



Faculté des sciences et technologies

Département de génie des procédés

Laboratoire de chimie physique des macromolécules et interfaces biologiques

THESE DE DOCTORAT

Spécialité : Chimie physique

Intitulée

**Etude d'une réaction de complexation mettant
en jeu des cyclodextrines**

Présentée par : BOUDJORAS Houria

A soutenir Le : 17/12 /2025 à 14h00

Devant le jury :

Président	DJEBBAR Mustapha	PR	Université de Mascara
Examinateur	DAAOU Mortada	PR	Université de Oran USTO
Examinateur	BELLIL Ali	PR	Université de Oran USTO
Examinateur	OUIS Dalila	MCA	Université de Mascara
Encadreur	BOUHADDA Youcef	PR	Université de Mascara

R EMERCIEMENTS

Ce travail de recherche a été réalisé au sein du Laboratoire de Chimie Physique des Macromolécules et Interfaces Biologiques (LCPMIB) de l'Université Mustapha Stambouli de Mascara.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à Monsieur **Youcef Bouhadda** et Madame **Teffaha Fergoug**, qui m'ont fait l'honneur de m'accueillir au sein de leur équipe. Je les remercie sincèrement pour la confiance qu'ils m'ont témoignée, la qualité de leur encadrement scientifique, leur écoute attentive, leurs conseils avisés et leur disponibilité constante, qui ont été essentiels à la bonne conduite de ce travail.

Je tiens également à remercier chaleureusement les membres du jury Monsieur.....et Monsieur....., Monsieur....., qui ont accepté d'évaluer ce travail. Leur lecture attentive, leurs remarques pertinentes et leurs suggestions constructives ont grandement enrichi la qualité de ce mémoire. Leur implication témoigne de leur engagement envers la rigueur scientifique, et je leur en suis profondément reconnaissant(e).

Mes remerciements vont également à l'ensemble des membres du laboratoire LCPMIB, dont l'aide et la bienveillance ont grandement facilité mon intégration ainsi que le déroulement quotidien de cette recherche. Je remercie tout particulièrement **l'ingénieur du laboratoire**, pour son soutien technique, ainsi que toutes les personnes qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail.

Enfin, je tiens à exprimer toute ma reconnaissance à **ma famille** et à **mes amis**, pour leur soutien indéfectible, leur patience et leurs encouragements constants tout au long de ces années. Leur présence et leur confiance ont été pour moi une source précieuse de motivation.

DEDICACE

Je dédie ce travail :

À la **mémoire de ma mère**,

dont l'amour et les sacrifices demeurent une source inépuisable d'inspiration.

À mon **père**,

pour sa sagesse, son soutien constant et ses prières silencieuses.

À mes **frères et sœurs**,

pour leur affection, leur présence et leur encouragement tout au long de ce parcours.

À ma **petite famille**,

mon **mari** et mes **enfants bien-aimés**,

pour leur patience, leur compréhension et leur amour inconditionnel,
qui m'ont portée dans les moments de doute et de fatigue

R EMERCIEMENTS

Ce travail de recherche a été réalisé au sein du Laboratoire de Chimie Physique des Macromolécules et Interfaces Biologiques (LCPMIB) de l'Université Mustapha Stambouli de Mascara.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à Monsieur **Youcef Bouhadda** et Madame **Teffaha Fergoug**, qui m'ont fait l'honneur de m'accueillir au sein de leur équipe. Je les remercie sincèrement pour la confiance qu'ils m'ont témoignée, la qualité de leur encadrement scientifique, leur écoute attentive, leurs conseils avisés et leur disponibilité constante, qui ont été essentiels à la bonne conduite de ce travail.

Je tiens également à remercier chaleureusement les membres du jury Monsieur.....et Monsieur....., Monsieur....., qui ont accepté d'évaluer ce travail. Leur lecture attentive, leurs remarques pertinentes et leurs suggestions constructives ont grandement enrichi la qualité de ce mémoire. Leur implication témoigne de leur engagement envers la rigueur scientifique, et je leur en suis profondément reconnaissant(e).

Mes remerciements vont également à l'ensemble des membres du laboratoire LCPMIB, dont l'aide et la bienveillance ont grandement facilité mon intégration ainsi que le déroulement quotidien de cette recherche. Je remercie tout particulièrement **l'ingénieur du laboratoire**, pour son soutien technique, ainsi que toutes les personnes qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail.

Enfin, je tiens à exprimer toute ma reconnaissance à **ma famille** et à **mes amis**, pour leur soutien indéfectible, leur patience et leurs encouragements constants tout au long de ces années. Leur présence et leur confiance ont été pour moi une source précieuse de motivation.

DEDICACE

Je dédie ce travail :

À la **mémoire de ma mère**,

dont l'amour et les sacrifices demeurent une source inépuisable d'inspiration.

À mon **père**,

pour sa sagesse, son soutien constant et ses prières silencieuses.

À mes **frères et sœurs**,

pour leur affection, leur présence et leur encouragement tout au long de ce parcours.

À ma **petite famille**,

mon **mari** et mes **enfants bien-aimés**,

pour leur patience, leur compréhension et leur amour inconditionnel,
qui m'ont portée dans les moments de doute et de fatigue

Sommaire :

Introduction générale.....	1
Chapitre I : Généralité sur les Cyclodextrines et les anesthésiques locaux	6
1 - Les Cyclodextrines et leurs dérivés.....	6
1 -1. Cyclodextrines naturelles.....	6
1 -2. Solubilité des cyclodextrines.....	7
1 -3. Dérivés.....	9
1 -3.1. Réactions de substitution.....	13
1.3.2. Désoxycyclodextrines.....	12
1.3.3. Cyclodextrines O-substituées.....	12
1.3.4. Estérification.....	12
1.3.5. Oxydation.....	12
1-2. Nouveaux développements.....	13
2.1. Polyrotaxanes à base de CD.....	13
2.2. Conjugués CD-polymère.....	15
2.2.1. Libération prolongée et absorption cellulaire.....	15
2.2.2. Conjugués mucoadhésifs.....	15
2.3. CD thiolés.....	16
2.3.1. Propriétés mucoadhésives.....	16
1-3. Forces motrices dans la complexation des CD.....	17
3.1. Relations entre les différentes forces motrices.....	18
3.1.1. Détails thermodynamiques de la complexation.....	18
1-4. Compensation d'entropie enthalpique.....	21
1-5. Techniques analytiques des complexes CD-médicament.....	22
1-6. Applications.....	23
6.1. Biocompatibilité et sécurité.....	23
6.2. Amélioration de l'absorption cellulaire.....	24
6.3. Polyrotaxanes et maladie de Niemann-Pick.....	25
6.5. Élargissement du champ pharmaceutique.....	25
2. Les anesthésiques locaux.....	25
2.1. Introduction.....	25
2.2. Propriétés chimiques des anesthésiques.....	26
2.1. Structure.....	26
2.2. Classification.....	27
2.3. Propriétés pharmacologiques.....	28
2.3. Propriétés acido-basiques.....	29
2.3.1. Relation structure-activité.....	30
2.3.2. Mécanisme d'action.....	32
2.3.3 Effets indésirables.....	34
Chapitre II. Méthodes d'analyses.....	40
Introduction.....	40
II.1. Spectroscopie ultraviolette/visible.....	40
II.1.1. Principe et mécanismes de la méthode UV-Vis.....	40
II.1.2. Exemples de modifications spectrales.....	40

II.1.3. Détermination des paramètres de complexation.....	40
II.1.3.1. Équations de Benesi-Hildebrand.....	44
II.1.3.2. Équation de Scott.....	44
II.1.3.3. Cas des complexes de stœchiométrie variée.....	45
II.1.4. Point isobestique.....	47
II.2. pH-métrie	48
II.2.1. Définition et principes du pH.....	49
II.2.2. Principe et fonctionnement du pH-mètre.....	50
II.2.3. Application aux anesthésiques locaux.....	50
II.2.4. Domaines de prédominance acide-base.....	51
II.2.5. Expression théorique de la constante de stabilité en fonction du pH.....	53
Chapitre III. Caractéristiques physico-chimiques et stabilité des anesthésiques locaux	61
Introduction	62
<i>Partie A : Caractérisation des anesthésiques locaux</i>	63
III.1. Matériels et méthodes	63
III.1.1. Produits chimiques et solvants.....	63
III.1.2. Étude physico-chimique des anesthésiques locaux.....	63
III.1.2.1. Préparation des solutions.....	63
III.1.2.2. Mesure de tension de surface.....	64
III.1.2.3. Mesure de pH.....	64
III.1.2.4. Mesure de l'absorbance.....	65
III.2. Résultats et Discussion	65
III.2.1. Étude physico-chimique de la Procaine hydrochloride.....	65
III.2.1.1. pH-métrie.....	65
III.2.1.2. Détermination du pKa.....	67
III.2.1.3. Diagramme de répartition des espèces.....	67
III.2.1.4. Spectrophotométrie d'absorption UV-visible.....	69
III.2.2. Étude physico-chimique de la Tétracaïne.....	70
III.2.2.1. Tensiométrie.....	70
III.2.2.2. Mesure de pH.....	71
III.2.2.3. Spectrophotométrie UV-Visible.....	76
<i>Partie B : Stabilité des anesthésiques locaux</i>	78
II.B.2. Effet du milieu sur la procaïne	78
1- Effet du PH sur la procaïne hydrochloride et la tetracaïne hydrochloride.....	79
<i>Effet de H₂SO₄ et HCl</i>	83
2- Effet de sel sur la procaïne hydrochloride.....	83
Effet de NaCl.....	84
Effet de CaCl ₂	85
3-Effet de base sur TC-HCl.....	85
* Effet de NaOH.....	92
III.B.2. Effet du PH sur le mélange Procaïne/tétracaïne	92

III.B.2.1. Effet de NaOH	94
III.B.2.2 Effet de Na ₂ CO ₃	94
III .B.3. Effet de la température	95
III.B.3.1 Effet de température sur la Tétracaïne et Procaïne	95
III.B.3.2 Effet de température sur le mélange Procaïne/tétracaïne.....	100
Chapitre IV : complexe d'inclusion.....	107
IV.1. Introduction.....	107
IV.2. Matériels et Méthodes.....	107
IV.2.1. Produits chimiques et solvants.....	107
IV.2.2. Préparation des Solutions.....	108
IV.3. Mesure de pH.....	110
IV.4. Mesure de l'absorbance.....	110
IV.5. Discussion des résultats.....	111
IV.6. Étude des complexes.....	114
IV.6.1. Complexe (β -CD /TC-HCl) à T=25°C.....	114
IV.6.2. Complexe (HP β -CD /TC-HCl) à T=25°C.....	115
IV.6.3. Complexe (α CD /TC-HCl) à T=25°C.....	116
IV.6.4. Étude témoin avec Complexe D-glucose (D-glucose /TC-HCl) à T=25°.	117
IV.7. Étude de l'influence de la température.....	118
V.7.1. Complexe (β -CD/TC-HCl) à 15°C, 25°C, 37°C.....	118
IV.7.2. Étude du complexe (α CD/TC,HCl) à différentes températures (15°C, 25°C, 37°C)	121
IV.7.3. Étude du complexe (HP- β CD/TC,HCl) à différentes températures (15°C, 25°C, 37°C).....	124
IV.8. Détermination des constantes d'équilibre.....	125
IV.9. Étude Thermodynamique.....	127
IV.9.1. Diagramme de Vant-Hoff.....	127
IV.9.2. Interprétation des paramètres thermodynamiques.....	128
IV.9.3. Modèle structural proposé.....	131
Résumé	132
Article.....	134

Liste des figures

Figure I- 1: Structure de l'unité répétitive d'anhydroglucose des cyclodextrines, avec représentation 3D schématique, structures chimiques et analyses de surface computationnelles des α -, β - et γ -cyclodextrine.

Figure I-2 : Numérotation des atomes de carbone dans l'unité d'anhydroglucose (glucopyranose) formant les cyclodextrine.

Figure I-3 : Représentation des principales substitutions chimiques des cyclodextrines menant à des dérivés méthylés, hydroxypropylés, sulfobutylés, acétylés et branchés.

Figure. I-4. Voies de synthèse pour divers dérivés de CD substitués, où R est la fonctionnalité souhaitée, tandis que R est R ou H.

Figure. I-5. Représentation schématique des différentes réactions d'estérification des CD, où R est la fonctionnalité ou l'agent de réticulation souhaité.

Figure I-6. Voie de réaction schématique de l'oxydation des CD suivie d'une amination réductrice, où R est la fonctionnalité souhaitée.

Figure I- 7:A Structure schématique des pseudopolyrotaxanes et des polyrotaxanes ; B : Illustration de l'absorption et de la dissociation intracellulaire des polyrotaxanes acido-sensibles.

Figure I-8. Représentation schématique du chitosane d'ammonium quaternaire greffé (A) β -CD, ainsi que des CD réticulés (B) par l'épichlorhydrine et (C) par l'éthylène glycol diglycidyléther.

Figure I-9 : Structures générales des CD thiolés (A) non ioniques, (B) anioniques et (C) cationiques, ainsi que des CD thiolés (D) protégés par S.

Figure I-10 :Mode d'inclusion des composés d'inclusion cyclodextrine-prostaglandine F 2α en solution aqueuse.

Figure I.11. Structures typique des anesthésiques locaux.

Figure I.12: Mécanisme d'action des anesthésiques locaux

Figure II-1 : Spectres d'absorption de phénolphtaléine à $4,8 \times 10^{-5}$ mol·L⁻¹ en présence de (a) 0,0, (b) $1,0 \times 10^{-4}$, (c) 2×10^{-4} , (d) 4×10^{-4} , (e) 7×10^{-4} et (f) $1,0 \times 10^{-3}$ mol·L⁻¹ de β-CD à pH 10,5.

Figure II-2 : Spectres d'adsorption UV-Vis de solutions aqueuses de β-CD, de GO et du composite β-CD-RGO.

Figure II-3 : Courbes d'absorption typiques de mélanges de 2 composés en équilibre chimique à une concentration totale constante.

Figure II-4: Constantes de stabilité à différentes valeurs de pH pour la formation de complexes entre l'ibuprofène et la β-CD, déterminées par ITC (losanges). L'expression théorique (trait plein) est basée sur la constante de stabilité du complexe neutre et ionisé, ainsi que sur la valeur du pKa de l'ibuprofène.

Figure III.1: Variation du pH en fonction de la concentration en PC, HCl

Figure III.2: Diagramme de répartition des espèces de la procaïne (PC, HCl) .

Figure III.3 : Variation de l'absorbance en fonction de la longueur d'onde pour la procaine hydrochloride PC,HCl

Figure III.4 Variation de l'absorbance en fonction de la concentration de ProcHCl à $\lambda_{\text{max}} = 290\text{nm}$.

Figure III .5:Variation de la tension superficielle en fonction de la concentration à T=20°.

Figure III.6 : Variation du ΔpH en fonction de la température pour différentes concentrations molaires.

Figure III.7: Détermination de la température de Krafft et de fusion à partir de la courbe de variation du pH en fonction de la température pour une concentration de 0.6137M.

Figure III.8 : variation du pH en fonction de la concentration à différentes températures.

Figure III.9: Détermination de la CMC à partir de la courbe de variation du pH en fonction de la concentration à T= 39°.

Figure III.10: variation de la CMC en fonction de la température à partir des mesures de pH

Figure III.11: Variation de l'absorbance en fonction de la longueur d'onde pour différentes concentrations de T.T.A.C.H+ à T=25°C.

Figure III.12 Variation de l'absorbance en fonction de la concentration pour les trois longueurs d'onde suivante : $\lambda_{\text{max}} = 318 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{max}} = 225 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{max}} = 195 \text{ nm}$.

Figure III.13 : Effet de H₂SO₄ (pH = 2.4) sur la procaine (PC, HCl)

Figure III.14: Variation de l'absorbance du mélange (TC, HCl + H₂SO₄) en fonction du temps (de 25min à 4h 20min)

Figure III.15 : Variation de l'intensité de l'absorbance pour ($\lambda = 310$) du mélange(TC, HCl + H₂SO₄) en fonction du temps (de 25min à 4h 20min)

Figure III.16 : Effet de HCl (pH = 2.4) sur la procaine (PC, HCl)

Figure III.17: Effet de NaCl (C=0.0053M) sur la procaine (PC, HCl).

Figure III.18 : Effet de CaCl₂ (C=0.0053M) sur la procaine (PC, HCl)

Figure III.19 : Variation de l'absorbance du mélange (TC, HCl + NaOH) en fonction du temps (4min - 23h 55min)

Figure III.20: Variation de fréquence de la longueur d'onde maximale (TC + NaOH)en fonction du temps (de 4min à 400min).

Figure III.21: Variation de l'absorbance du mélange (PC, HCl + NaOH) en fonction du temps (de 3min à 21h 40min)

Figure III.22: Variation de la longueur d'onde ($\lambda = 293$) du mélange (PC, HCl + NaOH) en fonction du temps (de 3min à 100min) .

Figure III.23.: Variation de l'absorbance du mélange (PC, HCl + Na₂CO₃) en fonction du temps (de 5min à 2h 40min)

Figure III.24.: (a) Variation de la longueur d'onde du mélange (PC, HCl + Na₂CO₃) en fonction du temps (de 5min à 200min) ; (b) Variation de l'absorbance à ($\lambda = 293$) du mélange (PC, HCl Na₂CO₃) en fonction du temps (de 5min à 200min).

Figure III.25 : Variation de l'absorbance du mélange (TC, HCl + Na₂CO₃) fonction du temps (4min -25h)

Figure III.26 : (a) : Variation de la longueur d'onde du mélange (TC, HCl +Na₂CO₃) en fonction du temps (de 5min à 400min) ; (b) Variation de l'absorbance à ($\lambda = 310$) mélange (TC, HCl+ Na₂CO₃) en fonction du temps (de 5min à 400min) .

Figure III.27: Variation de l'absorbance du mélange (PC, HCl +TTAC, HCl, NaOH) en fonction du temps (de 2min à 4h).

Figure III.28: Variation de la longueur d'onde ($\lambda = 300$) du mélange (PC, HCl +TC, HCl+NaOH) en fonction du temps (de 2min à 300min).

Figure III.29: Variation de l'absorbance du mélange (PC, HCl +TTAC, HCl + Na₂CO₃) en fonction du temps (de 2min à 4h) .

Figure III.30: ; (a) Variation de la longueur d'onde maximale du mélange²(PC,HCl+TC,HCl+Na₂CO₃) en fonction du temps (de 2min à 300min) ; (b) Variation de l'absorbance à ($\lambda =300$) du mélange (PC, HCl + TC, HCl+ Na₂CO₃) en fonction du temps (de 2min à 300min).

Figure III.31: Variation de l'absorbance de (TC, HCl) en fonction de la température (T=4°C – T=55°C).

Figure III.32: Variation de l'absorbance de (TC, HCl) en fonction de la température(T=4°C – T=55°C) à 310nm.

Figure III.33: Variation de l'absorbance de (PC, HCl) en fonction de la température,(T=4°C – T=55°C) à 293nm.

Figure III.34: Variation de l'absorbance du mélange (PC, HCl +TC, HCl) en fonction de la température (T=4°C – T=55°C) à 300nm

Figure III.35: Variation de l'absorbance du mélange (PC, HCl +TC, HCl) en fonction de la température (T=4°C – T=55°C) à 300nm.

Figure IV-1: Spectre UV-Visible de solutions aqueuses de tétracaïne hydrochloride à différentes concentrations à 25°C (1: 9,2.10⁻⁶ M, 2 : 5,52.10⁻⁶ M, 3: 3,43.10⁻⁶M, 4 : 1,48.10⁻⁵M, 5: 2,48.10⁻⁵ M, 6: 3,1.10⁻⁵ M, 7: 5.10⁻⁵M)

Figure IV.2: Variation de l'absorbance en fonction de la concentration de TC,HCl pour les pics d'absorbance 312 et 227nm.

Figure IV.3 : variation de l'absorbance en fonction de λ pour le complexes (β -CD/TC-HCl) a 25°C.

Figure VI.4 : variation de l'absorbance en fonction de λ pour le complexes

(HP β -CD/TC-HCl) à 25°C.

Figure IV.5 : variation de l'absorbance en fonction de λ pour le complexes (α CD/TC-HCl) à 25°C.

Figure IV.6: variation de l'absorbance pour des solutions à une concentration de Tétracaïne hydrochloride constante d'environ 5.10-5M [TC,HCl], à 25°C en fonction de différentes concentrations de[D-glucose].

Figure IV.7 : variation de l'absorbance en fonction de λ pour le complexes (β -CD/TC-HCl) à 15°C.

Figure IV.8 : variation de l'absorbance en fonction de λ pour le complexes (β -CD/TC-HCl) à 25°C.

Figure IV.9 : variation de l'absorbance en fonction de λ pour le complexes (HP β -CD/TC-HCl) à 37°C.

Figure IV.10 : variation de l'absorbance en fonction de λ pour le complexes (α -CD/TC-HCl) à 15°C.

Figure IV.11 : variation de l'absorbance en fonction de λ pour le complexes (α -CD/TC-HCl) à 25°C.

Figure IV.12 : variation de l'absorbance en fonction de λ pour le complexes (α -CD/TC-HCl) à 37°C.

Figure IV.13 : variation de l'absorbance en fonction de λ pour le complexes(HP- β -CD/TC-HCl) à 15°C.

Figure IV.14 : variation de l'absorbance en fonction de λ pour le complexes (HP- β -CD/TC-HCl) à 25°C.

Figure IV.15 : Ajustement non linéaire de la variation de ΔA en fonction de la concentration β -CD à 25°C pour $\lambda=310$ nm.

Figure IV.16 : Ajustement non linéaire de la variation de ΔA en fonction de la concentration α -CD à 25°C pour $\lambda=310$ nm.

Figure IV.17 : Ajustement non linéaire de la variation de ΔA en fonction de la concentration HP β -CD à 25°C pour $\lambda=310$ nm

Figure IV.18 : Graphique de Van't Hoff pour l'association de TC-HCl avec
a) α -CD, b) β -CD and c) HP β -CD.

Figure IV.19 : Architecture des complexes d'inclusion TC-HCl/CD.

Schéma IV.1 : Procédé de préparation des solutions à analyser par spectrophotomètre UV-Vis.

Schéma IV.2 : Titration de la TC, HCl par la β CD et le D-glucose.

Schéma IV.3 Structures de hydrochlorate de tetracaine et α -, β - et HP- β -CD , D-glucose (Aicart, E., et al (2020).

Liste des figures

Figure I- 1: Structure de l'unité répétitive d'anhydroglucose des cyclodextrines, avec représentation 3D schématique, structures chimiques et analyses de surface computationnelles des α -, β - et γ -cyclodextrine.

Figure I-2 : Numérotation des atomes de carbone dans l'unité d'anhydroglucose (glucopyranose) formant les cyclodextrine.

Figure I-3 : Représentation des principales substitutions chimiques des cyclodextrines menant à des dérivés méthylés, hydroxypropylés, sulfobutylés, acétylés et branchés.

Figure. I-4. Voies de synthèse pour divers dérivés de CD substitués, où R est la fonctionnalité souhaitée, tandis que R est R ou H.

Figure. I-5. Représentation schématique des différentes réactions d'estérification des CD, où R est la fonctionnalité ou l'agent de réticulation souhaité.

Figure I-6. Voie de réaction schématique de l'oxydation des CD suivie d'une amination réductrice, où R est la fonctionnalité souhaitée.

Figure I- 7:A Structure schématique des pseudopolyrotaxanes et des polyrotaxanes ; B : Illustration de l'absorption et de la dissociation intracellulaire des polyrotaxanes acido-sensibles.

Figure I-8. Représentation schématique du chitosane d'ammonium quaternaire greffé (A) β -CD, ainsi que des CD réticulés (B) par l'épichlorhydrine et (C) par l'éthylène glycol diglycidyléther.

Figure I-9 : Structures générales des CD thiolés (A) non ioniques, (B) anioniques et (C) cationiques, ainsi que des CD thiolés (D) protégés par S.

Figure I-10 :Mode d'inclusion des composés d'inclusion cyclodextrine-prostaglandine F 2α en solution aqueuse.

Figure I.11. Structures typique des anesthésiques locaux.

Figure I.12: Mécanisme d'action des anesthésiques locaux

Figure II-1 : Spectres d'absorption de phénolphtaléine à $4,8 \times 10^{-5}$ mol·L⁻¹ en présence de (a) 0,0, (b) $1,0 \times 10^{-4}$, (c) 2×10^{-4} , (d) 4×10^{-4} , (e) 7×10^{-4} et (f) $1,0 \times 10^{-3}$ mol·L⁻¹ de β-CD à pH 10,5.

Figure II-2 : Spectres d'adsorption UV-Vis de solutions aqueuses de β-CD, de GO et du composite β-CD-RGO.

Figure II-3 : Courbes d'absorption typiques de mélanges de 2 composés en équilibre chimique à une concentration totale constante.

Figure II-4: Constantes de stabilité à différentes valeurs de pH pour la formation de complexes entre l'ibuprofène et la β-CD, déterminées par ITC (losanges). L'expression théorique (trait plein) est basée sur la constante de stabilité du complexe neutre et ionisé, ainsi que sur la valeur du pKa de l'ibuprofène.

Figure III.1: Variation du pH en fonction de la concentration en PC, HCl

Figure III.2: Diagramme de répartition des espèces de la procaïne (PC, HCl) .

Figure III.3 : Variation de l'absorbance en fonction de la longueur d'onde pour la procaine hydrochloride PC,HCl

Figure III.4 Variation de l'absorbance en fonction de la concentration de ProcHCl à $\lambda_{\text{max}} = 290\text{nm}$.

Figure III .5:Variation de la tension superficielle en fonction de la concentration à T=20°.

Figure III.6 : Variation du ΔpH en fonction de la température pour différentes concentrations molaires.

Figure III.7: Détermination de la température de Krafft et de fusion à partir de la courbe de variation du pH en fonction de la température pour une concentration de 0.6137M.

Figure III.8 : variation du pH en fonction de la concentration à différentes températures.

Figure III.9: Détermination de la CMC à partir de la courbe de variation du pH en fonction de la concentration à T= 39°.

Figure III.10: variation de la CMC en fonction de la température à partir des mesures de pH

Figure III.11: Variation de l'absorbance en fonction de la longueur d'onde pour différentes concentrations de T.T.A.C.H+ à T=25°C.

Figure III.12 Variation de l'absorbance en fonction de la concentration pour les trois longueurs d'onde suivante : $\lambda_{\text{max}} = 318 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{max}} = 225 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{max}} = 195 \text{ nm}$.

Figure III.13 : Effet de H₂SO₄ (pH = 2.4) sur la procaine (PC, HCl)

Figure III.14: Variation de l'absorbance du mélange (TC, HCl + H₂SO₄) en fonction du temps (de 25min à 4h 20min)

Figure III.15 : Variation de l'intensité de l'absorbance pour ($\lambda = 310$) du mélange(TC, HCl + H₂SO₄) en fonction du temps (de 25min à 4h 20min)

Figure III.16 : Effet de HCl (pH = 2.4) sur la procaine (PC, HCl)

Figure III.17: Effet de NaCl (C=0.0053M) sur la procaine (PC, HCl).

Figure III.18 : Effet de CaCl₂ (C=0.0053M) sur la procaine (PC, HCl)

Figure III.19 : Variation de l'absorbance du mélange (TC, HCl + NaOH) en fonction du temps (4min - 23h 55min)

Figure III.20: Variation de fréquence de la longueur d'onde maximale (TC + NaOH)en fonction du temps (de 4min à 400min).

Figure III.21: Variation de l'absorbance du mélange (PC, HCl + NaOH) en fonction du temps (de 3min à 21h 40min)

Figure III.22: Variation de la longueur d'onde ($\lambda = 293$) du mélange (PC, HCl + NaOH) en fonction du temps (de 3min à 100min) .

Figure III.23.: Variation de l'absorbance du mélange (PC, HCl + Na₂CO₃) en fonction du temps (de 5min à 2h 40min)

Figure III.24.: (a) Variation de la longueur d'onde du mélange (PC, HCl + Na₂CO₃) en fonction du temps (de 5min à 200min) ; (b) Variation de l'absorbance à ($\lambda = 293$) du mélange (PC, HCl Na₂CO₃) en fonction du temps (de 5min à 200min).

Figure III.25 : Variation de l'absorbance du mélange (TC, HCl + Na₂CO₃) fonction du temps (4min -25h)

Figure III.26 : (a) : Variation de la longueur d'onde du mélange (TC, HCl +Na₂CO₃) en fonction du temps (de 5min à 400min) ; (b) Variation de l'absorbance à ($\lambda = 310$) mélange (TC, HCl+ Na₂CO₃) en fonction du temps (de 5min à 400min) .

Figure III.27: Variation de l'absorbance du mélange (PC, HCl +TTAC, HCl, NaOH) en fonction du temps (de 2min à 4h).

Figure III.28: Variation de la longueur d'onde ($\lambda = 300$) du mélange (PC, HCl +TC, HCl+NaOH) en fonction du temps (de 2min à 300min).

Figure III.29: Variation de l'absorbance du mélange (PC, HCl +TTAC, HCl + Na₂CO₃) en fonction du temps (de 2min à 4h) .

Figure III.30: ; (a) Variation de la longueur d'onde maximale du mélange²(PC,HCl+TC,HCl+Na₂CO₃) en fonction du temps (de 2min à 300min) ; (b) Variation de l'absorbance à ($\lambda =300$) du mélange (PC, HCl + TC, HCl+ Na₂CO₃) en fonction du temps (de 2min à 300min).

Figure III.31: Variation de l'absorbance de (TC, HCl) en fonction de la température (T=4°C – T=55°C).

Figure III.32: Variation de l'absorbance de (TC, HCl) en fonction de la température(T=4°C – T=55°C) à 310nm.

Figure III.33: Variation de l'absorbance de (PC, HCl) en fonction de la température,(T=4°C – T=55°C) à 293nm.

Figure III.34: Variation de l'absorbance du mélange (PC, HCl +TC, HCl) en fonction de la température (T=4°C – T=55°C) à 300nm

Figure III.35: Variation de l'absorbance du mélange (PC, HCl +TC, HCl) en fonction de la température (T=4°C – T=55°C) à 300nm.

Figure IV-1: Spectre UV-Visible de solutions aqueuses de tétracaïne hydrochloride à différentes concentrations à 25°C (1: 9,2.10⁻⁶ M, 2 : 5,52.10⁻⁶ M, 3: 3,43.10⁻⁶M, 4 : 1,48.10⁻⁵M, 5: 2,48.10⁻⁵ M, 6: 3,1.10⁻⁵ M, 7: 5.10⁻⁵M)

Figure IV.2: Variation de l'absorbance en fonction de la concentration de TC,HCl pour les pics d'absorbance 312 et 227nm.

Figure IV.3 : variation de l'absorbance en fonction de λ pour le complexes (β -CD/TC-HCl) a 25°C.

Figure VI.4 : variation de l'absorbance en fonction de λ pour le complexes

(HP β -CD/TC-HCl) à 25°C.

Figure IV.5 : variation de l'absorbance en fonction de λ pour le complexes (α CD/TC-HCl) à 25°C.

Figure IV.6: variation de l'absorbance pour des solutions à une concentration de Tétracaïne hydrochloride constante d'environ 5.10-5M [TC,HCl], à 25°C en fonction de différentes concentrations de[D-glucose].

Figure IV.7 : variation de l'absorbance en fonction de λ pour le complexes (β -CD/TC-HCl) à 15°C.

