

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

و البحث العلمي وزارة التعليم العالي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université MUSTAPHA Stambouli

Mascara



جامعة مصطفى اسطمبولي

معسكر

Faculté des sciences exactes

Département de chimie

Laboratoire de chimie physique des macromolécules et interfaces biologiques

THESE de DOCTORAT

Spécialité : Chimie

Intitulée

Etude des complexes d'inclusion à l'état solide

Présentée par : CHATER Fatima Zohra

Le 06 /11 / 2025

Devant le jury :

Présidente	OUELDMOUMNA Aoumria	Pr	Université de Mascara
Examineur	BELIL Ali	Pr	Université de USTO Oran
Examinatrice	MATMOUR Derouicha	MCA	Université de Sidi Bel Abbès
Examinatrice	BELARBI Hayet	MCA	Université de Sidi Bel Abbès
Encadreur	BOUHADDA Youcef	Pr	Université de Mascara
Co-encadreur	FERGOUG Teffaha	Pr	Université de Mascara

Année Universitaire : 2025-2026

REMERCIEMENTS

Je remercie Allah Al-Qader, Al-Wahab de m'avoir aidé de conclure ce travail.

Ce travail a été réalisé au sein du laboratoire de chimie physique des macromolécules et interfaces biologiques (**LCPMIB**) de l'université de Mustapha Stanbouli de Mascara. Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à Monsieur **BOUHADDA Youcef** et Madame **FERGOUG Teffaha** pour m'avoir accueilli au sein de leur équipe. Je les remercie sincèrement pour la confiance qu'ils m'ont témoignée, la qualité de leur encadrement, leurs précieux conseils ainsi que leur constante disponibilité, qui ont grandement contribué à la bonne conduite de ce travail.

Je remercie sincèrement Madame professeur **OULDMOUMNA Aoumria**, pour l'honneur qu'il m'a fait en acceptant de présider le jury de cette thèse.

Mes remerciements les plus respectueux vont à monsieur le professeur **BELIL Ali**, Dr **BELARBI Hayet** et Dr **MATMOUR Derouicha** d'avoir accepté d'être parmi le jury de ce travail malgré leurs nombreuses charges scientifiques et administratives.

Veuillez trouver ici l'expression de ma profonde reconnaissance. Je tiens à remercier tous les membres du laboratoire **LCPMIB** : **ZELMAT.C** ; **YSSAAD.F** ; **KADIRI.A**; **DAIKH.Z** qui ont contribué à mon cheminement académique. Leurs enseignements, leurs discussions et leur soutien ont joué un rôle essentiel dans ma formation et ma croissance en tant que doctorante surtout **Dr. DADOUCH Meriem** pour son partage et son soutien. Ainsi que l'ingénieur du laboratoire **ARIBI. R** et tous ceux qui ont contribué de près ou de loin dans la réalisation de ce travail.

Enfin, je remercie tous ceux qui m'ont soutenu et encouragé tout au long de ces années, je pense particulièrement à ma famille et mes amis.

DEDICACE

Je dédie ce travail :

A mes parents

A mes frères et ma sœur

A ma petite famille (mon époux et mes enfants)

Table des matières

Introduction générale	1
------------------------------------	---

Chapitre I : Etude bibliographique

I.1.Introduction	4
I.2.L'encapsulation et la vectorisation.....	4
I.A. Les Cyclodextrines.....	5
I.A.1.Historique.....	5
I.A.2.Structures et nomenclature des cyclodextrines.....	6
I.A.3. Caractéristiques physicochimiques des cyclodextrines.....	8
I.A.4. Les cyclodextrines modifiées.....	10
I.A.4.1. Hydroxypropyl- β -cyclodextrine (HP β CD)	12
I.A.5. Stabilité des cyclodextrines en solution.....	12
I.A.6. Biodégradabilité des cyclodextrines.....	12
I.A.7. Formation de complexe d'inclusion.....	13
I.A.8.Principales forces agissantes dans l'encapsulation.....	16
I.A.9. Méthodes de préparation des complexes d'inclusion CD/invité.....	18
I.A.9.1. L'inclusion par cristallisation de la solution (Co-précipitation)	18
I.A.9.2.L'inclusion par Co-mélange (Co-grinding).....	18
I.A.9.3. L'inclusion en suspension (slurry).....	18
I.A.9.4. L'inclusion par pétrissage (malaxage/ kneading).....	19
I.A.9.5. L'inclusion en méthode humide (damp).....	19
I.A.9.6. L'inclusion par extrusion.....	19
I.A.9.7. L'inclusion à sec.....	20

I.A.9.8. L'inclusion par neutralisation.....	20
I.A.9.9. L'inclusion par Co-évaporation.....	20
I.A.9.10. Séchage par atomisation/ pulvérisation (spray drying)	20
I.A.9.11. Séchage par lyophilisation (freeze drying).....	20
I.A.9.12. L'inclusion au CO ₂ supercritique.....	21
I.A.10.Caractérisation des complexes d'inclusion.....	21
I.A.10.1. Détermination de la stœchiométrie par la méthode de variation continue ...	22
I.A.10.2. La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FT-IR).....	21
I.A.10.3. La calorimétrie différentielle à balayage (DSC).....	22
I.A.10.4. Analyse thermogravimétrique (ATG).....	23
I.A.10.5. Microscopie électronique à balayage (MEB).....	23
I.A.11.Applications	23
I.A.11.1. Domaine pharmaceutique.....	24
I.A.11.2. En agroalimentaire.....	24
I.A.11.3. Dans les industries cosmétiques.....	25
I.A.11.4. En environnement.....	25
I.A.11.5. Textile.....	26
I.B. Les anesthésiques locaux.....	26
I.B.1. Introduction.....	26
I.B.2. Propriétés chimiques des anesthésiques locaux.....	27
I.B.2.1. Structure.....	27
I.B.2.2. Classification.....	28
I.B.3. Propriétés pharmacologiques des anesthésiques locaux.....	30

I.B.3.1. Propriétés acido-basiques	30
I.B.3.2. Pharmacocinétique des anesthésiques locaux.....	31
I.B.4. Interactions médicamenteuses.....	31
I.B.5. Relation entre structure et activité des anesthésiques locaux.....	32
I.B.6. Mécanisme d'action des anesthésiques locaux.....	34
I.B.7. Mode d'administration des anesthésiques locaux.....	35
I.B.7.1. Anesthésie de surface.....	35
I.B.7.2. Anesthésie d'infiltration.....	36
I.B.7.3. Anesthésie de conduction.....	36
I.B.8. Effets indésirables et Toxicité des anesthésiques locaux.....	36
I.B.8.1. Réactions allergiques.....	37
I.B.8.2. Manifestations cutanées.....	37
I.B.8.3. Nécrose.....	37

Chapitre II : Matériels et méthodes

II.1. Méthode de caractérisation a l'état solide.....	39
II.1.1. Calorimétrie à Balayage différentielle (DSC).....	39
II.1.1.1. Principe de la méthode.....	39
II.1.1.2. Détermination de la capacité thermique.....	40
II.1.1.3. La température de transition vitreuse.....	41
II.1.1.4. La Cristallisation.....	42
II.1.1.5. La Fusion.....	43
II.1.1.6. Application de la DSC.....	42
II.1.1.7. Utilité de la DSC dans l'étude du polymorphisme.....	45

II.1.1.8. Paramètres expérimentaux à suivre lors de l'analyse par DSC.....	46
II.1.1.9. Le degré relatif de cristallinité (RDC).....	46
II.1.2. Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier (FT-IR).....	46
II.1.2.1. Principe de la méthode.....	47
II.1.2.2. Appareillage.....	47
II.1.2.3. Etude du complexe d'inclusion cyclodextrine/médicament.....	48
II.2. Méthode de caractérisation a l'état liquide.....	50
II.2.1. Spectrophotométrie UV-visible.....	50
II.2.1.1. Analyse quantitative.....	50
II.2.1.2. Absorption de la lumière (loi de Beer-Lambert)	51
II.2.1.3. Principe physique	52
II.2.1.4. Les transitions électroniques.....	54
II.2.1.5. Analyse qualitative.....	56
II.2.1.6. Effet de l'environnement sur les transitions.....	57
II.2.1.7. Domaine spectral utilisé.....	62
II.2.1.8. Domaine de validité de la loi de Beer-Lambert.....	63
II.2.1.9. Déviation de la loi de Beer-Lambert.....	62
II.2.1.10. Point isobestiques.....	64
II.2.1.11. Application de la spectrophotométrie	65
II.2.2. Titration calorimétrique isotherme (ITC)	66
II.2.2.1. Principe de la méthode.....	66
II.2.2.2. Cas de complexation.....	69
II.2.2.3. Détermination de la constante d'affinité et les paramètres thermodynamique	70

Chapitre III : Résultats expérimentaux des Systèmes purs

III.1. Introduction.....	73
III.2. Produits chimiques et solvant.....	74
III.2.1. Principe actif.....	74
III.2.2. Excipient.....	76
III.3. Préparation du complexe à l'état solide.....	77
III.3.1. Préparation physique du complexe par malaxage (pétrissage/kneading)	77
III.3.2. Préparation solide du complexe par rotavapeur	79
III .4. Étude physico-chimique des systèmes purs a l'état solide.....	80
III.4.1. Analyse des principes actifs par Calorimétrie différentielle à balayage (DSC)	80
III.4.1.1. Protocole de mesure.....	80
III.4.1.2. Résultats et discussion.....	81
III.4.2. Etude par spectroscopie infrarouge à transformée de fourier (FT-IR).....	97
III.4.2.1. Protocole de mesure.....	97
III.4.2.2. Résultats et discussion.....	98
III.5. Étude physico-chimique des principes actifs purs à l'état liquide.....	105
III.5.1. Préparation du complexe à l'état liquide.....	102
III.5.2. Protocole de mesure par UV-Visible.....	106
III.5.3. Résultats et discussion.....	107
III.5.3.1. Mesure de l'absorbance.....	107
III.5.3.2. Effet de concentration.....	108
III.5. 3.3. Effet de température.....	109
III.6. Conclusion.....	114

Chapitre IV : Résultats expérimentaux des complexes d'inclusion

IV.1. Introduction	116
IV.2. Etude des complexes d'inclusion à l'état solide.....	117
IV.2.1. Etude thermique des complexes d'inclusion ALs /CDs par Calorimétrie différentielle à balayage (DSC)	118
IV.2.1.1. Étude thermique des complexes d'inclusion ALs / β CD.....	118
IV.2.1.2. Étude thermique des complexes d'inclusion ALs / HP β CD.....	121
IV.2.2. Etude des complexes d'inclusion ALs /CDs par spectroscopie infrarouge à transformée de fourier (FT-IR)	123
IV.2.2.1. Etude des complexes d'inclusion ALs/ β CD par spectroscopie FT-IR	124
IV.2.2.2. Etude des complexes d'inclusion ALs/HP β CD par spectroscopie FT-IR.....	126
IV.3. Etude physico-chimique des complexes d'inclusion à l'état liquide.....	129
IV.3.1. Etudes des complexes d'inclusion par spectroscopie UV-VIS.....	129
IV.3.2. Etude thermodynamiques des complexes d'inclusion ALs /CDs par calorimétrie à titration isotherme (ITC).....	132
IV.3.2.1. Protocoles de mesure.....	133
IV.3.2.2. Résultats et discussion.....	134
IV.3.2.2.1. Etude thermodynamiques des complexes d'inclusion ALs et β CD.....	134
IV.3.2.2.2. Etude thermodynamiques des complexes d'inclusion ALs et HP β CD.....	136
IV.4. Conclusion.....	139
Conclusion générale	140
Références bibliographiques	142
Résumé	161

Liste des figures

Figure I.1 : Représentation schématique de différentes structures vectrices : (a) cyclodextrine ; (b) : émulsion ; (c) : liposomes et (d) : micelle	4
Figure I.A.1 : Structures des cyclodextrines (CD) : α -CD (n = 6), β -CD (n = 7) et γ -CD (n = 8).....	7
Figure I.A.2 : Propriété amphiphile des cyclodextrines	8
Figure I.A.3 : Structures chimiques de la β -cyclodextrine.....	11
Figure I.A.4 : Mécanisme de formation du complexe d'inclusion.....	13
Figure I.A.5 : Représentation des différentes stœchiométries des complexes d'inclusion.....	14
Figure I.A.6 : Les interactions (hôte-invité).....	17
Figure I.B.1 : Structures chimiques typiques des Anesthésiques locaux	28
Figure I.B.2 : Structure moléculaire des liaisons amide et ester	28
Figure I.B.3 : Structure chimique des principaux anesthésiques locaux de type ester...	29
Figure I.B.4 : Structure chimique des principaux anesthésiques locaux de type amide..	30
Figure I.B.5 : Représentation d'une cellule nerveuse	34
Figure I.B.6 : Action d'un anesthésique local sur les canaux sodiques.....	35
Figure II.1 : Principe de l'analyse par DSC.....	39
Figure II.2 : Courbe DSC typique d'un polymère	41
Figure II.3 : Détermination graphique de la température de cristallisation.....	42
Figure II.4 : Détermination graphique de la température de fusion.....	43
Figure II.5 : DSC (a) du valsartan, (b) de la Me- β -CD, (c) du mélange physique valsartan / Me- β -CD, (d) du complexe d'inclusion valsartan/Me β -CD préparé par co-évaporation.....	44
Figure II.6 : Schéma d'un spectromètre à transformée de Fourier (FT-IR). L'interféromètre de Michelson est encadré en pointillés rouge.....	48
Figure II.7 : Spectres FT-IR de (1) GLC, (2), β CD, (3) C1:1 et (4) C1:2.....	49
Figure II.8 : Principe du spectrophotomètre UV-visible mon faisceau.....	50
Figure II.9 : Absorption de la lumière traversant un milieu homogène.....	51
Figure II.10 : Domaine spectral du rayonnement électromagnétique	53

Figure II.11 : Deux aspects différents des spectres rencontrés dans l'UV/Visible. Spectres du Benzène a) à l'état de vapeur (spectre présentant Une structure fine) ;b) en solution (spectre de bandes)	54
Figure II.12 : Principales transitions électroniques	54
Figure II.13 : Les différents effets des spectres UV-visible	58
Figure II.14 : Effet du solvant sur les transitions électroniques	61
Figure II.15 : Effet de solvant sur un spectre d'absorption	61
Figure II.16 : Déplacement du maximum vers les longueurs d'ondes les plus élevé ainsi qu'une Augmentation de la largeur des pics avec l'augmentation de la taille des nano sphères d'argents	62
Figure II.17 : Absorption d'une solution de paranitrophénol (a) saturation de l'appareil (b) pas de saturation de l'appareil	62
Figure II.18 : Vérification de la loi de Beer Lambert	62
Figure II.19 : Déviation de la loi de Beer-Lambert	63
Figure II.20 : Courbes d'absorption typiques de mélanges de 2 composés en équilibre chimique à une concentration totale constant	65
Figure II.21 : Représentation schématique du Nano ITC.....	66
Figure II.22 : Les pics obtenus lors du titrage isotherme	67
Figure II.23 : Exemple d'un thermogramme (haut) et d'un isotherme d'interaction (bas)	68
Figure II.24 : Interactions intermoléculaires ayant lieu dans la seringue et la cellule d'échantillon d'un appareil ITC pendant le phénomène de complexation.....	69
Figure II.25 : Les chaleurs exothermiques libérées lors de l'interaction Ligand/récepteur	69
Figure II.26 : Un modèle simplifié d'une interaction typique récepteur/ligand.....	71
Figure II.27 : Un modèle simplifié d'un système mixte.....	71
Figure III.1 : Structure chimique des principes actifs : (a)tétracaïne, (b)tétracaïne hydrochloride et (c)procaïne hydrochloride.....	75
Figure III.2 : Structure chimique des excipients : (a) β -cyclodextrine et (b)HP β -cyclodextrine	77
Figure III.3 : Description de la méthode de préparation du complexe 1:1 (Hôte/ Invité) préparation par pétrissage (PM, PMf)	78

Figure III.4: Description de la méthode de préparation du complexe 1:1 (Hôte/ Invité) préparation par kneading (KN).....	79
Figure III.5: Description de la méthode de préparation du complexe 1:1 (Hôte/ Invité) préparation évaporation (ROV) ; évaporation en présence du solvant (CV, EV).....	80
Figure III.6 : Calorimètre à balayage différentiel DSC -60 Plus /60A Plus.....	81
Figure III.7 : Thermogramme DSC pour Error! No text of specified style in document.	82
Figure III.8: Thermogramme DSC pour la TC, HCl pur.....	82
Figure III.9: Thermogramme DSC pour la PC, HCl pur.....	83
Figure III.10: Thermogramme DSC pour la TC pur (effet de cycle)	84
Figure III.11: Thermogramme DSC pour la TC, HCl (effet de cycle)	85
Figure III.12: Thermogramme DSC pour la PC,HCl pur (effet de cycle).....	87
Figure III.13: Thermogramme DSC pour ALs purs (effet de méthode) : (a)tétracaïne, (b)tétracaïne hydrochloride et (c)procaïne hydrochloride	89
Figure III.14: Thermogramme DSC pour la TC, HCl (effet de concentration)	90
Figure III.15: Thermogramme DSC pour β CD pure.....	91
Figure III.16: Thermogramme DSC pour HP β CD pure.....	92
Figure III.17: Thermogramme DSC pour BCD (effet de cycle).....	94
Figure III.18: Thermogramme DSC pour HPBCD Pur (effet de cycle).....	95
Figure III .19: Thermogrammes DSC du : (a) β -cyclodextrine et (b) HP β -cyclodextrine traité avec les différentes methodes utilisées pour la préparation de systèmes binaires solides ALs/CD : physique avec force PMf, kneading (KN), co-évaporation (ROV), co-évaporation de chloroforme (CV) et co-évaporation de l'éthanol (EV).....	97
Figure III .20 : spectromètre FT-IR Nicolet iS10.....	98
Figure III.21: Spectre FT-IR de TC	98
Figure III.22 : Spectre FT-IR de TC,HCl.....	99
Figure III .23: Spectre FT-IR de PC,HCl.....	100
Figure. III.24 : Les spectres FT-IR de (a)tétracaïne, (b)tétracaïne hydrochloride et (c)procaïne hydrochloride traités par les différentes méthodes utilisées pour la préparation de systèmes binaires solides ALs-CD : physique avec force (PMf)	101
Figure III .25: Spectre FT-IR de la BCD.....	102

Figure III .26: Spectre FT-IR de la HP β CD.....	103
Figure III .27: Les spectres FT-IR de (a) β -cyclodextrine et (b)HP β -cyclodextrine β CD traité avec les différentes méthodes utilisées pour la préparation de systèmes binaires solides ALs /CD : physique avec force (PMf) et kneading (KN).....	104
Figure III.28 : Variation de l'absorbance en fonction de la longueur d'onde à différentes températures pour TC(a) et TC,HCl (b) fraîchement préparés.....	102
Figure III.29: Variation de l'absorbance en fonction de la longueur d'onde à différentes températures pour TC(a) et TC,HCl (b) après recristallisation.....	106
Figure III.30: Titration de la ALs par la β CD	106
Figure III.31: Spectrophotomètre UV-visible Specord 200plus.....	107
Figure III. 32: Variation de l'absorbance en fonction de la longueur d'onde pour: TC(—) et TC, HCl(—) à $C=4.39 \cdot 10^{-5}M$	108
Figure III.33 : Spectres d'absorption de (a)TC et (b)TC,HCl en fonction de concentrations (1): $7.05 \cdot 10^{-4}M$, (2): $5.28 \cdot 10^{-4}M$, (3): $1.76 \cdot 10^{-4}M$, (4): $7.54 \cdot 10^{-5}M$, (5): $4.39 \cdot 10^{-5}M$, (6): $8.30 \cdot 10^{-6}$, (7): $2.48 \cdot 10^{-6}M$	108
Figure III.34 : Variation de l'absorbance en fonction de la concentration de (a)TC pour les trois longueurs d'onde suivante : $\lambda_{max} = 298 \text{ nm}$, $\lambda_{max} = 220 \text{ nm}$, $\lambda_{max} = 196 \text{ nm}$, et (b)TC,HCl pour les trois longueurs d'onde suivante : $\lambda_{max} = 304 \text{ nm}$, $\lambda_{max} = 226 \text{ nm}$, $\lambda_{max} = 196 \text{ nm}$	109
Figure III.35 : comparaison entre la variation de l'absorbance en fonction de la concentration de TC (—) et TC,HCl (—) pour la même longueur d'onde.....	110
Figure III. 36 : Variation de l'absorbance de la solution TC en fonction de la longueur d'onde à différents température ($T = 5 - 41^{\circ}C$) ;(a) pour $C = 7.05 \cdot 10^{-4}M$, (b) pour $C = 1.76 \cdot 10^{-4}M$, (c) pour $C = 3.76 \cdot 10^{-5}M$, (d) pour $C = 9.9 \cdot 10^{-6}M$ et (e) pour $C = 2.48 \cdot 10^{-6}M$	111
Figure III.37: Variation de l'absorbance du mélange (TC , HCl) en fonction de λ la température à différents température ($T = 5 - 41^{\circ}C$) (a) pour $C = 5.48 \cdot 10^{-4}M$,(b) pour $C = 3.76 \cdot 10^{-5}M$ et (c) pour $C = 2.48 \cdot 10^{-6}M$	112
Figure III. 38: Variation de l'absorbance de différentes concentrations de (a)TC et (b) TC,HCl en fonction de la température ($T=5-41^{\circ}C$) pour la longueur d'onde $\lambda=298 \text{ nm}$	113

Figure III.39: Variation de l'absorbance de la concentration ($C_{TC} = 2.48.10^{-6}$) et ($C_{TC,HCl} = 2.48.10^{-6}$) en fonction de la température ($T = 5-41^{\circ}C$) pour la longueur d'onde (a) $\lambda = 298nm$	114
Figure IV.1 : Courbes DSC de βCD , ALs, mélange physique (PM), mélange physique avec pétrissage (PMf) kneading (KN), co évaporation (ROV), co évaporation de chloroforme (CV) et co évaporation d'éthanol (EV). (a) : tétracaïne basique, (b) : chlorhydrate de tétracaïne, (c) : chlorhydrate de procaine)	119
Figure IV.2 : Courbes DSC de HP βCD , ALs, mélange physique (PM), mélange physique avec pétrissage (PMf) kneading (KN), d'évaporation (ROV) d'évaporation de chloroforme (CV) et d'évaporation d'éthanol (EV). (a) : tétracaïne basique, (b) : chlorhydrate de tétracaïne, (c) : chlorhydrate de procaine).....	122
Figure IV.3 : Spectres FT-IR de βCD , ALs, mélange physique (PM), mélange physique avec pétrissage (PMf) produits pétris (KN). (a) : tétracaïne basique, (b) : chlorhydrate de tétracaïne, (c) : chlorhydrate de procaine).....	126
Figure IV.4 : Spectres FT-IR de HP βCD , ALs, mélange physique (PM), mélange physique avec broyage (PMf) produits pétris (KN). (a) : tétracaïne basique, (b) : chlorhydrate de tétracaïne, (c) : chlorhydrate de procaine).....	128
Figure IV.5 : Spectres d'absorption UV-Vis des trois ALs : (a) TC/ βCD , (b) TC,HCl/ βCD et (c) PC,HCl/ βCD	130
Figure IV.6 : Variation de ΔA pour (b) TC,HCl/ βCD , $\Delta \lambda$ pour (a) TC/ βCD et (c) PC,HCl/ βCD en fonction de la concentration de βCD à $T = 25^{\circ}C$	132
Figure IV.7 : Protocole de mesure par ITC.....	134
Figure IV.8 : Titration calorimétrique des ALs : (a) TC, (b) TC,HCl et (c) PC,HCl avec le βCD . Haut : Données brutes pour 28 injections séquentielles (10 μL par injection) de solution de βCD dans la solution de AL. Bas : Isothermes de chaleur de réaction obtenus par l'intégration des courbes	135
Figure IV.9 : Titration calorimétrique des ALs : (a) TC,HCl et (b) PC,HCl avec le HP βCD . Haut : Données brutes pour 28 injections séquentielles (10 μL par injection) de solution de HP βCD dans la solution de ALs.....	138

Liste des tableaux

Tableau I.A.1: Propriété physico-chimique et structural de α -, β - et γ -cyclodextrine	09
Tableau I.A.2: Principales cyclodextrines modifiées.....	11
Tableau I.B.1: Propriétés physicochimiques de quelques anesthésiques locaux.....	33
Tableau II.1: Valeurs de $\lambda_{\max}$ et coefficient d'extinction ε pour quelques chromophores connus.....	57
Tableau IV.1: Les complexes d'inclusion étudiés et les techniques analytiques utilisées	117
Tableau IV.2 : Paramètres thermiques des ALs purs et de leurs systèmes binaires équimolaires ALs / β CD préparés par mélange physique (PM, PMf), kneading (KN) et co évaporation (ROV, CV et EV)	120
Tableau IV. 3 : Paramètres thermiques des ALs purs et de leurs systèmes binaires équimolaires ALs /HP β CD préparés par mélange physique (PM, PMf), kneading (KN) et co évaporation (ROV, CV et EV)	122
Tableau IV. 4 : Valeurs de constante de formation (K_{11}) pour ALs / β CD	131
Tableau IV. 5 : Paramètres thermodynamiques ΔH , $T\Delta S$, ΔG et constantes de formation K pour la complexation entre les AL et β CD à 298,15 K.....	136
Tableau IV.6 : Paramètres thermodynamiques ΔH , $T\Delta S$, ΔG et constantes de formation K pour la complexation entre les ALs et HP β CD à 298,15 K.....	138

Liste des symboles et des abréviations

Abréviations

AL : Anesthésique local

ATG : Analyse thermogravimétrique

CDs: Cyclodextrines

cmc : Concentration micellaire critique

C_p : Capacité calorifique à pression constante

DRX : Diffraction des Rayons

DSC : Differential Scanning Calorimetry (en), calorimétrie différentielle à balayage

GLC : Gliclazide

HPβCD: Hydroxypropyl βeta-cyclodextrine

ITC : Isothermal Titration Calorimetry

K_a : Constante d'association

KN : Kneading

K₁₁ : Constante de formation

MEB : Microscopie électronique à balayage

FT-IR : Fourier-Transform Infrared Spectroscopy, infrarouge à transformée de Fourier

PA : Principe actif

PC ,HCl : Hydrochlorate de procaïne

pH: Potentiel hydrogène

PLGA : Nanoparticules polymériques

RCD : Degré relatif de cristallinité

RMN : Résonance Magnétique Nucleaire

T_c : Point de cristallisation

TC,HCl : C₁₅H₂₄N₂O₂ HCl, Tetracaine Hydrochloride 4 (Butylamino)benzoic Acid 2 (Dimethylamino) ethyl Ester Hydrochloride

TC: Tétracaine

T_f : Température de fusion

T_v : Température de transition vitreuse

UV-vis : Spectroscopie Ultra-Violet et visible

Symboles

A: Absorbance

C : Concentration

I₀: Intensité du faisceau incident monochromatique

I_t: Intensité transmise

k : Coefficient d'absorption molaire (ou spécifique)

L: Longueur

n : Stoechiométrie

R: Constante des gaz parfait

T: Transmittance

T : Température

Symboles grecs

ε : Coefficient d'extinction molaire (Mol⁻¹.cm⁻¹)

βCD : βéta-cyclodextrine

γCD : Gamma -cyclodextrine

αCD : Alpha-cyclodextrine

ΔG : La variation d'énergie libre

ΔH : La variation d'enthalpie

ΔS : La variation d'entropie

λ_{max} : longueur d'onde maximal

Introduction générale

Introduction générale

Les anesthésiques locaux (ALs) inhibent la douleur en bloquant les canaux sodium voltage-dépendants (**Fozzard et al., 2005**). Ces canaux, constitués de protéines transmembranaires, possèdent plusieurs sites de liaison potentiels pour les ALs (domaines extracellulaires, transmembranaires ou cytoplasmiques) (**Hannongbua et al., 2011**) . Une fois fixée, la molécule provoque un changement conformationnel qui empêche la transmission de l'influx nerveux (**Fernandes et al., 2007**). Les ALs possèdent une structure amphiphile composée d'un groupe aryle hydrophobe, d'un groupe ammonium hydrophile, et d'un pont ester ou amide, ce qui leur confère des propriétés similaires à celles des tensioactifs (formation de micelles au-delà de la cmc). En fonction du pH, le groupe ammonium peut se transformer en amine, facilitant le passage de la molécule à travers la membrane neuronale sous forme neutre, tandis que la forme chargée est responsable du blocage des canaux. Bien que rarement proposée, la possibilité d'un passage direct de la forme ionisée n'est pas totalement exclue (**Fozzard et al., 2005; Hannongbua et al., 2011; Fernandes et al., 2007**) . De plus, leur caractère d'acide faible implique un équilibre acido-basique influencé par le pH, et leur pouvoir anesthésique dépend en partie de l'interaction entre leurs propriétés hydrophiles/lipophiles et acido-basiques (**Drakulić et al., 2009**).

La formulation des anesthésiques locaux est souvent confrontée à leur faible solubilité dans l'eau, en particulier sous leur forme basique non protonée. Pour y remédier, ils sont généralement formulés sous forme de chlorhydrates ou avec des agents de solubilisation spécifiques. Parmi les solutions les plus courantes pour améliorer leur solubilité figurent les cyclodextrines (CDs) (**Kaboudi et al., 2024 ; Nicolaescu et al., 2025**). Ces vecteurs, biodégradables et non toxiques, permettent d'encapsuler des molécules hydrophobes dans des milieux aqueux. D'autres systèmes de vectorisation, tels que les liposomes, les nanoparticules polymériques (PLGA), les micelles et les dendrimères, sont également utilisés (**Gonzalez, 2024 ; Bauer et al., 2021 ; Azum et al., 2023 ; Kappel et al., 2021**).

La complexation des anesthésiques locaux avec les cyclodextrines est un processus en équilibre chimique, influencé par d'autres équilibres présents dans le système, notamment les équilibres acido-basiques et micellaires. À des concentrations inférieures à la concentration micellaire critique, seules la complexation et la déprotonation sont en jeu. La forme basique de l'anesthésique est généralement plus favorable à l'inclusion dans la cavité hydrophobe des cyclodextrines, via des interactions hydrophobes, ce qui améliore leur formulation **(Franco et al., 2012; Teixeira et al., 2014)**.

Pour explorer l'effet des propriétés acide/base et hydrophile/lipophile sur la complexation et la formulation, trois anesthésiques locaux de la famille des amino-esters ont été étudiés : la tétracaïne (TC), la tétracaïne chlorhydrate (TC,HCl) et la procaine chlorhydrate (PC,HCl). Ces molécules, couramment utilisées en anesthésie topique, en odontologie, en ophtalmologie **(Sansanayudh et al., 2018; Ayuse et al., 2020; Zahavi et al., 2025)** et en médecine vétérinaire **(Rosenkrantz, 2006; Faghihi et al., 2022; Margeti et al., 2024)**, ont été choisies comme modèles de ligands pour la β -cyclodextrine (β CD) et HP β CD, excipients pharmaceutiques largement utilisés **(Kovacs et al., 2022, Liu et al., 2024)**.

La β -cyclodextrine (β CD) est l'un des composés hôtes les plus importants dans l'industrie pharmaceutique, et constitue l'un des excipients les plus utilisés. La β CD est une molécule en forme de cage, constituée d'un oligosaccharide cyclique de sept unités de D-(+)-glucopyranose, qui lui confère un extérieur hydrophile et une cavité interne hydrophobe, capables d'inclure la partie non polaire d'une molécule invitée **(Haroun et al., 2022)**.

Les différences structurelles entre TC, TC,HCl et PC,HCl notamment au niveau du groupe aryle et de la protonation de l'azote influencent leur comportement vis-à-vis de l'inclusion dans la cavité de la cyclodextrine. Les interactions ont été étudiées par DSC, spectroscopie FT-IR et UV-visible, ainsi que par calorimétrie isotherme de titration (ITC).

L'objectif de notre étude est d'examiner l'effet de ces différences structurales sur les interactions hôte-invité, à la fois en phase solide et en phase liquide. Cette approche est pertinente, car la majorité des études sur les interactions ALs /CDs se concentrent soit

exclusivement sur l'état solide, soit sur l'état liquide, sans comparaison systématique entre les deux.

Ce manuscrit s'articule en quatre chapitres :

Le premier chapitre est consacré à une étude bibliographique sur les cyclodextrines, les anesthésiques locaux, les complexes d'inclusion, les facteurs affectant leur stabilité et les différents domaines d'application des cyclodextrines.

Le deuxième chapitre décrit en détail les méthodes utilisées au cours de cette thèse. Le principe des techniques analytiques telles que la calorimétrie différentielle à balayage (DSC) et de la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FT-IR) spectrophotométrie UV-Visible et de la titration calorimétrique isotherme (ITC). Ces techniques permettent de différencier les résultats obtenus en phase solide (poudre), en phase liquide (en solution).

Le troisième chapitre est consacré à la discussion des résultats obtenus concernant l'étude des molécules pures ainsi que l'effet des conditions expérimentales. Tandis que **le quatrième chapitre** rassemble les résultats des caractérisations expérimentale des complexes d'inclusion de deux ALs par (β -cyclodextrines, HP β -cyclodextrines) à l'état solide et à l'état liquide, à travers la détermination des constantes d'associations et les grandeurs thermodynamique.

Une conclusion générale, synthétisant tout ce qui a été développé dans les pages de ce manuscrit, clôture ce travail.

Chapitre I :
Etude bibliographique

Chapitre I : Etude bibliographique

I.1.Introduction

La plupart des principes actifs (PA) utilisés en thérapeutique présentent des propriétés physico-chimiques défavorables, telles qu'une faible hydrosolubilité, un poids moléculaire élevé, ou encore une instabilité chimique ou enzymatique, ce qui complique considérablement leur traversée des multiples barrières biologiques qui séparent le site d'administration du médicament de son site d'action. En conséquence, ces molécules actives sont souvent mal absorbées, rapidement dégradées, fortement métabolisées, ou éliminées et donc incapables d'atteindre leur cible au niveau tissulaire ou cellulaire. De ce fait, le développement de vecteurs de médicaments permettant la délivrance spécifique de la molécule active au niveau du site d'action est aujourd'hui un axe important de recherche dans le domaine pharmaceutique (**Diab *et al.*, 2011**).

I .2. L'encapsulation et la vectorisation

L'encapsulation est un moyen idéal en vue de masquer les goûts de certaines substances ou d'augmenter la solubilité aqueuse de certains composés insolubles et d'éviter certaines interactions indésirables (**Augustin *et al.*, 2001**) . L'encapsulation de principe actif permet donc sa protection face aux attaques chimiques du milieu extérieur et peut aussi contrôler sa libération en fonction du temps (**Andrieux *et al.*, 2003**). Il existe ainsi une grande variété de vecteur sous forme de nanoparticules tel que les micelles, les liposomes, les émulsions et les nanoparticules polymériques (figure I.1) dont les plus couramment utilisés actuellement étant les cyclodextrines qui font l'objet de ce travail.

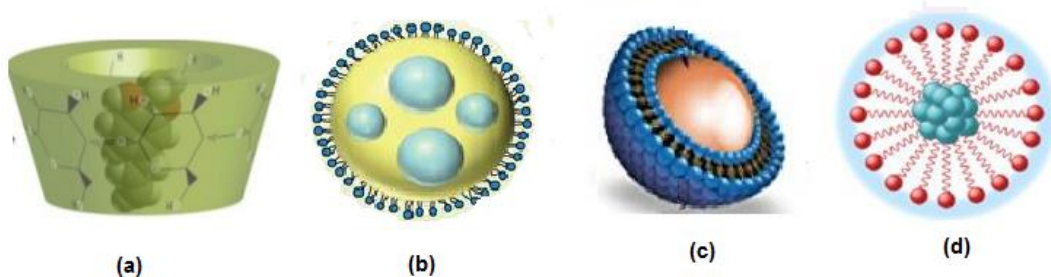


Figure I.1 : Représentation schématique de différentes structures vectrices :
 (a) cyclodextrine ; (b) : émulsion ; (c) : liposomes et (d) : micelle

Les cyclodextrines (CDs) sont largement utilisées comme excipients de formulation dans les médicaments, en particulier pour améliorer la biodisponibilité des principes actifs hydrophobes. En effet, le nombre de ces molécules présentent une faible solubilité dans l'eau, ce qui limite leur absorption par voie orale. L'inclusion de ces principes actifs dans des complexes avec les cyclodextrines permet non seulement de stabiliser les molécules dans l'environnement digestif, mais aussi de moduler leur libération, facilitant ainsi leur passage dans le système sanguin de manière plus efficace et contrôlée. Par ailleurs, les membranes biologiques étant majoritairement lipophiles, seules les molécules suffisamment liposolubles peuvent les traverser par diffusion passive. Une perméabilité optimale est généralement observée chez les principes actifs qui allient lipophilie et bonne solubilité en milieu aqueux. Dans ce contexte, les cyclodextrines agissent comme des vecteurs d'amélioration de la perméation, en augmentant à la fois la solubilité apparente et la concentration locale des molécules à proximité des membranes, favorisant ainsi leur passage transmembranaire.

I.A. Les Cyclodextrines

I.A.1. Historique

L'histoire des cyclodextrines est divisée en trois grandes périodes :

1. **Période de découverte (1891–1939)** : La première étape est remontée à 1891, lorsque Villiers a isolé une substance cristalline issue de la digestion de l'amidon par *Bacillus amylobacter*, qu'il a nommée *cellulosine* en raison de sa similarité avec la cellulose. Plus tard, entre 1903 et 1911, Schardinger a identifié *Bacillus macerans* (Szejtli *et al.*, 1996) comme producteur de l'enzyme CGTase et a décrit les premières formes de cyclodextrines, qu'il a nommées *dextrines de Schardinger*. Dans les années 1930, Freudenberg et ses collaborateurs ont élucidé leur structure cyclique et ont révélé leur capacité à former des complexes grâce à la nature hydrophobe de leur cavité.
2. **Période exploratoire (années 1940–1970)** : Cette phase a été marquée par une meilleure compréhension des propriétés physicochimiques des cyclodextrines. Des chercheurs comme Cramer et French (Del Valle, 2004 ; Crini, 2014) ont décrit les

caractéristiques structurales et la capacité de complexation des trois formes principales : α -, β - et γ CDs. Les études se sont multipliées à travers le monde, bien que menées de façon dispersée, approfondissant leur solubilité, réactivité et leur influence sur la stabilité des molécules invitées.

3. **Période d'utilisation et d'essor industriel (depuis 1981) :** L'usage des CDs s'est intensifié après une évaluation toxicologique rigoureuse, mettant en lumière les risques liés aux impuretés, doses excessives ou voies d'administration inadéquates. C'est en 1981 qu'a eu lieu le premier Symposium international consacré aux cyclodextrines, marquant une étape importante dans la reconnaissance scientifique et industrielle de ces molécules. À partir de cette période, les efforts de recherche se sont intensifiés autour de la dérivatisation des cyclodextrines, aboutissant à la production de nombreux dérivés aux propriétés physicochimiques modifiées (Eastburn et Tao ,1994 ; Wyrwalski *et al.*, 2011) , élargissant ainsi leurs champs d'application dans des domaines variés.

I.A.2. Structures et nomenclature des cyclodextrines

Les cyclodextrines (CDs) sont des molécules naturelles obtenues par dégradation enzymatique de l'amidon. Les plus naturellement abondantes sont les hexamères (α CD), heptamères (β CD) et octamères (γ CD) (Hanna, 2004) (figure I.A.1). En raison de leur biodégradabilité et non toxicité, les CDs sont de plus en plus utilisés pour la vectorisation des médicaments.

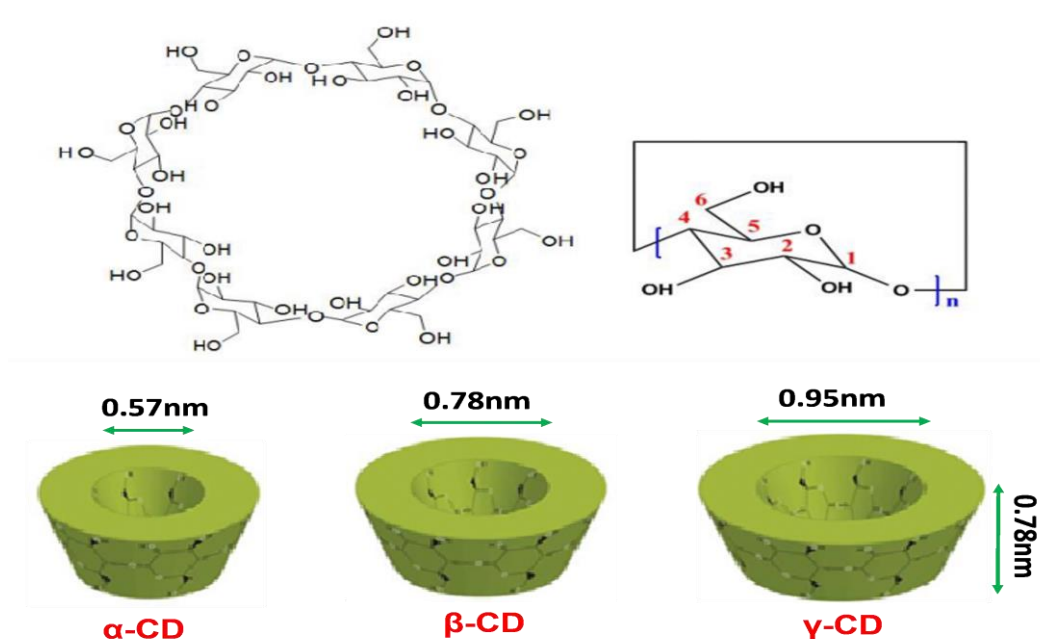


Figure I.A.1 : Structures des cyclodextrines (CD) : α CD ($n = 6$), β CD ($n = 7$) et γ CD ($n = 8$)

Les CD sont souvent représentés sous forme d'un tore avec une cavité interne dont les dimensions varient selon le nombre d'unités glucose (**Hanna, 2004**). Tous les groupes polaires hydroxyles sont localisés à l'extérieur de la structure de la molécule de CD et confèrent donc un caractère hydrophile à l'enveloppe externe. Les fonctions alcools primaires (une par unité glucose en position C6) sont orientées vers la partie la plus étroite du tronc de cône appelée aussi face primaire. Les fonctions alcools secondaires en position C2 et C3 sont situées à l'opposé sur la partie large de la couronne ou face secondaire. Cette organisation moléculaire délimite ainsi une cavité interne rendue relativement apolaire, donc hydrophobe comme illustré sur la (figure I.A.2). C'est grâce à ce caractère amphiphile remarquable (hydrophile à l'extérieur, hydrophobe à l'intérieur) que les CD sont capables d'inclure dans leur cavité apolaire des molécules hydrophobes pour former des complexes d'inclusion solubles dans l'eau (**Matsunaga et al., 1984**).

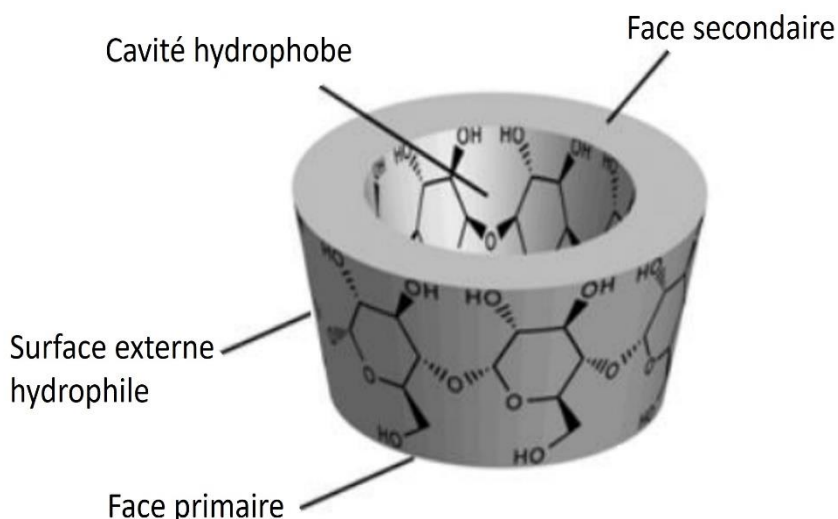


Figure I.A.2 : *Propriété amphiphile des cyclodextrines.*

I.A.3. Caractéristiques physicochimiques des cyclodextrines

Les cyclodextrines (CDs) sont des oligosaccharides cycliques constitués d'unités d' α -D-glucopyranose adoptant une conformation en chaise, reliées entre elles par des liaisons glycosidiques de type α -(1 $\rightarrow$ 4). Cette architecture leur confère une structure tridimensionnelle en forme de cône tronqué, caractérisée par deux ouvertures : l'une accueillant la molécule invitée, et l'autre étant exposée au solvant (**Del Valle ,2004; Michalska et al., 2017; Jansook et al .,2018**) . La cavité centrale, relativement hydrophobe, est tapissée de squelettes carbonés et de liaisons éther issues des résidus glucosidiques, tandis que l'extérieur de la molécule, en contact avec le solvant, est garni de groupes hydroxyles responsables de sa relative hydrophilie (**Michalska et al., 2017 ;Carneiro et al., 2019**).

Cette double polarité confère aux CDs un caractère amphiphile particulier. Grâce à cette propriété, associée à leur structure unique, les CDs peuvent agir comme des molécules cages capables d'inclure totalement ou partiellement des molécules hydrophobes dans leur cavité, donnant lieu à la formation de complexes d'inclusion.

Les CDs dites « natives » sont constitués de 6 à 13 unités d' α -D-glucopyranose (**Saenger et Steiner, 1998**), les plus courantes étant l' α -, β - et γ CD (figure I.A.1), comportant respectivement 6, 7 et 8 unités . Ces dernières se présentent sous forme de composés

cristallins, homogènes, non hygroscopiques, présentant l'avantage d'être biodégradables, biocompatibles et non toxiques pour l'homme. Les principales propriétés physico-chimiques des CDs natives sont décrites dans le tableau I. A .1.

Tableau I .A .1 : Propriété physico-chimique et structural de α -, β - et γ -cyclodextrine (Bensouiki, 2022)

<i>Propriétés</i>	<i>α- cyclodextrine</i>	<i>β - cyclodextrine</i>	<i>γ-cyclodextrine</i>
<i>Nombre d'unités glucose</i>	6	7	8
<i>Formule brute</i>	$C_{36}H_{60}O_{30}$	$C_{42}H_{70}O_{35}$	$C_{48}H_{80}O_{40}$
<i>Masse moléculaire</i>	972	1135	1297
<i>Diamètre de la cavité (nm)</i>	0.57	0.78	0.95
<i>Diamètre de la périphérie (nm)</i>	1.37	1.53	1.69
<i>Hauteur du cône (nm)</i>	0.79 ± 0.1	0.79 ± 0.1	0.79 ± 0.1
<i>Solubilité dans l'eau à 25° C (g L⁻¹)</i>	145	18.5	232

La masse molaire, le diamètre externe, ainsi que les dimensions internes de la cavité (diamètre et volume) des cyclodextrines (CDs) augmentent progressivement de l' α CD à la γ CD. Toutefois, la hauteur de leur cavité conique demeure constante pour ces trois types, avoisinant 0,78 nm. Contrairement à cette progression structurale, leur solubilité dans l'eau ne suit pas une évolution linéaire. En effet, la β CD est la moins soluble en milieu aqueux, comparée à l' α - et à la γ CD. Cette faible solubilité s'explique par la présence d'un réseau dense de liaisons hydrogène entre les groupes hydroxyles secondaires (2-OH et 3-OH) de glucopyranoses adjacents, formant une ceinture rigide qui limite l'interaction avec les molécules d'eau (**Miranda et al., 2011**) . À l'opposé, l' α CD présente une cohésion interne plus faible, en raison de la légère distorsion d'une de ses unités glucopyranose, qui réduit le nombre de liaisons hydrogène à quatre au lieu de six. Quant à la γ CD, sa structure plus ouverte et non coplanaire empêche la formation efficace de ces liaisons hydrogène, ce qui la rend plus flexible et nettement plus soluble (**Ozeki et al., 2012**) . Malgré cette faible solubilité, la β CD reste la plus utilisée dans le domaine pharmaceutique en raison de sa forte capacité de complexation. Elle est

largement intégrée dans les formulations commerciales pour son efficacité dans l'encapsulation des principes actifs (**Ozeki et al., 2012**).

I.A.4. Les cyclodextrines modifiées

Afin d'élargir le champ d'application des cyclodextrines (CDs) natives, de nombreux dérivés ont été développés par modification chimique. Ces modifications visent principalement à :

- a)** Améliorer leur solubilité dans l'eau, en particulier celle de la β -cyclodextrine (β CD) .
- b)** Accroître leur capacité d'inclusion des molécules invitées .
- c)** Introduire des groupements fonctionnels spécifiques favorisant la complexation .
- d)** Renforcer leur affinité vis-à-vis de certaines molécules cibles .
- e)** Permettre la synthèse de structures polymériques .
- f)** Améliorer la stabilité des complexes formés .
- g)** Conférer de nouvelles propriétés, telles que l'ajout de chromophores ou de groupes fluorescents.

Parmi les différentes CDs, la β CD (figure I.A.3) est la plus fréquemment modifiée. Les dérivés les plus courants résultent de la substitution des groupements hydroxyles primaires ou secondaires (**Del Valle, 2004a**). Dans le domaine pharmaceutique, les dérivés les plus utilisés sont ceux portant des groupes hydroxypropyle (HP), méthyle (ME) ou sulfobutyléther (SBE) (tableau I.A.2) (**Loftsson et Brewster, 2010 ; Valentino et Rajewski, 2020; Braga ,2023**).

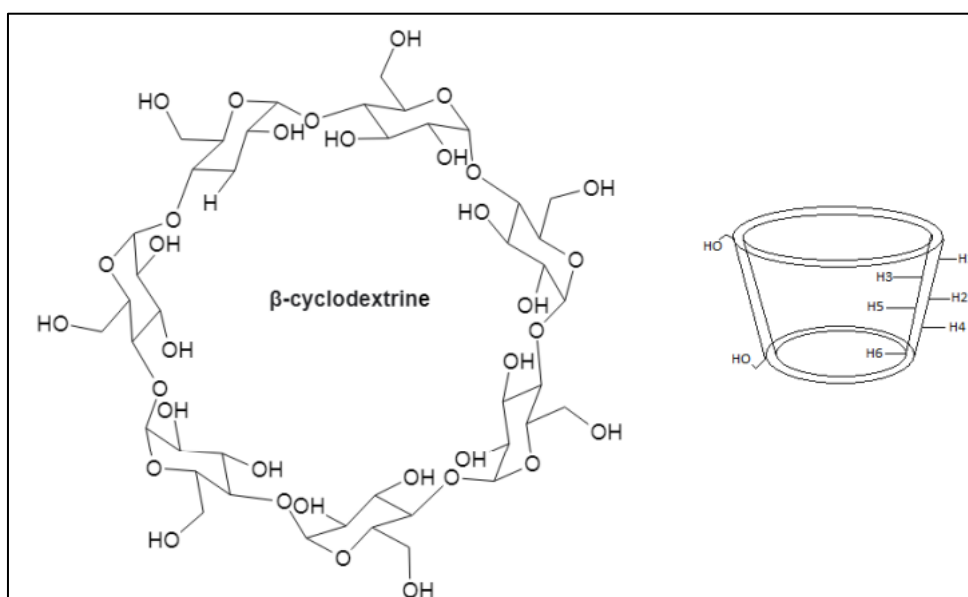


Figure I.A. 3 : Structures chimiques de la β -cyclodextrine

Tableau I.A. 2 : Principales cyclodextrines modifiées (Loftsson et Duchêne, 2007).

Cyclodextrines (CDs)	Abbréviation
Hydroxyethyl- β -CD	<i>HE-β-CD</i>
Hydroxypropyl- β -CD	<i>HP-β-CD</i>
Sulfobutylether- β -CD	<i>SE-β-CD</i>
Methyl- β -CD	<i>M-β-CD</i>
Dimethyl- β -CD	<i>DM-βCD (DIMEB)</i>
Carboxymethyl- β -CD	<i>CM-β-CD</i>
Carboxymethyl ethyl- β -CD	<i>CME-β-CD</i>
Glucosyl- β -CD	<i>G1-β-CD</i>
Maltosyl- β -CD	<i>G2-β-CD</i>
Tri-O-methyl- β -CD	<i>TRIMEB</i>
Tri-O-ethyl- β -CD	<i>TE-β-CD</i>
Tri-O-butyryl- β -CD	<i>TB-β-CD</i>
Tri-O-valeryl- β -CD	<i>TV-β-CD</i>

I.A.4.1. Hydroxypropyl- β -cyclodextrine (HP β CD)

L'hydroxypropyl- β -cyclodextrine (HP β CD) est un dérivé hydrophile obtenu par modification chimique de la β -cyclodextrine dans un milieu alcalin, à l'aide de l'oxyde de propylène (**Nasongkla *et al.*, 2003 ; Malanga *et al.*, 2016**). Elle présente une solubilité aqueuse remarquablement élevée (environ 500 mg/mL à 25 °C) (**Nasongkla *et al.*, 2003**), nettement supérieure à celle des cyclodextrines natives ou d'autres dérivés, tout en conservant une taille moléculaire comparable à celle de la β CD (tableau A.1). L'HP β CD est bien tolérée chez l'homme, avec une toxicité faible, principalement dépendante de la dose administrée et de la voie d'administration. Le principal effet indésirable rapporté est la diarrhée (**Gould et Scott, 2005**). Grâce à cette faible toxicité et à sa haute solubilité dans l'eau, l'HP β CD suscite un vif intérêt dans le domaine pharmaceutique (**Valentino et He, 2008**). Parmi tous les dérivés de cyclodextrines, l'HP β CD est le seul à disposer de sa propre monographie dans les pharmacopées européenne, britannique et américaine (USP-NF). Elle est aujourd'hui considérée comme l'un des excipients les plus polyvalents, intégrée dans des formulations destinées à diverses voies d'administration : orale, parentérale, rectale, oculaire et cutanée (**Malanga *et al.*, 2016**).

I.A.5. Stabilité des cyclodextrines en solution

La stabilité des cyclodextrines (CDs) en solution est généralement peu influencée par les variations de pH ou de température. Toutefois, une hydrolyse peut se produire dans des conditions extrêmes, notamment à des pH très acides (inférieurs à 1) et à une température de 80 °C (**Stella et Rajewski, 1997**). Cette stabilité structurelle des CDs repose en grande partie sur un réseau dense de liaisons hydrogène formées entre les groupes hydroxyles des unités de glucose adjacentes.

I.A .6. Biodégradabilité des cyclodextrines

Les cyclodextrines natives (α CD, β CD et γ CD) sont rapidement et entièrement biodégradées, tandis que les cyclodextrines modifiées, notamment les formes ramifiées, présentent une biodégradabilité plus faible, dépendant du degré de substitution (**Singh, *et al.*, 2002**). En raison de leur structure chimique, les CDs constituent une source de

carbone et d'énergie facilement exploitable par les micro-organismes présents dans les sols. De manière générale, les CDs affichent une biodégradabilité satisfaisante en milieu terrestre (Fenyvesi *et al.*, 2002 ; Fava *et al.*, 2002).

I.A.7. Formation de complexe d'inclusion

Grace à leur structure, les CDs peuvent accueillir dans leur cavité interne de manière réversible, partielle ou totale, différentes classes de composés au sein de leur cavité interne, formant ainsi des complexes d'inclusion. En solution aqueuse, cette cavité hydrophobe est initialement occupée par des molécules d'eau. Cependant, cette configuration est énergétiquement défavorable en raison des interactions polaire-apolaire. Lorsqu'une molécule invitée, moins polaire que l'eau, est présente, elle peut pénétrer dans la cavité en remplaçant les molécules d'eau, chassées vers l'extérieur (figure I.A. 4). Une fois dans la cavité, la molécule invitée forme des interactions de différentes nature comme les interactions hydrophobes, les liaisons hydrogène et les interactions de type Van der Waals avec la CD, contribuant à la stabilisation du complexe. Ce processus ne nécessite ni formation ni rupture de liaisons covalentes, ce qui permet au système d'être entièrement réversible (Szejtli, 1982 ; Marques, 2010a; Mura, 2014) .

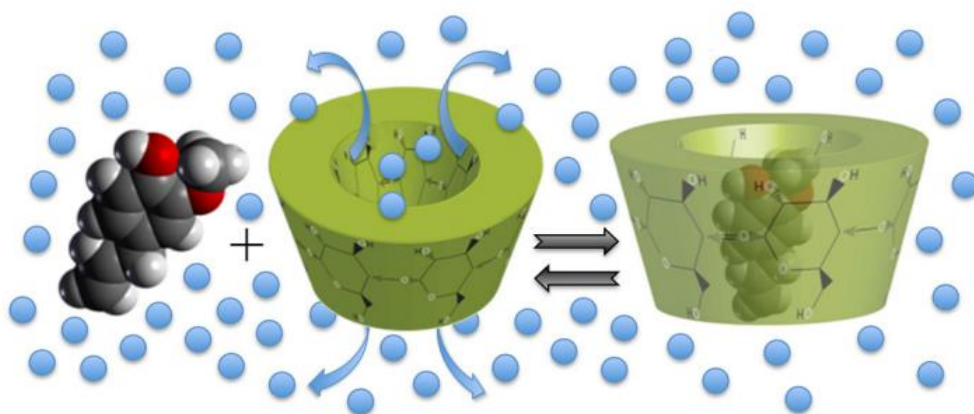


Figure I.A.4 : Mécanisme de formation du complexe d'inclusion (Mura, 2014).

La compatibilité géométrique entre la CD et la molécule invitée s'avère primordiale pour le mécanisme de formation du complexe d'inclusion. En effet, des invités de taille importante ne peuvent s'insérer dans la cavité centrale, même de façon partielle, ils ne peuvent pas former des complexes d'inclusion stables. Il en est de même pour les invités de petite taille qui pourront s'insérer dans la cavité parce que les CDs ne pourront pas les maintenir dedans du fait des faibles interactions formées entre eux. Durant la formation du complexe d'inclusion, il est possible qu'une ou plusieurs molécules de CD mobilisent une ou plusieurs molécules invitées. On parle alors de la stœchiométrie, le cas le plus fréquemment rencontré est l'obtention d'un complexe hôte/invité de stœchiométrie 1:1, d'autres structures et association plus compliquées peuvent être obtenues avec différentes stœchiométries telles que (1:1, 2:1, 1:2), en faisant apparaître, dans l'ordre hôte: invité (**figure I.A.5**)(**Andersen *et al.*, 1984 ; Landy *et al.*, 2007 ; Tablet *et al.*, 2012**) .

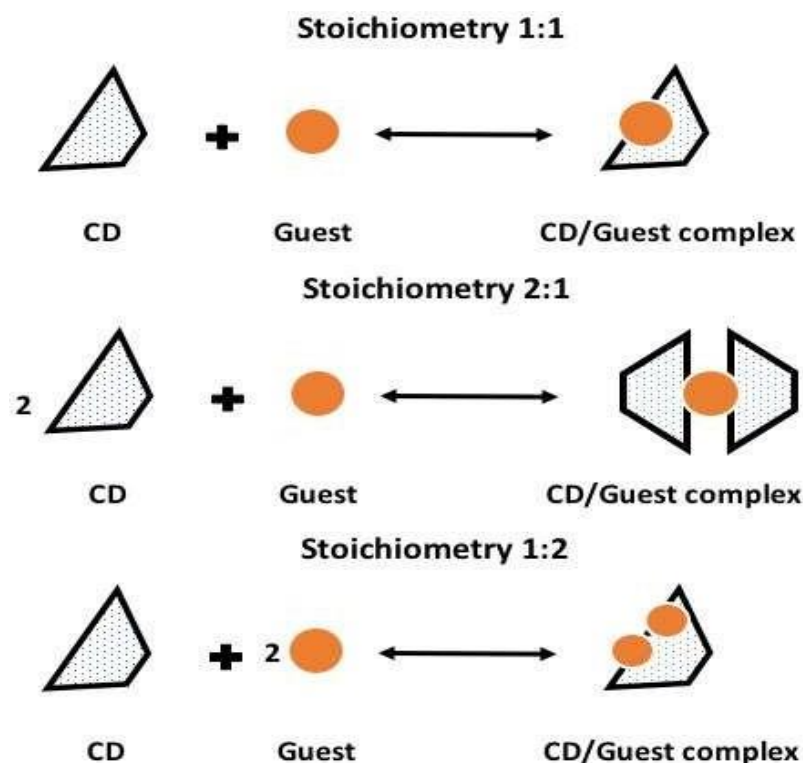


Figure I.A.5 : Représentation des différentes stœchiométries des complexes d'inclusion (**Landy *et al.*, 2007**)

Les interactions mises en jeu dans la formation d'un composé d'inclusion font appel aux forces électrostatiques, de van der Waals, hydrophobes ainsi qu'aux liaisons Hydrogène. En effet, la stabilisation énergétique du système gouvernant la formation de ces complexes est associée au remplacement, dans la cavité, des molécules d'eau par des molécules hydrophobes qui créent des associations plus favorables de type hydrophobe (apolaire-apolaire).

La cinétique chimique d'un système à l'équilibre permet de déterminer la stœchiométrie des complexes d'inclusion formés avec les cyclodextrines (CD). Dans le cas d'un complexe hôte-invité de stœchiométrie 1:1, l'équilibre peut être représenté par l'équation suivante :



Où la constante de liaison d'association, K_a , est exprimée comme suit :

$$K_a = \frac{[\text{CD} \cdot \text{Guest}]}{[\text{CD}][\text{Guest}]} \quad (\text{I.2})$$

L'énergie libre de Gibbs peut être déterminée à partir de la constante d'association K_a , et les contributions enthalpiques ΔH ainsi que entropiques ΔS à la complexation peuvent être évaluées en mesurant K_a à différentes températures. L'équation présentée précédemment décrit un complexe d'inclusion de stœchiométrie 1:1 entre la cyclodextrine (CD) et la molécule invitée. Cependant, d'autres rapports stœchiométriques sont également possibles, notamment les complexes 2:1 (deux CD pour une molécule invitée) ou 1:2 (une CD pour deux molécules invitées), selon la nature et la taille des partenaires d'inclusion.



