



## Quelques applications des complexes d'inclusion cyclodextrine/substrat

Grégorio Crini, Michel Morcellet et Nadia Morin

### Summary Inclusion complexes between cyclodextrin and substrate: a review

Cyclodextrins (CD) which are natural molecules derived from starch give rise to a remarkable capacity to form inclusion complexes in solution or in the solid state with various substrates, through « host-guest » interactions. Recent and continuing interest in CD is showed by the number of papers that appear each year in the literature. There is an increasing interest in the industrial applications of CD, in particular in pharmaceutical and chromatography field.

### Mots-clés Cyclodextrine, complexe d'inclusion, applications industrielles.

Key-words Cyclodextrin, inclusion complex, industrial applications.

### Qu'est-ce qu'un complexe d'inclusion ?

Un complexe d'inclusion est une association moléculaire entre une ou plusieurs molécules dont l'une est l'hôte (le récepteur) et l'autre l'invitée (le substrat). La molécule « invitée » est alors encapsulée de façon totale ou partielle, le récepteur jouant le rôle de molécule « hôte ». Les liens entre la molécule hôte et la molécule invitée sont des interactions faibles, ce qui permet une dissociation aisée et douce. Il existe plusieurs types de molécules hôtes permettant de telles associations : on peut citer les éthers couronnes, les clathrates, les intercalates, les zéolithes, les cavitands, les porphyrines, les cryptates, les cyclophanes et les cyclodextrines [1-3]. Ces dernières font l'objet de cet article. Les cyclodextrines (CD) sont des **molécules dites « cages »** car elles comportent au sein de leur structure, une cavité indéformable et hydrophobe (*figure 1*) qui leur permet d'emprisonner ou d'encapsuler d'autres molécules.

### Obtention et structure des cyclodextrines

Les CD sont des oligosaccharides issus de la dégradation enzymatique de l'amidon, plus précisément de l'amylose. L'enzyme impliquée est la cyclodextrine glycosyl transférase (CGTase) qui est produite par différents bacilles, notamment le *Bacillus Macerans*. La structure hélicoïdale de la macromolécule est détruite au profit d'une structure cyclique. Un transfert de liaisons permet de relier entre elles les spires que forme naturellement l'amidon en solution aqueuse pour donner des oligoglucoses couronnes [4-5]. Plus précisément, les CD sont des oligoglucoses cycliques, constitués par l'assemblage de 6 voire 13 motifs glucose (unités glucopyranoses), reliés par des liaisons  $\alpha$ -1,4. Les CD les plus étudiées sont l' $\alpha$ -CD ( $\alpha$ CD), la  $\beta$ -CD ( $\beta$ CD) et la  $\gamma$ -CD ( $\gamma$ CD)

ayant respectivement six, sept et huit unités glucose. Ces composés se présentent sous forme d'anneau, de godet ou d'abat-jour, conséquence de la conformation en chaise des résidus glucopyranoses et de leurs liaisons glycosidiques du type  $\alpha$ -1,4. Cette structure toroïdale tronconique est constituée, à l'extérieur de groupes hydroxyles primaires portés par les carbones C6 bordant le petit diamètre (A) et secondaires portés par les carbones C2 et C3 bordant le grand diamètre (B), et dans la partie interne des atomes d'hydrogène, de carbone et des liaisons étheroxydes (*figure 1*). De cette structure en couronne découlent toute la particularité de cette molécule et ses propriétés : la densité électronique élevée due aux oxygènes glycosidiques transforme l'intérieur de la CD en une **cavité hydrophobe (C)**

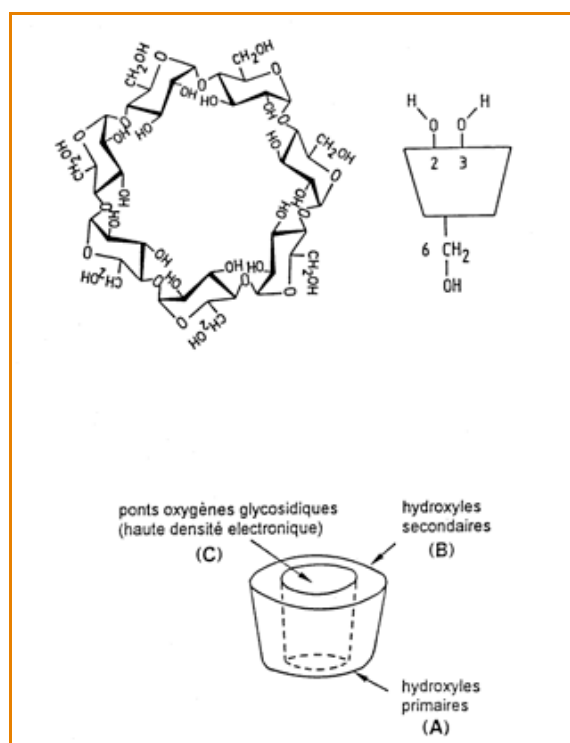


Figure 1 - La structure de la bêta-cyclodextrine ( $\beta$ CD).

