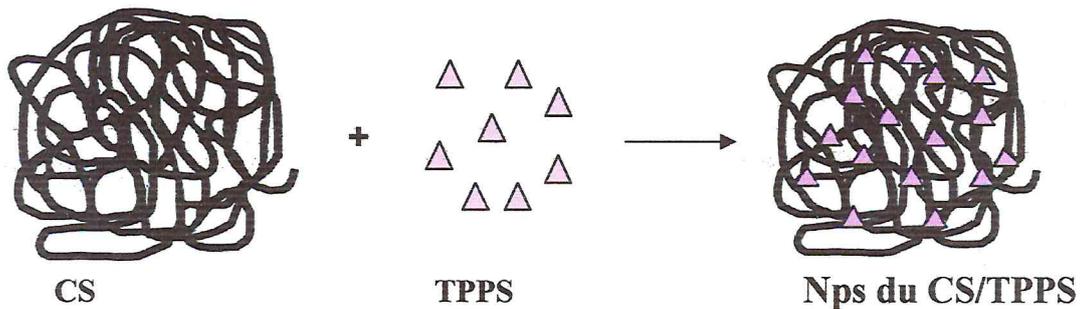


Fig.IV.5: Représentation schématique de la formation des Nps du CS/TPPS

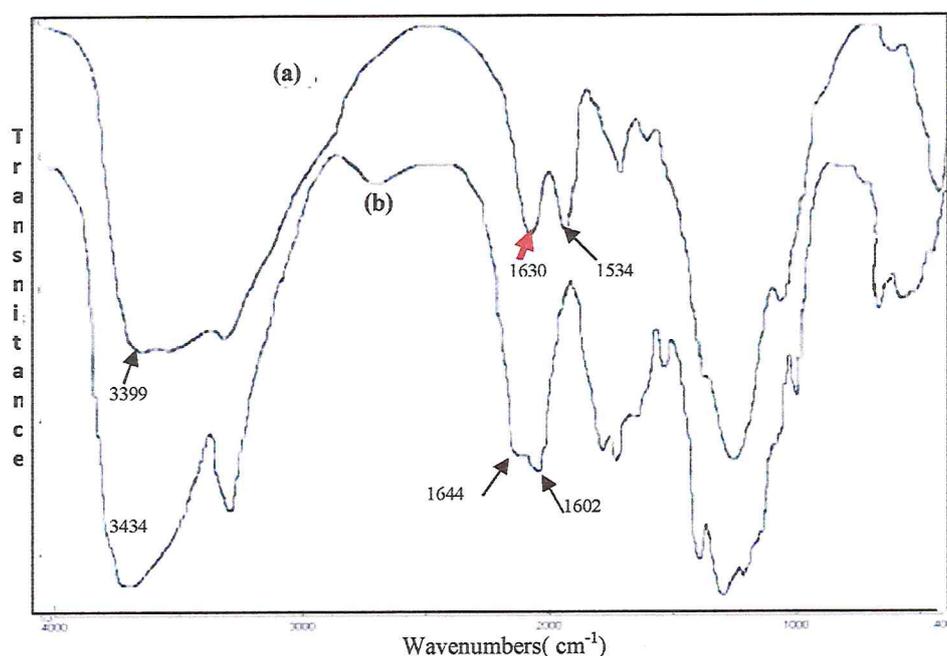
## CHAPITRE IV

### *Synthèse et caractérisation des nanoparticules du CS.β-CD : THPP/TPPS*

#### *b) Caractérisation spectroscopique :*

**Spectre FTIR:** La Fig. IV.4 représente le spectre FTIR de : (a) Nps du CS et (b) CS.

La bande vers  $3434\text{ cm}^{-1}$  est attribuée à la vibration d'allongement des groupements  $-\text{NH}_2$  et  $-\text{OH}$  du chitosane. Dans le spectre des Nps du CS un déplacement de la bande  $3434\text{ cm}^{-1}$  vers  $3399\text{ cm}^{-1}$  et un élargissement observé sur le pic vers  $3399\text{ cm}^{-1}$ , cela indique l'augmentation du nombre des ponts d'hydrogène. Dans le spectre Nps du CS, le pic vers  $1602\text{ cm}^{-1}$  attribué à la vibration de déformation du groupement  $\text{NH}_2$  est déplacé vers  $1534\text{ cm}^{-1}$  et le pic vers  $1644\text{ cm}^{-1}$  attribué au groupement acétyle amine est disparu et un nouveau pic apparaît vers  $1630\text{ cm}^{-1}$  cela est due à la désacétylation du groupement amine ce qui indique provoquée par la liaison formée entre le groupement phosphorique du TPPS et le groupement ammonium du CS, l'effet inter et intramoléculaire est augmenté dans les cas des Nps du CS.[2, 3]



**Fig. IV.6:** *Spectre FTIR des Nps du CS (a) et CS (b)*

## CHAPITRE IV

### *Synthèse et caractérisation des nanoparticules du CS.β-CD : THPP/TPPS*

Groupements	$\nu$ (cm <sup>-1</sup> ) CS	$\nu$ (cm <sup>-1</sup> ) Npsdu CS