Une stœchiométrie 2:1 (deux cyclodextrines pour une molécule invitée) est particulièrement adaptée à l'encapsulation de molécules longues ou volumineuses, permettant une inclusion plus stable grâce à l'association de deux unités de CD. La formation du complexe hôte-invité est accompagnée de variations thermodynamiques mesurables, notamment en enthalpie (ΔH) et en entropie (ΔS). Lorsque la complexation

dégage de la chaleur, cela traduit une enthalpie faible (ΔH faible) et une entropie élevée (ΔS positive), signe d'une augmentation du désordre moléculaire après inclusion. À l'inverse, une enthalpie élevée s'accompagne souvent d'une entropie négative, traduisant un système plus ordonné. Ces paramètres peuvent être précisément quantifiés par des mesures calorimétriques (**Rekharsky et Inoue, 1998 ; Kondo *et al.*, 1976**).

I.A.8.Principales forces agissantes dans l'encapsulation

- **L'énergie électrostatique (interactions électrostatiques)** L'énergie électrostatique correspond à l'interaction mutuelle entre des distributions de charge de deux molécules. Elle inclue toutes les forces électrostatiques produites par les charges permanentes, les dipôles et les grands multi pôles présents dans le système. Les interactions électrostatiques peuvent être divisées en trois types :
 - ✓ Interaction ion-ion.
 - ✓ Interaction ion-dipôle.
 - ✓ Interaction dipôle-dipôle.

Les CDs natives sont des molécules neutres et donc l'interaction ion-ion ne peut pas avoir lieu au cours du phénomène de complexation, sauf dans le cas où la CD est modifiée par l'introduction d'un groupement ionique. En revanche, l'interaction ion-dipôle et dipôle-dipôle sont souvent présentes pour la raison apparente liée à la polarité de la CD (**Attoui, 2014**).

➤ **Interaction de Van der Waals**

Dans le domaine de complexation avec les CD, l'interaction de Van der Waals représente soit les forces combinées d'induction et de dispersion ou seulement la force de dispersion. La force d'induction ou l'interaction « dipôle induit – dipôle », représente l'interaction induite par un moment dipolaire d'une molécule avec un moment dipolaire permanent d'une autre molécule. Alors que la force de dispersion ou la force de London-Eisenshitz, est obtenue par la synchronisation du mouvement électronique des deux molécules. Ce fait produit un moment dipolaire induit orienté de telle manière qu'il provoque une attraction entre les deux molécules (**Attoui, 2014**).

➤ L'interaction hydrophobique

Traditionnellement, l'hydrophobicité est considérée comme le résultat de l'augmentation du nombre de molécules d'eau à proximité du soluté non polaire, ce qui provoquerait souvent une perte importante d'entropie durant l'hydratation (Attoui, 2014).

➤ La liaison d'hydrogène

La liaison hydrogène résulte de l'interaction électrostatique entre un atome d'hydrogène (H), lié par covalence à un autre atome électronégatif (O, N, S) (donneur) et un deuxième atome électronégatif possédant une paire d'électrons non partagés (accepteur) ($\text{-O-H} \dots \text{O} = \text{C}$). L'énergie de la liaison hydrogène est environ dix fois supérieure à celle de la force de Van der Waals. Souvent, la liaison hydrogène hôte-invité concerne uniquement les hydroxyles primaires O (6) -H de la CD parce qu'ils sont flexibles et peuvent tourner autour de la liaison C (5) - C (6) au contraire des atomes secondaires O (2) et O (3) qui sont rigides à cause de la géométrie des unités glycosidiques. La figure I.A.6 présente les principales interactions qui peuvent exister lors du phénomène de complexation (Attoui, 2014).

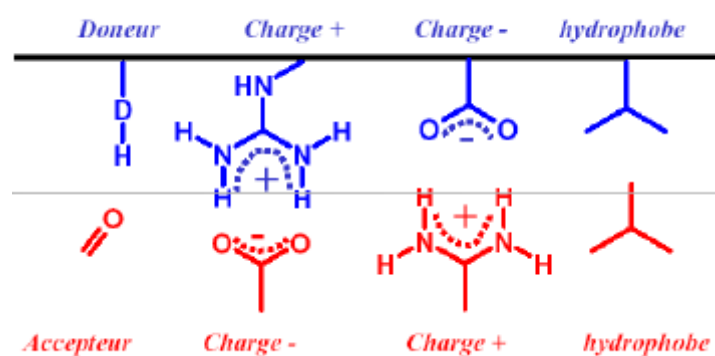


Figure I.A.6 : Les interactions (hôte-invité).

I.A.9. Méthodes de préparation des complexes d'inclusion CD/invité

Il existe plusieurs méthodes pour préparer des complexes d'inclusion stables entre les cyclodextrines (CD) et les molécules invitées (**Saenger ,1980; Szejtli ,1982**), dont le choix dépend des propriétés de l'invité et de l'application visée. Ces préparations peuvent se faire en milieu liquide ou solide. La méthode la plus courante consiste à agiter une solution aqueuse de CD (souvent chaude) avec la molécule invitée, suivie d'un refroidissement lent. Le complexe est ensuite récupéré sous forme solide (**Cavallari et al., 2002; Marques, 2010b**). Les méthodes souvent utilisées sont les suivantes :

I.A.9.1. L'inclusion par cristallisation de la solution (Co-précipitation)

Cette méthode consiste à agiter à une température entre 40 et 60°C une solution ou suspension de CD 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, la large quantité d'eau utilisée (vu la faible solubilité de la β CD par exemple), ainsi que le faible rendement (**Loftsson et al., 2007**).

I.A.9.2. L'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 (**Tao et al., 2014; Guimarães et al., 2015**) .

I.A.9.3. L'inclusion en suspension (slurry)

Une solution aqueuse sursaturée en CD est préparée. La quantité de CD non dissoute peut arriver jusqu'à 50 à 60 %. A cette suspension et sous agitation est ajouté l'invité. Ce dernier va former avec la CD en solution des complexes d'inclusion. Comme la solution est saturée en CD, les complexes vont précipiter au fur et à mesure de leur formation, et les cristaux de CD 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.

I.A.9.4. L'inclusion par pétrissage (malaxage/ kneading)

Cette technique consiste à préparer une pâte en mélangeant la CD et la molécule invitée en présence d'une petite quantité d'eau à l'aide d'un mortier et un pilon, ou un pétrisseur à l'échelle industrielle. Le temps de pétrissage nécessaire pour achever la complexation varie selon la molécule à incorporer, la quantité d'eau et le dispositif utilisé. Le complexe obtenu est séché directement, ou rincé avec de l'eau puis récupéré par filtration ou centrifugation. Cette technique est largement utilisée pour inclure les invités qui présentent une très faible solubilité dans l'eau, comme les huiles essentielles (Onagi *et al.*, 2003) .

I.A.9.5. L'inclusion en méthode humide (damp)

La CD est mélangée avec l'invité en présence d'une faible 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 de la CD 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.

I.A.9.6. L'inclusion par extrusion

C'est une variante de l'inclusion par pétrissage du fait qu'elle se fait en mode continu. La CD, 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 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 (**Del Valle, 2004b**) .

I.A.9.7. L'inclusion à sec

La complexation peut être envisagée par simple mélange des deux composés du complexe. Le temps nécessaire à la complexation varie selon l'invité qui est généralement une huile ou autre liquide. Cette méthode est généralement réalisée à température ambiante. (**Del Valle, 2004**).

I.A.9.8. L'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 la CD et vice versa. Le changement de pH induit la diminution de la solubilité de l'invité et la formation de complexes solides (**Choi et al., 2001**).

I.A.9.9. L'inclusion par Co-évaporation

Elle consiste à mélanger la CD et l'invité pendant un certain temps nécessaire pour avoir une complexation en présence d'un autre solvant à la même température. Puis le complexe solide est récupéré par co-évaporation des solvants présents (**Ghosh et al ., 2011; Yurtdaş et al ., 2011**) .

I.A.9.10. Séchage par atomisation/ pulvérisation (spray drying)

Les différents composants (CD, 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 (**Sapkal et al., 2007**).

I.A.9.11. Séchage par lyophilisation (freeze drying)

La lyophilisation est une méthode largement utilisée pour le séchage des complexes d'inclusion, notamment après la dissolution, sous agitation constante, d'une

quantité déterminée de cyclodextrine (CD) et de la molécule invitée dans l'eau. Grâce à l'application de basses températures et d'une pression réduite, cette technique permet de préserver l'intégrité des composés sensibles, en limitant les pertes, ce qui représente un avantage majeur pour les substances volatiles ou thermolabile. Cette méthode a fait ses preuves dans le domaine des complexes cyclodextrine-invité, comme le rapportent plusieurs études (**Saenger *et al.*, 1998; Hill *et al.*, 2013 ;Yuan *et al.*, 2014**).

I.A.9.12. L'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. Il est proposé pour la préparation des complexes d'inclusion de CDs avec des molécules aromatiques (**Kamihira *et al.*, 1990**) . Cette technique reste peu utilisée pour les composés volatils tels que les HEs 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 (**Locci *et al.*, 2004**).

I.A.10. Caractérisation des complexes d'inclusion

L'étude des complexes d'inclusion s'appuie sur différentes étapes. La première étape est la détermination de la stœchiométrie du système formé. Après avoir défini la stœchiométrie du complexe, il faut étudier la constante d'association et les paramètres thermodynamiques qui reflètent la stabilité et les différentes forces d'interactions intervenantes durant l'inclusion. La dernière étape consiste à déterminer la géométrie du complexe ainsi que ces caractéristiques physico-chimiques. De nombreuses méthodes analytiques sont utilisées pour vérifier la réalité d'inclusion, étudier les propriétés physicochimiques du complexe et pour mesurer les différents paramètres influençant le phénomène d'inclusion. Nous présentons par la suite les méthodes couramment employées pour caractériser les complexes d'inclusion en solution ainsi qu'à l'état solide.

I.A.10.1. Détermination de la stœchiométrie par la méthode de variation continue

La méthode de Job, également appelée méthode des variations continues (**Bukata et Marinsky, 1964**), est une technique de titration simple et largement utilisée pour déterminer la stœchiométrie des complexes d'inclusion formés avec les cyclodextrines (CDs). Son principe repose sur le suivi de l'évolution d'une propriété spectroscopique telle que le déplacement chimique en RMN (**Renny *et al.*, 2013**), l'absorbance en spectroscopie UV-Visible (**Bukata et Marinsky, 1964**) ou l'intensité de fluorescence (**Ge *et al.*, 2012**) au cours d'une série de mélanges. Dans cette méthode, la somme des concentrations en hôte (CD) et en invité est maintenue constante, tandis que leurs proportions relatives varient progressivement. Le point de maximum ou de changement significatif sur la courbe obtenue permet alors de déterminer le rapport stœchiométrique optimal du complexe formé.

I.A.10.2. La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FT-IR)

La spectroscopie FT-IR permet d'analyser rapidement les complexes d'inclusion CD/invité à l'état solide. Elle met en évidence les interactions, notamment les liaisons hydrogène, en comparant les spectres des composés libres à celui du complexe. La disparition, le déplacement ou la diminution d'intensité des bandes caractéristiques de la molécule invitée indiquent son inclusion dans la cavité hydrophobe de la cyclodextrine, où ses vibrations sont limitées (**Ayala-Zavala *et al.*, 2008; Takahashi, et Ferraz, 2012a**).

I.A.10.3. La calorimétrie différentielle à balayage (DSC)

La calorimétrie différentielle à balayage (DSC) est couramment utilisée pour caractériser les complexes d'inclusion à l'état solide en raison de sa simplicité et de la faible quantité d'échantillon requise. L'inclusion d'une molécule invitée dans la cavité de la CD modifie ses propriétés thermiques. En particulier, la disparition ou la réduction du pic de fusion de l'invité cristallin dans le thermogramme du complexe est un indicateur de la formation du complexe d'inclusion (**Takahashi *et al.*, 2012 ; Giordano *et al.*, 2001**).

I.A.10.4. Analyse thermogravimétrique (ATG)

L'analyse thermogravimétrique (ATG) est une technique à la fois qualitative et quantitative, utilisée pour mesurer la perte de masse d'un échantillon en fonction de la température, permettant ainsi de caractériser le comportement thermique des matériaux. Dans le cadre de l'étude des complexes d'inclusion, elle est fréquemment utilisée pour confirmer leur formation. Lors de la complexation, les molécules d'eau initialement retenues dans la cavité de la cyclodextrine sont libérées, tandis que la molécule invitée reste emprisonnée à l'intérieur. Ce transfert se manifeste par une variation de la perte de masse, observable en comparant le profil thermique de la CD libre à celui du complexe, généralement caractérisé par une perte de masse réduite. Par ailleurs, l'inclusion modifie le comportement thermique de l'invité, entraînant des déplacements, atténuations ou disparitions de certains événements thermiques sur le thermogramme du complexe, autant de signes révélateurs de la formation du complexe (**Takahashi *et al.*, 2012b**).

I.A.10.5. Microscopie électronique à balayage (MEB)

La microscopie électronique à balayage (MEB) est une méthode qualitative utilisée pour examiner la morphologie, la taille et la texture de surface des matériaux. Bien qu'elle ne permette pas, à elle seule, de confirmer de manière définitive la formation d'un complexe d'inclusion, elle constitue une technique complémentaire précieuse. En effet, l'observation des différences morphologiques entre le complexe d'inclusion, la cyclodextrine (CD), la molécule invitée (PA) et leurs mélanges physiques permet d'obtenir des indications utiles sur le processus d'inclusion (**Takahashi *et al.*; Ferraz, 2012c**).

I.A.11. Applications

Grace à leur toxicité nulle, le champ d'utilisation des cyclodextrine est très large et de nombreuses et diverses applications des CD sont décrites dans la littérature (**Duchêne, 1987**). Nous citerons par exemple :

I.A.11.1. Domaine pharmaceutique

L'industrie pharmaceutique représente l'un des principaux secteurs utilisateurs de cyclodextrines (CDs). En effet, la faible solubilité aqueuse de nombreux principes actifs (PA) limite leur biodisponibilité, réduisant ainsi leur efficacité pharmacologique. Pour remédier à cet inconvénient, les CDs sont largement utilisés dans les sciences pharmaceutiques comme agents complexant, visant à améliorer la solubilité et la stabilité des PA. Cette stratégie constitue une alternative avantageuse aux méthodes traditionnelles faisant appel à des tensioactifs ou co-solvants organiques, souvent associés à des effets secondaires indésirables.

Par ailleurs, la formation de complexes d'inclusion permet de moduler le taux et la vitesse de libération des principes actifs, bien que ces paramètres soient fortement influencés par les propriétés physico-chimiques du PA et du complexe formé. Les CDs jouent également un rôle important dans l'amélioration des caractéristiques organoleptiques, notamment en atténuant ou en supprimant l'amertume de certains PA. L'introduction des CDs dans le domaine pharmaceutique a marqué une avancée significative, au point que ce secteur est aujourd'hui le plus grand consommateur de CDs. De nombreuses publications scientifiques, brevets et ouvrages témoignent de leurs bénéfices et de la diversité de leurs applications (**Duchêne *et al.*, 1990; Loftsson *et al.*, 2007 ; Kovacs *et al.*, 2022 ; Ramos-Martínez *et al.*, 2022; Liu *et al.*, 2024**). Plusieurs médicaments contenant des CDs, notamment la β -cyclodextrine (β CD) et l'hydroxypropyl- β -cyclodextrine (HP β CD).

I.A.11.2. En agroalimentaire

Dans ce domaine, elles sont utilisées pour : a) incorporer les molécules volatiles, telles que les arômes qui sont préalablement introduites dans les préparations alimentaires ou les boissons, afin de les protéger contre la dégradation au cours des processus de transformation ou durant le stockage. En outre, la formation du complexe CD/arôme permet de minimiser la quantité des arômes utilisés (**Pereira *et al.*, 2021**). b) Protéger les composés labiles contre l'oxydation en agissant comme des inhibiteurs du brunissement des jus de fruits résultant de l'oxydation des composés phénoliques catalysée par le polyphénol oxydases ; ainsi que la protection contre la contamination

microbienne et la dégradation induites par la lumière, humidité, et chaleur. c) Masquer ou supprimer les odeurs ou les goûts indésirables présents dans certains nutriments tels que les composés amers. d) Augmenter la durée de conservation des produits alimentaires (Szente *et al.*, 2004; Del Valle, 2004a ;Astray *et al.*, 2009).

I.A.11.3. Dans les industries cosmétiques

Située à mi-chemin entre les applications dans le domaine pharmaceutique et agroalimentaire l'industrie cosmétique utilise couramment les CDs dans la formulation de leurs produits. Les CDs sont employés pour a) stabiliser les parfums et diminuer leurs volatilités. b) Protéger les vitamines, les arômes et les colorants contre les réactions de décomposition durant le processus de fabrication et le stockage ; c) Stabiliser les suspensions et les émulsions. d) Augmenter la stabilité des matériaux en les protégeant contre l'oxydation, l'hydrolyse, l'évaporation et la dégradation. e) Convertir les préparations liquides ou huileuses en poudre. f) Améliorer l'absorption dermique ; g) Améliorer la solubilité des produits lipophiles. h) Réduire ou masquer les odeurs indésirables des ingrédients)(Marques, 2010b; Krabicová *et al.*, 2020; Christaki *et al.*, 2023)

I.A.11.4. En environnement

L'utilisation des CDs dans les sciences environnementales a été largement discutée et détaillée dans la littérature. Elles sont utilisées pour le traitement d'eau afin d'augmenter l'encapsulation, l'adsorption, et la stabilisation des agents contaminants (Wu et Fan, 1998). Les CDs sont également employés pour réduire et extraire la volatilité des polluants organiques atmosphériques ainsi que ceux qui se trouvent dans les eaux ou les sols (Fakayode *et al.*, 2007; Blach *et al.*, 2008; Landy *et al.*, 2012). Les CDs servent également à l'élimination des hydrocarbures aromatique polycyclique (Viglianti, 2013; Sun *et al.*, 2013), de la nitrosamine (Wang *et al.*, 2004), benzène (Hana, 2022), phénol, p-chlorophénol et pesticide (Churchill *et al.*, 2006) .

I.A.11.5. Textile

Les cyclodextrines sont utilisées dans le domaine textile pour masquer les odeurs indésirables en piégeant les composés volatils et pour améliorer la fixation des colorants sur les fibres (**Crini *et al.*, 2018**). Elles permettent ainsi de réduire la perte de couleur au lavage et de prolonger la fraîcheur des textiles, tout en diminuant l'impact environnemental des rejets.

I.B. Les anesthésiques locaux

I.B.1. Introduction

Les anesthésiques locaux (AL) constituent l'un des piliers de la médecine moderne, en particulier dans les domaines de l'anesthésie loco-régionale, de la chirurgie ambulatoire, de la dentisterie, et du traitement de la douleur. Leur principal intérêt réside dans leur capacité à provoquer une insensibilisation réversible d'une région du corps sans perte de conscience, en bloquant temporairement la conduction de l'influx nerveux sensoriel au niveau des fibres périphériques. Ce mécanisme repose sur l'inhibition des canaux sodiques voltage-dépendants, nécessaires à la génération et à la propagation du potentiel d'action (**Hoizey *et al.*, 2005 ; Becker et Reed, 2006**).

L'histoire des anesthésiques locaux remonte à plusieurs siècles, bien avant la compréhension de leur mécanisme d'action. Les feuilles de coca (*Erythroxylum coca*) étaient déjà utilisées depuis l'Antiquité par les peuples andins, notamment les Incas, qui mâchaient ces feuilles pour leurs effets stimulants et analgésiques. Ce n'est qu'en 1860 que la cocaïne (principal alcaloïde actif de la coca) fut isolée pour la première fois par Albert Niemann, un chimiste allemand. Il décrivit ses propriétés anesthésiantes sur la langue, marquant ainsi la première étape vers une utilisation médicale formelle. L'utilisation de la cocaïne comme anesthésique local débute réellement en 1884, lorsque Carl Koller, un ophtalmologiste viennois, démontre son efficacité comme anesthésique topique lors d'interventions ophtalmiques. Ce fut une avancée révolutionnaire, car elle permettait d'effectuer des chirurgies oculaires sans douleur ni anesthésie générale (**Koller, 1884**). Peu après, William Halsted, chirurgien américain pionnier de la chirurgie moderne, expérimenta l'injection de cocaïne pour obtenir une anesthésie régionale, introduisant ainsi le concept de bloc nerveux.

Cependant, les effets secondaires toxiques importants de la cocaïne, en particulier son potentiel addictif et ses effets cardiovasculaires, ont rapidement conduit à la recherche d'alternatives synthétiques plus sûres. C'est ainsi qu'en 1905, Alfred Einhorn, un chimiste allemand, synthétisa la procaine (commercialisée sous le nom de Novocaïne), le premier anesthésique local de synthèse. Bien que moins puissante que la cocaïne, la procaine était bien mieux tolérée, marquant un tournant dans l'essor des ALs modernes. Le développement des anesthésiques locaux s'est poursuivi tout au long du XXe siècle avec l'introduction de nombreuses molécules, notamment la lidocaïne en 1943 (premier anesthésique de type amide), suivie de la mépivacaïne, bupivacaïne, articaïne, et ropivacaïne, chacune présentant des profils pharmacocinétiques et pharmacodynamiques distincts. Ces avancées ont permis d'adapter les ALs aux besoins variés des pratiques médicales et chirurgicales, tout en améliorant leur efficacité, leur durée d'action et leur sécurité d'utilisation.

Aujourd'hui, les ALs sont devenus des médicaments indispensables dans de nombreuses disciplines médicales. Leur compréhension historique permet de mieux saisir l'évolution de leur utilisation, mais aussi les enjeux contemporains liés à leur sécurité, à leur toxicité potentielle et à l'optimisation de leurs formes galéniques.

I.B.2. Propriétés chimiques des anesthésiques locaux

I.B.2.1. Structure

Tous les ALs sont des composés dont la structure chimique est constituée de trois parties schématisées sur la (figure I.B.1): Un groupement aromatique (acide benzoïque ou para-amino-benzoïque) responsable de la liposolubilité de la molécule et qui joue un rôle dans la diffusion et la fixation du médicament, une chaîne intermédiaire, de type ester ou amide, dont la longueur influence la liposolubilité (allongement) ou l'hydro-solubilité (raccourcissement), un groupement fonctionnel, généralement une amine tertiaire, qui en s'ionisant constitue le pôle hydrophile. Il conditionne la répartition et la diffusion du médicament dans le sang. (Lagan *et al.*,2004), (Attwood *et al.*,1983). Il s'agit de bases faibles de poids moléculaire compris entre 234 et 329 g/mole.

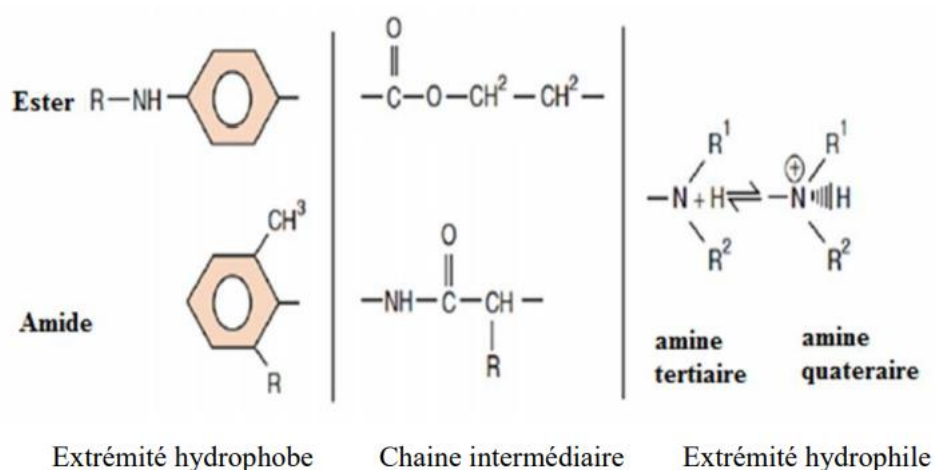


Figure I.B.1 : Structures chimiques typiques des Anesthésiques locaux (Azayez, 2021).

Du fait de leur structure particulière duale (hydrophobe/ hydrophile), ces composés possèdent des propriétés tensioactives.

I.B.2.2. Classification

Les propriétés pharmacologiques des anesthésiques locaux dépendent principalement de la nature de leur chaîne intermédiaire, qui peut comporter soit une liaison ester (-COO-), soit une liaison amide (-NHCO-). Cela permet de les classer en deux grandes familles (figure I.B.2) : les amino-esters et les amino-amides (Emala, 2018).

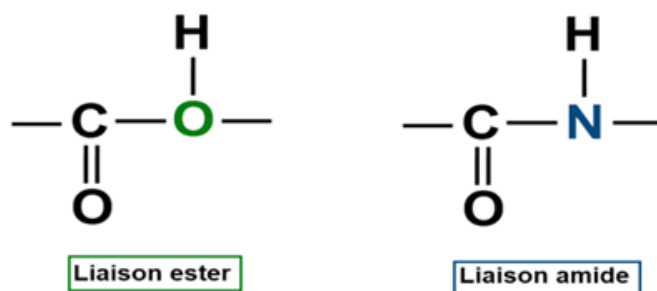


Figure I.B.2 : Structure moléculaire des liaisons amide et ester.

a) Dérivés amino-esters

Les anesthésiques locaux de type amino-esters, caractérisés par une liaison ester ($-\text{COOCH}-$), sont majoritairement dérivés de l'acide para-aminobenzoïque. Moins stables chimiquement que les amides, ils présentent un risque allergique plus élevé. Bien que la procaine, premier représentant de cette classe, soit aujourd'hui peu utilisé en clinique (sauf chez les patients atteints de porphyrie), d'autres molécules comme la cocaïne, la tétracaïne, la procaine et la chloroprocaine sont encore employées dans certaines indications (figure I.B.3).

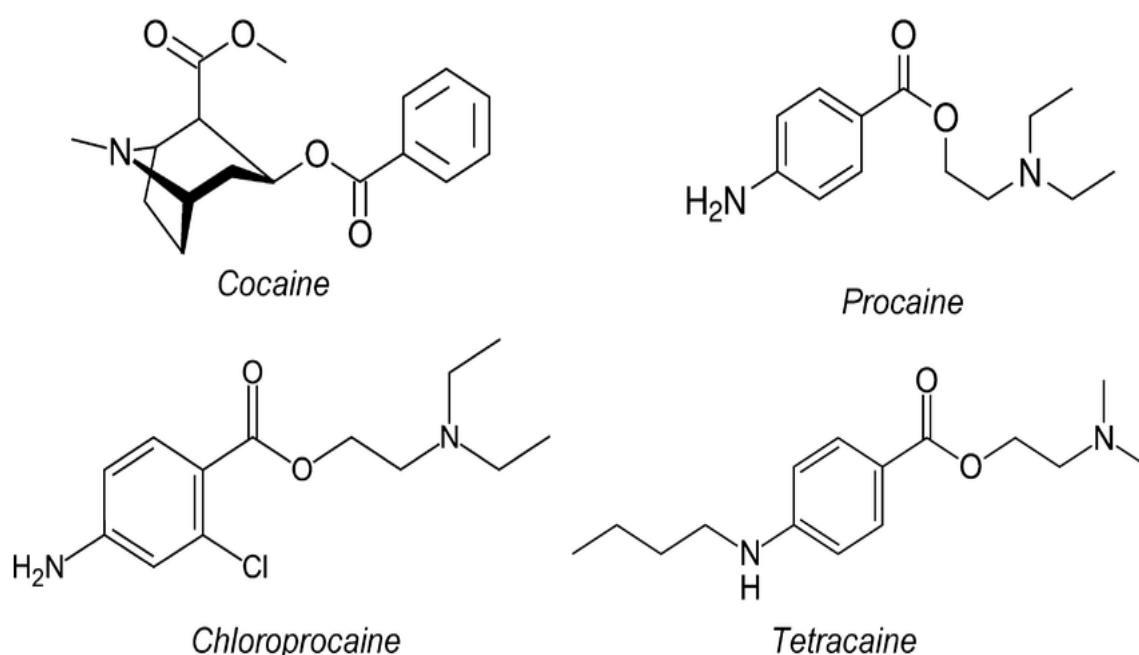


Figure I.B.3 : Structure chimique des principaux anesthésiques locaux de type ester.

b) Dérivés amino-amides

Les amino-amides, reconnaissables à leur fonction amide ($-\text{NHCOCH}-$), sont largement utilisés en raison de leur efficacité supérieure. La lidocaïne est le plus couramment employé, mais d'autres comme la bupivacaïne, la lévobupivacaïne, la ropivacaïne et la mépivacaïne (figure I.B.4) sont également utilisés. Ces anesthésiques se distinguent par une action rapide, une puissance accrue et une anesthésie plus profonde. Ils sont souvent associés à un vasoconstricteur (comme l'adrénaline ou la noradrénaline) afin de réduire leurs effets vasodilatateurs naturels.

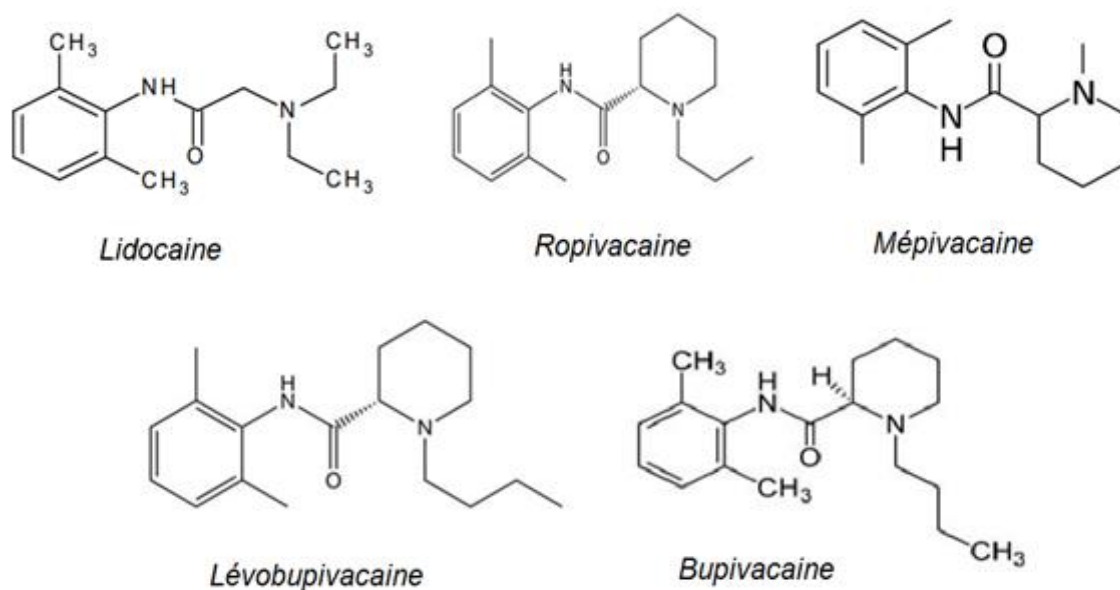
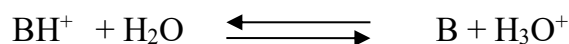


Figure I.B.4 : Structure chimique des principaux anesthésiques locaux de type amide

I.B.3. Propriétés pharmacologiques des anesthésiques locaux

I.B.3.1. Propriétés acido-basiques

En solution aqueuse, les AL existent soit sous forme ionisée (acide) soit sous forme non ionisée (basique) suivant l'équilibre chimique habituel :



Caractérisé par la constante d'acidité :

$$K_a \approx [\text{B}] \cdot [\text{H}_3\text{O}^+] / [\text{BH}^+]$$

Dans l'expression ci-dessus les interactions sont négligées et les activités remplacées par les concentrations des différentes espèces.

La proportion relative de chacune des deux formes de l'AL dépend du pH du milieu et de son pKa selon l'équation bien connue d'Henderson-Hasselbach :

$$\text{pH} \approx \text{pK}_a - \log [\text{B}] / [\text{BH}^+]$$

Lorsque le pKa est égale au pH du milieu, les proportions de la forme ionisée et non ionisée sont équivalentes. De ce fait, l'état d'ionisation va conditionner l'activité et

la distribution des anesthésiques locaux car la forme non ionisée étant la seule forme capable de diffuser à travers les membranes des cellules nerveuses (**Fergoug, 2010**).

I.B.3.2. Pharmacocinétique des anesthésiques locaux

La pharmacocinétique vise à décrire le devenir d'un médicament dans l'organisme au fil du temps. Les anesthésiques locaux (ALs) présentent des profils pharmacocinétiques variables, en raison de leurs propriétés physico-chimiques distinctes. Des paramètres tels que la lipophilie, ainsi que l'affinité pour les protéines plasmatiques et tissulaires, influencent directement la vitesse d'absorption et la distribution des ALs dans la circulation systémique et les tissus périphériques.

La pharmacocinétique des ALs est marquée par un phénomène dit de *flip-flop* (**Martinez-Sola et al., 2011**), dans lequel la vitesse d'absorption dans la circulation systémique devient le facteur limitant de leur élimination, et non l'inverse comme c'est habituellement le cas. Dans le sang, la fixation des ALs aux globules rouges est relativement faible : seuls 15 à 30 % des molécules sont liées à ces cellules (**Patel et Sadoughi, 2014**). La majorité, en particulier les ALs de type amide, se lient aux protéines plasmatiques (**Mazoit et Dalens, 2004**), principalement à l'albumine et à l' α_1 -glycoprotéine acide (ou orosomucoïde), avec peu ou pas de liaison aux α_2 - et β -globulines (**Zhang et al., 2022**).

La liaison des ALs à l'albumine se caractérise par une faible affinité mais une forte capacité, tandis que la liaison à l'orosomucoïde est de forte affinité mais de capacité limitée (**Denson et al., 1984**). Lorsque la concentration totale d'AL dépasse un certain seuil ou que le pH sanguin diminue, ces systèmes de fixation peuvent être saturés ou leur affinité altérée, entraînant une augmentation de la fraction libre active de l'AL dans le plasma.

I.B.4. Interactions médicamenteuses

Les anesthésiques locaux (ALs) peuvent provoquer des interactions médicamenteuses à la fois pharmacocinétiques, telles que le déplacement sur les sites de fixation protéique, la réduction du débit sanguin hépatique ou de la clairance

intrinsèque et pharmacodynamiques, notamment par interférence au niveau des sites effecteurs. Ainsi, certains ALs peuvent être déplacés de leur site de liaison à l' α_1 -glycoprotéine acide par d'autres ALs, augmentant le risque de toxicité cumulative (**Sweetman et Martindale, 2009**).

De manière générale, l'administration conjointe d'ALs avec des antiarythmiques peut accroître significativement le risque de dépression myocardique, car ces deux classes de médicaments agissent sur les canaux ioniques, notamment les canaux sodiques. Par ailleurs, l'utilisation de solutions d'AL contenant de l'adrénaline, en particulier lors d'un accouchement par voie péridurale ou para-cervicale, peut entraîner une hypertension artérielle si elle est associée à des médicaments oxytociques.

Certains traitements associés peuvent également potentialiser la toxicité des ALs. Par exemple, les médicaments dépresseurs du système nerveux central peuvent masquer les premiers signes d'excitation centrale liés à une toxicité aux ALs. En ce qui concerne les interactions spécifiques, il a été démontré que la clairance de la bupivacaïne diminue lorsqu'elle est administrée après une prémédication à la cimetidine, un antagoniste des récepteurs H₂ de l'histamine (**Noble et al., 1987**), bien que cet effet n'ait pas été confirmé par Flynn *et al* (**Flynn et al., 1989**) .

Des études expérimentales ont par ailleurs montré que la neurotoxicité de la bupivacaïne peut être amplifiée : sa dose toxique est multipliée par 2,5 lorsqu'elle est associée au sévoflurane, et par 4 avec le propofol (**Ohmura et al., 1999**).

I.B.5. Relation entre structure et activité des anesthésiques locaux

Les propriétés structurales des anesthésiques locaux (ALs) jouent un rôle déterminant dans la variabilité de leur activité pharmacologique. Leur capacité à diffuser à travers les membranes cellulaires nerveuses dépend à la fois du gradient de concentration et de leur coefficient de diffusion, spécifique à chaque molécule. Étant donné que la gaine nerveuse est constituée de lipides, une liposolubilité suffisante est nécessaire pour permettre le passage de l'AL à travers cette barrière. L'augmentation de la longueur de la chaîne intermédiaire (jusqu'à environ 0,9 nm), ainsi que l'élévation du poids moléculaire des substituants latéraux (groupes R, R1 et R2, voir figure I.B.1),

contribuent à renforcer cette liposolubilité. Cette propriété améliore également l'affinité des ALs pour les régions hydrophobes des protéines membranaires en interaction avec les phospholipides. Il en résulte une augmentation de l'activité intrinsèque de l'agent anesthésique, accompagnée d'une réduction du délai d'action, comme le met en évidence le tableau I.B.1.

Tableau I.B.1 : Propriétés physicochimiques de quelques anesthésiques locaux (Denson et Mazoit, 1992) .

AL	Durée d'action	Délai d'action	pKa	Fixation Protéique (%)	% de la base a pH = 7,4	Puissance anesthésiante relative /Procaine
Procaine	1h-1h30	Lent	8,9	6	3	1
Tétracaine	3h-4h	Lent	8,5	80	7	8
Lidocaïne	1h 30-2h	Rapide	7,8	65	24	2
Bupivacaïne	3h-3h30	Intermédiaire	8,1	95	17	8
Mepivacaïne	2h-3h	Rapide	7,7	75	39	1,5
Prilocaine	1h30-2h	Rapide	8,0	55	24	1,8
Etidocaïne	3h-4h	Rapide	7,9	95	34	8

Il convient toutefois de souligner que la liposolubilité n'est pas toujours le facteur déterminant de la rapidité d'action des anesthésiques locaux. C'est notamment le cas lorsqu'on compare la lidocaïne et la bupivacaïne : bien que cette dernière possède des groupements butyles plus lipophiles que les éthyles présents sur la lidocaïne, elle présente un délai d'action plus long. Cette différence s'explique principalement par la valeur du pK_a. En effet, plus le pK_a d'un AL est élevé, plus la proportion de la forme basique non ionisée, celle capable de traverser la membrane neuronale est faible à pH physiologique, ce qui retarde le début d'action.

Par ailleurs, c'est l'état d'ionisation du médicament qui détermine son activité pharmacologique et sa distribution dans les tissus, comme l'ont rapporté (**Butterworth et Strichartz, 1990**) .

I.B.6. Mécanisme d'action des anesthésiques locaux

La douleur est une sensation déclenchée par l'activation de récepteurs spécifiques situés sur les terminaisons nerveuses libres des neurones sensoriels (figure I.B.5).

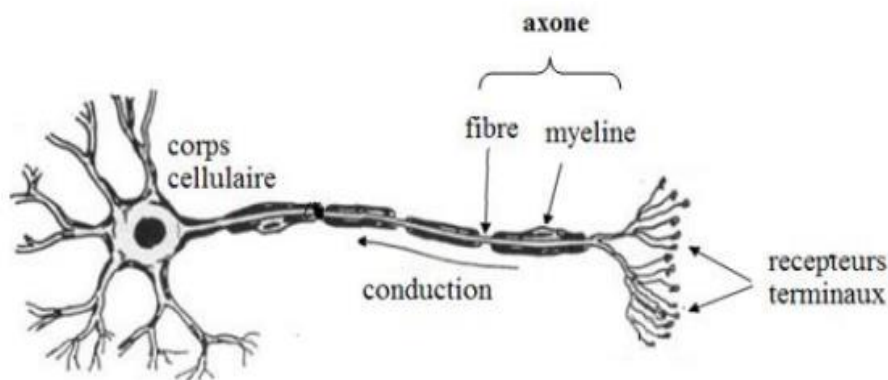


Figure I.B .5 : Représentation d'une cellule nerveuse (Fergoug, 2010).

Ces terminaisons prolongent l'axone, une structure cylindrique de diamètre variable, souvent entourée d'une gaine de myéline, qui assure une conduction rapide de l'influx nerveux. La membrane des fibres nerveuses est composée d'une bicouche phospholipidique dans laquelle s'insèrent des protéines transmembranaires, notamment des canaux ioniques voltage-dépendants comme les canaux sodiques. Ces derniers permettent les échanges d'ions Na^+ et K^+ , essentiels à la génération et à la propagation du potentiel d'action. La transmission de l'influx nerveux repose sur des variations du potentiel de membrane provoquées par des mouvements ioniques entre un milieu intracellulaire riche en K^+ et un milieu extracellulaire riche en Na^+ . Les anesthésiques locaux (ALs) exercent leur effet analgésique en inhibant cette transmission au niveau des fibres sensibles. Ils agissent principalement en bloquant de manière réversible les canaux sodiques, ce qui empêche l'entrée des ions Na^+ , inhibe la dépolarisation membranaire, et par conséquent, bloque la formation et la propagation du potentiel d'action. Les ALs pénètrent dans la fibre nerveuse sous leur forme basique non ionisée, liposoluble, qui diffuse à travers la membrane neuronale. À l'intérieur de la cellule, cette forme entre en équilibre avec la forme ionisée (cationique) laquelle est responsable du

blocage des canaux sodiques. Le site de liaison de l'AL est situé à l'intérieur du canal sodique, près de l'ouverture intracellulaire (**Yarov-Yarovoy et al., 2001**). Ce site comprend une région hydrophobe qui interagit avec la partie lipophile de la molécule anesthésique, et une région hydrophile avec laquelle l'amine quaternaire entre en contact. Il a également été suggéré que la forme non ionisée des ALs puisse contribuer à leur action en interagissant directement avec la bicouche lipidique de la membrane, modifiant la conformation des protéines membranaires (**Butterworth et Strichartz, 1990**), en induisant des altérations conformationnelles (figure I.B.6).

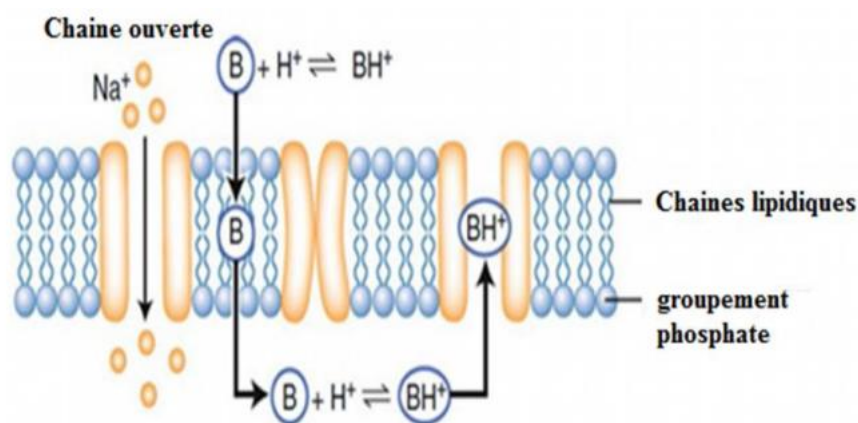


Figure I.B.6: Action d'un anesthésique local sur les canaux sodiques (**Rathmell et al., 2004**).

I.B.7. Mode d'administration des anesthésiques locaux

I.B.7.1. Anesthésie de surface

Les anesthésiques topiques sont des anesthésiques locaux appliqués sur les surfaces corporelles (peau, muqueuses, œil, gorge, etc.) afin d'y induire une anesthésie locale transitoire. Ils se divisent principalement en deux classes : esters et amides. Les esters sont rapidement métabolisés par la cholinestérase plasmatique et d'autres estérases non spécifiques, tandis que les amides subissent une métabolisation hépatique via des enzymes microsomiales. D'un point de vue clinique, les réactions allergiques sont plus fréquemment associées aux esters, tandis qu'elles sont rares avec les amides, ce qui en

fait une classe plus sécurisée pour une utilisation prolongée ou répétée (**Kluger *et al.*, 2011; Becker et Reed, 2012**)

I.B.7.2. Anesthésie d'infiltration

Les anesthésiques locaux (ALs) peuvent être administrés par voie intradermique ou sous-cutanée pour obtenir un effet analgésique immédiat, dont la durée dépend du type d'AL utilisé. Le volume d'injection est ajusté en fonction de la surface chirurgicale à anesthésier, tout en respectant rigoureusement les doses maximales recommandées afin de limiter les risques de toxicité. À titre d'exemple, les doses maximales sont de 400 mg pour la lidocaïne et 150 mg pour la bupivacaïne. Les anesthésiques les plus puissants, en raison de leur potentiel toxique, sont rarement utilisés par cette voie, sauf à des concentrations très faibles pour réduire le risque d'effets indésirables systémiques.

I.B.7.3. Anesthésie de conduction

Elle se fait par injection au voisinage d'un nerf ou d'un tronc nerveux (cervical, brachial, lombaire, ou sacral) ou de ganglions vertébraux postérieurs ou encore de nerfs spinaux paravertébraux (la rachianesthésie ou l'anesthésie péridurale).

I.B.8. Effets indésirables et Toxicité des anesthésiques locaux

Bien que les anesthésiques locaux (ALs) soient généralement considérés comme sûrs et efficaces, ils peuvent provoquer des effets indésirables dépendant de plusieurs facteurs : dose injectée, vitesse et site d'administration, état du patient et traitements associés (**Tucker *et al.*, 1972**). Les ALs à longue durée d'action deviennent toxiques lorsque leur concentration plasmatique dépasse certains seuils : 3–5 mg/L pour la bupivacaïne racémique, 5–6 mg/L pour la lévobupivacaïne et 5–8 mg/L pour la ropivacaïne (**Stewart *et al.*, 2003**) . La liposolubilité accrue liée à la structure moléculaire augmente à la fois leur puissance et leur potentiel toxique. La toxicité des ALs concerne d'abord le système nerveux central, puis le système cardiovasculaire à des doses plus élevées. Certains, comme la bupivacaïne, présentent également une toxicité musculaire, notamment au niveau oculaire (**Freysz *et al.*, 1988 ; Zink et Graf, 2004**) .

I.B.8.1. Réactions allergiques

Les patients évoquent fréquemment une allergie aux anesthésiques locaux (ALs), bien que celle-ci soit en réalité rare avec les ALs de type amide. En revanche, les ALs de type ester, dérivés de l'acide para-aminobenzoïque tels que la procaïne, la chloroprocaïne ou la tétracaïne sont davantage associés à des réactions allergiques. Ces réactions peuvent notamment être dues à une allergie croisée avec certains conservateurs présents dans les solutions contenant de l'adrénaline (**Warrington et McPhillips, 1997**). Il existe cependant quelques cas exceptionnels d'allergie aux ALs de type amide, comme la lidocaïne ou la bupivacaïne, rapportés par **Cuesta-Herranz et al (Cuesta-Herranz *et al.*, 1997)**.

I.B.8.2. Manifestations cutanées

Les rares réactions cutanées observées sont principalement attribuées aux conservateurs présents dans les formulations, et plus rarement aux solvants ou aux agents lubrifiants. Quelques cas d'eczéma ont également été signalés à la suite de l'utilisation d'anesthésiques locaux de type ester, tels que la procaïne ou la tétracaïne.

I.B.8.3. Nécrose

L'injection rapide d'un volume important d'anesthésique local (AL) trop froid, associé à une concentration élevée en vasoconstricteur, peut provoquer une nécrose, en particulier chez les patients diabétiques. Bien que de nombreuses complications aient été rapportées avec les anesthésiques locaux de type ester, ce sont majoritairement ceux de la famille des amides qui sont utilisés en pratique courante. Des recherches relativement récentes ont porté sur les propriétés physicochimiques des ALs et sur leur capacité à former des complexes d'inclusion avec les cyclodextrines (CDs), dans le but de mieux comprendre leur comportement (**Brandariz *et al.*, 2013**). Ces travaux ont notamment mis en évidence que l'efficacité de la complexation varie significativement selon l'état de protonation des molécules, un paramètre déterminant dans l'administration des ALs, comme l'ont souligné **Brandariz et Iglesias, 2013**. Dès lors, le choix judicieux de l'excipient, de la méthode d'encapsulation, ainsi que des

techniques de caractérisation appropriées, s'avère essentiel pour mener une étude complète sur la complexation des ALs par les CDs.

Chapitre II :
Matériels et méthodes

Chapitre II : Matériels et méthodes

II.1. Méthode de caractérisation à l'état solide

II.1.1. Calorimétrie à Balayage différentielle (DSC)

La calorimétrie différentielle à balayage DSC : Differential Scanning Calorimetry en anglais) est une technique permettant d'étudier les transitions thermiques des matériaux. On peut ainsi détecter la transition vitreuse, la cristallisation et la fusion.

II.1.1.1. Principe de la méthode

La méthode repose sur la mesure de la différence de flux de chaleur (ou puissance thermique) entre un échantillon et une référence inerte, en fonction de la température ou du temps, pendant qu'ils sont soumis à un programme thermique contrôlé (généralement un échauffement ou un refroidissement à vitesse constante).

En pratique, Il y a deux récipients scellés. Dans l'un on dispose l'échantillon et l'autre laisser vide le récipient de référence. Les deux récipients se trouvent dans un four qui permet de monter régulièrement en température. Chaque récipient contient un thermocouple relié à un ordinateur qui fait la différence entre la température de l'échantillon et celle de référence, et les convertit en flux de chaleur (figure II.1).

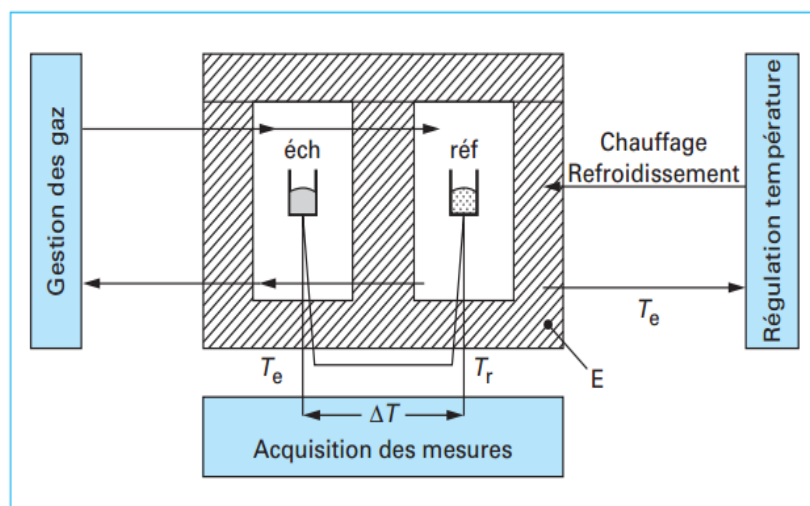


Figure II.1 : Principe de l'analyse par DSC (Lu,2016)

Le flux de chaleur à une température donnée est calculé en unités de chaleur q par unité de temps t . La vitesse de chauffage est l'augmentation T de la température par unité de temps t .

En Divisant le flux de chaleur q/t par la vitesse de chauffage T/t . Nous obtenons la capacité de chaleur.

$$\frac{\text{Chaleur}}{\text{Temps}} = \frac{q}{t} = \text{Flux de Chaleur} \quad (\text{II .1})$$

$$\frac{\text{Augmentation de la temerature}}{\text{Temps}} = \frac{\delta T}{t} = \text{Vitesse de chauffage} \quad (\text{II .2})$$

$$\frac{\frac{q}{t}}{\frac{\delta T}{t}} = \frac{q}{\delta T} = Cp = \text{Capacité de chaleur} \quad (\text{II .3})$$

II.1.1.2. Détermination de la capacité thermique.

La capacité calorifique à pression constante, C_p , est l'une des grandeurs thermodynamiques les plus importantes, car elle permet d'avoir accès aux variations d'enthalpies en fonction de la température pour une phase donnée. Elle s'exprime en ($\text{J.K}^{-1}.\text{Kg}^1$) où éventuellement en $\text{J.K}^{-1}.\text{mol}^{-1}$ (capacité thermique molaire) (**Morgant et al., 1987**).

Elle est définie par l'expression suivante (où H est la fonction d'enthalpie) :

$$Cp = \frac{1}{m} \cdot \left(\frac{\partial H}{\partial T} \right) p \quad (\text{II .4})$$

En l'absence de toute réaction, une programmation linéaire de la température entraîne une variation linéaire du flux de chaleur échangé entre le four et chacun des creusets vides

Les courbes DSC obtenues en fonction de la température de chauffage présentent une série de pics dirigés vers le haut (exothermiques) ou vers le bas (endothermiques) par rapport à l'axe du flux de chaleur (figure II.2). La position et le nombre de ces pics sur l'axe des températures permettent d'identifier qualitativement le matériau analysé. L'aire sous chaque pic est proportionnelle à la chaleur impliquée dans un processus thermique, ce qui permet de calculer les enthalpies de réaction, de transition, de fusion ou de cristallisation. Dans certains cas, il est également possible d'extraire des informations sur la cinétique des réactions à partir de l'analyse des courbes DSC.

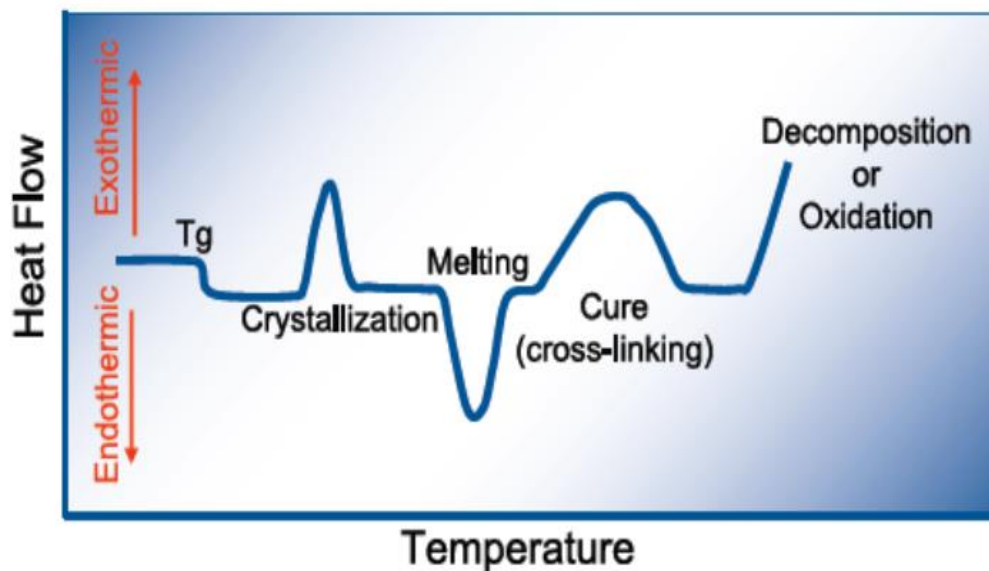


Figure II.2 : Courbe DSC typique d'un polymère (John P. Kummer AG n.d.)

II.1.1.3. La température de transition vitreuse

Sur le plan des propriétés physiques, la température de transition vitreuse (T_v , anglais : T_g pour *glass*) correspond à l'intervalle de température au cours duquel un matériau passe d'un état caoutchouteux à un état vitreux, rigide. En dessous de T_g , le matériau adopte un comportement typique d'un solide vitreux : il est rigide et présente une élasticité propre aux solides. Au-dessus de cette température, il devient viscoélastique, adoptant un comportement plastique en raison de l'affaiblissement des forces intermoléculaires, notamment les forces de Van der Waals.

II.1.1.4. La Cristallisation

Au-dessus de la transition vitreuse, le matériau est très mobile. Quand la température augmente, il gagne assez d'énergie pour entrer dans des arrangements très ordonnés correspondant à un état thermodynamique plus stable appelé des cristaux. Cette structure cristalline en expulsant de la chaleur (exothermique) comme illustré sur la courbe du flux de chaleur en fonction de la température (figure II.3).

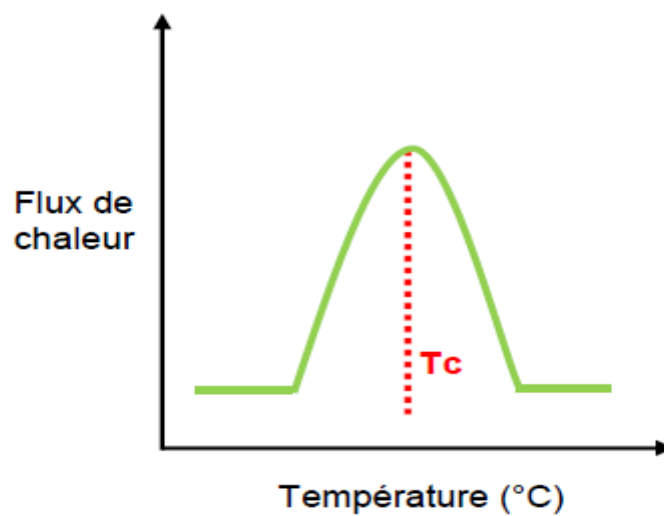


Figure II.3: Détermination graphique de la température de cristallisation

II.1.1.5. La Fusion

Si nous continuons à chauffer le matériau après son point de cristallisation T_c , nous atteindrons une autre transition thermique appelée fusion. Il existe une chaleur latente de fusion aussi bien qu'une chaleur latente de cristallisation. Quand les cristaux fondent, ils ont besoin d'absorber de la chaleur (endothermique). Sachant que la fusion est une transformation du premier ordre. Cela signifie que lorsque l'on atteint la température de fusion, la température du matériau ne s'élèvera pas tant que tous les cristaux n'aient pas fondus. Cette absorption de chaleur pendant la fusion apparaît sous la forme d'un grand creux sur la courbe de DSC (figure II.4). Puisque nous devons

donner de l'énergie au matériau pour le faire fondre, la fusion est une transition endothermique comme le montre la figure suivante

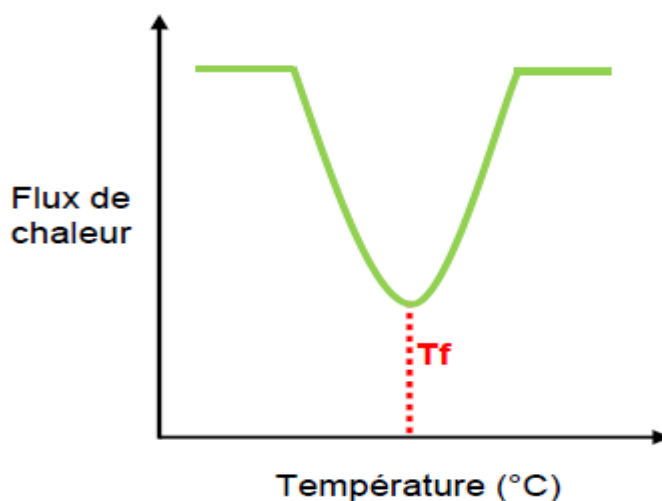


Figure II.4 : Détermination graphique de la température de fusion

II.1.1.6. Application de la DSC

II.1.1.6.1. Etude du complexe

La mise en évidence de la formation des complexes se fait par une série de méthode dont généralement, la spectrométrie de résonance magnétique nucléaire constitue l'outil le plus utilisé. Néanmoins l'Analyse Calorimétrique DSC est aussi adaptées (**Farcas et al., 2006**) .

La formation des complexes d'inclusion peut être vérifiée par cette technique, par l'étude de l'effet thermodynamique résultant de la présence de la molécule invitée. Néanmoins, cette technique est limitée aux composés ayant une température de fusion et d'ébullition en dessous de celle de dégradation de la cyclodextrine. Il a été observé que la formation des complexes cyclodextrine-molécules invitées provoque la diminution du pic endothermique de fusion de la molécule invitée (cas d'un mélange physique), et sa disparition dans le cas d'une complexation complète (**Farcas et al., 2006**) . L'étude par DSC de la formation du complexe d'inclusion entre le valsartan et la méthyl- β -cyclodextrine réalisée par Pravin et coll (**Pravin 2009**), montre que l'intensité du pic endothermique à 115°C relatif au point de fusion du valsartan diminue

quand la molécule est en présence de la cyclodextrine, ce qui montre bien la formation d'un complexe d'inclusion (figure II.5).

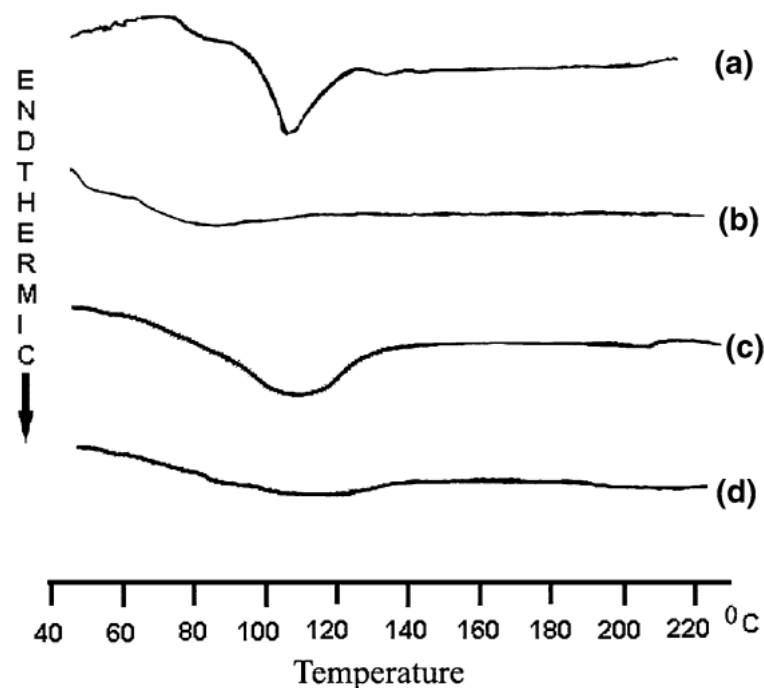


Figure II.5: DSC (a) du valsartan, (b) de la Me- β -CD, (c) du mélange physique Me- β -CD / valsartan, (d) du complexe d'inclusion Me β -CD / valsartan préparé par co-évaporation (Pravin *et al.*, 2009).

II.1.1.6.2. Etude des cycles thermiques polymorphisme

Le polymorphisme est la capacité d'un composé solide à exister sous plusieurs formes cristallines distinctes, bien qu'ayant la même composition chimique. Ces formes polymorphes diffèrent par leur organisation spatiale et liaisons intermoléculaires, ce qui entraîne des propriétés physiques variées telles que la température de fusion, la solubilité, la densité ou encore la stabilité thermique (Byrn, 1982 ; Brittain, 1999) . Ce phénomène a des implications critiques, en particulier dans le domaine pharmaceutique, où il peut affecter la biodisponibilité, la stabilité, et la propriété brevetable d'un principe actif (Vippagunta, 2001). La calorimétrie différentielle à balayage (DSC) est l'une des techniques thermiques les plus couramment utilisées pour caractériser les formes polymorphes. Elle permet de détecter les événements thermiques liés aux transitions de

phase comme la fusion, la recristallisation, ou la transition solide-solide , grâce à la mesure des flux de chaleur associés à une variation de température (**Giron ,1995**).