Figure IV.8 : variation de l'absorbance en fonction de λ pour le complexes (β -CD/TC-HCl) à 25°C.

Figure IV.9 : variation de l'absorbance en fonction de λ pour le complexes (HP β -CD/TC-HCl) à 37°C.

Figure IV.10 : variation de l'absorbance en fonction de λ pour le complexes (α -CD/TC-HCl) à 15°C.

Figure IV.11 : variation de l'absorbance en fonction de λ pour le complexes (α -CD/TC-HCl) à 25°C.

Figure IV.12 : variation de l'absorbance en fonction de λ pour le complexes (α -CD/TC-HCl) à 37°C.

Figure IV.13 : variation de l'absorbance en fonction de λ pour le complexes(HP- β -CD/TC-HCl) à 15°C.

Figure IV.14 : variation de l'absorbance en fonction de λ pour le complexes (HP- β -CD/TC-HCl) à 25°C.

Figure IV.15 : Ajustement non linéaire de la variation de ΔA en fonction de la concentration β -CD à 25°C pour $\lambda=310$ nm.

Figure IV.16 : Ajustement non linéaire de la variation de ΔA en fonction de la concentration α -CD à 25°C pour $\lambda=310$ nm.

Figure IV.17 : Ajustement non linéaire de la variation de ΔA en fonction de la concentration HP β -CD à 25°C pour $\lambda=310$ nm

Figure IV.18 : Graphique de Van't Hoff pour l'association de TC-HCl avec
a) α -CD, b) β -CD and c) HP β -CD.

Figure IV.19 : Architecture des complexes d'inclusion TC-HCl/CD.

Schéma IV.1 : Procédé de préparation des solutions à analyser par spectrophotomètre UV-Vis.

Schéma IV.2 : Titration de la TC, HCl par la β CD et le D-glucose.

Schéma IV.3 Structures de hydrochlorate de tetracaine et α -, β - et HP- β -CD , D-glucose (Aicart, E., et al (2020).

Liste des tableaux

Tableau I-1 :Paramètres physicochimiques des quelques CD selon Shaokham et al. 2018 et Arruda et al. 2021.

Tableau I.2 Propriétés physicochimiques de quelques anesthésiques locaux (Denson et Mazoit, 1992).

Tableau I.3. Effets indésirables des anesthésiques locaux.

tableau II-1 Équations décrivant les relations entre les paramètres observés et les constantes d'équilibre pour différentes stœchiométries des complexes d'inclusion entre un hôte (G) et un invité (H)

Tableau II-2 : Variation de pH en fonction de la température pour l'eau pure.

Tableau III.1 : Valeurs de la CMC en fonction de la température par méthode pH-mètrie.

Tableau IV 1. Valeurs de la constante d'association (K_{CD}) à différentes températures, obtenues à partir de mesures UV-Vis pour les complexes β -CD/TC-HCl , HP β -CD/TC-HCl et α -CD/TC-HCl.

Tableau IV 2. Valeurs de ΔH° ; ΔS° , et ΔCP° pour l'association de TC-HCl avec différents CD obtenues à partir de l'ajustement linéaire et non linéaire de l'équation de Van't Hoff.

Liste des abréviations

Abréviation	Définition
CD	Cyclodextrine
α-CD	Alpha-Cyclodextrine
β-CD	Bêta-Cyclodextrine
γ-CD	Gamma-Cyclodextrine
HP-β-CD	Hydroxypropyl-Bêta-Cyclodextrine
TC-HCl	Tétracaïne hydrocholoride
UV-Vis	Ultraviolet-Visible
UV	Ultraviolet
K	Constante d'association du complexe
ΔH	Variation d'enthalpie
ΔA	Variation d'Absorbance
$\Delta \lambda$	Variation de la longueur d'onde
Λ	Longueur d'onde
ΔS	Variation d'entropie
ΔG	Variation d'énergie libre de Gibbs
T	Température (C^0)
Abs	Absorbance
HCl	Acide chlorhydrique
pKa	Constante d'acidité
Λ_{max}	Longueur d'onde d'absorption maximale
CGTase	Cyclodextrine Glycosyltransférase
AL (anesthésie)	Anesthésie locale

Introduction

Générale

Introduction

Générale

Introduction Générale

Les cyclodextrines (CD) sont des oligomères cycliques d'unités glucopyranosiques produits par dégradation enzymatique de l'amidon (Crini et al., 2014 ; Loftsson, Brewster et Masson, 2004 ; Poulsou et al., 2022).

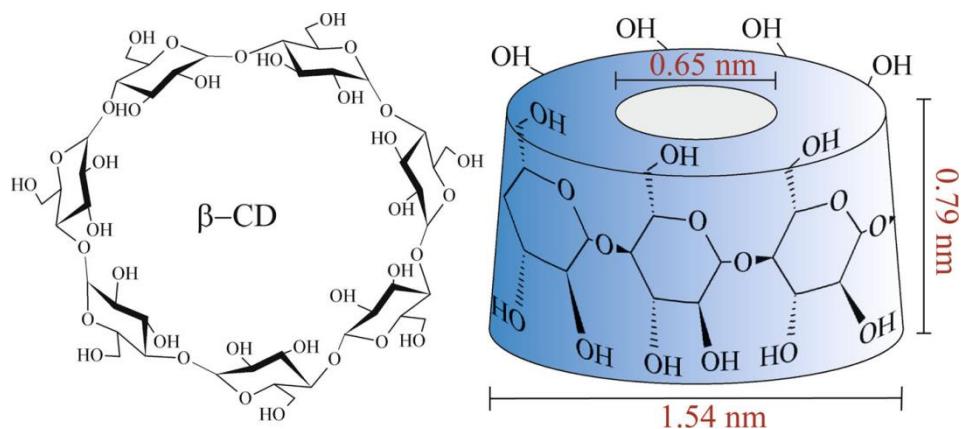


Figure .1: Structure moléculaire et dimensions de la β -cyclodextrine

(Valérie Del Valle, E. M. Martín, 2008)

Ils se caractérisent par une cavité centrale apolaire, permettant l'inclusion de molécules lipophiles ou de motifs hydrophobes de principes actifs. Cette inclusion ou complexation confère aux médicaments une solubilité aqueuse accrue, une amélioration de leur stabilité chimique, ainsi qu'une réduction des effets irritants ou des propriétés organoleptiques indésirables (Fenyvesi, Vikmon & Szente, 2016).

En raison de ces propriétés fonctionnelles et de leurs biocompatibilités et biodégradabilités, plusieurs CD et leurs dérivés ont été approuvés comme excipients pharmaceutiques, parmi lesquels l' α -CD, la β -CD, la γ -CD, l'hydroxypropyl- β -CD (HP- β -CD), l'hydroxypropyl- γ -CD (HP- γ -CD), la β -CD méthylée aléatoirement (RM- β -CD) et la β -CD sulfobutylée (SB- β -CD). Aujourd'hui, de nombreuses formulations intégrant ces molécules font l'objet d'essais cliniques ou sont déjà commercialisées à l'échelle mondiale.

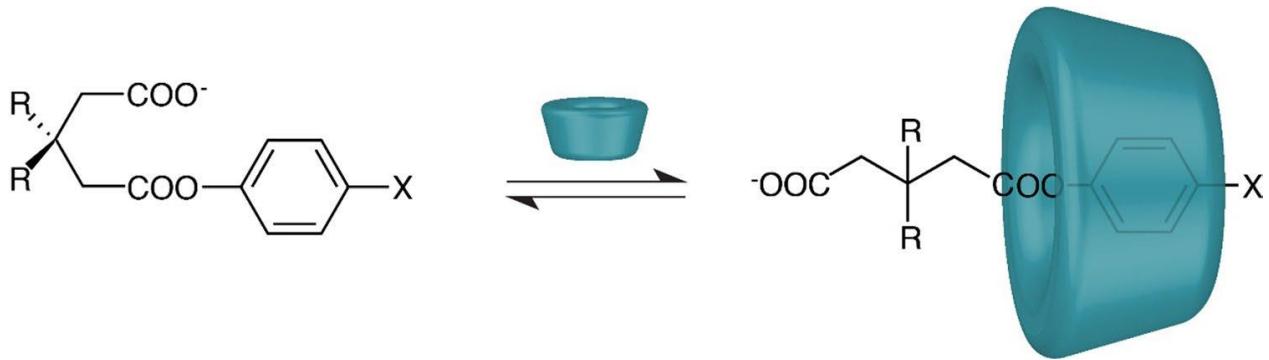


Figure.2 : inclusion du phénylglutarate disubstitué en position 3,3 dans la cyclodextrine. (Fenyvesi, É., et all. (2016)).

En particulier, les cyclodextrines sont utiles dans les collyres anesthésiques, où elles permettent de réduire les effets indésirables tels que l'irritation oculaire, la douleur à l'instillation ou les lésions cornéennes. Plusieurs études récentes confirment leur efficacité dans ce domaine. Par exemple, une étude de Gaudana et al. (2022) a démontré que l'incorporation d'hydroxypropyl-bêta-cyclodextrine (HP- β -CD) dans des collyres à base de proparacaïne améliorait significativement la tolérance locale tout en maintenant l'efficacité anesthésique. Les chercheurs ont observé une réduction de l'inconfort chez les patients, ainsi qu'une diminution des cas de kératopathies ponctuées par rapport à la formulation standard. De même, Zhang et al. (2023) ont évalué l'utilisation de sulfobutyl-éther-bêta-cyclodextrine (SBE- β -CD) dans des gouttes ophtalmiques de lidocaïne. Leurs résultats ont montré non seulement une meilleure biodisponibilité du principe actif, mais aussi une atténuation des réactions inflammatoires chez les modèles animaux, confirmant l'intérêt des cyclodextrines pour améliorer la sécurité des anesthésiques locaux en ophtalmologie.

Dans ce contexte, ce travail se veut une contribution pour étudier les complexes d'inclusion formés entre trois cyclodextrines (alpha (α)-, la β - et l'hydroxypropyl β -cyclodextrines), D-glucose et deux anesthésiques locaux (hydrochlorate de tetracaine et celui de procaine) choisis comme modèles d'étude. Ces deux anesthésiques locaux sont très utilisés dans les opérations de dentisterie et d'ophtalmologie mais présentent

souvent des effets secondaires qu'on voudrait atténuer grâce à l'utilisation des cyclodextrines. Au moyen de la spectrophotométrie UV-Visible, les facteurs qui conditionnent la stabilité du complexe formé seront identifiés ainsi que l'effet de la température. Les résultats nous serviront d'acquérir des connaissances fondamentales sur les mécanismes d'interaction et du rôle des molécules d'eau lors de l'encapsulation de la molécule invitée.

A cet effet, ce manuscrit est organisé en quatre chapitres : Le premier chapitre offre une synthèse bibliographique sur les cyclodextrines en se concentrant sur les dernières avancées dans le domaine. Un rappel des facteurs affectant la stabilité des complexes d'inclusion sera dressé et finira par une attention particulière aux différents domaines d'application de cyclodextrines.

L'application de la spectrophotométrie UV-Visible et de la pH-métrie au phénomène d'inclusion constitue la grande partie du chapitre 2 où les équations permettant d'extraire la constante de complexation seront explicitées. Le troisième chapitre est consacré à la caractérisation de la molécule invitée en l'occurrence l'hydrochlorate de tetricaïne seule dans les conditions ambiantes et à différentes températures. Le quatrième chapitre dressera les préparations des solutions en présence des différentes cyclodextrines ainsi qu'à la discussion des résultats obtenus dans ce travail. La stabilité des complexes d'inclusion sera discutée en évaluant les valeurs des constantes d'association ou de complexation et l'effet de la température. Enfin, le manuscrit fini par une conclusion générale qui englobe les principales déductions.

Références :

- Crini**, G. (2014). A history of cyclodextrins. *Chemical Reviews*, 114(21), 10940-10975.
- Del Valle**, E. M. M. (2008). Cyclodextrins and their uses: A review. *International Journal of Pharmaceutics*, 357(1–2), 1–33.
- Fenyvesi**, É., Vikmon, M., & Szente, L. (2016). Cyclodextrins in drug delivery systems and their effects on biological barriers. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, *105*(9), 2609-2621.
- Gaudana, R.**, Patel, A., & Mitra, A. K. (2022). Évaluation de l'hydroxypropyl-bêta-cyclodextrine pour améliorer la tolérance d'un collyre à la proparacaïne. *Journal of Ocular Pharmacology and Therapeutics*, 38(4), 310-318.
- Loftsson**, T., Brewster, M. E., & Masson, M. (2004). The role of cyclodextrins in drug delivery. *American Journal of Drug Delivery*, 2(4), 261-275.
- Poulsen**, M., Schwach, G., & Loftsson, T. (2022). Cyclodextrins: Structure, properties, and applications in drug delivery and biotechnology. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 111(10), 2663-2675.
- Zhang, Y.**, Li, W., & Johnson, P. (2023). La sulfobutyl-éther-bêta-cyclodextrine améliore la biodisponibilité et le profil de sécurité de la lidocaïne dans des modèles oculaires in vivo. *International Journal of Pharmaceutics*, 645, 123400.
- .

Chapitre I

Généralité sur les Cyclodextrins et les anesthésiques locaux

I - Les Cyclodextrines et leurs dérivés

I.1 Cyclodextrines naturelles

Elles sont constituées de six à douze unités glucopyranose α -D liées (α -1,4). En raison de la conformation en chaîne des unités glucopyranoses, elles ont la forme d'un cône tronqué avec une cavité centrale légèrement hydrophobe en raison des atomes de carbone du squelette du glucose et l'extérieur hydrophile fourni par les groupes hydroxyles (Arruda, Marques et Soares, 2021 ; Crini et al., 2018 ; Davis et Brewster, 2004 ; Saokham, Muankaew, Jansook et Loftsson, 2018). Les plus importantes sont les α -, β - et γ -CD, comme illustré sur la figure 1.

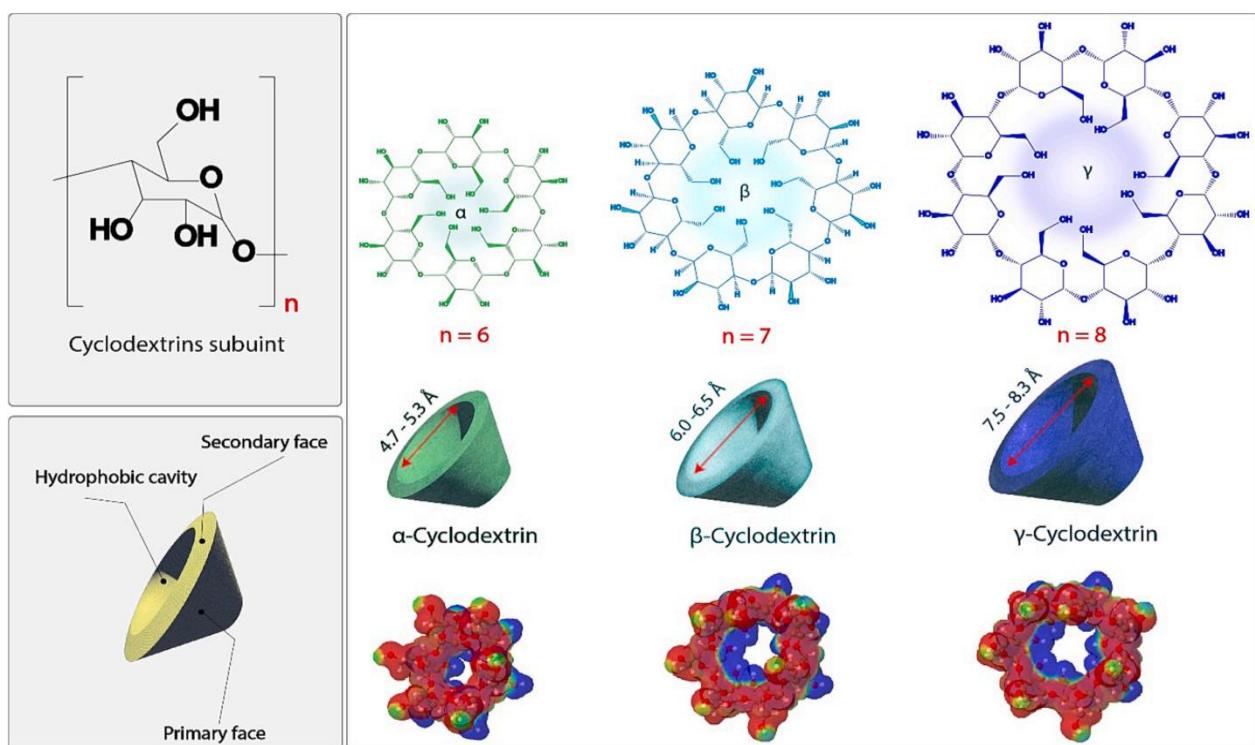


Figure I-1: Structure de l'unité répétitive d'anhydroglucose des cyclodextrines, avec représentation 3D schématique, structures chimiques et analyses de surface computationnelles des α -, β - et γ -cyclodextrine.

Outre ces CD approuvés en pharmacopée, des oligosaccharides cycliques plus grands, comportant de 9 à 12 unités glucose, appelés respectivement δ -, ϵ -, κ - et μ -CD, sont disponibles. La terminologie peut théoriquement être étendue jusqu'à ω -CD avec 29

répétitions d'unités (Larsen, 2002). Leurs propriétés physicochimiques sont répertoriées dans le tableau I -1.

Tableau I-1:Paramètres physicochimiques des quelques CD selon Shaokham et al. 2018 et Arruda et al. 2021.

	Nombre d'unité glycopyranose	Degré de substitution	Poids moléculaire Da	Solubilité dans l'eau g/L à 25°C	Diamètre interne A°	Volume interne nm ³
α-CD	6	-	972	145	4.7-5.3	0.174
β-CD	7	-	1135	18.5	6-6.5	0.262
γ-CD	8	-	1297	232	7.5-8.3	0.427
HP- β-CD	7	0.65	1400	>600	6	0.262
RM- β-CD	7	1.8	1312	>500	5.8-6.5	0.262
SB- β-CD	7	0.9	2163	>500	6-6.5	n.a
HP- γ-CD	8	0.6	1576	>500	8	0.427

HP: 2-hydroxypropyl, RM: randomly methylated, SB: sulfobutyl ether

1.2 Solubilité des cyclodextrines

Bien que la hauteur des cyclodextrines natives soit relativement constante (6,7-7,0 Å), la taille de la cavité augmente avec le nombre d'unités glucose. Néanmoins, la solubilité ne suit pas cette règle car l'β-CD est considérablement moins soluble dans l'eau que l'α-CD et l'γ-CD. Cette faible solubilité est due aux ponts hydrogène entre les groupes OH des atomes de carbone C2 et C3 (figure I-2), ce qui conduit à une structure rigide. Dans la molécule d'α-CD, une unité glucose est déformée et seuls 4 des 6 ponts hydrogène possibles sont formés. Dans l'γ-CD, ses unités glucose ne sont pas dans le même plan et sa structure est plus flexible ; par conséquent, cette CD présente une solubilité plus élevée dans les solutions aqueuses (Uekama et al., 1998).

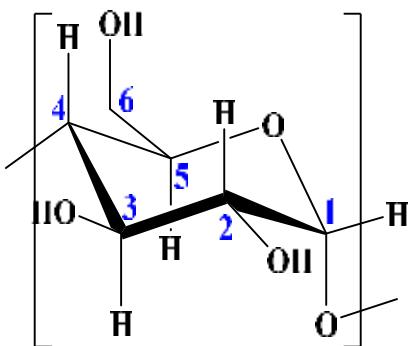


Figure I-2: Numérotation des atomes de carbone dans l'unité d'anhydroglucose (glucopyranose) formant les cyclodextrines

Bien que la solubilité de l' β -CD soit plus faible, la taille de sa cavité est plus adaptée à l'encapsulation d'une grande variété de molécules aux propriétés biologiques et pharmacologiques. La substitution chimique des groupes OH en C2, C3 et C3 a été réalisée pour augmenter sa solubilité, comme par exemple pour l'hydroxypropyl- β CD (Figure I-3).

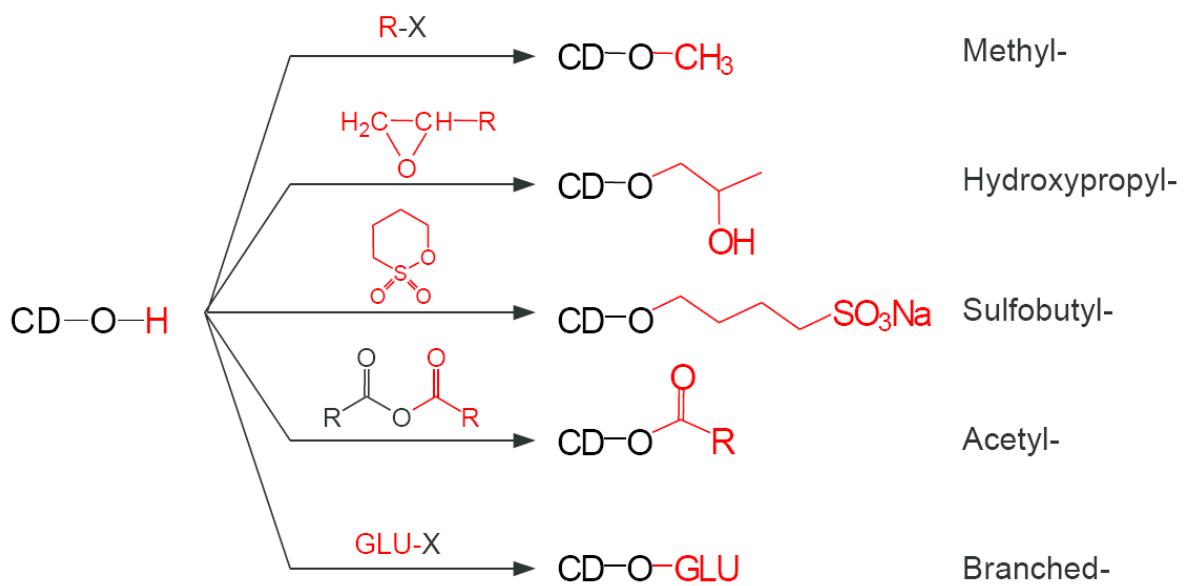


Figure I-3 : Représentation des principales substitutions chimiques des cyclodextrines menant à des dérivés méthylés, hydroxypropylés, sulfobutylés, acétylés et branchés.

1.3 Dérivés

La modification des CD est possible grâce aux trois groupes hydroxyles présents dans les répétitions d'anhydroglucose, comme illustré dans les figures 4 à 6. Le groupe -OH en position C-6 est le plus basique et le plus facilement modifiable (Fejos, et al '2020 ; Scriba, Konjaria et al, 2023). Le groupe hydroxyle en position C-2 est le plus acide, tandis que celui en position C-3 est le plus encombré stériquement. Les CD peuvent être sélectivement modifiés grâce à ces différences de réactivité des trois groupes hydroxyles (Kose, " Tüysüz, Aksüt et al 2022 ; Wenz, 1994).

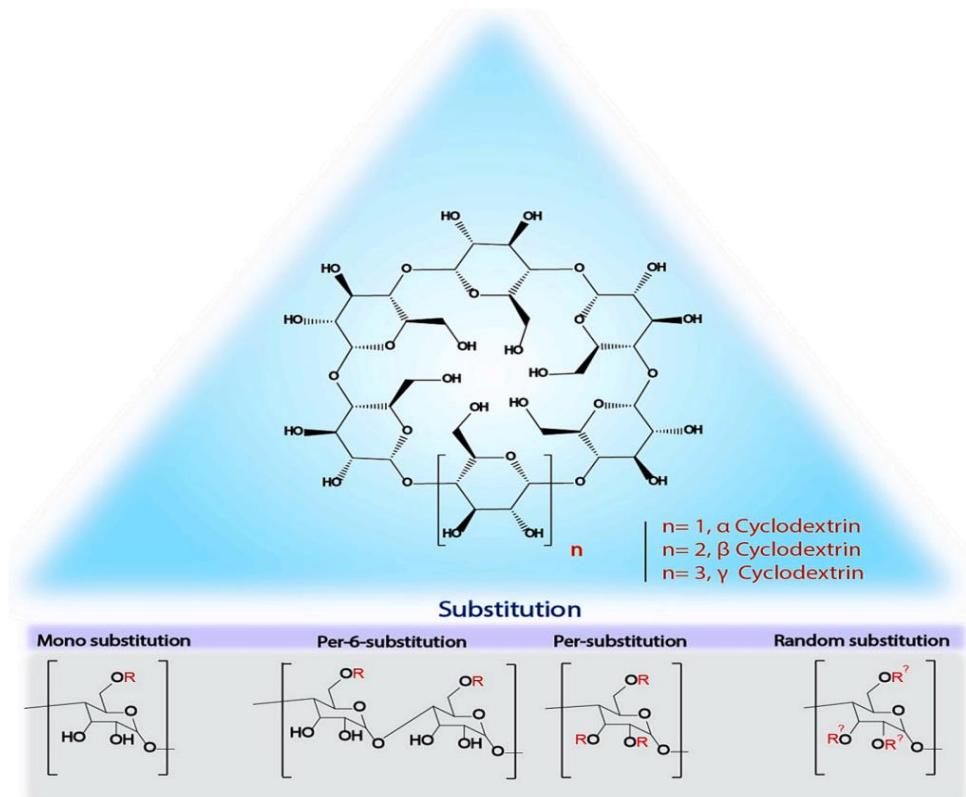


Figure. I-4. Voies de synthèse pour divers dérivés de CD substitués, où R est la fonctionnalité souhaitée, tandis que R est R ou H.

Les CD hydrophiles non ioniques, légèrement lipophiles et ioniques sont disponibles dans le commerce pour diverses applications (E. ' Fenyvesi et al., 2016 ; Puskas, ' Szente, Szocs, " & Fenyvesi, 2023 ; Loftsson & Duchene, 2007 ; Loftsson, 2021 ; Jin et al., 2019 ; Jain, Nowak, & Ravoo, 2022). Dans la plupart des cas, les CD sont modifiés afin d'améliorer leur solubilité, mais il existe également de bons exemples de

modifications visant d'autres objectifs (Jain et al., 2022 ; Kose et al., 2022 ; Morin-Crini et al., 2021 ; Wenz, 1994).

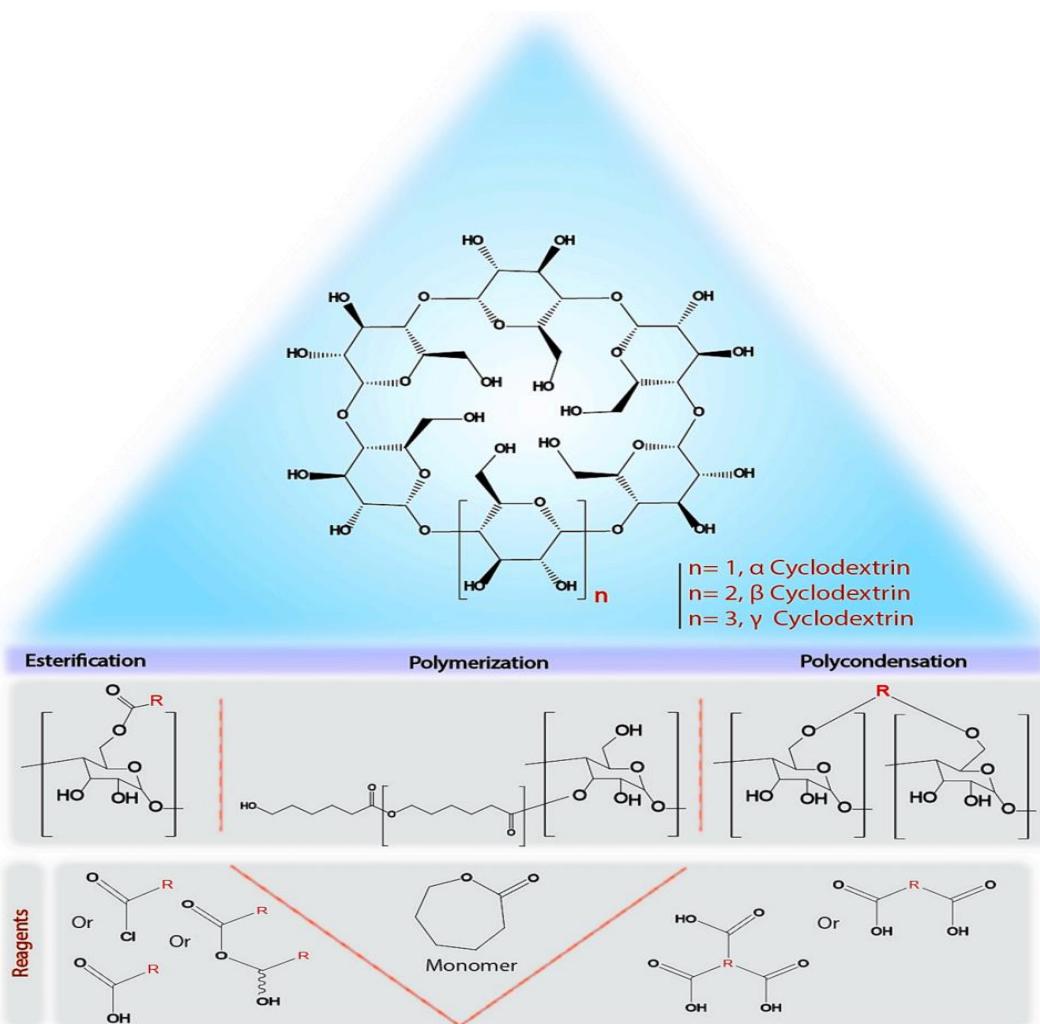


Figure. I-5. Représentation schématique des différentes réactions d'estérification des CD, où R est la fonctionnalité ou l'agent de réticulation souhaité.

1.3.1. Réactions de substitution

Les CD peuvent être aussi dérivatives par diverses réactions de substitution. L'une des méthodes les plus répandues consiste à convertir les hydroxyles en d'autres fonctionnalités, ce qui permet d'obtenir des CD fonctionnalisés par des groupes désoxy. La plupart des monosubstitutions décrites dans la littérature visent à modifier ce groupe hydroxyle au niveau du site primaire. Les différents produits de substitution sont représentés sur les figures 3-5.

1.3.2. Désoxycyclodextrines

Elle est principalement utilisée pour augmenter la solubilité (Rezanka, 2019).

Une étude récente a utilisé du pentasulfure de phosphore pour obtenir du β -CD per-désoxy-thiolé (Kali, Haddadzadegan et al., 2022)

1.3.3. Cyclodextrines O-substituées

Parmi les CD O-substituées, les méthylées et les hydroxypropylées sont probablement les dérivés les plus importants en raison de leur grande solubilité dans l'eau et de leur capacité de complexation. Concernant la solubilité dans l'eau, qui est dans de nombreux cas l'objectif de ces modifications, la méthylation aléatoire des groupes hydroxyles du β -CD augmente sa solubilité aqueuse jusqu'à 500 g/L, tandis que l'hydroxypropylation des groupes hydroxyles en position C-6 jusqu'à plus de 600 g/L (Saokham et al., 2018). L'introduction de groupes ioniques dans la structure du CD peut encore augmenter la solubilité aqueuse.