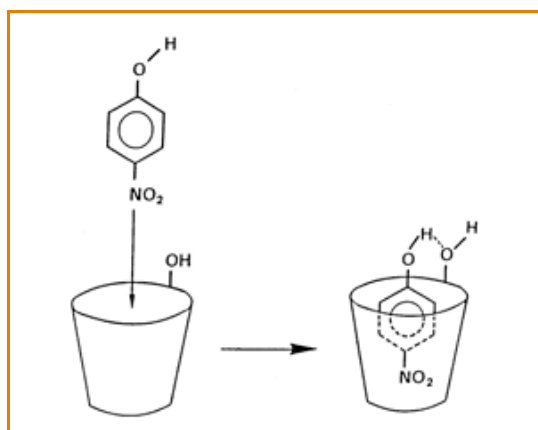


Figure 2 - Exemple d'un complexe d'inclusion entre le para-nitrophénol et une cyclodextrine.

ayant un caractère apolaire (base de Lewis) et un caractère hautement hydrophile pour la partie externe. La structure macrocyclique, l'hydrophilie externe et l'espace interne apolaire confèrent aux CD leurs propriétés très particulières.

## Complexe d'inclusion

Les CD peuvent donc se comporter comme des molécules « refuges » capables d'inviter dans leur espace interne, de façon réversible, des molécules et donner ainsi des **complexes d'inclusion** (figure 2). Les molécules complexées sont très variables : acides, amines, hydrocarbures aliphatiques, substrats aromatiques et phénoliques, ions et polymères. La plupart des auteurs décrivent des complexes de type 1/1 : à une molécule de CD correspond une molécule invitée. Il n'existe pas de liaison covalente entre la CD et le substrat. Il s'agit d'un équilibre dissociation-association. La complexation peut, en outre, se produire aussi bien à l'état solide qu'en solution. Différentes méthodes de préparation des complexes sont répertoriées dans la littérature, comme la préparation en solution (coprécipitation), en suspension, par pétrissage ou encore par broyage à sec. Les techniques de caractérisation des complexes d'inclusion sont nombreuses : citons l'UV-visible, la fluorescence, l'analyse thermique, le dichroïsme circulaire, la diffraction des rayons X, l'électrochimie, les méthodes chromatographiques, les spectroscopies de masse, IR, Raman et RMN [4-8].

## Phénomène de complexation

Le phénomène de complexation est la résultante d'une multitude d'interactions (substrat/solvant, solvant/solvant et CD/solvant) qui conduisent à

l'état thermodynamique le plus stable. En solution aqueuse, la cavité de la CD est occupée par des molécules d'eau qui se trouvent dans un état énergétique défavorable, du fait des interactions polaire-apolaire, et sont donc facilement remplacées par des molécules appropriées, moins polaires que l'eau. De plus, les composés organiques dissous dans l'eau présentent une préférence pour les environnements hydrophobes. La formation d'un complexe d'inclusion CD/substrat comprend cinq étapes élémentaires :

1. Le substrat s'approche de la molécule de CD. Les molécules d'eau s'échappent de la cavité de la CD et acquièrent un niveau d'énergie correspondant à celui de l'état gazeux. Les interactions de Van der Waals et le nombre de liaisons hydrogène diminuent, tandis que les degrés de liberté de translation et de rotation des molécules d'eau libérées augmentent.
2. La molécule invitée se libère de la couche d'eau qui l'enrobe et acquiert aussi un état différent. La couche d'eau se disperse et se réarrange.
3. La molécule invitée, considérée comme étant dans l'état d'un gaz parfait, pénètre à l'intérieur de la cavité vide et le complexe est stabilisé par des interactions de Van der Waals et/ou par des liaisons hydrogène.
4. Les molécules d'eau expulsées se réarrangent et créent entre elles des liaisons hydrogène.
5. La structure de l'eau est restaurée autour de la partie du substrat qui reste en contact avec le solvant, et intégrée à la couche d'eau hydratant la CD.

Bender, en 1978, fut l'un des premiers chercheurs à observer et interpréter le fait que la complexation s'accompagne d'un gain d'enthalpie et d'une perte d'entropie. Plus la molécule invitée pénètre dans la cavité de la CD, plus grande est la variation d'enthalpie, et plus la stabilité du complexe est grande, et ceci d'autant plus que la molécule est apolaire. Bender a proposé quatre interprétations [4] :

1. L'établissement de liaisons faibles de type Van der Waals entre l'hôte et l'invité.
2. La création de liaisons hydrogène entre la molécule invitée et les OH de la CD.
3. La libération de molécules d'eau avec une énergie élevée lors de la substitution par la molécule invitée.
4. La libération de l'énergie de tension au sein de la molécule de CD lors de la formation du complexe.

