

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

UNIVERSITE MOULOU D MAMMERI DE TIZI-OUZOU

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE CHIMIE



DOMAINE : SCIENCES DE LA MATIERE

FILIERE : CHIMIE

MEMOIRE DE MASTER

SPECIALITE : CHIMIE PHYSIQUE

THEME

**Hydrophilisation d'un anti-inflammatoire non stéroïdien
Piroxicam par le p-tetrasulfonatométhylcalix[4]résorcinarène.**

Présenté par : Mme MAAMERI-BELKADI SABAH

Le 11/10/2021, devant le jury composé de :

M ^{me} KICHOU	NOURA	MCA	UMMTO	Président
M ^{me} KHALDI	NASSIMA	MAA	UMMTO	Examineur
M ^{me} IGHILAHRIZ	KARIMA	MCB	UMMTO	Encadreur
M ^{me} BELMAHDI	LILA	MAA	UMMTO	Co-Encadreur

REMERCIEMENTS

Avant tout, je remercie Dieu, le tout puissant de m'avoir donné le courage, la patience et la volonté pour réaliser ce travail.

*J'exprime mes respectueux remerciements et ma sincère gratitude à ma promotrice Madame **IGHILAHORIZ KARIMA** (Maitre de Conférence Classe B) et à ma co-promotrice Madame **BELMAHDI LILA** (Maitre-Assistant Classe A) pour leur encadrement, leur engagement à mes côtés, leur grande disponibilité et tous les efforts qu'elles ont déployés afin d'accomplir à bon terme ce travail. Soyez assurées Mesdames, de toute mon estime et mon profond respect.*

*Je remercie vivement Madame **KICHOU NOURA**, Maitre de Conférence Classe A à la faculté des sciences de Tizi Ouzou, de m'avoir accordé un immense honneur en acceptant de présider le Jury de ma soutenance.*

*Je remercie Madame **KHALDI NASSIMA**, Maitre-Assistant Classe A, à la faculté des sciences de Tizi Ouzou, d'avoir bien voulu examiner ce travail.*

J'adresse mes immenses remerciements, à tous mes enseignants, qui m'ont donné les bases de la science et tous les apports nécessaires pour l'accomplissement de ma formation.

Enfin, il m'est agréable de terminer en remerciant toutes les personnes qui ont participé à mon encadrement, et tous ceux qui, de près ou de loin ont apporté leur soutien, leur conseil et leur contribution pour achever ce travail dans les meilleures conditions.



DEDICACES

➤ *A mon époux et mes chers enfants*

➤ *A ma famille*

➤ *A tous ceux qui me sont chers*



Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures et schémas

Liste des tableaux

Introduction générale..... 01

Partie bibliographique

Chapitre 1 : Généralités sur les calixarènes et le piroxicam.

1. Calixarènes	02
1.1. Histoire des calixarènes.....	02
1.2. Nomenclature des calixarènes	03
1.3. Différents processus de synthèse des calixarènes	04
1.3.1. Synthèse en une étape.....	04
1.3.2. Synthèse en plusieurs étapes	05
1.3.2.1. Synthèse multi-étape non-convergente	05
1.3.2.2. Synthèse multi-étape convergente.....	06
1.4. Conformations des calix[4]arènes	07
1.5. Fonctionnalisation des calixarènes.....	08
1.5.1. Modification sur le pont méthylénique	09
1.5.2. Modification sur le bord supérieur	10
1.5.3. Modification sur le bord inférieur	10
1.6. Applications des calixarènes en thérapeutique.....	11
1.6.1. Calixarènes bioactifs	11
1.6.2. Calixarènes amphiphiles en formulation de principes actifs.....	15
1.7. Complexes d'inclusion des calixarènes.....	17
1.8. Facteurs influençant le procédé d'inclusion	18
1.8.1. Influence du pH.....	18
1.8.2. Influence de la température	19
1.8.3. Influence de la taille de la cavité	19
1.9. Techniques de préparation des complexes d'inclusion	19
1.9.1. Inclusion par cristallisation de la solution (co-précipitation)	19
1.9.2. Inclusion par co-mélange (co-grinding)	19
1.9.3. Inclusion en suspension (slurry).....	20
1.9.4. Inclusion par pétrissage (paste/kneading)	20
1.9.5. Inclusion en méthode humide (damp).....	20

Sommaire

1.9.6. Inclusion par extrusion	20
1.9.7. Inclusion à sec	21
1.9.8. Inclusion par neutralisation	20
1.9.9. Inclusion par co-évaporation	21
1.9.10. Inclusion par atomisation/ pulvérisation (spray drying).....	21
1.9. 11. Inclusion par lyophilisation (freeze drying)	21
1.9.12. Inclusion au CO ₂ supercritique	21
1.9.13. Inclusion par micro-ondes	22
1.10. Caractérisation des complexes d'inclusion	22
1.10.1. Calorimétrie différentielle à balayage (DSC).....	22
1.10.2. Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR)	22
1.10.3. Diffraction des rayons X (DRX)	23
1.10.4. Résonance Magnétique Nucléaire (RMN)	23
1.10.5. Calorimétrie de Titration Isotherme (ITC).....	23
1.10.6. Spectroscopie UV-Visible.....	23
2. Piroxicam	24
2.2. Propriétés physico-chimiques	24
2.3. Propriétés pharmacocinétiques.....	25
2.4. Mécanisme d'action	25
2.5. Complexation du piroxicam	25
2.6. Problèmes liés au piroxicam	26
Partie expérimentale	
Chapitre 2 : Matériels et méthodes	
3. Matériels et méthodes.....	27
3.1. Matériels.....	27
3.1.1. Matières premières	27
3.1.2 Réactifs	27
3.1.3. Appareillages et Equipements	28
3.1.4. Verreries	28
3.2. Méthodes	28
3.2.1. Synthèse de p-tetrasulfonatométhylcalix[4]resorcinarène	28
3.2.2. Préparation des complexes d'inclusion	30
3.2.3. Préparation du mélange physique	30

Sommaire

3.2.4. Caractérisation du p-tetrasulfonatomethylcalix[4]resorcinaréne (C8S) et des complexes d'inclusion.....	30
3.2.4.1. Spectroscopie FTIR.....	30
3.2.4.2. Test de dissolution.....	30
Chapitre 3 : Résultats et discussion	
4.1. Synthèse du C8S.....	33
4.1.1. Aspect du C8S.....	33
4.1.2. Rendement du C8S.....	33
4.1.3. Point de fusion du C8S.....	33
4.1.4. Solubilité du C8S.....	33
4.1.5. Spectroscopie FTIR du C8 et du C8S.....	34
4.2. Préparation des complexes d'inclusion.....	35
4.2.1. Aspect des complexes d'inclusion.....	35
4.2.2 Rendement des complexes d'inclusion.....	35
4.3. Caractérisation des complexes d'inclusion.....	35
4.3.1. Spectroscopie FTIR des complexes d'inclusion.....	35
4.3.2. Test de dissolution.....	36
Conclusion générale.....	39
Références bibliographiques.....	40

Liste des abréviations

AINS	Anti-inflammatoire non stéroïdien
BCS	Biopharmaceutical classification system
Calix	Calixarene
CD_s	cyclodextrine
C8	Calix[4]resorcinarene
C8S	P-tetrasulfonatomethylcalix [4] resorcinarene
FTIR	Spectroscopie Infra-rouge à transformée de Fourier
CS	Complexe d'inclusion
MP	Mélange physique
pH	Potentiel d'Hydrogène
PRX/Calix	Piroxicam/Calixarene
<i>T_f</i>	Point de fusion
UV-vis	Ultra-violet -visible

Liste des figures et schémas

Figure 1 : Produits issus de la condensation du phénol avec le formaldéhyde. a) avec un phénol non protégé, b) phénol protégé et c) Structure tétramérique cyclique du produit de la réaction de A. Zinke [5]	03
Figure 2 : Formule développée du butylcalix [4]arène	03
Figure 3 : Structure de butylcalix [4]arène	04
Figure 4 : Schéma réactionnel de la synthèse directe des calixarènes	04
Figure 5 : Calixarènes formés à partir de la condensation du p-alkylphénol avec Formaldéhyde [16]	05
Figure 6 : Synthèse de p-méthylcalix[4]arène par la méthode multi-étape non convergente. ..	06
Figure 7 : Synthèse multi-étape convergente	07
Figure 8 : Quatre conformations observées pour un calix[4]arène	07
Figure 9 : Sites susceptibles d'être chimiquement modifiés sur un calixarène	09
Figure 10 : Calix [4]arènes modifiés au niveau du pont méthylénique	09
Figure 11 : Exemple de fonctionnalisation sur le « bord supérieur »	10
Figure 12 : Exemples de butylcalix[4]arènes fonctionnalisés sur le bord inférieur par des fonctions homogènes.....	11
Figure 13 : Structure du Macrocyclon, dérivé du calix[8]arène à propriété anti-tuberculeuse...	11
Figure 14 : Exemples de calix[4]arènes polyanioniques à propriété anti-HIV	12
Figure 15 : Peptide N-acétyl- D -Ala- D -Ala, un des précurseurs de paroi bactérienne, complexé par un peptido-calix[4]arène développé par Casnati et coll. (A). Modèle révélant la complémentarité substrat-récepteur (B).	13
Figure 16 : Calix[4]arène utilisé par Geraci et coll. comme plate-forme de conjugaison entre un antigène glycosidique (rouge) et un immunoadjuvant peptidique (vert)[48].	14
Figure 17 : A) Amphotéricine B constitué d'une partie hydrophile (rouge) et d'une partie hydrophobe (bleu). B) Conjugué calix[4]arène-tétra-amphotéricine B [55].....	15
Figure 18 : Dérivés aminophosphonates du calix[4]arène.....	16

Liste des figures et schémas

Figure 19 :Auto-assemblage de nanoparticules à base de dérivés calixaréniques amphiphiles et d'ADN.	17
Figure 20 :Complexe d'inclusion de type 1 :1 Calixarene – molécule invitée	18
Figure 21 :Structure du piroxicam	25
Figure 22 : Dispositif confectionné pour le test de dissolution ; vue extérieure.....	33
Figure 23 : Dispositif confectionné pour le test de dissolution ; vue intérieure.....	33
Figure 24 :Aspect de p-tetrasulfonatomethylcalix [4] résorcinarène.....	34
Figure 25 :Spectres IR des composés C8 et C8S.....	36
Figure 26 : Aspect du complexe d'inclusion CS :1 durant les différentes étapes de préparation	36
Figure 27 : Spectres IR des composés purs, du MP et des complexes d'inclusions	38
Figure 28 :Profils de dissolution du PRX pur, CS 1 :1, CS1 :2 et MP1 :1 dans le milieu pH6.8.....	39
Figure 29 :Profils de dissolution du PRX pur, CS 1 :1, CS 1 :2 et MP1 :1 dans le milieu	39

Liste des schémas

Schéma 1 : Schéma réactionnel de la synthèse directe du calixarène C8	31
Schéma 2 : Schéma réactionnel de la synthèse directe du calixarène C8S	31

Liste des tableaux

Tableau 1 : Propriétés physico-chimiques du Piroxicam.....	25
Tableau 2. : Propriétés pharmacocinétiques du piroxicam	26
Tableau 3 : Réactifs utilisés	27
Tableau 4 : Appareillage et équipements	28
Tableau 5 : Solubilité du C8S	33
Tableau 6 : Rendements des complexes d'inclusion	35

Introduction

Le *P*-Sulfonatométhylcalix[4]résorcinarène (C8S) appartient à la famille des calix[4]résorcinarènes qui sont soluble dans l'eau. Ces derniers peuvent capturer des ions ou des molécules organiques biologiques actives, qui sont insoluble dans l'eau. Le système aqueux est très intéressant pour les études des complexes.

Plusieurs travaux ont été publiés sur les complexes d'inclusion des calix[4]résorcinarènes avec une variété de molécules biologiques (insoluble dans l'eau) dans une solution ou à l'état solide. Le complexe d'inclusion à l'état solide consiste à l'association de deux molécules : la première est la molécule avec la forme cage (hôte) qui accepte la deuxième molécule invitée. Généralement, le rapport de complexe d'inclusion des calixarenes est de 1 : 1, cela est dû à la forme et à la géométrie des calixarenes et aussi à l'affinité de la molécule invitée avec les calixarenes.

Dans notre travail, nous avons choisi le piroxicam comme molécule invitée pour la formation du complexe d'inclusion : piroxicam/ C8S dans un milieu aqueux mais également à l'état solide. Le Piroxicam appartient à la famille des oxicams qui est une classe de médicaments anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) structurellement apparentés à la classe de l'acide énolique du 4-hydroxy-1,2-benzothiazine carboxamide. Ils sont utilisés pour traiter l'inflammation aiguë et chronique. L'application de piroxicam est limitée, cela est dû à son insolubilité dans l'eau.

Le présent mémoire est subdivisé en deux parties : une partie bibliographique sur les calixarènes et le piroxicam ; et une partie expérimentale qui détaille les protocoles expérimentaux ainsi que les résultats et discussion.

1. Calixarènes

1. 1. Histoire des calixarènes

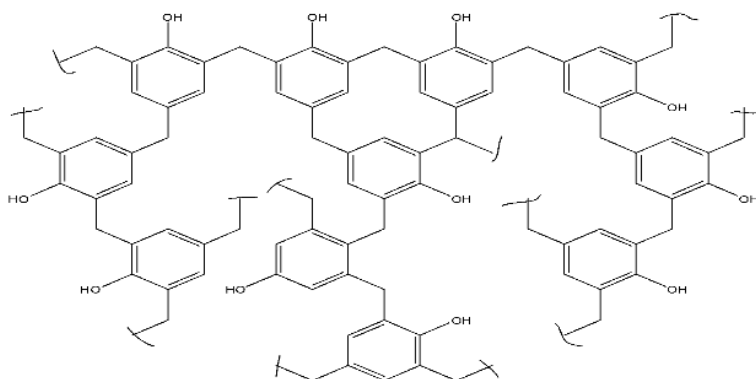
L'histoire des calixarènes a commencé en 1872, lorsqu'Adolphe Von Abayer a effectué une réaction entre le phénol et le formaldéhyde et a obtenu un produit sombre résineux, qu'il n'arrivait pas à caractériser. Trente ans plus tard, Baekeland a obtenu avec une faible quantité de base une résine nommée « Bakélite » [1].

Le phénol peut réagir en position ortho et para pour former des polymères tridimensionnels où chaque résidu phénolique peut se lier à trois autres (figure 1. (a)). Zinke a démontré que la protection des positions para par un p-alkylphénol donneur ne permet que la condensation sur les 2 positions ortho du phénol (figure 1 (b)) [2]. Le produit obtenu au terme de cette réaction est cristallin avec un point de fusion et une masse moléculaire élevés.

Ce n'est qu'en 1944 que Zinke propose l'hypothèse d'une structure tétramérique cyclique. Hayes et Hunter ont confirmé en 1958 que la structure du tétramère de Zinke est cyclique (figure 1(c)), en se basant sur des analyses élémentaires et spectroscopie infrarouge. Ils ont démontré que le polymère linéaire ne se forme pas (figure 1 (b)) [3].

Gutsche a identifié et optimisé les paramètres de synthèse des macrocycles d'unités phénoliques plus grandes (cyclo-oligomères n= 6-8) à partir de phénol para-substitué et de formaldéhyde [4].

En 1990, la synthèse de p-tert-butylcalix[9]arène, p-tert-butylcalix[10]arène, p-tert-butylcalix[11]arène et p-tert-butylcalix[12]arène a été réalisée. Gutsche et son équipe ont réussi à synthétiser et isoler une série plus large de macrocycles dont n varie entre 9 et 20.