1.3.4. Estérification

Une méthode de modification largement utilisée pour les CD est leur estérification par des acides carboxyliques, également une forme de O-substitution. Cette réaction est utilisée pour conjuguer des médicaments ou des groupements de ciblage aux CD, pour former des tensioactifs à base de CD (Schlüter, Bela, Glikman, Braunschweig et Ravoo, 2020) ou pour améliorer la solubilité de certaines structures supramoléculaires à base de CD (Kato, Hori et Ito, 2018 ; Mayumi, Liu, Yasuda et Ito, 2021). Les réactions d'estérification possibles sont résumées dans la Figure. I-5..

1.3.5. Oxydation

L'oxydation des CD peut conduire à des fonctionnalités aldéhydes en ouvrant certaines unités répétitives d'anhydroglucose avec NaIO₄ (Hoang Thi, Lee, Ryu, Sung et Park,

2017). Les groupes aldéhydes peuvent être soumis à une amination réductrice , , ce qui donne des sous-structures cationiques qui offrent une solubilité élevée dans l'eau (Ijaz, Ahmad et al., 2016 ; Mulazim, Ijaz, Rosch, " & Bernkop-Schnürch, 2020) comme illustré dans la Figure. I-6.

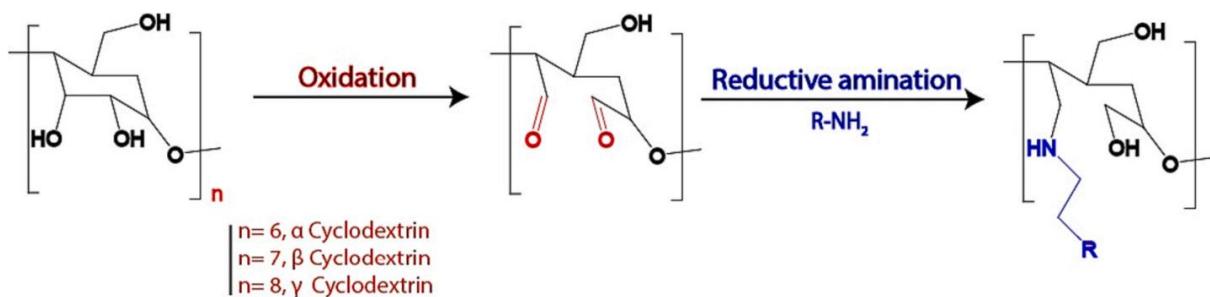


Figure I-6. Voie de réaction schématique de l'oxydation des CD suivie d'une amination réductrice, où R est la fonctionnalité souhaitée

2. Nouveaux développements

2.1. Polyrotaxanes à base de CD

Les polyrotaxanes constituent l'une des classes les plus intrigantes de matériaux polymères à base de CD. Ces matériaux sont constitués de chaînes polymères et de molécules en forme d'anneau fileté, telles que les CD (Wenz, Han et Müller, 2006). Grâce à leur structure supramoléculaire imbriquée, ces matériaux présentent plusieurs propriétés intéressantes.

Afin d'inhiber la déstructuration des CD de l'axe polymère, des molécules stoppeuses sont placées aux extrémités des chaînes, comme illustré à la figure 7. Ces bouchons peuvent également être sensibles à l'impact environnemental, déclenchant la décomposition des polyrotaxanes dans certaines conditions, faisant de cette classe de matériaux un outil intéressant pour diverses applications biomédicales (Zhi Liu, Lin, Purro et Xiong, 2016 ; Yoshikawa et al., 2022 ; Atsushi Tamura et Yui, 2018 ; Higashi,

Iohara, Motoyama et Arima, 2018). La plupart des polyrotaxanes sont constitués de chaînes PEG et d' α -CD. Afin d'améliorer la solubilité de l' α -CD, ses dérivés méthylés et hydroxypropylés sont également utilisés.

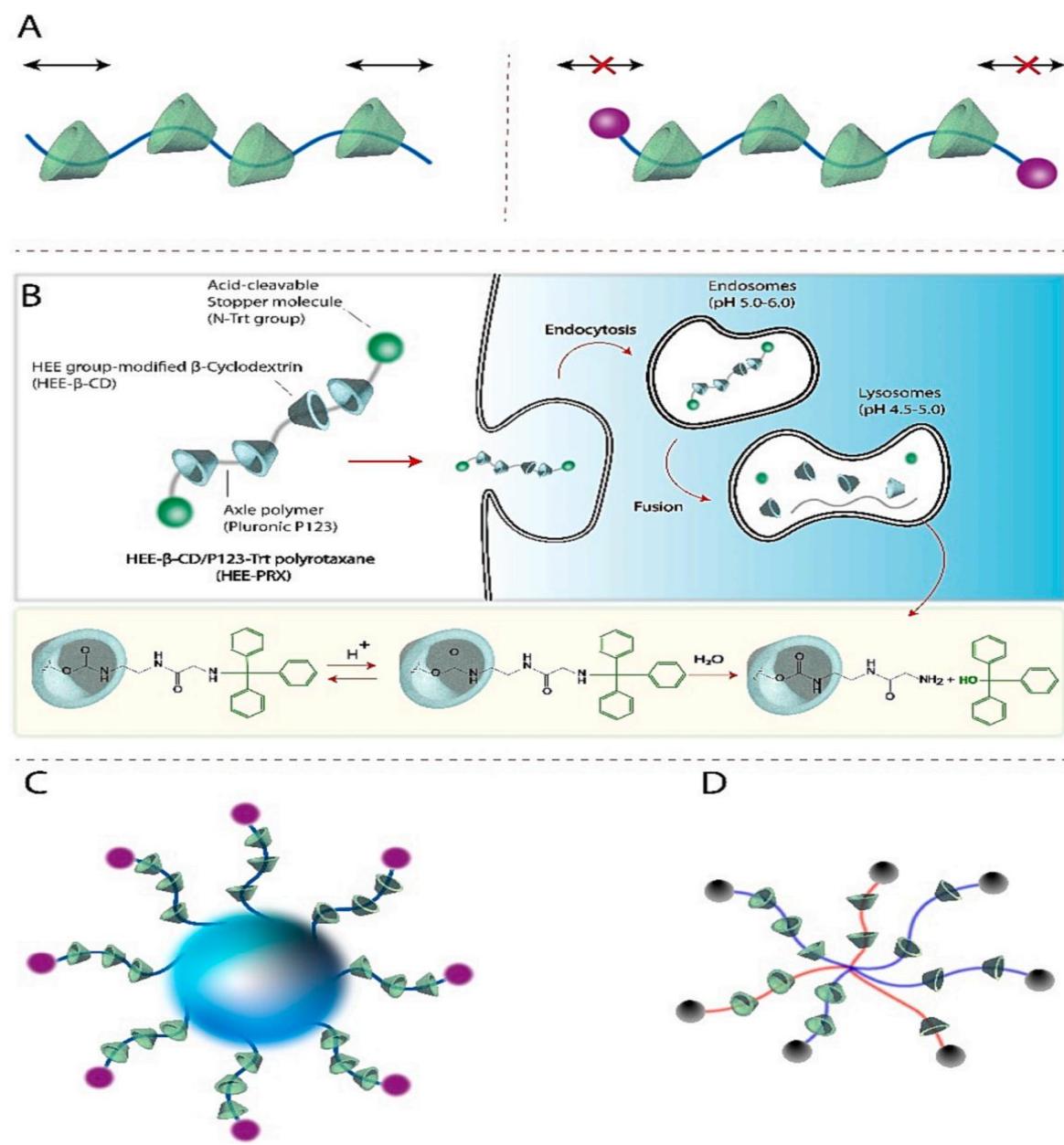


Figure I- 7:A Structure schématique des pseudopolyrotaxanes et des polyrotaxanes ; **B :** Illustration de l'absorption et de la dissociation intracellulaire des polyrotaxanes acido-sensibles, d'après Tamura et al. (Tamura, Nishida et Yui, 2016). **C :** Structure schématique d'une nanoparticule décorée de polyrotaxane ; **D :** Polyrotaxane en étoile

2.2. Conjugués CD-polymère

2.2.1. Conjugués CD-polymère présentant une libération prolongée du médicament et une absorption cellulaire améliorée

Parmi les conjugués CD-polymère, les conjugués en étoile, composés d'un cœur CD et de bras polymères, présentent un intérêt particulier pour l'administration de médicaments. Ces conjugués sont principalement synthétisés en utilisant CD comme macro-initiateur.

2.2.2. Conjugués CD-polymère mucoadhésifs

Les CD greffés sur des polymères mucoadhésifs permettent de former des systèmes de libération hydrosolubles pour complexer et immobiliser les médicaments dans la couche de gel du mucus. Le chitosane est l'un des polymères mucoadhésifs naturels les plus utilisés ; sa structure cationique favorise de fortes interactions avec les sous-structures anioniques du mucus. Le greffage de β -CD sur chitosane a été utilisé pour complexer la (+)-catéchine (Venter, Kotze, Auzely-Velty et Rinaudo, 2006).

Dans une autre étude, la β -CD méthylée a été greffée sur du chitosane d'ammonium quaternaire par l'intermédiaire d'un espaceur de 10 atomes de long. La force mucoadhésive a légèrement diminué par rapport au chitosane quaternaire, mais la dexaméthasone, en tant que médicament modèle hydrophobe, a été efficacement complexée avec ce polymère (Piras et al., 2018). Le chitosane d'ammonium quaternaire greffé par HP- β -CD, comme le montre la figure 6A, a affiché un temps de résidence presque deux fois plus long sur la muqueuse nasale porcine (Belgamwar, Khan et Yeole, 2018).

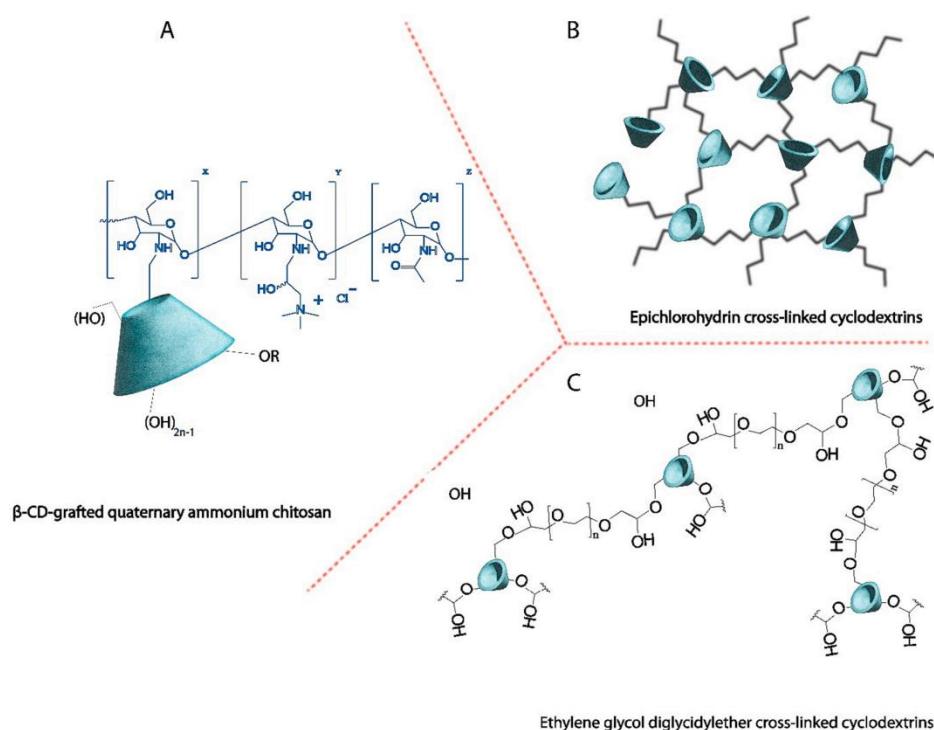


Figure I-8. Représentation schématique du chitosane d'ammonium quaternaire greffé (A) β -CD, ainsi que des CD réticulés (B) par l'épichlorhydrine et (C) par l'éthylène glycol diglycidylether.

2.3. CD thiolés

2.3.1. Propriétés mucoadhésives

Les CD n'étant pas mucoadhésifs, leur intérêt pour l'administration de médicaments par voie muqueuse est limité. Cependant, la thiolation permet d'obtenir de fortes propriétés mucoadhésives, car les CD thiolés forment des liaisons disulfures avec les glycoprotéines du mucus riches en cystéine (Mulazim et al., 2020 ; Kali, Knoll, 2022).

Les dérivés de CD thiolés non ioniques, représentés sur la figure 7A, ont été étudiés principalement pour les CD α et β . La per-6-thiolation de l' α -CD a montré une viscosité du mucus 5,8 fois supérieure à celle de l' α -CD natif, indiquant de fortes interactions avec les glycoprotéines du mucus (Asim et al., 2020).

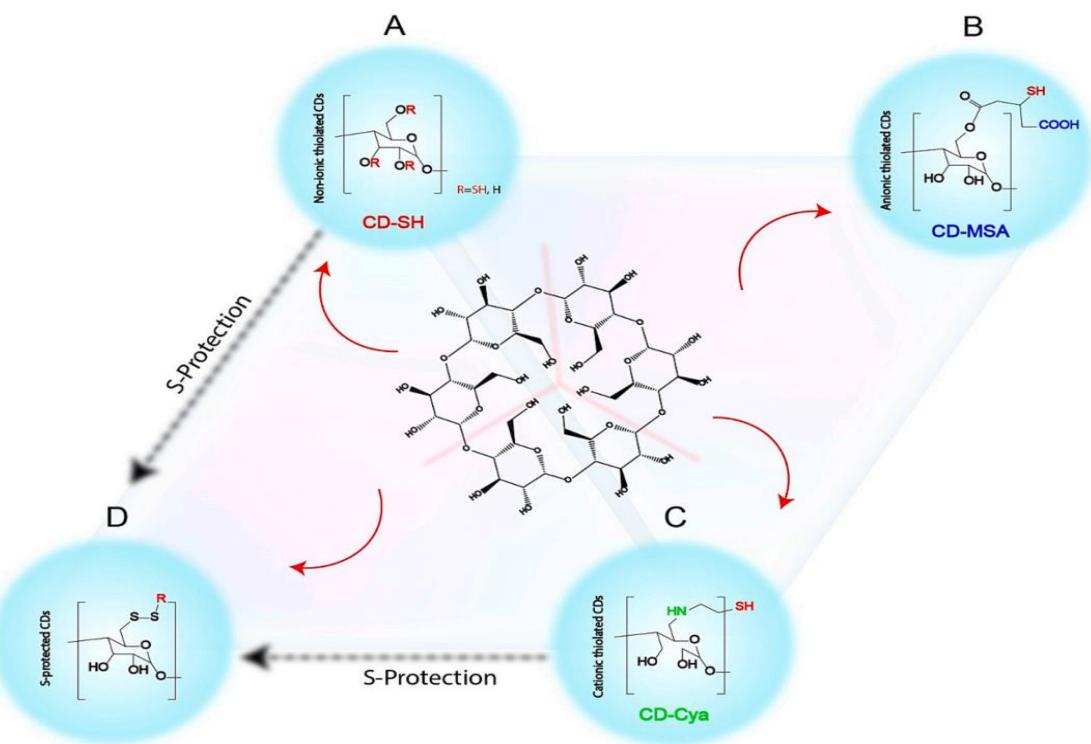


Figure I-9. Structures générales des CD thiolés (A) non ioniques, (B) anioniques et (C) cationiques, ainsi que des CD thiolés (D) protégés par S.

3. Forces Motrices dans la Complexation des Cyclodextrines (CD)

Fondamentalement, les complexes d'inclusion impliquent des interactions entre les molécules de l'hôte et de l'invité, et il s'agit d'une combinaison de différentes interactions non covalentes telles que les interactions ioniques, dipolaires, électroniques, de van der Waals et l'effet hydrophobe, en plus de la taille et de la forme des molécules (Chen et Jiang, 2011). De ce fait plusieurs facteurs doivent être pris en compte pour choisir le type de CD pour une étude donnée : les propriétés physico-chimiques de l'hôte, la taille de la cavité du CD, la solubilité, la méthode de préparation et la possibilité de co-encapsulation.

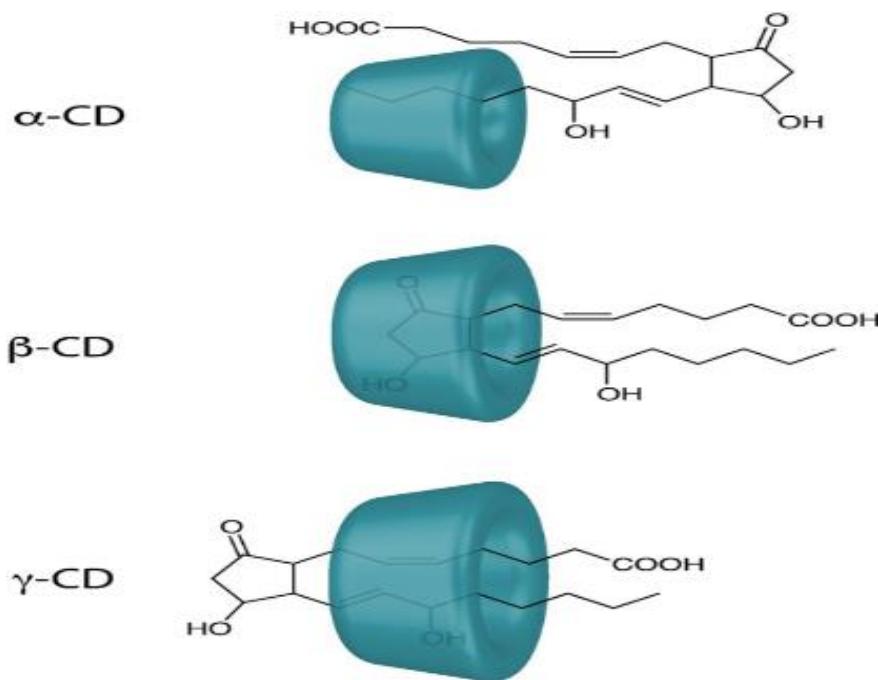


Figure I-10 :Mode d'inclusion des composés d'inclusion cyclodextrine-prostaglandine F2 α en solution aqueuse (Hirayama et al. (1987).

3.1. Relations entre les différentes forces motrices

3.1.1 Détails thermodynamiques de la complexation par les CDs

Le mécanisme détaillé de la complexation de l'inclusion de CD est assez compliqué. Néanmoins, pour illustrer les forces motrices de la complexation, il est utile de partager le processus de l'inclusion en plusieurs étapes.

En 1978, Tabushi et al. ont présenté un modèle complet du processus d'inclusion de l' α -CD (I. Tabushi et Y. Kiyosuke 1978) dans lequel la complexation a été fractionnée en les étapes suivantes :

(1) Libération de deux molécules d'eau de la cavité du CD dans la phase gazeuse. L'étape accompagne les pertes d'interaction de van der Waals et de liaison hydrogène entre les deux molécules d'eau, les gains de liberté de mouvement des deux molécules d'eau, et un changement dans l'énergie de conformation de l'hôte.

- (2) Transformation des molécules d'eau gazeuse extrudées en une phase liquide, qui s'accompagne apparemment d'un changement d'enthalpie et d'entropie négatif.
- (3) Transfert d'une molécule invitée non polaire de l'eau à un état gazeux idéal laissant derrière elle une cavité structurée qui s'effondre avec redistribution des molécules d'eau.
- (4) Liaison de la molécule invitée par l'hôte, accompagnée de l'activation de l'interaction intermoléculaire hôte-invité et d'un changement dans l'énergie de conformation de l'hôte.

Sur la base de ce modèle, les auteurs ont calculé l'énergie de complexation de l' α -CD avec le benzène, la p-iodoaniline et la méthylorange. Ils ont constaté que l'interaction de van der Waals entre la CD et l'invité est très importante parce qu'elle fournit une enthalpie négative importante. Cette enthalpie est compensée dans une certaine mesure par le gel de la liberté de mouvement de la molécule invitée dans la formation complexe, mais pas complètement. Par conséquent, l'interaction de van der Waals est une force motrice de la complexation.

Cependant, il a été montré que la libération des molécules d'eau liées à la cavité s'accompagne également d'une enthalpie négative importante. Ainsi, l'enthalpie négative expérimentale ne peut être utilisée pour démontrer la dominance de l'interaction de van der Waals dans la complexation de la CD.

Deuxièmement, il a été trouvé que l'énergie de conformation de la molécule hôte augmente de l'hydrate à un complexe d'inclusion. Apparemment, au lieu de soulager la déformation conformationnelle, la complexation de l'inclusion conduit à une conformation plus contraignante de la CD avec une énergie de conformation plus élevée. Vraisemblablement, en modifiant la conformation de l'hôte, le complexe peut optimiser les interactions entre l'hôte et l'invité et réduire son énergie. Néanmoins, il est clair que le soulagement de la déformation de conformation n'est pas une force motrice dans la complexation du CD.

Il convient de mentionner que le calcul ci-dessus a négligé une interaction importante dans l'action de complexe d'inclusion, c'est-à-dire l'interaction entre la molécule invitée libre et les molécules d'eau qui l'entourent. Bien que l'effondrement de la cavité structurée laissée par la molécule invitée donne un changement d'entropie positif, le changement d'enthalpie du processus est également positif et compensé en

fait l'entropie. Ainsi, l'effet hydrophobe ne repose pas seulement sur la redistribution des molécules d'eau de la cavité, et l'interaction entre le soluté et l'eau est également très importante.

Le modèle ci-dessus est également faussé par une estimation erronée du changement du nombre de degrés de liberté vibrationnels au cours du processus de complexation. Par conséquent, la libération de l'eau liée à la cavité a été calculée pour donner un changement d'entropie positif, en raison des gains de liberté de mouvement des molécules d'eau quant à la translation et à la rotation tridimensionnelle. Cette source d'entropie positive a été utilisée pour soutenir que l'entropie positive n'indique pas nécessairement une interaction hydrophobe (H. Fujiwara, H. Arakawa 1978).

Cependant, si la libération de l'eau liée à la cavité produit réellement une enthalpie négative et une entropie positive, dans un équilibre de solution aqueuse de CD, l'eau ne peut pas rester du tout dans la cavité de CD.

Plus tard, Wojcik a également présenté un modèle thermodynamique statistique de la liaison CD (J. F. Wojcik: Bioorg1984). Dans le modèle, l'enthalpie et l'entropie de la complexation n'ont pas été prises en compte, et le changement d'énergie libre de la complexation a été séparé en cinq contributions, c'est-à-dire les contributions du mouvement de translation, du mouvement de rotation, du mouvement de vibration, du mouvement électronique et de la solvatation.

Apparemment, le modèle est strict en termes de thermodynamique. Son seul problème réside dans l'évaluation de chaque contribution de l'énergie libre. Les résultats des évaluations sont intéressants. Les contributions de transition et de rotation ne sont pas favorables à la complexation, car trois modes de translation et trois modes de rotation sont perdus lors de la formation complexe. Cependant, la contribution vibratoire et la contribution électronique sont favorables à la complexation, qui constituent les forces motrices de la complexation. La contribution de solvatation est, en revanche, défavorable à la complexation. Ce fait ne signifie pas que l'effet hydrophobe est absent dans la complexation du CD, car les valeurs calculées de l'interaction hydrophobe pourraient encore être favorables à la complexation.

4. Compensation d'enthalpie-entropie

La compensation enthalpie-entropie est le phénomène dans lequel la variation de l'enthalpie est compensée par une variation correspondante de l'entropie entraînant une variation d'énergie nette libre plus faible (J. E. Leffler: *J. Org.* 1955). Bien qu'elle ait été largement observée dans de nombreux domaines de la chimie et de la biophysique, les détails et l'origine de l'effet compensatoire restent mal compris (R. Lumry et al 1970) .Néanmoins, on pense généralement que la compensation de l'enthalpie-entropie joue un rôle important dans les réactions en solution.

En chimie des CD, l'apparition de la compensation enthalpie-entropie a été observée tôt et a été bien documentée. En particulier, Inoue et al. ont mené une étude systématique sur le comportement (Y. Inoue, T. Hakushi 1993), et il a été suggéré que la pente et l'interception de la courbe d'enthalpie-entropie ($\Delta H - T\Delta S$) pourraient être des mesures quantitatives du changement conformationnel et de l'étendue de la désolvatation lors de la complexation.

Cependant, il subsiste une certaine controverse concernant la compensation de l'enthalpie-entropie dans la complexation du CD. Premièrement, on ne sait toujours pas si la compensation observée est un fait ou un artefact. Comme on le sait, la corrélation entre les enthalpies et les entropies obtenues à partir des placettes de Van't Hoff pourrait être un artefact parce que les erreurs expérimentales des deux quantités ont tendance à dépendre l'une de l'autre (O. Exner 1973). Néanmoins, la plupart des données d'enthalpie et d'entropie de la complexation du CD ont été obtenues à partir de mesures calorimétriques, et il a été montré récemment sur la base de simulations informatiques que la compensation entre elles devrait être réelle (L. Liu, C. Yang 2001).

L'autre problème concernant la compensation enthalpie-entropie est l'origine physique d'un tel effet. Bien qu'un certain nombre de théories aient été proposées [W.R. Melander 1974], la plupart ne s'appliquent pas à la chimie des CD. Néanmoins, Grunwald a récemment proposé une théorie de compensation enthalpie-entropie, dans laquelle la réorganisation du solvant a été suggérée comme étant l'origine physique de la compensation (E. Grunwald and C. Steel 1995). Fait intéressant, il s'avère que cette

théorie peut expliquer avec succès la compensation de l'enthalpie-entropie dans de nombreux systèmes réels [L. Liu, et al 2000], y compris la complexation de l'inclusion du CD (L. Liu et Q.-X. Guo 2001).

5. Techniques analytiques pour caractériser les complexes médicament-cyclodextrine en solution.

L'évaluation de la formation d'un complexe d'inclusion médicament-CD et sa caractérisation complète ne sont pas une tâche simple et nécessitent souvent l'utilisation de différentes méthodes analytiques, dont les résultats doivent être combinés et examinés conjointement, chaque méthode explorant une caractéristique particulière du complexe d'inclusion. L'utilisation concomitante de différentes techniques peut permettre une compréhension plus approfondie des interactions hôte-invité et faciliter la sélection du CD le plus approprié pour une molécule invitée donnée.

Les différentes méthodes disponibles reposent généralement sur la détection de la variation d'une propriété physique ou chimique appropriée de l'invité, résultant de la formation du complexe d'inclusion. Il est évidemment essentiel que la variation observée soit suffisamment importante pour être détectée ou estimée avec une précision suffisante. De plus, toute méthode de mesure présente ses propres inconvénients, qu'il convient de bien connaître et de prendre en compte, afin d'évaluer leur impact sur la fiabilité des résultats.

Les principales techniques analytiques utilisées pour caractériser la complexation des inclusions de CD en solution comprennent :

Techniques spectroscopiques :

- (a) Ultraviolet/visible (UV)
- (b) Dichroïsme circulaire
- (c) Fluorescence
- (d) Résonance magnétique nucléaire (RMN)
- (e) Résonance spin électronique (RSE).

Techniques électroanalytiques :

- (a) Polarographie

- (b) Voltamétrie
- (c) Potentiométrie
- (d) Conductimétrie.

Techniques de séparation :

- (a) Chromatographie liquide haute performance (CLHP)
- (b) Électrophorèse capillaire (EC)
- (c) Polarimétrie
- (d) Calorimétrie de titration isotherme (CTI).

6. Applications

Un demi-siècle après leur premier isolement par Villiers et la caractérisation de leurs propriétés structurales par Schardinger, les cyclodextrines (CD) ont connu leurs premières applications dans le domaine de l'administration pharmaceutique dès les années 1950. Toutefois, leur utilisation industrielle demeurait limitée en raison des faibles rendements de production et des coûts élevés associés à leur synthèse. Ce n'est qu'avec le développement de procédés biotechnologiques innovants, au cours des années 1970 et 1980, que leur production à grande échelle devint réalisable, suscitant un regain d'intérêt de la part de l'industrie pharmaceutique.

6.1. Biocompatibilité et sécurité

Tous les CD parentaux sont « généralement reconnus comme sûrs » (GRAS ; « Agence européenne des médicaments, Cyclodextrines utilisées comme excipients », (EMA/CHMP/495747/2013) ». Cependant, en raison de leur petite taille, les CD présentent une activité osmotique plus élevée que les polysaccharides. Une administration orale à forte dose de CD, supérieure à 1 g/kg/jour, peut provoquer des diarrhées ou une hypertrophie cœcale, tandis qu'une irritation nasale ou des lésions des tissus nasaux ont été constatées uniquement dans le cas du RM- β -CD à une concentration de 20 %. L'application oculaire d' α - et de β -CD méthylée provoque respectivement une toxicité épithéliale et une irritation, alors qu'aucun effet secondaire

de ce type n'a été détecté pour le β -CD, le HP- β -CD ou le SB- β -CD. Aucune irritation n'a été signalée en cas d'application rectale (EMA, 2017 ; Trotta, Loftsson, Gaud, Trivedi et Shende, 2022). Même la faible cytotoxicité des différents CD natifs pourrait augmenter avec leur concentration, mais elle est également affectée par la modification du CD. Des concentrations de 4 % d' α -CD et de 5 % de RM- β -CD, par exemple, peuvent être toxiques pour l'épithélium cornéen chez le lapin (« Agence européenne des médicaments, Cyclodextrines utilisées comme excipients, (EMA/CHMP/495747/2013) »). Plus important encore, les CD présentent un effet hémolytique. La β -CD provoque les dommages les plus graves à la membrane des globules rouges, car elle extrait le cholestérol de la membrane. La HP- β -CD est également utilisée pour complexer le cholestérol *in vivo* (Hastings, Liu, Hurst, Cox et Hrynkow, 2022). Parmi les β -CD méthylées, la diméthyl- β -CD présente la plus grande capacité d'extraction du cholestérol, mais par conséquent aussi la plus forte activité hémolytique (Kiss et al., 2010). L'effet hémolytique des α - et γ -CD est très probablement lié à la formation de complexes d'inclusion avec des constituants lipidiques membranaires, par exemple les phospholipides (Roka et al., 2015).

6.2. Amélioration de l'absorption cellulaire par les polyrotaxanes

Les polyrotaxanes fonctionnalisés sont utilisés comme systèmes d'administration de médicaments améliorant l'absorption cellulaire. En particulier, les polyrotaxanes carboxylés anioniques provoquent une forte interaction avec les protéines membranaires. Leur internalisation cellulaire est supérieure à celle des polyrotaxanes non ioniques dans SR-A-positifs (Matsui et al., 2018) et également, dans certains cas, dans les cellules macrophages SR-A-négatives (Zhang, Tamura et Yui, 2021). Grâce aux espaces alkyles entre le CD et les fragments carboxyliques, les niveaux de captation cellulaire peuvent varier. Le polyrotaxane carboxylé et à terminaison porphyrine a également entraîné une forte captation cellulaire par les cellules He La et CT26 (Zhang et al., 2020 ; Y. Zhang et al., 2019). Des études *in vivo* ont montré que la croissance tumorale était fortement inhibée par le cisplatine conjugué aux anneaux CD modifiés du polyrotaxane.