Szejtli, en 1982, explique le gain d'enthalpie par l'arrivée spontanée de l'invité, chassant les molécules d'eau « actives » retenues dans la cavité apolaire de la CD en solution aqueuse. Il admet que les liaisons de Van der Waals, ainsi que les liaisons



# RECHERCHE

hydrogène, jouent un rôle majeur. Mais il suppose que ces liaisons sont trop faibles pour conférer à elles seules une stabilité suffisante du complexe, et met en évidence les interactions stériques. Il existe encore de nos jours une controverse, malgré tous les résultats publiés sur l'importance à donner à la contribution de chaque force [5, 8].

## Avantages de la complexation

L'inclusion d'une molécule invitée dans une molécule de CD constitue donc une **encapsulation moléculaire** [9] susceptible de modifier les propriétés physico-chimiques, voire biologiques, du substrat. Les avantages qui en découlent sont multiples : l'invité peut bénéficier d'une protection contre la dégradation thermique ou photochimique, l'oxydation, l'hydrolyse ou la sublimation, d'une amélioration de la biodisponibilité des principes actifs et de leur relargage. La microencapsulation peut, en outre, diminuer la volatilité des produits en augmentant le point d'ébullition et augmenter la solubilité de nombreuses substances naturellement insolubles dans l'eau.

## Les applications des cyclodextrines

Onéreuses, ces molécules furent longtemps considérées comme des curiosités de laboratoire. Trois facteurs ont longtemps empêché leur développement industriel : d'abord, le coût élevé de leur production ; ensuite, des études toxicologiques incomplètes ; et enfin, le manque de connaissances suffisantes sur le plan pharmaceutique. Mais, depuis une vingtaine d'années, les progrès réalisés sur leur toxicité et la meilleure connaissance de l'encapsulation moléculaire ont permis de mettre sur le marché de nombreux composés d'inclusion [4-8, 10-13]. Par exemple, dans l'industrie pharmaceutique, les complexes  $\beta$ CD-piroxicam (qui sont des anti-inflammatoires non stéroïdiens) connus sous le nom de Cycladol<sup>®</sup> ou Brexin<sup>®</sup>, ou encore le complexe  $\beta$ CD-prostaglandine connu sous le nom de Prostarmon<sup>®</sup>, sont commercialisés. Cette propriété d'inclusion a été largement mise à profit, puisque les CD ont pris une place importante dans différents secteurs industriels comme le montre le *tableau I*.

## Applications alimentaires

Les CD sont utilisées dans l'industrie alimentaire principalement dans le but de préserver les arômes lors du stockage ou de leur manipulation

Tableau I - Applications potentielles des cyclodextrines.

Industrie	Exemples d'applications
Alimentaire	Huiles, arômes, graisses, vitamines, colorants
Cosmétologie	Parfums, shampoings, crèmes, lotions
Pharmaceutique	Stéroïdes, barbituriques, anti-inflammatoires
Chimique	Catalyseurs, synthèse, chromatographie
Agrochimique	Tabac, pesticides, fongicides, herbicides

Tableau II - Exemples de propriétés améliorées par l'utilisation de cyclodextrines dans des applications alimentaires.

Exemples de propriétés	Substances concernées
Stabilité de produits volatils	Menthol, moutarde, confiseries
Résistance à l'oxydation	Framboise, miel
Résistance à la chaleur	Produits diététiques
Résistance à l'hydrolyse	Aspartame
Masquage d'odeurs indésirables	Café, thé, limonène
Extraction de composants indésirables	Cholestérol (beurre, lait œufs)
Prolongation des arômes	Bonbons, chewing-gum, épices

(*tableau II*). Les produits alimentaires sont également protégés contre l'oxydation et la décomposition à la chaleur. Les CD peuvent aussi permettre d'envisager l'élimination ou la réduction des odeurs, des goûts indésirables et de la contamination bactériologique. L'emploi de CD peut aider à la stabilisation et à l'amélioration du goût des plats déshydratés. La CD permet de prolonger la durée gustative des chewing-gums.

## Applications agrochimiques

Le *tableau III* présente quelques exemples de propriétés améliorées par l'utilisation de CD dans des applications agrochimiques. Dans l'industrie des tabacs, des additifs sont souvent utilisés afin de parfaire les goûts. Ces arômes artificiels, souvent volatils, sont piégés par la cyclodextrine et ne sont

Tableau III - Exemples de propriétés améliorées par l'utilisation de cyclodextrines dans des applications agrochimiques.

Exemples de propriétés	Produits concernés
Amélioration de la stabilité	Insecticides
Augmentation de la solubilité	1,3-dichloropropène
Diminution de la toxicité	Herbicides, fongicides



libérés que lors de la combustion du tabac. La CD peut aussi complexer la nicotine et les goudrons, et donc augmenter notablement l'efficacité des filtres. L'industrie des produits destinés à l'agriculture utilise la CD dans les herbicides, fongicides et hormones afin d'améliorer leur temps d'action. L'inclusion facilite la manipulation de substances volatiles. Par exemple, le complexe éthylène-CD est une poudre facile à manier et à doser, qui est utilisée pour le contrôle de la croissance des plantes [3].