(a)

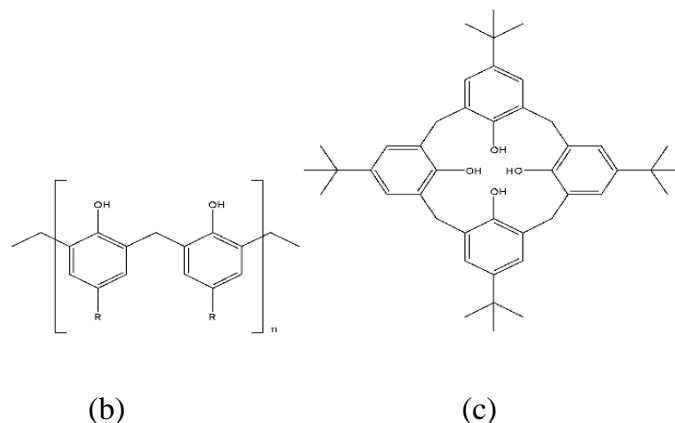


Figure 1. Produits issus de la condensation du phénol avec le formaldéhyde. a) avec un phénol non protégé, b) phénol protégé et c) Structure tétramérique cyclique du produit de la réaction de A. Zinke [5].

1. 2. Nomenclature des calixarènes

En 1978, C.D. Gutsche remarque une ressemblance entre le tétramère cyclique décrit par Zinke et Ziegler « calix crater » (figure 2). Il nomme ce produit « calixarène ». Le préfixe « calix » signifie en grec vase et le suffixe « arène » indique la présence d'unités benzéniques formant un cycle, et liés entre eux par des groupements méthylène en ortho (de OH). Le nombre de groupements aromatiques du macrocycle est indiqué par le chiffre correspondant placé entre calix et arène. Selon cette nomenclature abrégée, le tétramère cyclique ($n = 4$) composé d'unités butylphénol est nommé butylcalix[4]arène [6] (figure 3).

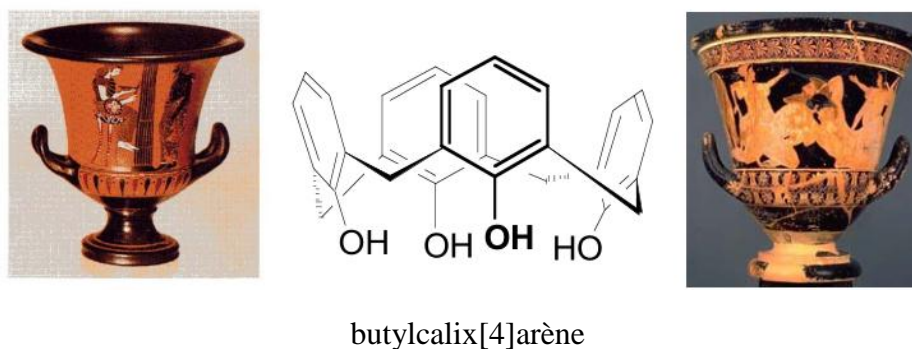


Figure 2. Formule développée du butylcalix [4]arène et vases grecs à gauche et à droite de la figure

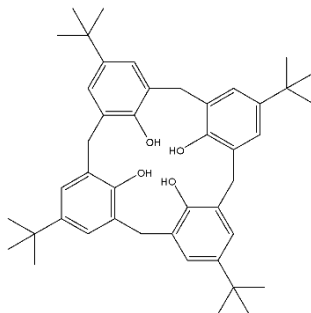


Figure 3. Structure de butylcalix [4]arène

1. 3. Différents processus de synthèse des calixarènes

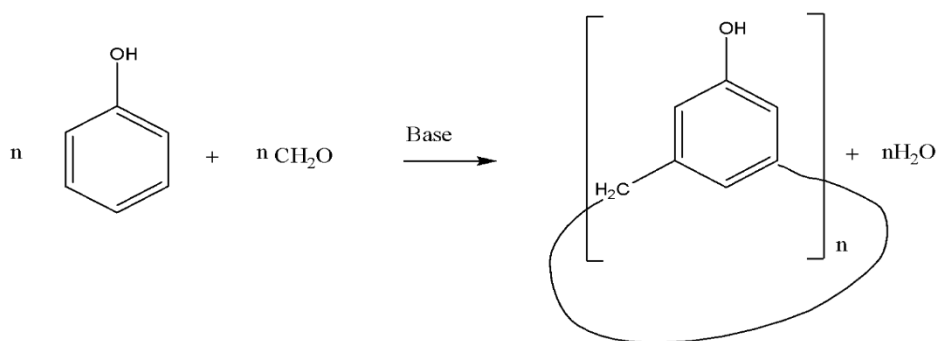
Il existe deux processus différents de synthèse qui sont souvent utilisés pour la préparation des calixarènes.

1. 3.1. Synthèse en une étape

La synthèse des calixarènes en une étape en milieu basique a été largement utilisée par C. D. Gutsche et coll. [7,8]. Cette synthèse en une étape permet d'obtenir les différents calix[n]arènes souhaités en jouant sur la nature de la base, le rapport des réactifs et la température de la réaction [9-12].

Pour résumer cette synthèse, le chauffage d'un phénol en présence du formaldéhyde et d'une base appropriée conduit à une résine appelée « précurseur ». A partir de celui-ci, l'oligomère souhaité est obtenu figure 4.

Ainsi une optimisation des conditions de synthèse permet d'obtenir un tétramère, un hexamère et un octamère [13-15]. Il est à noter que les oligomères avec n impair sont très difficiles à obtenir.



$$n = 4-8$$

Figure 4. Schéma réactionnel de la synthèse directe des calixarènes.

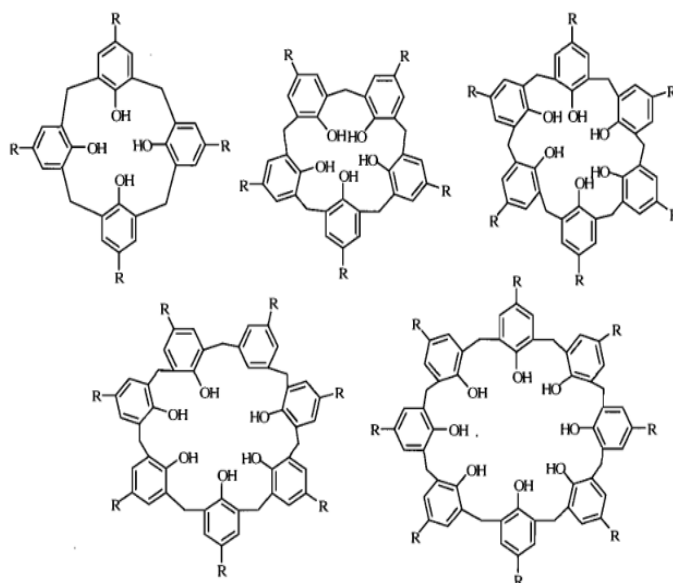


Figure 5. Calixarènes formés à partir de la condensation du p-alkylphénol avec le Formaldéhyde [16]

Pour les "grands" calixarènes, c'est-à-dire ayant un nombre d'unités phénoliques supérieur à 8, la synthèse en milieu acide s'est révélée plus performante et a permis d'isoler des calixarènes ayant jusqu'à 20 unités phénoliques. Ainsi, le chauffage à reflux d'une solution de chloroforme contenant un mélange de p-tert-butylphénol, du trioxane (source de formaldéhyde) et de l'acide p-toluènesulfonique (catalyseur) produit 95% de mélange de p-tert-butylcalixarènes[17]. "Isolation, Characterization, and Conformational Characteristics of p-tert-butylcalix [9-20] arenes" (**figure 5**).

1. 3.2. Synthèse en plusieurs étapes

Les méthodes utilisées conduisent à de faibles rendements comparées à la synthèse mono étape. On distingue deux méthodes de synthèse :

- Synthèse multi-étape non-convergente
- Synthèse multi-étape convergente.

1.3.2. 1. Synthèse multi-étape non-convergente

En 1956, Hayes et Hunter [18] ont développé une méthode séquentielle, en dix étapes, passant par la formation de chaînes linéaires, en condensant l'o-bromométhylphénol sur d'autres phénols figure 4, pour terminer par une réaction de cyclisation (Rdt = 28%). C. D. Gutsche, H. Kammerer et coll.[19,20] ont développé des voies de synthèse en plusieurs étapes en se basant sur les premières synthèses décrites par B. T. Hayes et B. F. Hunter Figure 6.

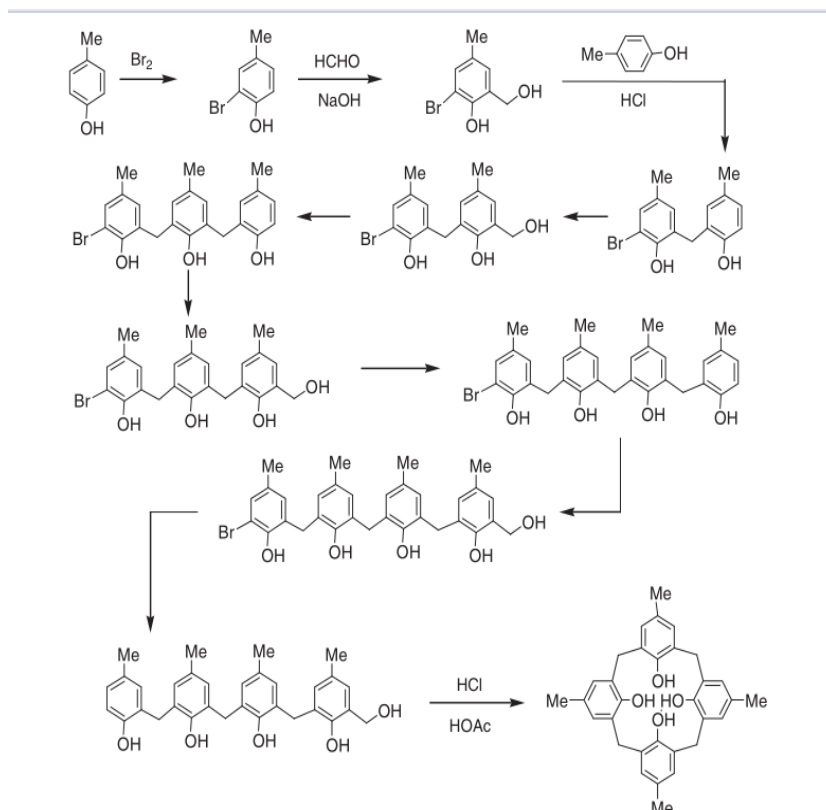


Figure 6. Synthèse de p-méthylcalix[4]arène par la méthode multi-étape non convergente.

L'avantage de cette méthode est la possibilité de synthétiser des calixarènes avec un nombre impair d'unités phénoliques, ce qui n'est pas observé par la synthèse mono-étape.

1.3.2. 2. Synthèse multi-étape convergente

Pour surmonter le problème d'un grand nombre d'étapes réactionnelles nécessaires pour la méthode multi-étape non convergente, Böhmer [21] a développé une synthèse multi-étape convergente pour laquelle le bis o-hydroxyméthylphénol a été fonctionnalisé. La condensation sur d'autres phénols conduit à un trimère linéaire, la réaction se termine par cyclisation par ajout d'un bis-o-halométhylphénol afin d'obtenir le calix[4]arène figure 7 portant différents groupements en para avec un rendement variant de 3 à 15%. Cette dernière méthode est de type 3+1. Böhmer a également décrit la synthèse convergente de type 2+2, 2+1+1, 1+1+1+1.

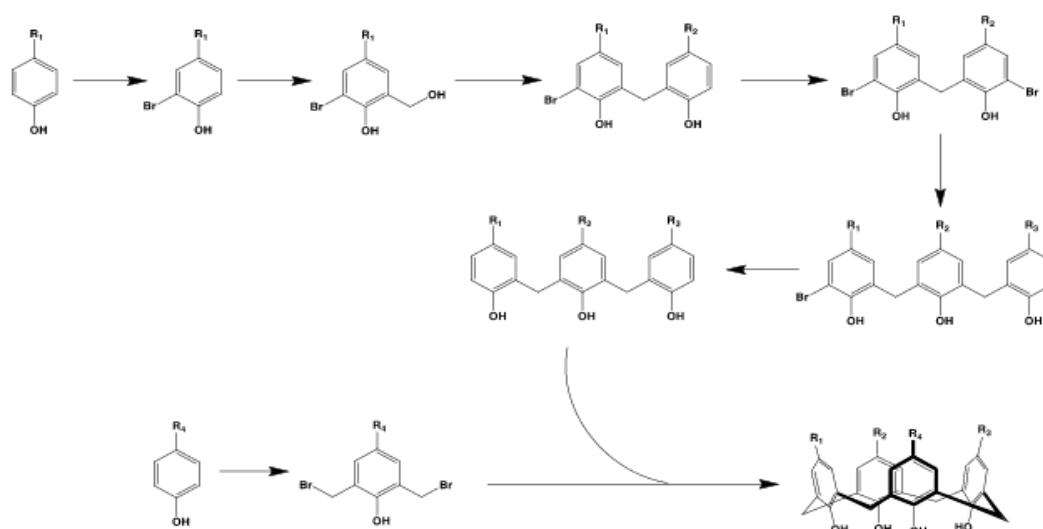


Figure 7. Synthèse multi-étape convergente

Ce type de synthèse est souvent utilisé pour la préparation des calixarènes comportant des unités phénoliques différentes, malheureusement le rendement est faible à cause de nombre d'étapes important [22].

1. 4. Conformations des calix[4]arènes

Les calixarènes sont constitués d'unités phénoliques et de ponts méthyléniques et présentent de ce fait plusieurs isomères conformationnels. Cette mobilité est due à la rotation des oxygènes phénoliques et des substituants en para autour de l'axe de la liaison σ du pont méthylénique. La représentation spatiale des calix[4]arènes montre l'existence de quatre isomères conformationnels qui sont appelés : cône, cône partiel, 1,2-alternée et 1,3-alternée (figure 8) [23].

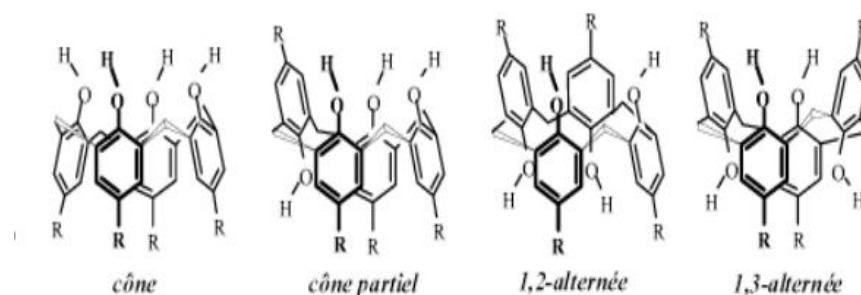


Figure 8. Quatre conformations observées pour un calix[4]arène.

En solution, chacune des quatre conformations se distingue soit par un signal de résonance des protons des ponts méthyléniques, soit par un déplacement chimique du signal des protons

des groupements hydroxyles. Le signal des ponts méthyléniques varie d'une conformation à l'autre. La conformation cône se distingue par un système AB (une paire de doublets), alors que la conformation cône partiel présente deux systèmes AB. La conformation 1,2-alternée se caractérise par la présence d'un singulet et d'un système AB, tandis que la conformation 1,3-alternée se caractérise par l'apparition d'un singulet, déplacement chimique du signal des protons des groupements hydroxyles est proportionnel au nombre de liaisons hydrogène entre les oxygènes et les hydrogènes au sein du calix[4]arène. Il est de quatre pour la conformation cône, de trois pour la conformation cône partiel, de deux pour les conformations 1,2-alternée et de zéro pour la conformation 1,3-alternée. À l'état solide ou à basse température, les calix[4]arènes adoptent la conformation conique observée lors des études de structures aux rayons X. Cette conformation provient de l'existence de liaisons hydrogène intramoléculaires entre les groupements hydroxyles phénoliques [24,25].