6.3. Polyrotaxanes dans le traitement de la maladie de Niemann-Pick

La maladie de Niemann-Pick de type C est une maladie métabolique lysosomale caractérisée par l'accumulation de cholestérol. Grâce à sa forte affinité pour la formation d'un complexe hôte-invité 2:1 avec les molécules de cholestérol hydrophobes, l'HP- β -CD est un candidat prometteur pour le traitement de cette maladie (Yergey et al. 2017). En raison de sa courte demi-vie, l'HP- β -CD doit être administrée fréquemment à des concentrations élevées, ce qui peut entraîner des effets secondaires toxiques (Gould & Scott, 2005 ; Muralidhar et al., 2011). L'utilisation de structures supramoléculaires, telles que les polyrotaxanes, avec de l'HP- β -CD filetée peut être bénéfique pour le traitement de la maladie de Niemann-Pick de type C (Egele, Samaddar, Schneider, Thompson & Wenz, 2019). Les CD filetés sont inertes dans des conditions extracellulaires en appliquant des molécules d'arrêt bioréactives ou clivables, mais les polyrotaxanes se décomposent dans le lysosome, libérant le dérivé β -CD directement à l'intérieur de la cellule.

6.5. Élargissement du champ d'application pharmaceutique des polyrotaxanes.

Bien que les cavités hydrophobes des CD soient occupées par la rotaxanation, les polyrotaxanes et, plus fréquemment, les pseudopolyrotaxanes sont également utilisés comme dispositifs d'administration de médicaments. Les pseudopolyrotaxanes d'insuline pégylée contenant des α - et γ -CD présentent une libération prolongée, contrôlable par la teneur en CD. Un effet hypoglycémiant presque quatre fois supérieur a été détecté par rapport au conjugué PEG-insuline non rotaxané (Hirosu, Higashi, Motoyama et Arima, 2017).

I.3 Les anesthésiques locaux

I.3.1 Introduction

Les anesthésiques sont des molécules définies par leur capacité à abolir de manière réversible la sensibilité sensorielle. Ils se divisent en deux catégories distinctes les anesthésiques locaux (AL) et les anesthésiques généraux.

Les anesthésiques généraux, bien que chimiquement hétérogènes, partagent une propriété fondamentale : induire une perte de conscience et une immobilité, conditions indispensables à la réalisation d'actes invasifs. En pratique clinique, ils sont souvent associés à des analgésiques morphinomimétiques et, dans certains cas, à des myorelaxants. Deux grandes classes se distinguent : les agents halogénés (administrés par inhalation) et les anesthésiques intraveineux. Quelle que soit leur voie d'administration, ces substances agissent en potentialisant l'activité des canaux ioniques inhibiteurs au niveau postsynaptique intracérébral (Brown et al. 2018).

L'anesthésie locale, quant à elle, se caractérise par une suppression circonscrite de la sensibilité au site d'injection, résultant d'une interruption temporaire de la conduction nerveuse. Son mécanisme d'action repose principalement sur le blocage des canaux sodiques, empêchant l'entrée des ions Na^+ dans la fibre nerveuse, ralentissant ainsi la conduction et élevant le seuil de dépolarisation (Hoizey et al. 2005 ; Koehler et al., 2005). Cette inhibition prolonge également la période réfractaire, réduisant la propagation de l'influx nerveux (Butterworth et al. 2020).

Les progrès récents en pharmacologie moléculaire ont permis de mieux comprendre les interactions structure-activité des AL, ouvrant la voie à des agents plus ciblés et moins toxiques (Yanagidate & Dohi, 2016).

I.3.2 Propriétés chimiques des anesthésiques locaux

3.2.1 Structure

Tous les ALs sont des composés dont l'architecture moléculaire se compose de trois éléments (figure I.11) : un groupement aromatique qui est responsable de la liposolubilité de la molécule et joue un rôle dans la diffusion et la fixation du produit, une chaîne intermédiaire qui contient soit une liaison ester, soit une liaison amide, et un groupement fonctionnel, généralement un ammonium, qui constitue le pôle hydrophile et influence la répartition ainsi que la diffusion du médicament dans le sang (Ruetsch et al., 2001). Ce sont des bases faibles ayant un poids moléculaire variant entre 234 et 329 g/mole.

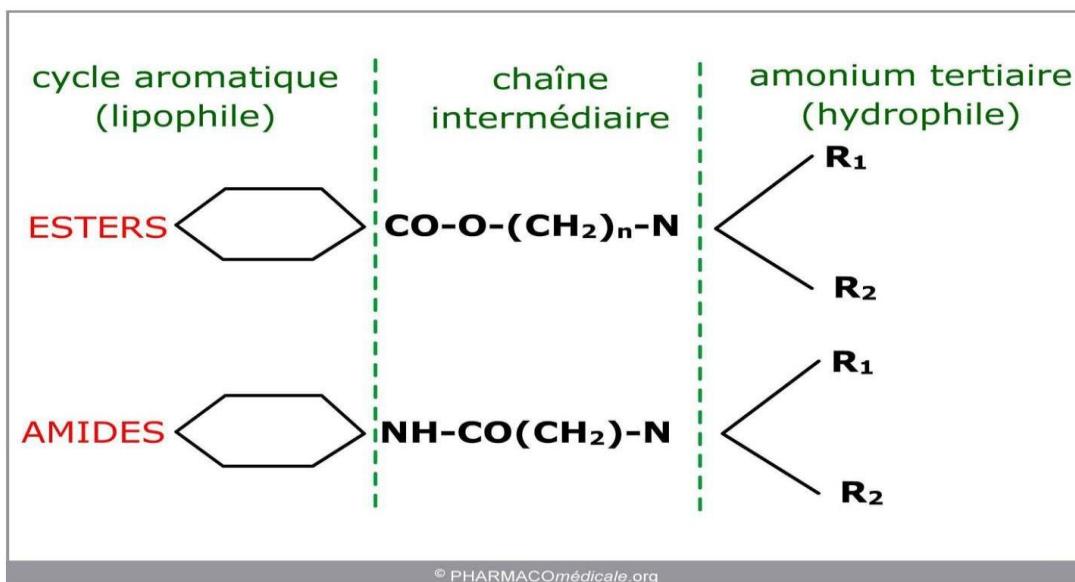


Figure I.11. Structures typique des anesthésiques locaux (Brunton et al. (2023)).

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

3.2..2 Classification

Les anesthésiques locaux se divisent en deux grandes classes chimiques, déterminées par leur structure moléculaire et leur métabolisme :

1. Amino-esters (esters de l'acide para-aminobenzoïque, PABA)

Caractéristiques :

Liaison ester dans leur structure (hydrolysée par les estérases plasmatiques).

Métabolisme rapide, demi-vie courte.

Risque accru de réactions allergiques (lié au métabolite PABA).

Exemples :

Cocaïne (historique, plus utilisée en clinique).

Procaïne (Novocaïne, 1904) – premier AL synthétique.

Tétracaïne (Améthocaïne, 1930) – puissance élevée, utilisée en rachianesthésie.

Benzocaïne – AL de surface, peu soluble, utilisé en topique (sprays, gels).

2. Amino-amides (dérivés de la xylidine ou de la toluidine)

Caractéristiques :

Liaison amide (métabolisée par le foie via les cytochrome).

Stabilité supérieure, moins d'allergies, durée d'action plus longue.

Meilleur profil sécurité/efficacité.

Exemples :

Lidocaïne (Xylocaïne®, 1943) , large spectre d'utilisation.

Mépivacaïne (Carbocaïne®, 1957) – action intermédiaire, faible vasodilatation.

Prilocaine (Citanest®, 1960) – utilisée en anesthésie dentaire (risque de méthémoglobinémie à haute dose).

Bupivacaïne (Marcaine®, 1972) – longue durée, risque cardiotoxique (isomère S moins毒ique : lévobupivacaïne).

Ropivacaïne (Naropin®, 1996) – moins cardiotoxique, sélectivité pour les fibres sensitives.

Articaïne (Ultracaïne®, 2000) – utilisé en dentaire (diffusion tissulaire rapide).

3. Agents atypiques et nouvelles générations

Molécules hybrides ou dérivés innovants :

yclométhicaïne (1986) – structure cyclique unique.

Dérivés N-alkyles de proline (2013) – recherche d'une meilleure sélectivité.

Liposomal formulations (e.g., bupivacaïne liposomale, Exparel®) – libération prolongée.

3.2.3 Propriétés pharmacologiques des anesthésiques locaux

➤ **Propriétés acido - basiques**

Les propriétés acido-basiques des ALs dépendent du milieu environnant de leurs structures. En solution aqueuse, il existe un équilibre entre la forme non ionisée (basique) et la forme ionisée (acide):



Avec une constante d'acidité :

$$K_a = \frac{[\text{B}][\text{H}_3\text{O}^+]}{[\text{BH}^+]} \quad \text{eq (I.-2)}$$

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

$$\text{pH} = \text{p}K_a + \log \frac{[\text{B}]}{[\text{BH}^+]} \quad \text{eq (I.-3)}$$

Le pKa représente le pH auquel les formes ionisées ou non ionisées sont reparties de manière égale. Le pKa d'un AL détermine la proportion relative des différentes fractions et donc le délai d'action : plus le pka est bas, plus le délai d'installation du bloc sera rapide, c'est-à-dire, une fraction plus élevée de la forme non ionisée dans l'organisme et donc une diffusion plus importante dans le milieu intracellulaire Becker, D. E., & Reed, K. L. (2012). Le pKa de la procaine par exemple est de 8.9, il varie généralement entre 7.7 et 8.1 pour les principaux ALs de type amide. De ce fait, au pH physiologique, ces ALs se trouvent sous forme ionisée.

I.1.1. Relation entre structure et activité des anesthésiques locaux

Les anesthésiques locaux (AL) partagent une structure commune qui détermine leur pharmacologie, leur puissance et leur toxicité. Leur activité dépend de trois composantes principales :

1. Structure de base des anesthésiques locaux

Tous les AL possèdent une structure moléculaire tripartite :

Un groupement aromatique lipophile (noyau benzénique) – favorise la diffusion membranaire.

Une chaîne intermédiaire (ester ou amide) – détermine la classe chimique et la stabilité.

Un groupement amine hydrophile (tertiaire ou quaternaire) – essentiel pour l'interaction avec le canal sodique.

2. Influence des modifications structurales sur l'activité

a) Lipophilie (noyau aromatique)

↑ Lipophilie → ↑ Puissance et durée d'action (meilleure pénétration membranaire).

Exemple : La bupivacaïne (groupement butyle) est plus puissante et prolongée que la lidocaïne (groupement éthyle).

Excès de lipophilie → risque accru de toxicité systémique (accumulation dans les tissus lipidiques).

b) Lien ester vs. amide

Esters (procainaïne, tétracaïne) :

Hydrolysés par les estérases plasmatiques → durée d'action courte.

Métabolites (PABA) potentiellement allergisants.

Amides (lidocaïne, ropivacaïne) :

Stables, métabolisés par le foie → durée prolongée.

Moins d'allergies, meilleur profil de sécurité.

c) Substitutions sur l'amine terminale

Forme non ionisée (NH_2) : Nécessaire pour traverser les membranes.

Forme ionisée (NH_3^+) : Active sur le canal sodique (blocage voltage-dépendant).

Effet stérique : Les grosses substitutions (e.g., ropivacaïne) réduisent la cardiotoxicité.

3. Relation structure-affinité pour les canaux sodiques

Les AL se lient au site récepteur intracellulaire du canal Na^+ voltage-dépendant (domaine S6 du segment IV).

Facteurs clés de l'efficacité :

Taille et forme du groupement aromatique (optimisation de l'interaction hydrophobe).

Distance optimale entre l'amine et le noyau aromatique (~6-9 Å).

Chiralité : Les isomères S (ropivacaïne, lévobupivacaïne) ont une meilleure sélectivité pour les fibres sensitives et moins de toxicité cardiaque.

4. Applications en conception de nouveaux AL

Les recherches récentes visent à :

Réduire la toxicité (ex : dérivés de la ropivacaïne).

Améliorer la sélectivité tissulaire (ciblage des fibres nerveuses spécifiques).

Formulations à libération prolongée (nanoparticules, liposomes).

Tableau I.2 Propriétés physicochimiques de quelques anesthésiques locaux (Denson et Mazoit, 1992).

AL	Durée d'action	Délai d'action	pKa	Fixation Protéique (%)	% de la base à pH= 7,4	Puissance anesthésiante relative/ Procaïne
Procaïne	1h -1h30	Lent	8,9	6	3	1
Tétracaïne	3h –4h	Lent	8,5	80	7	8
Lidocaïne	1h30 –2h	Rapide	7,8	65	24	2
Bupivacaïne	3h -3h30	Intermé-Diaire	8,1	95	17	8
Mepivacaine	2h-3h	Rapide	7.7	75	39	1.5
Prilocaine	1h30 –2h	Rapide	8.0	55	24	1.8
Etidocaine	3h –4h	Rapide	7.9	95	34	8

I.1.2. Mécanisme d'action des anesthésiques locaux

Les anesthésiques locaux (AL) exercent une **inhibition réversible et non lésionnelle** de la conduction nerveuse par un mécanisme pharmacologique bien caractérisé (Covino, 2021). Leur effet, d'apparition rapide, présente une **durée variable** dépendante de :

- La nature chimique de l'AL (esters vs amides)
- Sa concentration tissulaire
- Son coefficient de partage lipide/eau (Butterworth et al., 2018)

1. Dynamique d'action membranaire

Le processus implique plusieurs étapes clés :

1. Diffusion transmembranaire :

- Sous forme neutre (base lipophile), l'AL traverse la membrane axonale riche en phospholipides (Tsuchiya et al., 2020)
- Dans l'environnement intracellulaire ($\text{pH} \approx 7,1$), il se protone en forme cationique active (Hille, 2022)

2. Blocage des canaux sodiques :

- La forme cationique se lie au domaine S6 du segment IV des canaux Na^+ voltage-dépendants (Yanagidate & Dohi, 2021)
- Ceci entraîne une **réduction >90% de l'entrée sodique** nécessaire à la dépolarisation (Zhou et al., 2023)

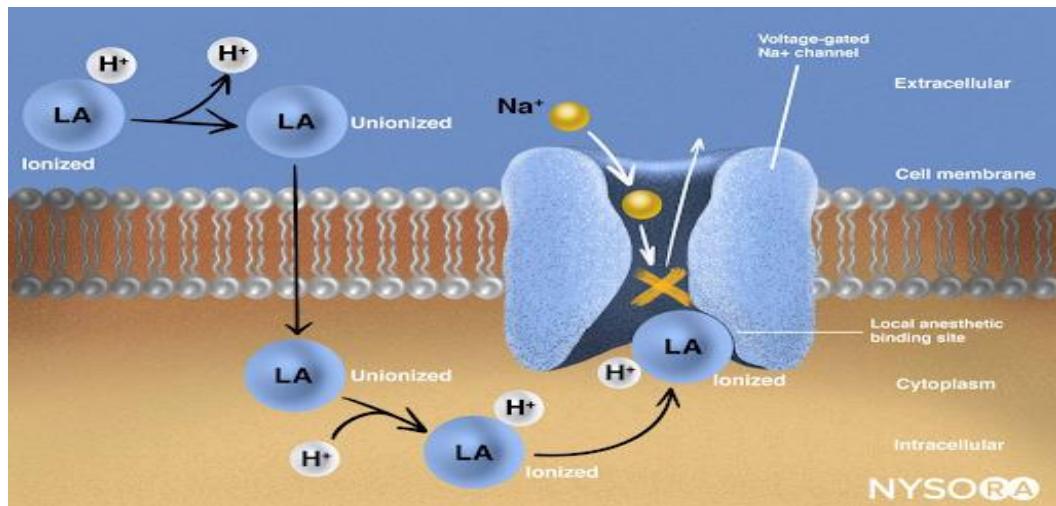


Figure I.12: Mécanisme d'action des anesthésiques locaux (NYSORA. 2023).

2. Cinétique des effets électrophysiologiques

L'action se manifeste par :

- Une **élévation progressive du seuil d'excitabilité** (de 15 à 50 mV selon les AL)
- Un **allongement de la période réfractaire absolue** (de 0,3 à 1,2 ms)
- À concentration suffisante, une **abolition complète du potentiel d'action** (Scholz, 2022)

3. Sélectivité des fibres nerveuses

La sensibilité différentielle suit la **loi de Gasser et Erlanger** (1927), confirmée par des études récentes en microscopie biphotonique (Vlassakopoulou et al., 2023) :

Type de fibre	Diamètre (μm)	Vitesse (m/s)	Sensibilité relative
C (douleur)	0,4-1,2	0,5-2	++++
A δ (froid)	1-4	5-30	+++
A β (tact)	6-12	30-70	+

Données issues de la méta-analyse de Zhang et al. 2023) sur 27 études cliniques

Cette sélectivité s'explique par :

1. La **surface membranaire exposée** plus importante des fibres fines
2. La **densité variable en canaux Na^+** (Nav1.7 à 1.9).
3. Des **différences de myélinisation** (Fink, 2022).

Applications cliniques actuelles :

- Développement d'AL ciblant spécifiquement Nav1.8 (impliqué dans la douleur chronique)
- Utilisation de systèmes de libération prolongée (microsphères PEGylées)
- Optimisation des formulations par modélisation moléculaire (IA prédictive)

Effets indésirables

La toxicité des anesthésiques locaux est essentiellement corrélée à un passage systémique augmenté, généralement secondaire à une injection intravasculaire non intentionnelle ou à la résorption systémique d'une dose excessive d'anesthésique local.

La toxicité des anesthésiques locaux dépend de :

- la dose injectée : le respect des doses maximales est primordial.
- Le site d'injection : la résorption est plus rapide et complète lors d'un bloc intercostal que lors d'une anesthésie péridurale, l'injection intra-vasculaire accidentelle est la cause la plus fréquente des accidents.
- La vitesse d'injection
- L'adjonction d'adrénaline qui ralentit la résorption donc la toxicité mais qui a ses effets indésirables propres (conséquences néfastes de la vasoconstriction locale).

Tableau I.3. Effets indésirables des anesthésiques locaux

Molécules	Nature de l'effet indésirable	Gravité	Estimation de la fréquence	En savoir plus sur l'effet indésirable
Tous les anesthésiques locaux	Hypersensibilité à la molécule elle-même ou aux molécules de la même classe	Très grave Choc anaphylactique	Très rare	
Tous les anesthésiques locaux	Troubles neurologiques du SNC	Grave	Rare Dépendant du type d'anesthésie (favorisant ou non un passage systémique)	Crises convulsives annoncées par des signes subjectifs d'excitation (prodromes): tremblements, logorrhée, goût métallique, troubles visuels, acouphènes. Les convulsions sont suivies d'un coma avec apnée et hypoxie.
Tous les anesthésiques locaux	Dépression respiratoire	Grave	Rare Dépendant du type d'anesthésie (favorisant ou non un passage systémique)	Eventuellement imputable aux excipients conservateurs et aux substances vasoconstrictrices
Tous les anesthésiques locaux	Troubles cardiovasculaires	Grave	Rare Dépendant du type d'anesthésie (favorisant ou non un passage systémique)	Vasodilatation, diminution de la conduction et de la force de contraction cardiaque, se traduisant par une hypotension, voire un choc.
Tous les anesthésiques locaux	Complications des techniques loco-régionales Hématome, paresthésie, nécrose, céphalées postopératoires intenses et rebelles	Grave	Rare	

<https://pharmacomedicale.org/medicaments/par-specialites/item/42-2>

Références bibliographique:

- Agence européenne des médicaments.** (2013). *Cyclodextrines utilisées comme excipients (EMA/CHMP/495747/2013)*. European Medicines Agency.
- Agence européenne des médicaments. (2017). *Lignes directrices pour l'évaluation des médicaments biologiques*.
- Agence européenne des médicaments. (2017). *Rapport sur la sécurité et la biocompatibilité des cyclodextrines*. European Medicines Agency.
- Arruda, T. R., Marques, C. S., & Soares, N. F. F.** (2021). Native cyclodextrins and their derivatives as potential additives for food packaging: A review. *Polysaccharides*, 2, 825–842.
- Asim, M. H., Nazir, I., Jalil, A., Laffleur, F., Matusczak, B., & Bernkop-Schnürch, A.** (2020). Per-6-Thiolated Cyclodextrins: A novel type of permeation enhancing excipients for BCS class IV drugs. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 12(7), 7942–7950.
- Becker & Reed** (2016). *Essentials of Local Anesthetic Pharmacology (optimisation des nouveaux AL)*.
- Becker, D. E., & Reed, K. L.** (2012). Local anesthetics: review of pharmacological considerations. *Anesthesia Progress*, 59(2), 90–102.
- Belgamwar, A., Khan, S., & Yeole, P.** (2018). Intranasal chitosan-g-HP β CD nanoparticles of efavirenz for the CNS targeting. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 46(2), 374–386.
- Butterworth et al.** (2018). *Pharmacology of Local Anesthetics. Anesthesiology. Anesthésie-Réanimation*, 45(6), 453–460.
- Butterworth, J. F., & Strichartz, G. R.** (2020). Molecular mechanisms of local anesthesia: A review. *Anesthesiology*, 132(4), 1005–1017..
- Covino, B. G.** (2021). *Anesthésiques locaux : Mécanismes d'action et applications cliniques. Revue d'Anesthésie et de Réanimation*, 68(3), 123–135.
- Crini, G., Fourmentin, S., Fenyvesi, É., Torri, G., Fourmentin, M., & Morin-Crini, N.** (2018). Cyclodextrins, from molecules to applications. *Environmental Chemistry Letters*, 16(4), 1361–1375.
- Davis, M. E., & Brewster, M. E.** (2004). Cyclodextrin-based pharmaceutics: Past, present and future. *Nature Reviews Drug Discovery*, 3(12), 1023–1035.

- Egele**, K., Samaddar, S., Schneider, H., Thompson, D., & Wenz, G. (2019). Acid-labile polyrotaxanes for delivery of hydroxypropyl- β -cyclodextrin in Niemann-Pick disease type C. *Biomacromolecules*, 20(3), 1104–1112.
- Exner**, O. (1973). *Prog. Phys. Org. Chem.*, 10, 411.
- Fejos, I., Kalydi, E., Malanga, M., Benkovics, G., & Béni, S. (2020). Single isomer cyclodextrins as chiral selectors in capillary electrophoresis. *Journal of Chromatography A*, 1627, Article 461375.
- Fenyvesi**, É., Vikmon, M., & Szente, L. (2016). Cyclodextrins in food technology and human nutrition: Benefits and limitations. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56(12), 1981–2004.
- Fink**, M. (2022). Myelination and sodium channel density differences in nerve fiber types. In *Advances in Neurophysiology* (pp. 201–220).
- Gould**, S., & Scott, R. C. (2005). Hydroxypropyl- β -cyclodextrin: A toxicology review. *Food and Chemical Toxicology*, 43(10), 1451–1459.
- Grunwald**, E., & Steel, C. (1995). *J. Am. Chem. Soc.*, 117, 5687.
- Hastings, M., Liu, X., Hurst, J., Cox, D., & Hrynkow, S. (2022). Cholesterol complexation by hydroxypropyl- β -cyclodextrin in vivo and its hemolytic effects. *Journal of Lipid Research*, 63(4), 500–512.
- Higashi**, T., Iohara, D., Motoyama, K., & Arima, H. (2018). Supramolecular pharmaceutical sciences: A novel concept combining pharmaceutical sciences and supramolecular chemistry with a focus on cyclodextrin-based supermolecules. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 66(3), 207–216.
- Hille (2001). *Ionic Channels of Excitable Membranes*.
- Hille, B. (2022). *Ion Channels of Excitable Membranes* (4th Edition). Sinauer Associates.
- Hirotsu, K., Higashi, K., Motoyama, K., & Arima, H. (2017). Prolonged hypoglycemic effect of PEGylated insulin pseudopolyrotaxanes containing α - and γ -cyclodextrins. *International Journal of Pharmaceutics*, 519(1–2), 27–34.
- Hoang Thi**, T. T., Lee, Y., Ryu, S. B., Sung, H.-J., & Park, K. D. (2017). Oxidized cyclodextrin-functionalized injectable gelatin hydrogels as a new platform for tissue-adhesive hydrophobic drug delivery. *RSC Advances*, 7(54), 34053–34062.
- Hoizey**, G., & Lemoine, P. (2005). Mécanismes d'action des anesthésiques locaux.

Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation, 24(3), 235–241.

Ijaz, M., Ahmad, M., Akhtar, N., Laffleur, F., & Bernkop-Schnürch, A. (2016). Thiolated alpha-cyclodextrin: The invisible choice to prolong ocular drug residence time. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 105(9), 2848–2854.

Inoue, Y., Hakushi, T., Liu, Y., Tong, L.-H., Shen, B.-J., & Jin, D.-S. (1993). *J. Am. Chem. Soc.*, 115, 475.

Jain, M., Nowak, B. P., & Ravoo, B. J. (2022). Supramolecular hydrogels based on cyclodextrins: Progress and perspectives. *ChemNanoMat*, 8(5), Article e202200077.

Jin, J., Cai, L., Jia, Y.-G., Liu, S., Chen, Y., & Ren, L. (2019). Progress in self-healing hydrogels assembled by host–guest interactions: Preparation and biomedical applications. *Journal of Materials Chemistry B*, 7(10), 1637–1651.

Kato, K., Hori, A., & Ito, K. (2018). An efficient synthesis of low-covered polyrotaxanes grafted with poly(ϵ -caprolactone) and the mechanical properties of its cross-linked elastomers. *Polymer*, 147, 67–73.

Kiss, T., et al. (2010). Hemolytic activity and cholesterol extraction capacity of methylated β -cyclodextrins. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1798(6), 1235–1241.

Koehler, R. C., & Traystman, R. J. (2005). Mechanisms of action of local anesthetics. *Anesthesia & Analgesia*, 101(6), 1613–1621.

Kose, K., Tüysüz, M., Aksüt, D., & Uzun, L. (2022). Modification of cyclodextrin and use in environmental applications. *Environmental Science and Pollution Research*, 29(1), 182–209

Chapitre II

Méthodes d'analyses

Introduction

Les équations de base de la complexation hôte-invité sont les quatre équations suivantes.



$$K = \frac{[C]}{[H]^a[G]^b} \quad (\text{eq. II-2})$$

$$[H]_0 = [H] + a \cdot [C] \quad (\text{eq. II-3})$$

$$[G]_0 = [G] + a \cdot [C] \quad (\text{eq. II-4})$$

Avec :

H: pour Host ou hôte; G: pour guest ou invité et C: pour complexe et a et b les coefficients stoechiométriques.

$[H]_0$: concentration initiale ou totale de la molécule hôte.

$[G]_0$: concentration initiale ou totale de la molécule invité

$[C]$, $[H]$ et $[G]$: concentrations à l'équilibre des espèces complexe, hôte et invité respectivement.

Elles permettent de lier la constante de complexation K aux concentrations via l'équation suivante :

$$K = \frac{[C]}{([H]_0 - a \cdot [C])^a ([G]_0 - b \cdot [C])^b} \quad (\text{eq. II-5})$$

Pour remonter à K il faut lier la constante de complexation au propriété physicochimique détectable par une technique appropriée. Toutes les méthodes appropriées reposent sur la mesure d'une variation d'une propriété donnée (absorbance, décalage RMN, intensité de fluorescence, etc.) du système lors de la formation d'un complexe d'inclusion. Par conséquent, pour être applicables, il est nécessaire que cette variation soit détectable avec

une précision suffisante. De plus, ces méthodes consistent généralement à travailler à une concentration fixe d'hôte CD et à faire varier la concentration de l'invité, ce qui nécessite la préparation d'un grand nombre de solutions d'échantillons.

II-1. Spectroscopie ultraviolette/visible

La spectroscopie UV-visible est une méthode simple, économique, rapide et utile pour étudier la formation de complexes hôte-invité en solution, lorsque la complexation entraîne une modification significative du spectre d'absorption de la molécule invitée.

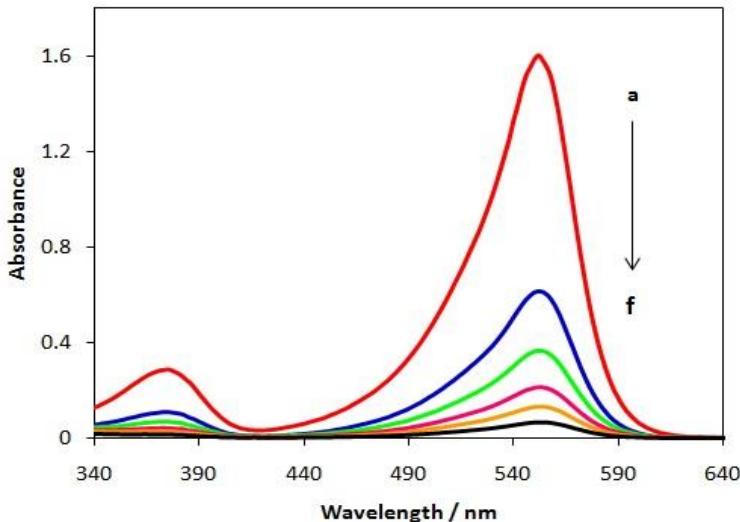


Figure II-1 : Spectres d'absorption de phénolphthaléine à $4,8 \times 10^{-5} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ en présence de (a) 0,0, (b) $1,0 \times 10^{-4}$, (c) 2×10^{-4} , (d) 4×10^{-4} , (e) 7×10^{-4} et (f) $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ de $\beta\text{-CD}$ à pH 10,5. (Afkhami A, et al 2007)

En effet, selon la position du chromophore du médicament, le transfert de la molécule invitée d'un milieu aqueux vers la cavité CD non polaire peut modifier son spectre d'absorption UV d'origine, en raison du remplacement partiel ou total de la couche de solvatation de la molécule par la molécule CD, ce qui entraîne de nouvelles interactions

soluté-environnement (Loftsson, T., & Brewster, M. E. (1996)). Les modifications du spectre UV d'un médicament en présence de CD peuvent donc mettre en évidence la formation d'un complexe d'inclusion.

Des décalages hypsochromes ou bathochromes du maximum d'absorption du spectre UV invité, et/ou une augmentation ou une diminution de son intensité peuvent être observés suite à la formation de complexes d'inclusion (Loftsson, T., & Brewster, M. E. (1996)). comme visible sur les figures II-1 et II-2.

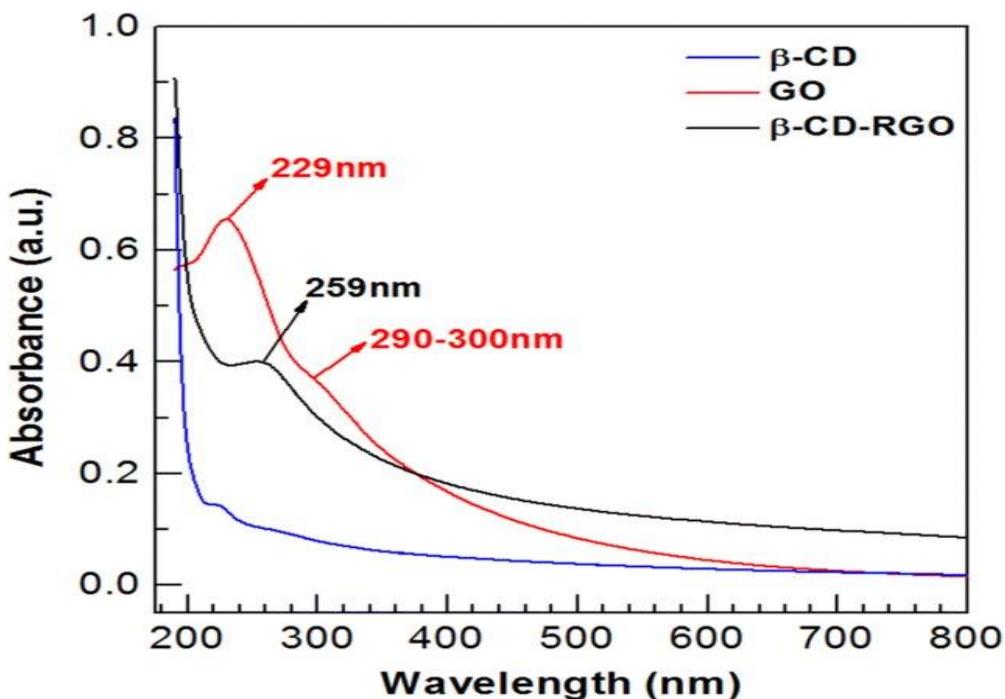


Figure II-2 : Spectres d'adsorption UV-Vis de solutions aqueuses de β -CD, de GO et du composite β -CD-RGO .