NH <sub>2</sub> /OH	3434	3399
NH <sub>2</sub>	1602	1534
NH <sup>3+</sup> - PO <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	-	1630

Tab. IV.1 : Principales bandes de CS et Nps du CS

#### IV-2- Synthèse et caractérisation des nanoparticules de CS.β-CD:THPP /TPPS

##### IV-2-1-Synthèse des nanoparticules de CS.β-CD:THPP /TPPS

###### ➤ Mode opératoire

1 ml de la solution aqueuse du complexe THPP : β-CD ou 1 ml du mélange (TPPS avec β-CD-THPP) est ajouté au 3 ml de la solution du CS (0.2 %, m/v, pH 4,9), sous agitation à température ambiante. On Maintien l'agitation pendant 10 min afin d'assurer la stabilité du système puis on isole les nanoparticules par centrifugation dans le glycérol (16.000 x g, 30 min, 25 C°).

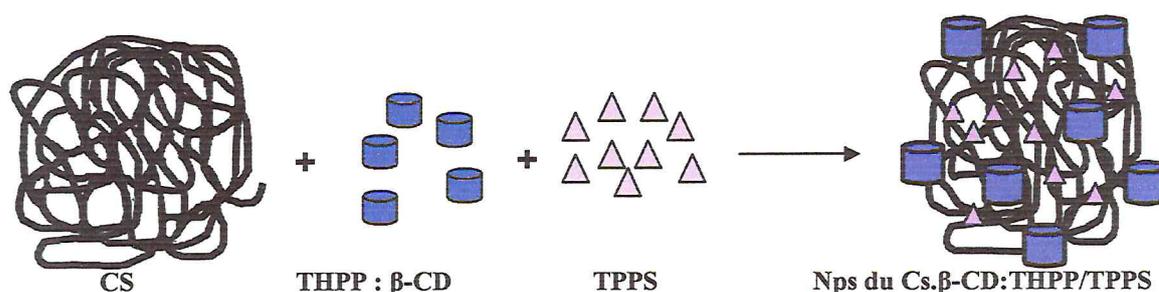


Fig.IV.7: Représentation schématique de la formation des Nps.CS.β-CD: THPP/TPPS

##### IV-2-2 Caractérisation des Nps.CS. β-CD.THPP/TPP

###### a) Aspect physique

Les nanoparticules du CS.β-CD:THPP /TPPS se trouvent sous forme de disques suspendus en solution, de couleur vert pistache opaques, sans une odeur caractéristique,

## CHAPITRE IV

### *Synthèse et caractérisation des nanoparticules du CS.β-CD : THPP/TPPS*

isolées par centrifugation puis séchées, obtenant à la fin un aspect physique d'un film vert opaque. La Fig. IV.8 représente une vue macroscopique des Nps du CS.β-CD:THPP /TPPS.