1.5. Fonctionnalisation des calixarènes

Les calixarènes ont une cavité de taille variable et est suffisamment grande pour accueillir des anions, des cations ou des molécules neutres, y compris des molécules biologiquement importantes. En plus de leur capacité à piéger les molécules invitées au moyen d'interactions non covalentes, a entraîné un intérêt généralisé pour les calix[n]arènes au sein de la chimie supramoléculaire, en particulier en ce qui concerne les phénomènes hôte-invité.

Les calix[n]arènes peuvent être fonctionnalisés au niveau des deux bords, R et -OH, produisant une grande variété de composés qui peuvent avoir des propriétés complaisantes différentes (figure 7) [26].

En particulier, les calix[n]arènes fonctionnalisés avec un groupe sulfonique en position para se sont révélés avoir plusieurs applications pharmaceutiques, en raison de leur potentiel d'encapsulation de médicaments, augmentant leur solubilité, biodisponibilité, absorption orale et stabilité sous la chaleur, la lumière, et conditions acides ou basiques et possèdent une bonne biocompatibilité et une bonne innocuité [27].

D'autres applications des calix[n]arènes sont les agents de transfert de phase, les capteurs, les antibactériens, les électrodes sélectives d'ions et l'utilisation comme catalyseurs et dans la science des séparations [28].

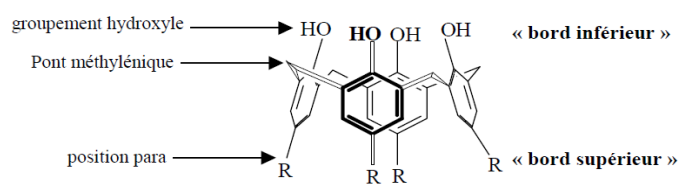


Figure 9. Sites susceptibles d'être chimiquement modifiés sur un calixarène

1.5.1. Modification sur le pont méthylénique

Plusieurs modifications ont été effectuées au niveau des ponts méthyléniques. Ces modifications ont permis d'augmenter les sites de coordinations et de modifier la taille de la cavité des calixarènes. Il existe par exemple : les homo-calixarènes où les ponts méthyléniques (CH_2) sont remplacés par les groupements (CH_2CH_2) : par CH_2OCH_2 donnant les homooxalixarènes, par CH_2NRCH_2 donnant les homo-azacalixarènes, ou par S donnant les thiacalixarènes. Bien qu'ils soient obtenus directement par condensation, ces composés peuvent être considérés comme des calixarènes modifiés (figure 10) [29].

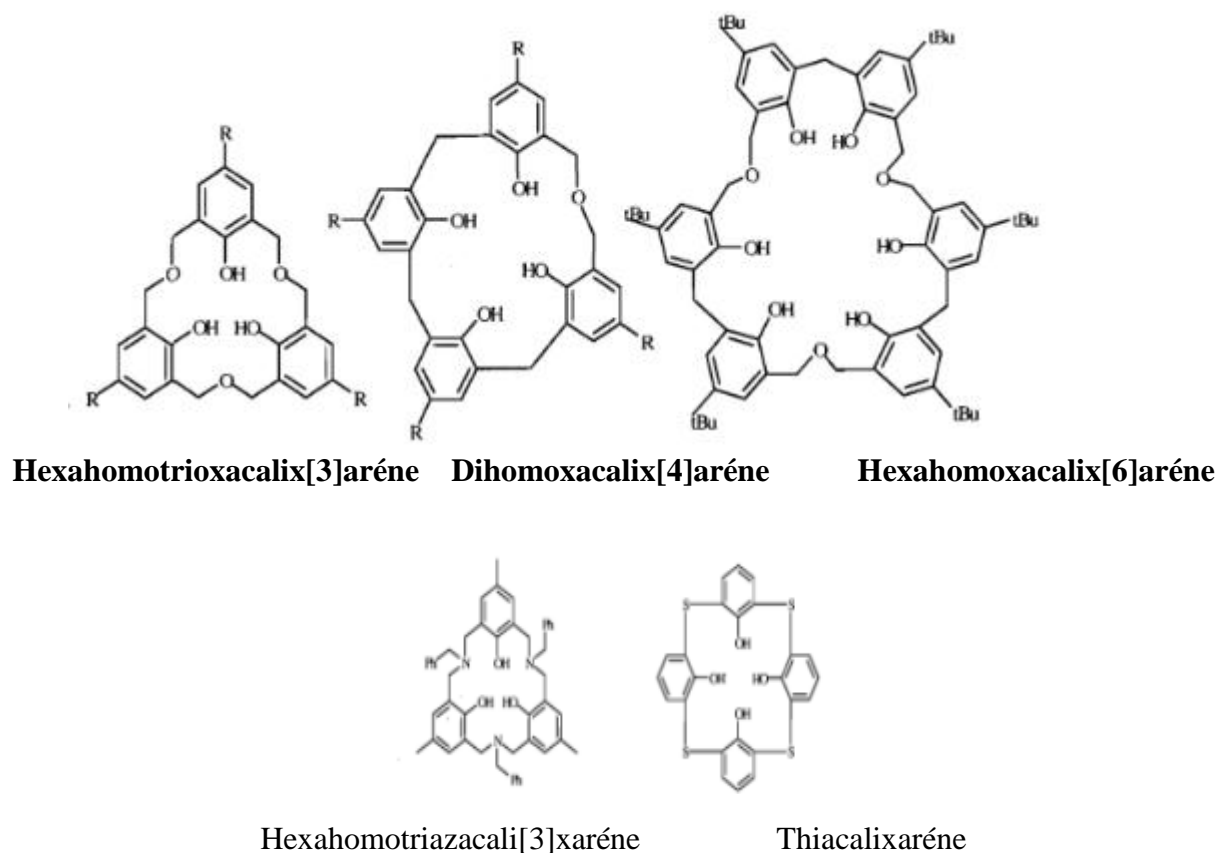


Figure10. Calix [4]arènes modifiés au niveau du pont méthylénique

1.5.2. Modification sur le bord supérieur

Le greffage partiel ou complet sur l'ensemble des positions para « bord supérieur » des calix[4]arènes parents, a été effectué avec des sulfonates des phosphorates et des amines figure 11. Ce type de fonctionnalisation permet d'obtenir des calixarènes hydrosolubles. D'autres fonctions ont été greffées sur le bord supérieur tels que les nitro, les trifluoroacétates de mercure (HgO_2CCF_3) et des aminoacides [30].

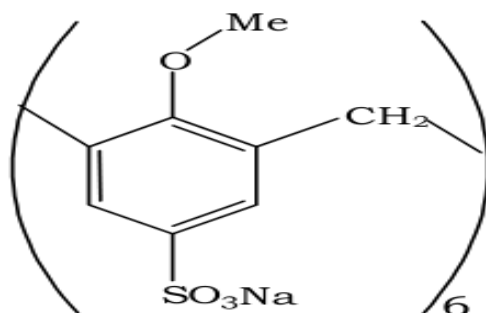


Figure 11. Exemple de fonctionnalisation sur le « bord supérieur »

1.5.3. Modification sur le bord inférieur

La fonctionnalisation de la partie basse via les groupements hydroxyles peut facilement s'effectuer par des réactions de O-alkylation ou de O-acylation passant par des mécanismes de substitution nucléophile en milieu basique figure 12. Les réactions de O-alkylation mettent généralement en jeu les agents alkylants classiques de la chimie organique tels que les halogénures d'alcoyles ou encore les tosylates. Le degré de substitution (bis- vs tétra-alkylé par exemple) ainsi que la régiosélectivité (1,3-bis- vs 1,2-bis-alkylé par exemple) peuvent être contrôlés en fonction des conditions opératoires comme la base utilisée, le solvant et la stœchiométrie. Les réactions de O-acylation font généralement intervenir des chlorures d'acide ou d'autres types d'acide carboxylique activé, en vue d'obtenir un ester. La régiosélectivité et le degré de substitution peuvent également être relativement contrôlés en fonction des conditions opératoires. [31]

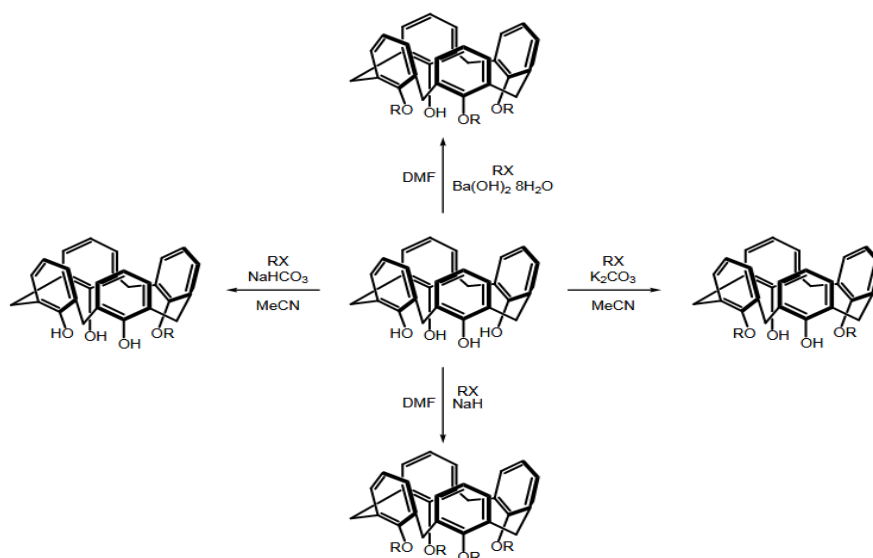


Figure 12. Exemples de butylcalix[4]arènes fonctionnalisés sur le bord inférieur par des fonctions homogènes

1.6. Applications des calixarènes en thérapeutique

1.6.1. Calixarènes bioactifs

Historiquement, le premier usage d'une entité calixarénique à des fins thérapeutiques fut le Macrocycle décrit par D'Arcy Hart et Conforth figure 13[32,33]. Ce dérivé du calix[8]arène s'est avéré efficace dans la lutte contre la tuberculose pulmonaire causée par le bacille de Koch. [34,35]. Depuis la découverte de ce composé dans les années 50, les calixarènes n'ont pas suscité d'intérêt particulier dans le domaine des molécules anti-infectieuses. C'est dans les années 90 que cet intérêt est réanimé avec le dépôt de plusieurs brevets [36].

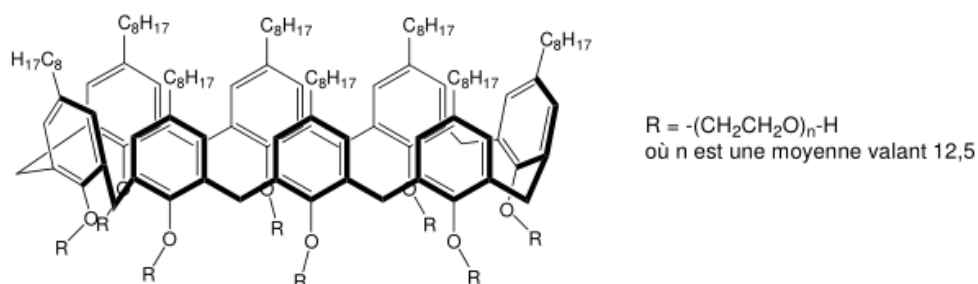


Figure 13. Structure du Macrocyclon, dérivé du calix[8]arène à propriété anti-tuberculeuse.

Les avancés dans le domaine des calixarènes anti-infectieux ont récemment été résumés dans plusieurs revues publiées par de Fatima, [37], Rodik [38]. Ainsi que par Coleman [39,40].

Citons les travaux thèse de M. Mourer, ayant conduit entre autres à la synthèse de calix[4]arènes polycationiques présentant des propriétés antibactériennes parfois remarquables[41].

Ce type de molécule antibactérienne, dont le mécanisme d'action passe par une perturbation de l'intégrité et des fonctions de la membrane bactérienne (membrane-active agents) [42]. M. Mourer a montré que les calix[4]arènes polyanioniques (porteurs sur la partie haute de groupements anioniques sulfonates, carboxylates ou phosphonates) figure 14 présentent d'intéressantes activités anti-HIV, virus responsable du syndrome d'immunodéficience acquise (SIDA). [43].

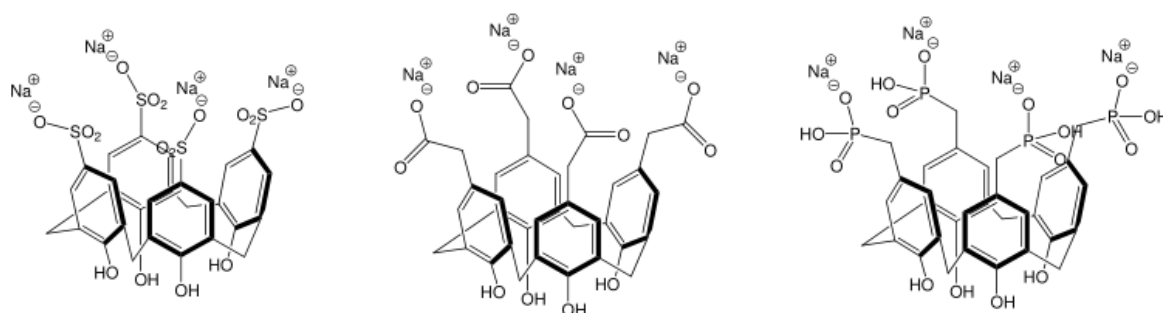


Figure 14. Exemples de calix[4]arènes polyanioniques à propriété anti-HIV

La capacité d'organisation du calix[4]arène peut se révéler un formidable atout dans la conception de nouveaux principes actifs. Une disposition spatiale spécifique de différents groupes fonctionnels peut être essentielle pour générer une activité antimicrobienne.

On peut citer le cas de la vancomycine, un glyco-peptide antibactérien produit par un microorganisme (*Amycolatopsis orientalis*) [44]. Cet antibactérien est connu pour interagir avec certains peptides précurseurs de la paroi bactérienne, inhibant ainsi la biosynthèse de cette dernière. En reproduisant l'architecture de la vancomycine, plus particulièrement la partie se fixant aux peptides précurseurs, il est envisageable de produire de nouvelles molécules antibactériennes. Casnati et coll. ont mis à profit la structure restreinte du calix[4]arène en incorporant un pont pseudopeptidique sur la partie haute de ce dernier, ainsi capable de fixer les peptides précurseurs cibles figure 15[45,46]. Les auteurs ont alors observé des activités antibactériennes comparables à celles de la vancomycine.

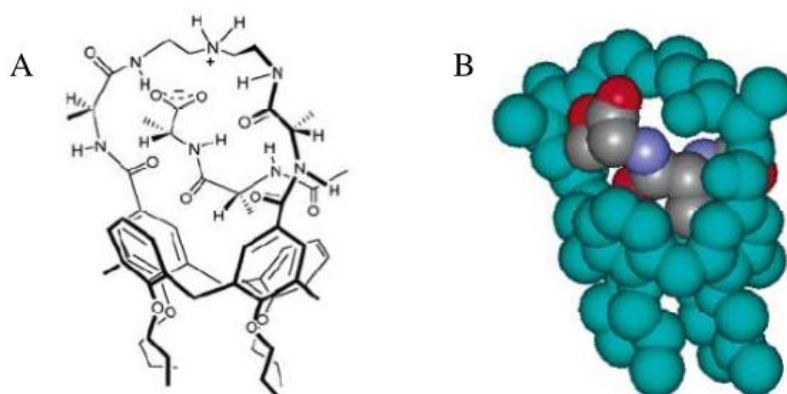


Figure 15. Peptide N-acétyl- D -Ala- D -Ala, un des précurseurs de paroi bactérienne, complexé par un peptido-calix[4]arène développé par Casnati et coll. (A). Modèle révélant la complémentarité substrat-récepteur (B).

D'autres dérivés du calix[4]arène décrits par Motornaya et coll. présentent des activités antivirales intéressantes. Les auteurs font état d'un calix[4]arène porteur en partie haute du macrocycle de quatre motifs ammonium d'adamantane, présentant une activité contre certains virus de l'herpes (HSV-2) [47]. Remarquons qu'il s'agit du seul cas de calixarène antiviral porteur de groupements cationiques.