Des décalages bathochromes dus à la formation de complexes d'inclusion avec des CD ont été rapportés pour plusieurs types de molécules hôtes, telles que, par exemple, le naproxène [Cirri, M., Maestrelli et al. (2009), Loftsson, T., Masson, M. (2001)], l'itraconazole [Stella, V. J., et Rajewski, R. A. (1997)], la rutine (Li, N., Zhuang, C., Wang, M., Sun, X. (2011)), la génisteine [Mura, P., et al. (2002).], l'érythromycine (Duchêne, D., Bochot, A. (2016)).

D'autre part, des décalages vers des longueurs d'onde plus courtes du maximum d'absorption ont été observés lors de la complexation avec des CD d'acide salicylique, d'acide nicotinique, d'indométhacine (Loftsson, T., & Brewster, M. E. 1996). et d'hydrocortisone (Cserháti, T., Forgács, E., et al. 2002).

Une augmentation de l'intensité du maximum d'absorption lors de la complexation avec des CD, avec ou sans modification de son maximum, a été décrite pour de nombreuses molécules médicamenteuses, telles que le naproxène [Cirri, M., Maestrelli, F. et al (2009), Loftsson, T., Masson, M. (2001), la rutine (Zhang, J., Tang, Q., et al. (2005), le triméthoprime (Yoshida, A., Mizuno, H., et al. (1999). et le danazol (Rekhi, G. S , Jambhekar, S. S. (1995). Une diminution de l'intensité maximale d'absorption a été observée pour l'acide biphenylacétique en présence de CD et de ses dérivés hydroxypropyl et méthyle (Brewster, M. E., et al 1989)., ou pour l'acide 5-amino salicylique (Li, Y., Wang, Y. et al. 2013), le piroxicam (Mura, P., Faucci, M. et al 2001). l'éthylhexylméthoxycinnamate (Loftsson, T., Brewster, M. E. 2010) en présence de CD, et attribuée à un blindage partiel des électrons chromophores de la molécule invitée dans la cavité CD.

Par exemple, les rapports stœchiométriques. des complexes d'inclusion de la tagitinine C avec CD, 2,6-di-O-méthyl-CD et CD ont été déterminés par spectroscopie UV, selon la méthode de Job (Job, P. (1928). ,tandis que les constantes de stabilité des complexes naproxène-CD (Cirri, M., Maestrelli, F., Mennini, et al 2009). Ou glibenclamide-CD (Qiu, N., Cheng, X. et al (2007) ont été obtenues à partir de la variation des spectres d'absorption du médicament en présence de concentrations croissantes de CD, selon l'équation de Benesi–Hildebrand. La variation du spectre UV de la simvastatine sous forme de lactone ou d'hydroxyacide en présence d'hydroxypropyl-CD a été mesurée pour déterminer les constantes de stabilité des complexes respectifs, en traitant les données par la méthode de la double réciprocité selon l'équation de Scott, en supposant la formation d'un complexe avec une stoechiométrie 1:1 (Otagiri, M., Yamasaki, K.,et al. 2006).

Vue d'ensemble sur la détermination des constantes complexation

✓ Cas Générale

Une méthode générale pour déterminer la constante de complexation repose sur un modèle d'équilibre simple, à savoir l'équation (2.4). Les coefficients d'activité sont généralement inconnus et la constante de complexation K, basée sur les concentrations, est généralement utilisée. Dans ce contexte, la question des coefficients d'activité des solutés est ignorée ici afin de simplifier la discussion. Néanmoins, il convient de rappeler que ce point n'est pas toujours négligeable.

En spectrophotométrie UV-visible, les concentrations et les absorbances de chaque espèce sont liées entre elles par les équations (2.16) à (2.18) suivantes. L'absorbance observée est exprimée par l'équation (2.19). La longueur de la cellule optique est fixée ici à 1 cm par principe. Les définitions des abréviations sont données ci-dessous. Les définitions des autres abréviations (a, b, [H], [G], [H]₀, [G]₀, [C]) sont identiques à celles décrites précédemment.

$$A_h = \varepsilon_h \cdot [H] = \varepsilon_h \cdot ([H]_0 - a \cdot [C]) \quad (\text{eq. II-6})$$

$$A_g = \varepsilon_g \cdot [G] = \varepsilon_g \cdot ([G]_0 - b \cdot [C]) \quad (\text{eq. II-7})$$

$$A_c = \varepsilon_c \cdot [C] \quad (\text{eq. II-8})$$

$$A_{obs} = A_h + A_g + A_c \quad (\text{eq. II-9})$$

A_{obs} représente l'absorbance observée sur le spectrophotomètre.

A_h , A_g et A_c représentent les absorbances des molécules hôte, invité et complexe respectivement. ε_h , ε_g et ε_c sont les coefficients d'extinction des molécules hôte, invité et complexe respectivement.

✓ Les équations de Benesi-Hildebrand et de Scott

Elles sont toutes deux utilisées pour déterminer les constantes de complexation hôte-invité, notamment lors de l'étude des interactions β -cyclodextrine (β -CD). L'équation

de Scott est une variante de l'équation de Benesi-Hildebrand et toutes deux peuvent être appliquées aux études UV-Vis pour analyser la formation de complexes d'inclusion.

II 1.3.1 Équation de Benesi-Hildebrand :

Il s'agit d'une méthode largement utilisée pour déterminer la stœchiométrie et les constantes de liaison des complexes hôte-invité. Elle repose sur l'hypothèse que les molécules hôte et invitée forment un complexe 1:1. Elle consiste à représenter graphiquement $1/\Delta A$ en fonction de $1/[CD]$ (ou $1/[\text{invité}]$), où ΔA représente la variation d'absorbance et $[CD]$ (ou $[\text{invité}]$) la concentration de la cyclodextrine (ou de la molécule invitée). La constante de liaison (K) est calculée à partir de la pente et de l'ordonnée à l'origine du tracé linéaire de la relation suivante. la constante de complexation K pourra être déterminée par régression linéaire :

$$\frac{c}{\Delta A_t} = \frac{1}{k \cdot \Delta \varepsilon \cdot [CD]_t} + \frac{1}{\Delta \varepsilon} \quad (\text{eq. II-10})$$

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

II 1.3.2 Équation de Scott :

Il s'agit d'une version modifiée de l'équation de Benesi-Hildebrand. Elle est également utilisée pour déterminer les constantes de liaison dans la complexation hôte-invité. Elle s'exprime par

$$([CD]) / (\Delta A) = ([CD]) / (\Delta A_{\max}) + 1 / (K * \Delta A_{\max}) \quad (\text{eq. II-11})$$

Où : ΔA_{\max} est la variation d'absorbance à saturation. L'équation de Scott représente $[CD]/\Delta A$ en fonction de $[CD]$. La constante de complexation (K) est déterminée à partir de la pente et de l'ordonnée à l'origine du tracé linéaire.

II 1.3.3 Cas particuliers de complexes :

La détermination de la stœchiométrie dans l'interaction hôte-invité est fortement corrélée à l'estimation de la constante d'association K. À l'exception de la méthode de Job, qui ne fournit des indications que sur la stœchiométrie des complexes d'inclusion, la procédure de Benesi est appliquée pour toutes les autres méthodes. Plusieurs stœchiométries sont supposées et les données expérimentales sont ajustées aux modèles linéaires ou non linéaires correspondants. La description de tous ces modèles et de leurs différentes applications est donnée dans des ouvrages et revues réputés (Connors, 1987 ; Singh et al., 2010) et regroupés dans le tableau II-1.

Tableau II-1 : Équations décrivant les relations entre les paramètres observés et les constantes d'équilibre pour différentes stœchiométries des complexes d'inclusion entre un hôte (G) et un invité (H)

Stoichiometrie	Equations
1:1	$G + H \rightleftharpoons GH$ $\frac{1}{\Delta P_{OBS}} = \frac{1}{(P_{GH} - P_{G_0})K_{11}[H]} + \frac{1}{(P_{GH} - P_{G_0})} \quad (1)$ $\frac{[H][G]_0}{\Delta P_{OBS}} = \frac{[G]_0}{P_{GH}} + \frac{1}{K \cdot P_{GH}} \quad (2)$ $P_{OBS} = \frac{P_{G_0} + P_{GH}K_{11}[H]}{1 + K_{11}[H]} \quad (3)$ $(4) \Delta P_{OBS} = \frac{1}{2} \left([H] + [G] + \frac{1}{K_{11}} \right) - \sqrt{\left([H] + [G] + \frac{1}{K_{11}} \right)^2 - 4[H][G]}$
1:2	$G + 2H \rightleftharpoons GH_2$

	$\frac{1}{\Delta P_{OBS}} = \frac{1}{(P_{GH} - P_{G_0})K_{12}[H]^2} + \frac{1}{(P_{GH} - P_{G_0})}$ (5)
	$P_{OBS} = \frac{p_{G_0} + P_{GH_2}K_{11}[H]^2}{1 + K_{12}[H]^2}$ (6)
1:1+1:2	$G + H \rightleftharpoons GH ; GH + H \rightleftharpoons GH_2$ $P_{OBS} = \frac{p_{G_0} + P_{GH}K_{11}[H] + P_{GH_2}K_{11}K_{12}[H]^2}{1 + K_{11}[H] + K_{11}K_{12}[H]^2}$ (7)
2:1	$G + H \rightleftharpoons GH ; GH + G \rightleftharpoons G_2H$ $P = P_{G_2H} \frac{1}{2} ([G]_2 - [G] - K_{11}[H][G])$ (8) Where $G = \frac{-(K_{11}[H]+1)+\sqrt{(K_{11}[H]+1)^2+8K_{11}K_{21}[H][G]_0}}{4K_{11}K_{21}[H]}$
2:2	$G + H \rightleftharpoons GH ; GH + GH \rightleftharpoons G_2H_2$ $P = P_{G_2H_2} \frac{1}{2} ([G]_0 - [G] - K_{11}[H][G])$ (9) Where $G = \frac{-(K_{11}[H]+1)+\sqrt{(K_{11}[H]+1)^2+8K_{11}K_{22}[H]^2[G]_0}}{4K_{11}K_{22}[H]^2}$

II 1.3.4 Point isobestique

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 isobestique, comme le montre la figure II.3. En effet, comme X et Y sont en équilibre chimique, on aura pour $\lambda = \lambda_{iso}$, la relation :

$$A = \varepsilon_x C_x l + \varepsilon_y C_y l = \varepsilon C l \quad (\text{eq. II-12})$$

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} .

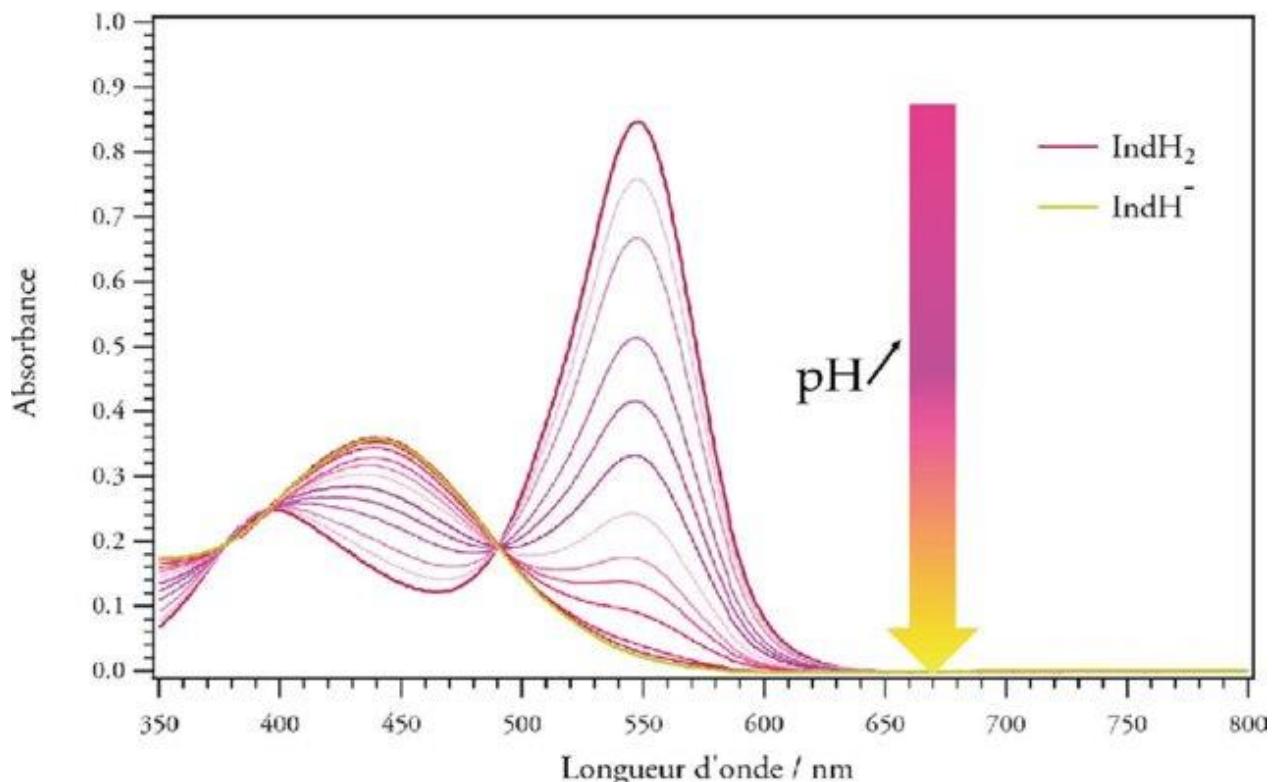


Figure II-3 : Courbes d'absorption typiques de mélanges de 2 composés en équilibre chimique à une concentration totale constante. (O.Thomas, 2007).

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).

II-2 - pH méttrie

Les protons jouent un rôle fondamental dans maintes domaines : réactions et procédés chimiques, environnement, santé publique ... L'activité des ions H⁺ constitue une des propriétés fondamentales des solutions rendant du coup le pH le paramètre analytique le plus mesuré en chimie. Il est dès lors très important de pouvoir faire les mesures les plus correctes et les plus reproductibles de pH (Ruyssen.R, 1965).

II-2-1.Définition du pH

C'est Sörensen, en 1909, qui introduit la notion de pH

$$pH = -\log[H^+] \quad (\text{eq. II-13})$$

$[H^+]$: représentant la concentration molaire volumique en ions H^+ dans la solution.

Cette définition appelle deux remarques (Audigie, 1982):

- Les ions H^+ existent en solution sous une forme plus ou moins hydratée; la plus simple étant l'ion H_3O^+ . Dans la suite nous appellerons H^+ toutes les formes présentes dans la solution, quel que soit d'hydratation.

Plus tard Lewis a introduit la notion d'activité et Debye et Hückel ont développé la théorie moderne sur le comportement des électrolytes en solution en 1923. Sörensen et Linderstrøm (Sørensen, 1924) se sont alors rendus compte que ce n'était pas la concentration des ions H^+ mais plutôt leur activité qui régit le pH, c'est-à-dire la façon dont se comportent les protons vis-à-vis de toutes les autres espèces présentes en solution

- La mesure expérimentale ne donne pas une mesure de concentration (nombre de moles par unité de volume), mais celle de l'activité, a_{H^+} . Activités et concentrations ne sont identiques qu'en solutions diluées et en absence d'électrolytes autres que l'acide étudié, Dans le cas général, l'activité d'un ion est égale au produit de sa concentration par un coefficient qui dépend de la solution :

$$a_{H^+} = [H^+] f_{H^+} \quad (\text{eq.II-14})$$

Le coefficient d'activité (f_{H^+}) dépend de la force ionique, I, de la solution ($I = \frac{1}{2} \sum C_i Z_i^2$)

qu'on calcule en faisant la demi –somme, sur tous les ions de la solution, du produit de leur concentration C_i par leur charge Z_i élevée au carré. Nous considérons dans la suite que les solutions sont suffisamment diluées pour confondre activité et concentration molaire volumique (Audigie, 1982)

$$a_{H^+} = [H^+] \quad (eq.II-15)$$

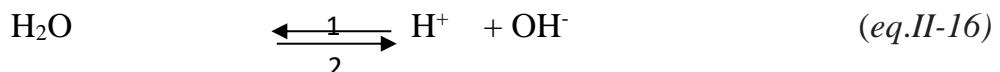
On peut donc dire que le pH mesure l'acidité réelle d'une solution, puisqu'il indique la concentration en ions H^+ présents effectivement

Le pH d'une solution dépend de la température par suite des déplacements d'équilibre dans lesquels interviennent des échanges de protons. On peut indiquer quelques valeurs de pH de l'eau pure à différentes températures (Audigie, 1982)

Tableau II-2 : Variation de pH en fonction de la température pour l'eau pure.

T($^{\circ}$ C)	0	10	20	30	40	50
pH	7.47	7.27	7.08	6.92	6.77	6.63

Dans l'eau, l'équilibre à envisager est :



Sa constante d'équilibre est

$$K_e = [\text{H}^+] [\text{OH}^-] \quad (eq.II-17)$$

La réaction dans le sens 1 étant endothermique ($\Delta H \approx 56 \text{ KJ.mol}^{-1}$), une élévation de température déplace l'équilibre dans ce sens, donc le pH diminue.

II.2.2 Principe et fonctionnement du pH-mètre :

Le pH-mètre est un appareil permettant de mesurer le pH d'une solution. Il est constitué de deux éléments : un boîtier électronique qui affiche la valeur du pH et une électrode qui mesure cette valeur.

- Fonctionnement

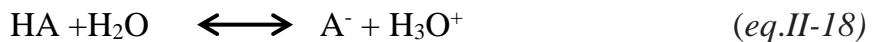
Le fonctionnement du pH-mètre est basé sur le rapport qui existe entre la concentration en ions H_3O^+ (définition du pH) et la différence de potentiel électrochimique qui s'établit dans le pH-mètre une fois plongé dans la solution étudiée

Celui-ci est constitué de deux électrodes, l'une standard dont le potentiel est constant et connu (appelée électrode de référence), l'autre à potentiel variable (fonction du pH, appelée électrode de verre). Ces deux électrodes peuvent être combinées ou séparées.

Une fois l'appareil étalonné à l'aide de deux solutions tampon (souvent de pH 4, 7 et 10), on peut déterminer la valeur du pH.

II.2.3 pH pour les anesthésiques locaux :

L'anesthésique local est un acide faible de type (HA), sa dissociation est représentée par l'équilibre :



Ou K_a la constante d'acidité de l'acide faible est donné par l'expression suivante :

$$K_a = [\text{H}^+] \cdot [\text{A}^-] / [\text{HA}] \quad (\text{eq.II-19})$$

On posant que $\text{pH} = -\log [\text{H}^+]$

Donc on peut écrire selon l'équation d'Henderson-Hasselbach

$$\text{pH} = \text{pKa} + \log ([\text{A}^-] / [\text{HA}]) \quad (\text{eq.II-20})$$

ou $\text{pH} = \text{pKa} - \log [\text{B}] / [\text{BH}^+] = \text{pKa} - \log [\text{forme non ionisée}] / [\text{forme ionisée}]$

donc l'allure du pH en fonction du log C permis de déduire la constante d'acidité de l'anesthésie local .

II.2.4 Domaine de prédominance pour un couple acide/base :

Soit le couple acide/base caractérisé par l'équilibre : acide \longrightarrow base + H_{aq}^+

On a vu que : $K_a = \frac{[\text{base}] \cdot [\text{H}_{\text{aq}}^+]}{[\text{acide}]} \quad (\text{eq.II-21})$

L'expression logarithmique de la constante d'équilibre conduit à la relation de Henderson

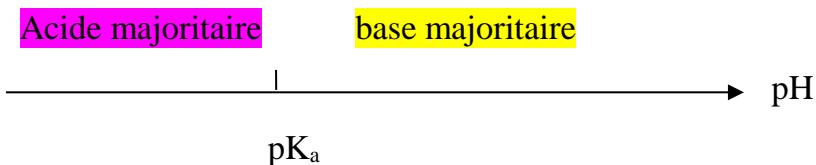
$$\text{pH} = \text{pK} + \log \frac{[\text{base}]}{[\text{acide}]} \quad (\text{eq. II-22})$$

Suivant la valeur du pH de la solution contenant le couple précédent, l'une ou l'autre des deux espèces sera majoritaire :

Si $[acide] > [base]$, l'acide est majoritaire, on obtient : $\log \frac{[base]}{[acide]} \rightarrow < 0$ $pH < pK_a$

Si $[acide] < [base]$, l'acide est majoritaire, on obtient : $\log \frac{[base]}{[acide]} \rightarrow > 0$ $pH > pK_a$

Le diagramme de prédominance des espèces est :

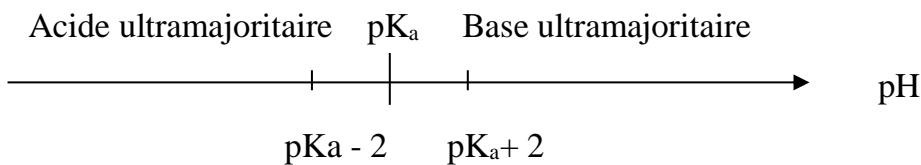


On utilise souvent le diagramme de prédominance à 10 % dans les problèmes acido-basiques. Une espèce est ultramajoritaire par rapport à une autre si sa concentration est 10 fois supérieure.

L'acide est ultramajoritaire si $\frac{[acide]}{[base]} > 10$ $pH < pK_a - 2$

La base est ultramajoritaire si $\frac{[base]}{[acide]} > 10$ $pH > pK_a + 2$

On obtient le diagramme :



II.2.5 Expression théorique de la constante de stabilité en fonction du pH

Il est essentiel de comprendre l'effet du pH sur la complexation CD : médicament, car de nombreux médicaments sont ionisables et donc sensibles aux variations de pH. Une expression théorique de la constante de stabilité, KB, en fonction du pH peut être déduite des principes physico-chimiques. Les réactions entre médicaments et CD sont des réactions d'équilibre.



La constante d'équilibre, souvent appelée constante de stabilité, pour les complexes CD, peut être exprimée en termes de concentrations des espèces réagissantes.

$$K_B = \frac{[CD-D]}{[CD] [D]} \quad (eq.II-24)$$

Pour les composés ionisables ayant une valeur de pKa, les équilibres peuvent être écrits pour les espèces neutres et ionisées.



où : HD représente la forme neutre du médicament et D⁻ la forme chargée. De même, il existe également deux constantes d'équilibre.

$$K_{\text{neutre}} = \frac{[CD-HD]}{[CD] [HD]} \quad (eq.II-27)$$

$$K_{\text{ionise}} = \frac{[CD-D^-]}{[CD] [D^-]} \quad (eq.II-28)$$

Ainsi, la constante de stabilité globale du médicament peut être exprimée comme suit.

$$\begin{aligned}
 K_B &= \frac{[CD - D]}{[CD] [D]} = \frac{[CD - HD] + [CD - D^-]}{([HD] + [D^-])[CD]} \\
 &= \frac{[CD - HD]}{([HD] + [D^-])[CD]} + \frac{[CD - D^-]}{([HD] + [D^-])[CD]} \\
 &= \frac{[CD-HD][HD]}{([HD]+[D^-])[HD][CD]} + \frac{[CD-D^-][D^-]}{([HD]+[D^-])[D^-][CD]}
 \end{aligned} \tag{eq.II-29}$$

Les parties $\frac{[CD-HD]}{[HD][CD]}$ et $\frac{[CD-D^-]}{[D^-][CD]}$ de l'équation peuvent être remplacés par les termes K_{neutre} et $K_{\text{ionisée}}$.

$$K_B = \frac{[HD]}{[HD] [D^-]} K_{\text{neutre}} + \frac{[D^-]}{[HD] [D^-]} K_{\text{ion}} \tag{eq.II-30}$$

Les concentrations du médicament neutre et chargé sont égales à la concentration totale du médicament, également appelée concentration formelle du médicament.

$$C_D = [HD] + [D^-] \tag{eq.II-31}$$

Ainsi, les fractions de l'équation (8) peuvent être exprimées comme le degré de dissociation α :

$$\alpha = \frac{[D^-]}{C_D}$$

Cela permet de simplifier davantage l'expression théorique

$$K_B = ((1 - \alpha)K_{\text{neutre}} + \frac{[D^-]}{[HD] [D^-]} K_{\text{ion}}) \tag{eq.II-32}$$

Ceci montre comment la constante d'équilibre du complexe médicament: CD peut être exprimée en fonction du degré de dissociation et des constantes d'équilibre des complexes médicament:CD neutre et chargé. Le degré de dissociation du médicament dépend du pH. Il peut être exprimé en termes de forme ionisée et neutre du médicament.

$$\frac{1}{\alpha} = \frac{1}{\frac{[D^-]}{C_D}} = \frac{1}{\frac{[D^-]}{[HD]+[D^-]}} = \frac{[HD]}{[D^-]} + 1 \tag{eq.II-33}$$

La forme ionisée et neutre du médicament représente la base et l'acide, et l'équation d'Henderson-Hasselbalch décrit comment le pH est corrélé aux concentrations des formes acide et basique du médicament.

$$pH = pK_a + \log \frac{[base]}{[acide]} = pK_a + \log \frac{[D^-]}{[HD]} \quad (eq.II-34)$$

$$\frac{[HD]}{[D^-]} = 10^{pka-pH} \quad (eq.II-35)$$

En combinant ces expressions, il est possible d'exprimer K_B en fonction du pH avec les ions pK , K_{ion} et K_{neutre} .

$$K_B = (1 - (1/(10^{pka-pH} + 1)))K_{neutre} + ((1/(10^{pka-pH} + 1))K_{ion}) \quad (eq.II-36)$$

Cette expression permet de prédire l'influence du K_B sur le pH d'un acide monoprotique avec un mécanisme de liaison 1:1 entre le CD et le médicament. Une expression similaire existe pour une base monoprotique.

$$K_B = (1 - (1/(10^{pH-pka} + 1)))K_{neutre} + ((1/(10^{pH-pka} + 1))K_{ion}) \quad (eq.II-37)$$

Il est nécessaire de déterminer expérimentalement le pK , l'ion K et le K' selon l'expression théorique. Les équilibres de liaison des espèces ionisées et neutres sont liés par des réactions de protonation. Ce diagramme d'équilibre illustre la relation entre K , K' , l'ion Ka et le K' et peut être exprimé mathématiquement.

La relation entre K_{neutre} , K_{ion} et les deux termes pK a été publiée (Connors et Lipari, 1976). Ce lien est important car il démontre que la dépendance du K_B au pH peut également être exprimée en termes des deux valeurs pK et de l'ion K ou de K_{neutre} .

Théoriquement, il est possible de prédire la constante de stabilité à n'importe quel pH en utilisant les équations (36) ou (37). Pour utiliser l'expression théorique, trois des quatre paramètres de l'équation (37) doivent être connus ; c'est-à-dire les valeurs de pKa

des molécules invitées libres et liées, et les constantes d'équilibre de liaison des molécules invitées neutres et ionisées.

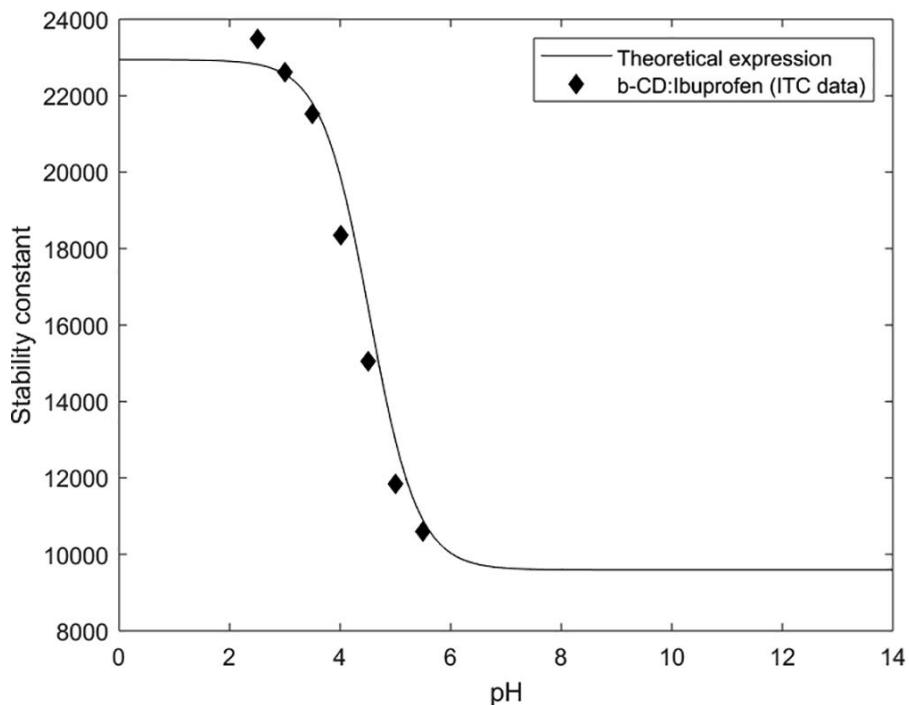


Figure II-4: Constantes de stabilité à différentes valeurs de pH pour la formation de complexes entre l'ibuprofène et la β -CD, déterminées par ITC (losanges). L'expression théorique (trait plein) est basée sur la constante de stabilité du complexe neutre et ionisé, ainsi que sur la valeur du pK_a de l'ibuprofène.

Références bibliographique :

- Afkhami**, A., Madrakian, T., & Khalafi, L. (2007). Spectrophotometric study of the inclusion complex of phenolphthalein with β -cyclodextrin. *Analytical Letters*, 40(12), 2317–2328
- Audigie, J.** (1982). Définition du pH. Dans *Chimie analytique* (pp. 45–60).
- Benesi**, H. A., & Hildebrand, J. H. (1949). A spectrophotometric investigation of the interaction of iodine with aromatic hydrocarbons. *Journal of the American Chemical Society*, 71(8), 2703–2707.
- Brewster**, M. E., Simpkins, J. W., Hora, M. S., Stern, W., & Bodor, N. (1989). The potential use of cyclodextrins in parenteral formulations. *Journal of Parenteral Science and Technology*, 43(5), 231–240.
- Cirri**, M., Maestrelli, F., Mennini, N., & Mura, P. (2009). Influence of cyclodextrins and xanthan gum on the dissolution properties of naproxen in solid dispersions aimed for buccal delivery. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 36(4–5), 395–403.
- Connors**, K. A. (1987). *Binding constants: The measurement of molecular complex stability*. John Wiley & Sons.
- Connors**, K. A., & Lipari, J. M. (1976). Interaction of cyclodextrins with ionizable substrates. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 65(3), 379–383.
- Cserháti**, T., Forgács, E., & Oros, G. (2002). Cyclodextrins in chromatography and preparation of cyclodextrin derivatives. *Biomedical Chromatography*, 16(6), 369–373.
- Duchêne**, D., & Bochot, A. (2016). Thirty years with cyclodextrins. *International Journal of Pharmaceutics*, 514(1), 58–72.
- Job, P. (1928). Formation and stability of inorganic complexes in solution. *Annales de Chimie*, 9, 113–203.
- Li, N., Zhuang, C., Wang, M., & Sun, X.** (2011). Inclusion complex of rutin with hydroxypropyl- β -cyclodextrin: preparation and in vitro release studies. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 56(4), 829–834.