L'analyse des cycles thermiques par calorimétrie différentielle à balayage (DSC) constitue un outil de choix pour l'étude du comportement polymorphe des solides cristallins. Elle permet de détecter, caractériser et comparer les transitions de phase propres à chaque forme polymorphe, tout en fournissant des informations précieuses sur leur stabilité thermique. L'application de cycles thermiques successifs permet notamment de distinguer les transitions réversibles des irréversibles et d'optimiser les conditions de transformation entre formes stables et métastables. Cette approche est particulièrement pertinente dans les domaines pharmaceutique, agroalimentaire et des matériaux, où le contrôle du polymorphisme est essentiel pour garantir la qualité et la performance des produits finis.

II.1.1.7. Utilité de la DSC dans l'étude du polymorphisme

La DSC permet une analyse directe des transitions polymorphes au sein d'un cycle thermique contrôlé, et apporte plusieurs avantages :

- **Identification des formes polymorphes** : Chaque forme cristalline présente une signature thermique unique, identifiable par sa température et son enthalpie de fusion. Cela permet de différencier et de caractériser les polymorphes (**Burger et Ramberger, 1979**)
- **Détermination des plages de stabilité** : Les transitions polymorphes (endothermiques ou exothermiques) apparaissent à des températures spécifiques, ce qui aide à établir la stabilité thermique relative de chaque forme (**Giron, 1995**).
- **Détection des transitions réversibles/irréversibles** : En réalisant plusieurs cycles de chauffage-refroidissement, la DSC permet d'évaluer la réversibilité des transformations (par exemple : forme A $\rightarrow$ forme B, puis B $\rightarrow$ A) (**Mahato and Narang, 2017**) .
- **Étude de l'impact de la vitesse de chauffage/refroidissement** : Des vitesses différentes peuvent favoriser la formation de formes métastables ou empêcher certaines transitions, ce qui est crucial pour le contrôle industriel (**Giron ,2002**) .

- **Contrôle de pureté et détection de mélanges polymorphes** : La présence de plusieurs pics ou anomalies dans la courbe DSC peut révéler un mélange de polymorphes, ou des phases de transition intermédiaires.

II.1.1.8. Paramètres expérimentaux à suivre lors de l'analyse par DSC

- **Températures de début et de fin** du cycle.
- **Vitesse de chauffage et de refroidissement** (généralement entre 5 et 20 °C/min).
- **Nombre de cycles** (pour observer la reproductibilité et la stabilité des formes).
- **Chaleurs de transition (ΔH)** mesurées (fusion, recristallisation, etc.).
- **Atmosphère gazeuse** (air, azote, argon) pouvant influencer les résultats.
- **Masse et préparation de l'échantillon**, qui doivent rester constantes pour assurer la comparabilité.

II.1.1.9. Le degré relatif de cristallinité (RCD)

Le degré relatif de cristallinité du médicament (RCD) dans les échantillons calculés selon l'équation suivante :

$$RCD = \frac{\Delta H_{sample}}{\Delta H_{drug}} \times 100\% \quad (II.5)$$

ΔH_{sample} et ΔH_{drug} sont respectivement, la chaleur de fusion de l'échantillon et du médicament cristallin, normalisés par rapport au médicament contenu dans l'échantillon. Les mesures ont été effectuées en triplicat. Et l'écart-type relatif des données de cristallinité était d'environ $\pm 4-5\%$.

II.1.2. Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier (FT-IR)

La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FT-IR) est une technique d'analyse structurale qui vient en complément de la diffraction des rayons X. Elle repose sur l'absorption des radiations infrarouges, due aux changements des états vibratoires et rotationnels des liaisons moléculaires, ce qui permet d'identifier des groupements atomiques spécifiques. Cette méthode est particulièrement performante pour

l'identification de composés organiques et l'analyse de structures minérales. L'interprétation des spectres FT-IR se fait généralement en comparant les résultats obtenus avec des spectres de référence issus de la littérature, en particulier ceux correspondant à des molécules isolées.

II.1.2.1. Principe de la méthode

La spectroscopie infrarouge est une technique d'analyse quantitative permettant d'identifier les groupements fonctionnels présents dans une molécule organique à partir des bandes de vibration ou de rotation des liaisons chimiques (**Chavanne *et al.*, 1991**). Elle repose sur l'absorption, par l'échantillon, de radiations électromagnétiques dans le domaine infrarouge, généralement compris entre 1 et 50 μm . En pratique, seule la zone moyenne de l'infrarouge, correspondant à des nombres d'onde allant de 400 à 4000 cm^{-1} , est couramment analysée. Cette région fournit des informations précieuses sur la structure et la conformation des molécules, notamment en ce qui concerne les fonctions impliquées dans les phénomènes d'adsorption, à travers les variations de fréquence des vibrations de certains groupements fonctionnels, présents dans le polymère ou à sa surface. On distingue principalement deux types de vibrations : les vibrations d'élongation (ou *stretching*), qui se produisent le long de l'axe de la liaison, et les vibrations de déformation (ou *bending*), qui modifient l'angle entre deux liaisons adjacentes, dans ou hors du plan. Ces deux types de vibrations peuvent être symétriques ou asymétriques. Le domaine infrarouge correspondant aux énergies de vibration des liaisons moléculaires est classiquement divisé en trois zones :

- Proche infrarouge : $\lambda = 0,8$ à $2,5 \mu\text{m}$ (ou $\nu = 4000$ à 12500 cm^{-1}).
- Moyen infrarouge : $\lambda = 2,5$ à $25 \mu\text{m}$ (ou $\nu = 400$ à 4000 cm^{-1}).
- Lointain infrarouge : $\lambda = 25$ à $1000 \mu\text{m}$ (ou $\nu = 10$ à 400 cm^{-1}).

II.1.2.2. Appareillage

L'analyse est réalisée à l'aide d'un spectromètre à transformée de Fourier, qui projette un rayonnement infrarouge sur l'échantillon afin de mesurer les longueurs d'onde et les intensités d'absorption. Le schéma d'un tel spectromètre est illustré dans la figure II.6. Le faisceau infrarouge émis par la source est dirigé vers un interféromètre

de Michelson, où il est divisé en deux par un séparateur de faisceau : une partie est envoyée vers un miroir fixe, l'autre vers un miroir mobile. Lorsque les deux faisceaux sont recombinaés, des interférences sont générées en fonction de la position du miroir mobile. Le faisceau modulé ainsi obtenu traverse ensuite l'échantillon, où certaines longueurs d'onde sont absorbées, avant d'atteindre le détecteur. Ce dernier transforme le signal lumineux en signal électrique, qui est ensuite converti en données numériques. Le spectromètre FT-IR est constitué de cinq éléments principaux : une source infrarouge, un interféromètre, un compartiment d'analyse pour l'échantillon, un détecteur photosensible, et un convertisseur analogique-numérique.

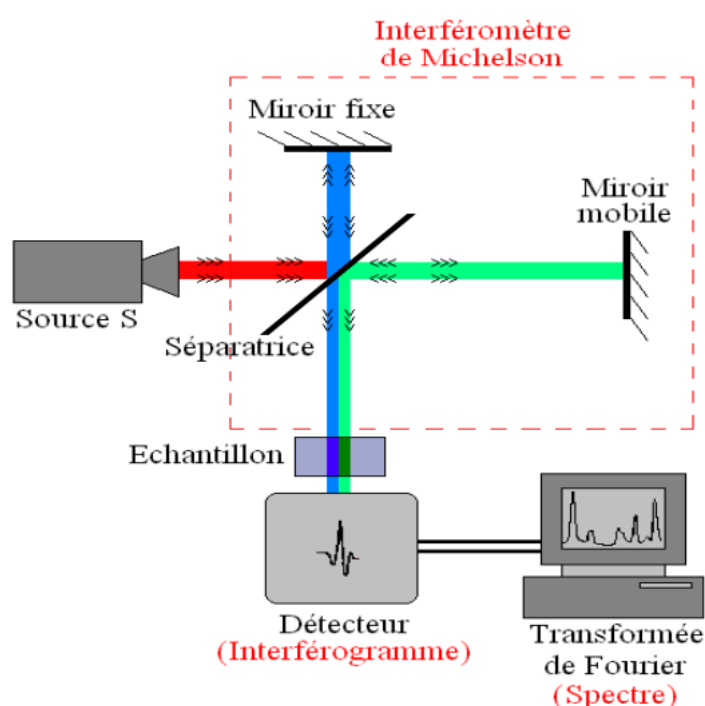


Figure II.6 : Schéma d'un spectromètre à transformée de Fourier (FT-IR).

L'interféromètre de Michelson est encadré en pointillés rouge (Kouadio, 2014)

II.1.2.3. Etude du complexe d'inclusion cyclodextrine/médicament

L'étude des complexes d'inclusion entre les cyclodextrines et les médicaments par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FT-IR) constitue une méthode puissante pour confirmer la formation de tels complexes et analyser les interactions moléculaires impliquées (Bratu *et al.*, 2005). Cette technique permet de détecter les

modifications des vibrations moléculaires qui accompagnent la formation du complexe d'inclusion. En comparant les spectres FT-IR du médicament pur, de la cyclodextrine seule, de leur mélange physique et du complexe préparé, on peut observer des déplacements des bandes caractéristiques, notamment celles correspondant aux vibrations d'élongation des groupes carbonyle (C=O) ou hydroxyle (O-H). Ces déplacements indiquent généralement des interactions spécifiques entre le médicament et la cyclodextrine. Par ailleurs, des modifications d'intensité, observe la disparition de certaines bandes, suggèrent une inclusion du médicament dans la cavité de la cyclodextrine, altérant ainsi son environnement chimique.

À titre d'exemple, une étude portant sur le complexe formé entre gliclazide (GLC) et β CD, préparé par une méthode de précipitation (**Soltani, 2019**), a montré des modifications notables des bandes caractéristiques du gliclazide dans le spectre FT-IR (figure II.7), indiquant des interactions avec la β CD .

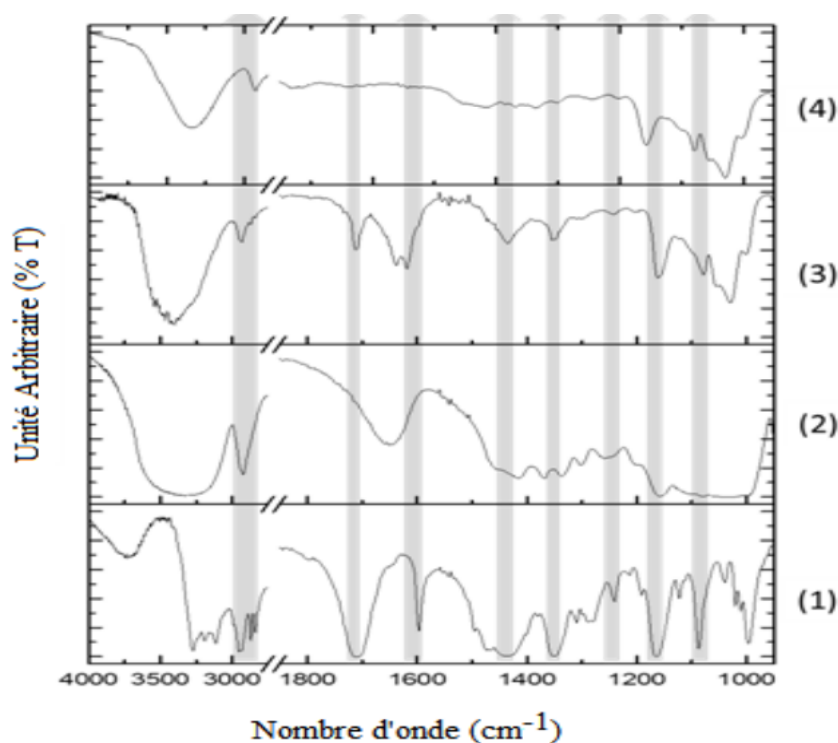


Figure II.7: Spectres FT-IR de (1) GLC, (2), β CD, (3) C1:1 et (4) C1:2 (**Soltani, 2019**).

II.2. Méthode de caractérisation a l'état liquide

II.2.1. Spectrophotométrie UV-visible

La spectrophotométrie UV-visible est une méthode d'analyse quantitative qui permet de mesurer l'absorbance (ou densité optique) d'une substance, généralement en solution. Selon la loi de Beer-Lambert, plus la concentration de l'échantillon est élevée, plus l'absorption de la lumière est importante, dans les limites de la proportionnalité. La mesure de l'absorbance est réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre, préalablement étalonné à la longueur d'onde correspondant au maximum d'absorption de la substance analysée (figure II.8).

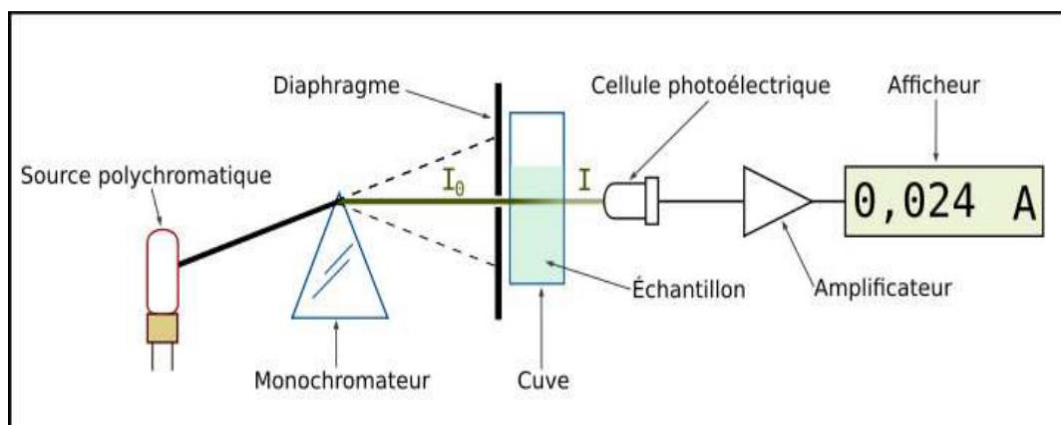


Figure II.8 : Principe du spectrophotomètre UV-visible monofaisceau (H. Kim hamilton,2003)

II.2.1.1. Analyse quantitative

Les spectromètres UV/Visible permettent d'obtenir le spectre des composés examinés sous la forme d'un tracé de la transmittance (T), ou de l'absorbance (A), en fonction des longueurs d'onde repérées en abscisses, en nanomètres.

L'absorption est plus ou moins importante selon le nombre de groupements d'atomes placés sur le trajet de la lumière : des lois connues relient cette absorption à ce nombre dans certaines conditions opératoires. Ce sont les lois de Lambert et de Beer

II.2.1.2. Absorption de la lumière (loi de Beer-Lambert)

Lambert, Beer et Bourgeur ont montré que la proportion de lumière incidente absorbée par un milieu transparent est dépendante de l'intensité de la lumière de la concentration et de l'épaisseur du milieu traversé (figure II.9) selon l'équation suivante :

$$I_t = I_0 e^{-kCl} \quad (\text{II .6})$$

avec I_0 : intensité du faisceau incident monochromatique ;

I_t : intensité de la lumière après passage à travers une épaisseur l du milieu (ou intensité transmise) ;

l : longueur du chemin parcouru par la lumière dans le milieu.

k : est le coefficient d'absorption molaire (ou spécifique) de la substance qui dépend de la longueur d'onde de la lumière, de la température et de la nature du corps dissous et du solvant.

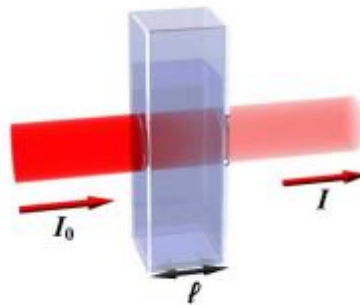


Figure II.9: Absorption de la lumière traversant un milieu homogène.

En introduisant le logarithme, on obtient la densité optique ou l'absorbance de la solution selon l'expression suivante :

$$A = \log_{10} \frac{I_0}{I_t} = \frac{1}{2,303} kCl = \epsilon Cl \quad (\text{II .7})$$

Avec $\epsilon = k / 2.303$ et c le nombre de particules par unité de volume. Quelques autres définitions sont également utilisées :

La **relation de Beer-Lambert** décrit que, à une longueur d'onde λ donnée, l'absorbance d'une solution est proportionnelle à sa concentration, et à la longueur du trajet optique (distance sur laquelle la lumière traverse la solution). Alors, pour une solution limpide contenant une seule substance absorbante :

$$A_{\lambda} = \epsilon l C \quad (\text{II.8})$$

Selon la loi de Beer-Lambert, l'absorbance est additive (mais non la transmittance). Ainsi, pour une solution contenant plusieurs substances absorbantes, l'absorbance de la solution est la somme de leurs absorbances. Pour n substances absorbantes :

$$A_{\lambda} = \sum \epsilon l C = \epsilon l C_1 + \epsilon l C_2 + \epsilon l C_3 \quad (\text{II.9})$$

On parle aussi de transmittance définie par la relation :

$$T = \frac{I}{I_0} \quad (\text{II.10})$$

C'est-à-dire que
$$A = -\log T \quad (\text{II.11})$$

$$A = \log \left(\frac{I_0}{I} \right) \quad (\text{II.12})$$

L'absorbance est une valeur positive, sans unité. Elle est d'autant plus grande que l'intensité transmise est faible.

II. 2.1.3. Principe physique

La lumière peut être considérée comme un flux de photons d'énergie $W = h\nu$ (h = constante de Planck ; $\nu = c/\lambda$ = fréquence). Les fréquences des ondes formant la lumière blanche varient de 450 à 750 nm et celle du domaine ultraviolet (UV) varient de 185 à 380 nm environ, comme le montre la figure II.10 du spectre électromagnétique totale.

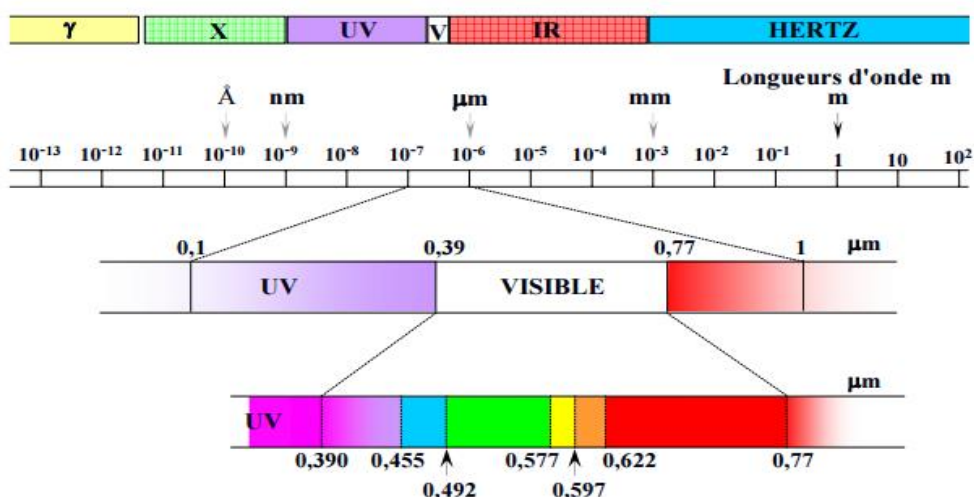


Figure II.10 : *Domaine spectral du rayonnement électromagnétique*

Si le photon rencontre un atome, il peut le faire passer de l'état fondamental à un de ces états excités, à condition que l'énergie incidente soit égale à la différence d'énergie entre les niveaux électroniques de l'atome concerné. Les fréquences des photons absorbés sont donc caractéristiques de la structure électronique de l'atome. Dans le cas d'une molécule, l'absorption du flux de photons peut concerner les électrons libres des atomes et les électrons engagés dans différents types de liaisons.

➤ Absorption dans le cas gazeux

Pour les nombreuses molécules gazeuses qui absorbent dans l'UV-VIS, les spectres obtenus sont une véritable empreinte digitale de ces molécules, si le spectromètre a une résolution suffisante. On peut donc les reconnaître facilement, même dans un mélange, comme le montrent les spectres de la (figure II.11).

➤ Absorption dans le cas liquide

Dans le cas des liquides et des solutions, les interactions moléculaires viennent masquer les structures fines observées pour les gaz. On ne retrouve alors que des bandes

plus ou moins larges qui peuvent rendre plus douteuse l'identification des molécules (figure II.11).

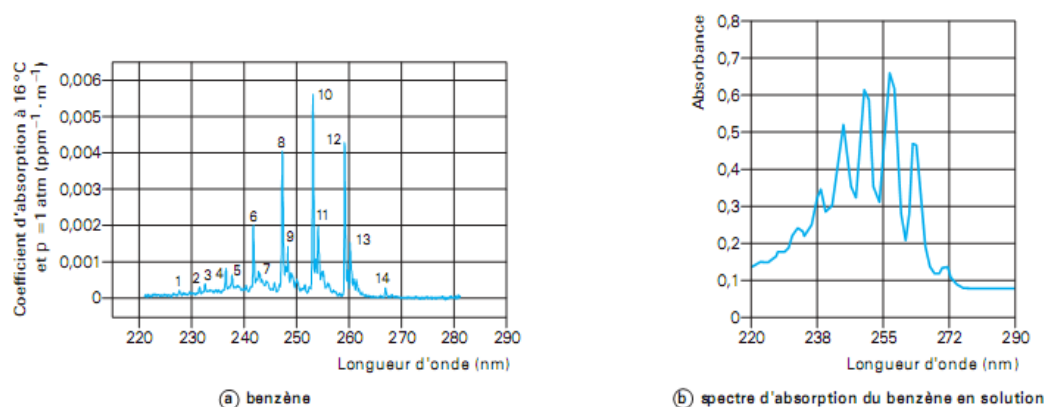


Figure II.11: Deux aspects différents des spectres rencontrés dans l'UV/Visible. Spectres du Benzène a) à l'état de vapeur (spectre présentant Une structure fine) ; b) en solution (spectre de bandes)

II.2.1.4. Les transitions électroniques

Les transitions électroniques correspondent au passage des électrons des orbitales moléculaires liantes et non liantes remplies, vers des orbitales moléculaires antiliantes non remplies. La longueur d'onde d'absorption dépend de la nature des orbitales mises en jeu. Le diagramme suivant illustre ceci pour des orbitales de type σ , π et n :

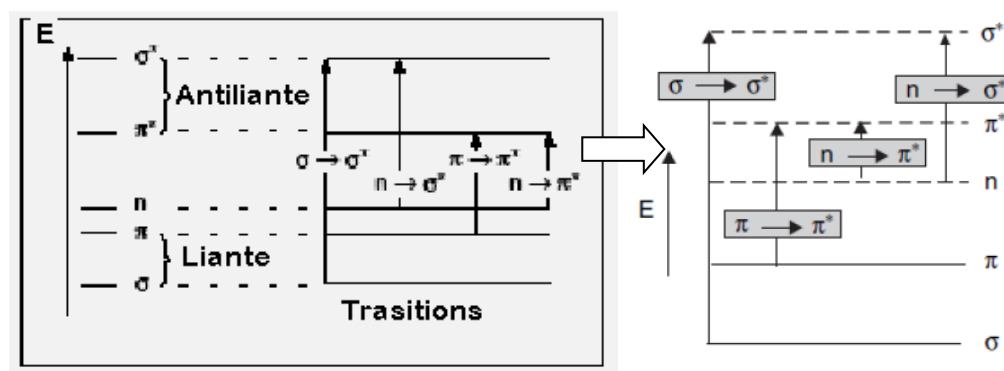


Figure II.12: Principales transitions électroniques

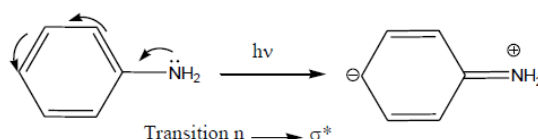
L'absorption d'un photon dans le domaine UV-visible peut souvent être attribuée à des électrons appartenant à de petits groupes d'atomes appelés chromophores ($C=C$, $C=O$, $C=N\dots$). La longueur d'onde d'absorption dépend de la nature des orbitales mises en jeu. Les différents types de transitions possibles au sein des molécules sont :

✓ **Transition $\sigma \rightarrow \sigma^*$**

La grande stabilité des liaisons σ des composés organiques fait que la transition d'un électron d'une OM liante σ vers une OM antiliante σ^* demande beaucoup d'énergie. La bande d'absorption correspondante est intense et située dans l'UV-lointain, vers 130 nm.

✓ **Transition $n \rightarrow \sigma^*$:**

Le saut d'un électron d'un doublet n des atomes (O, N, S, Cl) dans une OM σ^* conduit à une transition d'intensité moyenne qui se situe vers 180 nm pour les alcools, vers 190 nm pour les éthers ou les dérivés halogénés et vers 220 nm pour les amines.



✓ **Transition $n \rightarrow \pi^*$:**

Cette transition peu intense résulte du passage d'un électron d'une OM non liante de type n à une OM antiliante π^* . On la rencontre pour les molécules comportant un hétéroatome porteur de doublets électroniques libres et appartenant à un système insaturé. La plus connue est celle qui correspond à la bande carbonyle située entre 270 et 280 nm.

Exemple : Éthanal : $\lambda_{\max} = 293 \text{ nm}$ ($\epsilon = 12$, dans l'éthanol comme solvant).



✓ **Transition $\pi \rightarrow \pi^*$**

Cette transition résulte du passage d'un électron d'une OM π à une orbitale anti-liante π^* . Les composés qui possèdent une double liaison éthylénique isolée conduisent à une forte bande d'absorption vers 170 nm.



II. 2.1.5. Analyse qualitative

Le spectre UV ou visible ne permet pas l'identification d'un produit mais celle du groupement chromophore qu'il contient.

✓ **Groupements chromophores**

Certains groupes fonctionnels de molécules organiques et certains ions minéraux sont responsables d'une absorption importante (valeur de ϵ élevée) : ces groupements sont appelés Chromophores. Le tableau II .1 montre quelques « chromophores » et la fréquence $\lambda_{\max}$ correspondante au type d'excitation (la transition $\pi \rightarrow \pi^*$).

Le spectre observé est un spectre de bandes, résultant du chevauchement des différents spectres de raies relatifs à toutes les transitions électroniques, et des modifications de niveaux vibrationnels et rotationnels qui s'ajoutent aux transitions électroniques. La couleur d'une substance est en rapport avec la zone du spectre du visible qui est absorbée. Elle représente la partie complémentaire du spectre d'absorption de cette substance.

Tableau II.1 : Valeurs de $\lambda_{\max}$ et coefficient d'extinction ε pour quelques chromophores connus :

Chromophore	Exemple	Excitation	$\lambda_{\max}$, nm	E	Solvant
C=C	Ethylène	$\pi \rightarrow \pi^*$	171	15,000	Hexane
C $\equiv$ C	1-Hexyne	$\pi \rightarrow \pi^*$	180	10,000	Hexane
HC=O	Ethanal	$n \rightarrow \pi^*$	290	15	hexane
		$\pi \rightarrow \pi^*$	180	10,000	hexane
N=O	Nitromethane	$n \rightarrow \pi^*$	275	17	éthanol
		$\pi \rightarrow \pi^*$	200	5,000	éthanol
C-X X=Br	Methyl bromide	$n \rightarrow \sigma^*$	205	200	hexane
X=I	Methyl Iodide	$n \rightarrow \sigma^*$	255	360	hexane

II. 2.1.6. Effet de l'environnement sur les transitions

- **Effet bathochrome** : déplacement des bandes d'absorption vers les grandes longueurs d'onde.
- **Effet hypsochrome** : déplacement des bandes d'absorption vers les courtes longueurs d'onde.
- **Effet hyperchrome** : augmentation de l'intensité d'absorption.
- **Effet hypochrome** : diminution de l'intensité d'absorption.

Ces effets sont illustrés sur la figure suivante :

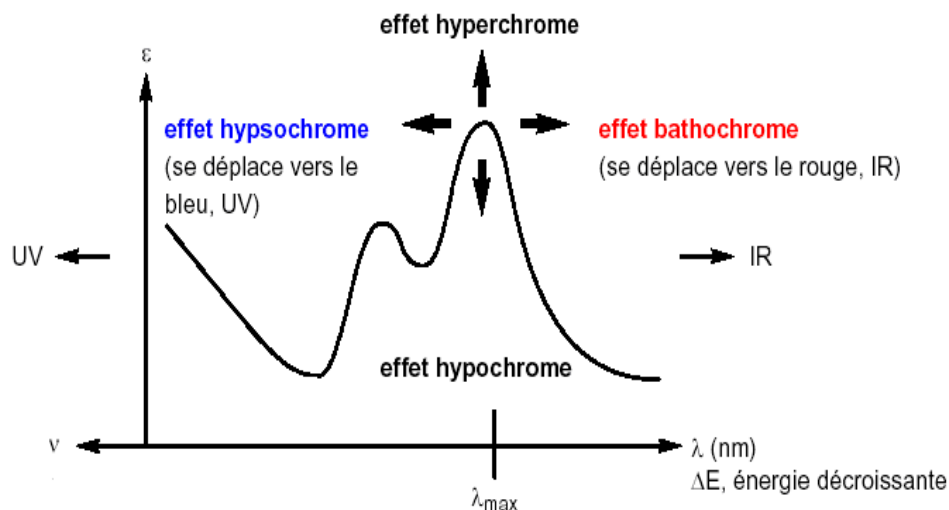
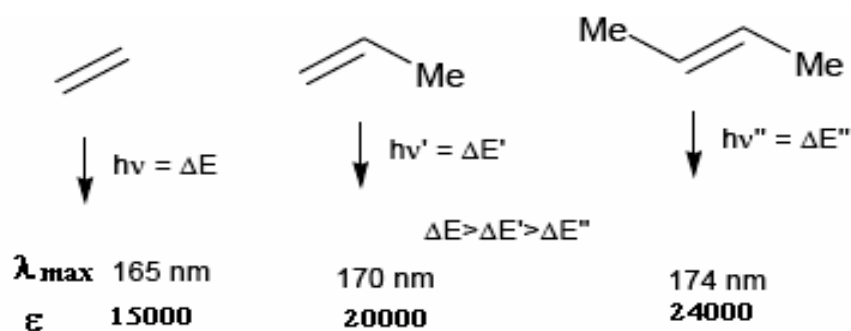


Figure II.13: Les différents effets des spectres UV-visible (Naili, 2010)

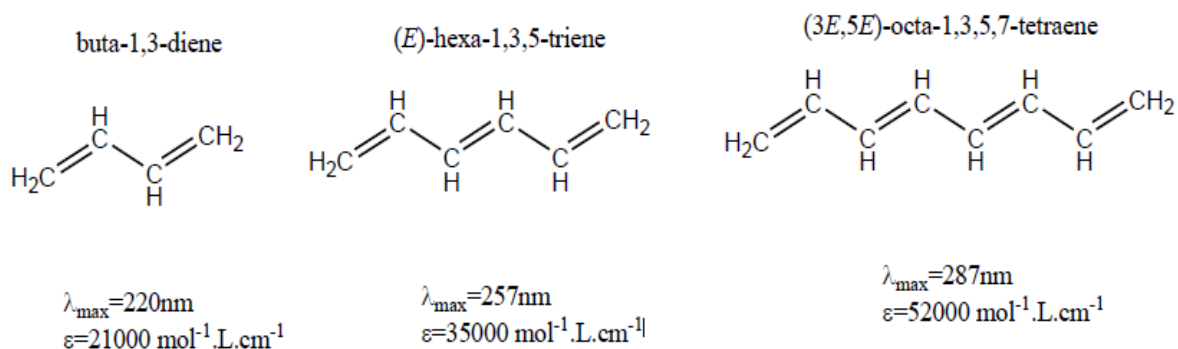
✓ Effet de la substitution

La position de la bande d'absorption dépend de la présence ou non de substituant sur le groupement chromophore. Par exemple, plus le groupe éthylénique est substitué, plus la bande d'absorption due à la transition $\pi \rightarrow \pi^*$ est déplacée vers le visible : effet bathochrome.



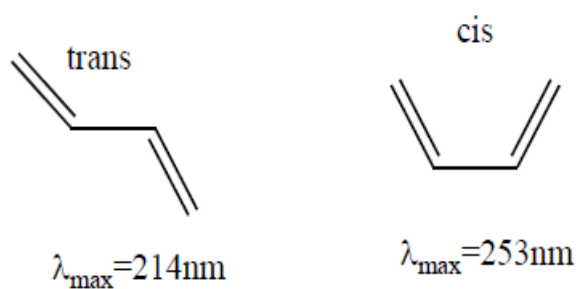
✓ Effet de la conjugaison

Dans une molécule, les effets de conjugaison (alternance de simples liaisons avec des doubles liaisons ou électrons non liants) entraînent une diminution de $\Delta E_{\pi \rightarrow \pi^*}$ (effet bathochrome) mais n'affecte pas $\Delta E_{\sigma \rightarrow \sigma^*}$. De plus, la probabilité de transition est plus grande, donc $\epsilon_{\max}$ augmente (effet hyperchrome).



✓ Effet de la conformation

La transition $\pi \rightarrow \pi^*$ du chromophore diénique a une énergie différente selon que la conformation est cis ou trans.



✓ Effet de solvant

La position, l'intensité et la forme des bandes d'absorption des composés en solution dépendent du solvant.

- **Cas de la transition $n \rightarrow \pi^*$:** Ex. du groupement carbonyle des fonctions cétones.

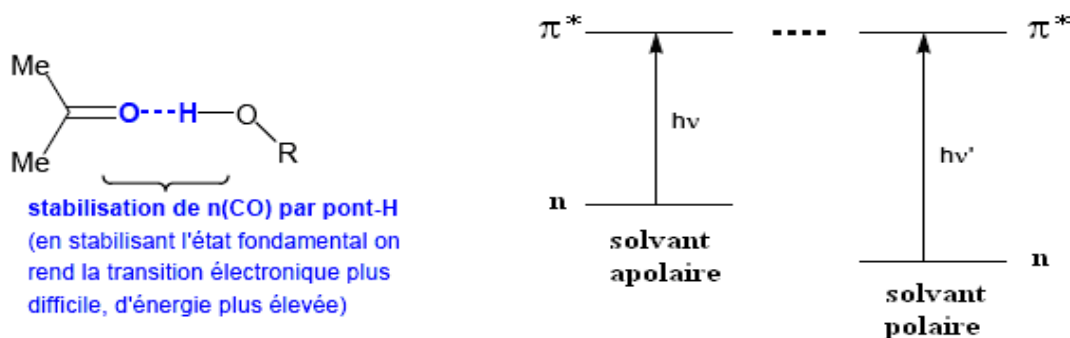


Figure II.14: Effet du solvant sur les transitions électroniques (Naili, 2010)

Avant l'absorption, la liaison $\delta^+\text{C}=\text{O}\delta^-$ est stabilisée par un solvant polaire. Il faut plus d'énergie pour provoquer la transition $\Rightarrow$ **λ diminue par augmentation de la polarité du solvant.**

➤ **Cas de la transition $\pi \rightarrow \pi^*$:** Si l'état excité est plus polaire que l'état fondamental, c'est la forme excitée qui est stabilisée par un solvant polaire. **ΔE diminue $\Rightarrow \lambda$ augmente par augmentation de la polarité du solvant.**

En résumé, l'étude du déplacement des bandes d'absorption par effet de la polarité des solvants peut aider à reconnaître la nature électronique des transitions observées (figure II.15).

Par augmentation de la polarité du solvant :

Transition $n \rightarrow \pi^*$: effet hypsochrome

Transition $\pi \rightarrow \pi^*$: effet bathochrome

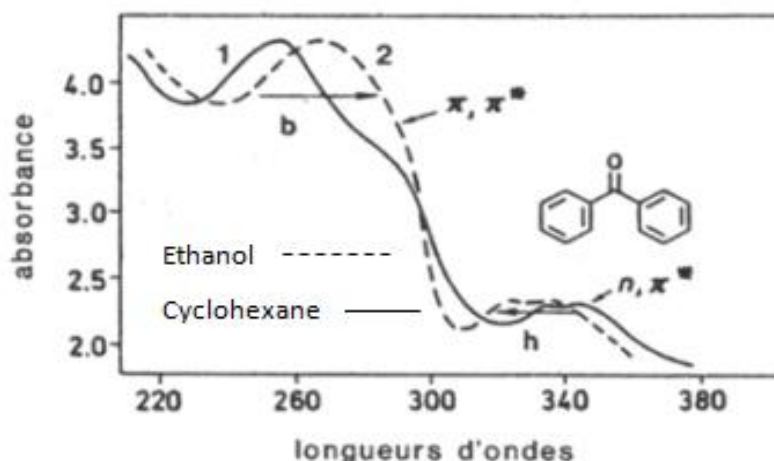


Figure II.15: Effet de solvant sur un spectre d'absorption (Thomas et Cerda ,2007)

✓ Effet de la taille

Une augmentation de la taille, conduit à un décalage du maximum vers le rouge ainsi qu'une augmentation de la largeur des pics (figure II.16).

Par exemple : Il a été démontré, que Le spectre d'absorption dépend directement de la taille et la forme des nanoparticules.

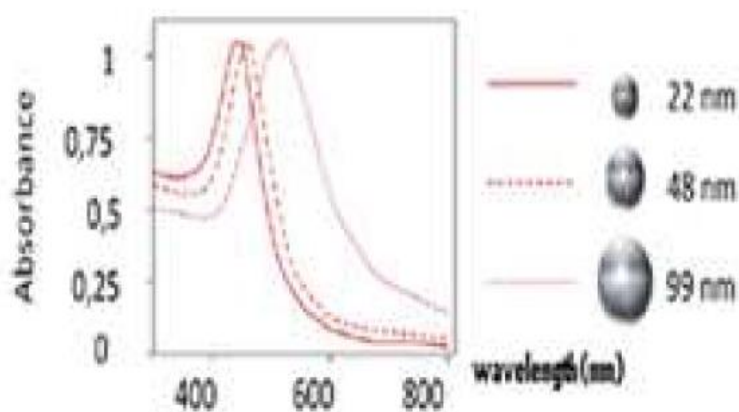


Figure II.16 : Déplacement du maximum vers les longueurs d'ondes les plus élevées ainsi qu'une Augmentation de la largeur des pics avec l'augmentation de la taille des nano sphères d'argents <https://teleensm.ummtto.dz/login/index.php>

II.2.1.7. Domaine spectral utilisé

Pour obtenir des résultats fiables, il faut s'assurer que l'on analyse bien l'échantillon souhaité. Cette remarque est une évidence : elle constitue pourtant une des principales limitations de la spectrométrie. Le faisceau incident peut en effet être absorbé par des éléments intermédiaires :

- La cuve : le verre absorbe la plus grande partie du spectre IR et le lointain UV,
- Par des fibres optiques (si l'appareil en comporte) à cœur de silice,
- Par l'oxygène de l'air : en dessous de 190 nm l'absorption par l'oxygène trouble systématiquement toutes les mesures,
- Par les impuretés sur le trajet de la lumière : la vapeur d'eau, le CO₂ atmosphérique parasitent la mesure sur les appareils à simple rayon,

II.2.1.8. Domaine de validité de la loi de Beer-Lambert

- ❖ Si ϵ et l sont donnés, l'absorbance est en principe proportionnelle à la concentration. Deux facteurs peuvent modifier cette proportionnalité : la concentration et la sensibilité du détecteur (figure II.17).
- ❖ Si la solution est trop concentrée, il peut y avoir des interactions soluté-solvant voire soluté-soluté.

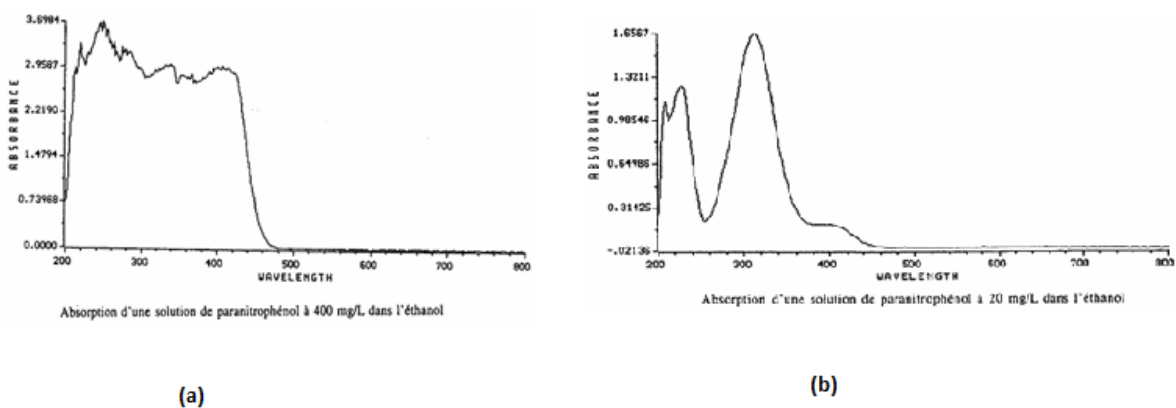


Figure II.17: Absorption d'une solution de paranitrophénol
 (a) saturation de l'appareil (b) pas de saturation de l'appareil
 (Thomas et Cerda, 2007)

- ❖ La loi n'est vérifiée que dans un domaine limité de l'absorbance, entre 0 et 2.

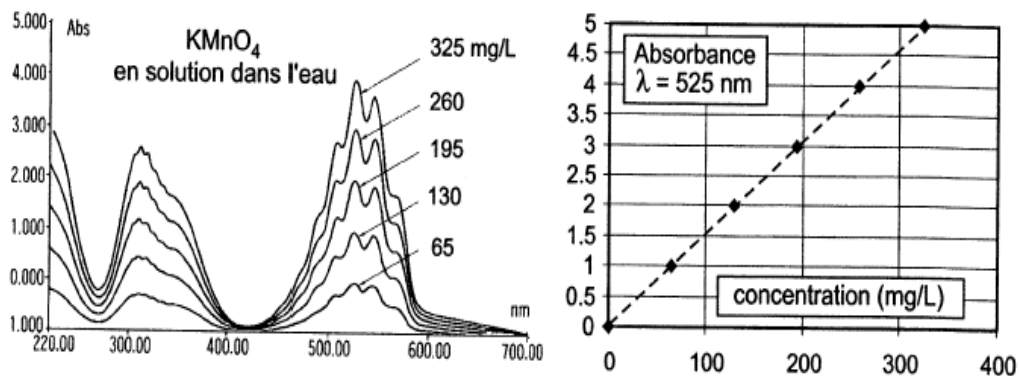


Figure II.18: Vérification de la loi de Beer Lambert

II. 2.1.9. Déviation de la loi de Beer-Lambert

De nombreux paramètres peuvent provoquer une déviation de la loi de **Beer-Lambert**. Celle-ci n'est plus vraie quand la concentration devient trop élevée, quand une réaction modifie la composition ou le pH, ou quand il reste des impuretés. En outre elle doit être adaptée en cas de liaisons hydrogène avec le solvant, de solvation, d'interactions molécule-molécule aux fortes concentrations, ou de fluorescence. Le calibrage doit alors faire appel à des méthodes non linéaires (figure II.19).

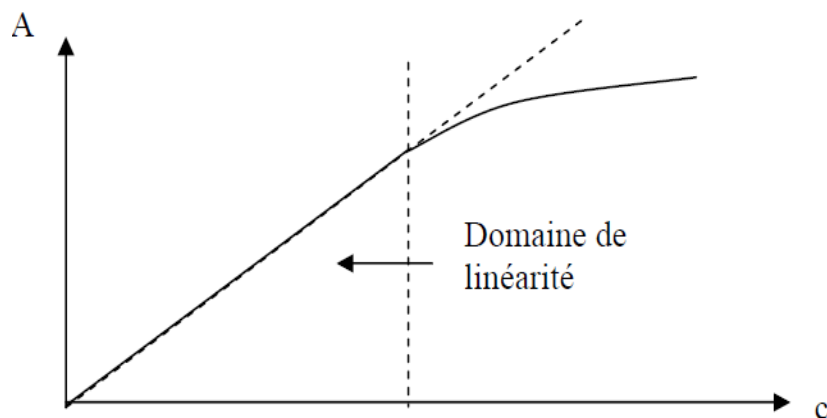


Figure II.19: Déviation de la loi de Beer-Lambert

II.2.1.10. Point isobestiques

Soit une substance absorbante X susceptible de se transformer en composé Y. Le spectre d'absorption de X est généralement différent de celui de Y, mais il peut exister une longueur d'onde (λ_{iso}) pour laquelle ces deux substances possèdent le même ε ($\varepsilon_x = \varepsilon_y = \varepsilon$).

Dans ce cas, les courbes d'absorption des mélanges de X et Y pour une concentration totale C constante se coupent en un seul point appelé point isobestiques, comme le montre la figure II.20. En effet, comme X et Y sont en équilibre chimique, on aura pour $\lambda = \lambda_{iso}$, la relation :

$$A = \varepsilon_x C_X l + \varepsilon_y C_Y l = \varepsilon C l \quad (II .13)$$

La valeur de A reste donc indépendante des proportions respectives de X et Y pour λ_{iso} . En cinétique chimique, il peut exister plusieurs points isobestiques qui sont utilisés comme points de référence dans l'étude des taux de réaction, A étant constante tout au long de la réaction pour chacune de ces valeurs de λ_{iso} . Inversement, si le mécanisme d'une réaction suivie spectroscopiquement est inconnu, l'observation d'un point isobestique prouve qu'il s'agit d'une réaction s'effectuant en une seule étape et se traduisant par un équilibre entre le composé de départ et le produit de la réaction (ou un mélange de produits dans des proportions fixes) (**Merino, 2000 ; Thomas et Cerda, 2007**)

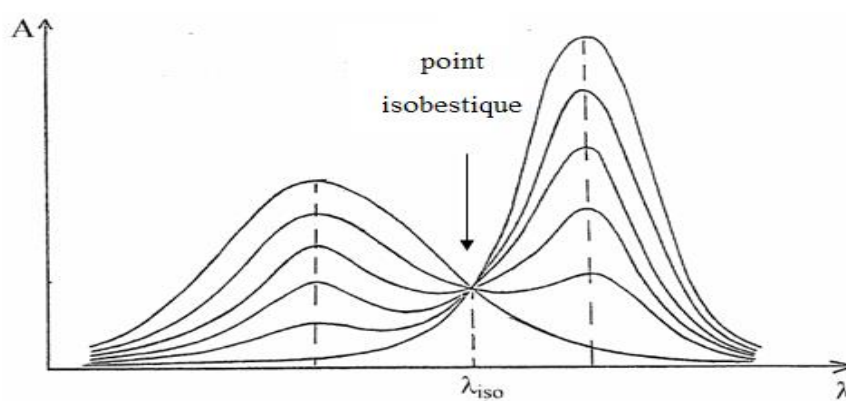


Figure II.20: Courbes d'absorption typiques de mélanges de 2 composés en équilibre chimique à une concentration totale constant. (O.Thomas, 2007).

II. 2.1.11. Application de la spectrophotométrie

✓ Etude du complexe

La mise en évidence de la formation des complexes se fait par une série de méthode dont généralement, la spectrométrie de résonance magnétique nucléaire constitue l'outil le plus utilisé (Schneider, 1998). Néanmoins, pour les composés qui présentent une activité dans le domaine UV/VIS, les spectroscopies d'absorption (Szejtl, 1982) et de fluorescence sont aussi adaptées (Cramer, 1967).

Souvent, la formation du complexe produit des modifications dans le spectre d'absorption dans le domaine UV/visible de la molécule 'invitée' sous la forme d'un déplacement et d'un élargissement de bande. Ce déplacement, peut être attribué au changement d'environnement (effet de solvant). L'approche qui permet la détermination de la constante d'association K_{11} , consiste à suivre l'absorbance du soluté à une concentration déterminée (C_0) en fonction de la concentration en CD (C_0). En utilisant la relation suivante, la constante de complexation K_{11} pourra être déterminée par régression linéaire (Fergoug, 2010).

$$\frac{\Delta A}{c} = \frac{k_{11} \cdot \Delta \varepsilon \cdot [CD]}{1 + k_{11} \cdot [CD]} \quad (\text{II .14})$$

($\Delta A = A - A_0$), A et A_0 sont les densité optiques (absorbance) en présence et en absence de CD. $\Delta \varepsilon$ est la différence d'absorption entre le soluté libre et le complexe, I est la longueur du chemin optique (**Job, 1928 ; Connors, 1987**).

II.2.2. Titration calorimétrique isotherme (ITC)

La technique de titration calorimétrique isothermique offre la possibilité d'examiner diverses interactions. Elle repose sur l'idée que chaque interaction libère ou consomme une certaine quantité d'énergie. L'application de cette méthode combinée à un programme approprié facilite l'évaluation directe et conjointe de la constante d'association, du rapport stoechiométrique, de l'enthalpie et de l'entropie associées à la création d'un complexe réversible. De plus, l'ITC permet de souligner des équilibres associés à l'interaction analysée, y compris les équilibres de protonation/déprotonation et les équilibres de micellisation (**Bruylants et al .,2014**). L'énergie mesurée par cette méthode est la somme des contributions issues des interactions, de l'ionisation moléculaire, des modifications conformationnelles et de l'agrégation.

II. 2.2.1 Principe de la méthode

L'enceinte d'un appareil ITC contient deux cellules isolées de l'environnement externe par une enceinte adiabatique qui est maintenue à température constante pendant le temps du titrage. Il renferme une cellule de référence et une cellule d'analyse (figure II.21).

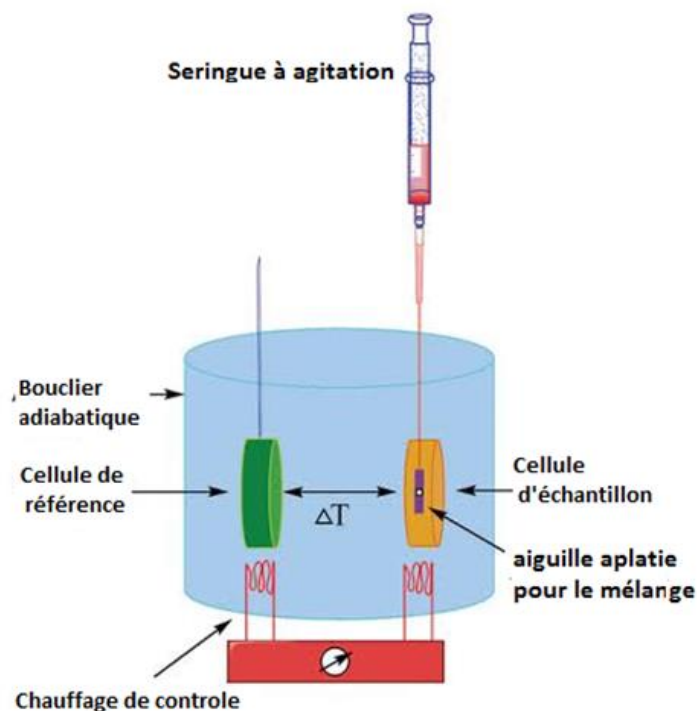


Figure II.21: Représentation schématique du Nano ITC

La première cellule, appelée cellule de référence, contient généralement un tampon (ou de l'eau), tandis que la deuxième cellule, dite cellule d'analyse, renferme la macromolécule à étudier. À l'aide d'une seringue d'injection, des aliquotes de la solution contenant soit le ligand (dans le cas d'une complexation), soit le solvant (dans le cas d'une micellisation) sont ajoutées à intervalles réguliers, jusqu'à saturation du système.

Cette seringue est équipée d'une pale d'agitation qui assure l'homogénéité de la solution dans la cellule d'analyse. La vitesse d'agitation est ajustée en fonction de la viscosité et de la concentration des solutions ; une agitation excessive peut perturber la ligne de base du signal thermique. Entre chaque injection, un temps de repos est nécessaire pour permettre au système d'atteindre son équilibre thermodynamique. Cet équilibre est considéré comme atteint lorsque la courbe thermique revient à la ligne de base, traduisant une énergie échangée nulle. Chaque injection provoque une interaction entre les composants présents, entraînant soit une libération (réaction exothermique), soit une absorption de chaleur (réaction endothermique). Cette variation thermique est enregistrée sous forme de différence de température entre les deux cellules. Le

calorimètre compense cette différence par un signal électrique, qui est mesuré et traduit en énergie. La différence d'énergie enregistrée par rapport à la cellule de référence est rapportée sur un thermogramme (figure II.22). La surface de chacun des pics est intégrée et portée sur le graphique de l'enthalpie en fonction du ratio molaire dans la cellule comme illustré sur la figure II.23.

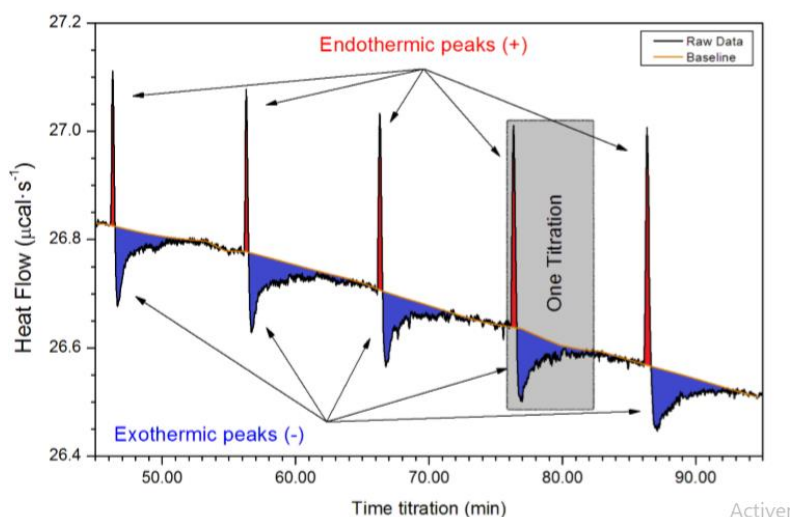


Figure II.22 : Les pics obtenus lors du titrage isotherme

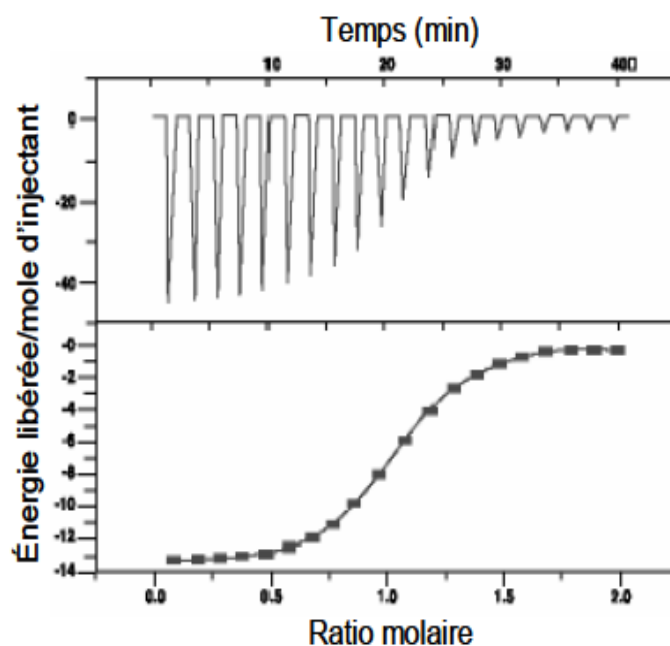


Figure II.23: Exemple d'un thermogramme (haut) et d'un isotherme d'interaction (bas)

II. 2.2.2. Cas de complexation

Le développement de la microcalorimétrie isotherme (ITC) avec une sensibilité suffisante pour travailler à de faibles concentrations a permis d'élargir son champ d'application aux systèmes biologiques. Elle est ainsi devenue un outil largement utilisé dans des domaines variés, notamment dans la conception rationnelle de nouvelles molécules thérapeutiques. Tout système dont les concentrations peuvent être ajustées selon les exigences de la technique peut être étudié par ITC (**Bruylants et Bartik, 2014**). Cette méthode s'avère particulièrement bien adaptée à l'étude des interactions entre biomolécules, notamment les phénomènes de complexation. Elle permet de déterminer des paramètres thermodynamiques essentiels tels que l'enthalpie de liaison (ΔH), la constante d'association (K_a) et la stœchiométrie de la réaction (n).

Dans une expérience ITC typique pour la détermination de la complexation, le ligand et le récepteur sont placés respectivement dans la seringue d'injection de 250 μ L et dans la cellule de mesure de 1300 μ L comme illustré sur la figure II.24.

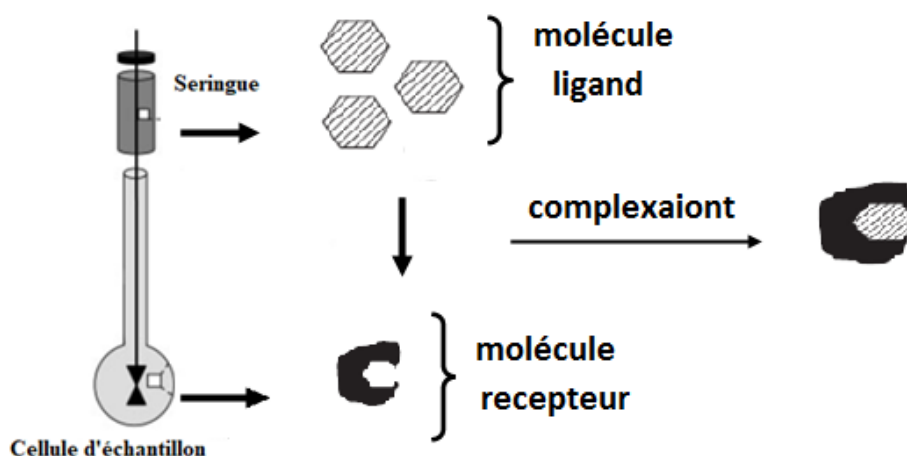
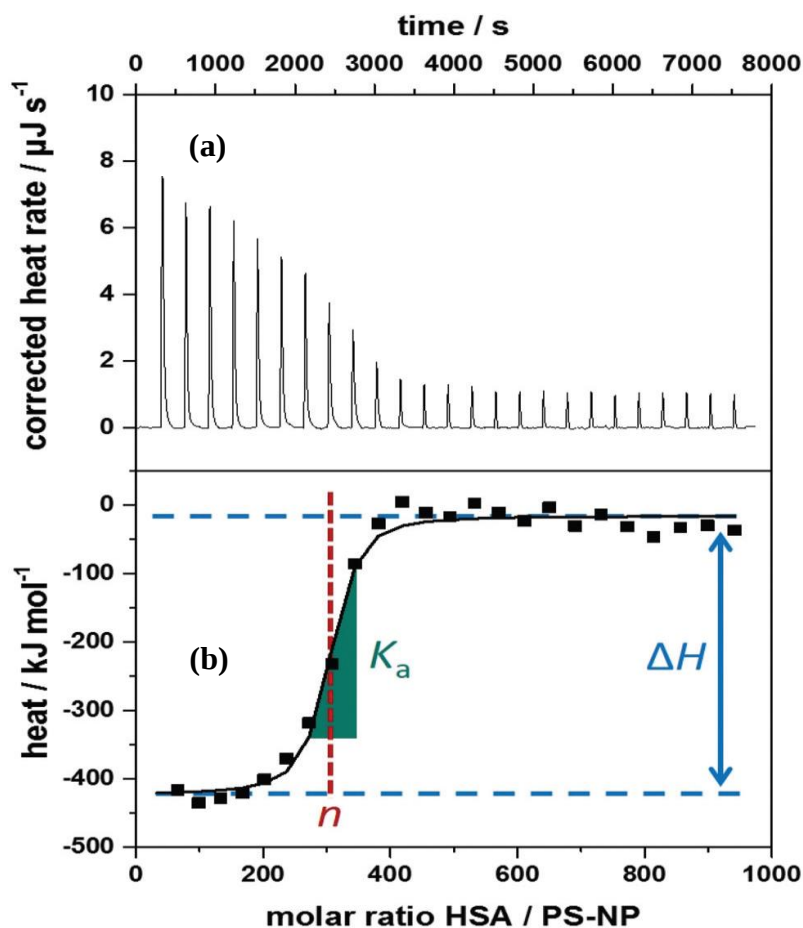


Figure II.24 : *Interactions intermoléculaires ayant lieu dans la seringue et la cellule d'échantillon d'un appareil ITC pendant le phénomène de complexation*

L'appareil mesure la chaleur dégagée (ou absorbée) à chaque injection. Celle-ci est égale à la somme de la chaleur dégagée (ou absorbée) suite à la formation du complexe et des chaleurs de dilution du ligand et du récepteur (figure II.25).



*Figure II. 25 : Les chaleurs exothermiques libérées lors de l'interaction
Ligand/récepteur (Prozeller et al., 2019)*

II.2.2.3. Détermination de la constante d'association et les paramètres thermodynamique

Considérons une réaction d'interaction à l'équilibre où une macromolécule ligand se lie à une autre molécule (récepteur) :

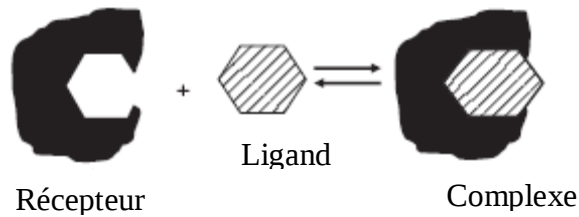


Figure II.26 : Un modèle simplifié d'une interaction typique récepteur/ligand.