Geraci et coll. ont utilisé le calix[4]arène comme plate-forme de conjugaison entre un antigène glycomimétique spécifique aux cellules cancéreuses et un immunoadjuvant peptidique non spécifique figure 16 [48]. Leurs études menées *in vivo* chez la souris et *in vitro* par test ELISA ont montré que ce dérivé calixarénique stimule la production de certains anticorps spécifiques aux cellules malignes, laissant envisager l'emploi de ce type de composé comme vaccin anti-cancéreux.

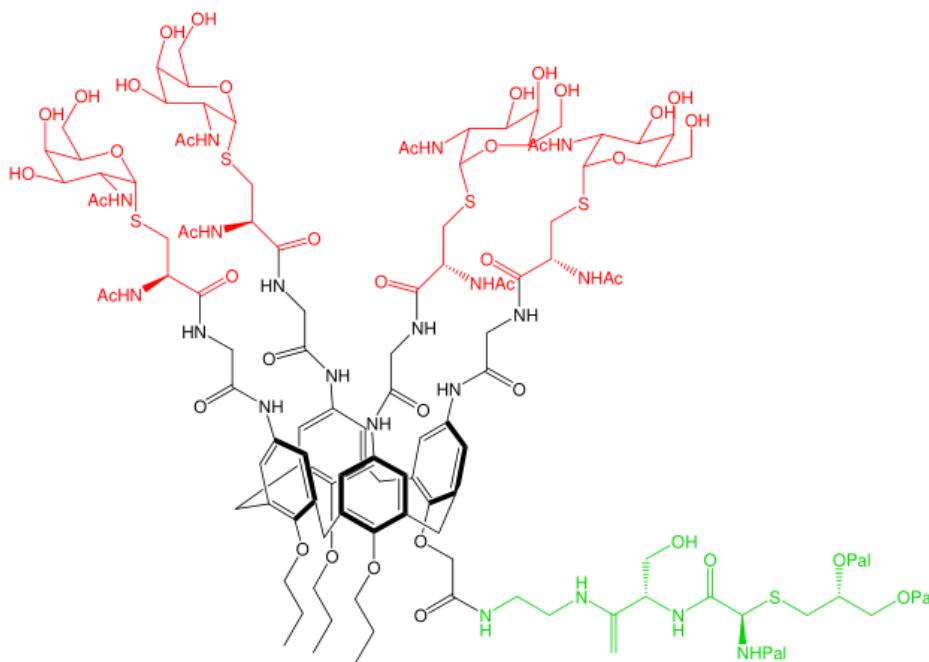


Figure 16. Calix [4]arène utilisé par Geraci et coll. comme plate-forme de conjugaison entre un antigène glycosidique (rouge) et un immunoadjuvant peptidique (vert) [48].

Les mêmes auteurs ont décrit plusieurs tBu[4]OH porteurs en partie basse de quatre unités nucléotidiques d'origines naturelles[49]. Ils ont montré d'une part que ces composés amphiphiles et hydrosolubles étaient capable d'auto-assemblage en milieu aqueux. [50,51].

D'autre part, une première étude in vitro a démontré leur capacité d'inhibition de la réplication d'ADN chez *Penicillium digitatum*, laissant entrevoir de possibles applications thérapeutiques. [52].

Ces auteurs ont également démontré les propriétés anti-oxydantes d'un calix[4]arène porteur en partie haute de quatre motifs acide caféique ou acide sinapique[53].

Vovk et coll. ont reportés la capacité d'inhibition par plusieurs calixarènes phosphonates de la tyrosine phosphatase (PTP), enzyme essentiel au métabolisme d'une bactérie de la famille des *Yersinia*. [54]. Cette activité, de l'ordre du micromolaire, a été déterminée in vitro par suivi de la vitesse d'hydrolyse du p-nitrophénylphosphate utilisé comme substrat par cet enzyme PTP. Le mode de liaison de ces dérivés calixaréniques dans le site actif de l'enzyme a été étudié par une approche de docking moléculaire.

Paquet et coll. ont greffé sur la partie basse d'un calix[4]arène quatre résidus d'amphotéricine B, un antifongique à large spectre figure 17. La molécule obtenue a été utilisée comme outil afin de mieux comprendre le mode d'action de l'amphotéricine B, faisant probablement intervenir la formation de canaux ioniques dans la membrane fongique [55]. Par ailleurs, ce conjugué calixarène-amphotéricine B s'est révélé plus actif que l'amphotéricine B natif, démontrant que les capacités d'organisation du calix[4]arène peuvent exalter l'activité de certains principes actifs.

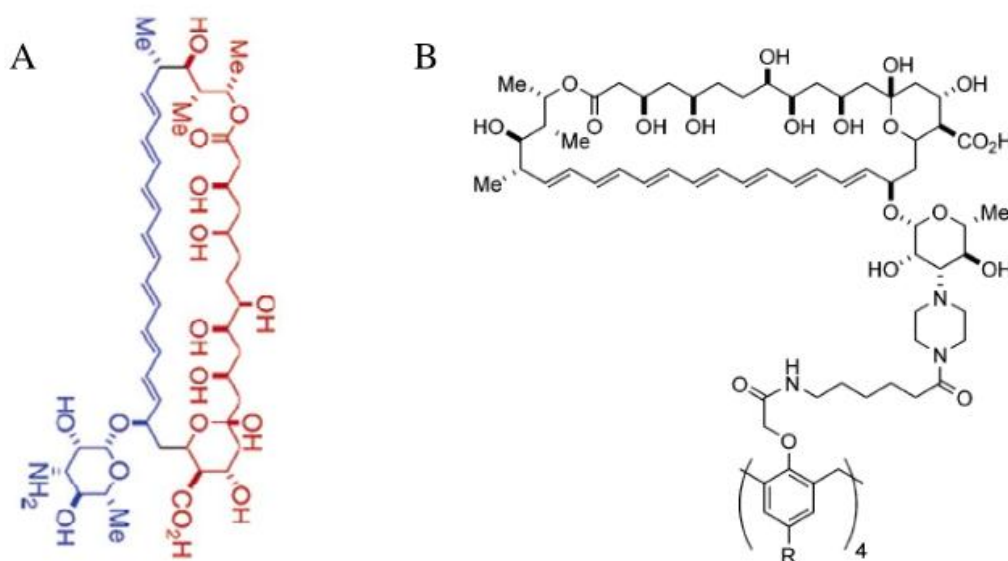


Figure 17. (A) Amphotéricine B constituée d'une partie hydrophobe (bleu) et d'une partie hydrophile (rouge). (B) Conjugué calix[4]arène-tétra-amphotéricine B [55].

D'autres applications potentielles des calixarènes en tant qu'agent antiviral, ou anticancéreux, ainsi qu'antithrombotique ou antifibrotique sont décrites dans divers brevets parus entre 1995 et 2005. [55, 56].

1.6.2. Calixarènes amphiphiles en formulation de principes actifs

D'autres applications du calix[4]arène dans le domaine médical concernent l'emploi de dérivés amphiphiles en formulation pour le transport de molécules d'intérêt biologique. Ces dernières peuvent être encapsulées via la formation de structures supramoléculaires auto-assemblées comme des vésicules. Ainsi, une revue publiée en 2008 par Muthiac résume brièvement les applications potentielles de calix[n]arènes fonctionnalisés pour le transport, en particulier trans-membranaire, de molécules bioactives [57]. Helttunen et coll. ont quant-à eux résumé en 2010 le développement de la chimie des calixarènes amphiphiles, en mettant

l'accent sur les voies synthétiques généralement utilisées pour leur production, ainsi que sur leurs propriétés d'auto-assemblage en milieu aqueux [58].

L'utilisation de tels systèmes de transport peut permettre d'outrepasser certaines limitations quant-à l'emploi d'agents thérapeutiques, comme des problèmes de solubilité (eau ou membrane) ou encore de fragilité dans certaines conditions physiologiques, améliorant ainsi leur biodisponibilité. On peut alors distinguer deux principales applications de cette méthode :

- le calixarène est utilisé afin de solubiliser/protéger des composés peu polaires et/ou peu solubles dans l'eau.
- le calixarène est utilisé pour encapsuler une espèce polaire et la rendre temporairement lipophile afin de traverser une membrane lipidique par exemple.

Une étude réalisée par Stoikov et coll. a montré que des biomolécules hydrophiles, comme les acides aminés, pouvant être efficacement transportées au travers d'une membrane lipidique par l'intermédiaire de dérivés α -aminophosphonate calix[4]arène amphiphiles [59]. Ils ont comparé la capacité de transporteur de deux dérivés, munis d'une partie basse polaire et d'une partie haute apolaire pour le premier, et inversement pour le second figure 18. Ils ont de plus démontré que les aminoacides aromatiques étaient sélectivement transportés, impliquant un rôle de reconnaissance de la cavité lipophile du calixarène.

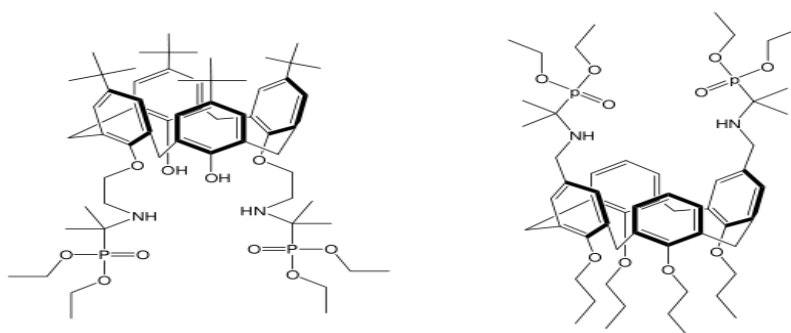


Figure 18. Dérivés aminophosphonates du calix[4]arène.

Citons également les travaux de Fernandes et coll. ayant publié une étude concernant la formation de complexe d'inclusion entre un calix[6]arène hexa-sulfonate et la tétracaine, un anesthésique local[60]. Les auteurs expliquent comment cette formulation peut permettre de limiter certains effets indésirables tout en améliorant l'hydro-solubilité et donc la biodisponibilité de la tétracaine.

Nault et coll. ont reporté la préparation et l'utilisation de nanoparticules formées par la superposition de couches auto-assemblées d'un tétra-p-aminocalix[4]arène porteur en partie

basse de chaînes dodécylalkyles [61]. Les auteurs ont montré que ces nanoparticules pouvaient être recouvertes de brins d'ADN, et les transporter au travers de la membrane cellulaire (transfection d'ADN). Ce procédé pourrait être appliqué dans le cadre de la thérapie génique.

Dans une même optique de transfection d'acide nucléique, Rodik et coll. ont publié la synthèse de calix[4]arènes amphiphiles porteurs de groupes cationiques sur la partie haute (ammonium ou imidazolium) et de chaînes alkyles en partie basse (de C3 à C8)[62]. Les auteurs ont montré que ces molécules peuvent s'auto-assembler en micelles puis, en présence d'ADN, s'agrègent en nanoparticules de taille comparable à celle d'un virus soit environ 50 nm figure 19. Les études sur culture cellulaire ont montré que la transfection de gène par ce système à base de calixarène est possible. De plus, Rodik et coll. ont montré que ces dérivés calixaréniques présentent une faible cytotoxicité.

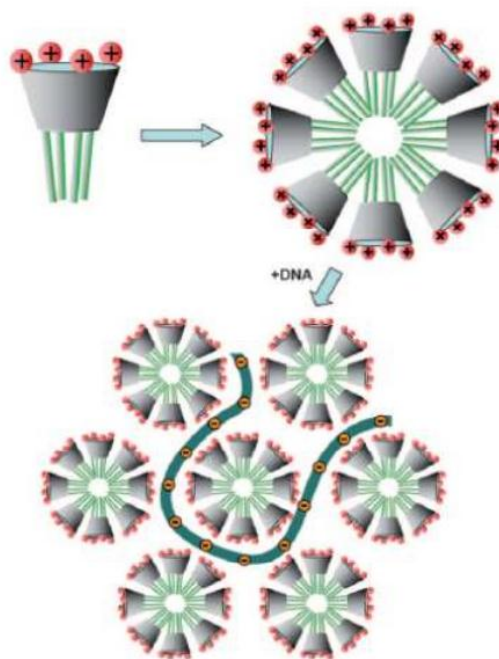


Figure 19. Auto-assemblage de nanoparticules à base de dérivés calixaréniques amphiphiles et d'ADN.

1.7. Complexes d'inclusion des calixarènes

Un complexe d'inclusion est une association moléculaire entre une ou plusieurs molécules dont l'une est l'hôte (calixarène) et l'autre l'invitée (la molécule). La molécule "invitée" est alors encapsulée (complexée) de façon totale ou partielle au sein de la molécule "hôte". Les liens qui unissent ces différentes entités sont des interactions faibles, non

covalentes, pouvant être de type électrostatique, hydrophobe, ou de Van der Waals. Des liaisons hydrogène ou des empilements π - π peuvent également intervenir dans ce processus, ce qui entraîne une dissociation aisée et douce des complexes d'inclusions.

Cramer a introduit en 1951 la notion de complexe d'inclusion pour traduire le transfert d'un ligand d'une solution aqueuse vers la cavité d'une cyclodextrine [63].

Cette cavité est, comme vu précédemment, occupée par des molécules d'eau ; cette occupation est énergiquement défavorisée du fait des interactions polaire-apolaire. Cette eau pourra alors être facilement substituée par une molécule invitée appropriée, moins polaire qu'elle. Ce phénomène donne dans ce cas naissance à des interactions de type Van der Waals et lorsque la structure de la molécule invitée le permet, à la formation de liaisons hydrogène qui peuvent également stabiliser le complexe.

Les complexes formés entre les calixs et les molécules invitées peuvent être de type 1 :1 ou 1 :2. Le plus fréquemment, il s'agit de complexes d'inclusion de type 1 :1. En solution, le complexe étant régi par des forces d'interactions faibles, un équilibre s'établit entre les formes dissociées et associées. Cet équilibre thermodynamique s'exprime par une constante d'association K_a . Dans le cas d'un Calix et d'une molécule invitée A, il est régi par la relation suivante figure 20[64].

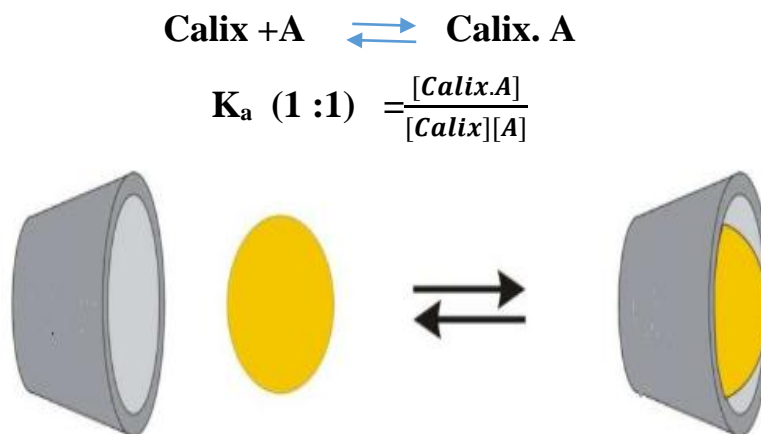


Figure 20. Complexe d'inclusion de type 1 :1 Calixarene – molécule invitée

1.8. Facteurs influençant le procédé d'inclusion

1.8.1. Influence du pH

Le pH des solutions influence évidemment la nature (neutre ou ionisée) des molécules ionisables (selon leur constante d'acidité pK_a). Pour les électrolytes faibles, la force d'interaction à la Calix dépend de l'état ionique de la molécule invitée, de la constante de dissociation de la molécule invitée et du pH de l'environnement. Pour la plupart des molécules,

la forme ionisée de la molécule invitée à une interaction plus faible au Calix comparé aux molécules non ionisées ou neutres particulièrement si le Calix est neutre.