Un exemple précis démontre de façon tout à fait explicite l'intérêt des propriétés complexantes de la CD. A l'automne 1992, en Grèce, une variété de mouches avait pris l'habitude d'envahir et de détruire la récolte d'olives juste avant leur maturité. On savait qu'une phéromone sexuelle attirait irrésistiblement les représentants de l'autre sexe à un degré tel qu'une seule molécule suffisait à déclencher la chasse au partenaire. Cependant, la volatilité extrême de cette molécule faisait que cet appât ne pouvait être utilisé en milieu naturel. Ce problème a alors été résolu par l'encapsulation de la phéromone dans la CD, qui la libère progressivement en empêchant sa dilution immédiate [14].

## Applications cosmétologiques

Dans l'industrie des cosmétiques (*tableau IV*), la CD améliore la solubilité dans l'eau de certaines substances qui peuvent alors être plus facilement émulsionnées. Elle permet la stabilisation du goût et de la couleur des dentifrices, la réduction de l'irritation des yeux due aux shampooings. Il existe

Tableau IV - Exemples de propriétés améliorées par l'utilisation de cyclodextrines dans des applications cosmétologiques.

Exemples de propriétés	Substances concernées
Diminution de l'effet irritant	Acide rétinoïque
Masquage d'odeurs désagréables	Mercaptans
Amélioration du pouvoir moussant	Savons, mousses
Déodorisation dans les produits d'hygiène	Menthol, chlorophylle
Augmentation de la solubilité	Vitamines A, E
Stabilité des parfums	Essence de citron

Tableau V - Exemples de propriétés améliorées par l'utilisation de cyclodextrines dans des applications pharmaceutiques.

Exemples de propriétés	Produits concernés
Amélioration de la biodisponibilité	Indométacine
Diminution des effets secondaires	Phénylbutazone
Augmentation de la solubilité	Prostaglandines, vitamines A, D, E, K
Stabilité de molécules volatiles	Menthol, camphre
Stabilité de molécules oxydables	Vitamines A, E
Stabilité de molécules hydrolysables	Acide acétylsalicylique

des lotions et des shampooings contenant des vitamines stabilisées par des CD.

## Applications pharmaceutiques

Les CD sont susceptibles d'héberger ou d'encapsuler dans leur cavité une autre molécule. Celle-ci peut être facilement « relâchée ». Autrement dit, voilà un véhicule capable de transporter dans un organisme vivant une molécule donnée. L'introduction des CD dans la chimie pharmaceutique a permis de spectaculaires progrès, à tel point que l'industrie pharmaceutique est devenue la première industrie utilisatrice de CD. Cet essor considérable est dû, d'une part à leur non-toxicité, et d'autre part, aux progrès réalisés dans la production et la fabrication industrielle de CD et de leurs dérivés, qui ont permis d'abaisser considérablement les prix. L'intérêt des CD dans le domaine de la pharmacie (*tableau V*) est d'améliorer la dissolution et la solubilité des principes actifs, d'en augmenter la biodisponibilité, d'en diminuer les effets secondaires, et éventuellement d'en améliorer la stabilité. Certains composés liquides peuvent être transformés, grâce aux complexes d'inclusion, en produits cristallisés plus pratiques pour l'élaboration de comprimés. La stabilité des inclusions obtenues permet de diminuer la sensibilité de certains médicaments à la lumière, à la chaleur, à l'acidité gastrique et à l'oxydation.

Comment acheminer une molécule de spiranolactone (diurétique et antihypertenseur) au plus près de sa cible ? Tout simplement par encapsulation moléculaire grâce à la  $\beta$ CD [14]. La complexation augmente la solubilité des médicaments dans l'eau, ce qui aboutit à un meilleur taux de passage dans le sang. La carbamazépine est un antiépileptique efficace, qui présente l'inconvénient d'avoir une solubilité insuffisante interdisant l'utilisation sous forme injectable en cas d'urgence.



# RECHERCHE

La solution : l'encapsuler dans une CD modifiée [14]. Les complexes d'inclusion obtenus avec des polymères de CD permettent d'augmenter la solubilité de certains médicaments, ce qui induit une amélioration de la biodisponibilité et entraîne une augmentation de l'efficacité du médicament [15].

