### Chapitre 3 : Les enzymes immobilisées (cas des cyclodextrines)

###### Définition des cyclodextrines

Les cyclodextrines sont des molécules cycliques (macrocycles) naturelles constituées de six à douze unités d’un sucre, l'α D-glucopyranose. Ces entités oligosaccharidiques présentent la particularité de pouvoir héberger par inclusion réversible) d’autres molécules (solides, liquides ou gazeuses)dans la cavité qu’elles délimitent (1.5nm x 0.7 nm x 0.8 nm),conduisant à la formation de super-molécules (complexes d'association).

Les paramètres qui prédisposent à l’inclusion sont généralement de nature hydrophobe et impliquent plusieurs types d’interactions combinées telles les interactions de Van der Waals.

###### Obtention et isolement des cyclodextrines

Ellessontobtenuespartransformationmicrobiologiqueouenzymatiquedel’amidon.Industriellement,les cyclodextrines sont obtenues par action sur un amidon liquéfié, de l'enzyme Cyclodextrin et ransglycosylase (EC:2.4.1.19), produite par Bacillus macerans, de façon exocellulaire.

La cyclisation est une réaction réversible qui peut conduire à l'obtention de cycles à 6, 7 ou 8 jusqu'à 10 unités d'alpha-D glucopyranose assemblées par des liaisons α(1–4).

Les trois formes les plus courantes, l'α-cyclodextrine, la β-cyclodextrine et la γ-cyclodextrine, renferment respectivement six, sept et huit unités glycosyle.

L'isolement et la purification de ces molécules se font en utilisant les propriétés qu'elles ont de former des complexes stoechiométriques cristallisables avec différents solvants apolaires : trichloréthylène, tétrachloroéthane, bromobenzène, cyclohexane.



###### Figure : Représentation schématique d'une α/β cyclodextrine

###### Cyclodextrines et enzymes artificielles

La cavité des cyclodextrines est tapissée de fonctions hydroxyles qui, selon le pH de la solution, peuvent être sous forme acide (OH) ou sous forme basique (O-). Il en résulte une potentialité de catalyse acido-basique assimilable à celle d'enzymes comme la ribonuléase et les protéases. Parmi les molécules présentant une activité catalytique, les cyclodextrines de Shardinger résultant de la dégradation de l'amidon par la cyclodextrine glucane-glucano transférase de Bacillus macerans. La conversion des cyclodextrines en molécules catalytiques ou enzymes artificielles a été également envisagée en utilisant la β-cyclodextrine à la quelle a été fixé un groupement: O-[4(5)-mercaptométhyl-4(5)-méthyl imidazol-2-yl] benzoate, on obtient une molécule dont le groupe hydroxyl, un noyau imidazole et un groupe carboxylate miment le site actif de la chymotrypsine (chymotrypsine de R.Breslow).

Ces molécules sont capables de reconnaître et fixer un substrat parmi un ensemble de molécules et de catalyser une réaction. La spécificité de cette catalyse pouvant être modifiée par variation de leur architecture interne. Un certain nombre de réactions catalytiques sont déjà connues et il a ainsi été possible d'obtenir des vitesses de réactions supérieures à celles d'enzymes naturelles.

###### Tab. 24: Quelques propriétés des cyclodextrines glucanotransférases.

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Source (microorganisme) | pH opimal | T° optimale (°C) | Stabilité | PM (103) |
| pH | T° en °C |
| *Bacillus macerans* | 6.0 | 60 | 5.5-9.5 | Jusqu’à 50 | 145 |
| *Klebsellia pneumoniae* | 5.2-7.0 | 45 | 5.2-8.5 | Jusqu’à 50 | - |

**4. Domaines d'applications des cyclodextrines**

Leur récente production industrielle à coûts modérés, leur disponibilité fondée sur des productions agricoles abondantes ainsi que leur caractère biodégradable confèrent à ces molécules de grandes potentialités économiques.

Elles connaissent déjà d’importantes applications dans les domaines agricole, alimentaire, cosmétique, chimique et pharmaceutique.

###### En médecine

La solubilité de substances peu ou pas solubles dans l’eau (molécules apolaires) peut être ainsi considérablement augmentée par leur inclusion dans des cyclodextrines, dont l'anneau saccharidique présente une forte hydrophilie périphérique. Cette propriété trouve des applications dans le domaine du médicament par exemple un anti-inflammatoire, le piroxicam, est commercialisé sous la forme de son complexe d’inclusion avec la β cyclodextrine sous le nom de Brexin®. Sasolubilité dans l’eau passe ainsi de 30 milligrammes par litre à150 milligrammes par litre en présence de β cyclodextrine. Beaucoup d'autres composés sensibles à l’oxydation ou à la lumière, sont ainsi stabilisés par inclusion dans la cyclodextrine, telles: les prostaglandines E1et E2 (respectivement stimulant du muscle lisse et vasodilatateur), des antibiotiques du groupe des céphalosporines, l’iode, ainsi que la nitroglycérine utilisée comme vasodilatateur coronaire.

###### L’agro-alimentaire

La stabilisation d’arômes par inclusion ou encore l’extraction de composants indésirables tels la caféine ou le cholestérol connaissent des développements industriels. Enfin, on sait que l’addition de 1 à 3 p. 100 de cyclodextrines stabilise les émulsions, et une mayonnaise peut ainsi être préparée, sans œufs, en présence de cyclodextrines. Dans le domaine de l’agriculture, l’introduction d’un gaz, l’éthylène, dans ces molécules cages forme un complexe d’inclusion qui, épandu sous forme de solution aqueuse sur certains fruits et légumes, telles les tomates, accélère leur maturation.

###### La parapharmacie et la cosmétologie

Les cyclodextrines trouvent des applications comme composants actifs de déodorants, pour la diffusion contrôlée de parfums dans des articles de toilette. Par exemple, Les cyclodextrines sont utilisées comme molécules– pièges, à l'intérieur desquelles est encapsulée l'huile essentielle de l'arbre à thé (utilisée comme soin des peaux grasses, nettoie l'épiderme et élimine les impuretés), qui est ainsi protégée de l'oxydation. Dès son application, cette huile est libérée progressivement des cyclodextrines et pénètre dans la peau. La libération contrôlée de l'actif permet d'obtenir une action longue durée. Une fois vidées de leur contenu, telles un buvard, les cyclodextrines absorbent le sébum, évitant ainsi sa décomposition propice au développement bactérien.