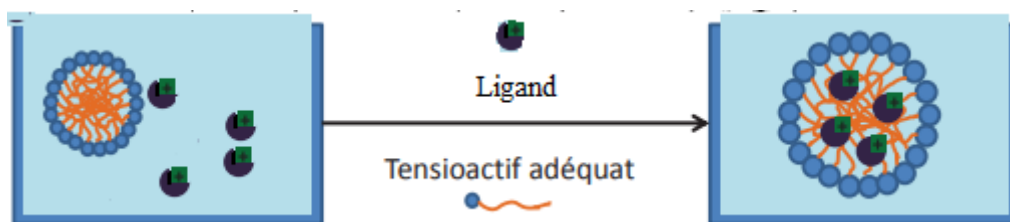


Figure II.27: Un modèle simplifié d'un système mixte



En supposant qu'il existe un seul site de liaison, la constante d'affinité de liaison ou d'association, K_a qui est l'inverse de la constante dissociation K_d détermine la partition du réactif en espèces libres et liées, elle est donnée par le rapport de la concentration molaire en complexe (RL) et du produit des concentrations molaires en partenaires isolés (R et L) :

$$K_a = \frac{[R].[L]}{[RL]} \quad (\text{II} .16)$$

La connaissance de la constante d'affinité, est indispensable pour l'appréciation de la stabilité d'un complexe. Elle est liée à l'énergie libre de liaison ΔG selon l'équation suivante :

$$\Delta G = -RT \ln K_a \quad (\text{II} .17)$$

L'énergie libre de liaison ΔG peut être exprimée en termes d'enthalpie ΔH et l'entropie ΔS de la liaison :

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S \quad (\text{II .18})$$

Et donc :

$$\Delta G = -RT\ln K_a = \Delta H - T\Delta S \quad (\text{II .19})$$

$$\ln K_a = -\frac{\Delta G}{RT} \quad (\text{II .20})$$

Où T est la température (K) et R est la constante des gaz (8,314 J/mol K).

Chapitre III :

Résultats expérimentaux des systèmes purs

Chapitre III : Résultats expérimentaux des systèmes purs

III.1. Introduction

Dans ce chapitre, nous nous intéressons à la caractérisation des principes actifs (PA) et des excipients avant leur mise en complexation. Cette étape préliminaire est essentielle afin de mieux comprendre les propriétés physico-chimiques des substances utilisées, d'évaluer leur compatibilité, et d'anticiper les éventuelles interactions susceptibles d'intervenir lors de la formation du complexe. Pour cela, différentes techniques analytiques sont employées, à la fois à l'état solide et à l'état liquide. À l'état solide, la calorimétrie différentielle à balayage (DSC) permet d'identifier les événements thermiques caractéristiques des substances, tels que les points de fusion, de cristallisation ou encore les transitions vitreuses, fournissant ainsi des indications précieuses sur la pureté, la cristallinité et la compatibilité thermique des composants. La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FT-IR) est également utilisée pour analyser les groupes fonctionnels présents et détecter d'éventuelles modifications ou interactions moléculaires par l'observation des bandes d'absorption caractéristiques. À l'état liquide, la spectrophotométrie UV-visible est mise en œuvre pour déterminer le comportement d'absorption des principes actifs en solution. Cette technique permet non seulement la quantification des substances, mais aussi l'évaluation de leur solubilité et la mise en évidence de toute interaction susceptible de modifier le spectre d'absorption. L'objectif de cette caractérisation est de disposer d'un profil complet et précis de chaque composant avant complexation, afin d'orienter et d'optimiser les étapes ultérieures du travail expérimental.

Dans ce chapitre, chaque technique fera l'objet d'une introduction à travers une section intitulée « Préparation de l'échantillon et protocole expérimental », précisant les conditions opératoires ainsi que les principales caractéristiques des instruments utilisés. Par la suite, une section intitulée « Résultats et discussion » exposera et analysera les données expérimentales obtenues.

III.2. Produits chimiques et solvant

Acide 4-(butylamino) benzoïque 2-(diméthylamino) éthyl ester monohydrochloride, communément nommé chlorhydrate de tétracaïne (TC,HCl) et sa forme basique (TC), chlorhydrate de procaïne pour l'acide 4-aminobenzoïque, 2(diéthylamino) éthyl ester (PC, HCl), β -cyclodextrine (β CD) et l'hydroxypropyle- β -cyclodextrine (HP β CD) avec une pureté de 99 % ou plus, ont également été achetés chez Sigma et utilisés sans purification supplémentaire. (HP β CD) Toutes les solutions ont été fraîchement préparées avec de l'eau déionisée ayant une conductivité inférieure à 0,7 μ S/cm et un pH autour de 7. L'éthanol, chloroforme. L'homogénéité des solutions initiales a été assurée par un bain à ultrasons.

III.2.1. Principe actif

Nous allons décrire ici les propriétés (nom, structure ,.....etc) des principes actifs utilisés dans le cadre de ce travail.

❖ *La tétracaïne*

La tétracaïne (TC) (figure III.1a) est un ester de l'acide para-aminobenzoïque appartenant à la classe des amino esters. Elle se caractérise par un délai d'action rapide et une durée d'effet très courte. Son activité est strictement locale, ce qui en limite l'usage aux applications topiques. Ces propriétés en font un anesthésique local particulièrement utile en ophtalmologie, notamment pour l'examen des annexes de l'œil ou la réalisation de certains gestes diagnostiques ou thérapeutiques. Toutefois, elle ne provoque pas d'akïnésie et peut entraîner une altération de l'épithélium cornéen. Par conséquent, son utilisation répétée est déconseillée. Par ailleurs, la tétracaïne peut être associée à la lidocaïne dans certaines préparations, notamment en combinaison avec de l'adrénaline, afin d'obtenir une analgésie de surface efficace lors de l'application sur des plaies.

❖ *La tétracaïne Hydrochloride*

La tétracaïne chlorhydrate (TC, HCl) (figure III.1b) est un anesthésique local de référence appartenant à la famille des amino-esters, dérivé de l'acide para-

aminobenzoïque. Commercialisée notamment sous les noms Panthocaïne ou Améthocaïne, elle fait partie des anesthésiques locaux (ALs), une classe de molécules synthétiques dont la structure chimique s'apparente à celle de certains composés naturellement présents dans l'organisme. Aujourd'hui, son utilisation se concentre principalement en ophtalmologie, où elle est couramment administrée avant, pendant ou après des interventions chirurgicales oculaires, en raison de son efficacité anesthésique. Cependant, elle peut induire une irritation rétinienne (**Van Santvliet et Ludwig, 1998**). La tétracaïne est métabolisée par les cholinestérases plasmatiques en acide para-aminobenzoïque, un métabolite connu pour son potentiel allergène (**Conseiller, et Leoni, 1985**).

❖ *La procaine hydrochloride*

La procaine hydrochloride est le sel hydrochloride de la procaine, un composé synthétique utilisé comme anesthésique local. Elle agit en bloquant la conduction nerveuse, en inhibant les canaux sodiques des membranes neuronales, ce qui empêche la transmission de la douleur. Sa Formule chimique $C_{13}H_{20}N_2O_2 \cdot HCl$ 2-(diéthylamino) éthyl 4-aminobenzoate hydrochloride (figure III.1c). Utilisée en médecine dentaire ou en petite chirurgie pour engourdir une zone localisée. Anciennement connue sous le nom commercial Novocaïne. Soluble dans l'eau. Moins puissante et de plus courte durée que la lidocaïne. Possède des effets secondaires rares, mais peut provoquer des réactions allergiques chez certains individus.

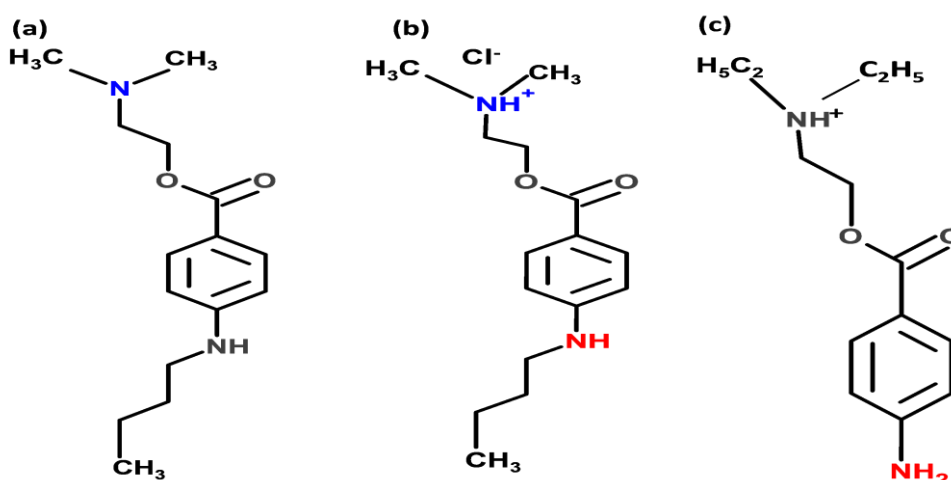


Figure III.1: Structure chimique des principes actifs : (a)tétracaïne, (b)tétracaïne hydrochloride et (c)procaine hydrochloride

III.2.2. Excipient

❖ *La βéta-Cyclodextrine*

La β-cyclodextrine ou cycloamylose est une molécule hôte d'origine naturelle qui permet d'encapsuler diverses molécules. C'est un oligomère cyclique de formule brute $(C_6H_{10}O_5)_7$ comportant de 7 unités α-D-glucopyranose comme le montre la figure suivante (figure III.2a).

Elle est couramment utilisée comme excipient de formulation dans les médicaments. Elle permet notamment de transformer des composés liquides en solides (poudres, comprimés par précipitation des complexes d'inclusion.). Toutefois, la βCD ne peut pas être administrée en forte concentration car sa fermentation peut provoquer des diarrhées. La βCD est fréquemment utilisée dans des médicaments à administration orale, rectale et topique. Son administration parentérale est exclue car elle peut provoquer une néphrotoxicité due à sa possible cristallisation vu sa faible solubilité aqueuse (1,85 mg/ml) ou à l'extraction du cholestérol membranaire dans les tissus rénaux (Frank *et al.*, 1976).

❖ *L'hydroxypropyle-β-cyclodextrine (HPβCD)*

C'est un oligomère cyclique de formule brute $(C_6H_{10}O_5)_7$ comportant de 7 unités α-D-glucopyranose comme le montre la figure (III. 2b).

Ces dérivés sont produits par la réaction de la βCD avec l'oxyde de propylène en milieu alcalin. L'HPβCD (figure III. 2b) se caractérise par une très grande solubilité dans l'eau (> 600 mg/ml) (Loftsson et Duchene, 2007) à cause de son fort caractère hydrophile. Par conséquent, l'HPβCD présente un large intérêt dans le domaine pharmaceutique (Stella et He, 2008).

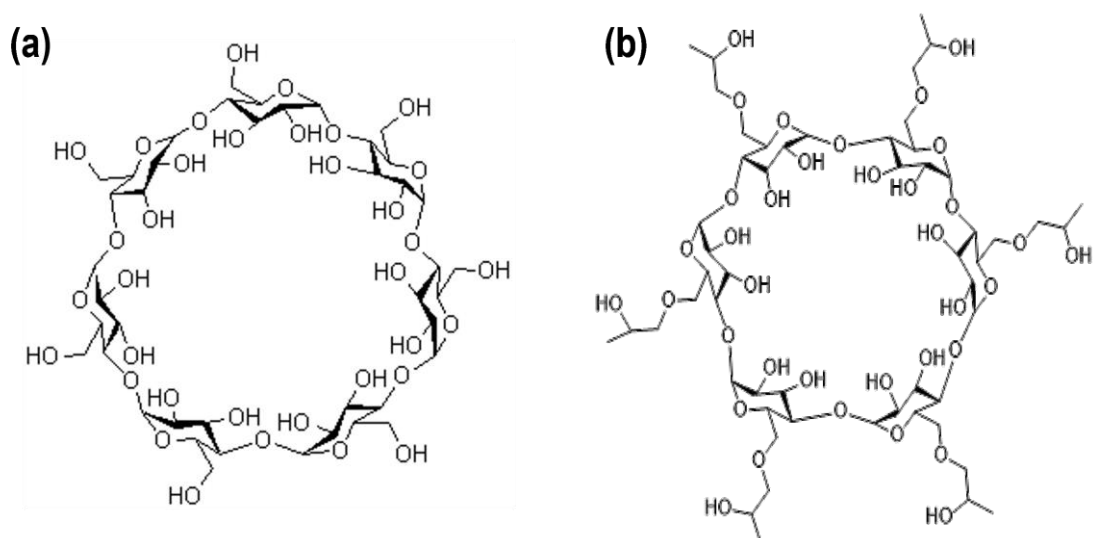


Figure III.2 : Structure chimique des excipients : (a) β -cyclodextrine et (b) HP β -cyclodextrine

III.3. Préparation du complexe à l'état solide

III.3.1. Préparation physique du complexe par malaxage (pétrissage/kneading)

a. Le mélange physique (PM)

Le complexe d'inclusion ALs / CDs dans un rapport molaire de 1:1 a été obtenu en mélangeant les composés purs correspondants à l'aide d'une spatule jusqu'à l'obtention d'un mélange homogène, avec un broyage modéré si nécessaire. Une partie de l'échantillon PM ainsi préparé a ensuite été soumise à un broyage manuel rigoureux dans un mortier en verre à l'aide d'un pilon pendant 30 minutes afin d'obtenir une poudre plus fine, appelée PMf (figure III. 3).

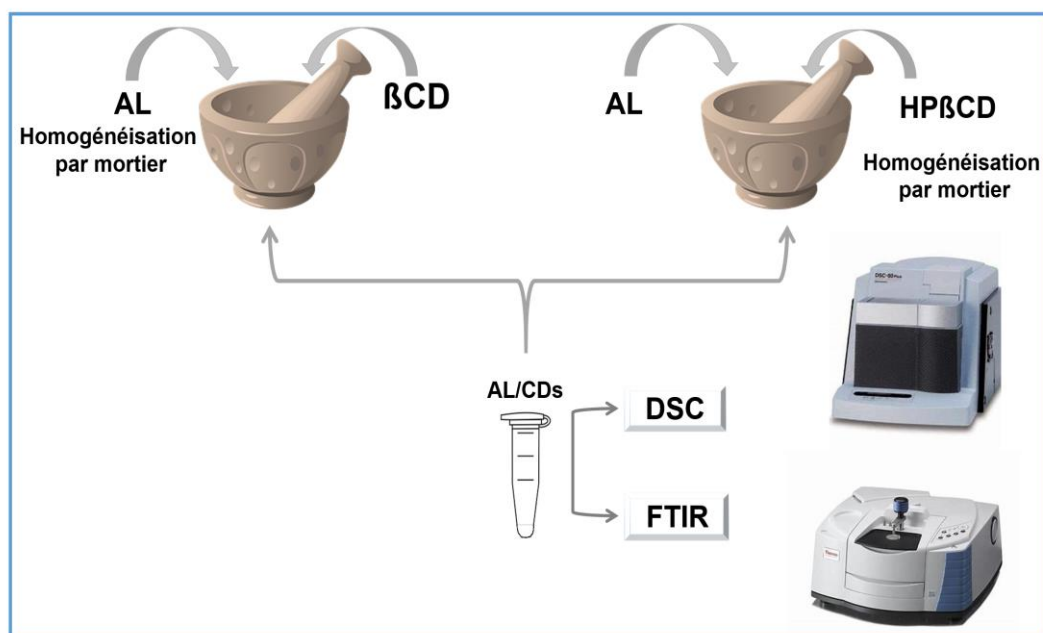


Figure III.3: Description de la méthode de préparation du complexe 1:1 (Hôte/Invité) préparation par pétrissage (PM, PMf).

b. Méthode de malaxage (KN)

La préparation par malaxage a été adaptée de l'étude de Prabu et al (**Prabu et al. ,2016**). Elle consiste à mélanger des quantités équimolaires (1:1) de (ALs) et de CD dans un mortier, puis à les broyer avec un pilon tout en ajoutant progressivement de petites quantités d'eau déionisée jusqu'à obtention d'une consistance adéquate. Le produit final a été séché à 42 °C pendant 24 heures, puis broyé de nouveau pour obtenir une poudre fine (KN) (figure III.4).

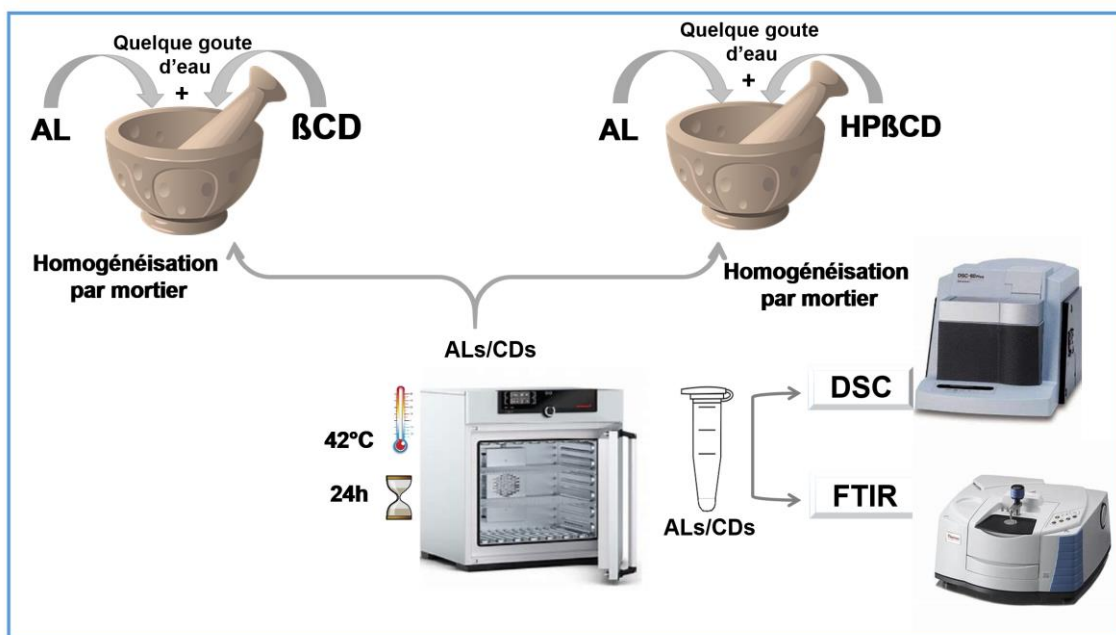


Figure III.4: Description de la méthode de préparation du complexe 1:1 (Hôte/Invité) préparation par kneading (KN).

III.3.2. Préparation du complexe par rotavapeur

Les CDs et les invitées sont mélangés à un rapport molaire 1:1 dans plusieurs solvants tels que l'eau pure, le mélange eau/éthanol ou eau/chloroforme (v/v). Les solutions sont ensuite homogénéisées, à 25 °C à l'aide d'un sonicateur jusqu'à dissolution totale, puis le solvant est chassé en utilisant un évaporateur rotatif. La poudre récupérée est considérée comme le complexe d'inclusion solide (figure III.5).

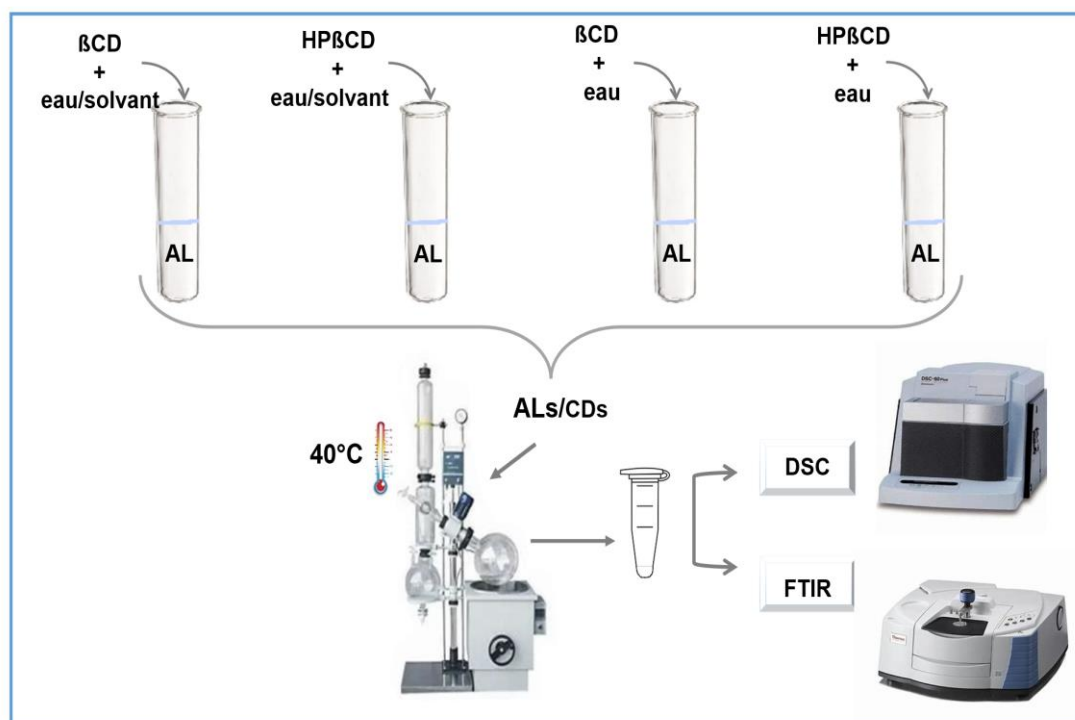


Figure III.5: Description de la méthode de préparation du complexe 1:1 (Hôte/Invité) préparation évaporation (ROV) ; évaporation en présence du solvant (CV, EV).

III .4. Étude physico-chimique des systèmes purs a l'état solide

III.4.1. Analyse des principes actifs par Calorimétrie différentielle à balayage (DSC)

III. 4.1.1. Protocole de mesure

L'appareil utilisé pour l'analyse thermique est un calorimètre différentiel à balayage Shimadzu DSC-A60 Plus (figure III .6). L'étalonnage de l'instrument est effectué à l'aide d'un composé pur, l'indium, connu pour son point de fusion bien défini. Dans toutes les analyses, un creuset vide est utilisé comme cellule de référence. Les échantillons, d'une masse d'environ 2 mg, sont pesés à l'aide d'une balance de haute précision (précision de 0,01 mg), puis placés dans des creusets en aluminium munies de couvercles (parfois percés pour éviter l'accumulation de pression). Chaque récipient est équipé d'un thermocouple connecté à un ordinateur chargé de mesurer la différence de température entre l'échantillon et le creuset de référence, et de la convertir en flux de

chaleur. Le système comporte deux creusets scellés : l'un contient l'échantillon (capsule d'essai), l'autre est laissé vide (capsule de référence). Ces deux creusets sont placés dans un four à balayage thermique, permettant une montée en température contrôlée à une vitesse de 10 °C/min, dans une plage allant de 25 à 400 °C.

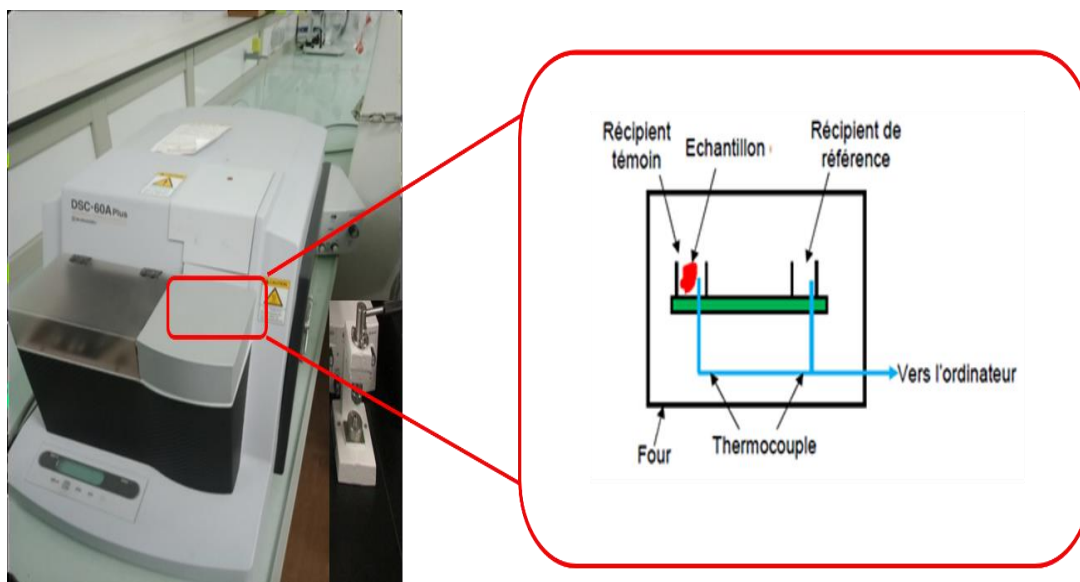


Figure III. 6 : Calorimètre à balayage différentiel Shimadzu DSC -60 Plus A

III.4.1.2. Résultats et discussion

III.4.1.2.1. Étude thermique Principe actif

❖ Étude thermique de tétracaïne

Le thermo gramme de molécules invités purs, la tétracaïne, est présenté sur la figure III.7. Un pic endothermique intense est observé à 42,12 °C et un maximum à 44,79 °C correspondant à un processus de fusion du TC. Ce résultat est en accord avec la littérature (**Gala et al., 2015**). Un 2ieme pic à 268°C suivi d'un autre pic dû à la décomposition thermique.

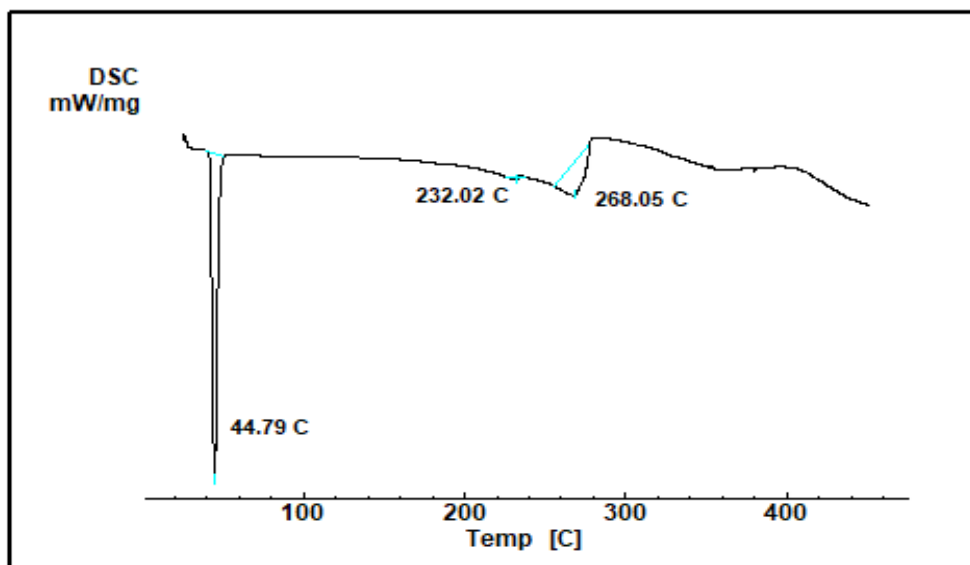


Figure III.7: Thermogramme DSC pour la TC pur

❖ *Étude thermique de tétracaïne hydrochloride*

Le thermogramme de molécules invité pur, la tétracaïne hydrochloride, est présenté sur la figure III.8. Qui montre deux pics endothermiques aigus à 141,14°C et 150,14 °C qui indiquent la présence de deux espèces cristallines comme l'ont déjà démontré Giron et al (Giron *et al.*, 1997).

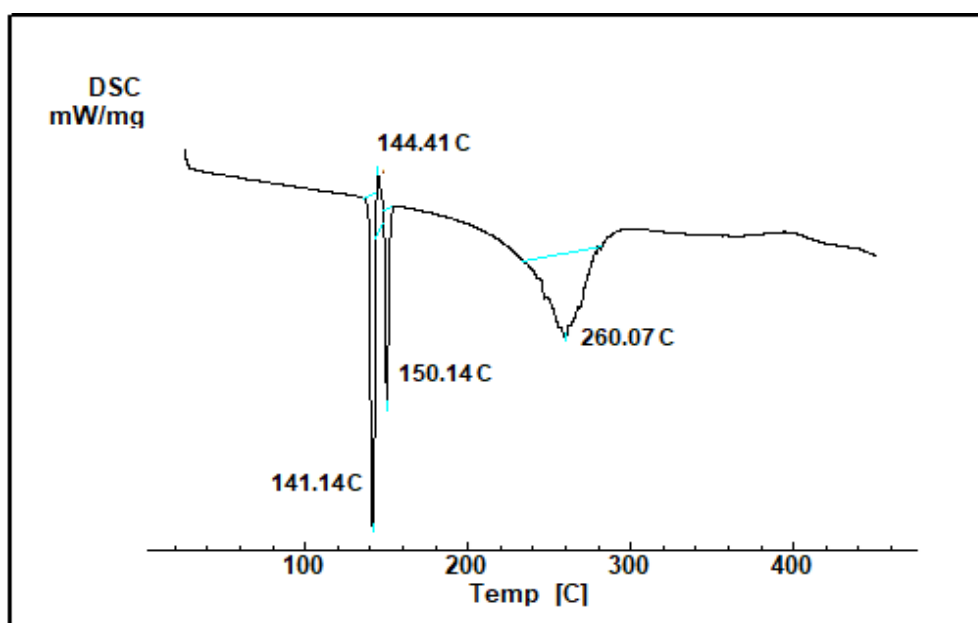


Figure III.8: Thermogramme DSC pour la TC, HCl pur

❖ *Étude thermique de Procaïne hydrochloride*

La figure III.9 présente le thermogramme de molécules invité pur la procaïne hydrochloride. Le profil thermique caractéristique du PC,HCl d'un pic de fusion à 153,56°C. Cette température est cohérente avec les données de la littérature (**Adriana et al., 2013**) , L'enthalpie de fusion de la PC,HCl est mesurée à 110,04 J/g . Après la fusion, la PC,HCl présente deux événements thermiques supplémentaires. Un pic endothermique à ($T = 237,40\text{ °C}$, $T = 267,45\text{ °C}$).

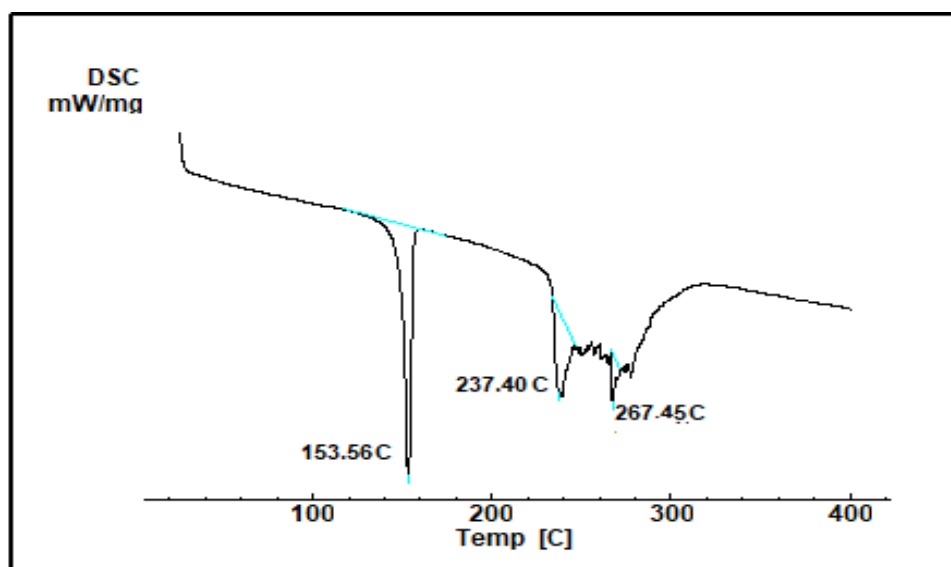


Figure III. 9: Thermogramme DSC pour la PC, HCl pur

III.4.1.2.2. Effet du cycle thermique

L'analyse de la courbe DSC du principe actif révèle des informations cruciales sur ses transitions thermiques, sa stabilité et son interaction avec les membranes biologiques. L'effet du cycle thermique (chauffage, refroidissement, puis réchauffage) sur le PA est particulièrement pertinent pour comprendre son comportement dans différentes conditions. Des transitions polymorphes possibles lors du second cycle de chauffage. Ces caractéristiques sont essentielles pour comprendre le comportement thermique du PA et son interaction avec les excipients.

❖ Effet du cycle thermique sur la tétracaïne

La figure III.10 présente le thermogramme d'effet du cycle thermique sur la tétracaïne, on observe premier cycle de chauffage : Un pic endothermique unique de fusion est observé à 44,79 °C. deuxième cycle de chauffage : un pic endothermique de fusion est détecté à 44,79°C, suggérant absence de transition polymorphe ou une interaction avec des excipients.

Ces observations indiquent que la tétracaïne ne subit des changements structuraux significatifs lors des cycles thermiques, ce qui peut affecter sa stabilité et son efficacité dans les formulations pharmaceutiques (Gala *et al.*, 2015).

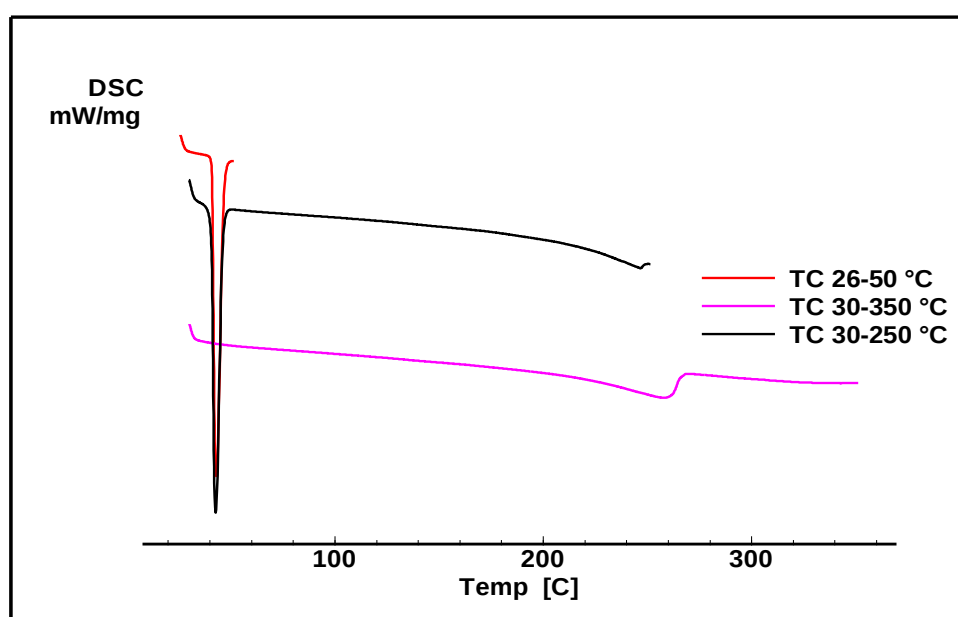


Figure III.10: Thermogramme DSC pour la TC pur (effet de cycle)

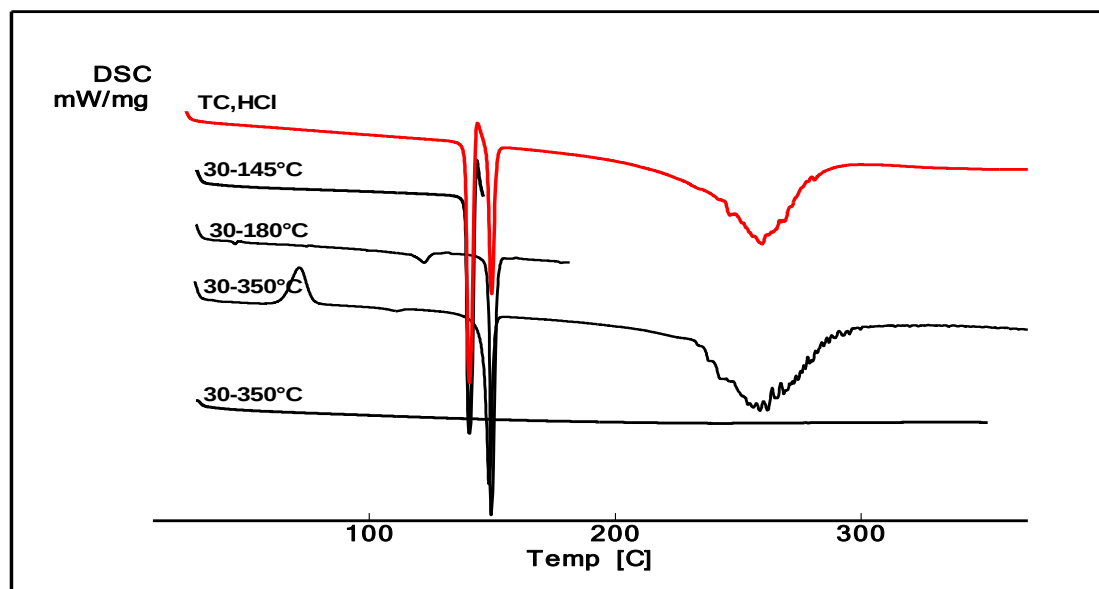
❖ *Effet du cycle thermique sur la tétracaïne hydrochloride*

Figure III.11: Thermogramme DSC pour la TC, HCl (effet de cycle)

La figure III.11 présente les thermogrammes obtenus par Étude thermique de la tétracaïne hydrochloride (TC,HCl), mettant en évidence l'effet des cycles thermiques successifs sur son comportement thermique. Trois courbes distinctes sont superposées : la première correspond à l'échantillon de TC,HCl non prétraité ; la deuxième à l'échantillon ayant subi un chauffage jusqu'à 145 °C ; et la troisième à celui chauffé à 180 °C. Cette comparaison permet d'évaluer les modifications thermiques et structurales induites par l'exposition à différentes températures.

La courbe du premier échantillon (non préchauffé) présente un pic net de fusion aux alentours de 141,14 °C, caractéristique d'un composé cristallin pur. Ce signal endothermique marque une transition de phase bien définie, indiquant une bonne stabilité thermique jusqu'à cette température. Après un réchauffement à 145 °C (deuxième courbe), ce pic de fusion reste présent, ce qui montre que la TC,HCl conserve encore sa structure cristalline après ce traitement thermique modéré. Toutefois, une légère réduction de l'intensité du pic peut déjà suggérer le début d'une modification structurale locale, comme une amorphisation partielle ou une perte de solvation, si présente.

En revanche, dans la courbe correspondant au réchauffement jusqu'à 180 °C, le profil thermique est considérablement altéré : le pic de fusion s'atténue fortement, voire presque disparaît. Cette disparition progressive du signal endothermique indique que la structure cristalline initiale a probablement été altérée de manière irréversible. Deux hypothèses principales peuvent être envisagées : soit la TC,HCl a subi une amorphisation, ce qui empêche l'apparition d'un pic de fusion net, soit elle a été partiellement ou totalement dégradée thermiquement à cette température. Ce phénomène est cohérent avec des observations antérieures rapportées dans la littérature, où les composés organiques sensibles peuvent perdre leur structure ordonnée ou commencer à se décomposer dès que la température dépasse leur seuil de stabilité.

Ainsi, ces résultats montrent clairement que le préchauffage influence significativement le profil thermique de la TC,HCl, ce qui suggère une modification de son état cristallin, ou bien l'initiation d'un processus de dégradation thermique. L'analyse thermique par DSC s'avère donc essentielle pour déterminer les limites de stabilité du composé, en vue de son intégration dans des formulations pharmaceutiques stables et efficaces

❖ *Effet du cycle thermique sur la procaine hydrochloride*

La figure III.12 présente les thermogrammes DSC obtenus pour la procaine hydrochloride (PC,HCl) pure, analysée sur trois cycles successifs de réchauffement dans des intervalles de température croissants. L'objectif de cette analyse est d'évaluer les propriétés thermiques de la molécule à l'état pur et de suivre les éventuelles transformations physiques ou chimiques induites par la température.

L'analyse thermique par DSC de la PC,HCl pure a été réalisée en trois cycles successifs de réchauffement afin d'évaluer sa stabilité thermique et de caractériser les transitions thermiques éventuelles. Lors du premier cycle, effectué dans l'intervalle de température de 30 à 180 °C, un seul pic étroit a été observé. Ce pic, bien défini, suggère un événement thermique isolé, probablement une perte d'eau de cristallisation ou une légère transition de phase physique, sans atteinte à la structure cristalline principale. Au cours du deuxième cycle de réchauffement, étendu de 30 à 270 °C, trois pics distincts sont apparus : deux petits pics exothermiques à 66,9 °C et à 73,94 °C, suivis d'un pic endothermique plus intense à plus haute température. Les deux premiers pics traduisent

vraisemblablement des processus exothermiques tels que des réarrangements structuraux internes, une recristallisation partielle ou le début d'une dégradation chimique. Le troisième pic, de nature endothermique, correspond au point de fusion de la PC,HCl, caractéristique d'un composé cristallin pur. Enfin, le troisième cycle, réalisé entre 30 et 350 °C, ne révèle aucun événement thermique, ce qui confirme que le composé a été totalement transformé au cours du cycle précédent. L'absence de tout signal thermique témoigne d'une transformation irréversible, probablement due à une décomposition thermique ou à la perte définitive de la structure cristalline. Ces résultats démontrent que la PC,HCl est thermiquement stable jusqu'à environ 180 °C, mais subit ensuite des modifications irréversibles à plus haute température.

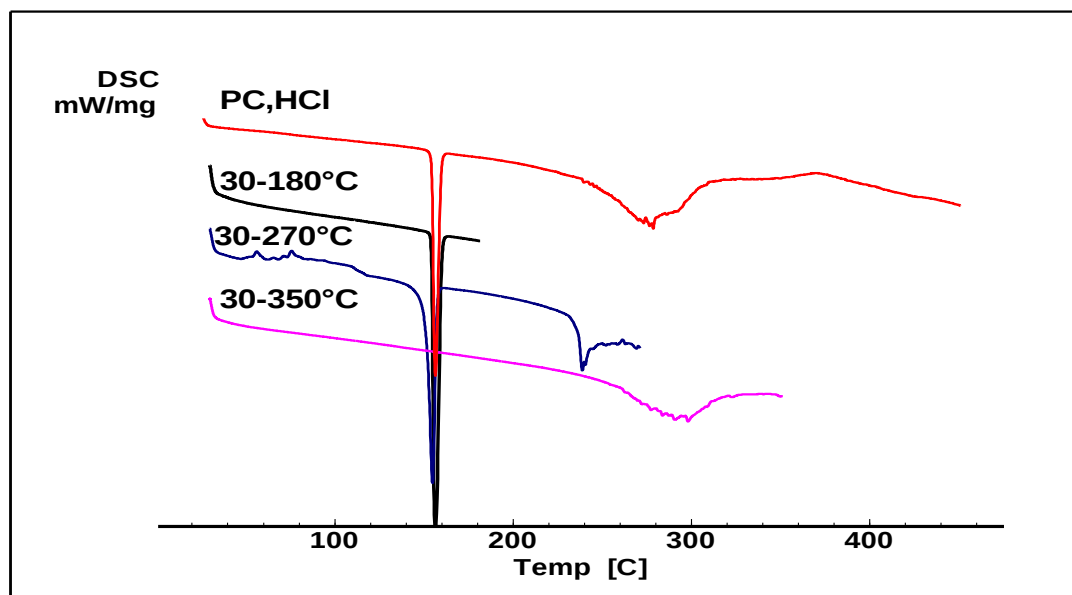


Figure III.12: Thermogramme DSC pour la PC,HCl pur (*effet de cycle*)

III.4.1.2.3. Effet des méthodes de préparation sur les principes actifs

Des systèmes solides équimolaires du AL avec chaque CD examinée ont été préparés par différentes méthodes (kneading et pétrissage avec force). Dans les solides cristallins, le pétrissage peut désorganiser la structure cristalline et former un solide amorphe, ce qui modifie la solubilité et la biodisponibilité (cas des principes actifs pharmaceutiques). Afin d'étudier l'influence de la méthode de préparation sur les propriétés physicochimiques du produit final et de sélectionner le système le plus efficace.

Comme première étape, pour étudier l'influence des techniques utilisées pour la préparation des systèmes binaires sur les propriétés du médicament, le principe actif (AL) a été traité par les mêmes méthodes, en omettant la CD du protocole. Les échantillons obtenus ont été analysés par des méthodes thermiques (DSC) et des méthode spectrale (FT-IR), et les résultats ont été comparés à ceux obtenus avec du AL non traité.

❖ *Effet des méthodes de préparation sur tétracaïne*

Les thermogrammes des TC non traité et TC préparer par kneading (KN) et pétrissage avec force (PMf) ; obtenus sont illustrés dans la figure III.13a. Les deux courbes (KN), (PMf) ont un aspect similaire ne présentent pas de différence significative par rapport à la courbe DSC obtenue avec la TC non traité, ce qui indique l'absence de phénomènes d'amorphisation (**Jug et al., 2010**) .

❖ *Effet des méthodes de préparation sur tétracaïne hydrochloride*

Les différences observées dans les spectres DSC des échantillons (TC,HCl , PMf et KN) sont illustrées dans la figure III. 13b peuvent fournir des informations sur l'efficacité des méthodes de préparation et leur impact sur la stabilité, la pureté et les propriétés du TC, HCl.

Dans la courbe DSC du TC,HCl préparer par la méthode pétrissage avec force (PMf) on observe un faible changement de courbe thermique par apport à la courbe thermique de TC,HCl non traité, le pic correspondant au processus de fusion est apparu comme un pic net avec une température maximale de 143°C. Pour le deuxième pic on observe réduction l'intensité pic, ainsi que dans le cas du TC, HCl (KN) on observe un léger déplacement et une importance diminution de pic correspondant au processus de fusion et le deuxième pic similaire au celle du TC,HCl non traité. Ce qui indique que les propriétés de TC,HCl à l'état solide ont été sensiblement affectées par les méthodes de préparation.

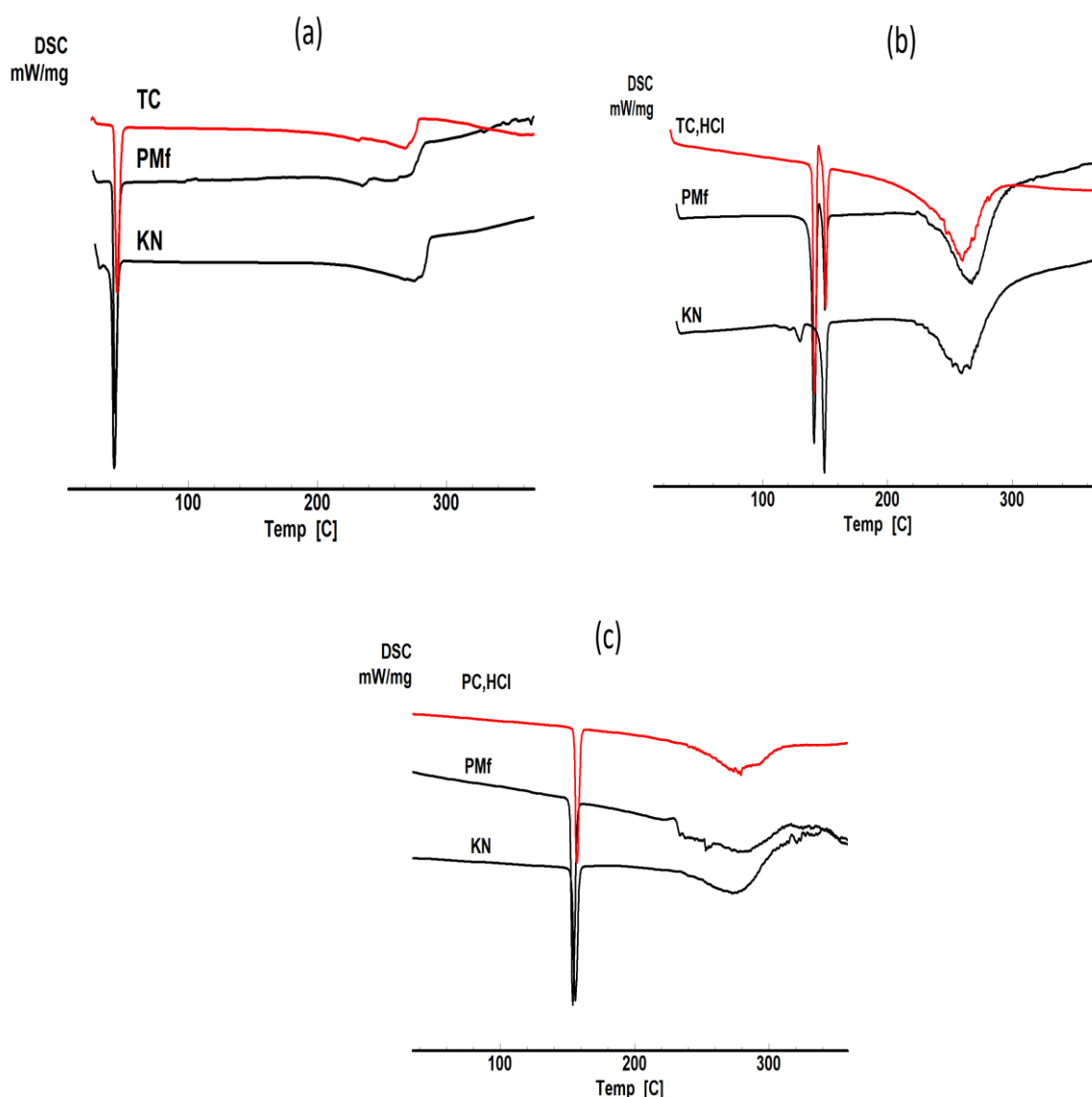


Figure III.13: Thermogramme DSC pour ALs purs (effet de méthode) : (a)tétracaine, (b)tétracaine hydrochloride et (c)procaine hydrochloride

❖ Effet des méthodes de préparation sur procaine hydrochloride

Les thermogrammes des PC,HCl pur, PC,HCl préparés par différentes méthodes (kneading et pétrissage avec force) obtenus sont illustrés dans la figure (III. 13 c). Ils ont un aspect similaire de celui de composé pur, ce qui indique que leurs propriétés à l'état solide n'ont pas été sensiblement affectées par les méthodes de préparation. Les valeurs de température et d'enthalpie du pic de fusion de la forme anhydre du

médicament n'a pas changé de manière significative ($T_f = 153,56\text{ °C}$, $H = 110.04\text{ J/g}$), ce qui indique l'absence de phénomènes d'amorphisation (**Jug *et al.*, 2010**).

III. 4.1.2.4. Effet de concentration

La figure III. 14 présente les thermogrammes DSC obtenus pour la TC,HCl pur et pour les échantillons récupérés après évaporation de solutions de différentes concentrations. Pour l'échantillon de TC,HCl pur, deux transitions endothermiques intenses apparaissent à 141 °C et 150 °C , traduisant la fusion ou la coexistence de deux formes cristallines distinctes (polymorphisme). L'échantillon issu d'une solution diluée ($8.5 \cdot 10^{-3}\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$) ne montre plus qu'un large pic atténué centré vers 141 °C et la disparition du second pic, ce qui suggère une amorphisation partielle ou la conversion de l'une des formes cristallines en une seule forme majoritaire lors du procédé d'évaporation (**Loftsson *et al.*, 2006**). En revanche, l'échantillon obtenu à partir d'une solution plus concentrée ($10^{-1}\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$) présente un pic intense déplacé à 147 °C , indicateur probable d'une cristallisation différente ou d'un nouveau polymorphe résultant des conditions de recristallisation (**Perissutti *et al.*, 2002**). Ces résultats mettent en évidence que la concentration de la solution de TC,HCl influe directement sur l'état solide récupéré et, par conséquent, sur sa signature thermique. Avant d'étudier la complexation avec la cyclodextrine, il est donc essentiel de maîtriser ces paramètres pour distinguer un véritable effet d'inclusion d'un simple changement de forme solide.

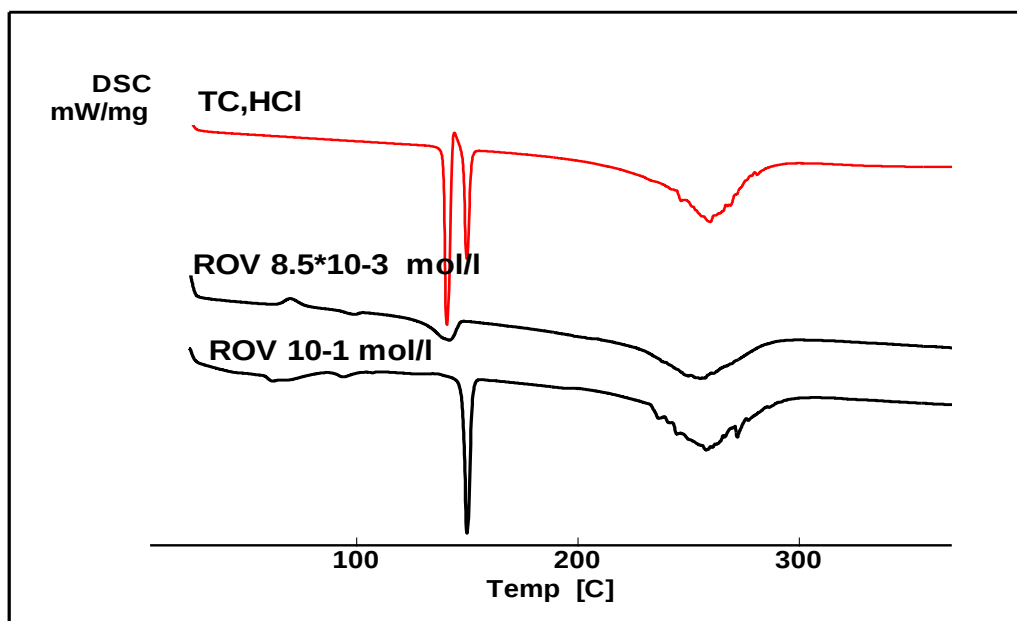


Figure III. 14: Thermogramme DSC pour la TC, HCl (effet de concentration)

III.4.1.2.5. Étude thermique des Excipients

❖ Étude thermique de β CD

Sur la figure III. 15, le thermogramme correspondant indique plusieurs processus endothermiques suivis d'une décomposition. Cette courbe de β CD a montré un très large effet endothermique, entre 45 °C et 115 °C, qui a atteint un maximum à environ 86 °C indiquant l'élimination des molécules d'eau étroitement liées à la cavité β CD, suivi d'une transition irréversible de phase solide (transition vitreuse, T_g) à 221 °C. Un 2eme pic endothermique est observé à 324°C correspondant à un processus de fusion suivi d'un processus de dégradation qui a eu lieu à environ 370°C et caractérisé par une valeur de l'enthalpie de décomposition de -63 Jg^{-1} . Ces résultats sont en accord avec les données de la littérature (Doile *et al.*, 2008).

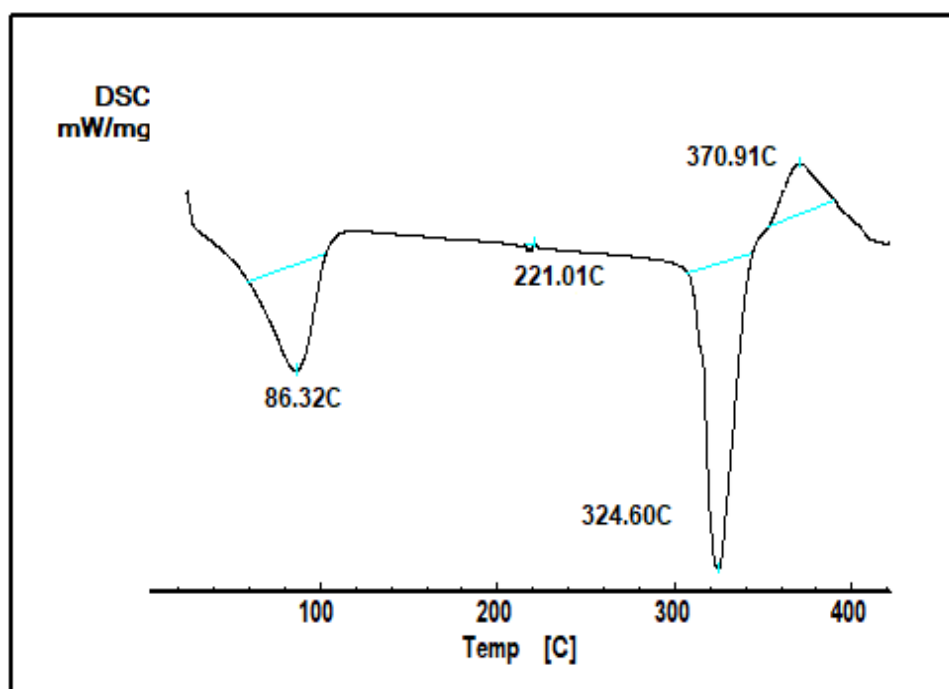


Figure III.15 : Thermogramme DSC pour β CD pure

❖ Étude thermique de HP β CD

Dans le thermogramme de HP β CD (figure III.16), deux pics endothermiques ont été observés. Dans la plage de température comprise entre 52,7°C et 96,84°C qui atteint un maximum à l'environ 70,73°C correspondant à la déshydratation, un autre pic endothermique est observé à 341°C correspond à la fusion. En outre, le pic autour de 372 °C peut résulter d'un processus de dégradation de HP β CD. Ces résultats sont en accord avec les données de la littérature. (Baboota et Agarwal, 2005 ; Zeng *et al.*, 2011) .

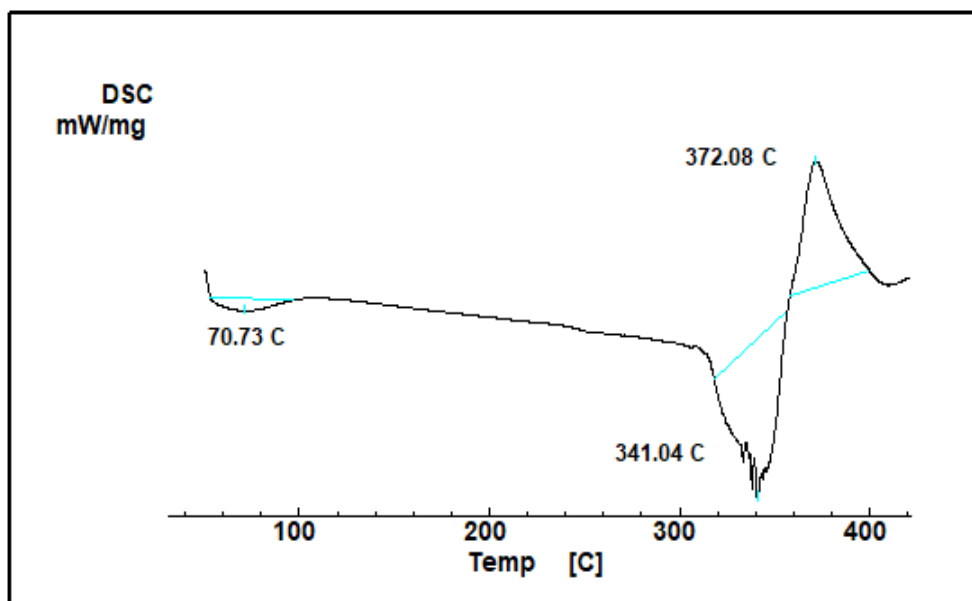


Figure III.16 : Thermogramme DSC pour HPβCD pure

III.4.1.2.6. Effet du cycle thermique sur Les excipients

Les figures III.17 et III.18 illustrent l'effet de la température sur la cyclodextrine (βCD et HPβCD), étudié à l'aide de la calorimétrie différentielle à balayage (DSC). Pour cette analyse, le même échantillon de CD a été soumis à plusieurs cycles de chauffage successifs, dans le même creuset, afin d'observer l'évolution thermique du composé. Après chaque cycle de chauffage, le creuset a été refroidi, puis soumis à un nouveau chauffage dans une plage de température différente.

La comparaison des différents thermogrammes obtenus révèle une évolution notable du profil thermique de la βCD (figure III.17). Lors du premier chauffage (25°C-100°C), un pic endothermique large est observé entre 45 °C et 115 °C, attribué à la perte d'eau de cristallisation. En revanche, lors des chauffages suivants, ce pic disparaît, indiquant que l'eau initialement présente a été complètement éliminée.

De plus, aucun événement thermique de type fusion ou transition vitreuse n'est détecté lors de deuxième cycle (25°C-100°C).

Lors du troisième cycle (25°C-230°C) on observe une transition vitreuse à 221°C.

Lors du quatrième cycle de chauffage, on observe un pic endothermique (324°C) et la disparition de transition vitreuse (T_g) de βCD. Cela s'explique par plusieurs facteurs :

a) Absence d'état amorphe formé, Contrairement à d'autres composés organiques ou polymères qui peuvent former une phase amorphe après fusion/refroidissement, la β CD ne passe jamais par un état fondu stable, car elle se dégrade thermiquement avant toute fusion (Szejtli, 1982; Del Valle, 2004).

b) Structure rigide et cristalline. Sa structure tridimensionnelle rigide, fortement stabilisée par des liaisons hydrogène, limite les mouvements moléculaires nécessaires à la formation d'une phase vitreuse (Loftsson et Brewster, 1996) .

À des températures plus élevées le dernier chauffage (environ 200–450 °C), la β CD subit une dégradation thermique sans présenter de fusion observable. Cela est caractéristique des cyclodextrines, qui ne fondent pas dans des conditions normales, mais se décomposent thermiquement (Loftsson et Brewster, 1996) .