1.8.2. Influence de la température

Évidemment, la variation de la température peut affecter le procédé de complexation. Dans la plupart des cas l'augmentation de la température diminue l'importance de la constante apparente de la stabilité du complexe formé. L'effet a été expliqué par la réduction possible des forces d'interaction internes.

1.8.3. Influence de la taille de la cavité

La taille de calix peut influencer la formation, la nature et la stabilité des complexes. Pour la complexation, la taille de la cavité même la nature des substituants greffés de la Calix devrait convenir pour adapter aux molécules des médicaments de taille particulière [65].

1.9. Techniques de préparation des complexes d'inclusion

Il existe diverses techniques de préparation des complexes d'inclusion. La méthode de préparation doit être choisie selon les applications envisagées car elle influence sur les caractéristiques physico-chimiques et la dissolution du complexe. La préparation peut s'effectuer en milieu liquide ou solide en allant de simples méthodes de laboratoire jusqu'à l'échelle industrielle. Elle consiste généralement à dissoudre la calixarène en présence de l'invité puis laisser un équilibre s'établir. Le complexe sera par la suite récupéré sous forme d'un solide. Les méthodes souvent utilisées sont décrite ci-dessous.

1.9.1. Inclusion par cristallisation de la solution (co-précipitation)

Cette méthode est une des plus anciennes mais reste souvent utilisée. Elle consiste à agiter à une température entre 40 et 60°C une solution ou suspension de Calixarène à laquelle l'invité (dissout dans l'eau ou un autre solvant) sera ajouté. Un chauffage peut s'installer, si l'invité le tolère. Ensuite, le refroidissement lent permet la co-précipitation du complexe formé. Le précipité est collecté par décantation, centrifugation ou filtration puis lavé dans le but d'éliminer l'excès d'invité non encapsulé. Les principaux inconvénients de cette technique sont liés surtout au lavage, une grande quantité d'eau utilisée (vu la faible solubilité de la β -CD par exemple), le cout élevé des plusieurs étapes de préparation, ainsi que le faible rendement. Un additif (solvant organique, sel, polymère hydrosoluble) peut être ajouté au milieu de préparation pour optimiser le rendement de préparation. [66].

1.9.2. Inclusion par co-mélange (co-grinding)

Cette méthode présente plusieurs variantes (damp/slurry/kneading/paste) selon la quantité d'eau ou de solvants utilisée durant la préparation. Elle consiste à mélanger les molécules hôte et invité à des températures et temps différents suivant les caractéristiques de l'invité utilisé [67].

1.9.3. Inclusion en suspension (slurry)

Une solution aqueuse sursaturée en calixarène est préparée. La quantité du calixarène non dissoute peut arriver jusqu'à 50 à 60 %. A cette suspension et sous agitation est ajouté l'invité. Ce dernier va former avec le calixarène en solution des complexes d'inclusion. Comme la solution est saturée en calixarène, les complexes vont précipiter au fur et à mesure de leur formation, et les cristaux du calixarène vont se dissoudre et complexer davantage de molécules invitées. Le précipité (complexe d'inclusion) peut être collecté par précipitation, décantation ou filtration. L'optimisation du taux de complexation est possible par chauffage mais cela peut déstabiliser le complexe. La quantité d'eau et le temps indispensables à la complexation doivent être optimisés pour chaque invité.

1.9.4. Inclusion par pétrissage (paste/kneading)

L'invité est ajouté à une pâte préparée en mélangeant, à l'aide d'un mortier, le calixarène avec de l'eau. Un pétrisseur est utilisé à l'échelle industrielle. Le temps nécessaire pour la complexation varie selon l'invité. La consistance de la pâte dépend de la quantité d'eau et de la nature de l'invité. Une fois récupéré et séché le complexe doit passer par une étape de broyage supplémentaire.

1.9.5. Inclusion en méthode humide (damp)

Le calixarène est mélangée avec l'invité en présence d'une petite quantité d'eau. Le mélange est ensuite placé dans un récipient hermétiquement scellé et chauffé jusqu'à 100°C. L'humidité provenant de l'eau d'hydratation du calixarène et de l'invité peut arriver jusqu'à 20 à 25 % de la masse de la matière sèche. Selon la nature de l'invité et la quantité d'eau, la durée du mélange et du chauffage doivent être optimisées. Cette méthode nécessite un apport très important d'énergie et n'est conseillé qu'avec les invités stables à température élevée.

1.9.6. Inclusion par extrusion

C'est une variante de l'inclusion par pétrissage du fait qu'elle se fait en mode continu. Le calixarène, l'invité et l'eau sont mélangés et placés dans un extrudeur sous chauffage. Le degré de mélange, la température et le temps de chauffage sont contrôlés dans la cuve de l'extrudeur. Le complexe peut être séché par chauffage ou par un simple refroidissement. Du fait de la température générée, certains invités thermolabiles sont dégradés durant ce

processus. L'intérêt de cette technique réside dans le fait que c'est un processus continu qui n'utilise qu'une faible quantité d'eau [68].

1.9.7. Inclusion à sec

La complexation peut être envisagée par un simple mélange des deux composés du complexe. Le temps nécessaire à la complexation varie selon l'invité qui est généralement une huile ou un autre liquide. Cette méthode est généralement réalisée à température ambiante. Le principal avantage est que l'eau n'est utilisée que si un rinçage est nécessaire. Toutefois, des phénomènes non désirés peuvent se présenter tels que la formation de croûtes sur les poudres et la complexation partielle si le degré du mélange n'est pas suffisant [69].

1.9.8. Inclusion par neutralisation

Cette technique est souvent utilisée dans le cas d'invités ionisables. Un invité acide est ainsi dissout dans un milieu aqueux alcalin contenant le calixarène et vice versa. Le changement de pH induit la diminution de la solubilité de l'invité et la formation de complexes solides [70].

1.9.9. Inclusion par co-évaporation

Elle consiste à mélanger le calixarène avec la molécule invitée pendant une certaine durée pour avoir une complexation en présence d'un solvant à la même température. Puis le complexe solide est récupéré par co-évaporation des solvants présents [71].

1.9.10. Inclusion par atomisation/ pulvérisation (spray drying)

Les différents composants (calixarène, invité et solvant) sont mélangés puis les complexes sont pulvérisés. Une précipitation peut être provoquée et contrôlée pour éviter que de grandes particules bloquent la buse du pulvérisateur. Ce processus n'est pas conseillé pour les invités volatils et thermolabiles du fait que la température peut atteindre 50 -70 °C durant le séchage. [72].

1.9.11. Inclusion par lyophilisation (freeze drying)

La lyophilisation peut être utilisée pour le séchage des complexes suite à la dissolution d'une quantité définie de calixarène et d'invité dans un milieu aqueux sous une agitation constante. A basse température on réduit les pertes de matière, ce qui est intéressant dans le cas des composés volatils et/ou thermolabiles.

1.9.12. Inclusion au CO₂ supercritique

Au-delà de 31,4°C et 73,8 bars, le CO₂ entre dans un état de matière appelé supercritique. Le CO₂ supercritique présente un pouvoir solvant pour cela il a été proposé pour la préparation des complexes d'inclusion de CDs avec des molécules aromatiques en

1990. Cette technique reste cependant peu utilisée pour les composés volatils tels que les huiles essentielles et leurs constituants bien que les complexes obtenus présentent une bonne dissolution et une meilleure disponibilité que le mélange physique. Cette technique présente les avantages d'être simple, reproductible et économique (aucun solvant n'est utilisé). L'application de cette technique reste pour l'instant limitée à l'échelle expérimentale et cela est principalement dû au prix élevé de l'appareil. [73].

1.9.13. Inclusion par micro-ondes

Cette méthode permet d'atteindre rapidement la température nécessaire pour la formation du complexe d'inclusion tout en gardant une bonne uniformité des propriétés du complexe. Généralement, le temps de la réaction ne dépasse pas 90 s à 60 °C (à 150 W). Des valeurs plus importantes peuvent être utilisées pour des invités moins labiles.

1.10. Caractérisation des complexes d'inclusion

Il existe plusieurs techniques permettant d'étudier ces complexes d'inclusion, elles permettent de mettre en évidence leur formation et, de déterminer leur stœchiométrie et leur stabilité. Ces différentes techniques reposent sur les modifications des propriétés physico-chimiques ou optiques de la molécule complexée liée à la modification de son environnement.

1.10.1. Calorimétrie différentielle à balayage (DSC)

La DSC est utilisée pour la mise en évidence de la formation des complexes d'inclusion sous forme solide. Suite à la complexation, les propriétés thermodynamiques des composés changent permettant de deceller la modification ou la disparition du pic caractéristique de l'invité correspondant à son évaporation ou sa fusion suite à l'encapsulation. La DSC a été largement utilisée dans la littérature pour la caractérisation des complexes d'inclusion [74]. Comme par exemple le complexe de cyclodextrine et les huiles essentielles l'HE [75].

1.10.2. Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR)

La spectrophotométrie FTIR est utilisée depuis de nombreuses années pour identifier directement la formation de complexes d'inclusion Calix/invité. Cette méthode donne rapidement un aperçu sur l'inclusion d'un invité dans la cavité de Calix, en comparant le spectre du complexe à ceux de l'invité et de la Calix en question. Généralement, les bandes de Calix ne subissent qu'un simple changement suite à la complexation, alors que les bandes correspondant à la partie de l'invité sans transloquée dans la cavité du Calix seront facilement masquées ou altérées par celles du spectre de la Calix. Ces modifications sont indicatives de

l'inclusion et sont dues à la perte de la vibration et de la transition de l'invité à cause du changement de son environnement et de ses interactions avec la Calix. De plus, les spectres FTIR donnent des informations sur l'implication des hydrogènes dans les interactions entre les groupes fonctionnels. Les groupes fonctionnels absorbent à des fréquences relativement constantes, donnant ainsi la possibilité d'obtenir des informations structurales détaillées sur les molécules étudiées à partir de leurs spectres IR[76].

1.10.3. Diffraction des rayons X (DRX)

La DRX permet de détecter les changements dans le réseau cristallin lors de la complexation. Nous observons généralement, une disparition ou une diminution des pics caractéristiques de l'invité reflétant la perte de cristallinité associée à son inclusion dans le calix.

1.10.4. Résonance Magnétique Nucléaire (RMN)

La Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) dépasse le simple esprit analytique pour arriver à la détermination de la structure du complexe. L'environnement magnétique des atomes des molécules intervenant dans le processus de complexation se trouve modifié. Ces modifications peuvent être mesurées par spectrométrie RMN. En effet, la variation de la fréquence de résonance des protons de la cavité de la calix couplée à celle des protons de l'invité met en évidence la formation d'un complexe mais permet également d'en proposer la géométrie. Les signaux des déplacements chimiques des protons du Calix sont généralement décalés vers les champs forts. Ce déplacement est induit par l'effet anisotropique suite à l'inclusion des entités riches en électrons π de l'invité dans la cavité hydrophobe du calix. Le déplacement vers les champs faibles des signaux des protons de l'invité impliqués dans la complexation est souvent dû au changement de polarité de son environnement [77].

1.10.5. Calorimétrie de Titration Isotherme (ITC)

La Calorimétrie de Titration Isotherme est une technique polyvalente présentant l'avantage de mesurer directement les paramètres thermodynamiques du système : la constante de formation de complexe K_f , l'enthalpie, d'énergie libre et la stœchiométrie du complexe. Contrairement aux autres techniques, l'ITC a été conçue et développée spécifiquement pour la caractérisation des interactions moléculaires [78].

1.10.6. Spectroscopie UV-Visible

La spectroscopie UV-Visible peut être utilisée pour l'étude des complexes d'inclusion des calix et notamment pour la détermination des paramètres thermodynamiques. La méthode consiste à observer les variations spectrales lors de titrage complexométrique

Chapitre 1 : Généralités sur les calixarènes et le piroxicam

(invitée/Calix ou Calix/invité). Cette différence spectrale étant dépendante des concentrations totales de chaque molécule, mais également des affinités relatives des complexes, elle permet d'évaluer la stabilité du composé d'inclusion Calix/invité. [79].

2. Piroxicam

Le piroxicam (4-hydroxy-2methyl-*N*-(pyridin-2-yl)-2*H*-benzo[e][1,2]thiazine-3-carboxamide 1,1-dioxide) est un antalgique, antipyrétique et anti-inflammatoire non stéroïdien (AINS). On le différencie des corticoïdes par le fait d'être non stéroïdien. En 1960 la cortisone ainsi que ses dérivés ont été séparés de (l'AINS) par le terme non stéroïdien. Le piroxicam est un principe actif de la classe II (BCS) (biopharmaceutical classification system) et (faible solubilité, haute perméabilité). Le piroxicam, appartient au groupe des oxicams. Il est limité par ses effets secondaires gastro-intestinaux. La structure du piroxicam est représenté dans la figure 21[80].

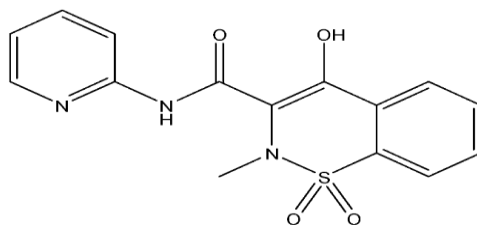


Figure 21. Structure du piroxicam

2.2. Propriétés physico-chimiques

Les propriétés physicochimiques du piroxicam sont regroupées dans le tableau 1 suivant :

Tableau 1 : Propriétés physico-chimiques du Piroxicam

Propriétés chimiques	Formule chimique	C ₁₅ H ₁₃ O ₄ S
	Masse molaire	331,348 g/mol
	PKa	6,3
Propriétés physiques	Point de fusion	198- 200°C
	Pression de vapeur saturante	4,67×10 ⁻¹⁵ mm Hg à 25°C
	Solubilité	23 mg /L dans l'eau à 25°C
	Aspect en solution	Claire, jaune
	En poudre	Blanche ou légèrement jaunâtre

2.3. Propriétés pharmacocinétiques

La pharmacocinétique du piroxicam étudie le devenir de ce médicament dans l'organisme en fonction du temps. Ce devenir résulte des différents processus décrits dans le tableau 2 : absorption, distribution, transformation, élimination. La molécule du piroxicam possède une résorption digestive rapide, et une bonne diffusion dans la plupart des tissus et fluides de l'organisme, sa liaison aux protéines est de 60 à 99% ; son métabolisme est intense soit 90%. L'élimination du Piroxicame est urinaire, sous forme de métabolite.

Tableau 2 : Propriétés pharmacocinétiques du piroxicam

Molécule	Absorption	Distribution	Métabolisme	Élimination
Piroxicam	Résorption digestive rapide Bonne biodisponibilité (70 à 80%)	Bonne diffusion dans la plupart des tissus et fluides de l'organisme (diffusion facilitée dans les tissus inflammatoires) Forte liaison aux protéines plasmatiques (60 à 99%)	Métabolisme hépatique intense (90%)	Élimination essentiellement urinaire sous forme de métabolites

2.4. Mécanisme d'action

Le piroxicam est un, inhibiteur sélectif de la cyclooxygénase responsable de la transformation de l'acide arachidonique en prostaglandines ou thromboxanes. Il agit préférentiellement sur la synthèse des prostaglandines lors des phénomènes inflammatoires.

2.5. Complexation du piroxicam

D'après la littérature, le piroxicam peut être complexée avec différentes molécules ou supra-molécules. Parmi lesquelles on retrouve les cyclo dextrines utilisées dans le but d'obtenir une bonne tolérance gastro-intestinal et améliorer la solubilité. Le cycladol est un complexe d'inclusion de piroxicam-bêta-cyclo dextrine ayant des propriétés physiques, chimiques et biologiques très différentes de celles du médicament ou de la cyclo dextrine. Ce dernier a été utilisé en Europe depuis plusieurs années [81].

2.6. Problèmes liés au piroxicam

Les principaux problèmes du piroxicam sont :

- Faible solubilité

Le piroxicam est pratiquement insoluble dans l'eau. Sa solubilité est de 23 mg/l.