Certains médicaments, souvent sous formes de mélanges racémiques, sont inutilisables à des fins thérapeutiques en raison d'effets secondaires indésirables de l'un des énantiomères [10]. Or, par chromatographie, la  $\beta$ CD a permis de séparer plusieurs produits racémiques d'intérêt thérapeutique ( $\beta$ -bloquants, sédatifs, diurétiques...). De même que l'inclusion élève les températures d'ébullition, évaporation ou sublimation, elle peut aussi élever la température de fusion : par exemple, la température de fusion de la prostaglandine  $F_{2\alpha}$  est augmentée par inclusion avec la  $\beta$ CD. Dans le cas des suppositoires, leur point de fusion ainsi que leur dureté sont diminués par addition de substances volatiles, l'inclusion évite cet inconvénient. L'inclusion peut entraîner la diminution de la volatilité de substances telles que le menthol ou l'eucalyptus par augmentation du point d'ébullition et de vaporisation. Des études ont montré que la même quantité de médicament donne un effet plus important quand elle est administrée par un complexe de CD. Aussi, pour obtenir un même effet thérapeutique, on peut diminuer la quantité de médicament, avantage non négligeable [10]. D'autres améliorations résultent de la microencapsulation : réduction de l'amertume, atténuation de la mauvaise odeur et du goût désagréable des médicaments, protection des muqueuses de l'estomac, amélioration des propriétés et accroissement de l'effet thérapeutique. L'encapsulation atténue et/ou supprime les effets secondaires indésirables de médicaments comme l'indométhacine et la phénylbutazone qui ont pour effet d'irriter la muqueuse stomacale. La sensation irritante du pirprofène sur la muqueuse de la gorge est diminuée par inclusion avec la  $\beta$ CD [16].

Avec la production de CD dérivées (alkylées, sulfurées, azotées, ioniques et polymérisées), un nouveau marché industriel est apparu, celui de la biotechnologie, ceci pour deux raisons [12, 17]. La première est une plus grande solubilité à température ambiante des dérivés CD (notamment alkylés), s'expliquant par l'absence de liaisons hydrogène intramoléculaires du fait de la substitution des OH. La seconde raison est une augmentation de la stabilité du complexe d'inclusion, due à une plus grande flexibilité de la molécule substituée, par l'absence de liaisons hydrogène ; seule demeure une forte contribution des interactions de Van der Waals.

## Chimie fine et chimie de synthèse

Malgré les nombreuses applications très concrètes qui viennent d'être exposées, les CD restent un sujet d'étude très sollicité dans le domaine de la recherche, notamment en chimie fine et chimie de synthèse. Elles ont un comportement sélectif comparable à celui des enzymes. Cette qualité permet leur utilisation en catalyse chimique, synthèse stéréospécifique et en chromatographie.

## Activité enzymatique

Les enzymes naturelles sont des macromolécules de plusieurs milliers d'atomes, représentant plusieurs centaines d'acides aminés. Or, une seule petite partie de l'enzyme intervient dans une réaction chimique. Les enzymes se montrent à la fois efficaces, sélectives et spécifiques à l'égard des réactions chimiques qu'elles catalysent. Ces propriétés sont le fruit de la grande complexité de leur structure tridimensionnelle [2, 18]. Les chimistes de synthèse ont toujours été fascinés par ces enzymes. Ils s'efforcent depuis plusieurs décades de pénétrer les secrets qui permettent aux enzymes de jouer leur rôle de catalyseurs naturels. Ils se sont demandé s'il était possible d'imiter l'action des sites actifs des enzymes, sans pour autant copier toute leur structure chimique. La notion « d'enzyme artificielle » a été alors introduite [1, 19].

Une enzyme artificielle est une molécule mimant l'action d'une enzyme naturelle, mais dépourvue de la structure complexe de celle-ci. La stratégie de synthèse consiste à utiliser comme point de départ un composé non enzymatique, contenant une cavité, et de lui faire subir les modifications structurales qui lui donneront l'activité catalytique souhaitée. La réalisation de telles molécules a contribué à l'émergence d'une chimie biomimétique, chimie identifiant simplifiant, imitant et reproduisant la chimie du vivant [18]. Matériaux de choix pour mettre au point des modèles de processus biologiques, les CD ont conduit à un grand nombre de travaux portant sur la complexation et la catalyse moléculaire.

Premier exemple : des CD porteuses de groupes imidazoles ont été synthétisées afin d'imiter la ribonucléase A du pancréas de bœuf. Cette enzyme hydrolyse l'ARN en libérant les nucléotides qui le composent : la portion de l'ARN qui doit être coupée vient se placer dans le site actif de l'enzyme, entre deux groupements histidines situés l'un en face de l'autre. Il est possible de synthétiser une CD modifiée ayant un comportement voisin de la ribonucléase, permettant d'effectuer des hydrolyses spécifiques [19]. Second exemple : l'équipe de



Breslow, en 1980, est parvenue à concrétiser le rêve des chimistes supramoléculaires : catalyser à l'aide d'une CD modifiée une réaction chimique (réaction de Diels Alder) que ne peuvent catalyser ni aucune enzyme naturelle, ni aucun catalyseur courant [2].

## Activité catalytique

Les CD trouvent également des applications en chimie organique de synthèse car elles sont capables d'influencer le cours de certaines réactions chimiques. Elles sont utilisées, par exemple, pour fixer sur une position donnée d'un cycle aromatique un atome de chlore ou d'iode. En général, ces réactions de substitution sont lentes, et la fixation peut se faire en plusieurs positions sur le cycle. Or, la chloration en para de l'anisole par l'acide hypochloreux est 5,3 fois plus rapide et se fait pratiquement sélectivement en présence de CD [20]. La photo-oxydation du benzaldéhyde est retardée et son oxydation est complètement inhibée par inclusion dans les CD [21]. Les CD peuvent accélérer de nombreuses réactions comme l'hydrolyse des esters, amides, sulfates, organophosphates, la décarboxylation des cyanoacétates ou l'oxydation des hydroxycétones. En présence de l' $\alpha$ CD, l'hydrolyse de l'acétate de m-tertiobutylphényle est accélérée 260 fois [3, 22].