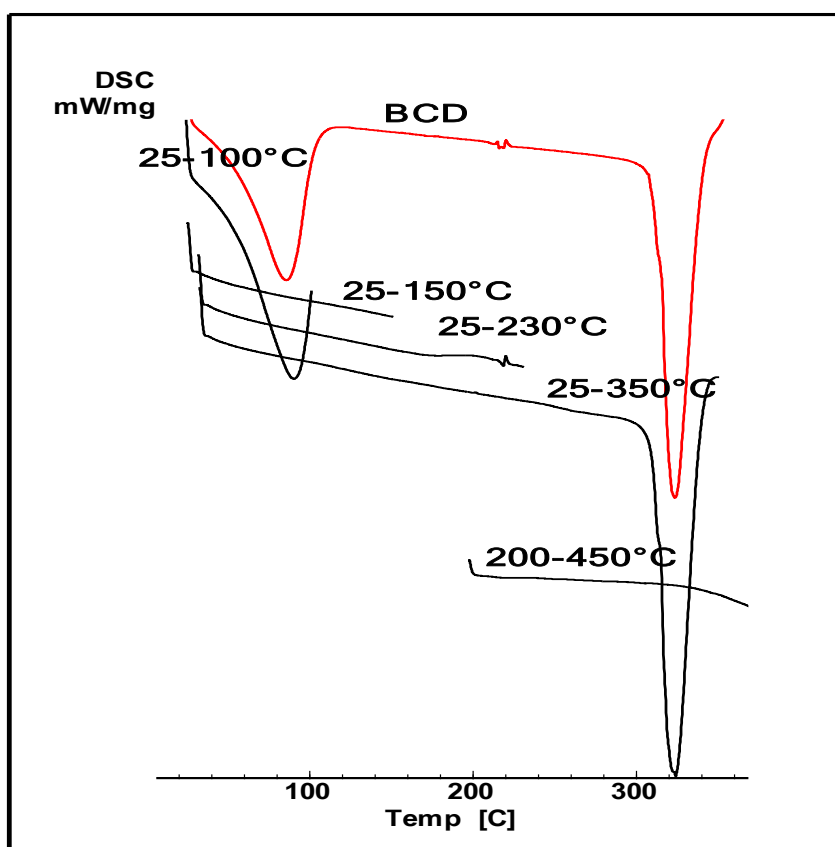


Figure III.17 : Thermogramme DSC pour BCD (effet de cycle)

La même analyse a été réalisée sur l'hydroxypropyl- β -cyclodextrine (HP β CD) afin d'évaluer son comportement thermique dans des conditions similaires. La figure III.18 montre que, lors du premier chauffage (30 °C – 100 °C), un large pic endothermique est observé, attribué à la perte d'eau de cristallisation. En revanche, lors des cycles de

chauffage suivants, ce pic disparaît, ce qui indique que l'eau initialement présente a été complètement éliminée.

Par ailleurs, aucun événement thermique de type fusion ou transition vitreuse n'est détecté au cours du deuxième cycle (30°C–310°C).

Au troisième cycle (30°C – 400°C), le thermogramme apparaît similaire à celui de l'HP β CD, à l'exception de la disparition du premier large pic observé après le chauffage.

Enfin, lors du dernier cycle (30 °C – 400 °C) , on constate la disparition totale du pic de fusion, conséquence de la dégradation de l'HP β CD.

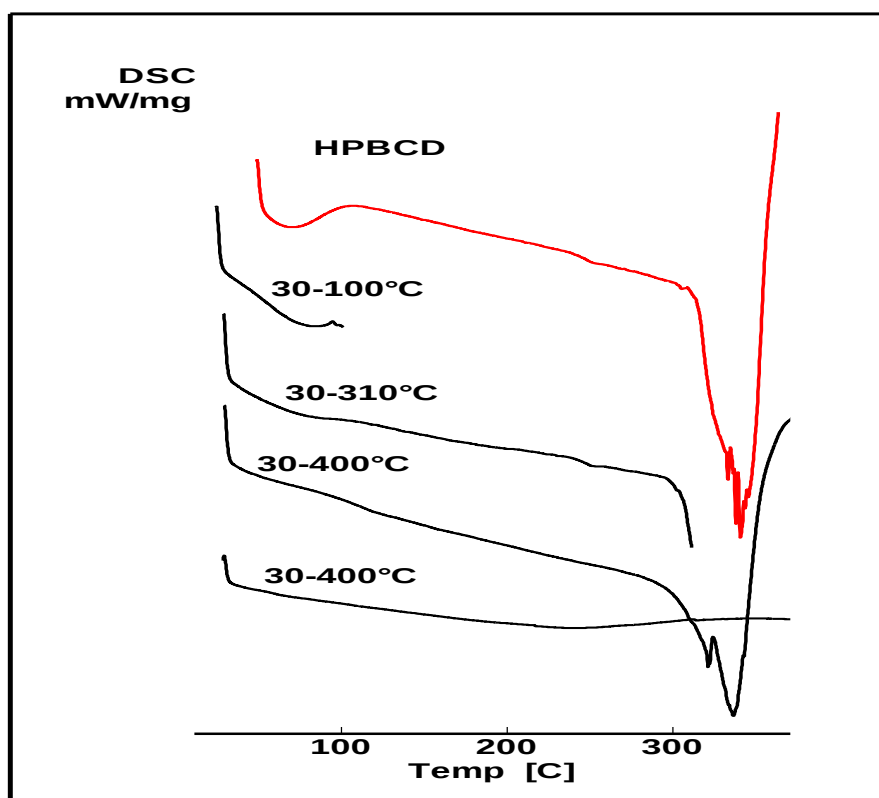


Figure III. 18 : Thermogramme DSC pour HPBCD Pur (effet de cycle)

III.4.1.2.7. Effet des méthodes de préparation sur les propriétés de l'excipient

Afin d'étudier l'influence des méthodes de préparation du complexe, nous avons mené des expériences préalables sur le phénomène de complexation du solvant (l'eau, l'éthanol et le chloroforme) par les CDs en absence de la molécule invitée.

Les thermogrammes des complexes de β CD préparés par différentes méthodes (pétrissage, kneading, mélange physique, et co-évaporation en présence d'eau de chloroforme et d'éthanol) sont présentés dans la figure (III. 19a). Les thermogrammes des β CD obtenus par pétrissage et par mélange physique présentent un aspect similaire et ne montrent pas de différence significative par rapport à la courbe DSC du β CD seul. Cependant, les thermogrammes de β CD préparé par co évaporation en présence des solvants, on observe une diminution importante et un déplacement du pic de fusion vers des températures plus basses, ce qui pourrait être attribué à une interaction entre le β CD et les solvants. Le comportement thermique du β CD co-évaporé (ROV) est similaire à celui du β CD non traité, ce qui indique que le processus de pétrissage n'a pas sensiblement affecté les propriétés à l'état solide, contrairement au procédé de co-évaporation qui semble avoir modifié la structure du complexe (figure III.19a).

Les thermogrammes du HP β CD pur et HP β CD préparé par différentes méthodes, obtenus sont illustrés dans la figure III. 19b. Les thermogrammes du HP β CD préparé par pétrissage (PMf) et KN ont même aspect que celle HP β CD pur, ce qui indique que la méthode n'a pas une influence sur la HP β CD. Le comportement thermique du HP β CD préparé par pétrissage (PMf) et KN sont similaire à celui de HP β CD non traités, ce qui indique que leurs propriétés à l'état solide n'ont pas été sensiblement affectées par les méthodes de préparation. Le comportement thermique du HP β CD co-évaporé est similaire à celui de HP β CD non traités, ce qui indique que leurs propriétés à l'état solide n'ont pas été sensiblement affectées par les processus d'évaporation

Les thermogrammes de HP β CD préparé par évaporation en présence des deux solvants le chloroforme et l'éthanol Ils ont un aspect similaire mais différent de celui des composés purs. Nous observons ainsi une diminution importante et un déplacement vers des températures plus basses du pic caractéristique de la fusion de HP β CD, ce qui pourrait être attribué à une certaine interaction entre HP β CD et solvants (figure III. 19b).

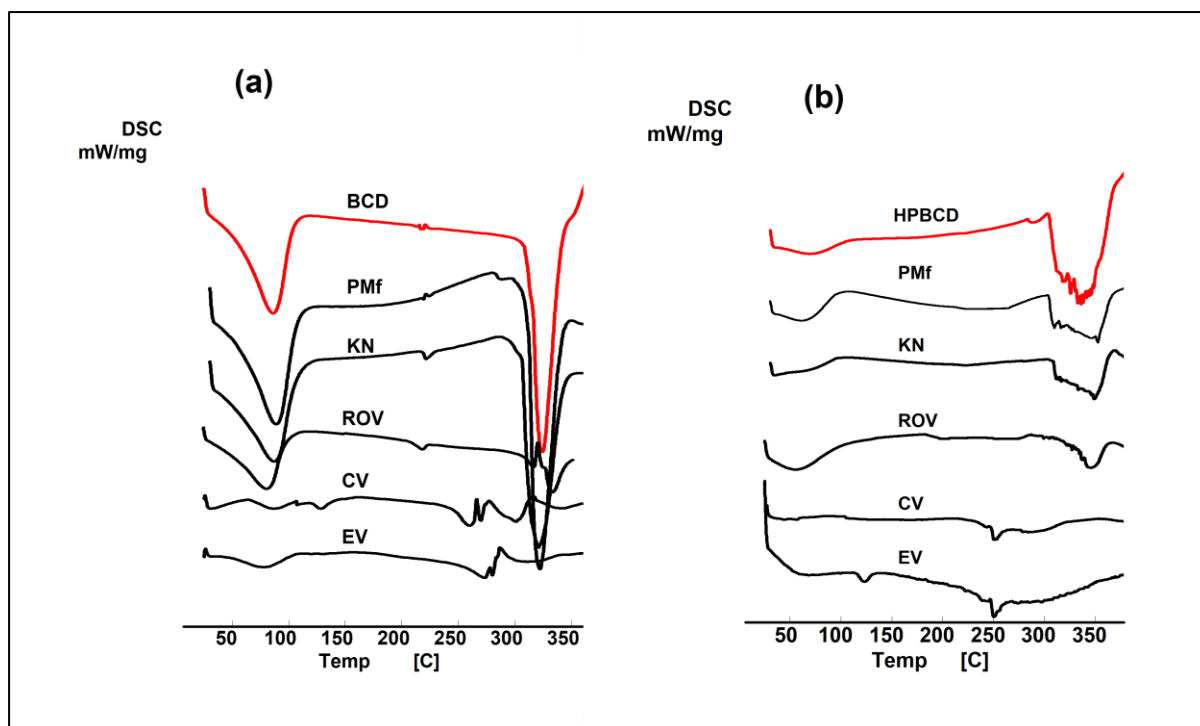


Figure III .19: Thermogrammes DSC du : (a) β -cyclodextrine et (b) HP β cyclodextrine traité avec les différentes méthodes utilisées pour la préparation de systèmes binaires solides ALs / CD : physique avec force PMf, kneading (KN), co-évaporation (ROV), co-évaporation de chloroforme (CV) et co-évaporation de l'éthanol (EV).

III.4.2. Etude des systèmes purs par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FT-IR)

III.4.2.1. Protocole de mesure

Tous les échantillons DSC ont été soumis à une caractérisation par spectroscopie IR. Les données spectrales FT-IR des composés solides purs et des complexes d'inclusion solides ont été enregistrées à température ambiante par le spectromètre **FT-IR Nicolet iS10** (figure III.20) couvrant la plage de 4500 à 500 cm^{-1} . Les spectres ont été acquis avec une moyenne de 32 scans avec une résolution spectrale de 2 cm^{-1} en mode de réflexion totale atténuée (ATR).



Figure III. 20 : spectromètre FT-IR Nicolet iS10

III. 4.2.2. Résultats et discussion

III. 4.2.2.1. Caractérisation de Principe actif par FT-IR

❖ *Caractérisation de la Tétracaïne par FT-IR*

Le spectre IR du TC pur présenté sur la figure (III.21) a montré un pic caractéristique à 3371cm^{-1} correspondant à l'élongation de la liaison N-H, Les bandes à 2952 cm^{-1} et 2861 cm^{-1} sont dues respectivement aux vibrations d'élongation asymétrique du groupe CH_3 et symétrique du groupe CH_2 . D'autres bandes à 1600 cm^{-1} , dues à la liaison $\text{C}=\text{C}$ du noyau aromatique, Enfin, une bande située à 2950 cm^{-1} correspond à la vibration d'élongation du groupement aromatique.

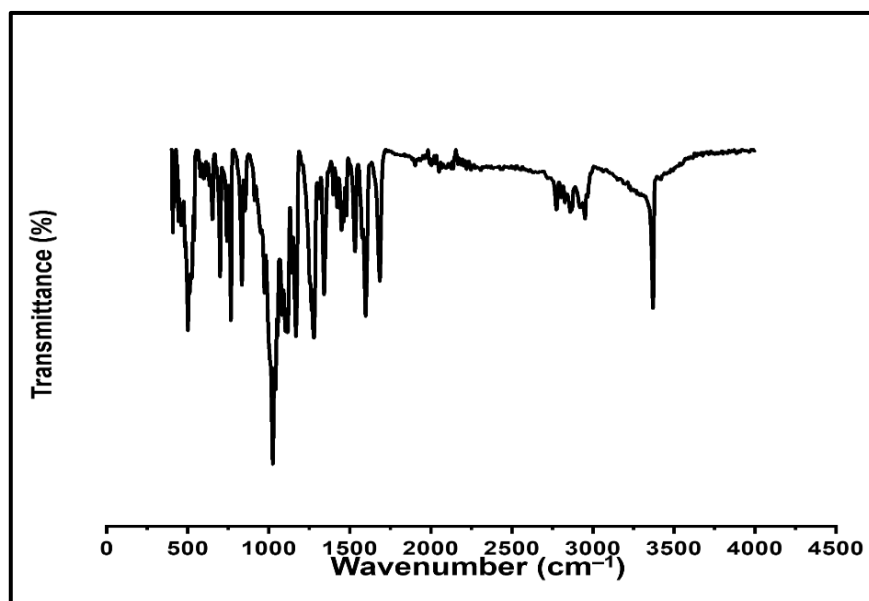


Figure. III .21: Spectre FT-IR de TC

❖ *Caractérisation de la Tétracaïne hydrochloride par FT-IR*

Le spectre IR du TC,HCl pur, présenté dans la figure (III.22), a montré un pic caractéristique à 3371 cm^{-1} , correspondant à l'élongation de la liaison N–H. Les bandes à 2947 cm^{-1} et 2865 cm^{-1} sont respectivement dues aux vibrations d'élongation asymétrique du groupe CH_3 et symétrique du groupe CH_2 . Une autre bande à 1500 cm^{-1} est attribuée à la liaison $\text{C}=\text{C}$ du noyau aromatique.

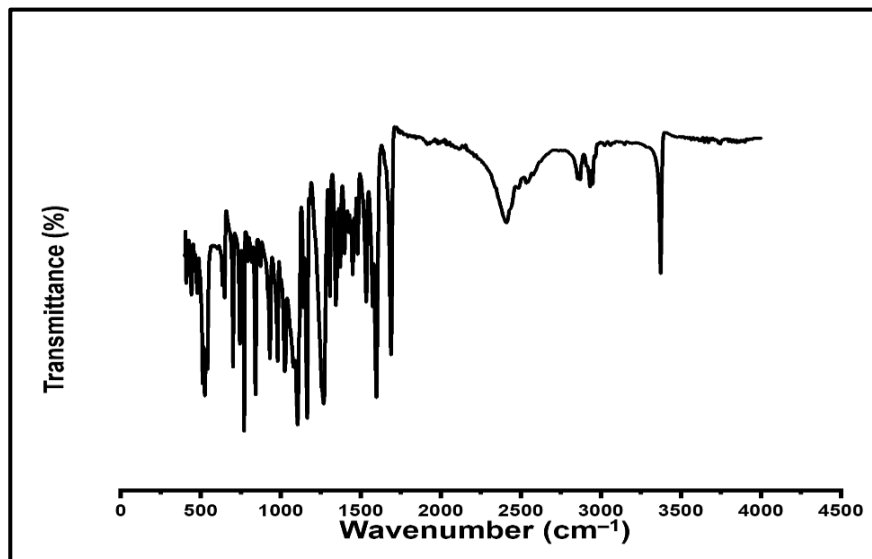


Figure III .22 : Spectre FT-IR de TC,HCl

❖ *Caractérisation de la procaine hydrochloride par FT-IR*

Le spectre du PC ,HCl pur, présenté dans la figure (III.23), a montré un pic caractéristique à $3202,61\text{ cm}^{-1}$, correspondant à l'élongation de la liaison N–H. une bande à 1690 cm^{-1} liée à la vibration $\text{C}=\text{O}$ d'un groupe carbonyle. Dans le cas de la tétracaïne, cela peut être associé à un groupe amide. Une autre bande à 1603 cm^{-1} est attribuée à la liaison $\text{C}=\text{C}$ ou à des déformations des liaisons aromatiques. Une bande à 1169 cm^{-1} associé aux liaisons $\text{C}-\text{N}$, ce qui est typique pour les amines secondaires ou tertiaires et deux bandes à $770,02$ et 848 cm^{-1} sont respectivement dues aux vibrations de cycle aromatique ou des modes de déformation spécifiques.

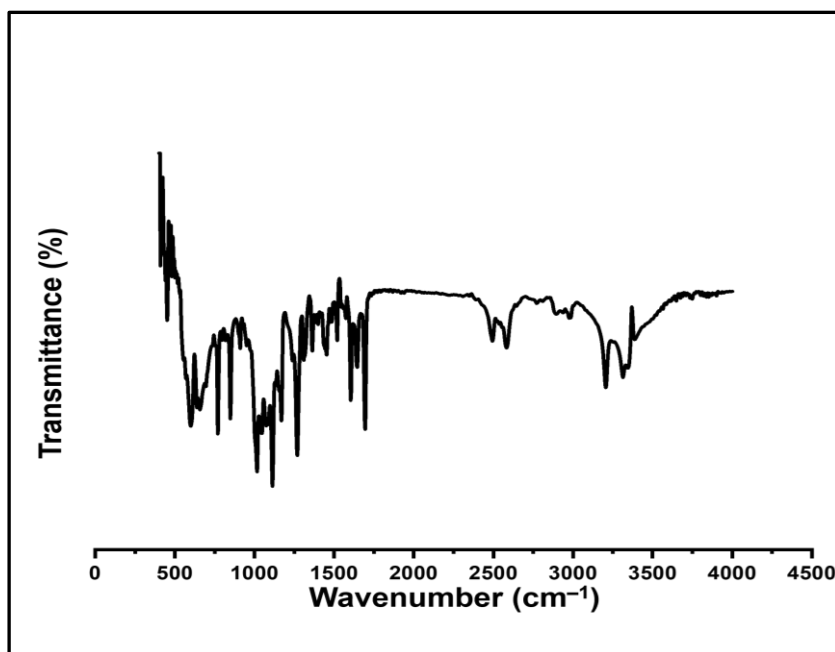


Figure III .23: Spectre FT-IR de PC,HCl

III.4.2.2.2. Effet des Méthodes de préparation sur les principes actifs

Afin d'évaluer l'effet de la méthode de préparation du complexe sur le principe actif, une analyse FT-IR a été réalisée sur le principe actif seul, préparé selon les mêmes méthodes. Les spectres FT-IR la tétracaïne (figure. III 24 a), la tétracaïne hydrochloride (figure. III 24b), et la procaine hydrochloride (figure. III 24 c), traitées par les différentes techniques utilisées pour la préparation des systèmes binaires solides ALs / CDs à savoir la méthode physique avec force (PMf) et la méthode de malaxage (KN) présentent de légères différences. On note en particulier une variation de l'intensité de certains pics pour la tétracaïne préparée par la méthode de malaxage (KN).

Les variations d'intensité observées sur certains pics FT-IR de la tétracaïne préparée par malaxage (KN) traduisent l'établissement d'interactions plus marquées avec son environnement par rapport à l'échantillon obtenu par voie physique (PMf). La méthode KN favorise en effet un meilleur contact et une dispersion plus homogène des molécules, ce qui peut modifier légèrement l'environnement des groupes fonctionnels sans entraîner de transformation chimique majeure du principe actif.

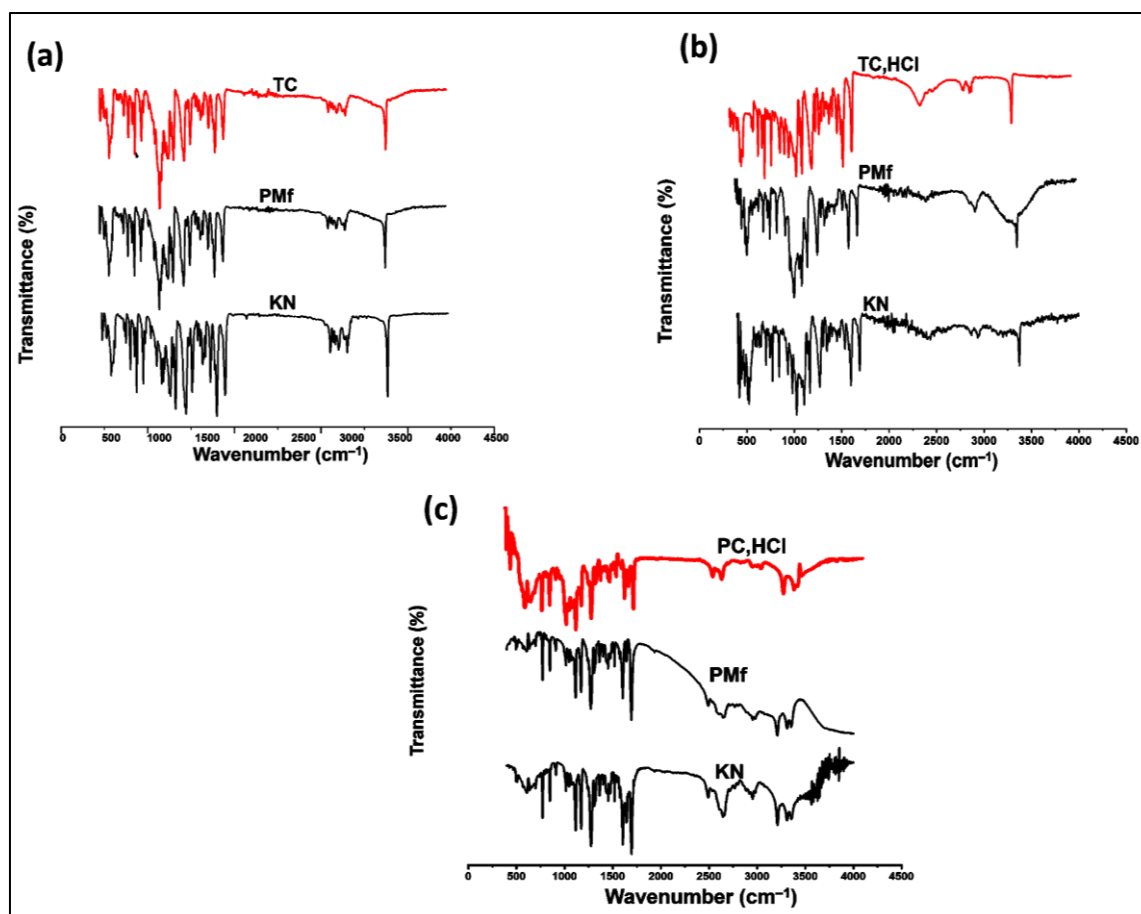


Figure. III .24 : Les spectres FT-IR de (a)tétracaine, (b)tétracaine hydrochloride et (c)procaine hydrochloride traités par les différentes méthodes utilisées pour la préparation de systèmes binaires solides ALs / CD : physique avec force (PMf) et kneading (KN).

III. 4.2.2.3. Caractérisation des excipients par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FT-IR)

❖ Caractérisation de la β CD par FT-IR

Comme le montre la figure (III.25) et conformément à la structure chimique correspondante, les pics caractéristiques du β CD apparaissent respectivement à 3300 cm^{-1} , 2900 cm^{-1} et 1630 cm^{-1} , correspondant aux vibrations d'élongation des liaisons O–H, C–H et C=O, comme rapporté par Abou-Okeil *et al.* Par ailleurs, d'autres bandes proéminentes sont observées à 1419 cm^{-1} et 1335 cm^{-1} , attribuées respectivement aux vibrations d'élongation et de flexion des liaisons C–H. Enfin, le signal distinctif à 1020 cm^{-1} est associé à la vibration d'élongation de la liaison C–O.

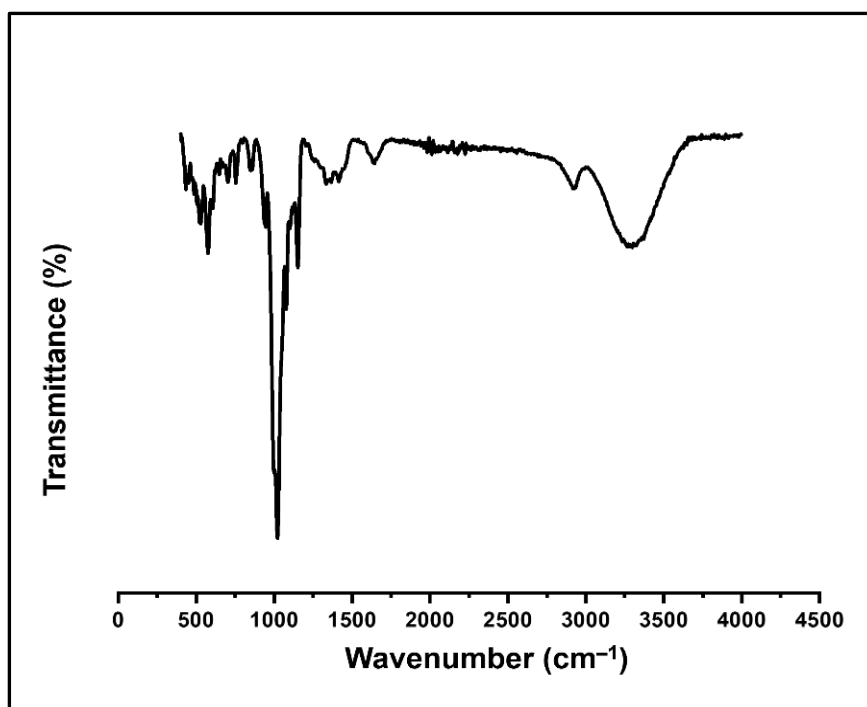


Figure III .25: Spectre FT-IR de la β CD

❖ *Caractérisation de la HP β CD par FT-IR*

Le spectre de la HP β CD est présenté dans la figure (III.26). Nous avons observé des pics caractéristiques de la HP β CD apparaissant respectivement à $3440,11\text{ cm}^{-1}$ et $2927,83\text{ cm}^{-1}$, correspondant aux vibrations des liaisons O–H et C–H. En outre, d'autres bandes notables sont observées à 1419 cm^{-1} et $1331,34\text{ cm}^{-1}$, attribuées respectivement aux vibrations d'élongation et de flexion des liaisons C–H. Les signaux distinctifs à 1155 cm^{-1} , $1079,20\text{ cm}^{-1}$ et $1019,92\text{ cm}^{-1}$ sont associés aux vibrations des liaisons C–O, C–O–C et C–C, caractéristiques des unités glucopyranose. Enfin, les bandes à $946,78\text{ cm}^{-1}$ et $846,72\text{ cm}^{-1}$ correspondent aux vibrations des unités glucopyranose en conformation chaise.

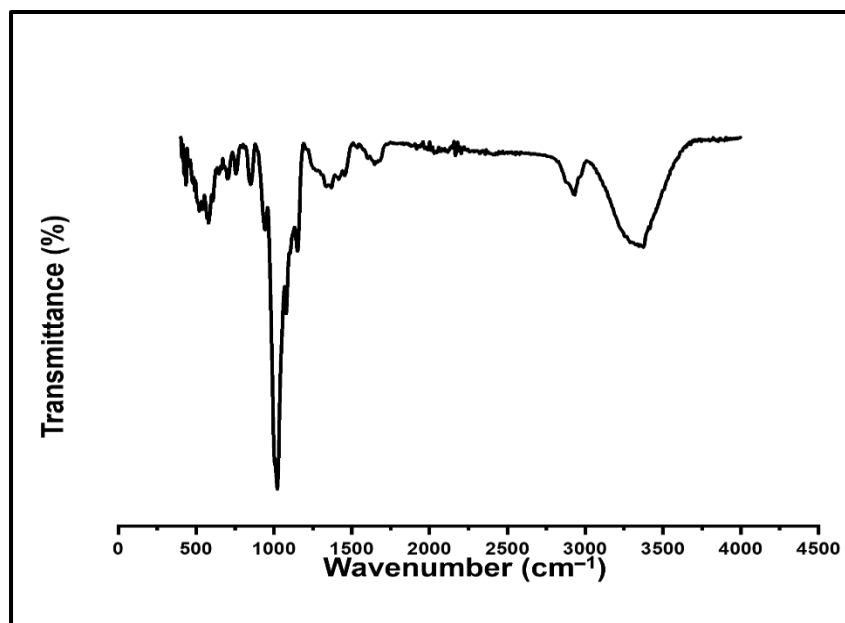


Figure. III .26: Spectre FT-IR de la HPβCD

III.4.2.2.4. Effet des méthodes de préparation sur les propriétés des excipients

Les spectres FT-IR des différents échantillons de β -cyclodextrine (β CD) sont présentés dans la figure (III.27a). Les spectres du β CD traité par pétrissage (PMf) et par la méthode de kneading (KN) sont pratiquement superposables à celui du β CD non traité. Cela suggère que les traitements appliqués n'ont pas modifié significativement l'état cristallin de la β CD.

La figure III.27b présente les spectres FT-IR de la HP β CD préparée par pétrissage et kneading, en l'absence de l'invité. On observe que les spectres obtenus par pétrissage (PMf) et par la méthode de kneading (KN) sont très similaires à celui de la HP β CD non traitée. Aucun nouveau pic n'apparaît et aucun pic caractéristique ne disparaît, ce qui suggère l'absence de modifications structurales majeures. De plus, l'intensité des bandes

reste globalement inchangée. Cette superposition des spectres indique que la méthode de pétrissage n'altère pas l'état cristallin de la HP β CD.

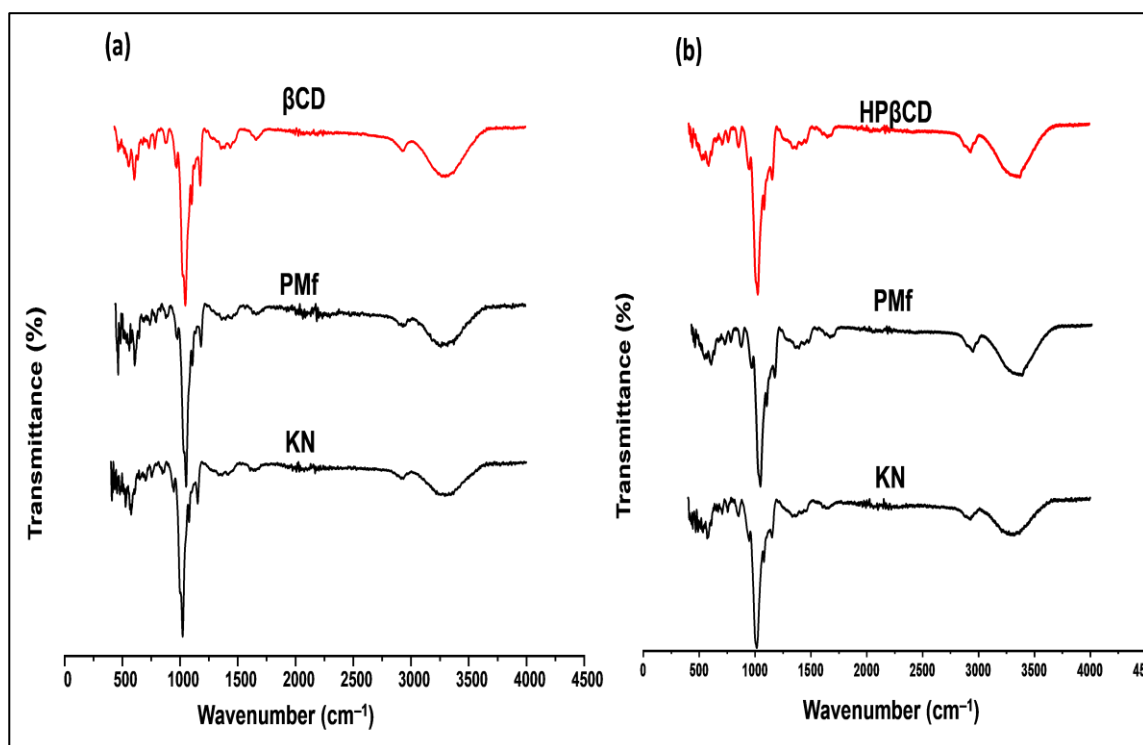


Figure III.27 : Les spectres FT-IR de (a) β -cyclodextrine et (b)HP β -cyclodextrine traité avec les différentes méthodes utilisées pour la préparation de systèmes binaires solides CD / ALs : physique avec force (PMf) et kneading

III.5. Étude physico-chimique des principes actifs purs à l'état liquide

III.5.1. Préparation du complexe à l'état liquide

Les mesures ont été réalisées sur des solutions, fraîchement préparées avec de l'eau déminéralisée, obtenues à partir de dilutions successives de solutions mères. Pour assurer la reproductibilité des mesures, les solutions de différents produits ont été préparées au départ à température ambiante ($\sim 19^{\circ}\text{C}$) puis chauffées lentement ($1^{\circ}\text{C}/\text{min}$) jusqu'à dissolution complète du soluté comme le montre les (figures III.28) et ensuite refroidies ($\sim 4^{\circ}\text{C}$) jusqu'à la recristallisation. Une fois le système équilibré, chaque solution est chauffée de nouveau de la même manière comme illustré sur les l'organigramme suivant:

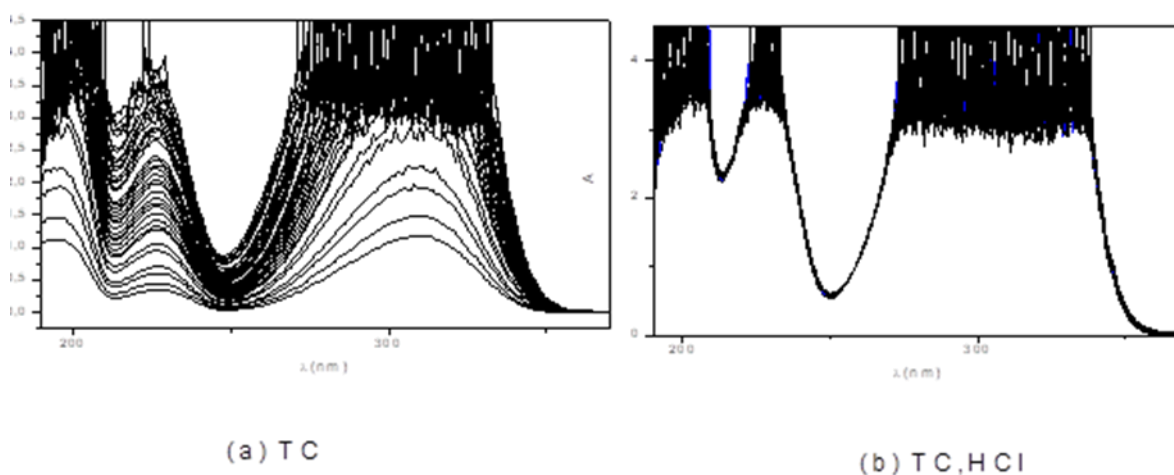


Figure III.28: Variation de l'absorbance en fonction de la longueur d'onde à différentes températures pour (a) TC et (b) TC,HCl fraîchement préparés

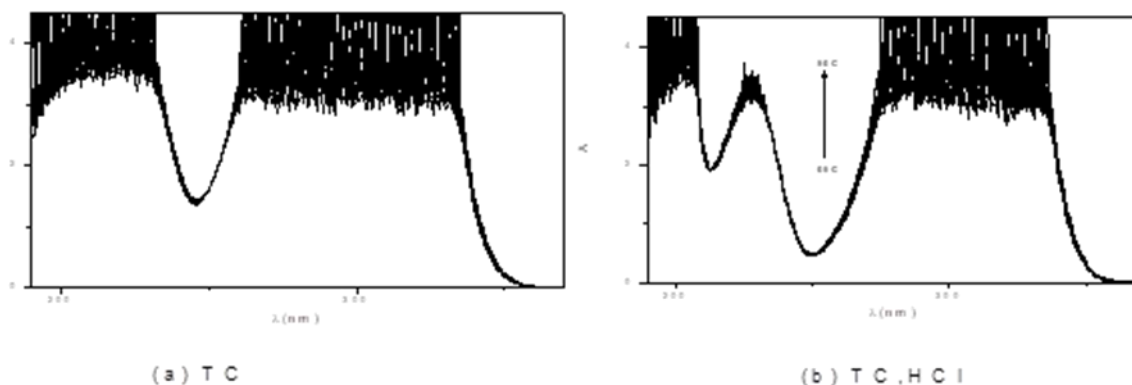


Figure III.29: Variation de l'absorbance en fonction de la longueur d'onde à différentes températures pour (a) TC et (b) TC,HCl après recristallisation.

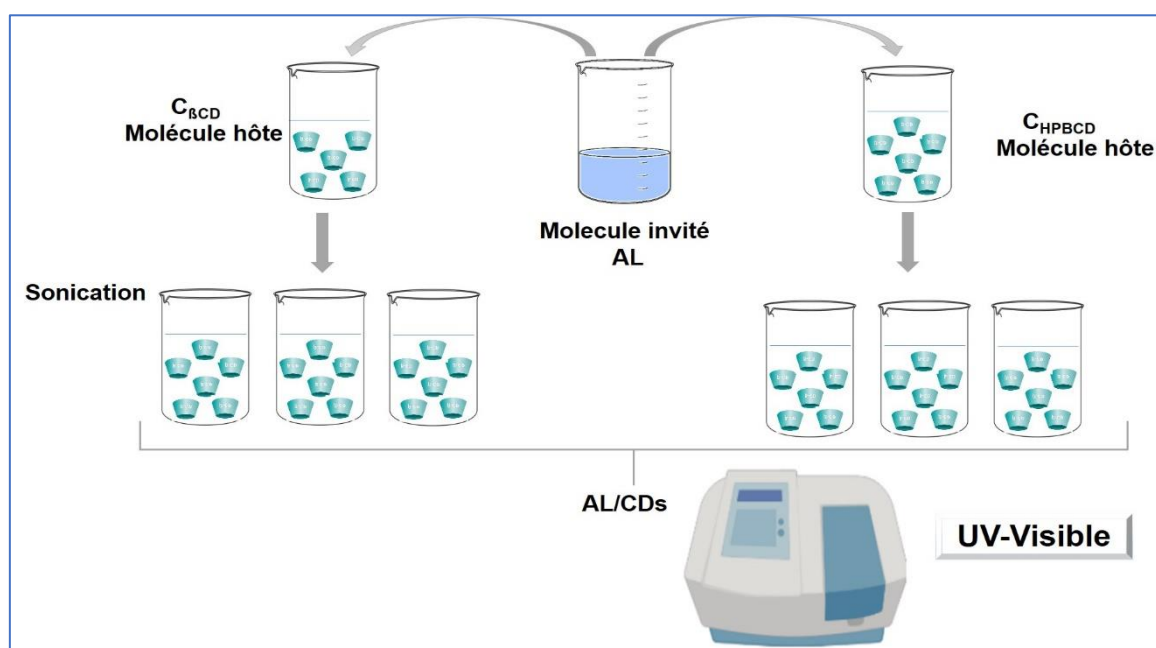


Figure III.30 : Titration de la ALs par la βCD

III.5.2. Protocole de mesure par UV-Visible

Tous les spectres UV-Vis ont été enregistrés à l'aide d'un spectrophotomètre **UV-Vis à double faisceau Specord 200 plus** (Allemagne) (figure III.31), avec une plage de longueurs d'onde de 190 à 400 nm et des intervalles de 1 nm à 25 °C. La température a été maintenue constante avec une cellule thermostatique. Dans les expériences avec les

systèmes binaires médicament/eau, la concentration de ALs était de 5.10^{-5} M, mais pour les systèmes ternaires β CD/ALs/eau, la concentration de β CD variait de 10^{-2} à 10^{-6} M et la concentration du médicament était fixée à 5.10^{-5} M.



Figure III.31: Spectrophotomètre UV-visible Specord 200plus

III. 5.3. Résultats et discussion

III.5.3.1. Mesure de l'absorbance

➤ Analyse Qualitative

En raison des fonctions chimiques se trouvant dans la structure chimique de ces produits anesthésiques, la TC et TC, HCl, ils présentent un spectre d'absorption caractéristique dans le domaine de l'Ultra-Violet comme le montre la figure III.32. Chaque spectre comprend trois bandes aux environs de **198, 220 nm** et **298 nm** pour la TC et aux environs de **195, 226 nm** et **310 nm** pour la TC, HCl. Ces bandes sont caractéristiques des transitions électroniques de type $\pi \rightarrow \pi^*$ et $n \rightarrow \pi^*$ au sein des liaisons insaturées de type C=C du cycle aromatique associées aux doublets non liants des atomes d'oxygène ou d'azote.

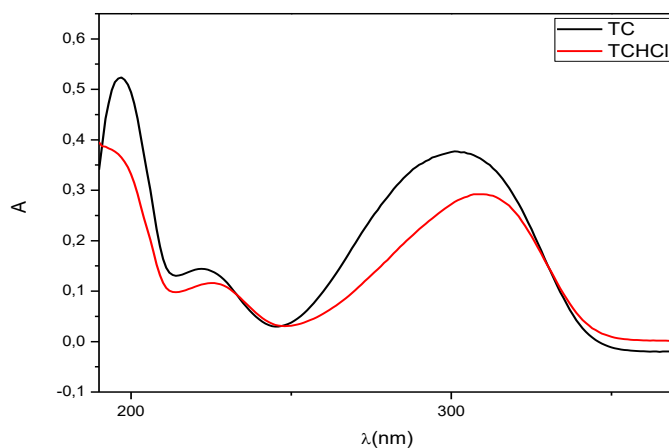


Figure III. 32: Variation de l'absorbance en fonction de la longueur d'onde pour:
TC(—)et TC, HCl (—) à $C=4.39. 10^{-5}M$

III.5.3.2. Effet de concentration

La figure (III.33) présente la variation de A en fonction de λ à différentes concentrations en TC et TC,HCl .

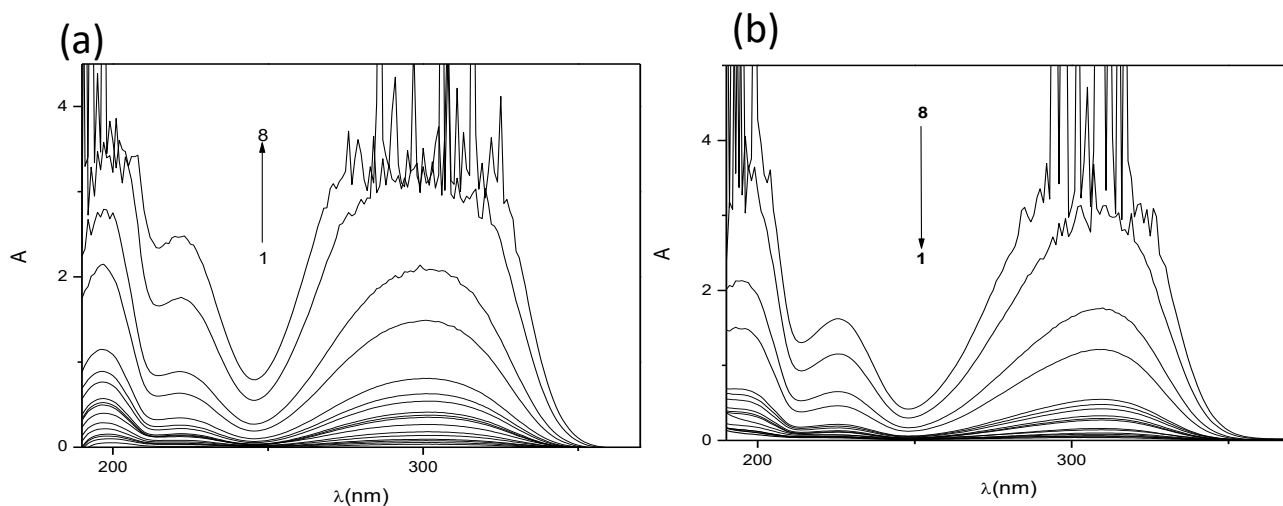


Figure III.33: Spectres d'absorption de (a)TC et (b)TC,HCl en fonction de concentrations (1): $7.05.10^{-4}M$, (2): $5.28.10^{-4}M$, (3): $1.76.10^{-4}M$, (4): $7.54.10^{-5}M$, (5): $4.39.10^{-5}M$, (6): $8.30.10^{-6}$, (7): $2.48.10^{-6}M$

➤ Vérification de loi de Beer Lambert

Dans le but de vérifier l'application de la loi de Beer Lambert, les courbes de variation de l'absorbance en fonction de la concentration ont été tracées pour les trois longueurs d'ondes maximales relevées sur la figure III. 34. Les allures linéaires obtenues dans le cas de TC,HCl montrent que la loi est vérifiée dans le domaine de concentration ($C_{TC} \leq 7.10^{-5}M$) et permettent de déterminer à partir des pentes les coefficients d'absorption molaires pour chaque longueur d'onde (298 (9066.85) ;220 (2996.50) ;196 (11723)). En ce qui concerne la TC, des allures différentes sont relevées et les points sont alignés selon deux droites qui se coupent ont un point ($C = 4.4.10^{-5}M$) . Ceci correspond à l'existence de deux espèces chimiques TC monomérique pour ($C \leq 4.4.10^{-5}M$) et TC agrégé sous forme micellaire pour ($C \geq 4.4.10^{-5}M$) comme indiqué dans la littérature (Miller *et al.*, 1993) .

A titre de comparaison la figure (III. 35) montre la différence de linéarité pour les deux allures à une longueur d'onde donnée ($\lambda_{max} = 226nm$) pour les deux molécules

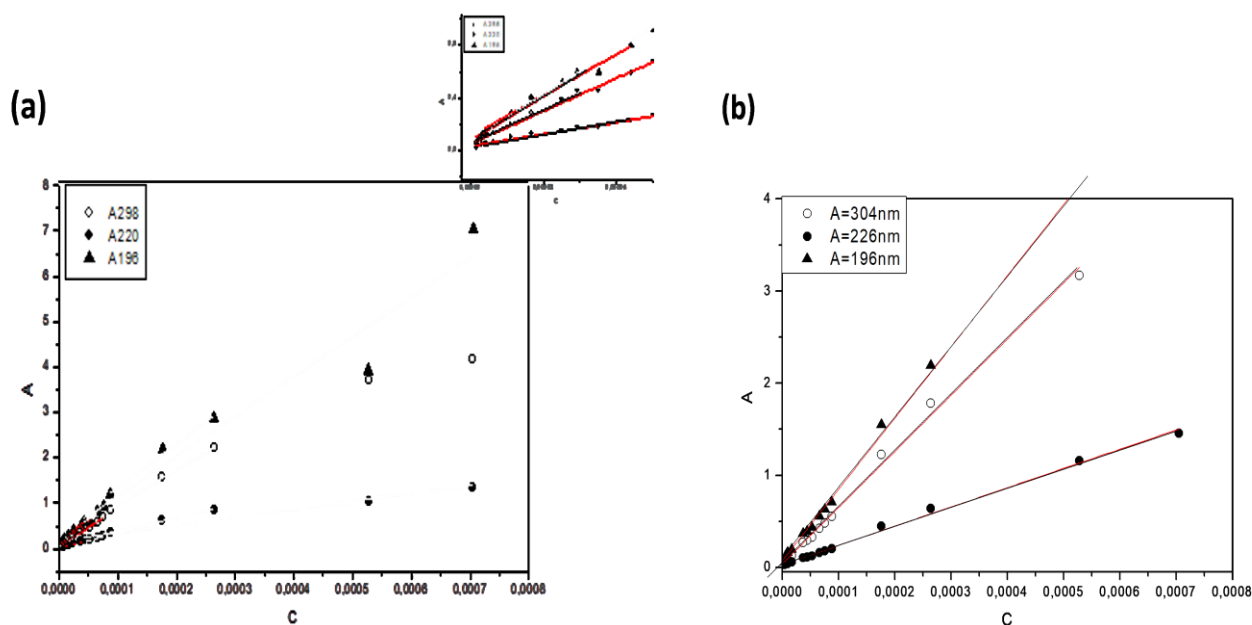


Figure III.34: Variation de l'absorbance en fonction de la concentration de (a)TC pour les trois longueurs d'onde suivante : $\lambda_{max} = 298 \text{ nm}$, $\lambda_{max} = 220 \text{ nm}$, $\lambda_{max} = 196 \text{ nm}$, et (b)TC,HCl pour les trois longueurs d'onde suivante : $\lambda_{max} = 304 \text{ nm}$, $\lambda_{max} = 226 \text{ nm}$, $\lambda_{max} = 196 \text{ nm}$.

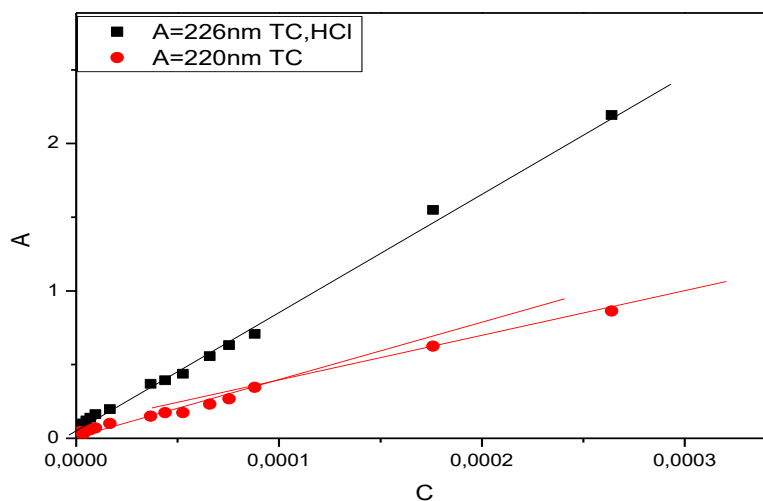


Figure III.35: comparaison entre la variation de l'absorbance en fonction de la concentration de TC (—) et TC,HCl (—) pour la même longueur d'onde.

III.5.3.3. Effet de température

Les variations de l'absorbance en fonction de la longueur d'onde à différent températures allant de (5 à 41°C) en TC et TC, HCl mesurées à des concentrations constantes sont illustrées sur les figures si dessous.

❖ Tétracaine (TC)

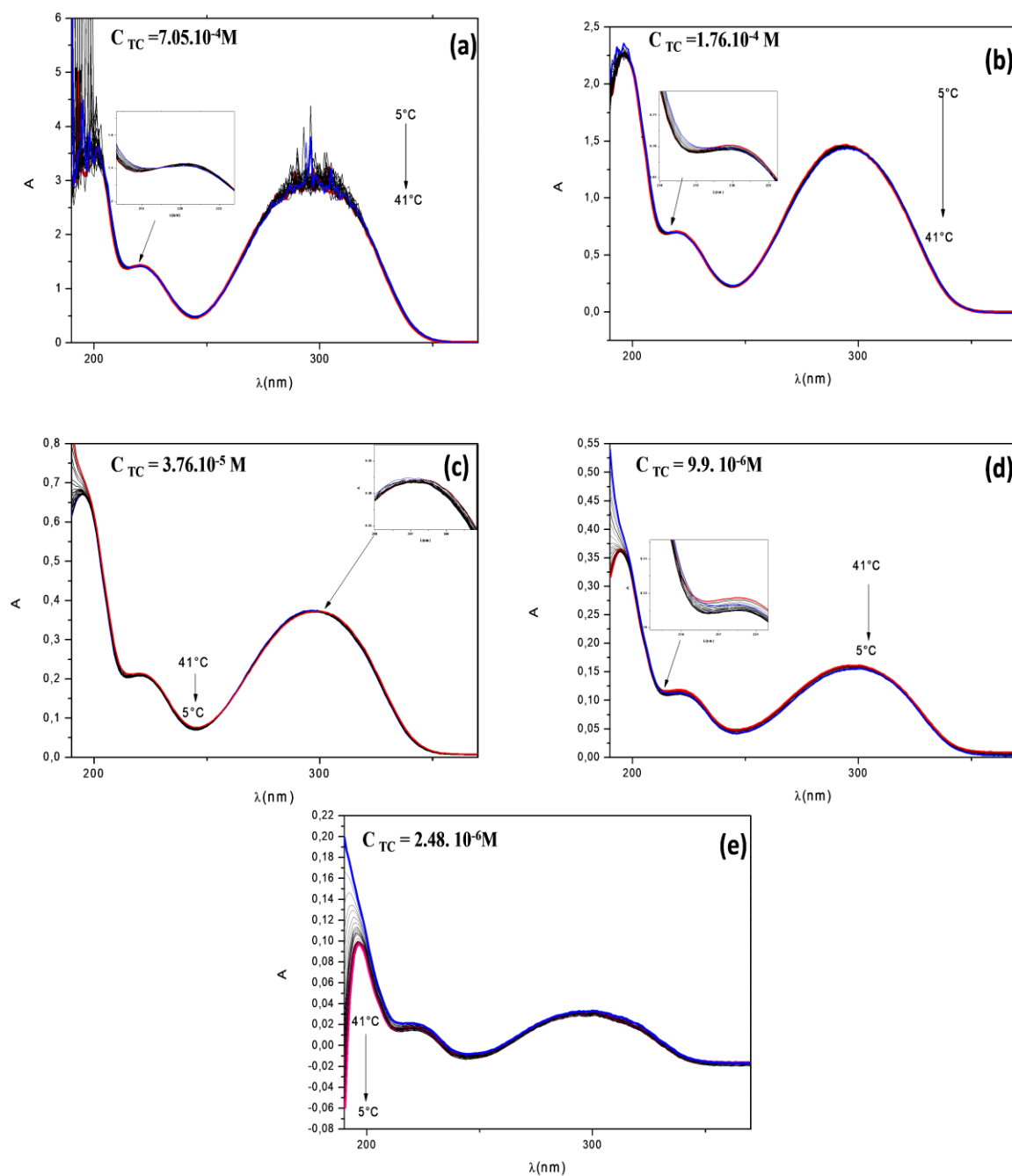


Figure III.36: Variation de l'absorbance de la solution TC en fonction de la longueur d'onde à différentes température ($T = 5 - 41^{\circ}C$) ; (a) pour $C = 7.05 \cdot 10^{-4} M$, (b) pour $C = 1.76 \cdot 10^{-4} M$, (c) pour $C = 3.76 \cdot 10^{-5} M$, (d) pour $C = 9.9 \cdot 10^{-6} M$ et (e) pour $C = 2.48 \cdot 10^{-6} M$.

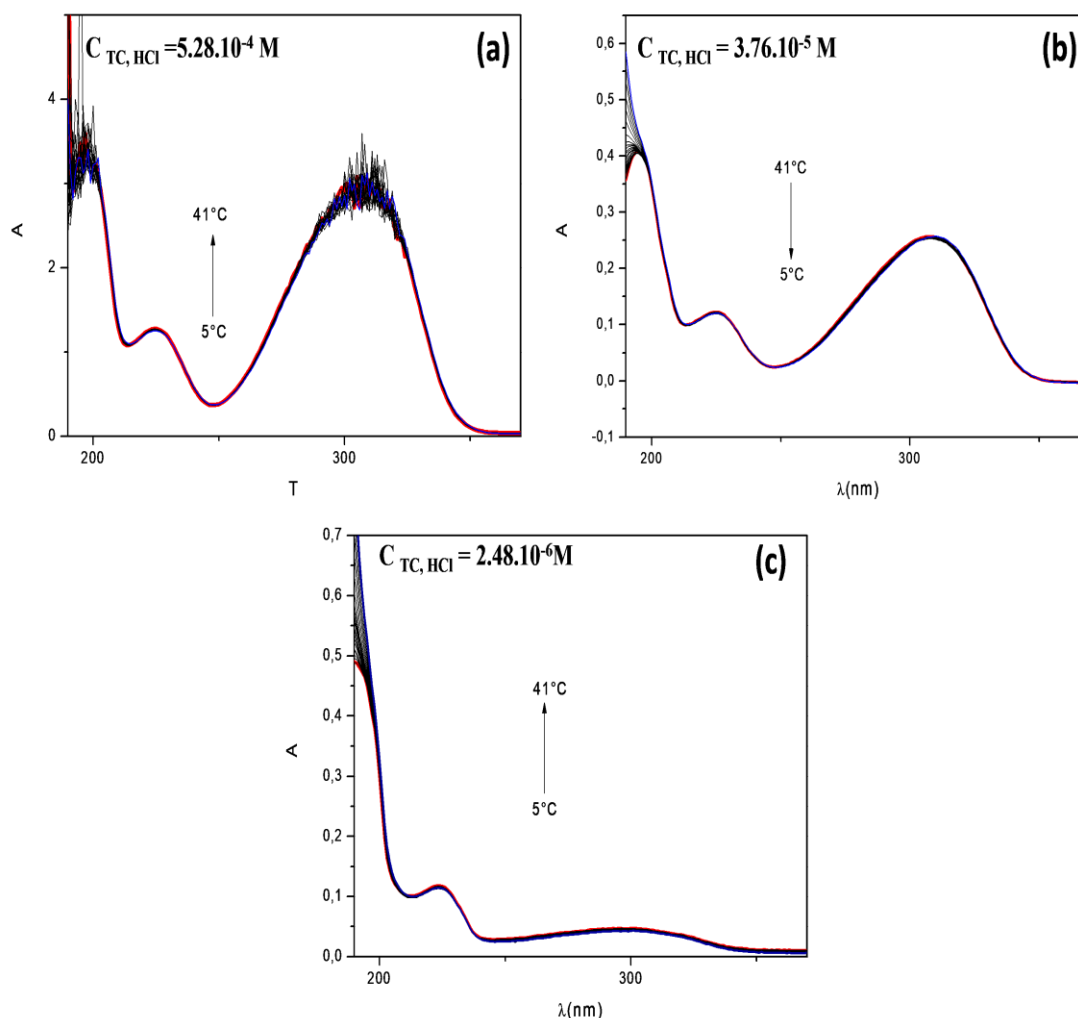
Tétracaïne (TC, HCl)

Figure III.37: Variation de l'absorbance du mélange (TC , HCl) en fonction de λ la température à différents température ($T = 5 - 41^{\circ}\text{C}$) (a) pour $C = 5.48 \cdot 10^{-4} \text{ M}$, (b) pour $C = 3.76 \cdot 10^{-5} \text{ M}$ et (c) pour $C = 2.48 \cdot 10^{-6} \text{ M}$.

Dans toutes les figures ci-dessus, on remarque que l'allure du spectre reste la même avec une légère augmentation de l'intensité pour les concentrations de TC ($C = 3.76 \cdot 10^{-5} \text{ M}$, $9.9 \cdot 10^{-6} \text{ M}$ et $2.48 \cdot 10^{-6} \text{ M}$) sauf pour les deux concentrations les plus élevées ($7.05 \cdot 10^{-4} \text{ M}$ et $1.76 \cdot 10^{-4} \text{ M}$), on remarque une légère diminution de l'intensité. En ce qui concerne les concentrations de TC,HCl, on remarque que l'allure du spectre reste aussi la même avec une variation négligeable de l'intensité comparée aux concentrations de

TC. L'apparition du point isobestique dans les différentes figures de TC prouve l'existence d'un équilibre peut être dû au phénomène d'auto-association (micellisation) dans ce domaine de concentration grâce aux propriétés tensioactives de ces molécules. Ceci est en accord avec les résultats trouvés précédemment dans l'effet de concentration. Ce phénomène peut être plus facilement appréhendé sur les figures suivantes :

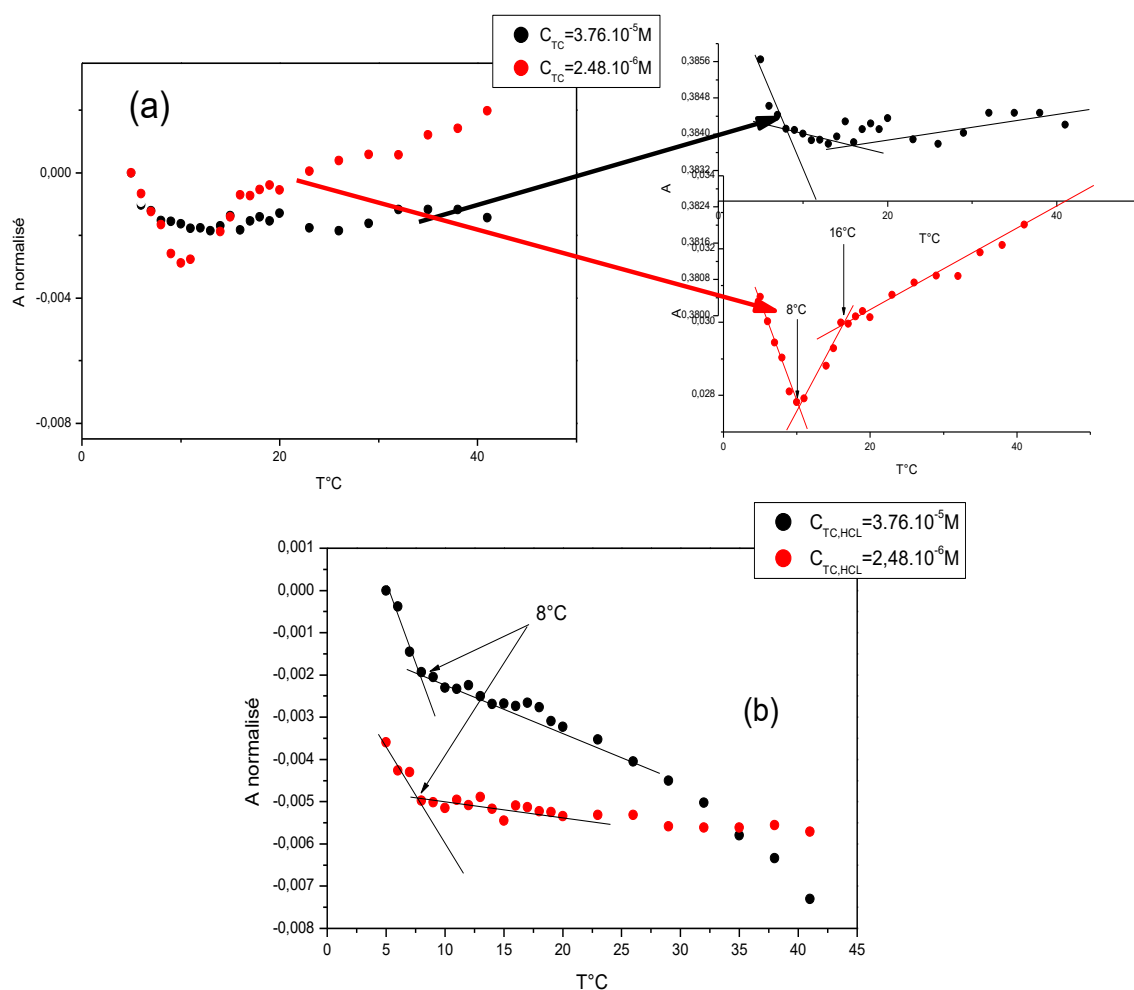


Figure III. 38: Variation de l'absorbance de différentes concentrations de (a) TC et (b) TC,HCl en fonction de la température ($T=5-41^{\circ}\text{C}$) pour la longueur d'onde $\lambda=298\text{nm}$.