Il prend 2 à 3 heures pour atteindre la concentration maximale après administration. Le piroxicam est soluble dans le chlorure de méthylène. Il est peu soluble dans l'éthanol et le méthanol.

- Polymorphisme

Le piroxicam possède plusieurs structures cristallines qui lui confère des différentes propriétés physicochimiques. A noter : compacité, solubilité, vitesse de dissolution etc. Le polymorphisme du piroxicam a plusieurs conséquences sur sa formulation.

Chapitre 2 : Matériels et méthodes

3. Matériels et méthodes

3.1. Matériels

3.1.1. Matières premières

La matière première utilisée, le piroxicam (principe actif), a été gracieusement fourni par SAIDAL Dar el Beida Alger.

3.1.2. Réactifs

Les réactifs qui ont été utilisés sont regroupés dans le tableau 3 suivant :

Tableau 3 : Réactifs utilisés

Réactif	Formule chimique	Marque
Chlorure de sodium	NaCl	CHIM-LAB
Soude	NaOH	PANREAC
Acétone	C ₃ H ₆ O	CHIM-LAB
Sodium sulfite	Na ₂ SO ₃	CHIM-LAB
Acide chlorhydrique	HCl	SIGMA-ALDRICH
Ethanol	C ₂ H ₆ OH	SIGMA-ALDRICH
Méthanol	CH ₃ OH	SIGMA-ALDRICH
Formaldéhyde	CH ₂ O	CHIM-LAB
Résorcinol	C ₆ H ₆ O ₂	SCHARLAU
Phosphate mono potassique	KH ₂ PO ₄	SIGMA-ALDRICH
Dimethyl-sulfoxyde (DMSO)	(CH ₃) ₂ SO	SIGMA-ALDRICH

3.1.3. Appareillages et équipements

L'appareillage et équipements qui ont été utilisés sont regroupés dans le tableau 4 suivant :

Tableau 4 : Appareillage et équipements

Appareillage et équipements	Marque
Centrifugeuse	LABINCO
Plaque chauffante	LABINCO
Bain thermostat	LABINCO
Agitateur à hélice.	LABINCO
Balance analytique	LABINCO
pH mètre	LABINCO
Etuve.	MEMMERT
Appareil UV/vis	SHIMADZU, UV-19000I
Appareil spectroscope infrarouge	IRAFFINITY-1S, SHIMADZU
Appareil de point fusion	Stuart/ SMP30
Bain mari.	MEMMERT

3.1.4. Verrerie

La verrerie utilisée dans les manipulations est :

Béchers. Fiole jaugée. Eprouvette. Entonnoir. Mortier en agate. Réfrigérant. Tubes à essais. Eprouvette. Ballon. Boîte de pétri. - Dispositif à reflux.

3.2. Méthodes

3.2.1. Synthèse du p-tetrasulfonatomethylcalix[4]resorcinarène

Plusieurs travaux ont été publiés sur la synthèse des calix[4]resorcinarènes sulfonés qui forment une grande classe de macrocycles, d'intérêt considérable par leurs propriétés biologiques et pharmaceutiques. Dans notre travail, il nous a paru intéressant de reprendre la synthèse de p-tetrasulfonatomethylcalix[4]resorcinarène [82].

Mode opératoire

La réaction passe par deux étapes [83]. La première étape consiste à la condensation de 0,001 mol de nonanal avec 0,001 mol de résorcinol dans un mélange de (15 ml : 5ml d'éthanol/acide chloridrique). La réaction est réalisée à reflux dans un bain de sable pendant 20 heures. Le mélange se solidifie après refroidissement. Le résidu solide est lavé à l'eau à fin d'éliminer toute trace d'acide (schéma 1).

Dans une deuxième étape la synthèse du p-tetrasulfonatomethylcalix[4]résorcinarène a été réalisée en milieu basique. Le chauffage d'un phénol en présence du formaldéhyde et de la base

Chapitre 2 : Matériels et méthodes

appropriée conduit au C8. A partir de celui-ci, le C8S souhaité est obtenu (schéma 2). Le C8S a été synthétisé par la méthode de condensation à reflux, dans un bain de sable à 95°C.

Dans un ballon de 100 ml ont été introduit 2 ml d'eau distillée, dans les quelles respectivement ont été dissout 0,0025 mol de NaOH ; 0,0035 mol de sodium sulfite et 0,00051 mol de C8. L'ensemble a été soumis à l'agitation magnétique à froid jusqu'à dissolution complète. Ensuite 0,1 ml de formaldéhyde ont été ajouté, sous agitation continue, à chaud pendant 20 heures.

La synthèse a été achevée par l'apparition de précipité, et changement de couleur indiquant la formation du C8S.

Le C8S a été récupéré, sa température de fusion a été mesurée. Par la suite, il a été conservé dans des tubes eppendorf dans le dessiccateur pour être utilisé dans la complexation.

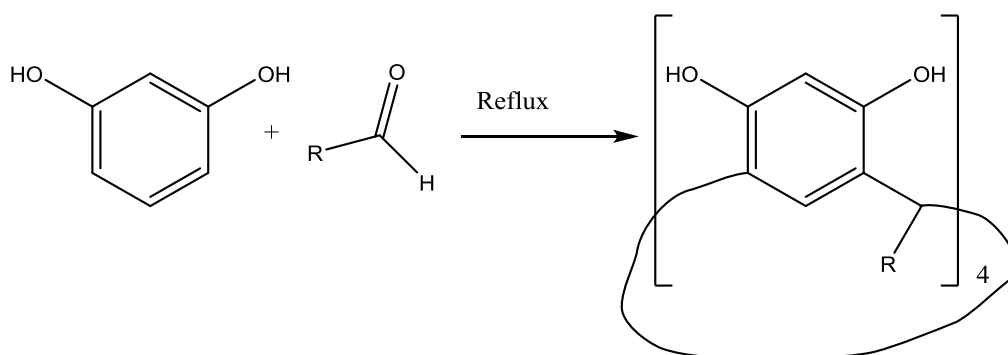


Schéma1 : Schéma réactionnel de la synthèse directe du calixarène C8

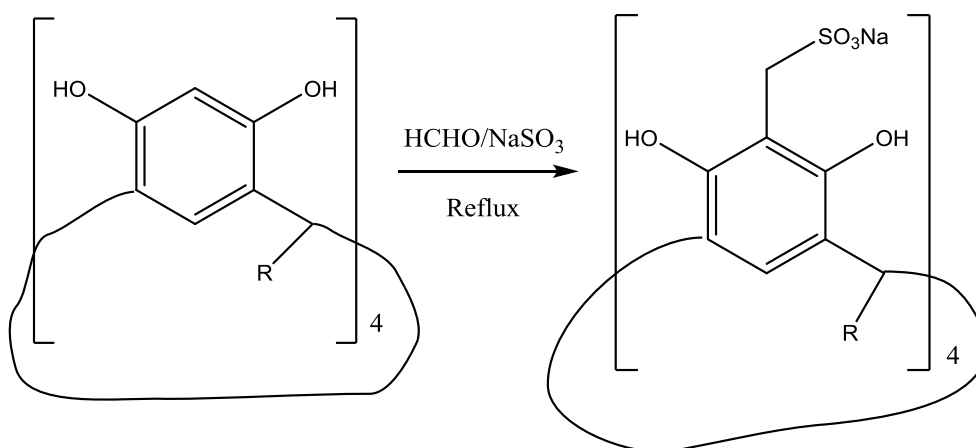


Schéma 2 : Schéma réactionnel de la synthèse directe du calixarène C8S

3.2.2. Préparation des complexes d'inclusion

Les complexes d'inclusion piroxicam/p-tetrasulfonatomethylcalix [4] résorcinarène (PRX/C8S) ont été préparés par la méthode de pétrissage. Les deux composés ont été mixés dans deux ratios molaires 1 :1 et 1 :2. Cent milligrammes (100 mg) de NaOH et 1,5 ml d'eau distillée ont été ajoutés. L'ensemble a été malaxé dans un mortier en agate, pendant 30 minutes. La poudre obtenue a été séchée dans l'étuve pendant 2 heures à 105 °C, puis broyée, tamisée et placée dans des tubes eppendorf.

3.2.3. Préparation du mélange physique

Le mélange physique (MP) piroxicam /C8S a été préparé par simple mélange dans un mortier en agate. Les deux composés ont été pondérés dans un ratio molaire 1 :1 puis broyés jusqu'à la formation d'un mélange homogène, sans ajout de NaOH et d'eau distillée.

3.2.4. Caractérisation du p-tetrasulfonatomethylcalix[4]resorcinarène (C8S) et des complexes d'inclusion

3.2.4.1. Spectroscopie FTIR

Les échantillons C8, C8S, les complexes d'inclusion de ratios molaires CS1 :1, CS1 :2, et MP ont été analysés par infra-rouge afin de détecter la présence d'interactions entre le principe actif piroxicam et le véhicule dans les complexes d'inclusion.

L'apparition ou la disparition des pics et/ou le changement de leurs positions est souvent une indication sur les interactions intermoléculaires telles qu'une liaison hydrogène.

3.2.4.2. Test de dissolution

L'essai de dissolution dans la majorité des pharmacopées, et particulièrement dans l'USP (United state pharmacopea), consiste à mesurer avec précision, dans des conditions standards en fonction du temps, la quantité de substance active libérée par la forme médicamenteuse, passant en solution après immersion dans un milieu liquide approprié [84].

L'essai de dissolution a été effectué sur le piroxicam (PRX) pur, les complexes d'inclusion et le mélange physique. Les conditions opératoires sont :

- Volume du milieu = 900 ml.
- Milieu de dissolution : tampon pH 1,2 et tampon pH 6,8.
- Température des deux milieux = 37,4°C.
- Vitesse de rotation = 100 tours /minutes.

Volume prélevé = 5 mL ont été prélevés et compensés du même milieu, dans un intervalle de : 5,10, 15, 30, 45 ,60 ,90 à 120 min.

Des solutions standards spécifiques à chaque milieu ont été préparées comme suit : 10 mg de piroxicam ont été dissous dans 10 mL de méthanol, complété jusqu' à 1000 mL avec les

Chapitre 2 : Matériels et méthodes

milieux respectifs pH=1,2 ou pH=6,8. Ensuite une lecture dans l'UV a été réalisée pour les échantillons. Un dispositif a été confectionné pour le test de dissolution et est représenté dans la figure 22 et la figure 23.

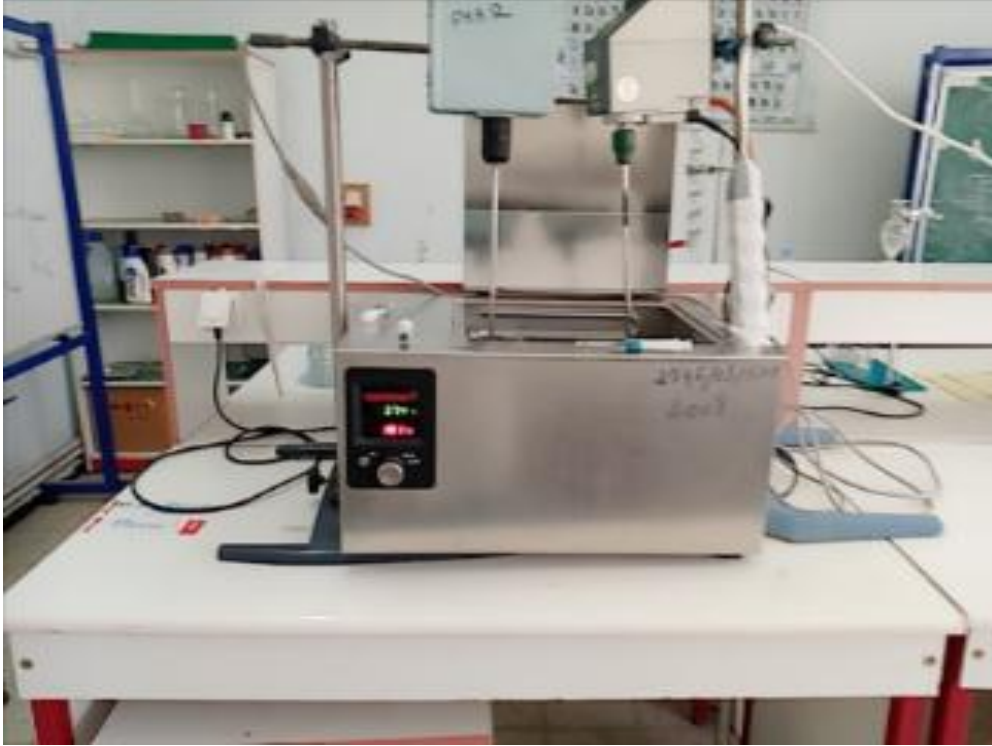


Figure 22. Dispositif confectionné pour le test de dissolution ; vue extérieure

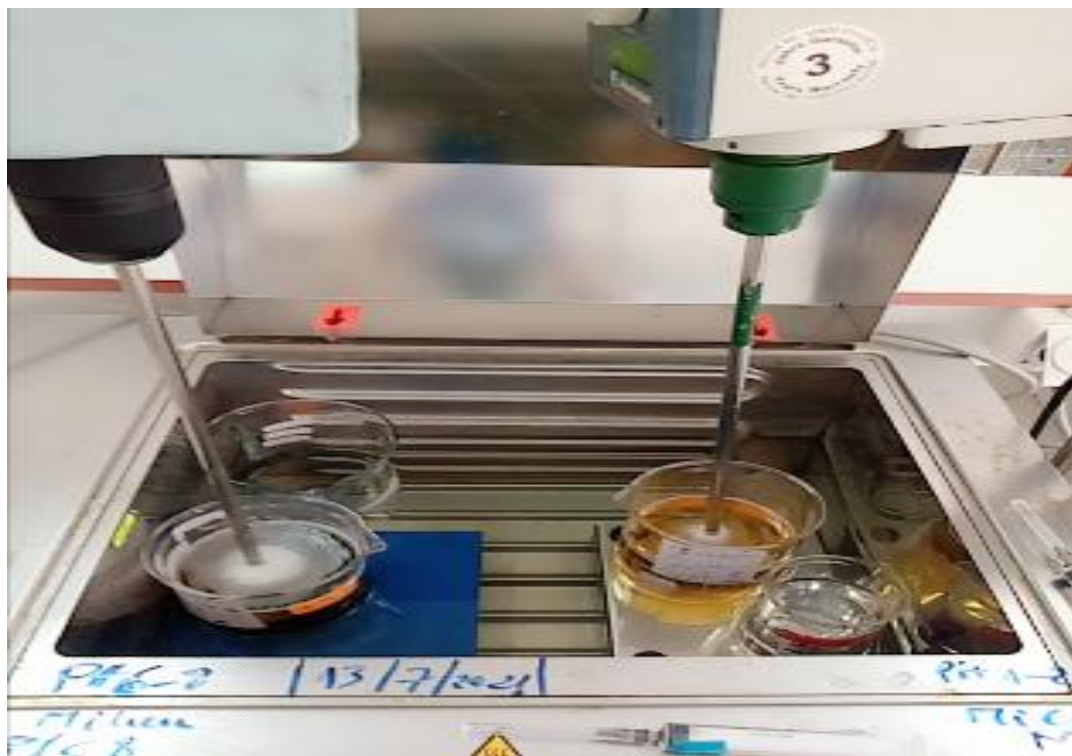


Figure 23. Dispositif confectionné pour le test de dissolution ; vue intérieure

4.1. Synthèse de C8S

La synthèse du C8S a abouti à une poudre ayant l'aspect et le rendement suivants :

4.1.1. Aspect du C8S

Le p-tetrasulfonatomethylcalix [4] résorcinarène (C8S) est apparu sous forme de poudre de couleur grenat (figure 24).



Figure 24. Aspect de p-tetrasulfonatomethylcalix [4] résorcinarène.