## Cyclodextrines en CLHP

La capacité des CD à former des complexes d'inclusion avec toute une série de composés dans l'eau et la sélectivité de ces processus d'inclusion sont les principaux facteurs qui rendent ces substances si attractives comme matériel chromatographique en général, et comme support de chromatographie liquide haute performance (CLHP) en particulier. L'utilisation des CD en chromatographie est sans doute l'application qui a reçu le plus d'attention de la part des chercheurs [23-25]. De ce fait, elle a connu un développement considérable au cours des quinze dernières années. On distingue deux grands modes d'utilisation des CD en CLHP, selon que la CD est ajoutée à la phase mobile ou qu'elle fait partie de la phase stationnaire. Dans le second cas, on distingue les supports de type polymères et gels, les supports enrobés et les supports greffés par des CD.

## Utilisation des cyclodextrines dans la phase mobile

L'utilisation des CD dans la phase mobile représente leur premier mode d'application en CLHP [26]. La méthode consiste à utiliser la CD

dans la phase mobile. Le support généralement utilisé est une silice dite phase inverse, C8 ou C18. Le mécanisme de séparation est également basé sur la formation de complexe d'inclusion : les composés ayant des affinités avec la CD seront élués en premier, ceux ne présentant aucune interaction avec la CD seront retenus par la phase stationnaire, et auront des temps d'éluions plus importants, d'où la séparation. Cette méthode a permis la séparation de nombreuses molécules (dérivés disubstitués du benzène, acides aminés et nucléiques...). Les limites d'utilisation de cette méthode résident dans l'emploi de quantités importantes de CD en phase aqueuse. Or, la  $\beta$ CD qui est la plus utilisée a une faible solubilité dans l'eau. De plus, un ajout trop important de solvant organique peut précipiter une partie de la CD. La phase mobile est donc souvent très riche en eau. Il peut alors en résulter une détérioration rapide de la phase stationnaire. De plus, une étape supplémentaire est toujours nécessaire pour extraire le produit purifié qui se trouvera à la fin en présence de  $\beta$ CD.

## Polymères et gels

Ainsi, de nombreux chercheurs ont essayé de rendre insolubles les CD ou de les greffer sur une matrice organique ou minérale. Cette voie de synthèse représente le second mode d'utilisation des CD en CLHP. Les premières tentatives ont fait intervenir les CD sous forme de matrices insolubles (polymères et gels). La première phase stationnaire décrite et la plus utilisée est sans conteste la résine obtenue par réticulation des CD par de l'épichlorhydrine [5, 8]. Le gel ainsi obtenu est utilisé en chromatographie basse pression, et il est capable de séparer les isomères ortho, méta et para du nitrophénol, alors qu'ils ne sont pas séparables sur un gel séphadex. Il permet aussi de séparer des acides aminés aromatiques, des parfums, des acides chlorobenzoïques substitués ou des acides nucléiques. La séparation peut être optimisée simplement en changeant le type d'agent réticulant (diépoxydes par exemple). Le pouvoir séparateur de ces gels réside non seulement dans le phénomène de gel filtration classique, mais il est dû également aux interactions par formation de complexes d'inclusion. Ces polymères trouvent également des applications écologiques comme résines adsorbantes pour la dépollution des eaux usées [27]. Des polyuréthanes obtenus par réticulation des CD par des diisocyanates représentent un autre exemple de polymères. Ces derniers ont permis de séparer des acides aminés aromatiques. Des gels greffés par



# RECHERCHE

la  $\beta$ CD (biogel et agarose) ont permis la parfaite séparation des isomères de position de toute une série de dérivés disubstitués du benzène (nitroaniline, toluidine, crésol ou acide aminobenzoïque). De tous ces exemples, il en résulte que le mécanisme de séparation est gouverné par la formation de complexes d'inclusion, associé à un effet d'adsorption [4-8]. Mais le principal inconvénient de ces supports réside dans le fait que des temps d'éluion trop longs sont nécessaires car on ne peut pas utiliser un débit trop élevé à cause de la fragilité du gel. C'est pourquoi, de nombreux chercheurs ont essayé de greffer les CD sur un support stable mécaniquement afin de remédier à cet inconvénient.