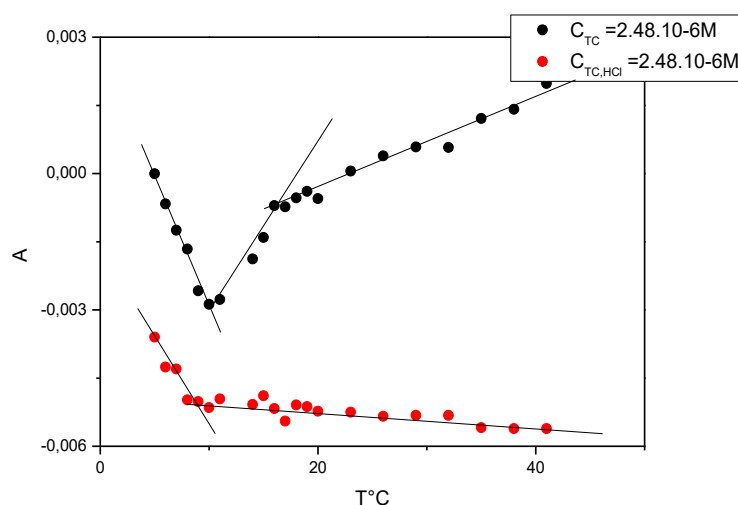


Figure III. 39: Variation de l'absorbance de la concentration ($C_{TC} = 2.48 \cdot 10^{-6}$ ●) et ($C_{TC,HCl} = 2.48 \cdot 10^{-6}$ ●) en fonction de la température ($T = 5-41^{\circ}C$) pour la longueur d'onde ($\lambda = 298nm$)

La figure III.39 montre la variation de l'absorbance de la solution TC et TC,HCl respectivement à différentes concentrations en fonction de la température pour la longueur d'onde ($\lambda = 298nm$). A titre de comparaison la figure 18 regroupe les variations de l'absorbance de la solution TC et TC,HCl respectivement à la même concentration en fonction de la température pour la longueur d'onde ($\lambda = 298nm$). A partir de ces résultats, on remarque que TC,HCl présente une seule déviation à l'environ de $8^{\circ}C$ au contraire des solutions de TC qui présentent deux déviations aux environs de $8^{\circ}C$ et $16^{\circ}C$. Cette différence est peut-être dû au phénomène d'agrégation sachant que ce dernier dépend à la fois de la concentration et de la température.

III. 6. Conclusion

L'ensemble des résultats expliqués dans ce chapitre constitue la première étape de cette thèse. Les complexes d'inclusion de βCD et solvants ont montré des résultats intéressants. Nous avons essayé de former des complexes de βCD avec les solvants. Les complexes préparés ont ensuite été caractérisés avec deux techniques de caractérisation pour comprendre le comportement et la capacité de complexation de chaque solvant utilisé. L'objectif était de savoir lequel des solvants forme un complexe avec les CDs.

Il a été conclu de l'ensemble des résultats obtenus à l'état solide que les deux solvant (éthanol et chloroforme) ne montrent pas de résultats intéressants en matière de complexes d'inclusion avec la β CD. En interprétant les résultats de FT-IR, on peut conclure que les méthodes de préparation sont incapables de déplacer les pics de caractérisation et leurs intensités.

Les résultats DSC pour l'effet de cycle thermique sur les principes actifs ont montré une seule courbe endothermique correspondant à l'élimination vers des molécules d'eau étroitement liées. Aucune autre information n'a pu être révélée après une analyse détaillée. Les résultats pour les solvants ont montré de multiples courbes endothermiques pour chaque solvant qui ne sont pas liées à leurs points d'ébullition respectifs. On peut supposer qu'ils se produisent en raison de la fusion des cristaux du complexe d'inclusion. Dans les cas où il y a plus de deux profondeurs endothermiques, cela indique la formation de différentes structures cristallines des complexes d'inclusion formés.

L'étude spectrophotométrique UV–Visible des molécules invitée seule a permis de mettre en évidence l'influence notable de la concentration et de la température sur ses comportements en solution. L'augmentation de la concentration a entraîné une variation significative de l'intensité d'absorbance et, dans certains cas, un léger déplacement des bandes caractéristiques, traduisant des phénomènes d'agrégation ou de changement de l'environnement du chromophore. Par ailleurs, l'élévation de la température a modifié l'intensité et parfois la position des maxima d'absorption, suggérant une évolution des interactions intermoléculaires et de la stabilité des molécules en solution. Ces résultats confirment l'importance de contrôler précisément ces paramètres lors de l'analyse UV–Visible afin d'obtenir des données fiables et reproductibles et constituent une base utile pour l'étude ultérieure de la complexation de ces molécules avec des excipients ou des hôtes.

Chapitre IV :
**Résultats expérimentaux des complexes
d'inclusion**

Chapitre IV : Résultats expérimentaux des complexes d'inclusion

IV.1. Introduction

Dans le domaine pharmaceutique, de nombreuses substances bioactives présentent une faible solubilité aqueuse ainsi qu'une stabilité chimique et thermique réduite. Pour surmonter ces limitations et améliorer leur biodisponibilité, l'utilisation des cyclodextrines (CDs) en tant qu'agents complexants et vecteurs moléculaires constitue une stratégie efficace et largement documentée. Parmi ces applications, l'inclusion d'anesthésiques locaux par la β -cyclodextrine (β CD) et son dérivé hydrophile, l'hydroxypropyl- β -cyclodextrine (HP β CD), a fait l'objet de nombreux travaux expérimentaux et théoriques en phase aqueuse (**Fergoug ,2010 ; Nouairi et al., 2017; Azayez et al., 2020; Meddah et al., 2021 ;Boudjoras et al., 2022**). En revanche, les études portant sur l'inclusion de ces molécules à l'état solide restent encore limitées. Cette section vise à étudier la complexation, à l'état solide et en milieu aqueux, de trois anesthésiques locaux de structures voisines : la tétracaïne, le chlorhydrate de tétracaïne et le chlorhydrate de procaïne, avec deux cyclodextrines sélectionnées (β CD et HP β CD), représentées à la figure III.2. Le choix de ces principes actifs repose sur leur intérêt thérapeutique commun et leur proximité structurale, permettant d'examiner l'effet de légères variations fonctionnelles sur leur inclusion dans les CDs. Les méthodes de préparation et la caractérisation des différents composants ont été décrites dans les chapitres précédents. L'étude de la formation des complexes d'inclusion repose sur plusieurs techniques analytiques complémentaires : la calorimétrie différentielle à balayage (DSC), la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FT-IR), la spectroscopie UV-Visible (dispositifs sont décrits au chapitre III), ainsi que la titration calorimétrique isotherme (ITC, dispositif est présentée dans ce chapitre). Ces techniques permettent de mettre en évidence les modifications thermiques, spectrales et structurales caractéristiques de la formation de complexe d'inclusion. Les résultats obtenus seront présentés et discutés dans ce chapitre. Le tableau IV.1 résume l'ensemble des systèmes étudiés ainsi que les techniques utilisées pour démontrer la formation des complexes d'inclusion

Tableau IV.1 : Les complexes d'inclusion étudiés et les techniques analytiques utilisées.

	<i>Tétracaïne</i>	<i>Tétracaïne hydrochloride</i>	<i>Procaïne hydrochloride</i>
<i>β-cyclodextrine</i>	DSC, FT-IR UV/Visible, ITC	DSC, FT-IR UV/Visible, ITC	DSC, FT-IR UV/Visible, ITC
<i>HPβ- cyclodextrine</i>	DSC, FT-IR ITC	DSC, FT-IR ITC	DSC, FT-IR

A titre de remarque, nous avons tenté de la caractériser (complexe tétracaïne / βCD préparé par méthode évaporation) par DSC mais le spectre obtenu n'est pas exploitable probablement en raison de sa forte substitution.

IV.2. Étude des complexes d'inclusion à l'état solide

Des systèmes solides équimolaires de ALs avec les CDs examinés ont été caractérisés par des analyses de calorimétrie différentielle à balayage et de spectroscopie infrarouge, afin d'examiner et comparer la capacité de chaque support à provoquer des interactions solides efficaces avec le médicament. Étant donné que la méthode de préparation utilisée pour obtenir des systèmes solides médicament–CD peuvent influencer de manière significative les propriétés physico-chimiques des produits finaux (**Cirri et al., 2009 ; Mennini et al., 2014**) , quatre techniques différentes (c'est-à-dire le mélange physique, le pétrissage par force, la co-évaporation et co-évaporation aux présences des solvants) ont été employés et comparés.

Afin d'exclure tout effet possible dû au traitement de l'échantillon, les ALs et CDs seuls ont été soumis aux mêmes processus. Les profils thermiques des échantillons de AL pur, enregistrés après leur traitement selon les mêmes procédures utilisées pour préparer systèmes binaires médicament–CD, étaient pratiquement inchangés par rapport à ceux du ALs non traités (résultats montrés dans le chapitre III), indiquant l'absence de variations appréciables des propriétés de l'état solide de ALs.

IV.2.1. Étude thermique des complexes d'inclusion ALs /CDs par Calorimétrie différentielle à balayage (DSC)

Les courbes DSC du ALs pur, des CDs et de la série des différents systèmes équimolaires de ALs-CDs sont montrés dans les figures IV.5 et IV.6, tandis que Les tableaux IV.2 et IV.3 rapportent les paramètres thermiques pertinents de ALs dans les différents systèmes binaires et son degré de cristallinité relative (RDC). Valeurs, prises comme un indice de l'intensité des interactions à l'état solide entre les composants.

IV.2.1.1. Étude thermique des complexes d'inclusion ALs / β CD

Le thermogramme de TC figure IV .1a a montré un pic endothermique net à 44.8 °C correspondant à son point de fusion. Le comportement thermique du TC malaxé (PM) et du TC malaxé avec force (PMf) est similaire à celui des échantillons non traités, ce qui indique que leurs propriétés à l'état solide n'ont pas été sensiblement affectées par les processus de pétrissage (figure IV .1a). Le thermogramme DSC de β CD a montré un large effet endothermique allant de 35 à 137 °C en raison du processus de déshydratation. L'endotherme de fusion de TC a conservé sa forme dans tous les (KN, CV et EV) (figure IV.1a), mais dans le mélange (ROV, CV et EV) il y a une réduction marquée de l'intensité et / ou de l'élargissement de l'endotherme TC autour de 42 °C indiquant une inclusion partielle de TC dans Les cavités de β CD où un décalage prononcé de la température maximale de l'endotherme de fusion TC (44 .8 °C) indiquant une interaction plus faible entre TC et β CD. La figure IV. 5b montre deux pics endothermiques aigus à 139,7 °C et 149,52 °C lorsque la TC,HCl est mélangé avec β CD sans pétrissage intensif, le mélange physique obtenu (PM) montre la présence des deux premiers pics de TC,HCl avec une atténuation du signal du pic à 149 °C, révélant son instabilité (passant à l'espèce à 139,7 °C) ou que cette espèce est hypothétiquement incorporée spontanément dans la β CD. Les thermogrammes du complexe d'inclusion TC,HCl/ β CD préparé par mélange physique par pétrissage PMf , pétrissage KN (1:1) ,co évaporation avec absence ou présence des solvant (ROV ,CV ,EV) montrent la disparition complète des pics endothermiques caractéristiques de TC, HCl et le déplacement du large pic d'eau de β CD en raison du processus de déshydratation.

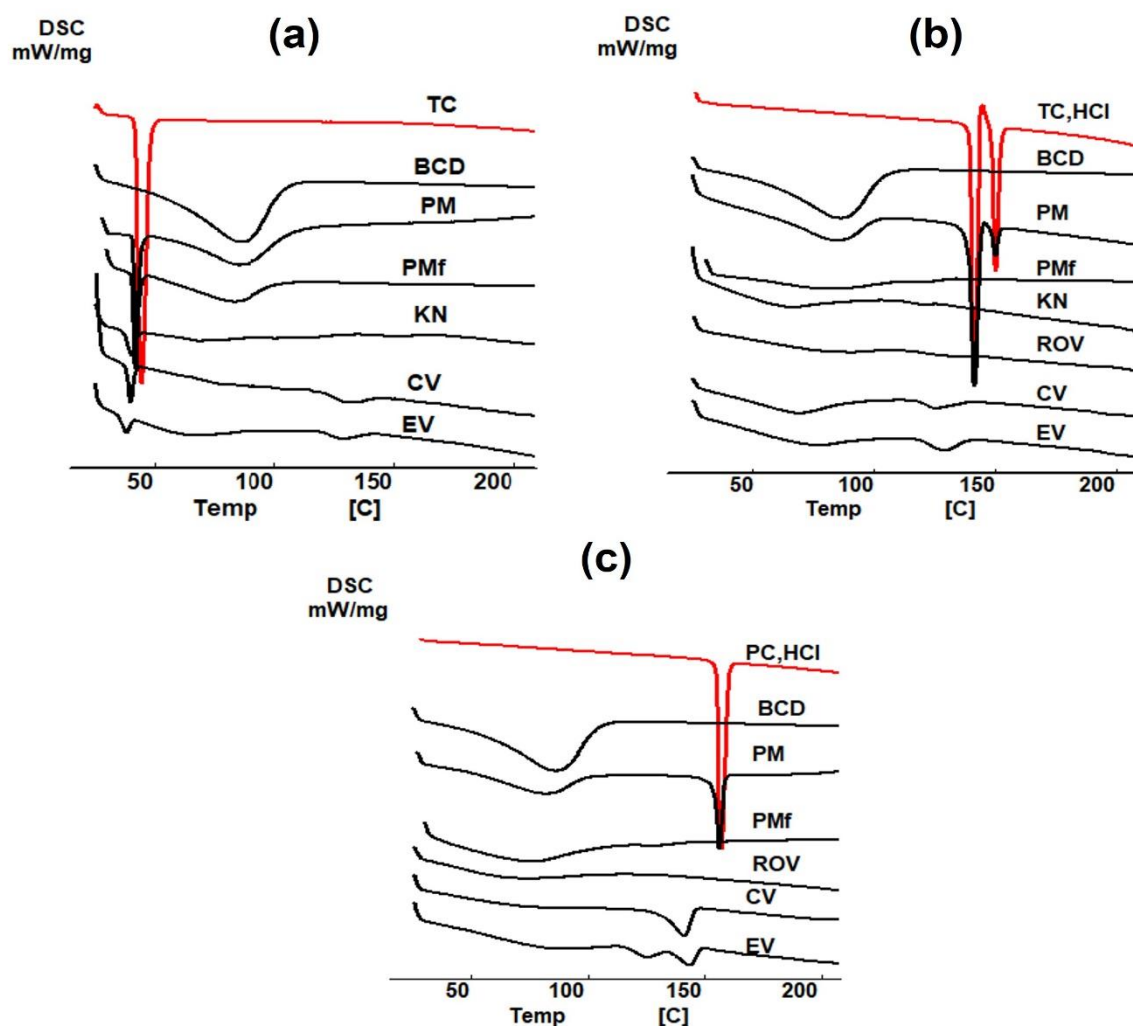


Figure IV. 1 : Courbes DSC de β CD, ALs, mélange physique (PM), mélange physique avec pétrissage (PMf) kneading (KN), co-évaporation (ROV), co-évaporation de chloroforme (CV) et co-évaporation d'éthanol (EV). (a) : tétracaïne basique, (b) : chlorhydrate de tétracaïne, (c) : chlorhydrate de procaine.

La figure IV. 1c montre que le profil thermique caractéristique du médicament (PC,HCl) est proche du profil thermique observé avec TC,HCl, sauf la présence d'un pic de fusion unique à 153°C. Lorsque thermogramme du mélange physique correspondant (PM) est comparé aux thermogrammes des molécules hôtes ou invitées pures, il est facile de noter la superposition parfaite sans décalage de pic. Lorsque les mélanges (PMf , KN, ROV , CV et EV) sont comparés aux échantillons purs, le pic de fusion du médicament disparaît complètement avec une faible trace du signal de l'eau, contrairement au cas de TC,HCl. Pour

les mélanges de PC,HCl et TC,HCl, il est évident que la complexation a lieu pour les échantillons de PMf , KN , ROV, CV et de EV.

Pour l'ensemble des composés étudiés, le profil thermique du mélange physique est différent de celui du complexe d'inclusion correspondant. Nous remarquons que ces profils comportent une superposition des pics caractéristiques de ALs et de la β CD. Cela confirme qu'un simple mélange physique n'est pas suffisant pour induire l'encapsulation de l'invité à l'intérieur de la cavité de la β CD. Ces résultats sont en accord avec ceux de la littérature (Kfoury ,2015) .

Tableau IV .2. Paramètres thermiques des ALs purs et de leurs systèmes binaires équimolaires ALs / β CD préparés par mélange physique (PM , PMf), kneading (KN) et co-évaporation (ROV ,CV et EV).

Invitées	$T_{\text{onset}}/^{\circ}\text{C}$	$T_{\text{max}}/^{\circ}\text{C}$	$DH/J\text{ g}^{-1}$	RDC
TC		44 .8	125.38	
PM	41.91	44.79	110.34	88.00
PMf	41 .92	42.37	26.90	21.45
KN	37.49	40.76	11.22	8.73
CV	38 .51	40.18	10 .72	8 .55
EV	35.03	38.48	8.16	6 .50
TC ,HCl		150	105.90	
PM	139.291	150	92.04	86.91
PMf	-	-	-	-
KN	-	-	-	-
ROV	-	-	-	-
CV	118.57	125.73	12.69	19.42
EV	118.81	129	20.57	26 .9
PC,HCl		153	106.25	
PM	152	153	36.24	34.1
PMf	-	-	-	-
ROV	-	-	-	-
CV	134.12	140 .96	35 .22	33.14
EV	136.36	143 .27	35 .51	33.42

IV.2.1.2. Étude thermique des complexes d'inclusion ALs /HP β CD

Les thermogrammes DSC des mélanges physiques ALs/HP β CD révèlent simplement la superposition des signaux thermiques des deux composants, ce qui indique l'absence de formation d'un complexe d'inclusion (figure. 3c). En revanche, la disparition du pic de fusion de ALs dans les thermogrammes des complexes ALs/HP β CD, contrairement à celui observé dans le mélange physique, témoigne de la formation effective d'un complexe d'inclusion (Mura, 2015 ; Guo *et al.*, 2024). Cette disparition pourrait s'expliquer par la conversion de ALs de son état cristallin vers un état amorphe à la suite de l'encapsulation (Zingone et Rubessa, 2005).

La courbe thermique de TC était caractéristique d'une substance cristalline substance anhydre, présentant un profil plat avec un pic endothermique unique et aigu pic endothermique à 44,8 °C ($\Delta H = 125,38$ J/g), dû à la fusion du médicament.

Les profils thermiques caractéristique du médicament était présent dans les courbes thermiques de mélanges physiques avec la HP β CD, qui étaient presque la superposition de ceux des composants purs, même si une certaine réduction d'intensité et/ou un élargissement a été remarqué. Ces modifications peuvent être considérées comme une preuve d'interaction solide de HP β CD et/ou de la perte progressive conséquente perte de cristallinité du médicament. La disparition complète du profil thermique du médicament, indicatif d'une amorphisation totale du médicament et/ou formation de complexes d'inclusion, n'a été observée que pour les systèmes pétris avec HP β CD. Le pic de fusion du médicament était présent dans les mélanges physiques, et il est resté encore reconnaissable dans tous les mélanges pétris et co évaporés produits, bien que plus élargis et nettement réduits en intensité par rapport aux systèmes correspondants avec les CDs purs. Les valeurs de RDC% (voir le tableau IV.3) ont confirmé ces observations, indiquant un pouvoir amorphisant plus fort des dérivés amorphes de CD que des natifs cristallins, probablement en conséquence de la dispersion intime du médicament au sein de la matrice porteuse amorphe. Les systèmes binaires de ALs avec HP β CD ont montré la disparition complète du profil thermique de l'invité, sauf le mélange physique, on observe l'apparition du pic de fusion avec un changement, indiquant la plus haute affinité de ce dérivé de HP β CD pour établir des interactions

solides efficaces avec les ALs. Enfin, en ce qui concerne l'effet de la méthode de préparation, le pétrissage PMf, KN et ROV sont révélés être les plus réussies techniques pour promouvoir les interactions solides entre les ALs et la HP β CD et produire l'amorphisation des ALs, comme on peut le voir en comparant les valeurs de RDC (valeurs en % du médicament dans les différents systèmes binaires (voir le tableau IV. 3). Ce résultat a confirmé l'efficacité du pétrissage et co-évaporation de HP β CD pour obtenir et stabiliser les médicaments sous forme amorphe (Mura *et al.*, 2002 ; Maestrelli *et al.*, 2009).

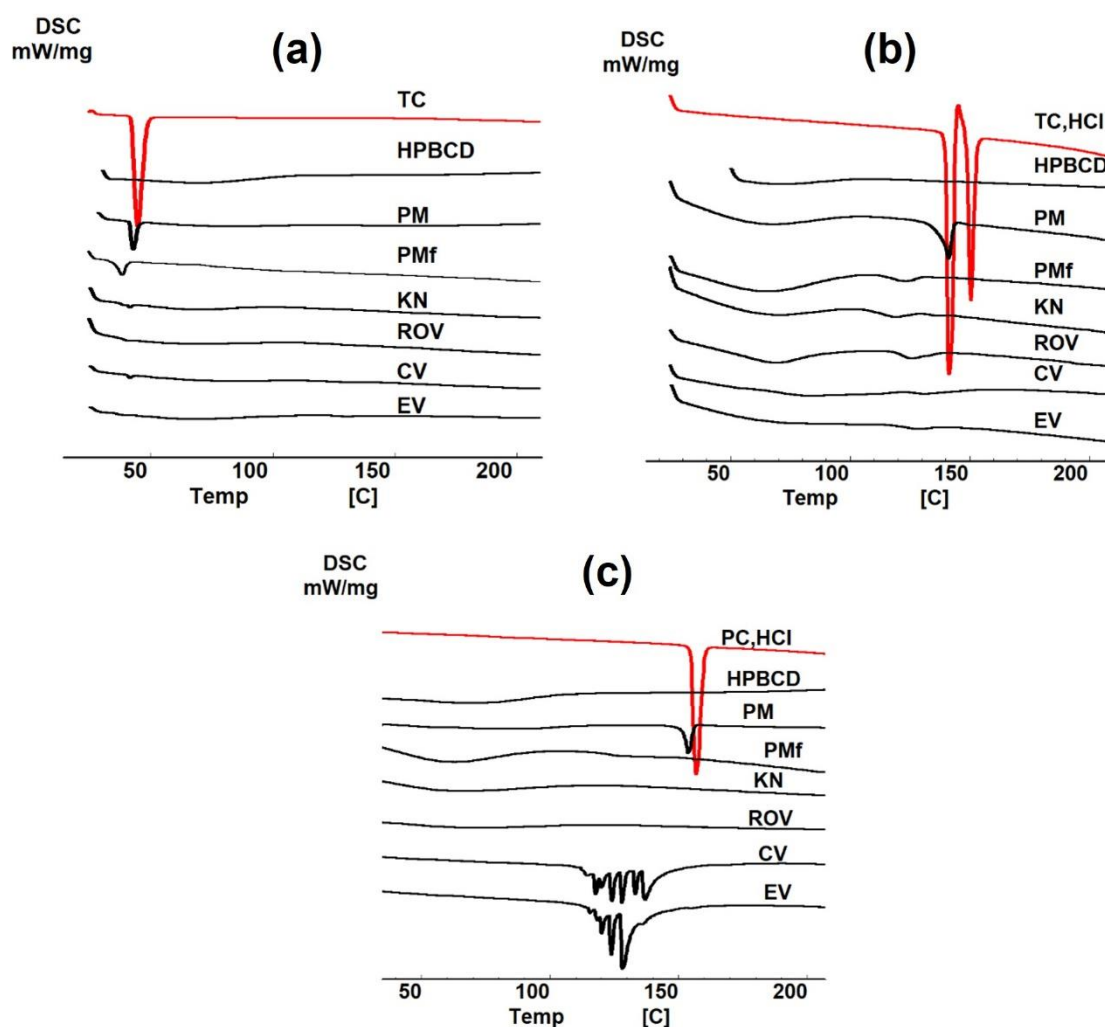


Figure IV. 2 : Courbes DSC de HP β CD, ALs, mélange physique (PM), mélange physique avec pétrissage (PMf) kneading (KN), co-évaporation (ROV) co-évaporation a la présence de chloroforme (CV) et co-évaporation a la présence d'éthanol (EV). (a) : tétracaïne basique, (b) : chlorhydrate de tétracaïne, (c) : chlorhydrate de procaine.

Tableau IV. 3. Paramètres thermiques des ALs purs et de leurs systèmes binaires équi-molaires ALs /HP β CD préparés par mélange physique (PM , PMf), kneading (KN) et co-évaporation (ROV ,CV et EV).

Invitées	$T_{\text{onset}}/^{\circ}\text{C}$	$T_{\text{max}}/^{\circ}\text{C}$	$DH/\text{J g}^{-1}$	RDC
TC		44 .8	125.38	
PM	41.19	44.72	20.00	15
PMf	34 .15	35.16	26.90	21
KN	37.49	40.76	14.27	11
ROV	-	-	-	-
CV	-	-	-	-
EV	-	-	-	-
TC ,HCl		150	105.90	
PM	138.46	150	23.86	22.53
PMf	-	-	-	-
KN	-	-	-	-
ROV	118.71	125.73	8.53	11.98
CV	-	-	-	-
EV	-	-	-	-
PC,HCl		153	106.25	
PM	151	152	15.89	14.95
PMf	-	-	-	-
KN	-	-	-	-
ROV	-	-	-	-
CV	-	-	-	-
EV	-	-	-	-

IV.2.2. Étude des complexes d'inclusion ALs / CDs par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FT-IR)

La technique de spectroscopie FT-IR a été utilisée pour l'étude qualitative de l'interaction entre ALs et CDs. Les figures IV. 6 et IV. 7 montrent les spectres FT-IR de ALs, CDs et de leurs complexes d'inclusion 1 :1 à l'état solide. Les spectres FT-IR de la β CD pure et des ALs correspondant sont présentés en haut de chaque série de spectres et correspondent aux spectres publiés dans la littérature.

La confirmation du processus d'inclusion entre les molécules invitées et hôtes à l'aide de la spectroscopie FT-IR est basée sur le concept qu'après l'inclusion dans la cavité CD, la

liberté de certaines liaisons sera restreinte en raison de l'interaction non covalente telle que les interactions hydrophobes, les interactions de Van der Waals et la liaison hydrogène entre les molécules qui interagissent. Cela devrait influencer l'intensité des pics des fréquences correspondantes. Cette approche est la méthode couramment recommandée dans ce type d'interaction et se compare bien aux approches utilisées dans les études traitant de la synthèse de nanoparticules dopées où des liaisons sont rompues et d'autres sont formées lorsque des matériaux exogènes sont piégés dans la structure native des nanoparticules (**Eshchanov et Baltaeva ,2022**). En outre, la préparation du mélange physique PM est une bonne méthode pour estimer les phénomènes d'inclusion, de sorte que la comparaison devient plus précieuse.

IV.2.2. 1. Etude des complexes d'inclusion ALs/ β CD par spectroscopie FT-IR

Comme le montre la figure IV.6 et conformément à la structure chimique correspondante, les pics caractéristiques du β CD apparaissent respectivement à 3300 cm^{-1} , 2900 cm^{-1} et 1630 cm^{-1} pour l'étirement des liaisons O-H, C-H et C=O, comme indiqué par Abou-Okeil et al (**Abou-Okeil et al., 2018**). En outre, d'autres pics sont proéminents à 1419 cm^{-1} et à 1335 cm^{-1} pour l'étirement et la flexion de la liaison C-H respectivement, tandis que le signal distinctif à 1020 cm^{-1} est attribué à l'étirement de la liaison C-O. Les molécules AL de ce travail partagent presque une large gamme du spectre IR car elles contiennent toutes le même groupe benzène para-amino-acétate. Dans le cas des molécules de chlorhydrate, les différences sont liées à la chaîne butyle entre la tétracaïne et la procaine ainsi qu'à leurs groupes aminés correspondants. Dans le cas de la tétracaïne basique et de son conjugué acide correspondant TC,HCl, les différences peuvent provenir de la subtile distinction conformationnelle entre les groupes amine et aminé.

La comparaison des spectres du TC,HCl et du TC a montré que les signaux observés sont pratiquement les mêmes, avec un léger décalage dans la position des pics. En effet, pour les molécules de TC,HCl et de TC, l'étirement symétrique N-H est observé à 3371 cm^{-1} et les vibrations d'étirement CH apparaissent à 2947 et 2865 cm^{-1} pour TC,HCl et à 2952 et 2861 cm^{-1} pour TC. À 1672 cm^{-1} , on identifie l'étirement C=O pour TC,HCl

qui se déplace à 1683 cm^{-1} dans le cas de TC. Les modes de vibration du cycle aromatique sont situés à 1600 cm^{-1} pour TC mais observés à 1500 cm^{-1} pour TC,HCl.

Le spectre FT-IR du TC/ β CD (figure IV.3a) a montré quelques changements significatifs par rapport au spectre du TC pur. Le spectre FT-IR du complexe TC/ β CD a montré les mêmes bandes distinctives avec des intensités de pic réduites par rapport au spectre du TC pur. Le signal d'étirement symétrique N-H à 3371 cm^{-1} est considérablement réduit dans le spectre des complexes d'inclusion (KN). Cela s'explique par le fait que le groupe benzène para-amino-acétate du médicament est probablement piégé dans la cavité β CD, ce qui entrave son mode de vibration. En raison de la formation du complexe d'inclusion, le signal O-H large du β CD pur à 3300 cm^{-1} a été réduit dans le spectre FT-IR des complexes d'inclusion. Ceci est une bonne indication de la formation du complexe d'inclusion (**Spektroskopik et Kemasukan, 2019**).

Le spectre FT-IR du TC,HCl/ β CD (figure IV.3b) a montré quelques changements significatifs par rapport au spectre du TC,HCl pur. Le spectre FT-IR du complexe TC,HCl/ β CD a montré les mêmes bandes distinctives mais avec des intensités plus atténuées par rapport au spectre du TC,HCl pur. L'étirement symétrique N-H à 3376 cm^{-1} a complètement disparu dans le complexe d'inclusion KN.

Pour le PC,HCl/ β CD (figure IV. 3c), les mêmes observations sont notées avec une diminution de l'intensité de plusieurs pics. On peut mentionner que l'intensité des pics à 1695 cm^{-1} du médicament (mode d'étirement C=O conjugué) qui diminue ainsi que les pics à 848 cm^{-1} et 769 cm^{-1} qui sont presque méconnaissables. L'étirement N-H symétrique à 3370 cm^{-1} a complètement disparu pour les échantillons PM et PMf mais reste présent pour l'échantillon KN. Dans le cas des échantillons TC et TC,HCl, ce pic disparaît complètement pour les échantillons KN mais reste présent dans les échantillons PM et PMf. C'est le comportement opposé observé pour les complexes PC,HCl. À partir de ces observations, nous suggérons que dans le cas des molécules TC et TC,HCl, l'inclusion dans la cavité CD se produit avec le groupe amine tertiaire au lieu de la chaîne butyle hydrophobe attendue et dans le cas de PC,HCl, l'inclusion se produit du côté de l'amine primaire au lieu de son groupe amine tertiaire. Cette suggestion est basée sur le fait que la méthode de pétrissage révèle que la contribution de l'eau ajoutée pendant la

préparation du complexe PC,HCl est moins marquée alors qu'elle est cruciale pour le processus d'inclusion.

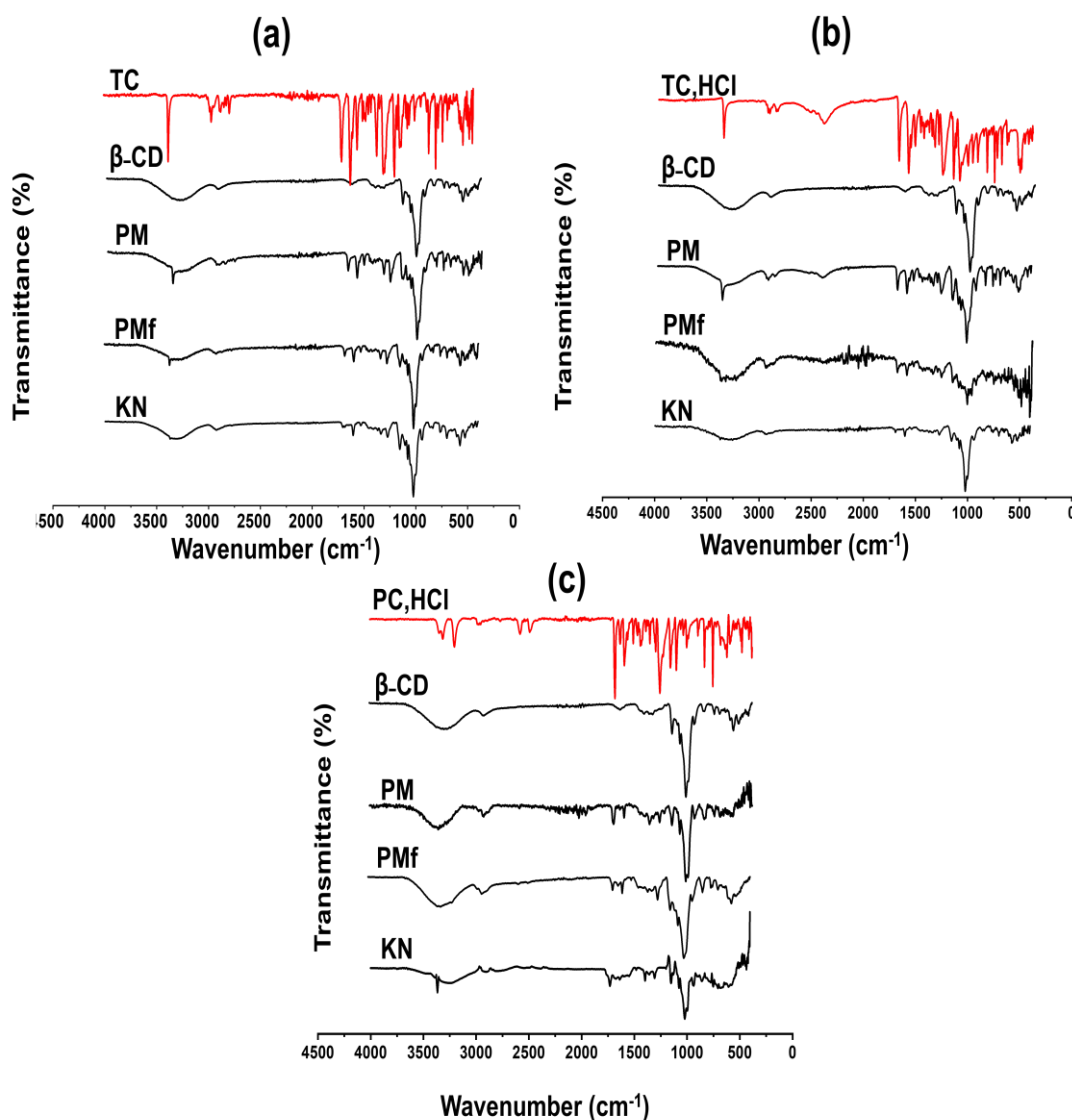


Figure IV. 3 : Spectres FT-IR de β CD, ALs, mélange physique (PM), mélange physique avec pétrissage (PMf) produits pétris (KN). (a) : tétracaine basique, (b) : chlorhydrate de tétracaine, (c) : chlorhydrate de procaine.

IV.2.2. 2. Etude des complexes d'inclusion ALs/HP β CD par spectroscopie FT-IR

Comme le montre la figure IV. 4 et conformément à la structure chimique correspondante, les pics caractéristiques du HP β CD apparaissent respectivement à 3300 cm^{-1} , 2900 cm^{-1} et 1630 cm^{-1} pour l'étirement des liaisons O-H, C-H et C=O. En outre, d'autres pics sont proéminents à 1419 cm^{-1} et à 1335 cm^{-1} pour l'étirement et la flexion

de la liaison C-H respectivement, tandis que le signal distinctif à 1020 cm^{-1} est attribué à l'étirement de la liaison C-O.

Le spectre FT-IR du TC/HP β CD (figure IV. 4a) a montré quelques changements significatifs par rapport au spectre du TC pur. Le spectre FT-IR du complexe TC/HP β CD a montré les mêmes bandes distinctives avec des intensités de pic réduites par rapport au spectre du TC pur. Le signal d'étirement symétrique N-H à 3371 cm^{-1} est considérablement réduit dans le spectre des complexes d'inclusion (KN). Cela s'explique par le fait que le groupe benzène para-amino-acétate du médicament est probablement piégé dans la cavité HP β CD, ce qui entrave son mode de vibration. En raison de la formation du complexe d'inclusion,

Le spectre FT-IR du TC,HCl/HP β CD (figure IV. 4b) a montré quelques changements significatifs par rapport au spectre du TC,HCl pur. Le spectre FT-IR du complexe TC,HCl/HP β CD a montré les mêmes bandes distinctives mais avec des intensités plus atténuées par rapport au spectre du TC,HCl pur. L'étirement symétrique N-H à 3376 cm^{-1} a complètement disparu dans le complexe d'inclusion PM et PMf mais reste présent pour l'échantillon KN.

Pour le PC,HCl/ HP β CD (figure IV. 4c), les mêmes observations sont notées avec une diminution de l'intensité de plusieurs pics. On peut mentionner que l'intensité des pics à 1695 cm^{-1} du médicament (mode d'étirement C=O conjugué) qui diminue ainsi que les pics à 848 cm^{-1} et 769 cm^{-1} qui sont presque méconnaissables. L'étirement N-H symétrique à 3370 cm^{-1} a complètement disparu pour les échantillons PM, PMf et KN.

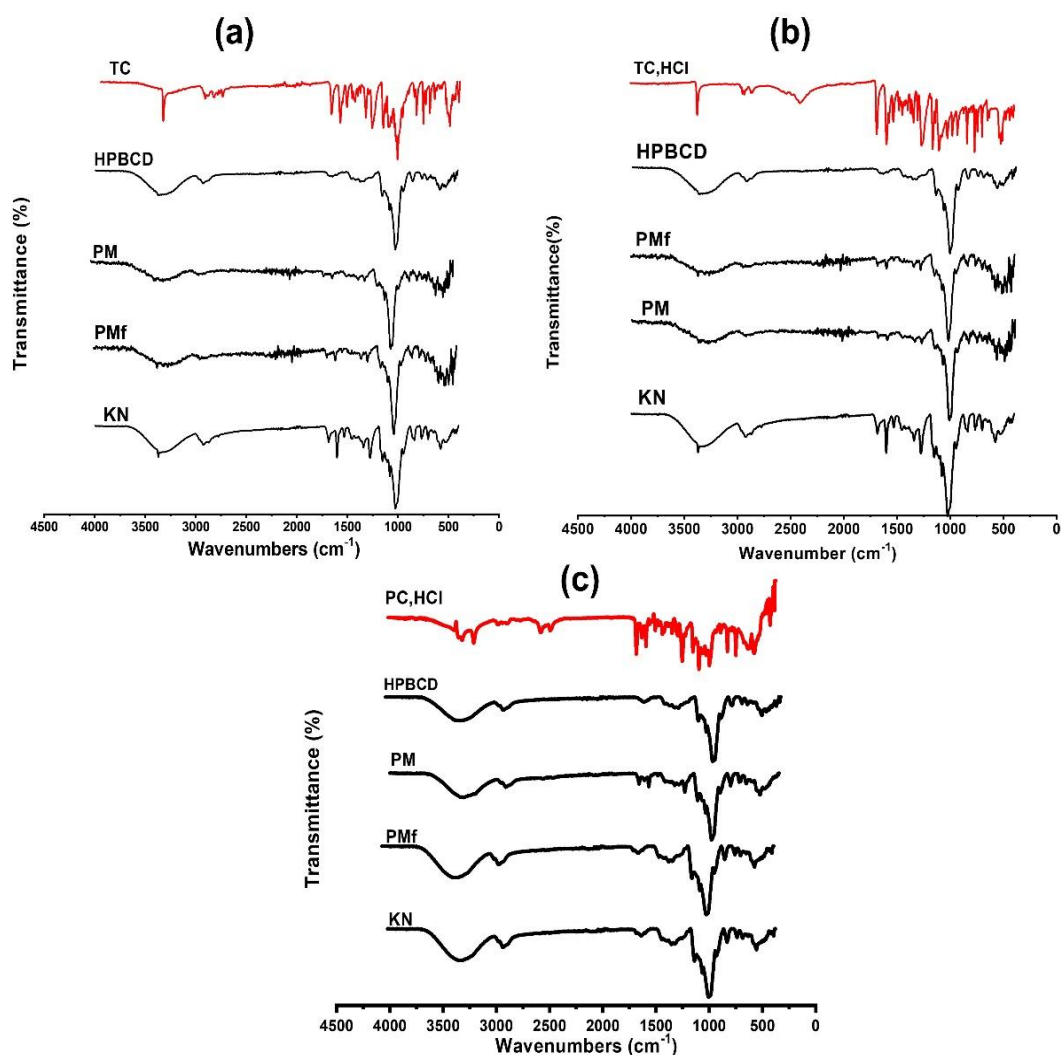


Figure IV. 4 : Spectres FT-IR de HP β CD, ALs, mélange physique (PM), mélange physique avec broyage (PMf) produits pétris (KN). (a) : tétracaïne basique, (b) : chlorhydrate de tétracaïne, (c) : chlorhydrate de procaine)

Dans le cas des échantillons TC et TC,HCl, ce pic présent pour les échantillons KN mais disparaît dans les échantillons PM et PMf. C'est le comportement opposé observé pour les complexes PC,HCl. À partir de ces observations, nous suggérons que dans le cas des molécules TC et TC,HCl, l'inclusion dans la cavité CD se produit avec le groupe amine tertiaire au lieu de la chaîne butyle hydrophobe attendue et dans le cas de PC,HCl, l'inclusion se produit du côté de l'amine primaire au lieu de son groupe amine tertiaire. Cette suggestion est basée sur le fait que la méthode de pétrissage révèle que la

contribution de l'eau ajoutée pendant la préparation du complexe TC et TC,HCl est moins marquée alors qu'elle est cruciale pour le processus d'inclusion de PC,HCl .

IV.3. Étude physico-chimique des complexes d'inclusion à l'état liquide

IV.3.1. Étude des complexes d'inclusion par spectroscopie UV-VIS

La spectroscopie UV-VIS a été initialement utilisée pour étudier les interactions hôte-invité, pour démontrer la formation du complexe et pour déterminer la stœchiométrie et la constante de stabilité du complexe AL/ β CD. Les spectres d'absorption des AL dans l'eau, enregistrés à une température de 25 °C en l'absence et en présence de β CD, sont montrés dans la figure IV.5. Le maxima d'absorption correspondant au chromophore aminobenzoate ont été identifiés à des longueurs d'onde de 292 nm, 293 nm et 295 nm pour les solutions aqueuses de TC, TC,HCl et PC,HCl, respectivement. L'émergence claire de points isobestiques dans les trois spectres indique la présence d'un équilibre chimique entre les molécules de médicament complexées et molécules libres. Les observations combinées des décalages de longueur d'onde maximale tant en intensité (hyperchromique) qu'en position (bathochromique) indiquent que la formation des complexes (TC/ β CD), (TC,HCl/ β CD) et (PC, HCl/ β CD) a effectivement eu lieu pour les trois molécules de médicament. Considérant que leurs concentrations restent constantes tout au long des expériences et que le β CD n'absorbe pas la lumière dans cette plage de longueurs d'onde. Par conséquent, nous pouvons affirmer qu'une partie des molécules de AL est probablement encapsulée dans la cavité de β CD. De plus, les caractéristiques distinctes observées dans chaque spectre concernant les variations de longueur d'onde et d'absorbance suggèrent que différents mécanismes de complexation ont pu se produire, malgré la similitude structurelle des chromophores présents dans ces molécules.

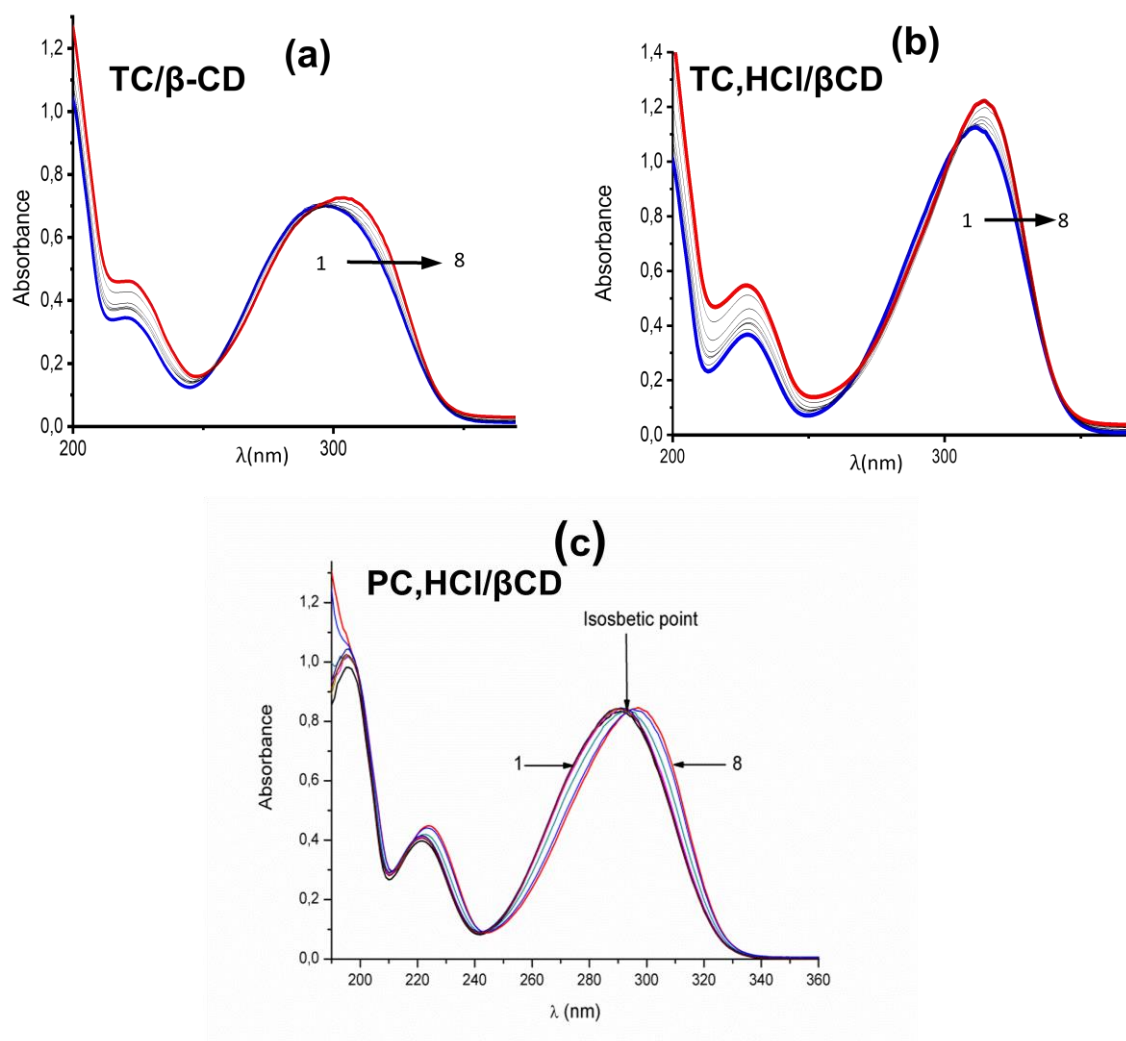


Figure IV. 5 : Spectres d'absorption UV-Vis des trois ALs : (a) TC/βCD, (b) TC,HCl/βCD et (c) PC,HCl/βCD.

(Les variations de ΔA pour le mélange (TC,HCl/βCD) ou de $\Delta \lambda$ pour les mélanges (PC,HCl/ βCD) et (TC/βCD) en fonction de la concentration de βCD à $T = 25^\circ\text{C}$ sont montrées sur (figure IV.6). L'ajustement non linéaire des données des trois courbes appliquées au modèle de stœchiométrie 1:1 avec l'équation (II.14) présentées dans le chapitre II permet de déduire les constantes de complexation K_{11} comme illustré dans le tableau IV.4.

Tableau IV.4 : Valeurs de constante de formation (K_{11}) pour ALs / β CD

Complexe	Constante de formation ;
	K_{11}
TC	100 .55
TC,HCl	403.27
PC,HCl	223 .18

Les valeurs K_{11} obtenues reflètent une affinité modérée de la β CD pour le TC,HCl et le PC,HCl, ce qui est approprié d'un point de vue pharmacologique. Au contraire, une affinité plus élevée entre le médicament et le β CD est observée pour le TC,HCl, ce qui peut entraîner une difficulté de livraison du TC,HCl à l'organisme par rapport aux deux autres médicaments. La plus grande affinité de β CD pour TC,HCl par rapport à TC peut être attribuée à l'indisponibilité des molécules monomériques basiques de TC libres en solution en vrac à cette plage de concentration et température, car cette forme basique est connue pour son insolubilité dans l'eau.

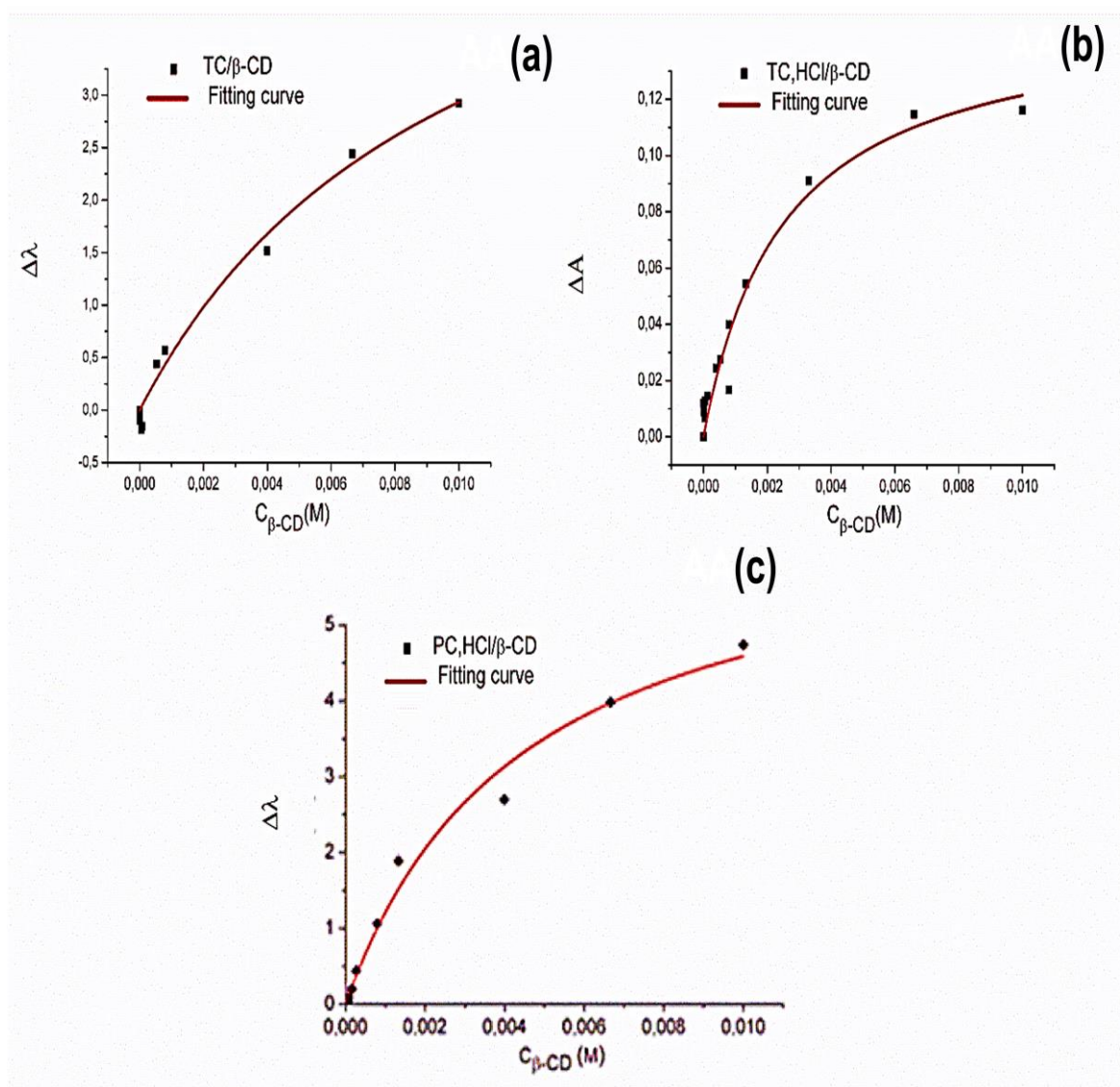


Figure IV. 6 : Variation de ΔA pour (b) TC,HCl/ β CD, $\Delta\lambda$ pour (a) TC/ β CD et (c) PC,HCl/ β CD en fonction de la concentration de β CD à $T = 25^\circ\text{C}$.

IV.3.2. Étude thermodynamiques des complexes d'inclusion ALs /CDs par calorimétrie à titration isotherme (ITC)

La calorimétrie à titration isotherme (ITC) est bien connue comme la méthode la plus précise pour déterminer les paramètres thermodynamiques de l'interaction ligand-CD et pour extraire des paramètres tels que la stoechiométrie (n) et la constante de liaison (K).

IV.3. 2.1. Protocoles de mesure

Les expériences de titration calorimétrique isotherme (ITC) ont été réalisées à l'aide d'un appareil Nano ITC à faible volume (TA Instruments) à température ambiante ($298,15 \pm 0,5$ K). L'étalonnage du calorimètre a été effectué par voie électrique, et une titration CaCl_2 –EDTA a été réalisée afin de vérifier le bon fonctionnement de l'appareil. Les résultats (stœchiométrie n , constante d'équilibre K , enthalpie ΔH) ont été comparés à ceux obtenus à partir des mêmes échantillons à l'aide d'un kit de test. Avant la titration, tous les échantillons ont été dégazés pendant 10 minutes à l'aide d'un dégazeur TA. La cellule d'échantillon a été remplie avec 1300 μL de solution de βCD , tandis que la seringue de titration contenait 250 μL de solution d'anesthésique local (AL) comme le montre la figure IV.7. La cellule de référence, quant à elle, était remplie d'eau déionisée et dégazée. Une titration incrémentale a été effectuée avec 25 injections de 10 μL chacune (à l'exception de la première injection, limitée à 2 μL), à un débit de 0,5 μL par seconde, avec un intervalle de 400 secondes entre chaque injection afin de permettre un retour complet à la ligne de base. Les paramètres suivants ont été utilisés : vitesse d'agitation de 200 rpm et délai initial de 200 secondes. Ces mêmes paramètres ont également été utilisés pour les expériences de dilution de la βCD et de l'AL. Les chaleurs de dilution de la βCD et de l'AL étaient faibles comparées à la chaleur de liaison, et ont été soustraites des résultats expérimentaux de titration. Le changement de volume dans la cellule de mélange dû à l'injection de la solution d'AL a été corrigé automatiquement par le logiciel TA 3.10.0/2018.2019. Les données expérimentales ont été traitées selon un modèle d'interaction basé sur un ensemble unique de sites identiques. À partir des valeurs de la constante d'équilibre (K) et de l'enthalpie de complexation (ΔH), l'énergie libre de Gibbs (ΔG) et l'entropie de formation du complexe (ΔS) ont été calculées pour tous les systèmes étudiés, selon les équations II .19 et II .20 présentées dans le chapitre II.

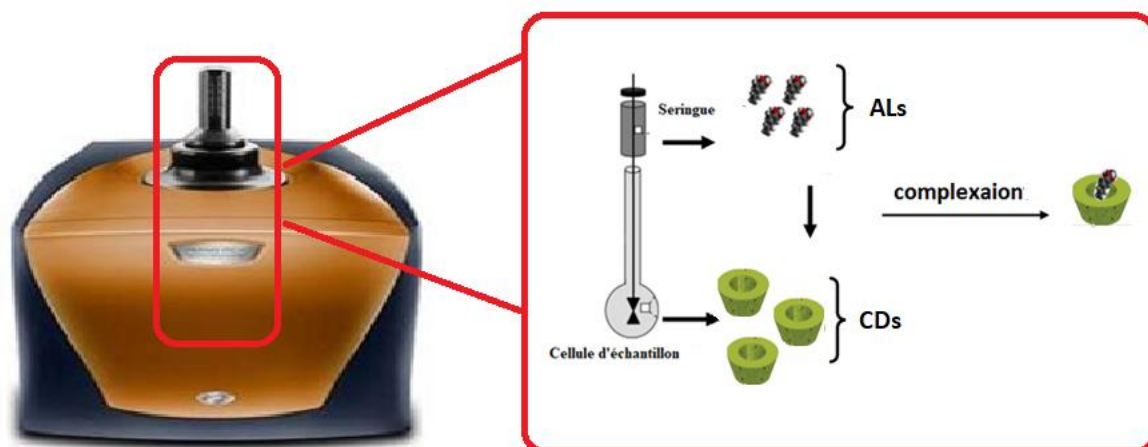


Figure IV. 7 : Protocole de mesure par ITC

IV.3. 2.2. Résultats et discussion

IV.3. 2.2. 1. Etude thermodynamiques des complexes d'inclusion ALs / β CD

La figure IV.8 montre à la fois les profils de titration calorimétrique et les isothermes de chaleur de réaction correspondants pour la liaison des médicaments AL à la β CD dans des solutions aqueuses à une température de 25 °C ($298,15 \pm 0,5$ K). Le tableau IV .5 résume les paramètres thermodynamiques calculés à partir de l'enthalpogramme ITC. Dans la figure (IV .8), il est évident de noter que différents profils d'enthalpogrammes sont exhibés, en particulier ceux de la tétracaïne basique TC. En fait, le cas de la tétracaïne basique montre un profil de forme sigmoïdale incomplet, ce qui conduit à des paramètres d'ajustement non réalistes inattendus (valeur inappropriée pour $n = 0,1$) et rend donc les données sur l'interaction de ce médicament avec le β CD moins précises par rapport aux deux autres invités. Ces résultats peuvent révéler que la quantité de molécules de tétracaïne basique libre dans la solution en vrac est limitée pour induire une interaction hôte-invité, comme le suggèrent les données UV-Vis. Pour les deux autres hydrochlorures des anesthésiques locaux, de meilleurs profils sont obtenus avec des valeurs ΔG négatives, impliquant des processus spontanés qui favorisent l'interaction de liaison (**Jakšić et al., 2023**). On peut voir dans le tableau IV .5. Les ΔH calculés pour les systèmes TC,HCl et PC,HCl sont négatifs, ce qui signifie que les processus de complexation correspondants sont exothermiques. De plus, les

entropies de formation standard déduites (ΔS) sont positives dans tous les cas, comme cela est généralement rapporté pour de telles molécules, avec un léger excès pour le complexe PC,HCl. Donc, pour comparer les données des deux médicaments hydrochlorides, il est nécessaire de considérer que la force de l'interaction dépend de la largeur de la cavité de la β CD, des volumes de la partie pénétrante des molécules hôtes et de la propension des molécules d'eau internes de β CD à quitter la cavité.

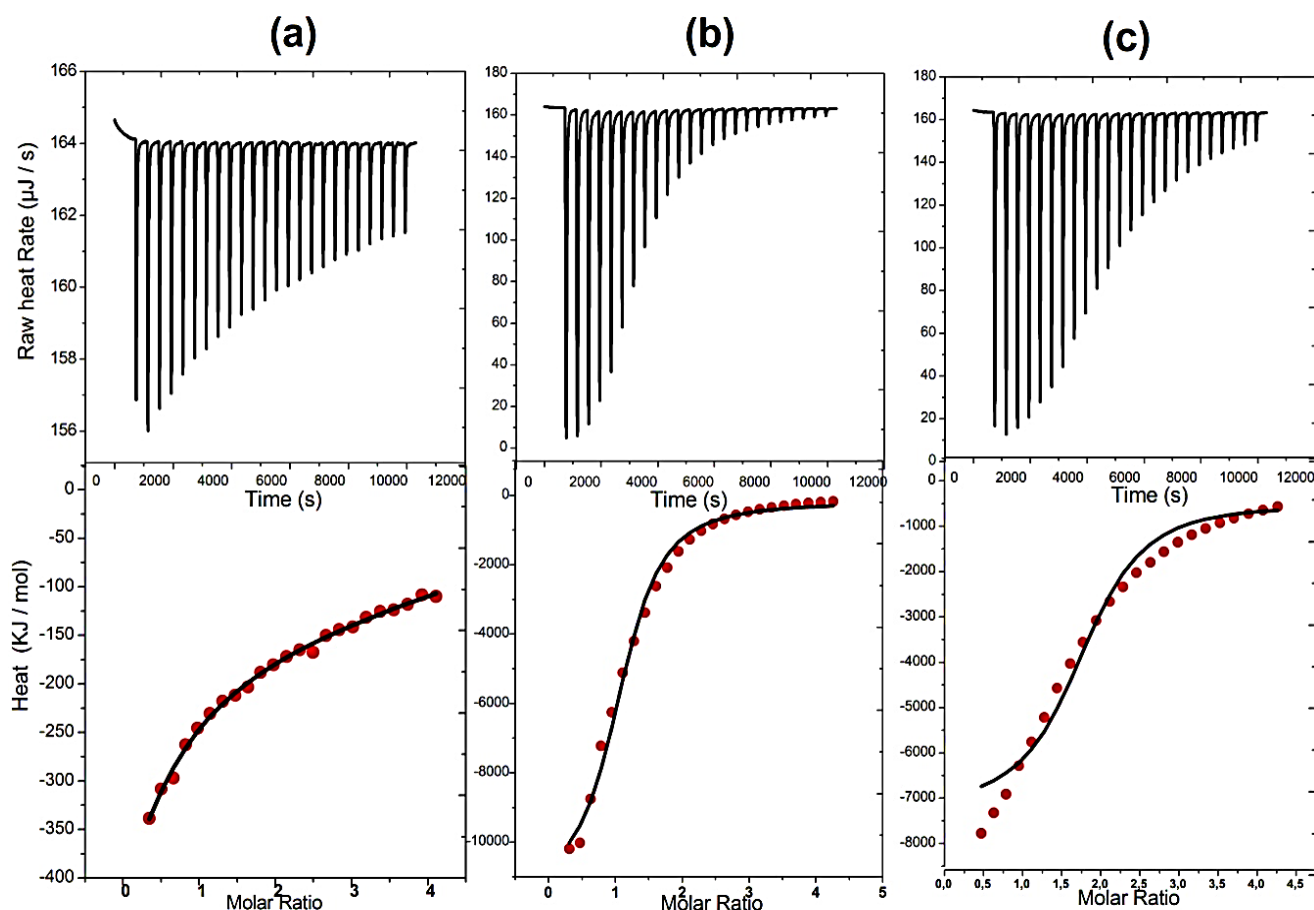


Figure IV.8: Titration calorimétrique des ALs : (a) TC, (b) TC,HCl et (c) PC,HCl avec la β CD. Haut : Données brutes pour 25 injections séquentielles (10 μ L par injection) de solution de β CD dans la solution de AL. Bas : Isothermes de chaleur de réaction obtenus par l'intégration des courbes calorimétriques.