**Fig. IV.8 :** *Vue macroscopique des Nps du CS.β-CD:THPP /TPPS*

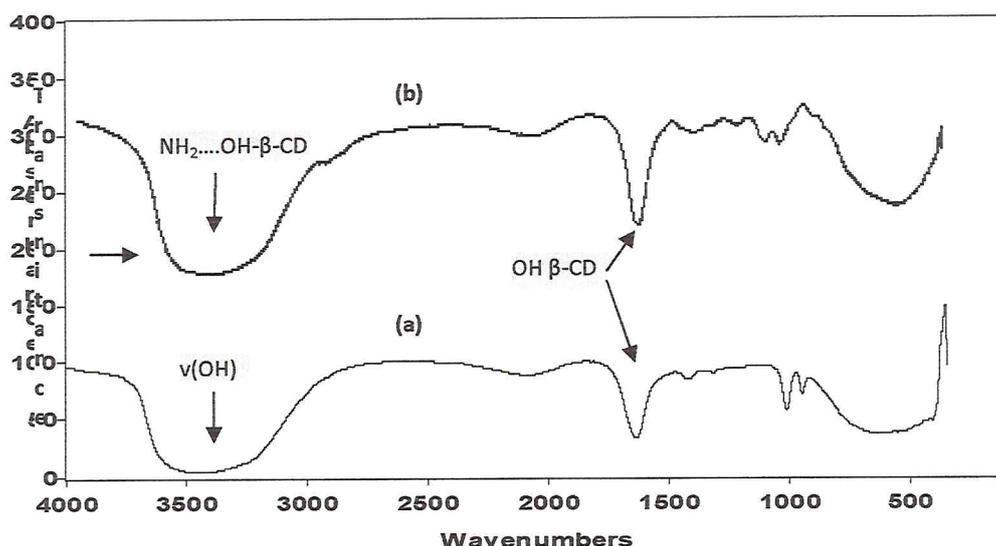
#### ***b) Caractérisation spectroscopique***

**Spectre FTIR:** La Fig. IV.9 (a-b) représente le spectre FTIR des Nps du CS et du CS.β-CD:THPP/TPPS respectivement.

Le pic vers  $3447\text{ cm}^{-1}$  attribué à la vibration d'allongement du groupement  $\text{-OH}$  de THPP/β-CD (Fig. IV.7.a) est déplacée vers  $3400\text{ cm}^{-1}$  lorsque le THPP : β-CD est encapsulé dans les Nps du CS. Aussi nous constatons que l'intensité de la bande  $3400\text{ cm}^{-1}$  a augmenté ce qui suggère l'augmentation du nombre des ponts hydrogènes qui peuvent être attribués aux ponts hydrogènes formés entre le groupement  $\text{NH}_2$  du CS et les groupements  $\text{OH}^-$  de β-CD. Le pic caractéristique du CS vers  $1596\text{ cm}^{-1}$  (liaison N-H) est disparu (Fig. IV.7.c) tandis que la bande du OH de la vibration de déformation de la β-CD vers  $1637\text{ cm}^{-1}$  reste toujours. [4, 5]