## Silices greffées

La conception de ces phases stationnaires repose sur l'immobilisation de la CD sur un support assurant la stabilité mécanique (généralement de la silice) par l'intermédiaire d'un bras espaceur lié de façon covalente. Fujimura, en 1983, a été le premier à immobiliser la CD sur des gels de silice, au moyen d'un bras espaceur de type alkyldiamine [28-29]. Les supports ont présenté des propriétés séparatives vis-à-vis d'isomères de position et d'isomères optiques. Mais ils se sont révélés relativement instables en milieu aqueux. De plus, le degré de substitution en CD est resté faible, et la présence des fonctions amines du bras espaceur affecte la sélectivité. Il existe de nombreux exemples similaires de greffage dans la littérature [5, 11-13, 30].

A partir de 1984, la société Advanced Separation Technology Inc. (Whippany, NJ, États-Unis) a commencé à commercialiser des colonnes cyclodextrines appelées Cyclobond<sup>®</sup>, en utilisant une méthode mise au point par Armstrong [31-32]. Ces colonnes sont constituées d'un gel de silice couplé à différentes CD par l'intermédiaire d'un bras espaceur contenant de 6 à 10 atomes de carbone, mais ne contenant cette fois-ci aucun atome d'azote. Peu de nouvelles phases pour CLHP ont eu un impact aussi rapide et important. Il existe plusieurs types de colonnes dont les propriétés vis-à-vis d'isomères géométriques, structuraux, mais aussi et surtout d'isomères optiques (énantiomères, diastéréoisomères, épimères) sont maintenant très bien connues. Pratiquement n'importe quel composé peut être étudié en utilisant ces colonnes.

## Silices enrobées de polymères

Une autre démarche pour obtenir des supports utilisables en CLHP consiste à enrober des billes de

silice par un polymère porteur de CD. Cette méthodologie a été introduite par Sébille en 1987. Ainsi, un support obtenu par « coating » de billes de silice avec de la poly(éthylèneimine) greffée par de la  $\beta$ CD, a permis de déterminer les constantes de stabilité de complexes obtenus entre la CD et toute une série de médicaments [33]. D'autres polyamines comme la poly(vinylamine) et la poly(allylamine) ont été adsorbées sur silice et ont permis de séparer des isomères géométriques [34-35].

## Cyclodextrines et environnement

Les silices greffées et les polymères réticulés sont également utilisés comme systèmes adsorbants pour piéger des molécules toxiques, et trouvent ainsi des applications dans le domaine de la protection de l'environnement. Ces matériaux porteurs de CD sont des filtres pour la dépollution des eaux usées. Des polymères synthétiques comme le polypropylène et des résines organiques macroporeuses ont été récemment préparés [36-38]. Les propriétés complexantes obtenues sont intéressantes. Dans tous les cas, c'est toujours le phénomène d'inclusion qui joue le principal rôle.

## Conclusions et perspectives

La formation de complexe d'inclusion substrat/CD permet aux cyclodextrines d'emprisonner ou d'encapsuler d'autres molécules. Ce phénomène est le résultat de diverses interactions intermoléculaires (hydrophobicité, forces de Van der Waals, liaisons hydrogène et interactions stériques). Chaque type d'interaction joue un rôle dans la complexation. La stabilité des complexes dépend de la capacité de la molécule invitée à s'emboîter dans la cavité, mais aussi de la polarité du substrat. Cette propriété a été largement utilisée dans tous les domaines de la chimie et a abouti à de nombreuses recherches appliquées, notamment dans le secteur industriel pharmaceutique. Bien que de très nombreux travaux sur les CD aient été réalisés, ces molécules demeurent, encore de nos jours, une source d'inspiration pour les chercheurs. Les études se tournent, d'une part, vers la synthèse de matériaux moléculaires fonctionnalisés par les CD, qui trouvent des applications en particulier en biotechnologie et en écologie. D'autre part, la période actuelle est caractérisée par la seconde génération des CD, la production de CD modifiées [39], qui a permis également d'ouvrir de nombreux horizons (chimie supramoléculaire, synthèse de polyrotaxanes et « nanotubes »). Ce souci de nouvelles recherches a été rendu



possible grâce à la polyfonctionnalité des cyclodextrines.