De plus, la vue d'ensemble de l'effet hydrophobe est liée à l'introduction d'un hydrocarbon dans l'eau, ce qui entraîne un réarrangement structural avec un ordre accru de l'eau proche du soluté. Ainsi, le résultat global de la combinaison hôte-invité dépend

de la contribution négative à l'entropie due à l'association des molécules hôte et invité et à la restriction correspondante des degrés de liberté, en particulier ceux de la molécule invitée qui impactent la contribution enthalpique, et d'une contribution positive due à la libération de l'eau de la cavité. Étant donné les différences dans les structures chimiques de chaque anesthésique hydrochlorique, les différences dans la proportion par laquelle l'entropie et l'enthalpie de liaison contribuent à l'énergie de Gibbs reflètent les différences dans l'interaction établie avec β CD (Li *et al.*, 2010; Bouchemal et Mazzaferro, 2012; Pîrnău *et al.* 2014). À partir des valeurs de n , il est clair que la complexation de TC,HCl s'adapte parfaitement au modèle 1:1 avec la meilleure valeur de constante de complexation en accord avec les UV-Visible. Le processus correspondant est presque également contrôlé par les contributions d'enthalpie et d'entropie par rapport à PC,HCl qui semble être plus dépendant de la variation d'entropie.

Tableau IV .5 : Paramètres thermodynamiques ΔH , $T\Delta S$, ΔG et constantes d'association K_a pour la complexation entre les ALs et β CD à 298,15 K

Guest	n	K_a (M^{-1})	ΔH (kJ/mol)	$T\Delta S$ (kJ/mol)	ΔG (kJ/mol)
TC	0.1	174	-	-	-
TC,HCl	0.992	485	-6.64	8.69	-15.33
PC,HCl	1.545	390	-4.371	10.42	-14.79

IV.3. 2.2.2. Etude thermodynamiques des complexes d'inclusion des ALs / HP β CD

La figure IV .9 montre à la fois les profils de titration calorimétrique et les isothermes de chaleur de réaction correspondants pour la liaison des médicaments AL à la HP β CD dans des solutions aqueuses à une température de 25 °C (298,15 $\pm$ 0,5 K et p = 0,1 MPa). Le tableau IV.6 résume les paramètres thermodynamiques calculés à partir de l'enthalpogramme ITC. Dans la figure IV .9, il est évident de noter que différents

profils d'enthalpogrammes sont exhibés, Pour les deux hydrochlorures des anesthésiques locaux, de meilleurs profils sont obtenus avec des valeurs ΔG négatives, impliquant des processus spontanés qui favorisent l'interaction de liaison (**Holdgate, and Ward, 2005 ; Jakšić et al., 2023**). On peut voir dans le tableau IV.6 que les ΔH calculés pour les systèmes TC,HCl et PC,HCl sont négatifs, ce qui signifie que les processus de complexation correspondants sont exothermiques. De plus, les entropies de formation standard déduites (ΔS) sont positives dans tous les cas, comme cela est généralement rapporté pour de telles molécules, avec un léger excès pour le complexe PC,HCl. Donc, pour comparer les données des deux médicaments hydrochlorides, il est nécessaire de considérer que la force de l'interaction dépend de la largeur de la cavité de la CD, des volumes de la partie pénétrante des molécules hôtes et de la propension des molécules d'eau internes de HP β CD à quitter la cavité.

De plus, la vue d'ensemble de l'effet hydrophobe est liée à l'introduction d'un hydrocarbon dans l'eau, ce qui entraîne un réarrangement structural avec un ordre accru de l'eau proche du soluté. Ainsi, le résultat global de la combinaison hôte-invité dépend de la contribution négative à l'entropie due à l'association des molécules hôte et invité et à la restriction correspondante des degrés de liberté, en particulier ceux de la molécule invitée qui impactent la contribution enthalpique, et d'une contribution positive due à la libération de l'eau de la cavité. Étant donné les différences dans les structures chimiques de chaque anesthésique hydrochlorique, les différences dans la proportion par laquelle l'entropie et l'enthalpie de liaison contribuent à l'énergie de Gibbs reflètent les différences dans l'interaction établie avec HP β CD (**Li et al., 2010 ; Bouchemal et Mazzaferro, 2012; Pîrnău et al., 2014**). À partir des valeurs de n , il est clair que la complexation de TC,HCl s'adapte parfaitement au modèle 1:1 avec la meilleure valeur de constante de complexation en accord avec les résultats UV-Visible. Le processus correspondant est presque également contrôlé par les contributions d'enthalpie et d'entropie par rapport à PC,HCl qui semble être plus dépendant de la variation d'entropie. Cela est en accord avec les résultats déduits des expériences DSC et UV-Visible.

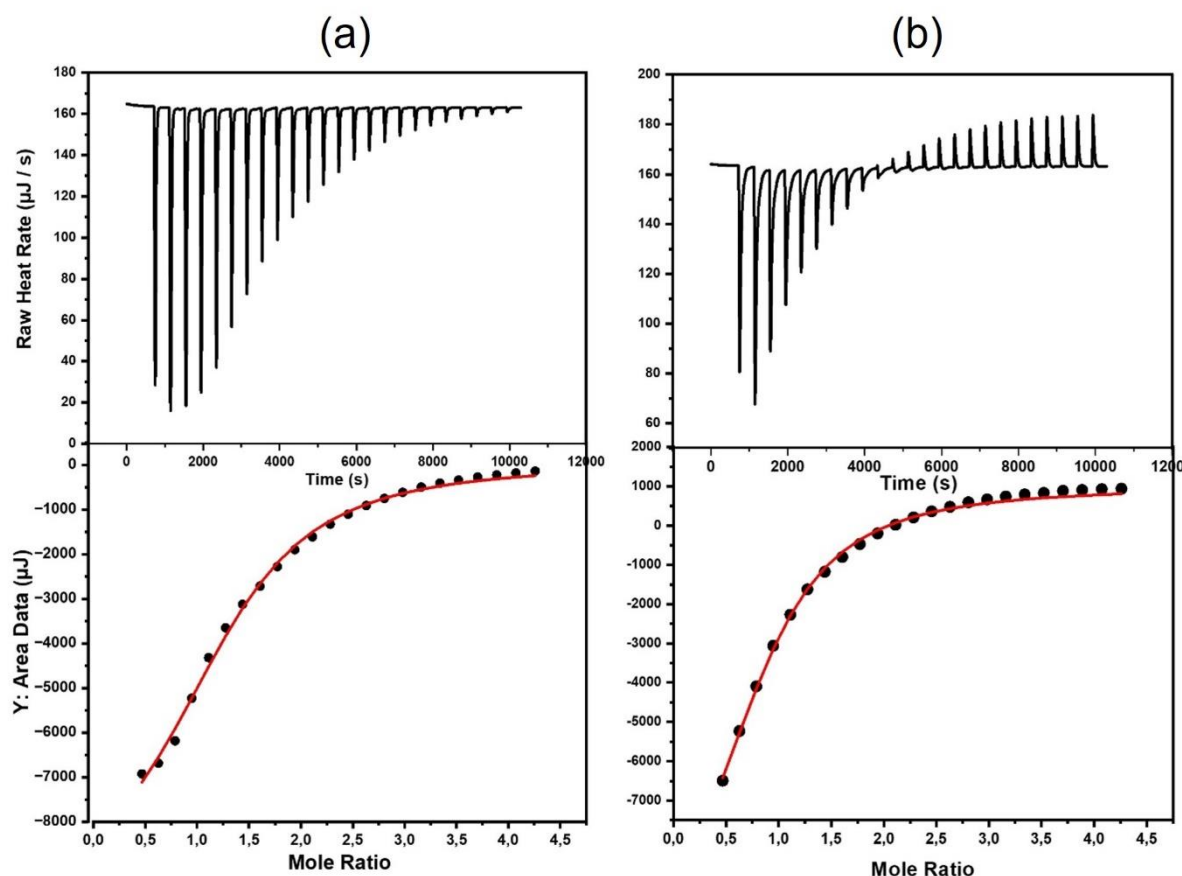


Figure IV.9 : Titration calorimétrique des ALs : (a) TC,HCl et (b) PC,HCl avec la HP β CD. Haut : Données brutes pour 25 injections séquentielles (10 μL par injection) de solution de HP β CD dans la solution de ALs. Bas : Isothermes de chaleur de réaction obtenus par l'intégration des courbes calorimétriques.

Tableau IV.6 : Paramètres thermodynamiques ΔH , $T\Delta S$, ΔG et constantes d'association K_a pour la complexation entre les ALs et HP β CD à 298,15 K

Guest	n	K (M^{-1})	ΔH (kJ/mol)	$T\Delta S$ (kJ/mol)	ΔG (kJ/mol)
TC,HCl	1.22	431	- 4.75	10.23	-15.04
PC,HCl	0.789	386	-6.522	8.24	-14.76

IV.4. Conclusion

Dans ce chapitre, nous avons préparé les complexes d'inclusion des CDs avec les ALs par différentes méthodes (mélange physique (PM), mélange physique avec pétrissage (PMf), kneading (KN), co-évaporation a la présence d'eau (ROV), co-évaporation a la présence de chloroforme (CV) et co-évaporation a la présence d'éthanol (EV). Nous avons également mis en évidence par les techniques de caractérisation usuelles (DSC, FT-IR) la formation des complexes d'inclusion à l'état solide. Dans un second temps, nous nous sommes intéressés à conforter nos observations expérimentales par une étude de complexation en solution.

L'ensemble des analyses des complexes d'inclusion à l'état solide (analyse thermiques DSC et spectroscopiques FT-IR) a permis de comparer la capacité de complexation de la β -cyclodextrine (β CD) et de son dérivé hydrophile, l'hydroxypropyl- β -cyclodextrine (HP β CD), vis-à-vis des LAs. Les thermogrammes DSC mettent en évidence une diminution plus marquée et une modification plus nette des pics caractéristiques de TC en présence de HP β CD qu'avec β CD, traduisant la formation de complexes plus stables et une meilleure encapsulation des principes actif. Ces observations sont corroborées par les spectres FT-IR. Ainsi, les résultats démontrent que HP β CD présente une affinité supérieure à celle de β CD pour la TC, ce qui est en parfait accord avec les données rapportées dans la littérature sur les dérivés hydrophiles des cyclodextrines.

Conclusion générale

Conclusion générale

Cette étude a examiné la formation de complexes d'inclusion entre des molécules d'anesthésiques locaux de même famille (telle que la tétracaïne et la procaine) et deux cyclodextrines : la β -cyclodextrine (β CD) et son dérivé hydrophile, l'hydroxypropyl- β -cyclodextrine (HP β CD). Cette investigation a été menée à la fois à l'état solide et à l'état liquide, à l'aide de différentes techniques analytiques notamment la calorimétrie différentielle à balayage (DSC), la spectrométrie infrarouge (FT-IR), la spectrophotométrie UV-Visible et la calorimétrie isotherme. Dans le but de mieux comprendre l'impact de l'encapsulation sur les propriétés physico-chimiques des molécules invitées.

Avant de procéder à l'étude des complexes d'inclusion, une caractérisation approfondie des systèmes purs (molécules invitées et cyclodextrines seules) a été réalisée. Cette étape préliminaire s'est révélée essentielle pour identifier les modifications spectroscopiques et thermiques induites par la complexation.

À l'état solide, la formation des complexes hôte-invité a été confirmée de manière qualitative par la DSC et la spectroscopie infrarouge FT-IR. Les résultats DSC ont montré que les complexes entre les médicaments sous forme de chlorhydrate et la cyclodextrine peuvent être facilement obtenus par des mélanges physiques finement broyés ou par la méthode du pétrissage pour β CD, ce qui est prometteur d'un point de vue pharmaceutique. En revanche, l'analyse FT-IR a révélé que la chaîne hydrocarbonée hydrophobe du médicament ne constitue pas nécessairement la partie principale incluse dans la cavité de la cyclodextrine.

Les résultats UV-Visible ont indiqué la formation de complexes médicament/ β -CD dans un rapport stœchiométrique de 1:1, mise en évidence par la présence de points isobestiques et par des déplacements hyperchromiques et bathochromiques dans les spectres UV. Parmi les complexes formés, celui avec la TC,HCl a présenté la plus grande stabilité, comme en témoigne sa constante de complexation élevée ($K_{11} = 403,27$). L'analyse thermodynamique réalisée à l'état liquide par calorimétrie isotherme (ITC) a confirmé les résultats UV-Visible, montrant que la complexation est

thermodynamiquement favorable pour les complexes TC,HCl/ β CD , PC,HCl/ β CD ,TC,HCl/HP β CD , PC,HCl/HP β CD (avec des constantes de 485 M⁻¹ pour TC,HCl/ β CD , 390 M⁻¹ pour PC,HCl/ β CD, 431 M⁻¹ pour TC,HCl/HP β CD et 386 M⁻¹ pour PC,HCl/HP β CD). En revanche, la formation du complexe TC/ β CD n'a pas été confirmée de manière satisfaisante, comme en témoigne un enthalpogramme irrégulier. Par ailleurs, le processus a été déterminé comme étant principalement entropique, avec une contribution modérée de l'enthalpie.

Les résultats obtenus ont mis en lumière l'influence des caractéristiques structurales des molécules invitées (hydrophilie/lipophilie, présence de groupements ionisables) et des conditions expérimentales (température, méthode de préparation) sur l'efficacité de complexation. Globalement, la formation de complexes avec les cyclodextrines, notamment HP β CD, améliore la stabilité, la solubilité et potentiellement la biodisponibilité des anesthésiques locaux, ouvrant ainsi des perspectives intéressantes pour le développement de formulations pharmaceutiques plus sûres et plus efficaces.

En conclusion, cette étude démontre clairement l'intérêt de l'utilisation des cyclodextrines comme excipients fonctionnels dans le domaine des anesthésiques locaux. Elle met également en évidence la complémentarité des méthodes analytiques utilisées pour une caractérisation complète des systèmes hôte-invité, tant en phase solide qu'en solution.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- Abou-Okeil, A., M. Rehan, S. M. El-Sawy, M. K. El-bisi, O. A. Ahmed-Farid, and F. A. Abdel-Mohdy. **2018**. "Lidocaine/ β -Cyclodextrin Inclusion Complex as Drug Delivery System." *European Polymer Journal* 108(September): 304–10. doi:10.1016/j.eurpolymj.2018.09.016.
- Andersen, Finn M, and Hans Bundgaard. **1984**. "Inclusion Complexation of Metronidazole Benzoate with β -Cyclodextrin and Its Depression of Anhydrate-Hydrate Transition in Aqueous Suspensions." *International journal of pharmaceutics* 19(2): 189–97.
- Andrieux, Karine, Didier Desmaële, Jean D'Angélo, and Patrick Couvreur. **2003**. "Nanotechnologies et Nouveaux Médicaments." *Actualite Chimique* (11–12): 135–39.
- Astray, G., C. Gonzalez-Barreiro, J. C. Mejuto, R. Rial-Otero, and J. Simal-Gándara. **2009**. "A Review on the Use of Cyclodextrins in Foods." *Food Hydrocolloids* 23(7): 1631–40. doi:10.1016/j.foodhyd.2009.01.001.
- Augustin et al, **2001**: "Book Review Microen Capsulation of Food Ingredients." *Food Australia* 53: 220–23. doi:10.7748/cnp.1.8.13.s15.
- Ayala-Zavala, J Fernando, Herlinda Soto-Valdez, Alberto González-León, Emilio Álvarez-Parrilla, Olga Martín-Belloso, and Gustavo A González-Aguilar. **2008**. "Microencapsulation of Cinnamon Leaf (*Cinnamomum Zeylanicum*) and Garlic (*Allium Sativum*) Oils in β -Cyclodextrin." *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry* 60: 359–68.
- Ayuse, T., Kurata, S., & Ayuse, T. **2020**. Successful dental treatments using procaine hydrochloride in a patient afraid of local anesthesia but consenting for allergic testing with lidocaine: A case report. *Local and Regional Anesthesia*, 13, 99–103. <https://doi.org/10.2147/LRA.S268498>
- Azayez M. **2021**. "Etude Des Réactions de Complexation Mettant En Jeu Des Cyclodextrines et Des Biomolécules."
- Azayez, M., T. Fergoug, N. Meddah-Araibi, C. Zelmat, and Y. Bouhadda. **2020**. "Theoretical Investigation of the Complexation Reaction of Procaine-

- Hydrochloride by β -Cyclodextrin.” *Physical Chemistry Research* 8(1): 155–65. doi:10.22036/pcr.2020.205547.1691.
- Azum, N., Alotaibi, M. M., Ali, M., Rub, M. A., Marwani, H. M., Alamry, K. A., & Asiri, A. M. **2023**. Investigation of an anaesthetic drug (tetracaine hydrochloride) in the presence of ionic fluid and surfactant: Mixed micellization & spectroscopic studies. *Journal of Molecular Liquids*, 370, 121057.
- Bauer, T. A., Horvat, N. K., Marques, O., Chocarro, S., Mertens, C., Colucci, S., Schmitt, S., Carrella, L. M., Morsbach, S., & Koynov, K. **2021**. Core Cross-Linked Polymeric Micelles for Specific Iron Delivery: Inducing Sterile Inflammation in Macrophages. *Advanced Healthcare Materials*, 10(19), 2100385.
- Becker, Daniel E., and Kenneth L. Reed. **2006**. “Essentials of Local Anesthetic Pharmacology.” *Anesthesia progress* 53(3): 98–109. doi:10.2344/0003-3006(2006)53[98:EOLAP]2.0.CO;2.
- Becker, Daniel E., and Kenneth L. Reed. **2012**. “Local Anesthetics: Review of Pharmacological Considerations.” *Anesthesia progress* 59(2): 90–102. doi:10.2344/0003-3006-59.2.90.
- Bensouiki, S. **2022**. “Developpement Des Systemes De Delivrance Des Medicaments En Vue De L’application A La Liberation Prolongee D’un Principe Actif.”
- Blach, P, Sophie Fourmentin, David Landy, Fabrice Cazier, and Gheorghe Surpateanu. **2008**. “Cyclodextrins: A New Efficient Absorbent to Treat Waste Gas Streams.” *Chemosphere* 70(3): 374–80.
- Bouchemal, K, and Silvia Mazzaferro. **2012**. “How to Conduct and Interpret ITC Experiments Accurately for Cyclodextrin-Guest Interactions.” *Drug Discovery Today* 17(11–12): 623–29. doi:10.1016/j.drudis.2012.01.023.
- Boudjoras, H, Teffaha Fergoug, Mansour Azayez, Youcef Bouhadda, Nouredine Meddah-araibi, Cherifa Zelmat, and Biological Interfaces. **2022**. “temperature effect on the encapsulation of the drug tetracaine hydrochloride in different cyclodextrins ” 26(1): 164–75.
- Braga, Susana Santos. **2023**. “Molecular Mind Games: The Medicinal Action of Cyclodextrins in Neurodegenerative Diseases.” *Biomolecules* 13(4). doi:10.3390/biom13040666.

- Brandariz, Isabel, and Emilia Iglesias. **2013**. "Local Anesthetics: Acid-Base Behaviour and Inclusion with Cyclodextrins." *Current Organic Chemistry* 17(24): 3050–63.
- Brittain, Harry G. **1999**. "Polymorphism in Pharmaceutical Solids." *Drugs and the pharmaceutical sciences* 95: 183–226.
- Bruylants, Gilles, and Kristin Bartik. **2014**. "Bio Physicochimie Utilisation de La Calorimétrie à Titrage Isotherme Pour l ' Étude Des Interactions entre (Bio) Molécules."
- Bukata, Stanley, and Jacob A Marinsky. **1964**. "Job's Method of Continuous Variations with Ion Exchange for the Study of Complexes in Solution." *The Journal of Physical Chemistry* 68(2): 258–60.
- Burger, Ao, and R Ramberger. **1979**. "Über Die Polymorphie von Arzneistoffen Und Anderen Molekülkristallen. I: Theory of Thermodynamic Rules." *Microchimica Acta* 72: 259–71.
- Butterworth, John F, and Gary R Strichartz. **1990**. "Molecular Mechanisms of Local Anesthesia: A Review." *Anesthesiology* 72(4): 711–34.
- Byrn, Stephen R. **1982**. "Solid State Chemistry of Drugs." *chemistry of drugs* (2nd ed.). SSCI, Inc.
- Carneiro, Simone Braga, Fernanda Ílary Costa Duarte, Luana Heimfarth, Jullyana De Souza Siqueira Quintans, Lucindo José Quintans-Júnior, Valdir Florêncio Da Veiga Júnior, and Ádley Antonini Neves De Lima. **2019**. "Cyclodextrin-Drug Inclusion Complexes: In Vivo and in Vitro Approaches." *International Journal of Molecular Sciences* 20(3): 1–23. doi:10.3390/ijms20030642.
- Cavallari, Cristina, Beatrice Abertini, Marisa L González-Rodríguez, and Lorenzo Rodriguez. **2002**. "Improved Dissolution Behaviour of Steam-Granulated Piroxicam." *European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics* 54(1): 65–73.
- Chavanne, Marcel, Gaston J Beaudoin, Armand Jullien, and Eddy Flamand. **1991**. *Chimie Organique Expérimentale*. Modulo éditeur.
- Christaki, Stamatia, Eleni Spanidi, Eleni Panagiotidou, Sophia Athanasopoulou, Anastasia Kyriakoudi, Ioannis Mourtzinis, and Konstantinos Gardikis. **2023**.

- “Cyclodextrins for the Delivery of Bioactive Compounds from Natural Sources: Medicinal, Food and Cosmetics Applications.” *Pharmaceuticals* 16(9): 1274.
- Churchill, Doreen, Jason Chiu Fung Cheung, Yong Sung Park, Vedene H. Smith, Gary VanLoon, and Erwin Buncel. **2006**. “Complexation of Diazinon, an Organophosphorus Pesticide, with α -, β -, and γ -Cyclodextrin - NMR and Computational Studies.” *Canadian Journal of Chemistry* 84(4): 702–8. doi:10.1139/V06-053.
- Cirri, M, Francesca Maestrelli, Natascia Mennini, and Paola Mura. **2009**. “Influence of the Preparation Method on the Physical-Chemical Properties of Ketoprofen-Cyclodextrin-Phosphatidylcholine Ternary Systems.” *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 50(5): 690–94. doi:10.1016/j.jpba.2008.11.002.
- Conseiller, C H, P Guesnon, and J Leoni. **1985**. “Anesthésiques Locaux.” *La Semaine des hôpitaux de Paris* 61(39): 2713–26.
- Crini, Grégorio, Sophie Fourmentin, Éva Fenyvesi, Giangiacomo Torri, Marc Fourmentin, and Nadia Morin-Crini. **2018**. “Cyclodextrins, from Molecules to Applications.” *Environmental chemistry letters* 16: 1361–75.
- Cuesta-H, Javier, Manolo De Las Heras, Manolo Fernández, Magdalena Lluch, Elena Figueredo, Ana Umpierrez, and Carlos Lahoz. **1997**. “Allergic Reaction Caused by Local Anesthetic Agents Belonging to the Amide Group.” *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 99(3): 427–28. doi:10.1016/S0091-6749(97)70064-2.
- Del Valle, E M Martin. **2004b**. “Cyclodextrins and Their Uses: A Review.” *Process biochemistry* 39(9): 1033–46.
- Del Valle, E. M.Martin. **2004a**. “Cyclodextrins and Their Uses: A Review.” *Process Biochemistry* 39(9): 1033–46. doi:10.1016/S0032-9592(03)00258-9.
- Demirel, Müzeyyen, Gülsel Yurtdaş, and Lütfi Genç. **2011**. “Inclusion Complexes of Ketoconazole with Beta-Cyclodextrin: Physicochemical Characterization and in Vitro Dissolution Behaviour of Its Vaginal Suppositories.” *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry* 70(3–4): 437–45. doi:10.1007/s10847-010-9922-1.

- Denson, D, and J X Mazoit. **1992**. “Physiology and Pharmacology of Local Anesthetics.” *Acute Pain: Mechanisms & Management*. St Louis, MO: Mosby-Year Book 1992: 124–39.
- Denson, D, Dennis Coyle, Gary Thompson, and Jane Myers. **1984**. “Alpha-1-acid Glycoprotein and Albumin in Human Serum Bupivacaine Binding.” *Clinical Pharmacology & Therapeutics* 35(3): 409–15.
- Diab, Roudayna, L Université Claude, and Bernard Lyon. **2011**. “Vectorisation Des Analogues de Nucléosides Pour Le Traitement Des métastases Roudayna Diab To Cite This Version : Présentée Devant.”
- Doile, Mayara M., Keila A. Fortunato, Iára C. Schmücker, Sacha K. Schucko, Marcos A.S. Silva, and Patrik O. Rodrigues. **2008**. “Physicochemical Properties and Dissolution Studies of Dexamethasone Acetate- β -Cyclodextrin Inclusion Complexes Produced by Different Methods.” *AAPS PharmSciTech* 9(1): 314–21. doi:10.1208/s12249-008-9042-z.
- Drakulić, B. J., Zalaru, C., & Iovu, M. **2009**. Acute Toxicity of Substituted 2-(1H-pyrazol-1-yl) acetanilides and Related Commercially Available Local Anesthetics Toward Mice. A GRIND/ALMOND-Based 3-D QSAR Study. *QSAR & Combinatorial Science*, 28(2), 206–217.
- Duchêne, D, and D Wouessidjewe. **1990**. “Pharmaceutical Uses of Cyclodextrins and Derivatives.” *Drug development and industrial pharmacy* 16(17): 2487–99.
- Duchêne, Dominique. **1987**. *Cyclodextrins and Their Industrial Uses*. Editions de santé.
- Eastburn, Susan D, and Bernard Y Tao. 1994. “Applications of Modified Cyclodextrins.” *Biotechnology advances* 12(2): 325–39.
- Emala, Charles W. 2018. *Pharmacology and Physiology for Anesthesia: Foundations and Clinical Application Pulmonary Pharmacology*. doi:10.1016/B978-0-323-48110-6.00030-2.
- Eshchanov, Khushnadbek Odilbekovich, and Mukhabbat Matnazarovna Baltaeva. 2022. “Study of the Interaction of Sorbed Silver, Gold and Copper Ions with Functional Groups on Hydrolyzed Fibroin Using Charmm22 Force Field Calculations.” *Chemical Review and Letters* 5(3): 161–68. doi:10.22034/CRL.2022.335548.1159.

- Faghihi, H., Rajaei, S. M., Ostadhasan, H., & Alagha, H. E. **2022**. Effect of topical 0.5% tetracaine hydrochloride on intraocular pressure in ophthalmologically normal cats. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 24(2), 185–188. <https://doi.org/10.1177/1098612X211005901>
- Fakayode, Sayo O, Mark Lowry, Kristin A Fletcher, Xiaodong Huang, Aleeta M Powe, and Isiah M Warner. **2007**. “Cyclodextrins Host-Guest Chemistry in Analytical and Environmental Chemistry.” *Current Analytical Chemistry* 3(3): 171–81.
- Farcas, Aurica, Valeria Harabagiu, A Farcas, N Jarroux, A-M Farcas, V Harabagiu, P Guegan, and " Petru. **2006**. “ Synthesis and Characterization of Furosemide Complex in B-Cyclodextrin.” *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures* 1(2): 55–60. <https://www.researchgate.net/publication/316588280>.
- Fergoug, T. **2010**. “ Caracterisation physico-chimique et thermodynamique de complexes d’inclusion cyclodextrine/tetracaine. ”
- Fernandes, S. A., Cabeça, L. F., Marsaioli, A. J., & De Paula, E. **2007**. Investigation of tetracaine complexation with beta-cyclodextrins and p-sulphonic acid calix[6]arenes by nOe and PGSE NMR. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, 57(1–4), 395–401. <https://doi.org/10.1007/s10847-006-9224-9>
- Flynn, R J, J Moore, P S Collier, and E McClean. **1989**. “Does Pretreatment with Cimetidine and Ranitidine Affect the Disposition of Bupivacaine?” *British Journal of Anaesthesia* 62(1): 87–91.
- Fozzard, H., Lee, P., & Lipkind, G. **2005**. Mechanism of Local Anesthetic Drug Action on Voltage-Gated Sodium Channels. *Current Pharmaceutical Design*, 11(21), 2671–2686. <https://doi.org/10.2174/1381612054546833>
- Franco de Lima, R. A., de Jesus, M. B., Saia Cereda, C. M., Tofoli, G. R., Cabeça, L. F., Mazzaro, I., Fraceto, L. F., & de Paula, E. **2012**. Improvement of tetracaine antinociceptive effect by inclusion in cyclodextrins. *Journal of Drug Targeting*, 20(1), 85–96.
- Gala, Urvi, Monica C. Chuong, Ravi Varanasi, and Harsh Chauhan. **2015**. “Characterization and Comparison of Lidocaine-Tetracaine and Lidocaine-

- Camphor Eutectic Mixtures Based on Their Crystallization and Hydrogen-Bonding Abilities.” *AAPS PharmSciTech* 16(3): 528–36. doi:10.1208/s12249-014-0242-4.
- Ge, Xia, Zheng Huang, Shilong Tian, Yulong Huang, and Chaozhen Zeng. **2012**. “Complexation of Carbendazim with Hydroxypropyl- β -Cyclodextrin to Improve Solubility and Fungicidal Activity.” *Carbohydrate Polymers* 89(1): 208–12.
- Ghosh, A., S. Biswas, and T. Ghosh. **2011**. “Preparation and Evaluation of Silymarin β -Cyclodextrin Molecular Inclusion Complexes.” *Journal of Young Pharmacists* 3(3): 205–10. doi:10.4103/0975-1483.83759.
- Giordano, Ferdinando, Csaba Novak, and José Ramón Moyano. **2001**. “Thermal Analysis of Cyclodextrins and Their Inclusion Compounds.” *Thermochimica Acta* 380(2): 123–51.
- Giron, D. **1995**. “Thermal Analysis and Calorimetric Methods in the Characterisation of Polymorphs and Solvates.” *Thermochimica acta* 248: 1–59.
- Giron, D. **2002**. “Applications of Thermal Analysis and Coupled Techniques in Pharmaceutical Industry.” *Journal of thermal analysis and Calorimetry* 68(2): 335–57.
- Giron, D., M. Draghi, C. Goldbronn, S. Pfeffer, and P. Piechon. **1997**. “Study of the Polymorphic Behaviour of Some Local Anesthetic Drugs.” *Journal of Thermal Analysis* 49(2): 913–27. doi:10.1007/bf01996777.
- Gonzalez, G. A. **2024**. Effects of subconjunctival ropivacaine, tetracaine, mepivacaine, and liposomal bupivacaine on corneal sensitivity in healthy horses. Mississippi State University.
- Gould, S, and Robert C. Scott. **2005**. “2-Hydroxypropyl- β -Cyclodextrin (HP- β -CD): A Toxicology Review.” *Food and Chemical Toxicology* 43(10): 1451–59. doi:10.1016/j.fct.2005.03.007.
- Guimarães, Adriana Gibara, Marlange Almeida Oliveira, Rafael dos Santos Alves, Paula dos Passos Menezes, Mairim Russo Serafini, Adriano Antunes de Souza Araújo, Daniel Pereira Bezerra, and Lucindo José Quintans Júnior. **2015**. “Encapsulation of Carvacrol, a Monoterpene Present in the Essential Oil of Oregano, with β -Cyclodextrin, Improves the Pharmacological Response on Cancer Pain Experimental Protocols.” *Chemico-biological interactions* 227: 69–76.

- Guo, Juan, Lifang Zhang, Mi Wang, Yingchun Liu, and Chenzhong Fei. **2024**. "Hydroxypropyl- β -Cyclodextrin in Aqueous Solution and in Solid State : A Comparison Study."
- Hana, G. **2022**. "Etude Spectroscopique et Computationnelle de Nouveaux Complexes de Transfert de Charge Entre La β -Cyclodextrine et Des Accepteurs π ."
- Hanna, K. **2004**. "Etude de Faisabilité de l'utilisation de Molécules" Cage" Dans La Dépollution Des Sols: Solubilisation et Extraction de Polluants Organiques Par Les Cyclodextrines."
- Hannongbua, S., Treesuwan, W., & Boonyarat, W. **2011**. Ion Channels and T1. Hannongbua, S., Treesuwan, W. & Boonyarat, W. Ion Channels and Their Inhibitors. Ion Channels Their Inhib. 53–78 (2011) doi:10.1007/978-3-642-19922-6.heir Inhibitors. Ion Channels and Their Inhibitors, 53–78. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-19922-6>
- Haroun, A., Osman, A., Ahmed, S., & Elghandour, A. H. **2022**. Synthesis and Characterization of Ibuprofen Delivery System Based on β -cyclodextrin / Itaconic Acid Copolymer. 19(19).
- Hill, Laura E, Carmen Gomes, and T Matthew Taylor. **2013**. "Characterization of Beta-Cyclodextrin Inclusion Complexes Containing Essential Oils (Trans-Cinnamaldehyde, Eugenol, Cinnamon Bark, and Clove Bud Extracts) for Antimicrobial Delivery Applications." LWT-Food Science and Technology 51(1): 86–93.
- Holdgate, Geoffrey A, Walter H J Ward, and Walter H J Ward. **2005**. "HoldgateG." Drug discovery today 10(22): 1543–50.
- Jakšić, Daniela, Maja Šegvić Klarić, Hrvoje Rimac, Robert Kerep, and Ivo Piantanida. **2023**. "Cyclodextrin-Based Displacement Strategy of Sterigmatocystin from Serum Albumin as a Novel Approach for Acute Poisoning Detoxification." International journal of molecular sciences 24(5): 4485.
- Jansook, et al. **2018**. "Cyclodextrins: Structure, Physicochemical Properties and Pharmaceutical Applications." International journal of pharmaceutics 535(1–2): 272–84.
- John P. Kummer AG. "Guide d ' Application Pour Les Époxyes." : 0–5.

- Jug, M, Francesca Maestrelli, Marco Bragagni, and Paola Mura. **2010**. “Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis Preparation and Solid-State Characterization of Bupivacaine Hydrochloride Cyclodextrin Complexes Aimed for Buccal Delivery.” 52: 9–18. doi:10.1016/j.jpba.2009.11.013.
- Kaboudi, N., Asl, S. G., Nourani, N., & Shayanfar, A. **2024**. Solubilization of drugs using beta-cyclodextrin: Experimental data and modeling. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, 82(4), 663–672.
- Kamihira, M, Taro Asai, Yoshikazu Yamagata, Masayuki Taniguchi, and Takeshi Kobayashi. **1990**. “Formation of Inclusion Complexes between Cyclodextrins and Aromatic Compounds under Pressurized Carbon Dioxide.” *Journal of Fermentation and Bioengineering* 69(6): 350–53. doi:10.1016/0922-338X(90)90242-O.
- Kappel, C., Seidl, C., Medina-Montano, C., Schinnerer, M., Alberg, I., Leps, C., Sohl, J., Hartmann, A.-K., Fichter, M., & Kuske, M. **2021**. Density of conjugated antibody determines the extent of Fc receptor dependent capture of nanoparticles by liver sinusoidal endothelial cells. *ACS Nano*, 15(9), 15191–15209.
- Kfoury, M. **2015**. “Préparation, Caractérisation Physicochimique et Évaluation Des Propriétés Biologiques de Complexes d’inclusion à Base de Cyclodextrines : Applications à Des Principes Actifs de Type Phénylpropanoïdes.” : 29–54. <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-01333585>.
- Kluger, Nicolas, Nadia Raison-Peyron, Carine Michot, Bernard Guillot, and Didier Bessis. 2011. “Acute Bullous Irritant Contact Dermatitis Caused by EMLA® Cream.” *Contact Dermatitis* 65(3): 181–82.
- Koller C. 1884. “On the Use of Cocaine for Producing Anaesthesia on the Eye.” : 990–92.
- Kondo, H., Nakatani, H. and Hiromi, K. 1976. “Interaction Its of Cyclodextrins to Kinetic with Studies Fluorescent of Amylase Probes and Application Laboratory of Enzyme Chemistry , Department of Food Science.” *The Journal of Biochemistry* 79(2): 393–405.
- Kouadio, Fiény Jean-paterne. **2014**. “Microcapteur Composé d ’ Une Antenne En V Couplée à Un Filtre Sélectif à Bande Interdite Photonique Chargé Par Un Bolomètre

. Potentialités Pour La Détection de COV Dans Le THz To Cite This Version : HAL
Id : Tel-01083416 Caen / Basse - Normandie.”

- Kovacs, T., Nagy, P., Panyi, G., Szente, L., Varga, Z., & Zakany, F. **2022**. Cyclodextrins: Only Pharmaceutical Excipients or Full-Fledged Drug Candidates? *Pharmaceutics*, 14(12). <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14122559>
- Kovacs, T, Peter Nagy, Gyorgy Panyi, Lajos Szente, Zoltan Varga, and Florina Zakany. **2022**. “Cyclodextrins: Only Pharmaceutical Excipients or Full-Fledged Drug Candidates?” *Pharmaceutics* 14(12). doi:10.3390/pharmaceutics14122559.
- Krabicová, Ilona, Silvia Lucia Appleton, Maria Tannous, Gjylje Hoti, Fabrizio Caldera, Alberto Rubin Pedrazzo, Claudio Ceccone, Roberta Cavalli, and Francesco Trotta. **2020**. “History of Cyclodextrin Nanosponges.” *Polymers* 12(5): 1–23. doi:10.3390/POLYM12051122.
- Landy, D, François Tetart, Eddy Truant, Philippe Blach, Sophie Fourmentin, and Gheorghe Surpateanu. **2007**. “Development of a Competitive Continuous Variation Plot for the Determination of Inclusion Compounds Stoichiometry.” *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry* 57: 409–13.
- Landy, D, Isabelle Mallard, Anne Ponchel, Eric Monflier, and Sophie Fourmentin. **2012**. “Remediation Technologies Using Cyclodextrins: An Overview.” *Environmental chemistry letters* 10: 225–37.
- Li, Hui, Xiangyu Xu, Min Liu, Dezhi Sun, and Linwei Li. **2010**. “Microcalorimetric and Spectrographic Studies on Host-Guest Interactions of α -, β -, γ - And M β -Cyclodextrin with Resveratrol.” *Thermochimica Acta* 510(1–2): 168–72. doi:10.1016/j.tca.2010.07.011.
- Liu, H., Guo, S., Wei, S., Liu, J., & Tian, B. **2024**. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of cyclodextrin-based oral drug delivery formulations for disease therapy. *Carbohydrate Polymers*, 121763.
- Locci, E, Simona Lai, Alessandra Piras, Bruno Marongiu, and Adolfo Lai. **2004**. “¹³C-CPMAS and ¹H-NMR Study of the Inclusion Complexes of β -Cyclodextrin with Carvacrol, Thymol, and Eugenol Prepared in Supercritical Carbon Dioxide.” *Chemistry and Biodiversity* 1(9): 1354–66. doi:10.1002/cbdv.200490098.

- Loftsson, T, and Dominique Duchene. **2007**. “Cyclodextrins and Their Pharmaceutical Applications.” *International journal of pharmaceutics* 329(1–2): 1–11.
- Loftsson, T, and Marcus E. Brewster. **1996**. “Pharmaceutical Applications of Cyclodextrins. 1. Drug Solubilization and Stabilization.” *Journal of Pharmaceutical Sciences* 85(10): 1017–25. doi:10.1021/js950534b.
- Loftsson, T, and Marcus E. Brewster. **2010**. “Pharmaceutical Applications of Cyclodextrins: Basic Science and Product Development.” *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 62(11): 1607–21. doi:10.1111/j.2042-7158.2010.01030.x.
- Loftsson, T, Fífa Konráðsdóttir, and Már Másson. **2006**. “Development and Evaluation of an Artificial Membrane for Determination of Drug Availability.” *International Journal of Pharmaceutics* 326(1–2): 60–68. doi:10.1016/j.ijpharm.2006.07.009.
- Maestrelli, F, Matteo Cecchi, Marzia Cirri, Gaetano Capasso, Natascia Mennini, and Paola Mura. **2009**. “Comparative Study of Oxaprozin Complexation with Natural and Chemically-Modified Cyclodextrins in Solution and in the Solid State.” *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry* 63: 17–25.
- Mahato, R I, and Ajit S Narang. **2017**. *Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery: Revised and Expanded*. CRC Press.
- Malanga, Milo, Julianna Szemán, Éva Fenyvesi, István Puskás, Katalin Csabai, Gyöngyi Gyémánt, Ferenc Fenyvesi, and Lajos Szente. **2016**. “‘Back to the Future’: A New Look at Hydroxypropyl Beta-Cyclodextrins.” *Journal of Pharmaceutical Sciences* 105(9): 2921–31. doi:10.1016/j.xphs.2016.04.034.
- Margeti, C., Kostakis, C., Tsioli, V., Karagianni, K., & Flouraki, E. **2024**. Local Anaesthesia Techniques in Dogs and Cats: A Review Study. *Pets*, 1(2), 88–119. <https://doi.org/10.3390/pets1020009>
- Marques, Helena Ma Cabral. **2010a**. “A Review on Cyclodextrin Encapsulation of Essential Oils and Volatiles.” *Flavour and Fragrance Journal* 25(5): 313–26. doi:10.1002/ffj.2019.
- Marques, Helena Ma Cabral. **2010b**. “A Review on Cyclodextrin Encapsulation of Essential Oils and Volatiles.” *Flavour and fragrance journal* 25(5): 313–26.

- Martinez-Sola, Cristina, Pedro Garcia-Teruel, and Pedro Martinez-Solano. **2011**. 46 Journal of Further and Higher Education Flip-Flop Kinetics of Ropivacaine during Continuous Epidural Infusion Influences Its Accumulation Rate Maria.
- Matsunaga, Kazuyoshi, Masaaki Imanaka, Tatsuo Ishida, and Takuzo Oda. **1984**. “Application of. Gamma.-Cyclodextrin to the Separation of Compounds Extracted with Organic Solvents.” *Analytical Chemistry* 56(11): 1980–82.
- Mazoit, Jean-Xavier, and Bernard J Dalens. **2004**. “Pharmacokinetics of Local Anaesthetics in Infants and Children.” *Clinical pharmacokinetics* 43: 17–32.
- Meddah-Araibi, N, Fergoug T, M Azayez, C Zelmat, Jendara A C, and Y Bouhadda. 2021. “Theoretical Study of the Complexation of Lidocaine by α - And β -Cyclodextrins.” *Journal of the Chemical Society of Pakistan* 43(4): 429–35. doi:10.52568/000593/jcsp/43.04.2021.
- Mennini, Natascia, Marco Bragagni, Francesca Maestrelli, and Paola Mura. **2014**. “Physico-Chemical Characterization in Solution and in the Solid State of Clonazepam Complexes with Native and Chemically-Modified Cyclodextrins.” *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 89: 142–49. doi:10.1016/j.jpba.2013.11.009.
- Michalska, Patrycja, Aneta Wojnicz, Ana Ruiz-Nuño, Sheila Abril, Izaskun Buendia, and Rafael León. **2017**. “Inclusion Complex of ITH12674 with 2-Hydroxypropyl- β -Cyclodextrin: Preparation, Physical Characterization and Pharmacological Effect.” *Carbohydrate polymers* 157: 94–104.
- Miller, K J, S R Goodwin, G B Westermann-Clark, and D O Shah. **1993**. “Importance of Molecular Aggregation in the Development of a Topical Local Anesthetic.” *Langmuir* 9(1): 105–9.
- Miranda, Janisse Crestani, Tércio Elyan Azevedo Martins, Francisco Veiga, and Humberto Gomes Ferraz. **2011**. “Cyclodextrins and Ternary Complexes: Technology to Improve Solubility of Poorly Soluble Drugs.” *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences* 47(4): 665–81. doi:10.1590/S1984-82502011000400003.
- Morgant, G, C Souleau, B Legendre, and S Bordas. **1987**. “Capacité Calorifique Molaire Du Composé Bi. 4 Te. 6 Dans Les États Solide et Liquide.” *Journal of thermal analysis* 32: 1201–7.

- Mura, P, Marzia Cirri, M T Faucci, J M Ginès-Dorado, and G P Bettinetti. **2002**. “Investigation of the Effects of Grinding and Co-Grinding on Physicochemical Properties of Glisentide.” *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis* 30(2): 227–37.
- Mura, P. **2014**. “Analytical Techniques for Characterization of Cyclodextrin Complexes in Aqueous Solution: A Review.” *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. doi:10.1016/j.jpba.2014.02.022.
- Mura, P. **2015**. “Analytical Techniques for Characterization of Cyclodextrin Complexes in the Solid State: A Review.” *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 113: 226–38. doi:10.1016/j.jpba.2015.01.058.
- Nasongkla, Norased, Andy F. Wiedmann, Andrew Bruening, Meghan Beman, Dale Ray, William G. Bornmann, David A. Boothman, and Jinming Gao. **2003**. “Enhancement of Solubility and Bioavailability of β -Lapachone Using Cyclodextrin Inclusion Complexes.” *Pharmaceutical Research* 20(10): 1626–33. doi:10.1023/A:1026143519395.
- Nicolaescu, O. E., Belu, I., Mocanu, A. G., Manda, V. C., Rău, G., Pîrvu, A. S., Ionescu, C., Ciulu-Costinescu, F., Popescu, M., & Ciocîlteu, M. V. **2025**. Cyclodextrins: Enhancing Drug Delivery, Solubility and Bioavailability for Modern Therapeutics. *Pharmaceutics*, 17(3), 288.
- Naili, N. **2010**. “Les Propriétés Photochimiques et Photophysiques des Métaux de Transition Aux Ligands Aromatiques.” Université Mohamed Khider-Biskra.
- Noble, D W, K J Smith, and C R Dundas. **1987**. “Effects of H-2 Antagonists on the Elimination of Bupivacaine.” *BJA: British Journal of Anaesthesia* 59(6): 735–37.
- Ohmura, Shigeo, Toshikazu Ohta, Ken Yamamoto, and Tsutomu Kobayashi. 1999. “A Comparison of the Effects of Propofol and Sevoflurane on the Systemic Toxicity of Intravenous Bupivacaine in Rats.” *Anesthesia & Analgesia* 88(1): 155–59.
- Onagi, Hideki, Benedetta Carrozzini, Giovanni L. Cascarano, Christopher J. Easton, Alison J. Edwards, Stephen F. Lincoln, and A. David Rae. **2003**. “Separated and Aligned Molecular Fibres in Solid State Self-Assemblies of Cyclodextrin

[2]Rotaxanes.” Chemistry - A European Journal 9(24): 5971–77. doi:10.1002/chem.200305279.

Otilia Mărginean, Liana Moș Adriana Fuliș Ionuț Ledeti Gabriela Vlase Călin Popoiu

1 Alina Hegheș Mihai Bilanin Titus Vlase Dorina Gheorgheosu Marius Craina Simona A, Dumitru Ferechide. **2013**. “Thermal Behaviour of Procaine and Benzocaine Part II: Compatibility Study with Some Pharmaceutical Excipients Used in Solid Dosage Forms.” Chem Cent J .: 1–10.

Ozeki, Tetsuya, Yoshihito Kano, Norimitsu Takahashi, Tatsuaki Tagami, and Hiroaki Okada. **2012**. “Improved Bioavailability of a Water-Insoluble Drug by Inhalation of Drug-Containing Maltosyl- β -Cyclodextrin Microspheres Using a Four-Fluid Nozzle Spray Drier.” AAPS PharmSciTech 13(4): 1130–37. doi:10.1208/s12249-012-9826-z.

Patel, Neesa, and Alireza Sadoughi. **2014**. “Pharmacology of Local Anesthetics.” In Essentials of Pharmacology for Anesthesia, Pain Medicine, and Critical Care, Springer, 179–94.

Pereira, Antía Gonzalez, Maria Carpena, Paula García Oliveira, Juan Carlos Mejuto, Miguel Angel Prieto, and Jesus Simal Gandara. **2021**. “Main Applications of Cyclodextrins in the Food Industry as the Compounds of Choice to Form Host–Guest Complexes.” International Journal of Molecular Sciences 22(3): 1–23. doi:10.3390/ijms22031339.

Pîrnău, A, Mihaela Mic, Mircea Bogdan, and Ioan Turcu. **2014**. “Characterization of β -Cyclodextrin Inclusion Complex with Procaine Hydrochloride by ^1H NMR and ITC.” Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry 79(3–4): 283–89. doi:10.1007/s10847-013-0350-x.

Prabu, S, K Sivakumar, S Kothai Nayaki, and R Rajamohan. **2016**. “Host-Guest Interaction of Cytidine in β -Cyclodextrin Microcavity : Characterization and Docking Study.” Journal of Molecular Liquids 219: 967–74. doi:10.1016/j.molliq.2016.04.017.

Pravin, Nalawade, Aware Babasaheb, Dand Neha, Kadam Vilasrao, and Hirlekar Rajashree. **2009**. “Solid State Characterization of the Inclusion Complex of

- Valsartan with Methyl β -Cyclodextrin.” *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry* 65: 377–83.
- Prozeller, D, Svenja Morsbach, and Katharina Landfester. **2019**. “Isothermal Titration Calorimetry as a Complementary Method for Investigating Nanoparticle–Protein Interactions.” *Nanoscale* 11(41): 19265–73.
- Rahim, N Y, Fatin Hamizah Samad, and Asmaa’ Mardhiah Rohisham. **2019**. “Spectroscopic Studies of Inclusion Complex Glipizide and β -Cyclodextrin.” *Malaysian Journal of Analytical Sciences* 23(5): 789–98. doi:10.17576/mjas-2019-2305-04.
- Ramos-Martínez, Beatriz, Carmela Dávila-Pousa, Vicente Merino-Bohórquez, and Marta García-Palomo. **2022**. “Use of Cyclodextrins as Excipients in Pharmaceutical Products: Why Not in Extemporaneous Preparations?” *Farmacia Hospitalaria* 46(1): 31–39.
- Rathmell, James P, Joseph M Neal, and Christopher M Viscomi. **2004**. *Regional Anesthesia: The Requisites in Anesthesiology*. Mosby.
- Rekharsky, Mikhail V, and Yoshihisa Inoue. **1998**. “Complexation Thermodynamics of Cyclodextrins.” *Chemical reviews* 98(5): 1875–1918.
- Renny, Joseph S, Laura L Tomasevich, Evan H Tallmadge, and David B Collum. **2013**. “Method of Continuous Variations: Applications of Job Plots to the Study of Molecular Associations in Organometallic Chemistry.” *Angewandte Chemie International Edition* 52(46): 11998–13.
- Rosenkrantz, W. **2006**. *Practical Applications of Topical Therapy for Allergic, Infectious, and Seborrheic Disorders. Clinical Techniques in Small Animal Practice*, 21(3), 106–116. <https://doi.org/10.1053/j.ctsap.2006.05.003>
- Saenger, Wolfram, and Thomas Steiner. **1998**. “Cyclodextrin Inclusion Complexes: Host-Guest Interactions and Hydrogen-Bonding Networks.” *Acta Crystallographica Section A: Foundations of Crystallography* 54(6): 798–805. doi:10.1107/S0108767398010733.
- Saenger, Wolfram. **1980**. “Cyclodextrin Inclusion Compounds in Research and Industry.” *Angewandte Chemie International Edition in English* 19(5): 344–62.

- Sansanayudh, W., Phansucharitthai, T., & Sansanayudh, N. **2018**. The effect of cold tetracaine on the severity of burning sensation upon instillation. *Clinical Ophthalmology*, 12, 2377–2382. <https://doi.org/10.2147/OPTH.S179794>
- Sapkal, N P, V A Kilor, K P Bhursari, and A S Daud. **2007**. “Evaluation of Some Methods for Preparing Gliclazide- β -Cyclodextrin Inclusion Complexes.” *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* 6(4): 833–40. doi:10.4314/tjpr.v6i4.14667.
- Soltani ,S. **2019**. “Étude Physico Chimiques Des Interactions Non Covalentes Dans Les Complexes d’inclusion et de Transfert de Charge Des Arylsulfonylurées.”
- Singh, Mamata, Rohit Sharma, and U C Banerjee. 2002. “Biotechnological Applications of Cyclodextrins.” *Biotechnology advances* 20(5–6): 341–59.
- Stella, Valentine J, and Roger A Rajewski. **1997**. “Cyclodextrins: Their Future in Drug Formulation and Delivery.” *Pharmaceutical research* 14: 556–67.
- Stella, Valentino J, and Quanren He. **2008**. “Cyclodextrins.” *Toxicologic pathology* 36(1): 30–42.
- Stella, Valentino J, and Roger A Rajewski. **2020**. “Sulfobutylether- β -Cyclodextrin.” *International Journal of Pharmaceutics* 583: 119396.
- Stewart, Jonathan, Norma Kellett, and Dan Castro. **2003**. “The Central Nervous System and Cardiovascular Effects of Levobupivacaine and Ropivacaine in Healthy Volunteers.” *Anesthesia and Analgesia* 97(2): 412–16. doi:10.1213/01.ANE.0000069506.68137.F2.
- Sun, Ming-Ming, Ying Teng, Yong-Ming Luo, Zhen-Gao Li, Zhong-Jun Jia, and Man-Yun Zhang. **2013**. “Ex-Situ Remediation of PAHs Contaminated Site by Successive Methyl-Beta-Cyclodextrin Enhanced Soil Washing.” *Huan Jing ke Xue= Huanjing Kexue* 34(6): 2428–35.
- Sweetman, Sean C, and C Martindale. **2009**. 1 The Complete Drug Reference. Pharmaceutical press London.
- Szejtli, J., Atwood, J. L., & Lehn, J.-M. **1996**. 11 Sustainability (Switzerland) No Comprehensive Supramolecular Chemistry.
- Szejtli, J. **1982**. “Cyclodextrins and Their Inclusion Complexes.” *Akademiai Kiado* 25.

- Szente, Lajos, and Jozsef Szejtli. **2004**. "Cyclodextrins as Food Ingredients." Trends in Food Science and Technology 15(3–4): 137–42. doi:10.1016/j.tifs.2003.09.019.
- Tablet, Cristina, Iulia Matei, and Mihaela Hillebrand. **2012**. "The Determination of the Stoichiometry of Cyclodextrin Inclusion Complexes by Spectral Methods: Possibilities and Limitations." Stoichiometry and Research—The Importance of Quantity in Biomedicine: 47–76.
- Takahashi, A I, F J B Veiga, and H G Ferraz. **2012a**. "A Literature Review of Cyclodextrin Inclusion Complexes Characterization—Part II: X-Ray Diffraction, Infrared Spectroscopy and Nuclear Magnetic Resonance." Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res 12(1): 8–15.
- Takahashi, A I, F J B Veiga, and H G Ferraz. **2012b**. "A Literature Review of Cyclodextrin Inclusion Complexes Characterization—Part III: Differential Scanning Calorimetry and Thermogravimetry." Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res 12(1): 16–20.
- Takahashi, A I, F J B Veiga, and H G Ferraz. **2012c**. "Literature Review of Cyclodextrins Inclusion Complexes Characterization—Part I: Phase Solubility Diagram, Dissolution and Scanning Electron Microscopy." Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res 12(1): 1–7.
- Tao, Feifei, Laura E Hill, Yankun Peng, and Carmen L Gomes. **2014**. "Synthesis and Characterization of β -Cyclodextrin Inclusion Complexes of Thymol and Thyme Oil for Antimicrobial Delivery Applications." LWT-Food Science and Technology 59(1): 247–55.
- Teixeira, R. S., Veiga, F. J. B., Oliveira, R. S., Jones, S. A., Silva, S. M. C., Carvalho, R. A., & Valente, A. J. M. **2014**. Effect of cyclodextrins and pH on the permeation of tetracaine: supramolecular assemblies and release behavior. International Journal of Pharmaceutics, 466(1–2), 349–358.
- Thomas, O, and V Cerda. **2007**. "From Spectra to Qualitative and Quantitative Results." In Techniques and Instrumentation in Analytical Chemistry, Elsevier, 21–45.
- Tucker, Geoffrey T, Daniel C Moore, Phillip O Bridenbaugh, L Donald Bridenbaugh, and Gale E Thompson. **1972**. "Systemic Absorption of Mepivacaine in Commonly Used Regional Block Procedures." Anesthesiology 37(3): 277–87.

- Van Santvliet, Luc, and Annick Ludwig. **1998**. "The Influence of Penetration Enhancers on the Volume Instilled of Eye Drops." *European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics* 45(2): 189–98.
- Viglianti, Christophe, Christophe Viglianti, and Christophe Viglianti. **2013**. "Approche Alternative Du Lavage de Sols Pollués Par Des Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques : Utilisation Des Cyclodextrines Avec Procédés de Recyclage Présentée Par Spécialité : Sciences et Génie de l'Environnement Approche Alternative Du Lavage."
- Vippagunta, et al. **2001**. "Crystalline Solids." *Advanced drug delivery reviews* 48(1): 3–26.
- Wang, Ying, Shi-lu Zhou, Jia-rong Xia, Jun Xue, Jia-hui Xu, and Jian-hua Zhu. **2004**. "Trapping and Degradation of Volatile Nitrosamines on Cyclodextrin and Zeolites." *Microporous and mesoporous materials* 75(3): 247–54.
- Warrington, R J, and Shawn McPhillips. **1997**. "Allergic Reaction to Local Anesthetic Agents of the Amide Group." *The Journal of allergy and clinical immunology* 100(6 Pt 1): 855.
- Wu, C, and J Fan. **1998**. "Applications of Cyclodextrin to Water Treatment." *Shuichuli Jishu* 24: 67–70.
- Wyrwalski, F, B Léger, Christine Lancelot, Alain Roucoux, Eric Monflier, and Anne Ponchel. **2011**. "Chemically Modified Cyclodextrins as Supramolecular Tools to Generate Carbon-Supported Ruthenium Nanoparticles: An Application towards Gas Phase Hydrogenation." *Applied Catalysis A: General* 391(1–2): 334–41.
- yahia Ouassila, Attoui. **2014**. "Etude Théorique Du Complexe d'inclusion Venlafaxine/?-Cyclodextrine Au Moyen de La Méthode Hybride QM/QM'."
- Yarov-Yarovoy, Vladimir, Jacob Brown, Elizabeth M Sharp, Jeff J Clare, Todd Scheuer, and William A Catterall. **2001**. "Molecular Determinants of Voltage-Dependent Gating and Binding of Pore-Blocking Drugs in Transmembrane Segment IIIS6 of the Na⁺ Channel α Subunit." *Journal of Biological Chemistry* 276(1): 20–27.
- Yuan, Chao, Zhifang Lu, and Zhengyu Jin. **2014**. "Characterization of an Inclusion Complex of Ethyl Benzoate with Hydroxypropyl- β -Cyclodextrin." *Food chemistry* 152: 140–45.

- Zahavi, S. A., Ouanounou, Y., Carlen, P. L., & Ouanounou, A. **2025**. Local anaesthetic-induced seizures: a review. *Frontiers of Oral and Maxillofacial Medicine*, 7.
- Zeng, Jian, Yong Ren, Chengliang Zhou, Shuqin Yu, and Wen Hua Chen. **2011**. "Preparation and Physicochemical Characteristics of the Complex of Edaravone with Hydroxypropyl- β -Cyclodextrin." *Carbohydrate Polymers* 83(3): 1101–5. doi:10.1016/j.carbpol.2010.09.007.
- Zhang, Jingzhong, Douglas E Raines, Lawrence P Cogswell III, and Gary Strichartz. **2022**. "Rate and Equilibrium Constants for Bupivacaine's Binding to Isolated Alpha-1-Acid Glycoprotein: An In Vitro Study." *Medical Research Archives* 10(1).
- Zingone, G., and F. Rubessa. **2005**. "Preformulation Study of the Inclusion Complex Warfarin- β -Cyclodextrin." *International Journal of Pharmaceutics* 291(1–2): 3–10. doi:10.1016/j.ijpharm.2004.11.013.
- Zink, Wolfgang, and Bernhard M. Graf. **2004**. "Local Anesthetic Myotoxicity." *Regional Anesthesia and Pain Medicine* 29(4): 333–40. doi:10.1016/j.rapm.2004.02.008.