- Li, Y., Wang, Y., Song, L., & Wang, D.** (2013). Inclusion complex of 5-aminosalicylic acid with β -cyclodextrin: Preparation, characterization and in vitro release. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, 75, 89–96.
- Loftsson, T., & Brewster, M. E.** (1996). Pharmaceutical applications of cyclodextrins. 1. Drug solubilization and stabilization. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 85(10), 1017–1025.
- Loftsson, T., & Brewster, M. E.** (2010). Pharmaceutical applications of cyclodextrins: Basic science and product development. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 62(11), 1607–1621.
- Loftsson, T., & Masson, M.** (2001). Cyclodextrins in topical drug formulations: theory and practice. *International Journal of Pharmaceutics*, 225(1–2), 15–30.
- Mura, P., Faucci, M. T., & Parrini, P. L.** (2001). Effects of grinding with cyclodextrins on the properties of piroxicam. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 27(9), 909–918.
- Mura, P., Faucci, M. T., Maestrelli, F., & Mennini, N.** (2002). Improvement in solubility and dissolution rate of genistein by complexation with cyclodextrins. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 28(6), 681–690.
- Otagiri, M., Yamasaki, K., & Arima, H.** (2006). Stabilization of simvastatin by cyclodextrins and estimation of stability constants using UV–Vis spectroscopy and the Scott equation. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, 56, 305–310.
- Qiu, N., Cheng, X., Wang, Y., Guo, J., & Wang, Y.** (2007). Inclusion complex of glibenclamide with hydroxypropyl- β -cyclodextrin: Preparation and characterization. *Pharmazie*, 62(11), 861–864.
- Rekhi, G. S., & Jambhekar, S. S.** (1995). Physicochemical characterization of the interaction of danazol with beta-cyclodextrin. *International Journal of Pharmaceutics*, 120(2), 137–146.
- Ruyssem, R.** (1965). Étude sur la pH-métrie et l'importance des ions H⁺ dans les solutions. *Revue de chimie analytique*, 12(3), 123–130.

Singh, R., Bharti, N., Madan, J., & Hiremath, S. N. (2010). Characterization of cyclodextrin inclusion complexes – A review. *Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, 2(3), 171–183 .

Sørensen, S. P. L. (1924). The measurement of hydrogen ion concentration (pH). *Biochemische Zeitschrift*, 135, 385–394.

Stella, V. J., & Rajewski, R. A. (1997). Cyclodextrins: Their future in drug formulation and delivery. *Pharmaceutical Research*, 14(5), 556–567.

Zhang, J., Tang, Q., & Zhou, Y. (2005). Spectrophotometric studies on inclusion interaction of rutin with β -cyclodextrin. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 61(3), 515–520.

Yoshida, A., Mizuno, H., Hirayama, F., & Uekama, K. (1999). Improved dissolution and absorption of trimethoprim by inclusion complexation with modified β -cyclodextrins. *International Journal of Pharmaceutics*, 180(1), 33–42.

Chapitre II

Méthodes d'analyses

Introduction

Les équations de base de la complexation hôte-invité sont les quatre équations suivantes.



$$K = \frac{[C]}{[H]^a[G]^b} \quad (\text{eq. II-2})$$

$$[H]_0 = [H] + a \cdot [C] \quad (\text{eq. II-3})$$

$$[G]_0 = [G] + a \cdot [C] \quad (\text{eq. II-4})$$

Avec :

H: pour Host ou hôte; G: pour guest ou invité et C: pour complexe et a et b les coefficients stoechiométriques.

$[H]_0$: concentration initiale ou totale de la molécule hôte.

$[G]_0$: concentration initiale ou totale de la molécule invité

$[C]$, $[H]$ et $[G]$: concentrations à l'équilibre des espèces complexe, hôte et invité respectivement.

Elles permettent de lier la constante de complexation K aux concentrations via l'équation suivante :

$$K = \frac{[C]}{([H]_0 - a \cdot [C])^a ([G]_0 - b \cdot [C])^b} \quad (\text{eq. II-5})$$

Pour remonter à K il faut lier la constante de complexation au propriété physicochimique détectable par une technique appropriée. Toutes les méthodes appropriées reposent sur la mesure d'une variation d'une propriété donnée (absorbance, décalage RMN, intensité de fluorescence, etc.) du système lors de la formation d'un complexe d'inclusion. Par conséquent, pour être applicables, il est nécessaire que cette variation soit détectable avec

une précision suffisante. De plus, ces méthodes consistent généralement à travailler à une concentration fixe d'hôte CD et à faire varier la concentration de l'invité, ce qui nécessite la préparation d'un grand nombre de solutions d'échantillons.

II-1. Spectroscopie ultraviolette/visible

La spectroscopie UV-visible est une méthode simple, économique, rapide et utile pour étudier la formation de complexes hôte-invité en solution, lorsque la complexation entraîne une modification significative du spectre d'absorption de la molécule invitée.

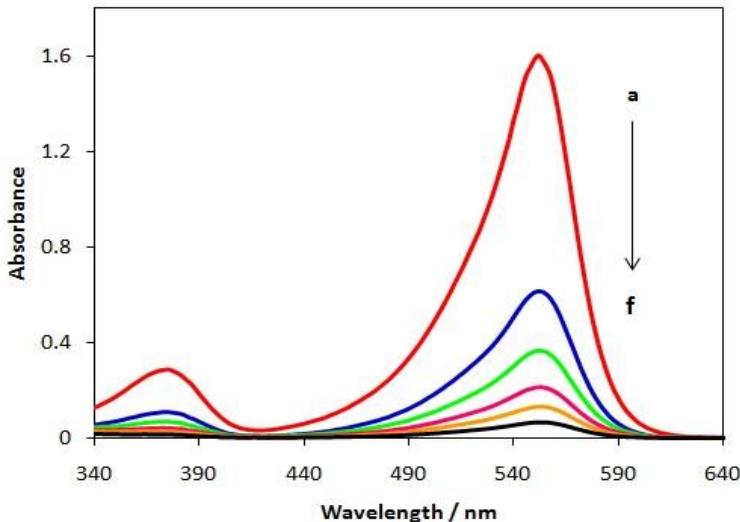


Figure II-1 : Spectres d'absorption de phénolphthaléine à $4,8 \times 10^{-5} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ en présence de (a) 0,0, (b) $1,0 \times 10^{-4}$, (c) 2×10^{-4} , (d) 4×10^{-4} , (e) 7×10^{-4} et (f) $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ de $\beta\text{-CD}$ à pH 10,5. (Afkhami A, et al 2007)

En effet, selon la position du chromophore du médicament, le transfert de la molécule invitée d'un milieu aqueux vers la cavité CD non polaire peut modifier son spectre d'absorption UV d'origine, en raison du remplacement partiel ou total de la couche de solvatation de la molécule par la molécule CD, ce qui entraîne de nouvelles interactions

soluté-environnement (Loftsson, T., & Brewster, M. E. (1996)). Les modifications du spectre UV d'un médicament en présence de CD peuvent donc mettre en évidence la formation d'un complexe d'inclusion.

Des décalages hypsochromes ou bathochromes du maximum d'absorption du spectre UV invité, et/ou une augmentation ou une diminution de son intensité peuvent être observés suite à la formation de complexes d'inclusion (Loftsson, T., & Brewster, M. E. (1996)). comme visible sur les figures II-1 et II-2.

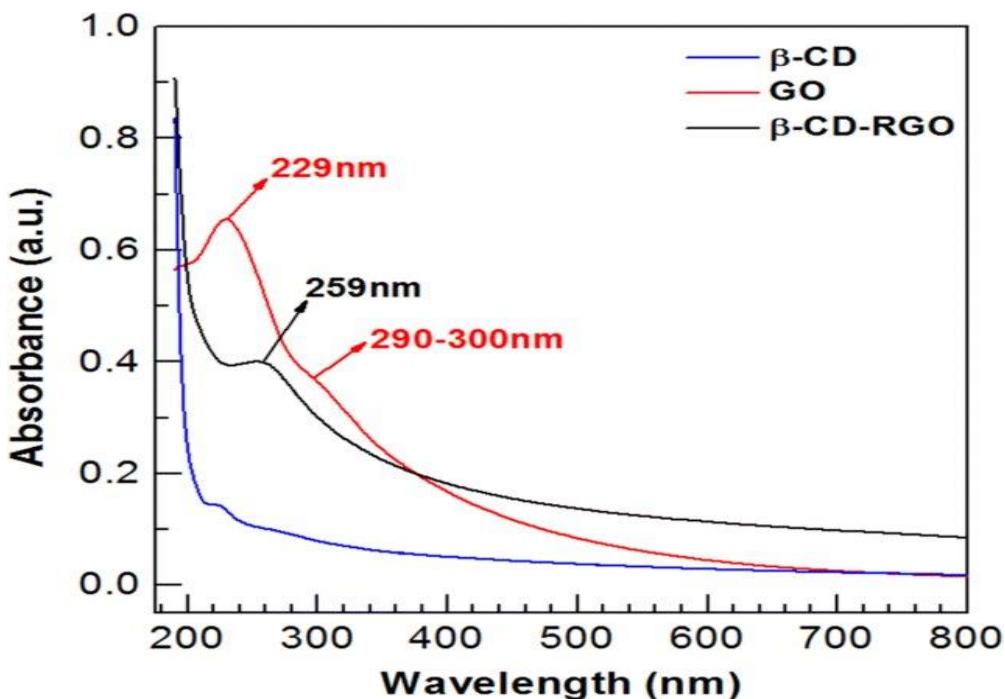


Figure II-2 : Spectres d'adsorption UV-Vis de solutions aqueuses de β -CD, de GO et du composite β -CD-RGO .

Des décalages bathochromes dus à la formation de complexes d'inclusion avec des CD ont été rapportés pour plusieurs types de molécules hôtes, telles que, par exemple, le naproxène [Cirri, M., Maestrelli et al. (2009), Loftsson, T., Masson, M. (2001)], l'itraconazole [Stella, V. J., et Rajewski, R. A. (1997)], la rutine (Li, N., Zhuang, C., Wang, M., Sun, X. (2011)), la génisteine [Mura, P., et al. (2002).], l'érythromycine (Duchêne, D., Bochot, A. (2016)).

D'autre part, des décalages vers des longueurs d'onde plus courtes du maximum d'absorption ont été observés lors de la complexation avec des CD d'acide salicylique, d'acide nicotinique, d'indométhacine (Loftsson, T., & Brewster, M. E. 1996). et d'hydrocortisone (Cserháti, T., Forgács, E., et al. 2002).

Une augmentation de l'intensité du maximum d'absorption lors de la complexation avec des CD, avec ou sans modification de son maximum, a été décrite pour de nombreuses molécules médicamenteuses, telles que le naproxène [Cirri, M., Maestrelli, F. et al (2009), Loftsson, T., Masson, M. (2001), la rutine (Zhang, J., Tang, Q., et al. (2005), le triméthoprime (Yoshida, A., Mizuno, H., et al. (1999). et le danazol (Rekhi, G. S , Jambhekar, S. S. (1995). Une diminution de l'intensité maximale d'absorption a été observée pour l'acide biphenylacétique en présence de CD et de ses dérivés hydroxypropyl et méthyle (Brewster, M. E., et al 1989)., ou pour l'acide 5-amino salicylique (Li, Y., Wang, Y. et al. 2013), le piroxicam (Mura, P., Faucci, M. et al 2001). l'éthylhexylméthoxycinnamate (Loftsson, T., Brewster, M. E. 2010) en présence de CD, et attribuée à un blindage partiel des électrons chromophores de la molécule invitée dans la cavité CD.

Par exemple, les rapports stœchiométriques. des complexes d'inclusion de la tagitinine C avec CD, 2,6-di-O-méthyl-CD et CD ont été déterminés par spectroscopie UV, selon la méthode de Job (Job, P. (1928). ,tandis que les constantes de stabilité des complexes naproxène-CD (Cirri, M., Maestrelli, F., Mennini, et al 2009). Ou glibenclamide-CD (Qiu, N., Cheng, X. et al (2007) ont été obtenues à partir de la variation des spectres d'absorption du médicament en présence de concentrations croissantes de CD, selon l'équation de Benesi–Hildebrand. La variation du spectre UV de la simvastatine sous forme de lactone ou d'hydroxyacide en présence d'hydroxypropyl-CD a été mesurée pour déterminer les constantes de stabilité des complexes respectifs, en traitant les données par la méthode de la double réciprocité selon l'équation de Scott, en supposant la formation d'un complexe avec une stoechiométrie 1:1 (Otagiri, M., Yamasaki, K.,et al. 2006).

Vue d'ensemble sur la détermination des constantes complexation

✓ Cas Générale

Une méthode générale pour déterminer la constante de complexation repose sur un modèle d'équilibre simple, à savoir l'équation (2.4). Les coefficients d'activité sont généralement inconnus et la constante de complexation K, basée sur les concentrations, est généralement utilisée. Dans ce contexte, la question des coefficients d'activité des solutés est ignorée ici afin de simplifier la discussion. Néanmoins, il convient de rappeler que ce point n'est pas toujours négligeable.

En spectrophotométrie UV-visible, les concentrations et les absorbances de chaque espèce sont liées entre elles par les équations (2.16) à (2.18) suivantes. L'absorbance observée est exprimée par l'équation (2.19). La longueur de la cellule optique est fixée ici à 1 cm par principe. Les définitions des abréviations sont données ci-dessous. Les définitions des autres abréviations (a, b, [H], [G], [H]₀, [G]₀, [C]) sont identiques à celles décrites précédemment.

$$A_h = \varepsilon_h \cdot [H] = \varepsilon_h \cdot ([H]_0 - a \cdot [C]) \quad (\text{eq. II-6})$$

$$A_g = \varepsilon_g \cdot [G] = \varepsilon_g \cdot ([G]_0 - b \cdot [C]) \quad (\text{eq. II-7})$$

$$A_c = \varepsilon_c \cdot [C] \quad (\text{eq. II-8})$$

$$A_{obs} = A_h + A_g + A_c \quad (\text{eq. II-9})$$

A_{obs} représente l'absorbance observée sur le spectrophotomètre.

A_h , A_g et A_c représentent les absorbances des molécules hôte, invité et complexe respectivement. ε_h , ε_g et ε_c sont les coefficients d'extinction des molécules hôte, invité et complexe respectivement.

✓ Les équations de Benesi-Hildebrand et de Scott

Elles sont toutes deux utilisées pour déterminer les constantes de complexation hôte-invité, notamment lors de l'étude des interactions β -cyclodextrine (β -CD). L'équation

de Scott est une variante de l'équation de Benesi-Hildebrand et toutes deux peuvent être appliquées aux études UV-Vis pour analyser la formation de complexes d'inclusion.

II 1.3.1 Équation de Benesi-Hildebrand :

Il s'agit d'une méthode largement utilisée pour déterminer la stœchiométrie et les constantes de liaison des complexes hôte-invité. Elle repose sur l'hypothèse que les molécules hôte et invitée forment un complexe 1:1. Elle consiste à représenter graphiquement $1/\Delta A$ en fonction de $1/[CD]$ (ou $1/[\text{invité}]$), où ΔA représente la variation d'absorbance et $[CD]$ (ou $[\text{invité}]$) la concentration de la cyclodextrine (ou de la molécule invitée). La constante de liaison (K) est calculée à partir de la pente et de l'ordonnée à l'origine du tracé linéaire de la relation suivante. La constante de complexation K pourra être déterminée par régression linéaire :

$$\frac{c}{\Delta A_t} = \frac{1}{k \cdot \Delta \varepsilon \cdot [CD]_t} + \frac{1}{\Delta \varepsilon} \quad (\text{eq. II-10})$$

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

II 1.3.2 Équation de Scott :

Il s'agit d'une version modifiée de l'équation de Benesi-Hildebrand. Elle est également utilisée pour déterminer les constantes de liaison dans la complexation hôte-invité. Elle s'exprime par

$$([CD]) / (\Delta A) = ([CD]) / (\Delta A_{\max}) + 1 / (K * \Delta A_{\max}) \quad (\text{eq. II-11})$$

Où : ΔA_{\max} est la variation d'absorbance à saturation. L'équation de Scott représente $[CD]/\Delta A$ en fonction de $[CD]$. La constante de complexation (K) est déterminée à partir de la pente et de l'ordonnée à l'origine du tracé linéaire.

II 1.3.3 Cas particuliers de complexes :

La détermination de la stœchiométrie dans l'interaction hôte-invité est fortement corrélée à l'estimation de la constante d'association K. À l'exception de la méthode de Job, qui ne fournit des indications que sur la stœchiométrie des complexes d'inclusion, la procédure de Benesi est appliquée pour toutes les autres méthodes. Plusieurs stœchiométries sont supposées et les données expérimentales sont ajustées aux modèles linéaires ou non linéaires correspondants. La description de tous ces modèles et de leurs différentes applications est donnée dans des ouvrages et revues réputés (Connors, 1987 ; Singh et al., 2010) et regroupés dans le tableau II-1.

Tableau II-1 : Équations décrivant les relations entre les paramètres observés et les constantes d'équilibre pour différentes stœchiométries des complexes d'inclusion entre un hôte (G) et un invité (H)

Stoichiometrie	Equations
1:1	$G + H \rightleftharpoons GH$ $\frac{1}{\Delta P_{OBS}} = \frac{1}{(P_{GH} - P_{G_0})K_{11}[H]} + \frac{1}{(P_{GH} - P_{G_0})} \quad (1)$ $\frac{[H][G]_0}{\Delta P_{OBS}} = \frac{[G]_0}{P_{GH}} + \frac{1}{K \cdot P_{GH}} \quad (2)$ $P_{OBS} = \frac{P_{G_0} + P_{GH}K_{11}[H]}{1 + K_{11}[H]} \quad (3)$ $(4) \Delta P_{OBS} = \frac{1}{2} \left([H] + [G] + \frac{1}{K_{11}} \right) - \sqrt{\left([H] + [G] + \frac{1}{K_{11}} \right)^2 - 4[H][G]}$
1:2	$G + 2H \rightleftharpoons GH_2$

	$\frac{1}{\Delta P_{OBS}} = \frac{1}{(P_{GH} - P_{G_0})K_{12}[H]^2} + \frac{1}{(P_{GH} - P_{G_0})}$ (5)
	$P_{OBS} = \frac{p_{G_0} + P_{GH_2}K_{11}[H]^2}{1 + K_{12}[H]^2}$ (6)
1:1+1:2	$G + H \rightleftharpoons GH ; GH + H \rightleftharpoons GH_2$ $P_{OBS} = \frac{p_{G_0} + P_{GH}K_{11}[H] + P_{GH_2}K_{11}K_{12}[H]^2}{1 + K_{11}[H] + K_{11}K_{12}[H]^2}$ (7)
2:1	$G + H \rightleftharpoons GH ; GH + G \rightleftharpoons G_2H$ $P = P_{G_2H} \frac{1}{2} ([G]_2 - [G] - K_{11}[H][G])$ (8) Where $G = \frac{-(K_{11}[H]+1)+\sqrt{(K_{11}[H]+1)^2+8K_{11}K_{21}[H][G]_0}}{4K_{11}K_{21}[H]}$
2:2	$G + H \rightleftharpoons GH ; GH + GH \rightleftharpoons G_2H_2$ $P = P_{G_2H_2} \frac{1}{2} ([G]_0 - [G] - K_{11}[H][G])$ (9) Where $G = \frac{-(K_{11}[H]+1)+\sqrt{(K_{11}[H]+1)^2+8K_{11}K_{22}[H]^2[G]_0}}{4K_{11}K_{22}[H]^2}$

II 1.3.4 Point isobestique

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 isobestique, comme le montre la figure II.3. En effet, comme X et Y sont en équilibre chimique, on aura pour $\lambda = \lambda_{iso}$, la relation :

$$A = \varepsilon_x C_x l + \varepsilon_y C_y l = \varepsilon C l \quad (\text{eq. II-12})$$

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} .

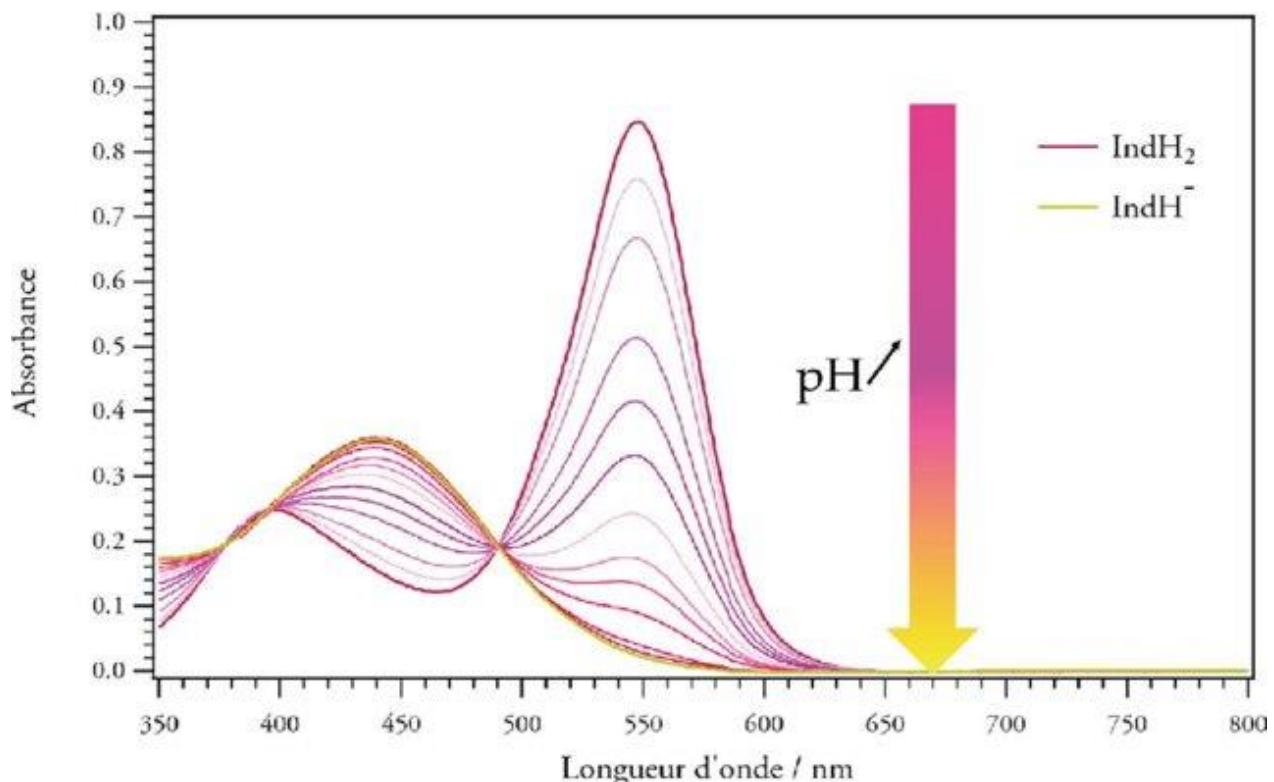


Figure II-3 : Courbes d'absorption typiques de mélanges de 2 composés en équilibre chimique à une concentration totale constante. (O.Thomas, 2007).

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).

II-2 - pH méttrie

Les protons jouent un rôle fondamental dans maintes domaines : réactions et procédés chimiques, environnement, santé publique ... L'activité des ions H^+ constitue une des propriétés fondamentales des solutions rendant du coup le pH le paramètre analytique le plus mesuré en chimie. Il est dès lors très important de pouvoir faire les mesures les plus correctes et les plus reproductibles de pH (Ruyssen.R, 1965).

II-2-1.Définition du pH

C'est Sörensen, en 1909, qui introduit la notion de pH

$$pH = -\log[H^+] \quad (\text{eq. II-13})$$

$[H^+]$: représentant la concentration molaire volumique en ions H^+ dans la solution.

Cette définition appelle deux remarques (Audigie, 1982):

- Les ions H^+ existent en solution sous une forme plus ou moins hydratée; la plus simple étant l'ion H_3O^+ . Dans la suite nous appellerons H^+ toutes les formes présentes dans la solution, quel que soit d'hydratation.

Plus tard Lewis a introduit la notion d'activité et Debye et Hückel ont développé la théorie moderne sur le comportement des électrolytes en solution en 1923. Sörensen et Linderstrøm (Sørensen, 1924) se sont alors rendus compte que ce n'était pas la concentration des ions H^+ mais plutôt leur activité qui régit le pH, c'est-à-dire la façon dont se comportent les protons vis-à-vis de toutes les autres espèces présentes en solution

- La mesure expérimentale ne donne pas une mesure de concentration (nombre de moles par unité de volume), mais celle de l'activité, a_{H^+} . Activités et concentrations ne sont identiques qu'en solutions diluées et en absence d'électrolytes autres que l'acide étudié, Dans le cas général, l'activité d'un ion est égale au produit de sa concentration par un coefficient qui dépend de la solution :

$$a_{H^+} = [H^+] f_{H^+} \quad (\text{eq.II-14})$$

Le coefficient d'activité (f_{H^+}) dépend de la force ionique, I, de la solution ($I = \frac{1}{2} \sum C_i Z_i^2$)

qu'on calcule en faisant la demi –somme, sur tous les ions de la solution, du produit de leur concentration C_i par leur charge Z_i élevée au carré. Nous considérons dans la suite que les solutions sont suffisamment diluées pour confondre activité et concentration molaire volumique (Audigie, 1982)

$$a_{H^+} = [H^+] \quad (eq.II-15)$$

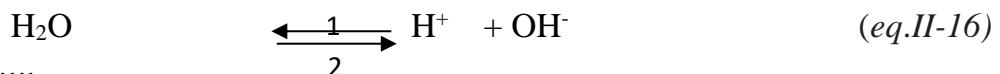
On peut donc dire que le pH mesure l'acidité réelle d'une solution, puisqu'il indique la concentration en ions H^+ présents effectivement

Le pH d'une solution dépend de la température par suite des déplacements d'équilibre dans lesquels interviennent des échanges de protons. On peut indiquer quelques valeurs de pH de l'eau pure à différentes températures (Audigie, 1982)

Tableau II-2 : Variation de pH en fonction de la température pour l'eau pure.

T($^{\circ}$ C)	0	10	20	30	40	50
pH	7.47	7.27	7.08	6.92	6.77	6.63

Dans l'eau, l'équilibre à envisager est :



Sa constante d'équilibre est

$$K_e = [\text{H}^+] [\text{OH}^-] \quad (eq.II-17)$$

La réaction dans le sens 1 étant endothermique ($\Delta H \approx 56 \text{ KJ.mol}^{-1}$), une élévation de température déplace l'équilibre dans ce sens, donc le pH diminue.

II.2.2 Principe et fonctionnement du pH-mètre :

Le pH-mètre est un appareil permettant de mesurer le pH d'une solution. Il est constitué de deux éléments : un boîtier électronique qui affiche la valeur du pH et une électrode qui mesure cette valeur.

- Fonctionnement

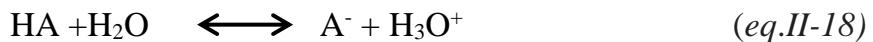
Le fonctionnement du pH-mètre est basé sur le rapport qui existe entre la concentration en ions H_3O^+ (définition du pH) et la différence de potentiel électrochimique qui s'établit dans le pH-mètre une fois plongé dans la solution étudiée

Celui-ci est constitué de deux électrodes, l'une standard dont le potentiel est constant et connu (appelée électrode de référence), l'autre à potentiel variable (fonction du pH, appelée électrode de verre). Ces deux électrodes peuvent être combinées ou séparées.

Une fois l'appareil étalonné à l'aide de deux solutions tampon (souvent de pH 4, 7 et 10), on peut déterminer la valeur du pH.

II.2.3 pH pour les anesthésiques locaux :

L'anesthésique local est un acide faible de type (HA), sa dissociation est représentée par l'équilibre :



Ou K_a la constante d'acidité de l'acide faible est donné par l'expression suivante :

$$K_a = [\text{H}^+] \cdot [\text{A}^-] / [\text{HA}] \quad (\text{eq.II-19})$$

On posant que $\text{pH} = -\log [\text{H}^+]$

Donc on peut écrire selon l'équation d'Henderson-Hasselbach

$$\text{pH} = \text{pKa} + \log ([\text{A}^-] / [\text{HA}]) \quad (\text{eq.II-20})$$

ou $\text{pH} = \text{pKa} - \log [\text{B}] / [\text{BH}^+] = \text{pKa} - \log [\text{forme non ionisée}] / [\text{forme ionisée}]$

donc l'allure du pH en fonction du log C permis de déduire la constante d'acidité de l'anesthésie local .

II.2.4 Domaine de prédominance pour un couple acide/base :

Soit le couple acide/base caractérisé par l'équilibre : acide \longrightarrow base + H_{aq}^+

On a vu que : $K_a = \frac{[\text{base}] \cdot [\text{H}_{\text{aq}}^+]}{[\text{acide}]} \quad (\text{eq.II-21})$

L'expression logarithmique de la constante d'équilibre conduit à la relation de Henderson

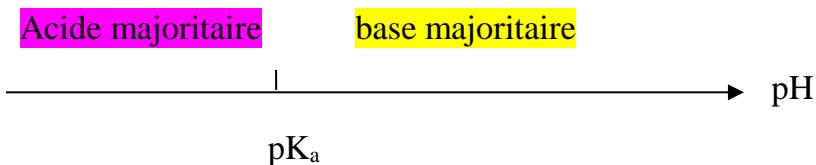
$$\text{pH} = \text{pK} + \log \frac{[\text{base}]}{[\text{acide}]} \quad (\text{eq. II-22})$$

Suivant la valeur du pH de la solution contenant le couple précédent, l'une ou l'autre des deux espèces sera majoritaire :

Si $[acide] > [base]$, l'acide est majoritaire, on obtient : $\log \frac{[base]}{[acide]} \rightarrow < 0$ $pH < pK_a$

Si $[acide] < [base]$, l'acide est majoritaire, on obtient : $\log \frac{[base]}{[acide]} \rightarrow > 0$ $pH > pK_a$

Le diagramme de prédominance des espèces est :

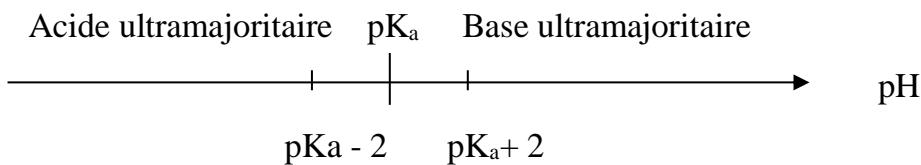


On utilise souvent le diagramme de prédominance à 10 % dans les problèmes acido-basiques. Une espèce est ultramajoritaire par rapport à une autre si sa concentration est 10 fois supérieure.