## Références

- [1] Lehn J.-M., *La Recherche*, **1981**, 12, p. 1213.
- [2] Hosseini M.W., *La Recherche*, **1989**, 20, p. 25.
- [3] Fastrez J., *Chimie Nouvelle*, **1983**, 2, p. 5.
- [4] Bender M.L., Komiyama M., *Cyclodextrin Chemistry*, Springer Verlag, Berlin, **1978**.
- [5] Szejtli J., *Cyclodextrins and Their Inclusion Complexes*, Akademiai Kiado, Budapest, **1982**.
- [6] Saenger W., *Angew. Chem. Int.*, Ed. Engl., **1980**, 19, p. 344.
- [7] Clarke R.J., Coates J.H., Lincoln S.F., *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.*, **1988**, 46, p. 205.
- [8] Szejtli J., *Cyclodextrin Technology*, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, **1988**.
- [9] Duclairoir C., *L'Actualité Chimique*, **2000**, 6, p. 24.
- [10] Maury M., Roque J., *Biofutur*, **1986**, 49, p. 17.
- [11] Duchêne D., *Cyclodextrins and Their Industrial Uses*, Éd. Santé, Paris, **1987**.
- [12] Duchêne D., *New Trends in Cyclodextrins and Derivatives*, Éd. Santé, Paris, **1991**.
- [13] Frömring K.H., Szejtli J., *Cyclodextrins in Pharmacy*, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, **1994**.
- [14] Huet S., *Science et avenir*, **1993**, 552, p. 76.
- [15] Fenyvesi E., *J. Inclusion Phenom.*, **1988**, 6, p. 537.
- [16] Duchêne D., Vaution C., *Les entretiens du Carla*, **1986**, tome VII, p. 109.
- [17] Szejtli J., *Carbohydr. Polym.*, **1990**, 12, p. 375.
- [18] Marchand-Brynaert J., *Chimie Nouvelle*, **1993**, 11, p. 1196.
- [19] Kellogg R.M., *La Recherche*, **1984**, 15, p. 819.
- [20] Stoddart J.-F. *L'Actualité Chimique*, **1982**, 5, p. 17.
- [21] Duchêne D., Debrüeres B., Brétilion A., *Labo. Pharma. Probl. Tech.*, **1984**, 32, p. 842.
- [22] Essalim A., Serve D., *Electrochim. Acta*, **1992**, 37, p. 149.
- [23] Schneiderman E., Stalcup A.M., *J. Chromatogr.*, **2000**, 745, p. 83.
- [24] Crini G., Lekchiri Y., Janus L., Morcellet M., Morin N., *Chromatographia*, **1999**, 50, p. 661.
- [25] Bresolle F., Audran M., Pham T.N., Vallon J., *J. Chromatogr.*, **1996**, 687, p. 303.
- [26] D. Sybilska D., Zukowski J., *Chiral separations by CLHP*, Ed. A.M. Krstulovic, **1989**, Chapter 7, p. 147.
- [27] Crini G., Bertini S., Torri G., Naggi A., Sforzini D., Vecchi C., Janus L., Lekchiri Y., Morcellet M., *J. Appl. Polym. Sci.*, **1998**, 68, p. 1973.
- [28] Fujimura K., Ueda T. Ando T., *Anal. Chem.*, **1983**, 55, p. 446.
- [29] Fujimura K., Suzuki S., Hayashi K., Masuda S., *Anal. Chem.*, **1990**, 62, p. 2198.
- [30] Tanaka M., Okazaki J., Ikeda H., Shono T., *J. Chromatogr.*, **1986**, 370, p. 293.
- [31] Ward J., Armstrong D.W., *Chromatographic chiral separations*, Ed. M. Zief and L.J. Crane, **1988**, Chapter 5, p. 131.
- [32] Menges R.A., Armstrong D.W., *Chiral separations by LC, ACS Symposium Series*, Ed. S. Ahuja, **1991**, 471, p. 67.
- [33] Sébille B., Thuaud N., Piquion J., Behar N., *J. Chromatogr.*, **1987**, 409, p. 61.
- [34] Crini G., Morin N., Morcellet M., *J. Chromatogr. Sci.*, **1999**, 37, p. 121.
- [35] Crini G., Torri G., Lekchiri Y., Martel B., Janus L., Morcellet M., *Chromatographia*, **1995**, 41, p. 424.
- [36] Le Thuaud P., Martel B., Crini G., Maschke U., Coqueret X., Morcellet M., *J. Appl. Polym. Sci.*, **2000**, 77, p. 2118.
- [37] Janus L., Crini G., El-Rezzi V., Morcellet M., Cambiaghi A., Torri G., Naggi A., Vecchi C., *React. Funct. Polym.*, **1999**, 42, p. 173.
- [38] Crini G., Janus L., Morcellet M., Torri G., Morin N., *J. Appl. Polym. Sci.*, **1999**, 73, p. 2930.
- [39] Szente L., Szejtli J., *Adv. Drug Delivery Rev.*, **1999**, 36, p. 17.



G. Crini

### Grégorio Crini

est ingénieur d'études HDR au Centre de spectrométrie de l'université de Franche-Comté\*.

### Michel Morcellet

est professeur au Laboratoire de chimie moléculaire de l'université de Lille I\*\*.

### Nadia Morin

est technicienne au Laboratoire de biologie et d'écophysiologie de l'université de Franche-Comté\*\*\*.



M. Morcellet



N. Morin

\* Centre de spectrométrie, Faculté des Sciences et Techniques, Université de Franche-Comté, 16 route de Gray, 25030 Besançon Cedex.  
Tél. : 03 81 66 65 64. Fax : 03 81 66 61 72.  
E-mail : gregorio.crimi@univ-fcomte.fr

\*\* Laboratoire de chimie macromoléculaire, Université de Lille I, UPRES A 8009-CNRS, 59655 Villeneuve d'Ascq Cedex.

\*\*\* Laboratoire de biologie et d'écophysiologie, Faculté des Sciences, Université de Franche-Comté, Place Leclerc, 25030 Besançon Cedex.