## CHAPITRE IV

### *Synthèse et caractérisation des nanoparticules du CS.β-CD : THPP/TPPS*

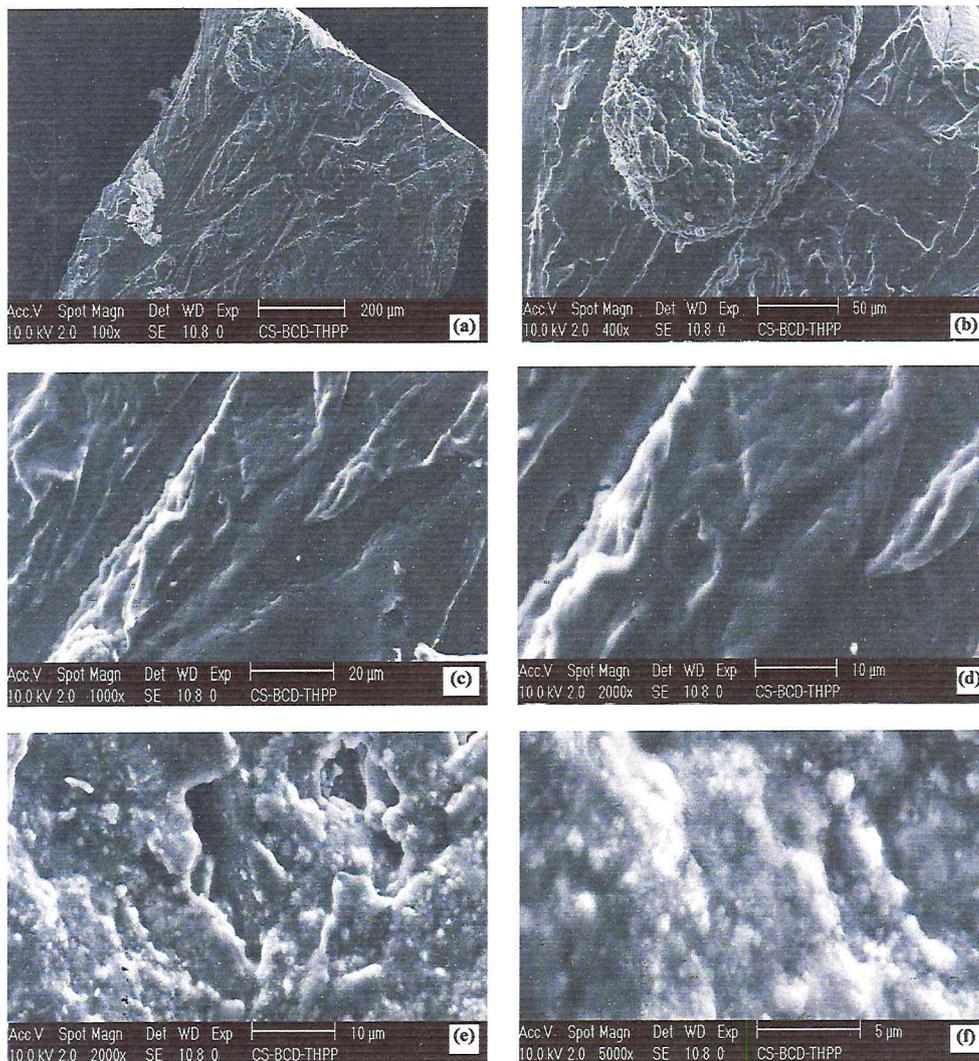


**Fig. IV.9:** Spectre FTIR de a) THPP : β-CD , b) Nps du CS.β-CD:THPP/TPPS

**Le MEB :** L'étude morphologique par MEB des Nps du CS.β-CD:THPP/TPPS est représenté sur la Fig. IV.10.

Lorsqu'on observe les Nps du CS.β-CD:THPP/TPPS au MEB avec un agrandissement de 100, une petite masse isolée sur un film du polymère est observée comme illustrée sur (a). L'examen de cette dernière avec un agrandissement plus grand 400 (b), fait apparaitre un amas de petites particules de différentes tailles avec une architecture macroporeuse des Nps CS.β-CD:THPP/TPPS.

Des examens plus approfondis sur cet amas de petites particules avec différents agrandissements partants de 1000, 2000 à 5000 Fig. IV.(c, d, e, f) respectivement, permettent d'identifier la morphologie sphérique des nanoparticules étudiées avec des tailles comprises entre 0.46 et 1.6 μm.



**Fig IV.10 :** *MEB des nanoparticules de CS.β-CD :THPP/TPPS*

### IV-3-Conclusion

De nouvelles nanoparticules hybrides du CS.β-CD:THPP/TPP sont obtenues par l'interaction des charges positives et négatives du CS et β-CD :THPP respectivement, via la technique de la gélation inotropique dans un milieu acide en présence du TPPS.ces nouvelles structures hybrides ont une morphologie sphérique et de taille 0.46-1.6 μm.