L'acide est ultramajoritaire si $\frac{[acide]}{[base]} > 10$ $pH < pK_a - 2$

La base est ultramajoritaire si $\frac{[base]}{[acide]} > 10$ $pH > pK_a + 2$

On obtient le diagramme :



II.2.5 Expression théorique de la constante de stabilité en fonction du pH

Il est essentiel de comprendre l'effet du pH sur la complexation CD : médicament, car de nombreux médicaments sont ionisables et donc sensibles aux variations de pH. Une expression théorique de la constante de stabilité, K_B , en fonction du pH peut être déduite des principes physico-chimiques. Les réactions entre médicaments et CD sont des réactions d'équilibre.



La constante d'équilibre, souvent appelée constante de stabilité, pour les complexes CD, peut être exprimée en termes de concentrations des espèces réagissantes.

$$K_B = \frac{[CD-D]}{[CD] [D]} \quad (eq.II-24)$$

Pour les composés ionisables ayant une valeur de pK_a , les équilibres peuvent être écrits pour les espèces neutres et ionisées.



où : HD représente la forme neutre du médicament et D^- la forme chargée. De même, il existe également deux constantes d'équilibre.

$$K_{\text{neutre}} = \frac{[CD-HD]}{[CD] [HD]} \quad (eq.II-27)$$

$$K_{\text{ionise}} = \frac{[CD-D^-]}{[CD] [D^-]} \quad (eq.II-28)$$

Ainsi, la constante de stabilité globale du médicament peut être exprimée comme suit.

$$\begin{aligned}
 K_B &= \frac{[CD - D]}{[CD] [D]} = \frac{[CD - HD] + [CD - D^-]}{([HD] + [D^-])[CD]} \\
 &= \frac{[CD - HD]}{([HD] + [D^-])[CD]} + \frac{[CD - D^-]}{([HD] + [D^-])[CD]} \\
 &= \frac{[CD-HD][HD]}{([HD]+[D^-])[HD][CD]} + \frac{[CD-D^-][D^-]}{([HD]+[D^-])[D^-][CD]}
 \end{aligned} \tag{eq.II-29}$$

Les parties $\frac{[CD-HD]}{[HD][CD]}$ et $\frac{[CD-D^-]}{[D^-][CD]}$ de l'équation peuvent être remplacés par les termes K_{neutre} et $K_{\text{ionisée}}$.

$$K_B = \frac{[HD]}{[HD] [D^-]} K_{\text{neutre}} + \frac{[D^-]}{[HD] [D^-]} K_{\text{ion}} \tag{eq.II-30}$$

Les concentrations du médicament neutre et chargé sont égales à la concentration totale du médicament, également appelée concentration formelle du médicament.

$$C_D = [HD] + [D^-] \tag{eq.II-31}$$

Ainsi, les fractions de l'équation (8) peuvent être exprimées comme le degré de dissociation α :

$$\alpha = \frac{[D^-]}{C_D}$$

Cela permet de simplifier davantage l'expression théorique

$$K_B = ((1 - \alpha)K_{\text{neutre}} + \frac{[D^-]}{[HD] [D^-]} K_{\text{ion}}) \tag{eq.II-32}$$

Ceci montre comment la constante d'équilibre du complexe médicament: CD peut être exprimée en fonction du degré de dissociation et des constantes d'équilibre des complexes médicament:CD neutre et chargé. Le degré de dissociation du médicament dépend du pH. Il peut être exprimé en termes de forme ionisée et neutre du médicament.

$$\frac{1}{\alpha} = \frac{1}{\frac{[D^-]}{C_D}} = \frac{1}{\frac{[D^-]}{[HD]+[D^-]}} = \frac{[HD]}{[D^-]} + 1 \tag{eq.II-33}$$

La forme ionisée et neutre du médicament représente la base et l'acide, et l'équation d'Henderson-Hasselbalch décrit comment le pH est corrélé aux concentrations des formes acide et basique du médicament.

$$pH = pK_a + \log \frac{[base]}{[acide]} = pK_a + \log \frac{[D^-]}{[HD]} \quad (eq.II-34)$$

$$\frac{[HD]}{[D^-]} = 10^{pka-pH} \quad (eq.II-35)$$

En combinant ces expressions, il est possible d'exprimer K_B en fonction du pH avec les ions pK , K_{ion} et K_{neutre} .

$$K_B = (1 - (1/(10^{pka-pH} + 1)))K_{neutre} + ((1/(10^{pka-pH} + 1))K_{ion}) \quad (eq.II-36)$$

Cette expression permet de prédire l'influence du K_B sur le pH d'un acide monoprotique avec un mécanisme de liaison 1:1 entre le CD et le médicament. Une expression similaire existe pour une base monoprotique.

$$K_B = (1 - (1/(10^{pH-pka} + 1)))K_{neutre} + ((1/(10^{pH-pka} + 1))K_{ion}) \quad (eq.II-37)$$

Il est nécessaire de déterminer expérimentalement le pK , l'ion K et le K' selon l'expression théorique. Les équilibres de liaison des espèces ionisées et neutres sont liés par des réactions de protonation. Ce diagramme d'équilibre illustre la relation entre K , K' , l'ion Ka et le K' et peut être exprimé mathématiquement.

La relation entre K_{neutre} , K_{ion} et les deux termes pK a été publiée (Connors et Lipari, 1976). Ce lien est important car il démontre que la dépendance du K_B au pH peut également être exprimée en termes des deux valeurs pK et de l'ion K ou de K_{neutre} .

Théoriquement, il est possible de prédire la constante de stabilité à n'importe quel pH en utilisant les équations (36) ou (37). Pour utiliser l'expression théorique, trois des quatre paramètres de l'équation (37) doivent être connus ; c'est-à-dire les valeurs de pKa

des molécules invitées libres et liées, et les constantes d'équilibre de liaison des molécules invitées neutres et ionisées.

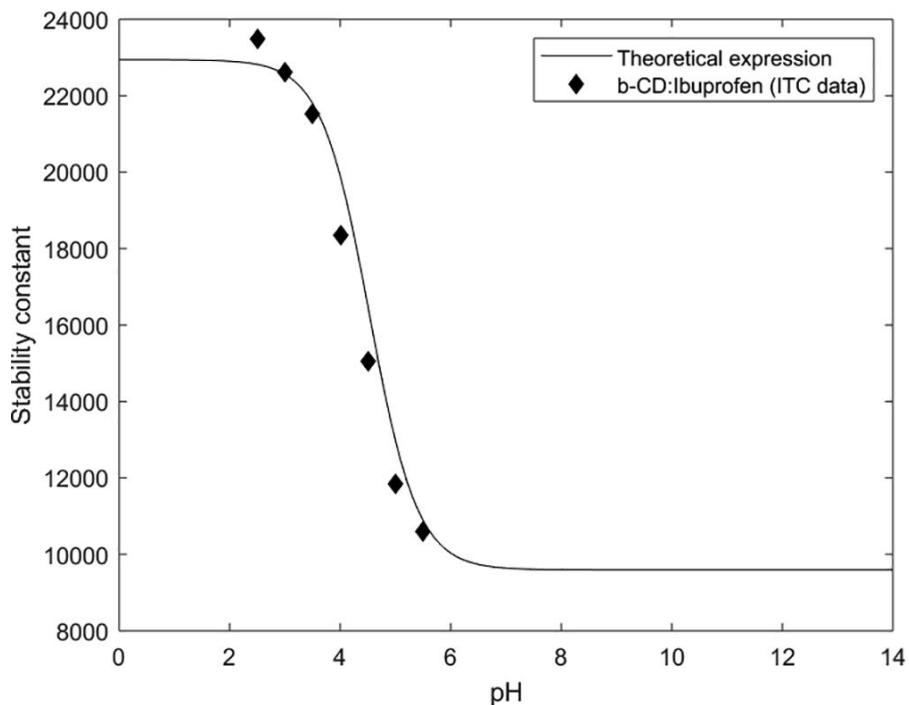


Figure II-4: Constantes de stabilité à différentes valeurs de pH pour la formation de complexes entre l'ibuprofène et la β -CD, déterminées par ITC (losanges). L'expression théorique (trait plein) est basée sur la constante de stabilité du complexe neutre et ionisé, ainsi que sur la valeur du pK_a de l'ibuprofène.

Références bibliographique :

- Afkhami**, A., Madrakian, T., & Khalafi, L. (2007). Spectrophotometric study of the inclusion complex of phenolphthalein with β -cyclodextrin. *Analytical Letters*, 40(12), 2317–2328
- Audigie, J.** (1982). Définition du pH. Dans *Chimie analytique* (pp. 45–60).
- Benesi**, H. A., & Hildebrand, J. H. (1949). A spectrophotometric investigation of the interaction of iodine with aromatic hydrocarbons. *Journal of the American Chemical Society*, 71(8), 2703–2707.
- Brewster**, M. E., Simpkins, J. W., Hora, M. S., Stern, W., & Bodor, N. (1989). The potential use of cyclodextrins in parenteral formulations. *Journal of Parenteral Science and Technology*, 43(5), 231–240.
- Cirri**, M., Maestrelli, F., Mennini, N., & Mura, P. (2009). Influence of cyclodextrins and xanthan gum on the dissolution properties of naproxen in solid dispersions aimed for buccal delivery. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 36(4–5), 395–403.
- Connors**, K. A. (1987). *Binding constants: The measurement of molecular complex stability*. John Wiley & Sons.
- Connors**, K. A., & Lipari, J. M. (1976). Interaction of cyclodextrins with ionizable substrates. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 65(3), 379–383.
- Cserháti**, T., Forgács, E., & Oros, G. (2002). Cyclodextrins in chromatography and preparation of cyclodextrin derivatives. *Biomedical Chromatography*, 16(6), 369–373.
- Duchêne**, D., & Bochot, A. (2016). Thirty years with cyclodextrins. *International Journal of Pharmaceutics*, 514(1), 58–72.
- Job, P. (1928). Formation and stability of inorganic complexes in solution. *Annales de Chimie*, 9, 113–203.
- Li, N., Zhuang, C., Wang, M., & Sun, X.** (2011). Inclusion complex of rutin with hydroxypropyl- β -cyclodextrin: preparation and in vitro release studies. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 56(4), 829–834.

- Li, Y., Wang, Y., Song, L., & Wang, D.** (2013). Inclusion complex of 5-aminosalicylic acid with β -cyclodextrin: Preparation, characterization and in vitro release. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, 75, 89–96.
- Loftsson, T., & Brewster, M. E.** (1996). Pharmaceutical applications of cyclodextrins. 1. Drug solubilization and stabilization. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 85(10), 1017–1025.
- Loftsson, T., & Brewster, M. E.** (2010). Pharmaceutical applications of cyclodextrins: Basic science and product development. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 62(11), 1607–1621.
- Loftsson, T., & Masson, M.** (2001). Cyclodextrins in topical drug formulations: theory and practice. *International Journal of Pharmaceutics*, 225(1–2), 15–30.
- Mura, P., Faucci, M. T., & Parrini, P. L.** (2001). Effects of grinding with cyclodextrins on the properties of piroxicam. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 27(9), 909–918.
- Mura, P., Faucci, M. T., Maestrelli, F., & Mennini, N.** (2002). Improvement in solubility and dissolution rate of genistein by complexation with cyclodextrins. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 28(6), 681–690.
- Otagiri, M., Yamasaki, K., & Arima, H.** (2006). Stabilization of simvastatin by cyclodextrins and estimation of stability constants using UV–Vis spectroscopy and the Scott equation. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, 56, 305–310.
- Qiu, N., Cheng, X., Wang, Y., Guo, J., & Wang, Y.** (2007). Inclusion complex of glibenclamide with hydroxypropyl- β -cyclodextrin: Preparation and characterization. *Pharmazie*, 62(11), 861–864.
- Rekhi, G. S., & Jambhekar, S. S.** (1995). Physicochemical characterization of the interaction of danazol with beta-cyclodextrin. *International Journal of Pharmaceutics*, 120(2), 137–146.
- Ruyssem, R.** (1965). Étude sur la pH-métrie et l'importance des ions H⁺ dans les solutions. *Revue de chimie analytique*, 12(3), 123–130.

Singh, R., Bharti, N., Madan, J., & Hiremath, S. N. (2010). Characterization of cyclodextrin inclusion complexes – A review. *Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, 2(3), 171–183 .

Sørensen, S. P. L. (1924). The measurement of hydrogen ion concentration (pH). *Biochemische Zeitschrift*, 135, 385–394.

Stella, V. J., & Rajewski, R. A. (1997). Cyclodextrins: Their future in drug formulation and delivery. *Pharmaceutical Research*, 14(5), 556–567.

Zhang, J., Tang, Q., & Zhou, Y. (2005). Spectrophotometric studies on inclusion interaction of rutin with β -cyclodextrin. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 61(3), 515–520.

Yoshida, A., Mizuno, H., Hirayama, F., & Uekama, K. (1999). Improved dissolution and absorption of trimethoprim by inclusion complexation with modified β -cyclodextrins. *International Journal of Pharmaceutics*, 180(1), 33–42.

Chapitre *III*

Caractéristiques physico-chimiques et stabilité des anesthésiques locaux

Introduction

Les anesthésiques locaux ALs étudiés dans cette thèse sont la tetracaine hydrochloride (TC,HCl) et la procaine hydrochloride (PC,HCl) qui sont l'un des anesthésiques locaux les plus utilisés pour prévenir la douleur lors de chirurgies de patients âgés et des maladies des yeux (Butterworth, J. F 1990 ; Gupta, P. K., 2007). en raison de leurs effets analgésiques reconnus. Elle sont généralement formulées sous forme de solutions aqueuses de sels type chlorhydrate (TC, HCl ou PC,HCl) car leurs formes basiques TC ou PC sont peu solubles dans l'eau. La dissolution aqueuse du sel génère la forme cationique du médicament (TCH^+ ou PCH^+), laquelle est reconnue comme l'espèce bioactive qui bloque la transmission de la sensation de douleur le long des nerfs en s'insérant dans les canaux ioniques de la membrane cellulaire (Becker, D. E., et al. 2012). De plus, selon la valeur du pH de la solution aqueuse, cette forme cationique symbolisée par ALH^+ possède un caractère acide et peut être en équilibre avec la forme non chargée AL (de caractère basique) (Pope, R. L. E., et al. 2020 ; Butterworth, et al 2019). Par ailleurs, la forme cationique confère à ce médicament une structure amphiphile et le classe comme une molécule tensioactive cationique. Ainsi, comme toutes les solutions aqueuses de tensioactifs ioniques, à la concentration micellaire critique, cmc, et au-dessus de la température de Krafft, TK, de nombreuses propriétés physico-chimiques de (ALH^+) subissent une déviation abrupte due à l'amorce de la formation de micelles (Close, J.,et al 1996 - Andriamainty, F., Čižmárik, J. et al. 2005). Ce comportement colloïdal typique de (ALH^+) en solution aqueuse induit un effet perturbateur sur l'organisation membranaire des cellules exposées à des concentrations anesthésiques supérieures à la valeur micellaire critique (Gruner, S. M., et al 1991. ; Mouritsen, O. G., et al 1984).

En conclusion, la dissolution aqueuse du sel des ($\text{ALH}^+, \text{Cl}^-$) est régie à la fois par les équilibres de solubilité et de micellisation. Ces processus sont influencés par la nature du tensioactif, son contre-ion, la concentration et la température (Pope, R. L. E., et Brown, A. M. 2020. - Andriamainty, F., Čižmárik, et al. 2005). Il est donc primordial de vérifier leur nature tensiocative, de micellisation et de voir leur stabilité sous l'effet du changement de pH avant les processus de complexation avec les cyclodextrines. La complexation sera abordée dans le chapitre IV.

Partie A : Caractérisation des anesthésiques locaux

III.1. Matériels et méthodes :

III.1.1. Produits chimiques et solvant :

Acide 4-(butylamino) benzoïque 2-(diméthylamino) éthyle ester monohydrochloride, appelé chlorhydrate de tétracaïne (TC-HCl). Le 4-(methylamino) benzoic acid 2-(diethylamino) ethyl ester monohydrochloride, habituellement appelé procaine hydrochloride (PC·HCl) ont été fournis par Sigma et ont été utilisés sans autres purifications. L'acide sulfirique H_2SO_4 , l'acide chloridrique (HCl), le chlorure de sodium (NaCl), Carbonate de sodium (Na_2CO_3), Hydroxyde de sodium (NaOH), et Chlorure de calcium. ($CaCl_2$). Tous ces produits, d'une pureté de 99 % ou plus, ont été utilisés sans autre purification

III.1.2. Etude physico-chimique des anesthésiques locaux :

III.1.2.1. Préparation des solutions :

Les mesures ont été réalisées sur des solutions obtenues à partir de dilutions successives de solutions mères par ajout d'eau déminéralisée. L'homogénéité des solutions initiales a été assurée par sonification dans un bain ultrasonique. Afin de rendre les mesures reproductibles, chaque solution a été préparée au départ à température ambiante puis chauffée lentement à $0.1^{\circ}C/min$ jusqu'à dissolution du soluté (si nécessaire) et ensuite refroidie jusqu'à la recristallisation complète (réapparition de dépôts de cristaux). Une fois le système en équilibre, la solution est chauffée jusqu'à la température choisie pour l'expérience à raison de $0.1^{\circ}C/min$.

III.1.2.2. Mesure de tension de surface :

Les mesures de la tension superficielle ont été effectuées au moyen d'un tensiomètre de type Du Nouy. Il est constitué d'un anneau en Platine suspendu par un fil approprié à un dispositif en forme de poulie qui permet d'exercer une force

progressive variant de 0 à 90 dynes/cm avec une précision de 0.05 dynes/cm. La technique consiste à mesurer la force nécessaire pour arracher l'anneau immergé dans la solution étudiée. Une fois le système en équilibre, la grandeur mesurée est relevée juste lorsque l'anneau s'arrache de la surface du liquide. Cette force qui est égale à la tension superficielle est estimée directement par lecture sur l'écran. En pratique, avant de procéder aux mesures, l'appareil est étalonné en prenant l'eau déminéralisée comme étalon. La tensiométrie étant une méthode très sensible, il est nécessaire de nettoyer méticuleusement la verrerie, travailler à l'abri de la poussière et de bruler l'anneau jusqu'à son passage au rouge avant chaque mesure.

Les mesures de la tension superficielle sont effectuées à partir d'une solution mère de 0.25 mol.l⁻¹. La concentration est modifiée par addition progressive d'eau et chaque solution est laissée suffisamment de temps au repos avant les mesures afin d'atteindre l'équilibre thermodynamique.

III.1.2.3. Mesure de pH :

Cette méthode permet de déterminer l'acidité d'une solution aqueuse par mesure du potentiel électrochimique à la surface d'une électrode dite pH. En pratique, on introduit l'électrode dans la solution à étudier et l'acidité est donnée directement en termes de pH. Les mesures de pH ont été effectuées au moyen d'un pH-mètre de type Prolabo, utilisant une électrode de verre combinée contenant une solution de KCl comme référence. Avant chaque série de mesure, l'électrode est calibrée avec trois solutions étalons de pH : 4 ,7 et 9. Ensuite, l'électrode est soigneusement rincée avec de l'eau déminéralisée, essuyée à l'aide de papier Joseph puis placée dans une enceinte thermo statée. L'appareil fonctionne conformément dans une large plage de pH allant de 1,00 à 14,00. Les mesures de pH ont été réalisées simultanément avec celles de la conductivité et donc la même procédure de préparation des solutions a été adoptée.

III.1.2.4. Mesure de l'absorbance :

Les mesures de l'absorbance ont été effectuées à l'aide d'un spectrophotomètre de type Specord200 UV Visible Spectrophotometer. Les solutions ont été mises dans des cuves en quartz de chemin optique de 1cm. Afin d'éliminer la contribution du solvant

dans le spectre d'absorption, la ligne de base a été obtenue au préalable avec une solution d'eau pure. Les spectres d'absorption dans la gamme de fréquence variant de 190 à 350nm ont été obtenus pour différentes concentrations en AL à température ambiante.

III.2. Résultats et Discussion :

III.2.1 Etude physico-chimique de la Procaine hydrochloride

2.1.1.pH-métrie :

➤ Mise en évidence des espèces chimiques en solution :

La molécule de procaine hydrochloride est un sel produit à partir de la réaction entre un acide fort HCl et une base faible la procaine et en solution aqueuse elle se dissocie complètement pour donner un acide faible et l'anion Cl⁻ selon le schéma suivant :

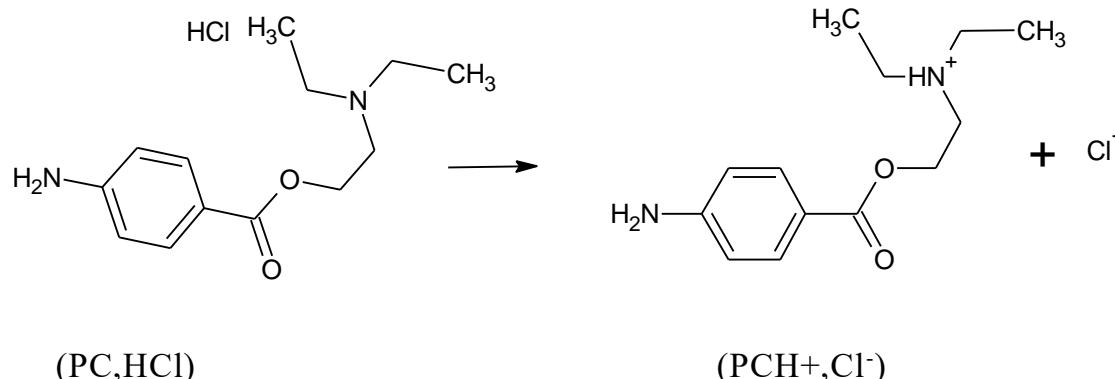
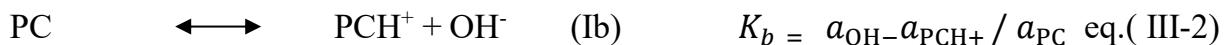
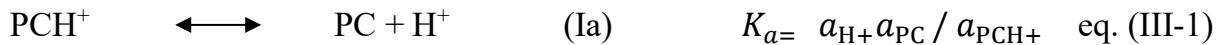


Schéma 1 : la dissolution et la dissociation du chlorhydrate de procaïne en solution aqueuse,

Puisque l'anesthésique (PCH^+) est un acide faible, sa dissociation en solution aqueuse entraîne l'apparition de l'espèce non ionisé (PC) qui est de nature basique (base faiblement dissociée) (Hiromu Satake, 1993). De ce fait, en solution deux équilibres de dissociation peuvent coexister :



Avec K_a et K_b les constantes d'équilibre de l'acide et de la base conjuguée. De fait de la présence en solution de plusieurs espèces chimiques dotées de propriétés acido-basiques, leurs abondances est dépendantes de la nature du pH du milieu. Il est donc important d'estimer les proportions de chaque espèce en fonction du pH. Les proportions des espèces sont obtenues grâce à l'établissement d'un diagramme des espèces qui commence par la détermination du pKa de l'acide faible PCH^+ .

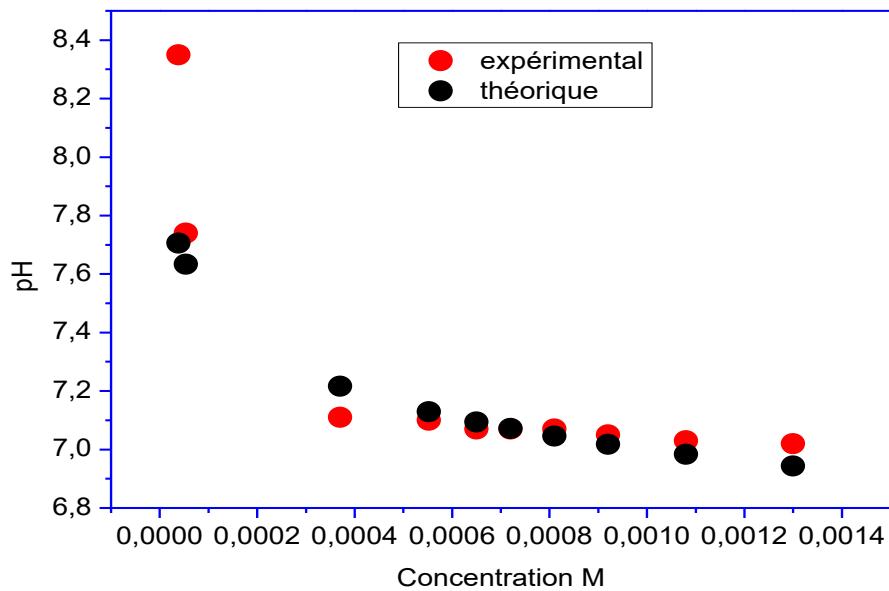


Figure III.1: Variation du pH en fonction de la concentration en PC, HCl.

2.1.2. Détermination du pKa :

En traçant la variation du pH de solution en fonction de la concentration il est possible de déterminer la valeur de pKa par un ajustement de l'équation suivante:

$$pH \simeq \frac{1}{2}(pKa - \log C) \quad \text{eq. (III.3)}$$

La figure (III.1) montre la variation du pH mesuré en fonction de la concentration de PC, HCl. L'ajustement effectué sur la courbe nous donne une valeur de $pKa = 11$. Cette valeur est comparable à celle trouvée par la littérature .Par conséquent, la proportion entre les formes ionisée et non ionisée présentes dépendra directement du pH du milieu.

2.1.3. Diagramme de répartition des espèces :

Les fractions molaires en PC et PCH^+ liées par l'équilibre (Ia) sont définies respectivement par :

$$Y_{RN} = \frac{[PC]}{C} = \left[1 + \frac{[H_3O^+]}{K_a} \right]^{-1} \quad \text{eq. (III.4)}$$

et

$$Y_{PCH^+} = 1 - Y_{PC} \quad \text{eq. (III.5)}$$

Les courbes de variation de Y_{PC} et Y_{PCH^+} en fonction du pH constituent le diagramme de répartition des différentes espèces qui est représenté sur la figure III.2 Ainsi, quand le $pH \leq 9$ ($pKa_1=2$), l'équilibre de dissociation (Ia) est presque

totalement déplacé vers la formation de la forme ionisée (PCH^+) avec une absence de la forme non ionisée (PC). Quand le $\text{pH} > 13$ ($\text{pK}_{\text{a}} + 2$) seule l'espèce PC existe en solution. Pour les pH intermédiaires nous aurons des proportions variables des deux espèces.

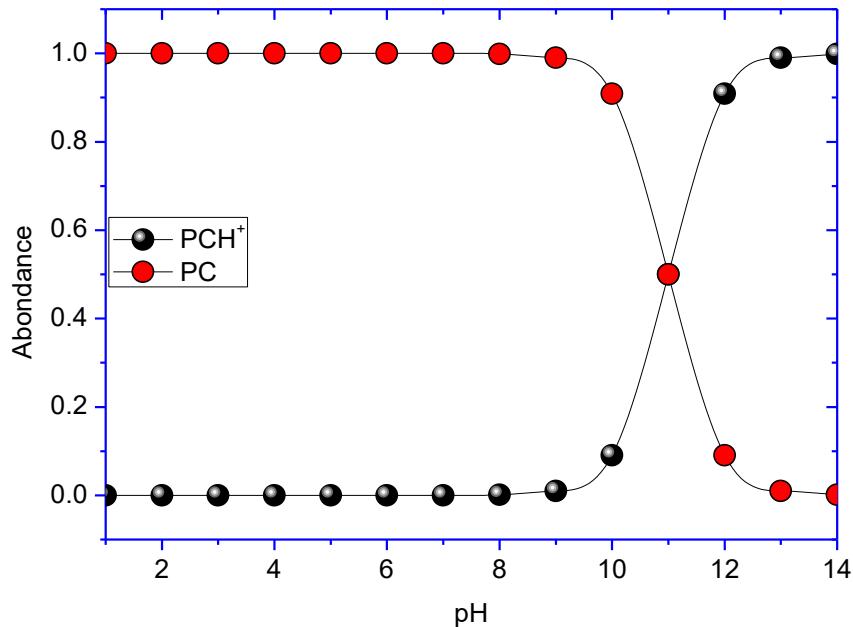


Figure III.2: Diagramme de répartition des espèces de la procaine (PC, HCl)

A ce propos, la connaissance de la valeur de K_a ou $\text{p}K_a$ est donc déterminante pour l'étude de l'association de ces composés avec la CD à un pH donné, car elle permet de prévoir quelle espèce sera présente dans des conditions expérimentales données et donc pour :

- ✓ Des $\text{pH} \leq \text{p}K_a - 2 = 9$, la CD va interagir exclusivement avec la forme ionisée.
- ✓ Des $\text{pH} \geq \text{p}K_a + 2 = 13$, la CD interagira uniquement avec la forme non ionisée.

III.2.1.4. Spectrophotométrie d'absorption UV-visible :

➤ Mesure de l'absorbance :

En raison de la structure chimique de ces produits anesthésiques, la PC,HCl présente un spectre d'absorption caractéristique dans le domaine de l'UV-visible. Le spectre comprend trois bandes aux environs de 195, 222 nm et 290 nm. 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 ou des doublets non liants des atomes d'oxygène ou d'azote.

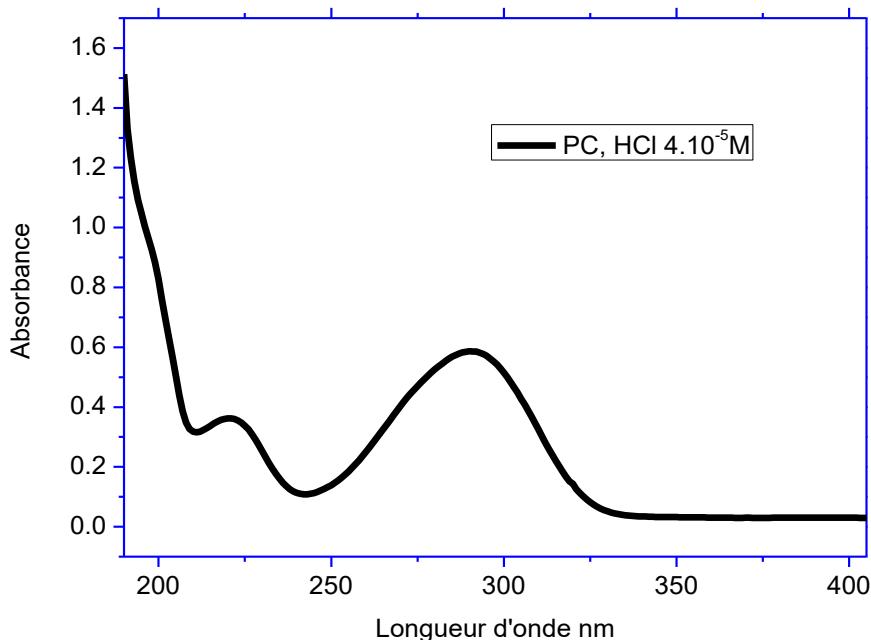


Figure III.3 : Variation de l'absorbance en fonction de la longueur d'onde pour la procaine hydrochloride PC,HCl

En se basant sur des travaux d'optimisation des conditions opératoires, la concentration en PC,HCl appropriée pour les expériences d'inclusion avec la

cyclodextrine doivent être incluses dans le domaine ($0.5 \times 10^{-5} \text{ M} < C_{\text{PC}} \leq 8 \times 10^{-5} \text{ M}$) afin que le système obéisse à la loi de Beer-Lambert.