4.1.2. Rendement du C8S

Le rendement (R%) du C8S a été calculé selon la formule suivante :

$$R\% = \frac{\text{masse expérimentale}}{\text{masse théorique}} \%$$

Le rendement de C8S est de 79,50 %, qui est un très bon rendement.

4.1.3. Point de fusion du C8S

Le point de fusion (Tf) de C8S mesuré est de 240 °C.

4.1.4. Solubilité du C8S

Le C8S a montré une bonne solubilité dans l'eau par rapport aux autres solvants organiques. Le tableau 5 regroupe la solubilité de C8S dans différents solvants.

Tableau 5 : Solubilité du C8S

Solvant	Solubilité du C8S
Eau	Soluble
Ethanol	Pratiquement insoluble
Méthanol	Pratiquement insoluble
Ether de pétrole	Pratiquement insoluble
Acétone	Pratiquement insoluble
DMSO	Pratiquement insoluble

4.1.5. Spectroscopie FTIR du C8 et du C8S

Le spectre infrarouge représenté en vert sur la figure 25 est celui du C8. Ce dernier a montré l'apparition de nouvelles bandes caractéristiques. Un pic est observé à 2900 – 2960 cm^{-1} avec une intensité moyenne, correspondant aux bandes d'élongation de méthyle symétrique C-H. Les bandes de vibration de C-O sont apparus entre 1070 cm^{-1} - 1293 cm^{-1} . La superposition des deux spectres de C8 et C8S présente les mêmes groupes fonctionnels. Le nouveau pic du groupement SO_3^{-2} caractéristique de C8S est enregistré à 1150 cm^{-1} . Le spectre IR du C8S montre aussi d'autres bandes caractéristiques telles que : une bande d'élongation de groupement (C=O) de la fonction carboxylique qui apparaît à 1705- 1720 cm^{-1} et l'élongation de la liaison N-H de l'amine à 3200 cm^{-1} . La diminution de La bande d'élongation de OH du composé C8S par rapport à celle de C8, confirme la sulfonation de C8.

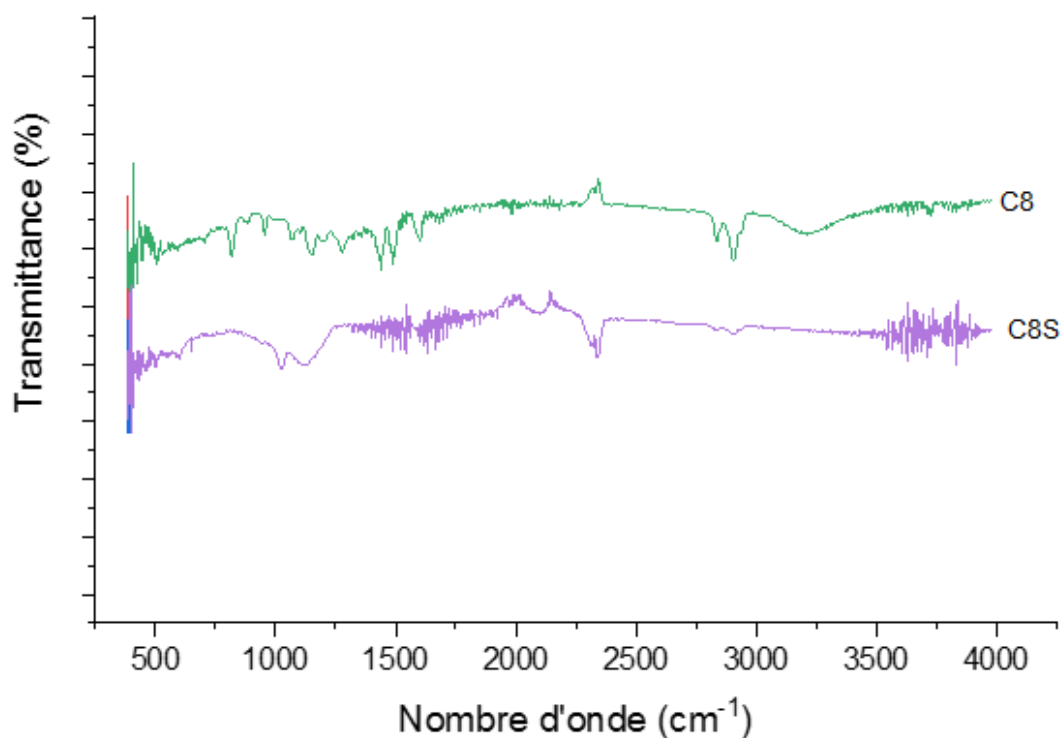


Figure 25. Spectres IR des composés C8 et C8S.

4.2. Préparation des complexes d'inclusion

4.2.1. Aspect des complexes d'inclusion

Le complexe d'inclusion a acquis des aspects et couleurs différents durant sa préparation. La figure 26 montre les différents aspects du CS1 :1 durant sa préparation.

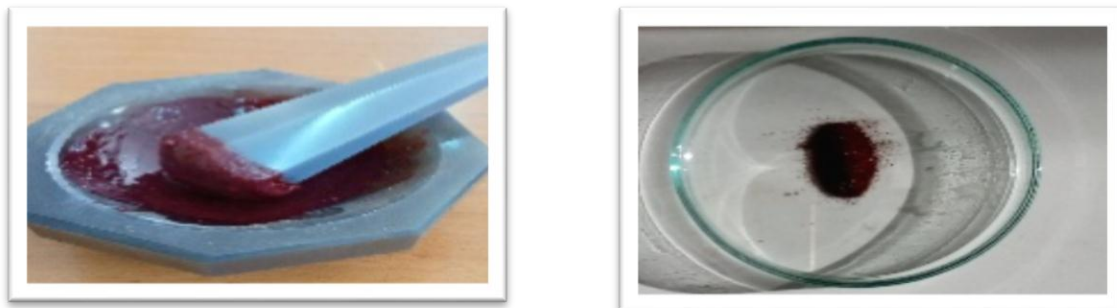


Figure 26. Aspect du complexe d'inclusion CS1 :1 durant les différentes étapes de préparation

4.2.2. Rendement des complexes d'inclusion

Le rendement (R%) a été calculé par la formule suivante :

$$(R\%) = \frac{\text{La masse du complexe d'inclusion}}{\text{la masse PRX} + \text{la masse du C8S} + \text{la masse de NaOH}} \times 100$$

Le tableau 6 regroupe les rendements des complexes d'inclusion synthétisés.

Tableau 6 : Rendements des complexes d'inclusion

Complexes d'inclusion	Rendement %
CS1 :1	71,67
CS1 :2	80,30

4.3. Caractérisation des complexes d'inclusion

4.3.1. Spectroscopie FTIR des complexes d'inclusion

L'analyse FTIR est un outil très utile pour prouver l'existence des molécules invitées et hôtes dans leurs complexes d'inclusion. Les bandes d'absorption caractéristiques du PRX sont identiques à celle rapportées dans la littérature [86]. La bande d'absorption d'élongation du groupement O-H du piroxicam située à 3392 cm^{-1} a disparu dans le spectre de CS1 :1, ce qui indique la formation du complexe d'inclusion entre le PRX et le C8S au ratio 1 :1. Ce phénomène est semblable à celui observé avec les β cyclodextrines [87]. Pour le ratio 1 :2 et le MP 1 :1 aucun changement significatif n'a été observé ce qui signifie la non formation de complexe d'inclusion entre le PRX et le C8S. Toutes ces observations indiquent que le PRX a été complexé au ratio 1 :1 (figure 27).

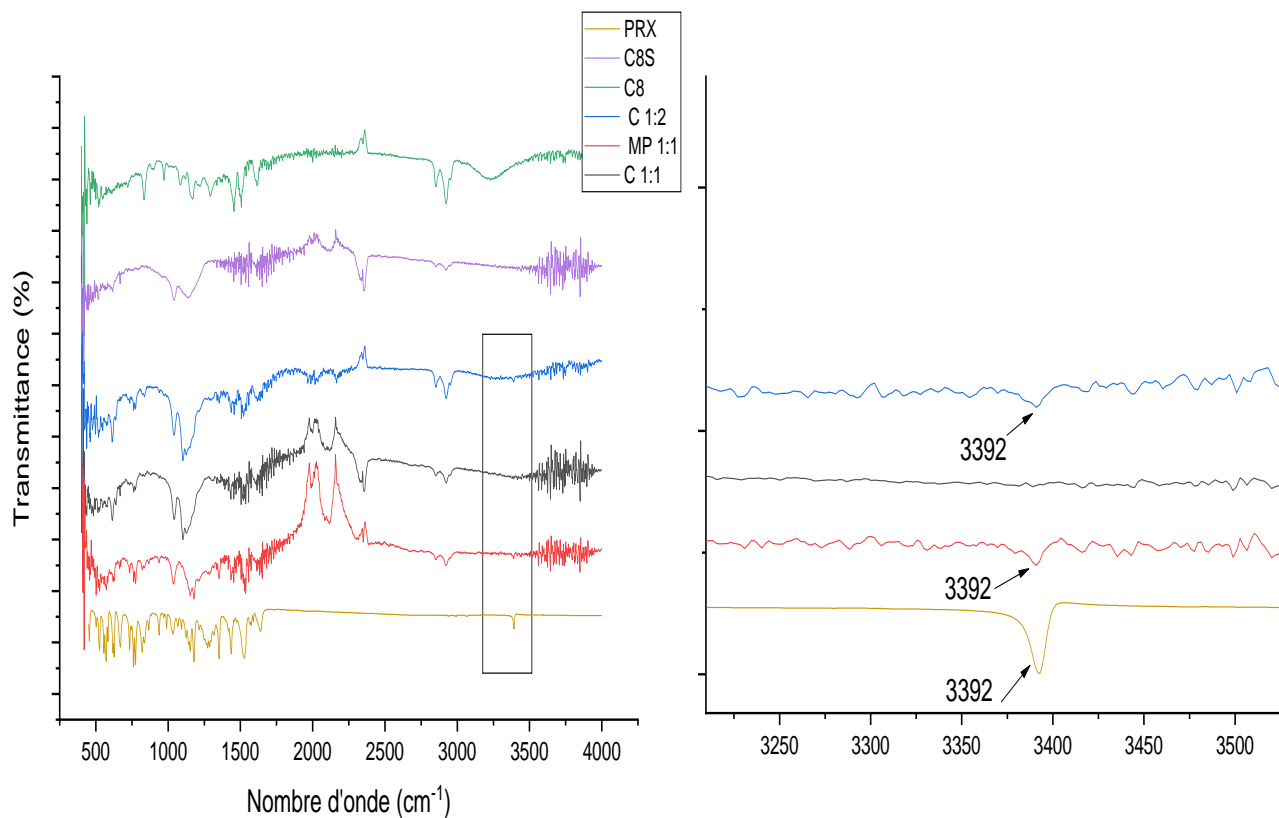


Figure 27. Spectres IR des composés purs, du MP et des complexes d'inclusion

4.3.2. Test de dissolution

Le calcul des pourcentages de dissolution a été réalisé en utilisant la formule suivante :

$$\% = \frac{A_{ech} \times 900 \times 10}{A_{stdr} \times 20 \times 1000}$$

A ech : Absorbance de l'échantillon

A stdr : Absorbance du standard

Les profils de dissolution du PRX pur, du MP1 :1 et des CS1 :1et CS1 :2 dans le milieu de pH 6,8 et le milieu pH1,2 sont représentés dans la figure 28 et la figure 29.

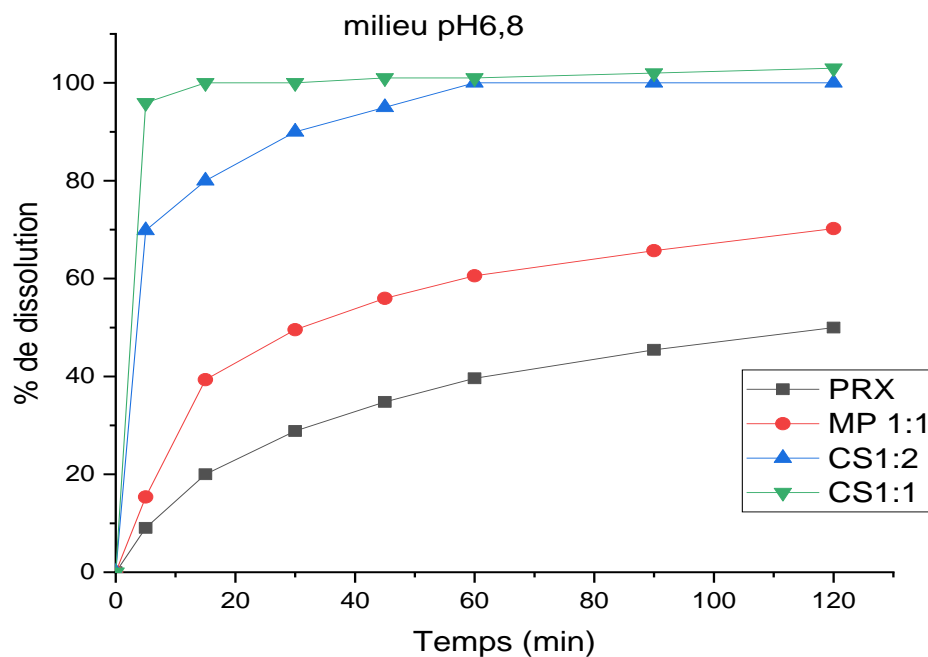


Figure 28. Profils de dissolution du PRX pur, CS 1 :1, CS 1 :2 et MP 1 :1 dans le milieu pH 6,8

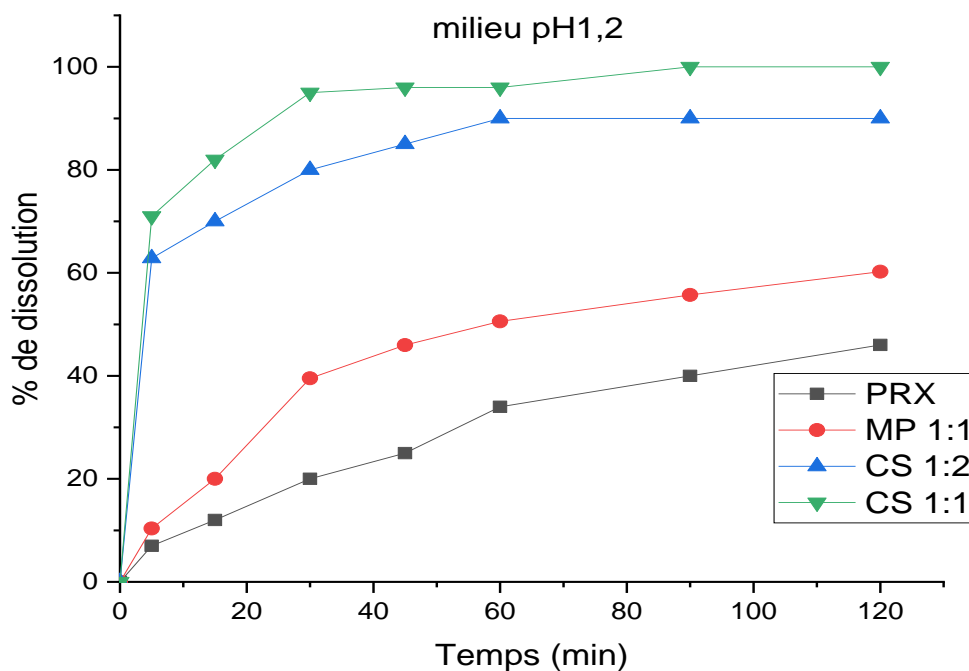


Figure 29. Profils de dissolution du PRX pur, CS 1 :1, CS 1 :2 et MP dans le milieu pH1,2

Chapitre 3 : Résultats et discussion

D'après ces graphes, la vitesse de dissolution du piroxicam a augmenté pour les mélanges physiques, mais surtout pour les complexes d'inclusion CS1 :1 et CS1 :2. notamment, celle de CS1 :1. L'augmentation de la vitesse de dissolution est due à l'amélioration de la mouillabilité et probablement à la diminution de la cristallinité ainsi que la taille des particules du piroxicam. Reste à confirmer cette diminution par des analyses de diffraction des rayons X (DRX) et vérifier la taille des particules du piroxicam par granulométrie Laser ou la microscopie électronique à balayage (MEB).