Résumé

Les anesthésiques locaux (ALs) sont largement utilisés en pratique médicale, mais leur efficacité et leur stabilité peuvent être améliorées grâce à la complexation moléculaire avec les cyclodextrines (CDs). La bêta-cyclodextrine (β CD), notamment l'hydroxypropyl- β -cyclodextrine (HP β CD), est connue pour sa capacité à former des complexes d'inclusion, améliorant ainsi la solubilité et la biodisponibilité des médicaments. Cette étude explore les interactions moléculaires entre deux cyclodextrines et trois ALs la tétracaïne (TC), le chlorhydrate de tétracaïne (TC,HCl) et le chlorhydrate de procaïne (PC,HCl) en utilisant des techniques analytiques complémentaires. Puisque ces médicaments complexés peuvent être administrés sous forme d'injection liquide ou de pâte solide, et afin de bien comprendre le comportement de la complexation, des analyses ont été menées à la fois à l'état liquide (solution aqueuse) et à l'état solide. Des techniques telles que la spectroscopie UV-Visible (UV-Vis) et la calorimétrie de titration isotherme (ITC) en solution aqueuse, ainsi que la calorimétrie différentielle à balayage (DSC) et la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FT-IR) à l'état solide, ont été utilisées. Les méthodes UV-Vis et ITC ont donné des résultats comparables concernant les constantes de formation des complexes pour TC,HCl et PC,HCl, mais ont semblé diverger dans le cas de la tétracaïne basique. Les données ITC ont montré que le modèle à un site convenait bien au complexe TC,HCl/ β CD et modérément au complexe PC,HCl/ β CD, mais n'était pas adapté à la tétracaïne basique. Le processus de liaison de la β CD avec les médicaments sous forme chlorhydrate en solution liquide est exothermique, contrôlé par l'enthalpie et dirigé par l'entropie, puisque les valeurs des enthalpies de liaison correspondantes ΔH sont négatives, et nettement inférieures à celles des termes $T\Delta S$ à 298,15 K. La caractérisation à l'état solide des complexes ALs/ β CD par les méthodes DSC et FT-IR a montré que la complexation des ALs sous forme chlorhydrate dans la cavité de la β CD et HP β CD se produisait aussi bien lors du mélange physique que de la préparation par malaxage. L'analyse des spectres IR a suggéré que l'inclusion des médicaments sous forme chlorhydrate dans la cavité des CD n'est pas exclusivement due à un effet hydrophobe, ce qui expliquerait probablement le comportement divergent observé

dans les expériences ITC avec la tétracaïne basique. Les résultats IR ont soutenu et complété les conclusions tirées de l'étude à l'état liquide.

Mots-clés : Cyclodextrine, Anesthésique local, Spectrophotométrie UV-Visible, Chlorhydrate de procaïne, Encapsulation moléculaire, Calorimétrie différentielle à balayage, Calorimétrie de titration isotherme.

Abstract

Local anesthetics (LAs) are widely used in medical practice, but their efficacy and stability can be improved through molecular complexation with cyclodextrins (CDs). Beta-cyclodextrin (β CD) (HP β CD), in particular, is known for its ability to form inclusion complexes, enhancing drug solubility and bioavailability. This study explores the molecular interactions between two cyclodextrins and three LAs - tetracaine (TC), tetracaine hydrochloride (TC,HCl), and procaine hydrochloride (PC,HCl) - using complementary analytical techniques. Since these complexed drugs can be delivered either as liquid-like injections or as solid-like paste and to gain a thorough understanding of the complexation behavior, analyses in both liquid-state (aqueous solution) and solid-state were conducted. Techniques such as ultraviolet-visible spectroscopy (UV-Vis) and isothermal titration calorimetry (ITC) in aqueous solution and differential scanning calorimetry (DSC) and Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR) in solid state were used. The UV-Vis and ITC methods gave comparable results regarding the complex formation constants for TC, HCl and PC, HCl complexes but seemed to diverge in the case of basic tetracaine. The ITC data indicated that the 1 site model fits well for TC, HCl/ β CD complex and moderately for PC, HCl/ β CD complex but it was not adapted to the basic tetracaine. The binding process of β CD and with hydrochloride type drugs in liquid state is exothermic, enthalpy controlled and entropy driven since the values of the corresponding binding enthalpies ΔH are negative, fairly lower than of $T\Delta S$ terms at 298.15 K. The solid state characterization of the LAs/ β CD complexes by DSC and FT-IR methods showed that the complexation of the hydrochloride LAs into β CD and HP β CD cavity occurred during both physical mixture and kneading preparations. The IR spectra analysis suggested that the inclusion of hydrochloride type drugs into CD cavity is not exclusively hydrophobic effect driven which probably explains the divergent behavior observed from ITC experiments for the basic tetracaine. IR results supported and completed the conclusions drawn from liquid state investigation.

Keywords: Cyclodextrin, Anaesthetic drug, UV-Vis spectrophotometry, Procaine hydrochloride, Molecular encapsulation, Differential scanning calorimetry, Isothermal titration calorimetry

الملخص

تُستخدم المخدرات الموضعية (LAS) على نطاق واسع في الممارسة الطبية، لكن يمكن تحسين فعاليتها وثباتها من خلال التراكب الجزيئي مع السيكلودكستريينات (CDs). وتُعرف بيتا-سيكلودكسترين (β CD)، وبالأخص مشتقها HP β CD، بقدرتها على تكوين مركبات إدخال تحسن من نوبانية الدواء وتوافره الحيوي. تستكشف هذه الدراسة التفاعلات الجزيئية بين نوعين من السيكلودكسترين وثلاثة مخدرات موضعية هي: التتراكئين (TC)، تتراكئين هيدروكلوريد (TC,HCl)، وبروكائين هيدروكلوريد (PC,HCl)، باستخدام تقنيات تحليلية متكاملة.

نظرًا لأن هذه الأدوية المعقدة يمكن إعطاؤها إما على شكل حقن سائلة أو كعجينة صلبة، وللحصول على فهم شامل لسلوك التراكب، تم إجراء تحليل في كل من الحالة السائلة (محلول مائي) والحالة الصلبة. تم استخدام تقنيات مثل المطيافية فوق البنفسجية-المرئية (UV-Vis)، والمعايير الحرارية متساوية الحرارة (ITC) في المحاليل المائية، بالإضافة إلى المسح الحراري التفاضلي (DSC) ومطيافية الأشعة تحت الحمراء بتحويل فورييه (FT-IR) في الحالة الصلبة.

أظهرت نتائج طريقتي UV-Vis و ITC توافقًا فيما يخص ثوابت تكوين المركب لكل من TC,HCl و PC,HCl، ولكن بدا أن هناك اختلافًا في حالة التتراكئين القاعدي. أظهرت بيانات ITC أن نموذج الموقع الواحد يناسب جيدًا مركب TC,HCl/ β CD، وبشكل معتدل مركب PC,HCl/ β CD، ولكنه غير مناسب للتتراكئين القاعدي. تُظهر عملية ارتباط β CD مع الأدوية من نوع الهيدروكلوريد في الحالة السائلة بأنها طاردة للحرارة، محكومة بالإنتالبي ومحفزة بالأنثروبي، حيث إن قيم الإنتالبي المرتبطة بالارتباط ΔH كانت سالبة وأقل بكثير من القيم المقابلة لـ T ΔS عند درجة حرارة 298.15 كلفن.

أظهرت دراسة الحالة الصلبة لمركبات LA/CD باستخدام تقنيتي DSC و IR أن تراكب المخدرات الموضعية الهيدروكلورية داخل جوف CD يحدث أثناء كل من التحضير بالمزج الفيزيائي والتحضير بالعجن. أشارت تحليلات أطياف IR إلى أن إدخال الأدوية من نوع الهيدروكلوريد في جوف السيكلودكسترين لا يعتمد فقط على التأثير الكاره للماء، وهو ما يفسر السلوك المختلف الذي لوحظ في تجارب ITC مع التتراكئين القاعدي. وقد دعمت نتائج IIR الاستنتاجات المستخلصة من التحاليل في الحالة السائلة وأكملتها.

الكلمات المفتاحية: سيكلودكسترين، دواء مخدر، مطيافية UV-Vis، بروكائين هيدروكلوريد، التغليف الجزيئي، المسح الحراري التفاضلي، المعايير الحرارية متساوية الحر

Study of The Encapsulation of Local Anaesthetic Drugs in B-Cyclodextrin in Solid and Liquid States

Fatima Zohra Chater¹, Youcef Bouhadda^{1,*}, Teffaha Fergoug¹, FatimaYssaad¹, Mahmoud Belalia², Rachida Aribi¹, Cherifa Zelmat^{1,3} and Meriem Dadouch^{1,4}

¹Laboratory of Physical Chemistry of Macromolecules and Biological Interfaces,
University Mustapha Stambouli of Mascara, Mascara 29000, Algeria

²Laboratory SEA2M, Abdelhamid Ibn Badis University, Mostaganem 27000, Algeria

³Departement of Chemistry, University Djillali Liabes of Sidi Bel Abbes, Sidi Bel Abbes 22000, Algeria

⁴Departement of Pharmacy, Faculty of Medicine, University Djillali Liabes of Sidi Bel Abbes,
Sidi Bel Abbes 22000, Algeria

(*Corresponding author's e-mail: y.bouhadda@univ-mascara.dz)

Received: 11 February 2025, Revised: 27 March 2025, Accepted: 3 April 2025, Published: 30 May 2025

Abstract

Local anesthetics (LAs) are widely used in medical practice, but their efficacy and stability can be improved through molecular complexation with cyclodextrins (CDs). Beta-cyclodextrin (β -CD), in particular, is known for its ability to form inclusion complexes, enhancing drug solubility and bioavailability. This study explores the molecular interactions between β -CD and three Las - tetracaine (TC), tetracaine hydrochloride (TC·HCl), and procaine hydrochloride (PC·HCl) - using complementary analytical techniques. Since these complexed drugs can be delivered either as liquid-like injections or as solid-like paste and to gain a thorough understanding of the complexation behavior, analyses in both liquid-state (aqueous solution) and solid-state were conducted. Techniques such as ultraviolet-visible spectroscopy (UV-Vis) and isothermal titration calorimetry (ITC) in aqueous solution and differential scanning calorimetry (DSC) and Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR) in solid state were used. The UV-Vis and ITC methods gave comparable results regarding the complex formation constants for TC, HCl and PC, HCl complexes but seemed to diverge in the case of basic tetracaine. The ITC data indicated that the 1 site model fits well for TC, HCl/ β -CD complex and moderately for PC, HCl/ β -CD complex but it was not adapted to the basic tetracaine. The binding process of β -CD with hydrochloride type drugs in liquid state is exothermic, enthalpy controlled and entropy driven since the values of the corresponding binding enthalpies ΔH are negative, fairly lower than of T ΔS terms at 298.15 K. The solid state characterization of the LA/ β -CD complexes by DSC and IR methods showed that the complexation of the hydrochloride LAs into β -CD cavity occurred during both physical mixture and kneading preparations. The IR spectra analysis suggested that the inclusion of hydrochloride type drugs into CD cavity is not exclusively hydrophobic effect driven which probably explains the divergent behavior observed from ITC experiments for the basic tetracaine. IR results supported and completed the conclusions drawn from liquid state investigation.

Keywords: Cyclodextrin, Anaesthetic drug, UV-Vis spectrophotometry, Procaine hydrochloride, Molecular encapsulation, Differential scanning calorimetry, Isothermal titration calorimetry

Introduction

Local anaesthetics (LAs) are drugs that inhibit pain perception by interacting directly with voltage-gated channels [1]. These channels are a subtype of integral transmembrane proteins, and the binding sites for the drugs can be located on any domains of these proteins (extracellular loop, transmembrane, or cytoplasmic domains) [2]. It is proposed that upon reaching the appropriate domain, the drugs bind to specific receptors, leading to a conformational change in the binding site of the protein, which in turn stops the initiation and transmission of nerve impulses [3]. This ability is possible thanks to the chemical structure of these drug molecules which are structured into three parts. The 1st one constituted by an aryl group is of hydrophobic nature whereas the 2nd one is hydrophilic since it contains a tertiary ammonium group. These 2 groups give LA molecules an amphiphilic character and enable LA molecules to behave in aqueous solution such as surfactants by adsorbing preferentially at interfaces and further above a critical concentration forming micelles. Between these 2 antagonist parts stands the so-called intermediate part which can bear either an ester or amide chemical function with which the anaesthetic properties are associated partly. It is well established that in aqueous solution, the ammonium group switches into amine one when the pH increases which permits to LA molecules to diffuse through non polar media like nervous cell membranes. While the neutral form of the drugs facilitates the movement from the extracellular space across the lipid bilayer into the cytoplasm, the charged form exerts the blocking effect. Although a direct pathway for quaternary drug forms from the exterior is seldom proposed, it is not entirely ruled out, as reports concerning cardiac sodium channels show [1-3]. Moreover, the ability to proton transfer from the

ammonium atom classifies local anesthetics (LAs) as weak acids. Consequently, at a given pH, their acidic form can coexist with their conjugate base in a state of chemical equilibrium. It is also suggested that the interplay between their hydrophilic/lipophilic characteristics and their acid/base properties influences their potency to some degree [4]. In the formulation of anesthetic drugs, a significant challenge arises from their poor solubility in water, particularly in the case of the basic unprotonated form, while the acidic form exhibits slightly better solubility. Therefore, it is common to encounter anaesthetic drugs formulated as hydrochlorides or combined with specific solubilizing agents. One of the most frequently utilized additives to enhance the solubility of these drugs in water are cyclodextrins [5,6]. Of course, other advanced drug delivery systems are employed to improve the solubility, stability, and bioavailability of anesthetic drugs. One can cite liposomes, Polymeric nanoparticles made of PLGA (poly(lactic-co-glycolic acid)), Micelles, dendrimers, and Hydrogels as picked examples [7-10]. However, cyclodextrins remain the best option since they are biodegradable, non-toxic, and water-soluble, capable of encapsulating various water-insoluble therapeutic compounds within their hydrophobic cavities. The process of complexation itself represents a chemical equilibrium that must be considered with the others equilibria, such as acid/base and micelle/monomer equilibria. When concentrations are well below the threshold for micelle formation, only the processes of complexation and deprotonation coexist. Complexation is likely to be facilitated when the basic form of the local anaesthetic is present, as it is assumed that hydrophobic interactions primarily drive the inclusion of such drugs within the cyclodextrin cavity, thereby enhancing the formulation [11,12].

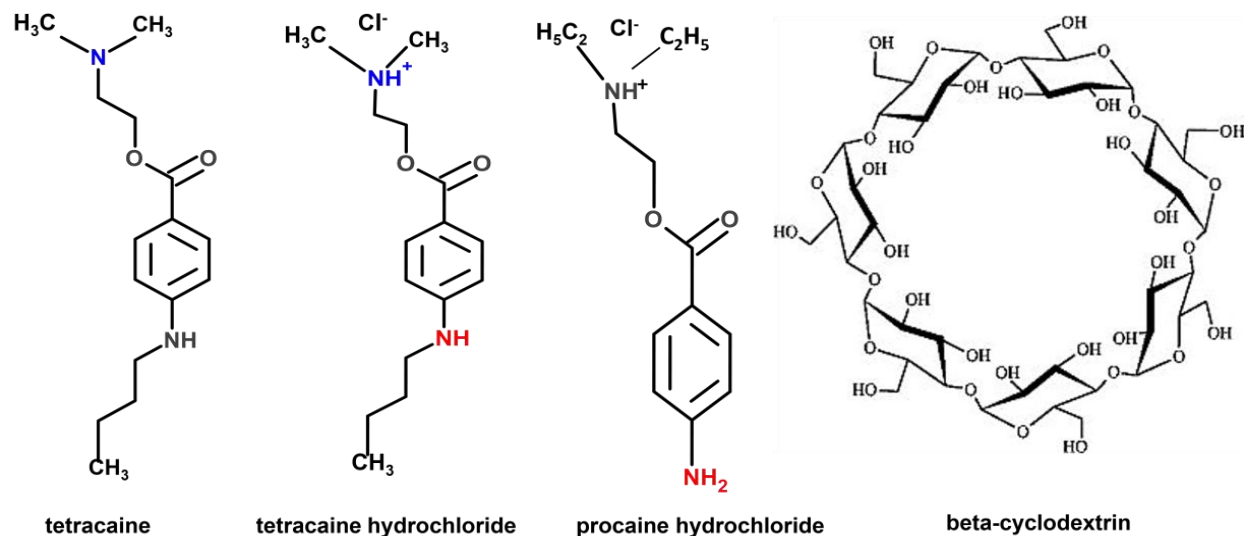


Figure 1 Chemical structures of: (a) Tetracaine, tetracaine hydrochloride, procaine hydrochloride and (b) Beta-cyclodextrin (β -CD).

So, it is interesting to explore the contribution of acid/base species and lipophilic/hydrophilic parts on the complexation process and hence on the success of drug formulation. For this, we selected three drugs belonging to the same group of LAs: tetracaine (TC) and tetracaine hydrochloride (TC, HCl) beside procaine hydrochloride (PC, HCl). These drugs have been chosen as model β -cyclodextrin ligands to explore β -CD-ligand interactions using DSC, IR, UV-vis and ITC. It is worth to remind that basic tetracaine TC, tetracaine hydrochloride TC, HCl and procaine hydrochloride PC, HCl belong to the aminoester family of LAs, an important class of nociceptive agents [3], and are commonly used in local topical anaesthesia in dentistry and ophthalmology [13-17]. They are also components of some anaesthetic gels used in veterinary practices [18-20]. β -cyclodextrin (β -CD) is one of the most important host compounds in pharmaceutical industry and represents one of the most used excipient [21-24]. The β -CD is a cage-shaped molecule with a cyclic oligosaccharide containing 7 D (+) glucopyranose units (**Figure 1(b)**), which confer it a hydrophilic exterior and hydrophobic internal cavity that enable it to complex with a non-polar part of a guest molecule [25-28].

TC and TC, HCl have almost similar chemical structures (**Figure 1(a)**) but differ by the presence of proton on the nitrogen atom on TC, HCl which must induce a conformational difference that is very sensitive from inclusion process point of view. In front

of this, TC, HCl and PC, HCl couple also have close chemical structures but differ on the hydrophobic parts. The aryl-group carries a butyl fragment in TC, HCl, whereas only a primary amine fragment is available in PC, HCl (**Figure 1(a)**). The goal of our study is to examine the effect of these particular differences on the host-guest interaction in the liquid phase and the solid phase. This is an interesting approach since the majority of the investigations on host-guest interaction are performed exclusively for the liquid state or the solid state.

Materials and methods

Materials

4-(Butylamino) benzoic acid 2- (dimethylamino) ethyl ester monohydrochloride, commonly named tetracaine hydrochloride (TC, HCl) and its basic form (TC), procaine hydrochloride for 4-aminobenzoic acid, 2(diethylamino) ethyl ester (PC, HCl) and β -cyclodextrin (β -CD) with 99 % purity or greater, were also purchased from Sigma and used without further purification. All the solutions were freshly prepared with deionized water with conductivity lower than 0.7 $\mu\text{S}/\text{cm}$ and pH around 7. The homogeneity of the initial solutions was ensured by ultrasonic bath. In the case of CD solutions, the sonication process lasted more than 24 h, while only 1 h was sufficient for drug solutions.

Preparation of the samples

Physical mixtures

The physical mixture (PM) made of the drug (LAs) and cyclodextrin β -CD in a molar ratio of (1:1) was obtained by mixing the corresponding pure compounds with a spatula until the mixture looks homogenous with a moderate grinding if necessary. A portion of the prepared PM sample was further subjected to a rigorous manual grinding in a glass mortar with a pestle for 30 min to produce a finer powdered sample PM_f.

Kneading method (KN)

The kneading preparation was adapted from Prabu *et al.* [29] study, it consists of mixing an equimolar amounts (1:1) of (LAs) and β -CD in a mortar and grinding them with a pestle while adding gradually small amounts of deionized water until suitable consistency is achieved. The final product was dried at 45 °C for 48 h and then further ground to a fine powder.

Apparatus and methods

Ultraviolet-visible (UV-vis) spectroscopy

All UV-Vis spectra were recorded using a Specord 200 plus double-beam UV-Vis spectrophotometer (Germany), with wavelength range of 190 to 400 and 1 nm intervals at 25 °C. The temperature was kept constant with a thermostated cell. In the experiments with the drug/water binary systems, the LAs concentration was 5.10^{-5} M but for the β -CD /LAs/water ternary systems the β -CD concentration was varied from 0.01 M to 1 μ M and the drug concentration was fixed to 50 μ M.

Isothermal titration calorimetry (ITC)

ITC experiments were performed using a Nano ITC low volume apparatus (TA instruments) at ambient temperature (temperature of 298.15 ± 0.5 K). A calibration of the calorimeter was carried out electrically and the CaCl₂-EDTA titration was performed to ensure that the apparatus was operating correctly. The results (n-stoichiometry, K, ΔH) were compared with those obtained for the same samples (a test kit: A standardized set of reagents and acceptable values for (n-stoichiometry, K, ΔH) provided by the

manufacturer (TA Instruments) to validate the performance of the Nano ITC calorimeter). Prior to the titration all samples were degassed with a TA degasser for 1 h. The sample cell was filled with 280 μ L of β -CD solution and the titrant syringe was filled with 40 μ L of LA solution. Whereas, the reference cell was filled with deionized and degassed water. Incremental ITC with 25 injections of 10 μ L each (except 2 μ L for the 1st injection) were performed at a rate of 0.5 μ L per second, spacing 150 s to allow a complete return to the baseline. The following settings were used: Stirring speed 200 rpm, reference power 5 μ Cal per second, feedback mode/gain set to high, initial delay 200 s and filter period 2 s. The same setting parameters were also used for β -CD and LA dilution experiments. The heats of dilution of the LA and the β -CD were small compared with the heat of binding and were subtracted from the experimental titration results. The volume change in the mixing cell due to the injection of the LA solution was corrected automatically by the Nanoanalyse software v.3.10.0 provided by the manufacturer (TA Instruments). The data of the 1st injection were discarded due to diffusion between the syringe and the sample cell solution. The registered data were analyzed based of the model of a single set of identical sites. This model assumes a single type of binding site and a 1:1 stoichiometry between the ligand X and the macromolecule M. The reaction can be written as:



and the equilibrium constant (K) defined as:

$$K = [MX_n]/[M][X]^n \quad (2)$$

where, $[MX_n]$, $[M]$ and $[X]$ stand for concentration of the Host-ligand complex, concentration of Host macromolecule and concentration of the ligand respectively.

Given the expression of equilibrium constant K for one site model, one can write:

$$K = \frac{\theta}{(1-\theta)[X]} \quad (3)$$

$$\text{with } X_t = [X] + n\Theta M_t \quad (4)$$

where, M_t and $[M]$ are bulk and free concentration of macromolecule; X_t and $[X]$ are bulk and free concentration of ligand, Θ is the fractional saturation term ($\Theta = [MX_n]/([M]+[MX_n])$) and n the number of sites or (order or stoichiometry of the reaction of binding). Combining these 2 equations above gives;

$$\Theta^2 - \Theta \left[1 + \frac{X_t}{nM_t} + \frac{1}{nKM_t} \right] + \frac{X_t}{nM_t} = 0 \quad (5)$$

So the total heat content Q of the solution contained in V_0 (active cell volume) at fractional saturation Θ is:

$$Q = n\Theta M_t \Delta H V_0 \quad (6)$$

where ΔH is the molar heat of ligand binding. Solving the quadratic equation for Θ and then substituting this into the above equation gives:

$$Q = \frac{nM_t \Delta H V_0}{2} \left[1 + \frac{X_t}{nM_t} + \frac{1}{nKM_t} - \sqrt{\left(1 + \frac{X_t}{nM_t} + \frac{1}{nKM_t} \right)^2 - \frac{4X_t}{nM_t}} \right] \quad (7)$$

The value of Q above can be calculated (for any designated values of n , K , and ΔH) at the end of the i th injection and designated $Q(i)$.

Based on the values of equilibrium constant (K) and enthalpy of complex formation (ΔH), the Gibbs energy of complex formation (ΔG) and the entropy of complex formation (ΔS) can be calculated, for all the investigated systems, from the following equations:

$$\ln K = -\frac{\Delta G}{RT} \quad (8)$$

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S \quad (9)$$

where T is the temperature (K) and R is the gas constant (8.314 J/mol K).

Differential scanning calorimetry (DSC)

DSC analyses of the samples were carried out using Differential Scanning Calorimeter (Shimadzu DSC-A60) for a temperature range of 25 to 200 °C

with a heating rate of 10 °C min⁻¹. During the experiments, aluminum crucibles with about 2 mg of samples were used, under dynamic N₂ atmosphere (50 mL min⁻¹) and using an empty sealed pan as reference [33]. DSC-A60 calorimeter was calibrated with indium sample (mp 156.6 °C; $\Delta H_{\text{fus}} = 28.54$ J/g).

Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR) analysis

All DSC samples were subjected to IR spectroscopy characterization. FT-IR spectral data of pure solid compounds and solid inclusion complexes were recorded at room temperature by Nicolet iS10 FT-IR Spectrometer covering the range of 4,500 - 500 cm⁻¹. The spectra were acquired with an average of 32 scans with spectral resolution of 2 cm⁻¹ in attenuated total reflectance (ATR) mode using Diamond crystal and operating with the OMNIC software provided by the manufacturer.

Results and discussion

UV-VIS spectroscopy studies

UV-VIS spectroscopy was initially employed to investigate the host-guest interactions, to demonstrate the formation of the complex and to determine the stoichiometry and stability constant of the β -CD/LA complex. The absorption spectra of LAs in water, recorded at a temperature of 25 °C both in the absence and presence of β -CD, are showed in **Figure 2** where the arrow 1 to 8 on each series of spectra ((a) for TC/ β -CD, (b) for TC,HCl/ β -CD and (c) PC,HCl/ β -CD) indicates the increasing concentration of the β -CD. The absorption maxima corresponding to the aminobenzoate chromophore were identified at 292, 293 and 295 nm wavelengths for TC, TC, HCl and PC, HCl aqueous solutions, respectively. The clear emergence of isosbestic points in the three spectra indicates the presence of a chemical equilibrium between the complexed and unbound drug molecules.

The combined observations of maximum wavelength shifts in both intensity (hyperchromic) and position (bathochromic) indicate that the formation of the complexes (TC/ β -CD), (TC, HCl/ β -CD), and (PC, HCl/ β -CD) has indeed occurred for the three drug molecules. Considering that their concentrations remain constant throughout the experiments and that β -

CD does not absorb light at this wavelength range. Consequently, we can claim that a portion of LA molecules is likely encapsulated within the β -CD cavity. Additionally, the distinct features observed in each spectrum regarding wavelength and absorbance

variations suggest that different complexation mechanisms may have occurred, despite the structural similarity of the chromophores present in these molecules.

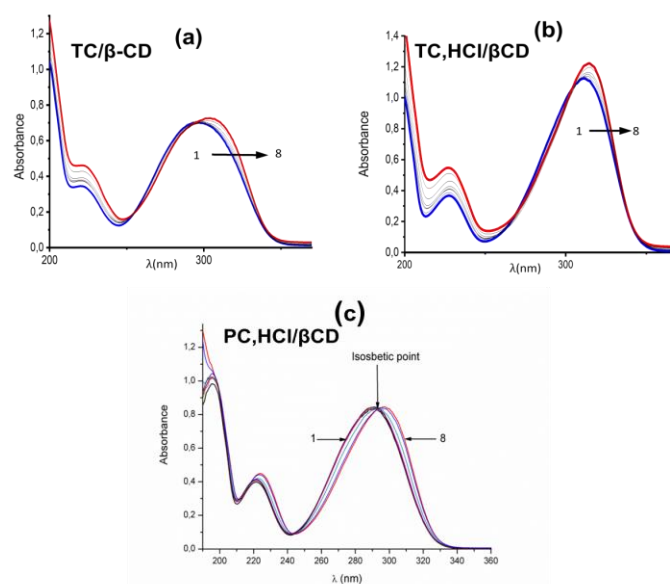


Figure 2 UV-Vis absorption spectra of the three LAs: (a) TC/ β -CD, (b) TC,HCl/ β -CD and (c) PC,HCl/ β -CD.

The fitting of the variation of $\Delta\lambda = \lambda - \lambda_0$ and $\Delta A = A - A_0$ with β -cyclodextrin concentration were performed using the derived Eqs. (10) and (11) for 1:1 complex model [30-32].

$$\frac{\Delta A}{c} = \Delta \epsilon \frac{K_{11} [CD] f}{1 + K_{11} [CD] f} \quad (10)$$

$$\Delta \lambda = \Delta \lambda_{\max} \cdot \beta = \Delta \lambda_{\max} \cdot \frac{K_{11} [CD] f}{1 + K_{11} [CD] f} \quad (11)$$

where (A and A_0) and (λ and λ_0) are respectively the absorbance and the maximum wavelength of the solutions in presence and in absence of CD. K_{11} and ($\Delta\lambda_{\max}$, $\Delta\epsilon$) represent the complexation constant and fitting parameters, respectively. These last expressions

are derived from the assumptions that the change in absorbance (ΔA) during complexation is proportional to the concentration of the complex (MX_n) and the molar absorptivity change upon complexation ($\Delta\epsilon$) and that the shift in wavelength ($\Delta\lambda$) is proportional to the fraction of bound guest molecules and the maximum possible shift at full saturation ($\Delta\lambda_{\max}$). Changes in ΔA for the mixture (TC,HCl/ β -CD) or in $\Delta\lambda$ for the mixtures (PC,HCl/ β -CD) and (TC/ β -CD) against of β -CD concentration at $T = 25^\circ\text{C}$ are shown on (Figure 3). The non-linear fitting of the data of the three curves applied to 1:1 stoichiometry model with Eqs. (1) and (2) enables the deduction the K_{11} complexation constants as illustrated in Table 1.

Table 1 Formation constant (K_{11}) values for β -CD/Las.

Complex	Formation constant, K_{11}
TC/ β -CD	100.55
TC,HCl/ β -CD	403.27
PC,HCl/ β -CD	223.18

The obtained K_{11} values reflect a moderate affinity of β -CD for both TC, HCl and PC, HCl, which is suitable from a pharmacological point of view. On the contrary, a higher affinity between the drug and the β -CD is observed for TC, HCl which may lead to difficult delivery of the TC, HCl to the organism

compared to the 2 other drugs. The higher affinity of β -CD to TC, HCl compared to TC may be attributed to the unavailability of free monomeric basic TC molecules in bulk solution at this concentration range and temperature since this basic form is known for its insolubility in water.

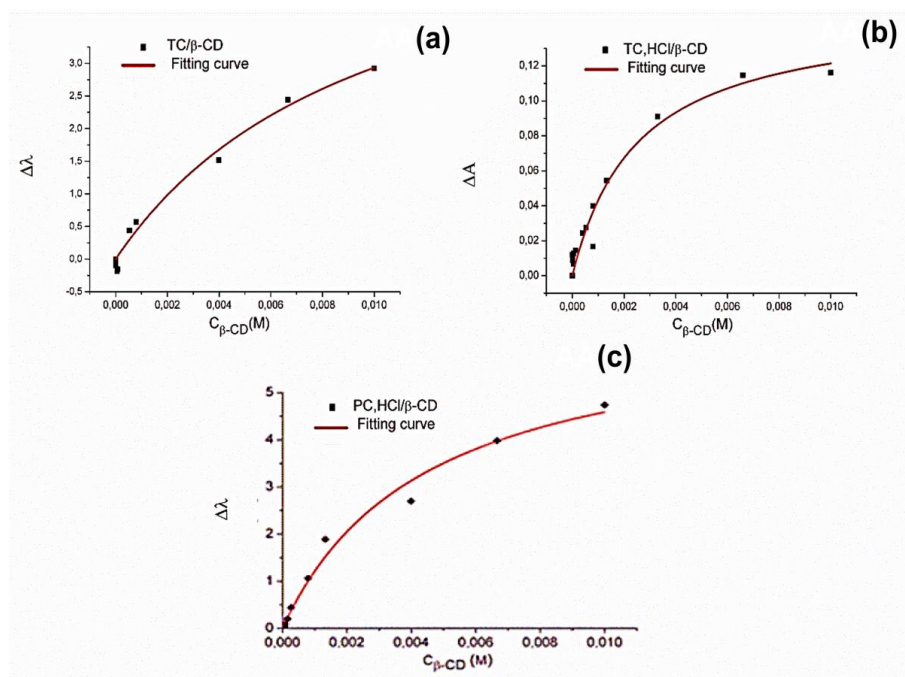


Figure 3 Variation of ΔA for (b) TC, HCl/ β -CD, $\Delta\lambda$ for (a) TC/ β -CD and (c) PC, HCl/ β -CD systems as a function of β -CD concentration at $T = 25\text{ }^{\circ}\text{C}$.

ITC measurements

ITC is well known as the most accurate method to determine the thermodynamic parameters for the ligand-CD interaction and to extract parameters such as stoichiometry (n) and binding constant (K). **Figure 4** shows both the calorimetric titration profiles and the corresponding reaction heats isotherms for the LA drugs binding to β -CD in aqueous solutions at temperature of $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ ($298.15 \pm 0.5\text{ K}$ and $p = 0.1\text{ MPa}$). **Table 2** summarizes the thermodynamic parameters calculated from ITC enthalpogram. In (**Figure 4**) it is obvious to note that different enthalpograms profiles are exhibited especially those of basic tetracaine TC. In fact, the basic tetracaine case shows an incomplete sigmoidal shape profile which leads to unexpected non realistic fitting parameters (inappropriate value for $n = 0.1$) and hence makes the data for the interaction of this drug

with β -CD less accurate comparing with the 2 other guests. These results may reveal that the amount of free basic tetracaine molecules in the bulk solution is limited to induce host-guest interaction as suggested from UV-Vis data. For the 2 other hydrochlorides LAs, better profiles are obtained with negative ΔG° values implying spontaneous processes that favor the binding interaction [34,35].

It can be seen from **Table 2** that the calculated ΔH° for TC,HCl and PC,HCl systems are negative which means that the corresponding complexation processes are exothermic underlying the favourable non-covalent interactions between the host and the guest. In addition, the deduced standard formation entropies (ΔS°) are positive in all cases as usually reported for such molecules with a slight excess for PC,HCl complex. So, to compare the data for the 2 hydrochloride drugs, it is necessary to consider that the

strength of interaction depends on the width of the CD cavity, the volumes of penetrating part of the guest

molecules and propensity of β -CD internal water molecules to leave the cavity.

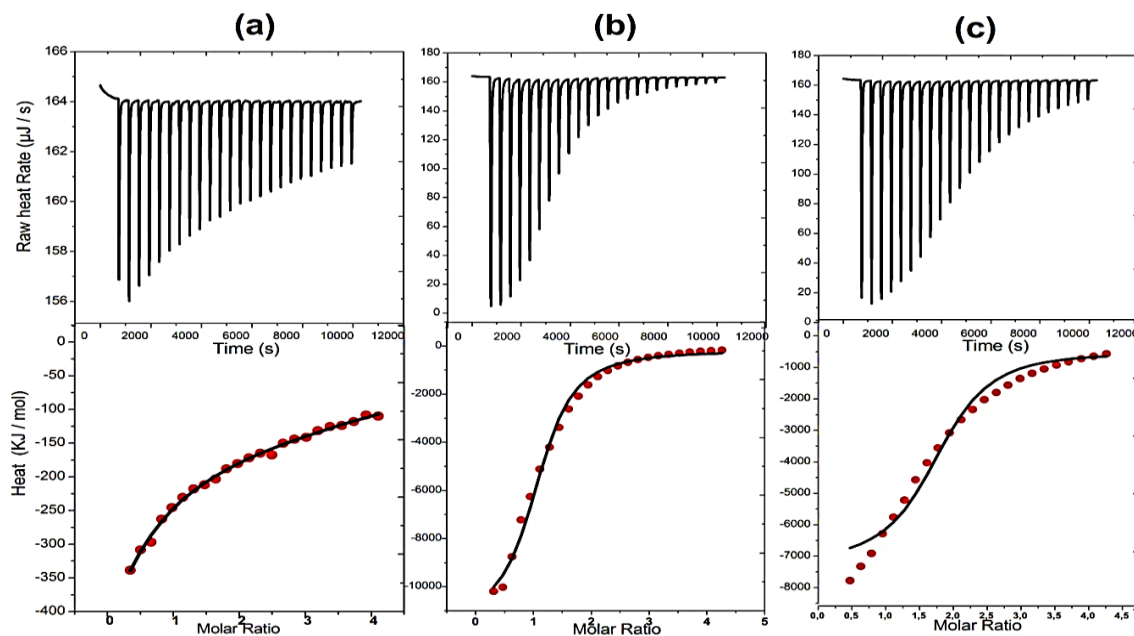


Figure 4 Calorimetric titration of LAs: (a) TC, (b) TC,HCl and (c) PC,HCl with the β -CD. Top: Raw data for 28 sequential injections (10 μ L per injection) of β -CD solution into the LA solution. Bottom: Reaction heat isotherms obtained from the integration of the calorimetric curves. The line was drawn with the calculated parameters given in Table 2.

Furthermore, the general picture of hydrophobic effect is related to the introduction of a hydrocarbon into water which results in a structural rearrangement with increased order of the water close to the solute. Thus, the overall result of the host-guest combination depends on the negative contribution to entropy due to the association of the host and the guest molecules and the corresponding restriction of freedom degrees, in particular those of the guest molecule which impacts the enthalpy contribution, and a positive contribution due to the release of water from the cavity.

Given the differences in chemical structures of every hydrochloride anaesthetic, the differences in the proportion by which the binding entropy and enthalpy contribute to the Gibbs energy reflect the differences in the interaction established with β -CD [36-38].

As mentioned above, the value of Q can be calculated (for any designated values of n , K , and ΔH) at the end of the i th injection but the correct fitting process deals with the heat released from the i th

injection, $\Delta Q(i)$, which is given by the following expression.

$$\Delta Q(i) = Q(i) + \frac{dV_i}{V_0} \left[\frac{Q(i) + Q(i-1)}{2} \right] - Q(i-1)$$

The process of fitting experimental data then involves 1) initial guesses of n , K , and ΔH ; 2) calculation of $\Delta Q(i)$ for each injection and comparison of these values with the measured heat for the corresponding experimental injection; 3) improvement in the initial values of n , K , and ΔH and 4) iteration of the above procedure until no further significant improvement in fit occurs with continued iteration.

From the n values on Table 2, it is clear that TC,HCl complexation fits perfectly with the 1:1 model with the best complexation constant value in agreement with UV-Visible deduction. The corresponding process is almost equally controlled by enthalpy and entropy

contributions compared to PC,HCl that appears to be more dependent on entropy variation.

Table 2 Thermodynamic parameters ΔH , $T\Delta S$, ΔG and equilibrium constants K for complexation between LAs and β -CD at 298.15 K.

Guest	n	K (M ⁻¹)	ΔH (kJ/mol)	$T\Delta S$ (kJ/mol)	ΔG (kJ/mol)
TC	0.1	174	-	-	-
TC, HCl	0.992	485	-6.64	8.69	-15.33
PC, HCl	1.545	390	-4.371	10.42	-14.79

Solid inclusion complex studies

In order to accomplish a comprehensive study, DSC and FT-IR methods were used for a rapid qualitative investigation by comparing the behavior of single components and their inclusion compounds.

Thermal analysis (DSC)

The DSC curves of solid state pure components and of inclusion complex between LA drugs and β -CD are shown in **Figure 5**. The DSC profiles of the pure components (tetracaine, β -CD) and their corresponding binary systems (physical mixtures and kneading sample) are shown in **Figure 5(a)**.

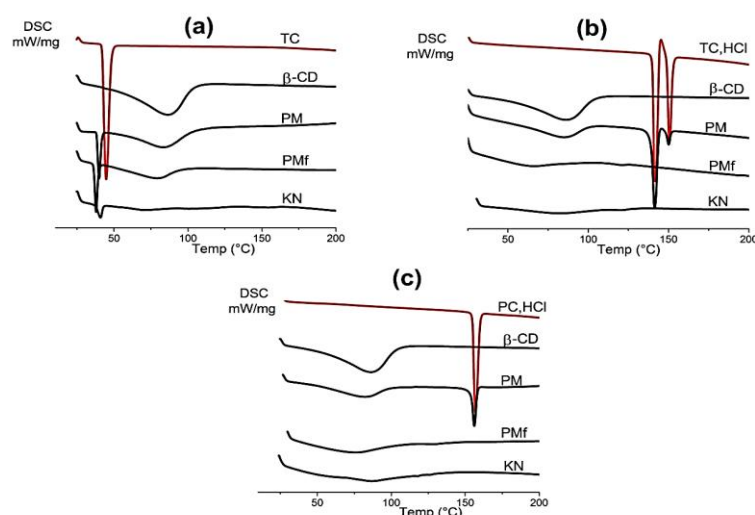


Figure 5 DSC curves of β CD, LAs, physical mixture (PM), physical mixture with grinding (PMf) kneaded (KN) products. (a): Basic tetracaine, (b): Tetracaine hydrochloride, and (c): Procaine hydrochloride).

The thermogram of pure β -CD shows a multi-stage dehydration process from 35 to 137 °C. The 1st stage of water elimination appeared as a wide endothermic band, below 100 °C (centered around 86 °C), which corresponds to the release of weak bound surface water molecules [39,40]. The thermal curve of TC sample presents a single endothermic signal with an onset peak at 42.12 °C and a maximum at 44.8 °C, corresponding to the melting point of the TC. The thermal curve of the physical mixture obtained with hard grinding noted PM_f seems to be the same as PM sample obtained due to the superposition of the 2 pure

components curves, except the melting peak maximum which slightly shifts to 42 °C underlying the effect of grinding process which may modify the structural parameters of the TC crystal. The thermal curve of the solid inclusion complex of TC with β -CD obtained by kneading method showed a significant decrease in the intensity of the TC endothermic peak at 44.8 °C (**Figure 5(a)**). The incomplete disappearance of the crystalline melting peak of TC in the DSC curve can be assumed as an evidence of the weak insertion of the TC molecule inside the β -CD cavity. **Figure 5(b)** shows 2 sharp endothermic peaks at 139.7 and 149.52 °C which

are indicative of the presence of 2 crystalline species as already demonstrated by Giron *et al.* [41].

When the TC, HCl is mixed with β -CD without hard grinding the obtained physical mixture PM shows the presence of the earlier 2 peaks of TC, HCl with a signal attenuation of the 149 °C peak revealing its instability (switching to the 139.7 °C specie) or that this specie is hypothetically incorporated spontaneously into β -CD. The thermograms of TC, HCl/ β -CD inclusion complex prepared by physical mixing PM, by grinding PM_f or by kneading KN (1:1) show complete disappearance of the endothermic peaks characteristic of TC, HCl and the shift of the broad β -CD water peak due to the dehydration process. These sign the successful inclusion complex formation and changes in hydration dynamics (The drug is no longer in its free crystalline form and the high-energy water molecules are expelled from the cavity of the CD). **Figure 5(c)** shows that the characteristic thermal profile of the drug (PC, HCl) is close to the thermal profile observed with TC, HCl except the presence of a unique melting peak at 153 °C. When the corresponding physical mixture PM enthalpogram is compared to the enthalpograms of the pure host or guest molecules, it is easy to note the perfect superposition without peak shift. When the PM_f and kneading (KN) samples are compared to the pure samples the melting peak of the drug disappears completely with a weak trace of the water signal in contrast of TC, HCl case. For PC, HCl and TC, HCl mixtures it is evident that the complexation takes place for both kneading and PM_f samples. This agrees with the results deduced from UV-Visible and ITC experiments.

Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR)

The FT-IR spectroscopy technique was used for qualitative investigation of the interaction of LA and β -CD. **Figure 6** shows the FT-IR spectra of LA, β -CD and their 1:1 inclusion complexes, in the solid state. The FT-IR spectra of pure β -CD and the corresponding LA are presented at the top of each spectral series of spectra and correspond to the published spectra in literature [42].

The confirmation of the inclusion process

between the guest and host molecules using FT-IR spectroscopy is based on the concept that after inclusion into the CD cavity the freedom of some bonds will be restricted due to the non-covalent interaction such as hydrophobic interactions, Van der Waals interactions and hydrogen bonding between the interacting molecules. This is expected to influence the peak intensities of the corresponding frequencies. This approach is the common method recommended in this kind of interaction and compares well with approaches used in studies dealing with the synthesis of doped-nanoparticles where bonds are cleaved and others are formed when exogenous material are entrapped into the native nanoparticle's structure [43]. Furthermore, the preparation of the physical mixture PM is a good method to estimate the inclusion phenomena, so the comparison becomes more valuable.

As shown in (**Figure 6**) and according to the corresponding chemical structure, the characteristic peaks of β -CD appear respectively at 3,300, 2,900 and 1,630 cm⁻¹ for O-H, C-H and C=O bonds stretching as reported by Abou-Okeil *et al.* [42]. Additionally, other peaks are prominent at 1,419 and at 1,335 cm⁻¹ for C-H bond wagging and bending respectively while the distinctive signal at 1,020 cm⁻¹ is attributed to the C-O bond stretching.

For the LA molecules studied in this work, they share almost a wide range of the IR spectrum since they all contain the same para-amino-acetate benzene group. In the case of hydrochloride molecules, the differences are related to the butyl chain between tetracaine and procaine as well as their corresponding amino groups. In the case of basic tetracaine and its corresponding acidic conjugate TC, HCl the differences may arise from the subtle conformational distinction between the amine and the amino groups.

The comparison of TC, HCl and TC spectra showed that almost the same signals are observed with little shift in peaks positions. Indeed, for TC, HCl and TC molecules N-H symmetric stretching is observed at 3,371 cm⁻¹ and the CH stretching vibrations appear at 2,947 and 2,865 cm⁻¹ for TC, HCl and at 2,952 and 2,861 cm⁻¹ for TC. At 1,672 cm⁻¹ one identifies C=O stretching for TC, HCl which shifts to 1,683 cm⁻¹ in the case of TC. The aromatic ring vibration modes are situated at 1,600 for TC but observed at 1,500 cm⁻¹ for TC, HCl.

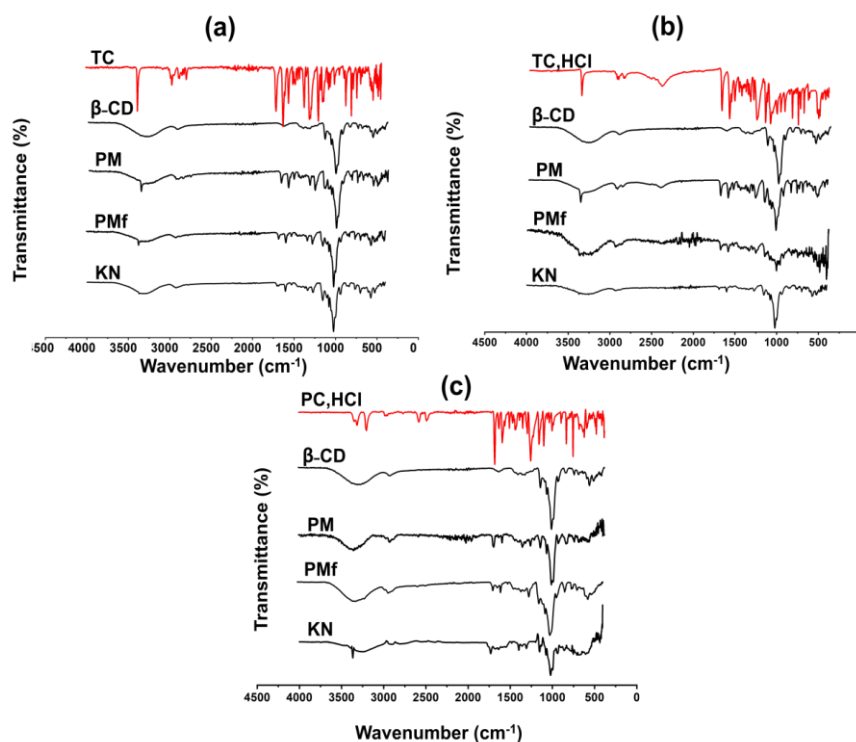


Figure 6 FT-IR spectra of βCD, LAs, physical mixture (PM), physical mixture with grinding (PMf) kneaded (KN) products. (a): Basic tetracaine, (b): Tetracaine hydrochloride, and (c): Procaine hydrochloride).

The FT-IR spectrum of the TC/β-CD (**Figure 6(a)**) showed some significant changes when related to pure TC spectrum. The FT-IR spectrum of the TC/β-CD complex showed the same distinctive bands with reduced peak intensities compared to pure TC spectrum. The N-H symmetric stretching signal at 3,371 cm⁻¹ is dramatically reduced in the inclusion complexes (KN) spectrum. This is because the para-amino-acetate benzene group of the drug is probably entrapped into the β-CD cavity which hinders its vibration mode. As a result of inclusion complex formation, the broad O-H signal of pure β-CD at 3,300 cm⁻¹ was narrowed in the FT-IR spectrum of the inclusion complexes. This constitutes a good indication of the formation of the inclusion complex [44].

The FT-IR spectrum of the TC, HCl/β-CD showed some significant changes compared to pure TC, HCl spectrum. The FT-IR spectrum of the TC, HCl/β-CD complex showed the same distinctive bands but with more attenuated intensities compared to pure TC, HCl spectrum. The N-H symmetric stretching at 3,376 cm⁻¹ completely disappeared in the KN inclusion complex revealing that the N-H bond experiences shielding from the β-CD hydrophobic interior, altering

its dipole moment and IR activity.

For PC, HCl/β-CD (**Figure 6(c)**), the same observations are noted where a decrease in the intensity of several peaks occurs. We can mention that the intensity of 1,695 cm⁻¹ peaks of the drug (Conjugated C=O stretching mode) that decreases as well as the peaks at 848 and 769 cm⁻¹ which are almost unrecognizable. The N-H symmetric stretching at 3,370 cm⁻¹ completely disappeared for the PM and PM_f samples but still present for the KN one. In the case of TC and TC, HCl samples this peak disappears completely for KN samples but still present in PM and PM_f samples. This is the opposite behavior noticed for PC, HCl complexes. From these observations, we suggest that in the case of TC and TC, HCl molecules the inclusion into the CD cavity occurs with the tertiary amine group instead of the expected hydrophobic butyl chain and in the case of PC, HCl, the inclusion occurs from the primary amine side instead of its tertiary amino group. This suggestion is based on the fact that the kneading method reveals that the contribution of the added water during the PC, HCl complex preparation is less marked whereas it is crucial for the inclusion process in the case of TC or TC, HCl

samples.

Conclusions

This study examined the complexation of three anesthetic drugs with β -cyclodextrin (β -CD) in both liquid and solid states using various techniques, including UV-Visible spectrophotometry, isothermal calorimetry, differential scanning calorimetry, and infrared spectrometry. The UV-Visible results indicated the formation of drug/ β -CD complexes in a 1:1 stoichiometric ratio, as evidenced by the presence of isobestic points and hyperchromic and bathochromic shifts in the UV spectra. Among the complexes, the TC, HCl complex exhibited the highest stability, reflected by its significant complexation constant ($K_{11} = 403.27$). The thermodynamic analysis conducted in the liquid state through isothermal titration calorimetry (ITC) corroborated the UV-Visible findings, demonstrating that complexation is thermodynamically favorable for both TC, HCl/ β -CD and PC, HCl/ β -CD (with K values of 485 M⁻¹ for TC, HCl and 390 M⁻¹ for PC, HCl). However, the formation of the TC/ β -CD complex was not satisfactorily confirmed, as indicated by an irregular enthalpogram. Furthermore, the process was determined to be driven by entropy, with a moderate contribution from enthalpy. In the solid state, the formation of host-guest complexes was qualitatively validated using differential scanning calorimetry (DSC) and Fourier-transform infrared (FT-IR) spectroscopy. The DSC results indicated that the hydrochloride drug-cyclodextrin complexes could be readily formed through well grinded physical mixing or kneading preparations, suggesting a favorable outcome from a pharmaceutical perspective. Conversely, the IR analysis revealed that the hydrophobic hydrocarbon chain of the drug does not necessarily need to be the primary component enclosed within the CD cavity.

Acknowledgements

The authors would like to thank the DGRSDT, Algeria and University of Mascara for their technical and financial supports.

References

- [1] H Fozzard, P Lee and G Lipkind. Mechanism of local anesthetic drug action on voltage-gated

Sodium channels. *Current Pharmaceutical Design* 2005; **11**(21), 2671-2686.

- [2] S Hannongbua, W Treesuwan and W Boonyarat. *Advanced molecular modeling techniques applied to ion channels and their inhibitors*. In: SP Gupta (Ed.). Ion channels their inhib. Springer Berlin, Heidelberg, Germany, 2011, p. 53-78.
- [3] SA Fernandes, LF Cabeça, AJ Marsaioli and ED Paula. Investigation of tetracaine complexation with beta-cyclodextrins and p-sulphonic acid calix arenes by nOe and PGSE NMR. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry* 2007; **57**, 395-401.
- [4] BJ Drakulić, C Zalaru and M Iovu. Acutotoxicity of substituted 2-(1H-pyrazol-1-yl) acetanilides and related commercially available local anesthetics toward mice. A grind/almond-based 3-D QSAR study. *QSAR & Combinatorial Science* 2009; **28**(2), 206-217.
- [5] N Kaboudi, SG Asl, N Nourani and A Shayanfar. Solubilization of drugs using beta-cyclodextrin: Experimental data and modeling. *Annales Pharmaceutiques Françaises* 2024; **82**(4), 663-672.
- [6] OE Nicolaescu, I Belu, AG Mocanu VC, Manda, G Rău, AS Pîrvu, C Ionescu F, Ciulu-Costinescu, M Popescu and MV Ciocîlteu. Cyclodextrins: Enhancing drug delivery, solubility and bioavailability for modern therapeutics. *Pharmaceutics* 2025; **17**(3), 288.
- [7] GA Gonzalez, C Betbeze, R Wills, A Eddy, C Mochal-King and RL Fontenot. Effects of subconjunctival ropivacaine, liposomal bupivacaine, and mepivacaine on corneal sensitivity in healthy horses. *Veterinary Surgery* 2023; **52**(7), 1041-1049.
- [8] TA Bauer, NK Horvat, O Marques and S Chocarro, C Mertens, S Colucci, S Schmitt, LM Carrella, S Morsbach, K Koynov, F Fenaroli, P Blümmler, M Jung, R Sotillo, MW Hentze, MU Muckenthaler and M Barz. Core cross-linked polymeric micelles for specific iron delivery: Inducing sterile inflammation in macrophages. *Advanced Healthcare Materials* 2021; **10**(19), 2100385.
- [9] N Azum, MM Alotaibi, M Ali, MA Rub, HM Marwani, KA Alamry and AM Asiri.

- Investigation of an anaesthetic drug (tetracaine hydrochloride) in the presence of ionic fluid and surfactant: Mixed micellization & spectroscopic studies. *Journal of Molecular Liquids* 2023; **370**, 121057.
- [10] C Kappel, C Seidl, C Medina-Montano, M Schinnerer, I Alberg, C Leps, J Sohl, AK Hartmann, M Fichter, M Kuske, J Schunke, G Kuhn, I Tubbe, D Paßlick, D Hobernik, R Bent, K Haas, E Montermann, K Walzer, M Diken, ..., and S Grabbe. Density of conjugated antibody determines the extent of Fc receptor dependent capture of nanoparticles by liver sinusoidal endothelial cells. *ACS Nano* 2021; **15(9)**, 15191-15209.
- [11] RAFD Lima, MBD Jesus, S Cereda, CM Tofoli, GR Cabeça, LF Mazzaro and E Paula. Improvement of tetracaine antinociceptive effect by inclusion in cyclodextrins. *Journal of Drug Targeting* 2012; **20(1)**, 85-96.
- [12] RS Teixeira, FJ Veiga, RS Oliveira, SA Jones, SM Silva, RA Carvalho and AJ Valente. Effect of cyclodextrins and pH on the permeation of tetracaine: Supramolecular assemblies and release behavior. *International Journal of Pharmaceutics* 2014; **466(1-2)**, 349-358.
- [13] W Sansanayudh, T Phansucharitthai and Sansanayudh. The effect of cold tetracaine on the severity of burning sensation upon instillation. *Clinical Ophthalmology* 2018; **12**, 2377-2382.
- [14] T Ayuse, S Kurata and T Ayuse. Successful dental treatments using procaine hydrochloride in a patient afraid of local anesthesia but consenting for allergic testing with lidocaine: A case report. *Local and Regional Anesthesia* 2020; **13**, 99-103.
- [15] SA Zahavi, Y Ouanounou, PL Carlen and A Ouanounou. Local anaesthetic-induced seizures: A review. *Frontiers of Oral and Maxillofacial Medicine* 2025; **7**, 1-8.
- [16] PB Dias, MD AR Parchen and D Wasilewski. Comparison of proparacaine, tetracaine, and oxybuprocaine in corneal sensitivity measurement. *Journal of Ocular Pharmacology and Therapeutics* 2024; **40(4)**, 215-221.
- [17] AH Jeske. *Local anesthetics*. In: AH Jeske (Ed.). Contemporary dental pharmacology. Springer Cham, Germany, 2024, p. 9-23.
- [18] W Rosenkrantz. Practical applications of topical therapy for allergic, infectious, and seborrheic disorders. *Clinical Techniques in Small Animal Practice* 2006; **21(3)**, 106-116.
- [19] H Faghihi, SM Rajaei, H Ostadhasan and HE Alagha. Effect of topical 0.5 % tetracaine hydrochloride on intraocular pressure in ophthalmologically normal cats. *Journal of Feline Medicine and Surgery* 2022; **24(2)**, 185-188.
- [20] C Margeti, C Kostakis, V Tsioli, K Karagianni and E Flouraki. Local anaesthesia techniques in dogs and cats: A review study. *Pets* 2024; **1(2)**, 88-119.
- [21] T Kovacs, P Nagy, G Panyi, L Szenté, Z Varga and F Zakany. Cyclodextrins: Only pharmaceutical excipients or full-fledged drug candidates? *Pharmaceutics* 2022; **14(12)**, 2559.
- [22] B Ramos-Martínez, C Dávila-Pousa, V Merino-Bohórquez, M García-Palomo and MP Flox-Benítez. Use of cyclodextrins as excipients in pharmaceutical products: why not in extemporaneous preparations? *Farmacia Hospitalaria* 2022; **46(1)**, 31-39.
- [23] G Kali, S Haddadzadegan and AB Schnürch. Cyclodextrins and derivatives in drug delivery: New developments, relevant clinical trials, and advanced products. *Carbohydrate Polymers* 2023; **324(1)**, 121500.
- [24] H Liu, S Guo, S Wei, J Liu and B Tian. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of cyclodextrin-based oral drug delivery formulations for disease therapy. *Carbohydrate Polymers* 2023; **329**, 121763.
- [25] JY Liu, X Zhang and T Bingren. Selective modifications at the different positions of cyclodextrins: A review of strategies. *Turkish Journal of Chemistry* 2020; **44(2)**, 261-278.
- [26] A Haroun, A Osman, S Ahmed and AH Elghandour. Synthesis and characterization of ibuprofen delivery system based on β - cyclodextrin. *Trends in Science* 2022; **19(19)**, 5825.
- [27] CM Santamaria, A Woodruff, R Yang and DS Kohane. Drug delivery systems for prolonged duration local anesthesia. *Materials Today* 2017; **20(1)**, 22-31.

- [28] KVB Pharm, MRB Pharm and MM Patel. Insight on nano drug delivery systems with targeted therapy in treatment of oral cancer. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine* 2023; **49(9)**, 102662.
- [29] S Prabu, K Sivakumar, SK Nayaki and R Rajamohan. Host-guest interaction of cytidine in β -cyclodextrin microcavity: Characterization and docking study. *Journal of Molecular Liquids* 2016; **219**, 967-974.
- [30] C Merino, E Junquera, J Jime and E Aicart. Effect of the presence of cyclodextrin on the solution behavior of procaine hydrochloride spectroscopic and thermodynamic studies. *Langmuir* 2000; **16(14)**, 1557-1565.
- [31] P Fini, M Castagnolo, L Catucci, P Cosmaa and A Agostiano. Inclusion complexes of rose bengal and cyclodextrins. *Thermochimica Acta* 2004; **418(1-2)**, 33-38.
- [32] H Boudjoras, T Fergoug, M Azayaz, Y Bouhadda, NM Araibi and C Zelmat. Temperature effect on the encapsulation of the drug tetracaine hydrochloride in different cyclodextrins. *Malaysian Journal of Analytical Sciences* 2022; **26(1)**, 164-175.
- [33] BN Nalluri, KPR Chowdary, RV Kolapalli, AR Hayman and G Becket. Physicochemical characterization and dissolution properties of nimesulide-cyclodextrin binary systems. *AAPS PharmSciTech* 2003; **4(1)**, E2.
- [34] GA Holdgate and WHJ Ward. Measurements of binding thermodynamics in drug discovery. *Drug Discovery Today* 2005; **10(22)**, 1543-1550.
- [35] D Jakšić, MŠ Klarić, H Rimac, R Kerep and I Piantanida. Cyclodextrin-based displacement strategy of sterigmatocystin from serum albumin as a novel approach for acute poisoning detoxification. *International Journal of Molecular Sciences* 2023; **24(5)**, 4485.
- [36] H Li, X Xu, M Liu, D Sun and L Li. Microcalorimetric and spectrographic studies on host-guest interactions of α -, β -, γ - And M β -cyclodextrin with resveratrol. *Thermochimica Acta* 2010; **510(1-2)**, 168-172.
- [37] K Bouchemal and S Mazzaferro. How to conduct and interpret ITC experiments accurately for cyclodextrin-guest interactions. *Drug Discovery Today* 2012; **17(11-12)**, 623-629.
- [38] A Pîrnău, M Mic, M Bogdan and I Turcu. Characterization of β -cyclodextrin inclusion complex with procaine hydrochloride by ¹H NMR and ITC. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry* 2014; **79**, 283-289.
- [39] MM Doile, KA Fortunato, IC Schmücker, SK Schucko, MAS Silva and PO Rodrigues. Silva and PO Rodrigues. Physicochemical properties and dissolution studies of dexamethasone acetate- β -cyclodextrin inclusion complexes produced by different methods. *AAPS PharmSciTech* 2008; **9(1)**, 314-321.
- [40] U Gala, MC Chuong, R Varanasi and H Chauhan. Characterization and comparison of lidocaine-tetracaine and lidocaine-camphor eutectic mixtures based on their crystallization and hydrogen-bonding abilities. *AAPS PharmSciTech* 2015; **16(3)**, 528-536.
- [41] D Giron, M Draghi, C Goldbronn, S Pfeffer and P Piechon. Study of the polymorphic behaviour of some local anesthetic drugs. *Journal of Thermal Analysis* 1997; **49(2)**, 913-927.
- [42] A Abou-Okeil, M Rehan, SM El-Sawy, MK El-bisi, OA Ahmed-Farid and FA Abdel-Mohdy. Lidocaine/ β -cyclodextrin inclusion complex as drug delivery system. *European Polymer Journal* 2018; **108**, 304-310.
- [43] KO Eshchanov and MM Baltaeva. Study of the interaction of sorbed silver, gold and copper ions with functional groups on hydrolyzed fibroin using Charmm 22 force field calculations. *Chemical Review & Letter* 2022; **5**, 161-168.
- [44] NY Rahim, FH Samad, AM Rohisham. Spectroscopic studies of inclusion complex glipizide and β -cyclodextrin. *Malaysian Journal of Analytical Sciences* 2019; **23(5)**, 789-798.