## Bibliographie

---

### Bibliographie:

- [1] S.A. Agnihotri et al. / Journal of Controlled Release 100 (2004) 5–28
- [2] H.S. Kas, Chitosan: properties, preparations and application to microparticulate systems, J. Microencapsulation 14 (1997) 689– 711.
- [3] T. Sannan, K. Kurita, Y. Iwakura, Studies on chitin, 2. Effect of deacetylation on solubility, Makromol.Chem. 177 (1976)3589– 3600.
- [4] M. Prabakaran, R. Jayakumar / International Journal of Biological Macromolecules 44 (2009) 320–325
- [5] M. Prabakaran, J.F. Mano, Carbohydr. Polym. 63 (2006) 153–166.

# Conclusion Générale

---

## Conclusion générale

---

### Conclusion générale :

Dans cette étude, des structures porphyriniques encapsulées par des molécules cages type  $\beta$ -CD formant des systèmes supramoléculaires « Host-Guest » THPP : $\beta$ -CD 1 :2 et M-THPP : $\beta$ -CD 1 :1 ont été investies. De plus, nous avons préparé des matériaux hybrides à base d'HAP et du CS.

Des résultats obtenus sur la préparation des complexes supramoléculaires THPP : $\beta$ -CD ont montré qu'un excès d'une solution de  $\beta$ -CD ajouté à une solution de THPP en milieu neutre donne lieu à la formation des complexes supramoléculaires THPP : $\beta$ -CD 1 :2, alors que lorsqu'on procède à la metallation par le Fer et le Nickel : Fe(III)THPP et Ni(II)THPP dans les mêmes conditions, nous obtenons des complexes supramoléculaires M-THPP : $\beta$ -CD 1 :1.

En présence du SBF (voie biomimétique) et dans un milieu alcalin, des microsphères d'HAP ont été obtenues et par micro-encapsulation vont encapsuler le système supramoléculaire THPP : $\beta$ -CD en formant de nouveaux matériaux hybrides Hap- $\beta$ -CD :THPP

Dans cet ordre d'idées, des nanosphères ont été obtenues par la nano-encapsulation du système supramoléculaire THPP: $\beta$ -CD dans le CS en formant un nouveau système hybride Nps CS. $\beta$ -CD :THPP.

# Annexe

---

### **1. METHODES D'ETUDES**

#### **1.1. Spectroscopie d'absorption ultraviolet-visible (UV-Vis)**

Les spectres UV-visible ont été obtenus à l'aide d'un appareil UV-1201 SHIMADZU en utilisant l'éthanol comme solvant, les cellules sont en quartz avec un trajet de 1cm.

#### **1.2. Spectroscopie d'absorption infrarouge à transformée de Fourier (FT-IR)**

Les spectres IR du ligand et leurs complexes correspondant ont été réalisés avec un appareil de type JASCO série (4100) FTIR à partir d'une pastille de KBr, dans la quelle est dispersé notre produit.

#### **1.3. Granulométrie Laser (GL)**

Les courbes de l'analyse par granulométrie laser ont été obtenues à l'aide du granulomètre laser MASTERSIZER 2000 mesurant la taille des particules sur une gamme de 0.02 $\mu$ m à 2 mm. L'élément dispersant dans notre mémoire été l'eau minérale.

#### **1.4. Diffraction des rayons X (DRX)**

L'analyse par DRX a été faite par un diffractomètre automatique de type PW 1710 équipé d'une anticathode de cuivre  $\lambda=1.5406 \text{ \AA}$ , marque PHILIPS

#### **1.5. Microscopie à Balayage Electronique (MEB)**

Les résultats de L'analyse par microscopie à balayage électronique faite dans notre mémoire ont été obtenus par un microscope à balayage électronique à effet de champs Philips XL30 FEG.