Conclusion générale

Au terme de ce mémoire, le but que nous nous étions fixé, à savoir la solubilité du piroxicam a été résolue. Celui-ci a été complexé avec le sulfonatométhyl[4]calixarene (C8S) dans un milieu aqueux et à l'état solide.

Nous avons repris la réaction de C8S effectuée dans la littérature par la méthode conventionnelle.

Nous avons préparé un complexe d'inclusion de piroxicam/C8S non décrit dans la littérature. Ce dernier a été caractérisé par la spectrométrie infra-rouge (FTIR) et le test de dissolution in vitro. L'étude de la complexation a montré que le C8S forme un complexe 1 :1 avec le piroxicam. Cette stœchiométrie a été confirmée par FTIR.

Le complexe d'inclusion piroxicam /C8S ouvre la voie à d'autres applications. Le piroxicam peut être testé dans d'autres domaines pharmacologiques.

Le piroxicam est la fraction active dans le complexe d'inclusion piroxicam/C8S. Par conséquent, le piroxicam a une plus grande solubilité dans un milieu aqueux et une grande vitesse de dissolution, donc une absorption plus rapide et un contact rapide avec la muqueuse gastrique.

References bibliographiques

- [01] Steed J. W., Atwood J. L. - Supramolecular Chemistry. - John Wiley & Sons, Toronto, 2000.
- [02] Zinke A., Ziegler E, X. Chem. ber., 1944, 77B, 264-272.
- [03] Vogtle F., Weber E. - Host Guest Complex Chemistry Macrocycles. - Springer Verlag, Tokyo, 1985.
- [04] Gutsche C. D., Muthukrishnan R., J. Org. Chem., 1978, 43, 4905-4906.
- [05] Stewart D. R., Gutsche C. D. J. Am. Chem. Soc., 1999, 121, 4136-4146.
- [06] Xiaonan, F.; Xia; J. Mol. Liq., 2020,1-13.
- [07] Gutsche C.D., Dhawan D. Leoni M.s, Stewart D., Org. Synth., 1989, 68, 238.
- [08] Gutsche C. D., Stoddart J.F., The Royal Society of Chemistry, Cambridge, 1989.
- [09] Gutsche C.D., Muthurishnan R., J. Org. Chem., 1978, 43, 4905-4906.
- [10] Gutsche C.D., Dhawan B., K.; Muthukrishnan R., J. Am. Chem., 1981, 103, 3782-3792.
- [11] Gutsche C. D., Iqbal M., Stewart D., Org. Chem., 1986, 51, 742-745.
- [12] Gutsche C.D., Gutsche A.E., Karolov A.I., J. Incl. Phenom., 1985, 3, 447.
- [13] Guts C.D., Iqbal M., Org. Chem., 1989, 68, 234.
- [14] Manasse O.C., en Ber., 27, 2409, 1894.
- [15] Ninagawa A., Matsuda H., Makromol. Chem. Rapid Commun., 1982, 36567
- [16] Gutsche, C. D.; Dhawan, B.; No, K; Muthukrishnan, R J. Am. Chem. Soc.1981,103,3782.
- [17] Stewart, C. D.; Gutsche, J. Am. Chem. Soc., 1999, 121, 4136-4146.
- [18] Hayes B. T., Hunter R. F., J. Appl. Chem., 1958, 8, 743-748.
- [19] Kämmerer H., Happel G., F. Caesar F., Makromol. Chem., 1972, 162, 179-197.
- [20] Happel G., Mathiasch B., Kämmerer H., Makromol. Chem., 1975, 176, 3317-3334.
- [21] Böhmer, V.; Merkel, L.; Kunz, U.; J. Chem. Soc., Chem. Commun., laboratoire des Glucides – UMR-CNRS 6219, 187, 896; 1-47.
- [22] Hoegberg A.G.S.; J. Org. Chem.; 1980; 45: 4498-4500.
- [23] Ferguson G., Kaitner, M. A.; Seward E.M., Chem.Soc. Chem. Commun.,1987, 584.
- [24] Gutsche, C. D. ; Dhawan, B. ; Levine, J. A.; No, K H. and Bauer, L. J. Tetrahedron 1983, 39, 409.
- [25] Calixarènes: J. and Bahmer Eds. V., Vol. 3, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht 1991, 3.
- [26] Mourer, M. ; Dibama, H. M. ; Fontanay, S. ; Grare, M. ; Duval, R. E. ; Finance, C. et Regnouf de Vains, J.-B. Bioorg. Med. Chem. 2009, 17, 5496-5509.
- [27] Asfari, Z.; Böhmer, V.; Harrowfield, J. et Vicens, J., Calixarenes 2001. Kluwer

References bibliographiques

- Academic Publishers: Dordrecht / Boston / London, 2001; 683.
- [28] Gutsche, D. C., Calixarenes Revisited. The Royal Society of Chemistry: Cambridge, UK, 1998 ; 233.
- [29] Mandolini, L. et Ungaro, R., Calixarenes In Action. Imperial College Press: London, UK, 2000; 271.
- [30] Lederer I. -j. prakt. Chimie, 50, 223, 1894.
- [31]. Conforth, J. W.; D'Arcy Hart, P.; Nichols, G. A.; Rees, R. J. W. et Stock, J. A. Br. J. Pharmacol. 1955, 10, 73-86.
- [32] Conforth, J. W.; Morgan, E. D.; Potts, K. T. et Rees, R. J. Tetrahedron 1973, 29, 1659-1667.
- [33] Boyd, D. H.; Stewart, S. M.; Somner, A. R.; Crofton, J. W. et Rees, R. J. Tubercle 1959, 40, 369-376.
- [34. Colston, M. J.; Hailes, H. C.; Stavropoulos, E.; Herve, A. C.; Herve, G.; Goodworth, K. J. ; Hill, A. M. ; Jenner, P. ; Hart, P. D. et Tascon, R. E. Infect. Immun. 2004, 72, 6318-6323.
- [35] Hwang, K. M. ; Qi, Y. M. ; Liu, S.-Y. ; Choy, W. et Chen, J. ; WO 94/03164, 1994.
- [36] Hwang, K. M.; Qi, Y. M.; Liu, S.-Y.; Choy, W.; Chen, J.; WO 94/03165, 1994.
- [37] De Fatima, A.; Fernandes, S. A.; Sabino, A. A.; Curr. Drug Discovery Technol. 2009, 6, 151-170.
- [38] Rodik, R. V.; Boyko, V. I. et Kalchenko, V., Tetrahedron. 2007,63, 46, 1145-11457.
- [39] Harris, S. J., 1995, IE8 951 99 74.
- [40] Hulmes, D.; Coleman, A. W. et Aubert-Foucher, E.; WO 00/07585, 2000.
- [41] Mourer, M. thèse de Doctorat, Calixarènes Hydrosolubles à Propriétés Antivirales et Antibactériennes. Université Henri Poincaré Nancy I, Nancy, France, 2006.
- [42] Hurdle, J. G. ; O'Neill, A. J. ; Chopra, I. et Lee, R. E. Nature Reviews Microbiology 2011, 9, 62-75.
- [43] Asfari, Z. ; Böhmer, V. ; Harrowfield, J. et Vicens, J., Calixarenes. Kluwer Academic Publishers: Dordrecht / Boston / London, 2001; 683 pages.
- [44] Hwang, K. M.; Qi, Y. M.; Liu, S.Y.; Choy, W. et Chen, J., WO 94/03165, 1994.
- [45] Casnati, A. ; Fabbi, M. ; Pelizzi, N. ; Pochini, A. ; Sansone, F. et Ungaro, R. Bioorg. Med. Chem. Lett. 1996, 6, 2699-2704. [46] Casnati, A.; Sansone, F.; Ungaro, R. Acc. Chem. Res. 2003, 36, 246-254.
- [47] Motornaya, A. E.; Alimbarova, L. M.; Shokova, E. A. et Kovalev, V. Pharm. Chem. J. 2006, 40, 68-72.

References bibliographiques

- [48] Geraci, C. ; Consoli, G. M. L. ; Galante, E. ; Bousquet, E. ; Pappalardo, M. et Spadaro, A. *Bioconjugate Chem.* 2008, 19, 751-758.
- [49] Consoli, G. M. L. ; Granata, G. ; Galante, E. ; Cunsolo, F. et Geraci, *Tetrahedron Lett.* 2006, 47, 3245-3249.
- [50] Consoli, G. M. L. ; Granata, G. ; Garozzo, D. ; Mecca, T. et Geraci, *Tetrahedron Lett.* 2007, 48, 7974-7977.
- [51] Consoli, G. M. L. ; Granata, G. ; Lo Nigro, R. ; Malandrino, G. et Geraci, *Langmuir* 2008, 24, 6194-6200.
- [52] Consoli, G. M. L. ; Granata, G. ; Galante, E. ; Di Silvestro, I. ; Salafia, L. et Geraci, C. *Tetrahedron* 2007, 63, 10758-10763.
- [53] Consoli, G. M. L. ; Galante, E. ; Daquino, C. ; Granata, G. ; Cunsolo, F. et Geraci, C. *Tetrahedron Lett.* 2006, 47, 6611-6614.
- [54] Vovk, A. I.; Kononets, L. A.; Tanchuk, V. Y.; Cherenok, S. O.; Drapailo, A. B.; Kalchenko, V. I. et Kukhar, V. P. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2010, 20, 483-487.
- [55] Paquet, V. ; Zumbuehl, A. et Carreira, E. M. *Bioconjugate Chem.* 2006, 17, 1460-1463.
- [56] Harris, S. J. ; *Anti-viral compounds.* WO 02/44121 ; 2002.
- [57] Coveney, D. et Castello, B. ; EP1367044, 2003.
- [58] Kral, V.; Cigler, P.; Konvalinka, J.; Koziak, M.; Prejdova, J.; Gruner, B.; Plesek, J. et Lepsik, M.; WO 05/073240, 2005.
- [59] Mutihac, L. *Curr. Drug Discovery Technol.* 2008, 5, 98-104.
- [60] Helttunen, K. et Shahgaldian, P. *New J. Chem.* 2010, 34, 2704-2714.
- [61] Stoikov, I. I. ; Repejkov, S. A. ; Antipin, I. S. et Konovalov, A. I. *Heteroat. Chem.* 2000, 11, 518-527.
- [62] Fernandes, S. A. ; Cabeca, L. F. ; Marsaioli, A. J. et Paula, E.J. *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* 2007, 57, 395-401.
- [63] Nault, L. ; Cumbo, A. ; Pretot, R. F. ; Sciotti, M. A. et Shahgaldian, P. *Chem. Commun. (Cambridge, U. K.)* 2010, 46, 5581-5583.
- [64] Cramer, F. ; *Chem. Ber.* ; 1951, 84 ,851-854.
- [65] Consoli, G. M. L. ; Galante, E. ; Daquino, C. ; Granata, G. ; Cunsolo, F. et Geraci, C. *Tetrahedron Lett.* 2006, 47, 6611-6614.
- [66] Marcus, E.; Brewster; al.; *Adv Drug Deliv Rev*; 2007 ;59(7) :645-66.
- [67] Martin ,M . ; Del ; Valle ; *cyclodextrines et leurs utilisations : une revue ; Biochimie des procédés* ;2004, 39 ; 9 ; 1033-1046.

References bibliographiques

- [68] Del Valle, E. M. M., Cyclodextrins and Their Uses: Review. *Process Biochem.*, 2004, 39 (9), 1033–1046.
- [69] Choi, T.Y., Dooley, K.J.; Rungtusanatham, M., *J. Opera. Manag.*, 2001; 19; 3, 351-366
- [70] YurtdasabS,I ; XiebN , Y. ;BurlionJ.F ;Shaob J. Saint-Marcc A., Garnierc Cement ;Concrete Research ,2011, 41, 4, ;412-421.
- [71] Del Toro-Sánchez, C. L ; Ayala-Zavala, J. F. ; Machi, L. ; Santacruz, H. ; Villegas-Ochoa, M. A. ; Alvarez-Parrilla ; E..G. . González-Aguilar,A. ;2010 ; *J. Incl. Phenom. Macro. Chem* ;2010, 67, 431–441
- [72] Lis-Cieplak A. , Sitkowski E. , Kolodziejski W. ; *J. Drug. Deliv. Sci. Techno.* ; 2019, 49, 152-161.
- [73] Takahashi ,D. , *Le manuel d'oxford du japonais*, 2012.
- [74] Hădărugă , NG. ; Bandur , GN. ; David, I. , *chim. envir.*; Springer., 2019.
- [75] Nicolescu, C, C, C. ; Aramă, C. ; Monciu, C.M. ; *farmacia* ;2010, 58, 1
- [76] Lis-Cieplak, A. ; Sitkowski. ; Kolodziejski. ; *J. pharm.*; Elsevier, 2014.
- [77] Mazzaferro S. ; Ponchel,G.; *Drog. Disc. Tod.*;2012, 18(1-2):25-34.
- [78] Gawhale S.; Thakare Y.; Malkhede D.; Chaudhari, G., *J. Opt. Photo.*; 2014, 4, 237-245.
- [89] Hayes, R. F. Hunter, J. *Appl. Chem.*, 1958, 68, 234-237.
- [80] Scarbignato, C. Piroxicam- β -Cyclodextrin: A GI Safer Piroxicam. 2013; 20(19): 2415-2437.
- [81] Kazakova E. K., Makarova NA, Ziganshina AU, Muslinkina LA, Muslinkin AA, Habicher WD., *Tétraèdre Lett.* 2000; 41 :10111-10115.
- [82] Shalaeva, Y.V.; Marazova, J.E.; Syakaev, V.V.; Kazakova, E.K.; Ermakova, A.M.; Nizamecv, I.R.; Kadirov, M.K.; Konovalov, A.I.; *Supramol. Chem*;2017, 29, 278-289.
- [83] Al-Hamidi H., Edwards A.A., Douroumis D., Asare-Addo K., Nayebi A.M., Reyhani-Rad S., Mahmoudi J., Nokhodchi A.; *Colloids Surf. B Biointerfaces*; 2013, 103 189-199.
- [84] Sambasevam, K. P.; Sharifah M.; Norazilawati, M. S.; Nor Atiqah, I.; *Int. J. Mol. Sci.*,2013; 14, 3671-3682.

Résumé

Le présent travail est consacré d'une part à la synthèse de p-tetrasulfonatométhyl calix[4]resorcinarène (C8S), par le procédé de condensation à reflux, d'autre part à son application comme véhicule hydrophile dans la préparation de complexe d'inclusion avec le piroxicam, afin d'améliorer sa solubilité. La caractérisation des différents complexes d'inclusion a été effectuée par différentes méthodes telles que la FTIR et le test de dissolution. Les résultats obtenus ont permis de conclure à l'hydrophilisation de l'anti-inflammatoire non stéroïdien piroxicam par le C8S, suite à la formation du complexe d'inclusion CS 1 :1, ayant la solubilité souhaitée.

Mots clés : Calixarene, Piroxicam, solubilité, synthèse, complexe d'inclusion, hydrophilisation.

Abstract

The present work is devoted first to the synthesis of p-tetrasulfonatomethyl calix[4]resorcinarène (C8S), by the reflux condensation process, and second to its application as a hydrophilic carrier in the preparation of inclusion complex with piroxicam, in order to improve its solubility. The characterization of the different inclusion complexes was carried out by different methods such as FTIR and the dissolution test. The results obtained permitted to conclude the hydrophilization of the non-steroidal anti-inflammatory drug piroxicam by C8S, following the formation of the inclusion complex CS 1 :1, having the desired solubility.

Keywords: Calixarene, Piroxicam, solubility, synthesis, inclusion complex, hydrophilization.