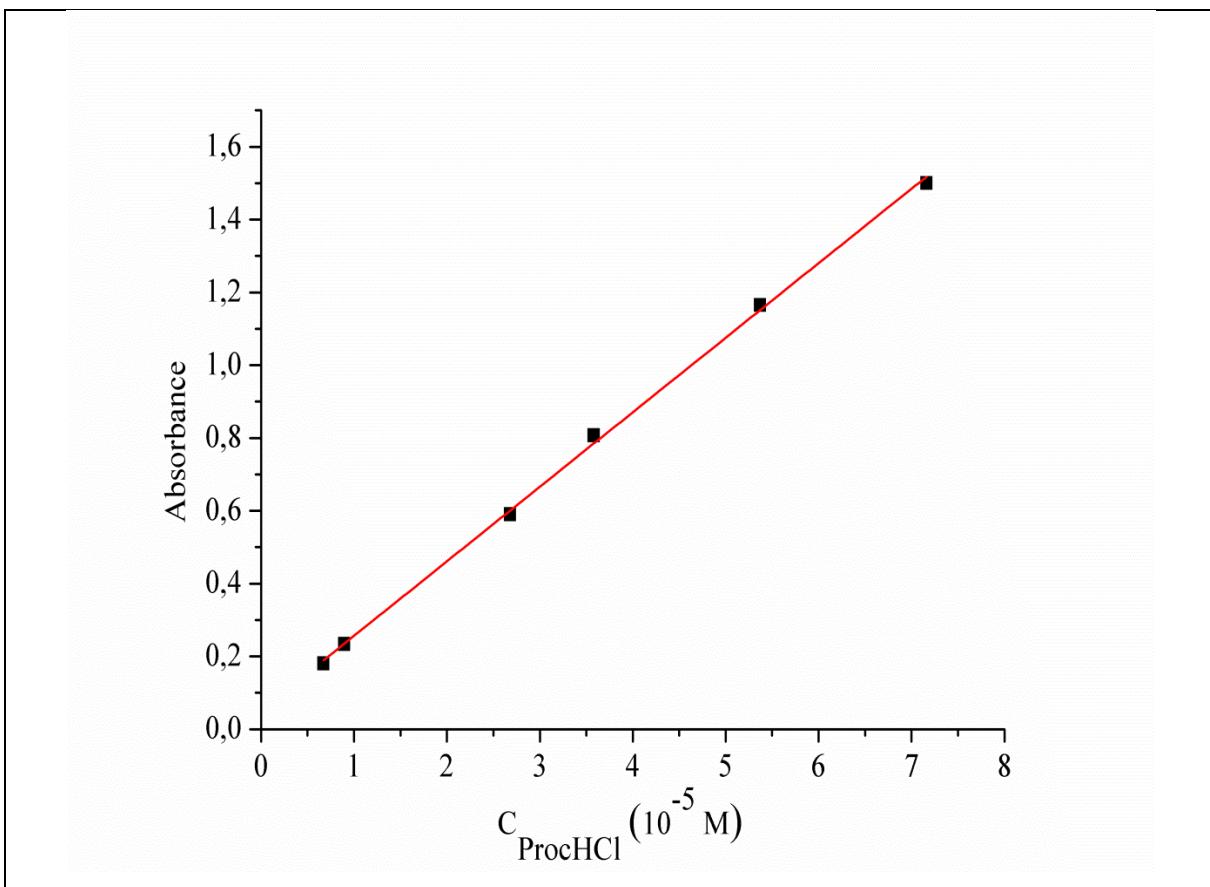


Figure III.4 Variation de l'absorbance en fonction de la concentration de PC,HCl à

$$\lambda_{max} = 290\text{nm}$$

III.2.2. Etude physico-chimique de la tétracaïne hydrochloride

III.2.2.1. Tensiométrie

Le tracé de la courbe $\gamma = f(\ln C)$, visible sur la figure. III 5., permet d'accéder à la valeur de la CMC qui correspond au point de changement de pente.

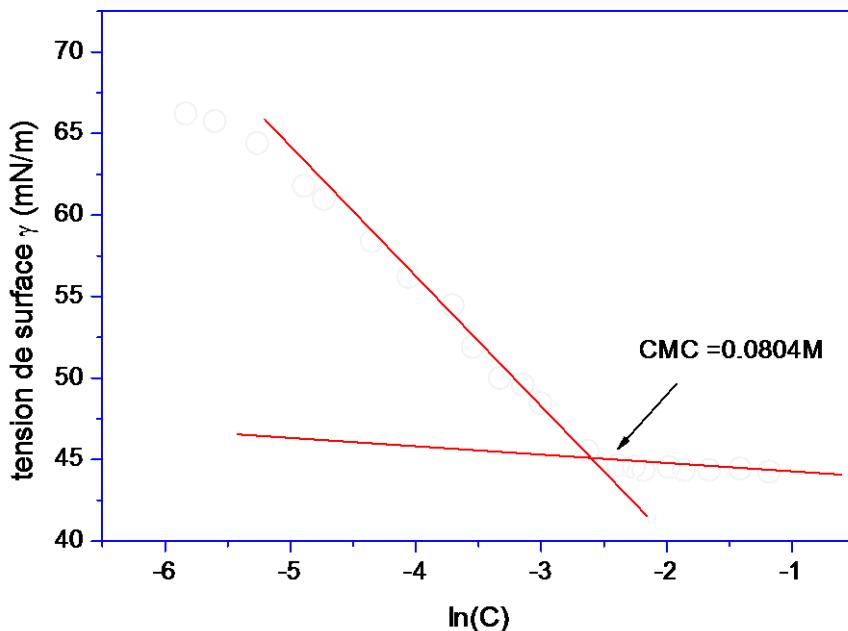


Figure III.5 : Variation de la tension superficielle en fonction de la concentration à $T=20^\circ$

Le fait que la courbe ne présente ni un minimum dans la région de la CMC ni une irrégularité de la variation de la tension superficielle au-delà de la CMC, confirme que le produit en question est caractérisé par une grande pureté (Berthod, 1983). L'évolution de la tension superficielle est d'abord décroissante avec l'augmentation de la concentration exprimée en $\ln(C)$ puis atteint un plateau au-delà de la CMC. La partie décroissante traduit le phénomène d'adsorption progressif du tensioactif à l'interface liquide/air. L'intersection des deux droites qui représentent des ajustements linéaires conduit à une valeur de la $\text{CMC} = 0.0804\text{M}$.

III.2.2.2. Mesure de pH :

- Température de Krafft :

La figure.IV.6 regroupe les courbes de variation du ΔpH en fonction de la température pour des concentrations variables en tetracaine (TC,HCL). Ici également,

l'aspect général des courbes se base sur une courbe commune qui caractérise les équilibres de dissolutions successives. Cependant, ces courbes divergent par l'étendue du domaine qui est directement lié à la micellisation.

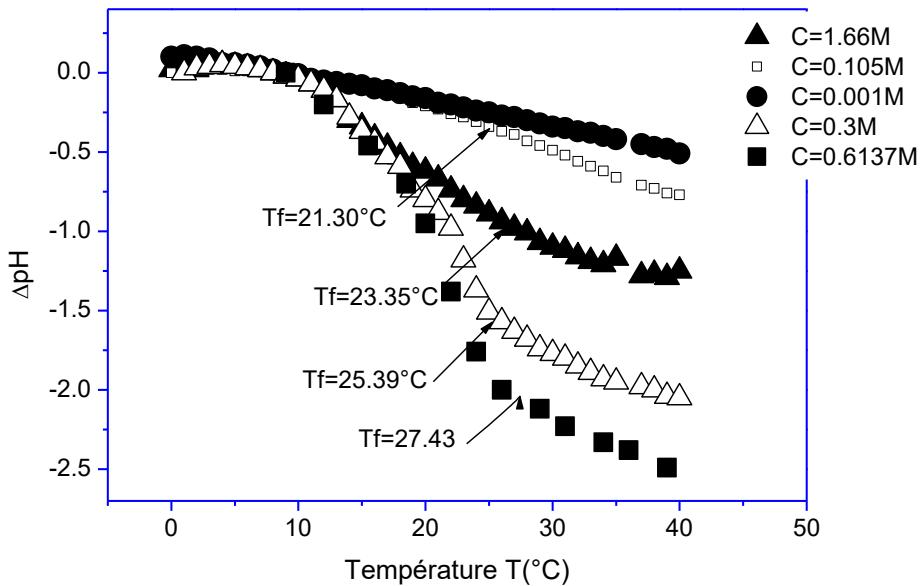


Figure III.6 : Variation du ΔpH en fonction de la température pour différentes concentrations molaires.

En effet, la portion qui caractérise le domaine des basses températures ($T < T_K$) correspond à une solution saturée qui ne contient que des espèces monomériques et est suivie d'une branche caractérisée par une baisse importante du pH et donc de la solubilité. Cette analyse est bien sûr pareille à celle décrite par Fergoug . (Fergoug et al. 2003) lors des mesures de conductivité avec une légère différence due à la nature de la grandeur suivie (pH au lieu d'une conductivité). Par conséquent, la limite supérieure qui correspond au T_K dans ce cas est égale à $T_K = 7.5^\circ\text{C}$ et la limite inférieure indiquée par des points correspond à la température de fusion du dernier cristal hydraté (T_f).

Les points T_K , et T_f sont obtenus à partir des intersections des ajustements linéaires des différentes parties des courbes comme indiqué à titre d'exemple sur la

figure. III.7 ou on relève pour une concentration de $C = 0.6137M$ des valeurs de $T_K = 7.5^\circ\text{C}$ et $T_f = 27.43^\circ\text{C}$.

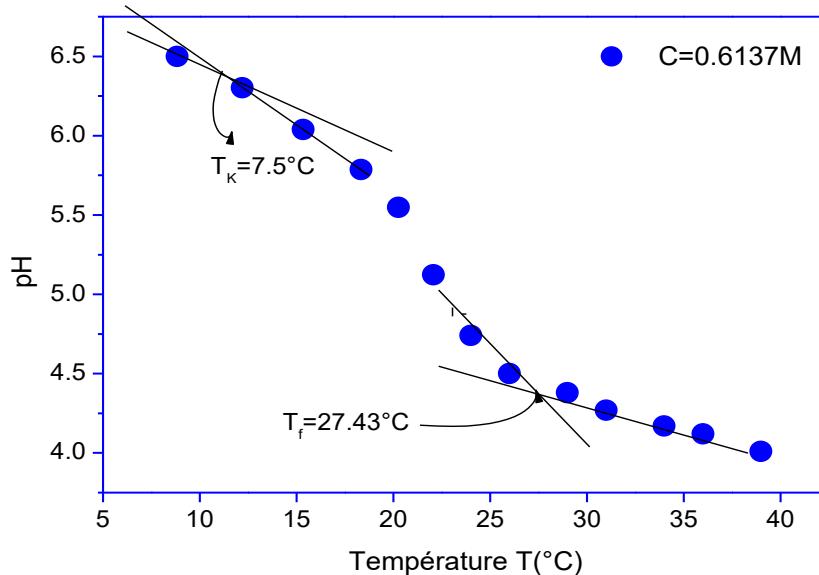


Figure III.7: Détermination de la température de Krafft et de fusion à partir de la courbe de variation du pH en fonction de la température pour une concentration de $0.6137M$.

➤ Concentration micellaire critique :

La figure III.8 rassemble les courbes de variation de pH en fonction de la concentration à différentes températures. L'allure générale des courbes est présentée dans la figure III.9 qui présente la variation du pH en fonction de la concentration à $T^\circ = 39^\circ\text{C}$. La courbe correspondante se divise en deux parties :

- Dans la première partie, nous observons une diminution rapide du pH avec l'augmentation de la concentration en (TC). Cette allure est prévisible car plus la quantité en TC augmente plus les ions H^+ en solution augmentent.
- Dans la deuxième partie du graphe qui débute vers $0.0969M$, la diminution du pH est plus lente ce qui permet d'identifier la valeur de la CMC.

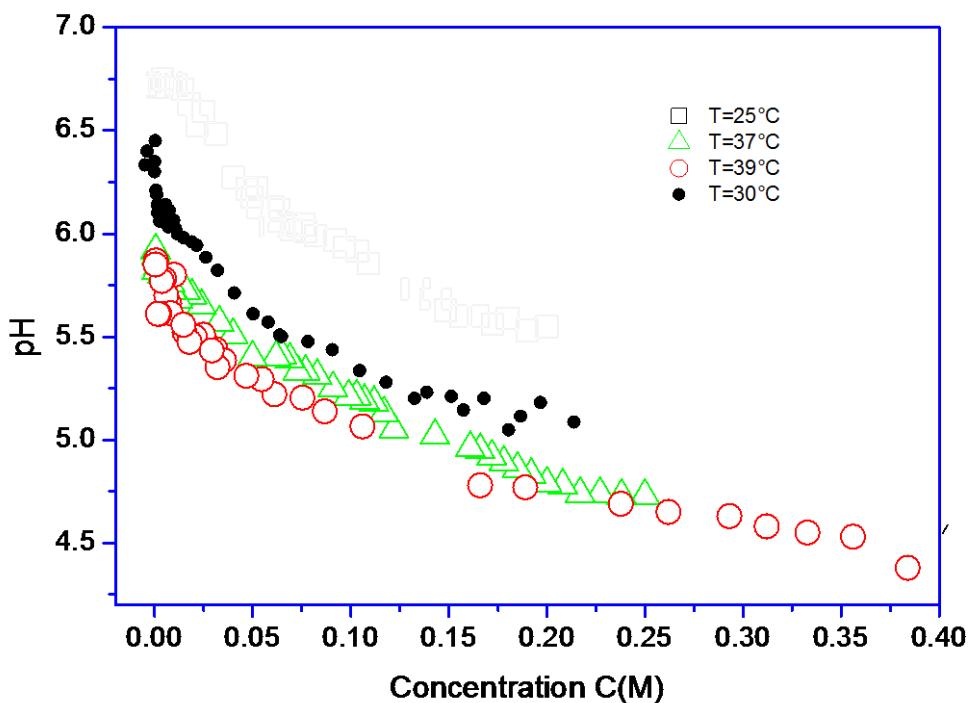


Figure III.8 :: variation du pH en fonction de la concentration à différentes températures.

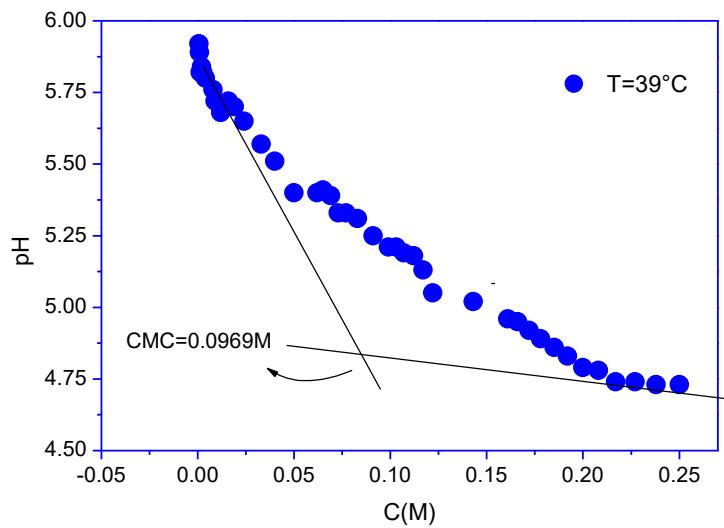


Figure III.9: Détermination de la CMC à partir de la courbe de variation du pH en fonction de la concentration à $T= 39^{\circ}\text{C}$

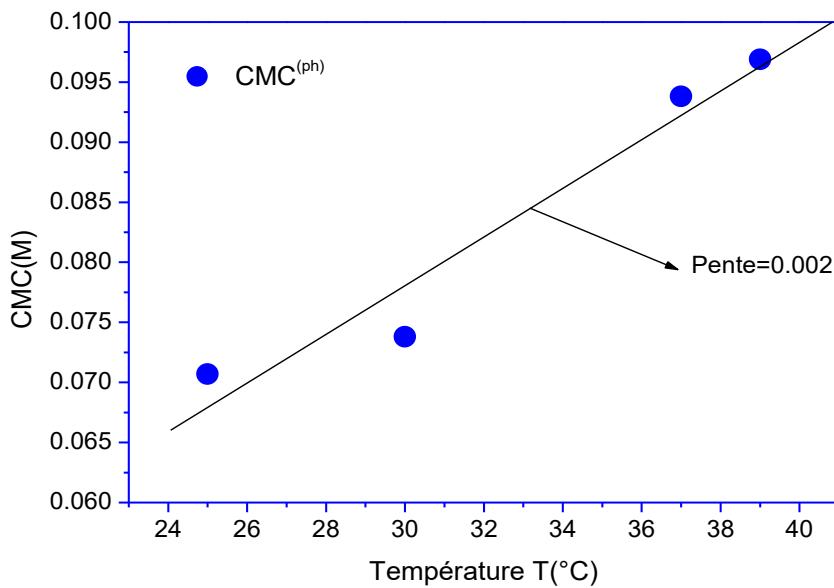


Figure III.10: variation de la CMC en fonction de la température à partir des mesures de pH

Comme prévue, la formation de micelle s'accompagne d'une réduction de la quantité des ions H⁺ et le pH diminue un peu plus lentement.

Le tableau ci-dessous regroupe les valeurs de CMC en fonction de la température calculée par la méthode pH-mètrie dont l'allure des courbes correspondante est similaire et confirme l'effet important de la température sur le phénomène d'agrégation.

Tableau III.1 : Valeurs de la CMC en fonction de la température par méthode

pH-mètrie

T(°C)	39	37	30	25
CMC (pH)	0.0970	0.0938	0.0738	0.0707

III.2.2.3. Spectrophotométrie UV-Visible

La figure III.11 présente la variation de l'absorbance à 25°C en fonction de la longueur d'onde à différentes concentrations en tétracaïne. En raison de sa structure chimique et des chromophores qu'elle contient, la TC présente un spectre d'absorption très caractéristique dans le domaine de l'UV. Il se compose de trois bandes maximales centrées à 195 nm, 225 nm et 318 nm. 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 ou des doublets non liants des atomes d'oxygène ou d'azote.

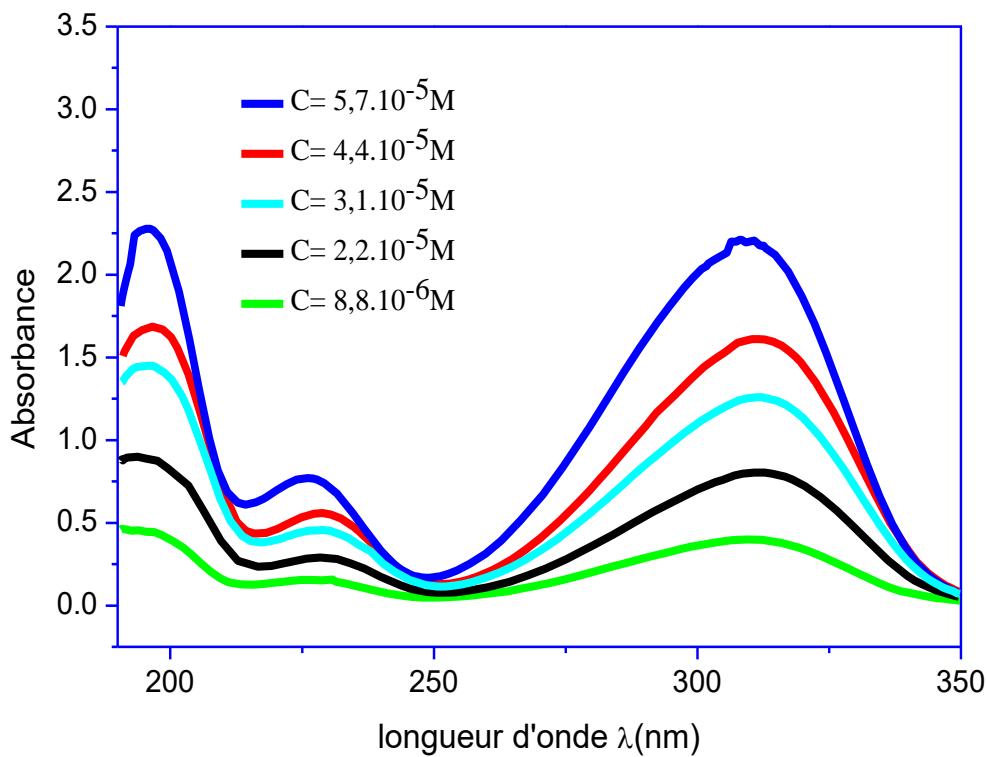


Figure III.11: Variation de l'absorbance en fonction de la longueur d'onde pour différentes concentrations de TT.A.C.H⁺ à T=25°C

En tout cas, ces résultats nous permettent par la même occasion de choisir le domaine de travail approprié pour la mesure de l'absorbance pour l'étude de la complexation.

A partir des régressions linéaires des courbes de variations de l'absorbance en fonction de la concentration pour chaque longueur d'onde, les valeurs des coefficients d'absorbances sont déterminées et sont égales à 37522.4, 13546.8 et 19824.9 $M^{-1} cm^{-1}$ pour les longueurs d'onde 195, 225 et 318 nm respectivement.

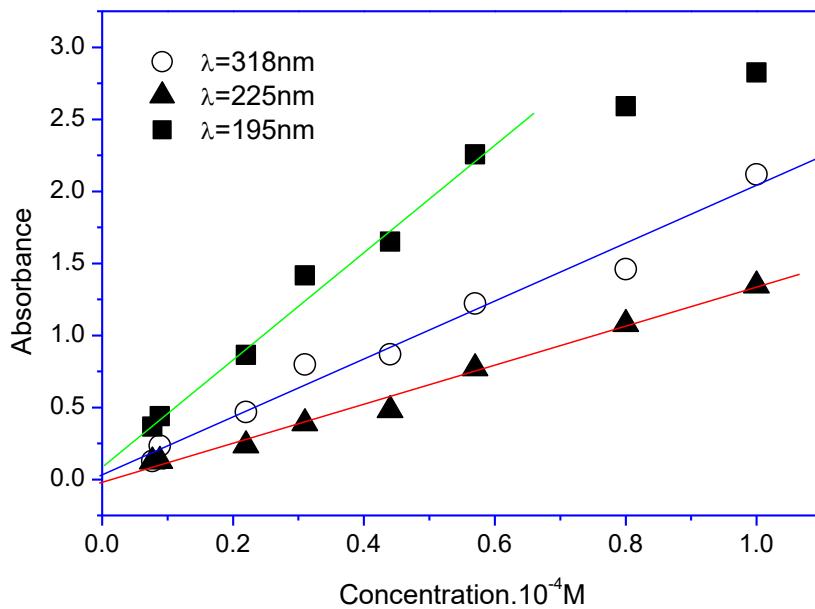


Figure III.12 Variation de l'absorbance en fonction de la concentration pour les trois longueurs d'onde suivante : $\lambda_{max} = 318\text{ nm}$, $\lambda_{max} = 225\text{ nm}$, $\lambda_{max} = 195\text{ nm}$

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.12. Les allures linéaires obtenues montrent que la loi est vérifiée dans le domaine de concentration choisi ($8.8 \times 10^{-6} \leq C_{TTAC} \leq 5.7 \times 10^{-5} M$) et nous permet de déterminer les coefficients d'absorption pour chaque longueur d'onde. Il faut juste noter que pour la longueur d'onde 190nm, la linéarité ne concerne pas tous les points car cette longueur d'onde se trouve à la limite de détection de l'appareillage utilisé.

Partie B : Stabilité des anesthésiques locaux

III.B.1. Effet du milieu sur la procaïne hydrochloride :

Le schéma ci dessous montre les différentes expériences entreprises pour étudier l'effet de pH (acide sulfurique H₂SO₄ et acide chloridrique HCl) à pH=2.4 et l'effet de sel (NaCl et le CaCl₂) sur la procaine toute seul

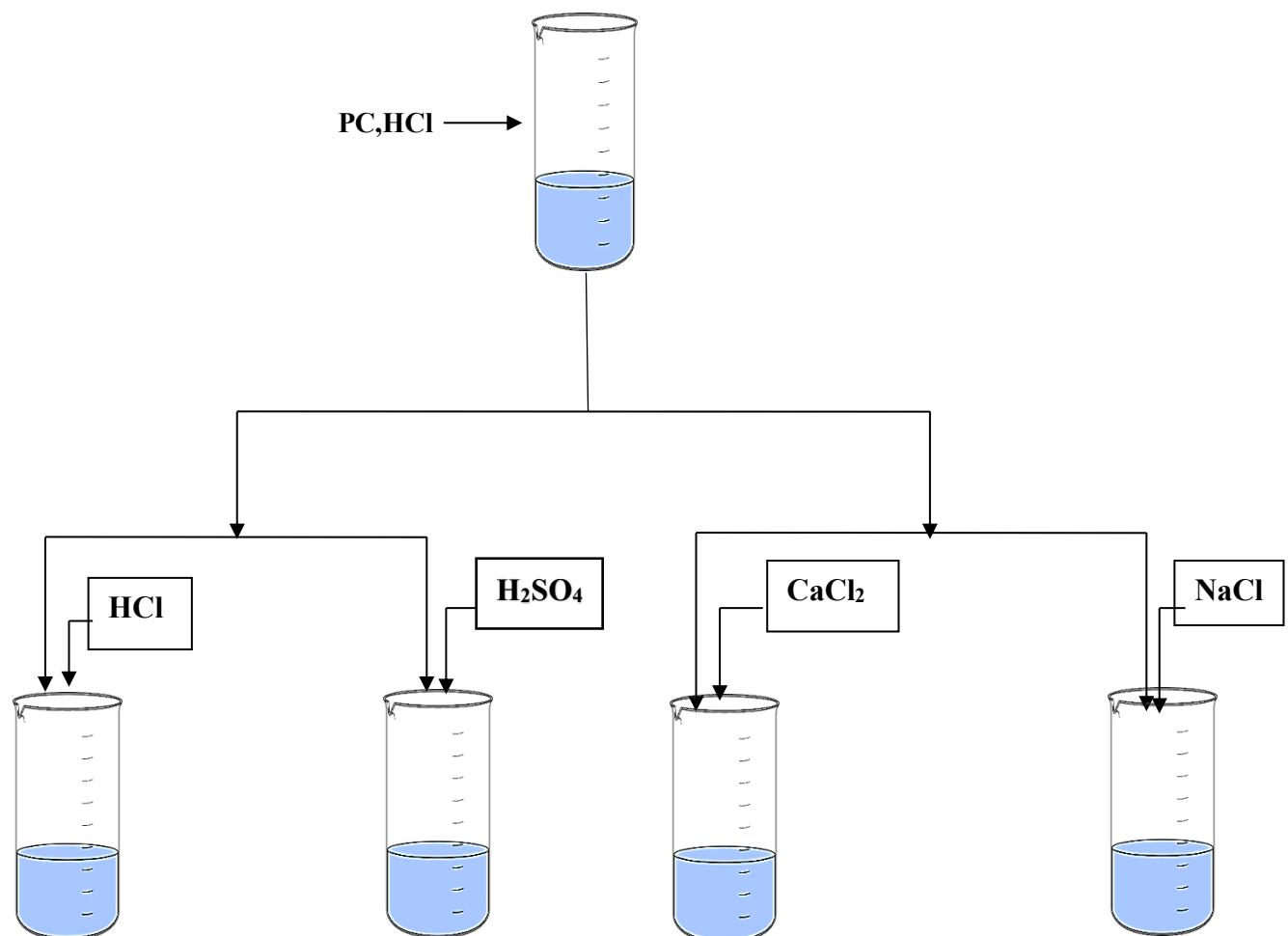


Schéma III. 2: Titration du PC, HCl par l'acide H₂SO₄ et HCl a (pH=2.4) et par les sels (NaCl et CaCl₂)

III.B.1.1 .Effet du PH sur la procaïne hydrochloride et la tetracaïne hydrochloride

➤ Effet de l' acide sulfurique H_2SO_4

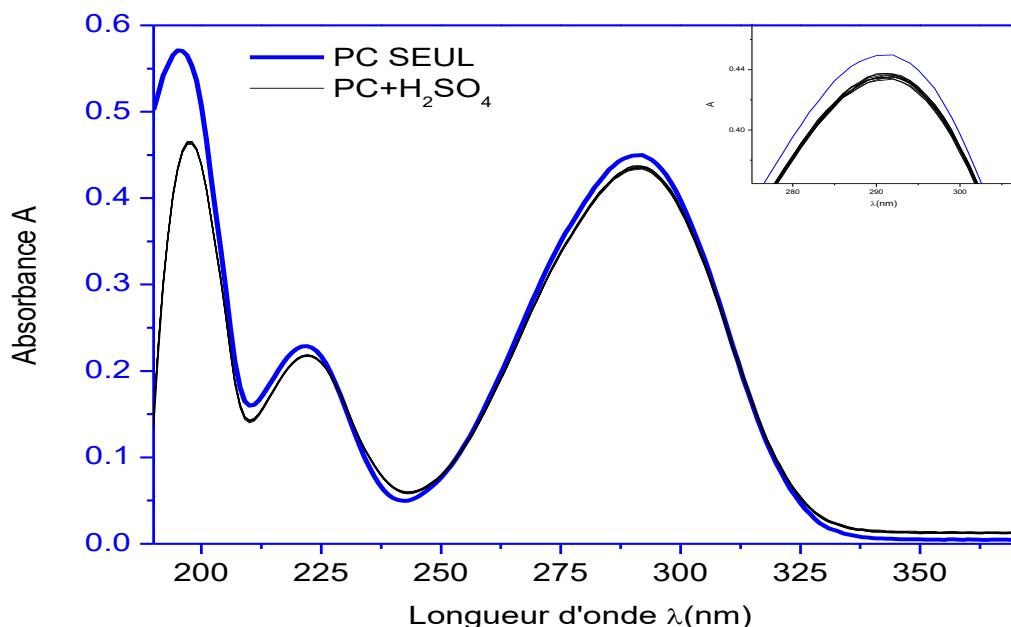


Figure III.13 : Effet de H_2SO_4 ($pH = 2.4$) sur la procaine (PC, HCl)

La procaïne est un composé ester comportant un groupement ester aromatique dans sa structure chimique. En milieu fortement acide, tel que celui fourni par l'acide sulfurique, les esters sont particulièrement sensibles à l'**hydrolyse acide**. Cette réaction peut entraîner la **rupture de la liaison ester**, conduisant à la formation de produits de dégradation tels que l'acide para-aminobenzoïque et le diéthylaminoéthanol (Galais et al., 2000 ; Yates & McClelland, 1967).

L'acide sulfurique, en tant qu'acide fort, influence également la **protonation** des groupes fonctionnels de la procaïne. À un pH de 2,4, les groupes basiques comme l'**amine tertiaire** sont fortement protonés, ce qui modifie profondément les propriétés

physicochimiques de la molécule : **charge globale, solubilité et interactions moléculaires** (Montes et al., 2008). Ces modifications peuvent avoir des répercussions sur le comportement en solution de la procaïne, notamment en termes de stabilité chimique et de réactivité.

Par ailleurs, la dégradation de la procaïne par **hydrolyse ou oxydation** entraîne une **perte de son activité pharmacologique**, notamment de ses propriétés anesthésiques locales. Cela compromet son efficacité thérapeutique, sa biodisponibilité et sa durabilité en usage médical. Il devient donc essentiel d'examiner l'impact de conditions acides sur la **stabilité, l'efficacité pharmacologique et la durée d'action** de la procaïne, en particulier dans des formulations injectables ou topiques exposées à des variations de pH (Galais et al., 2000).

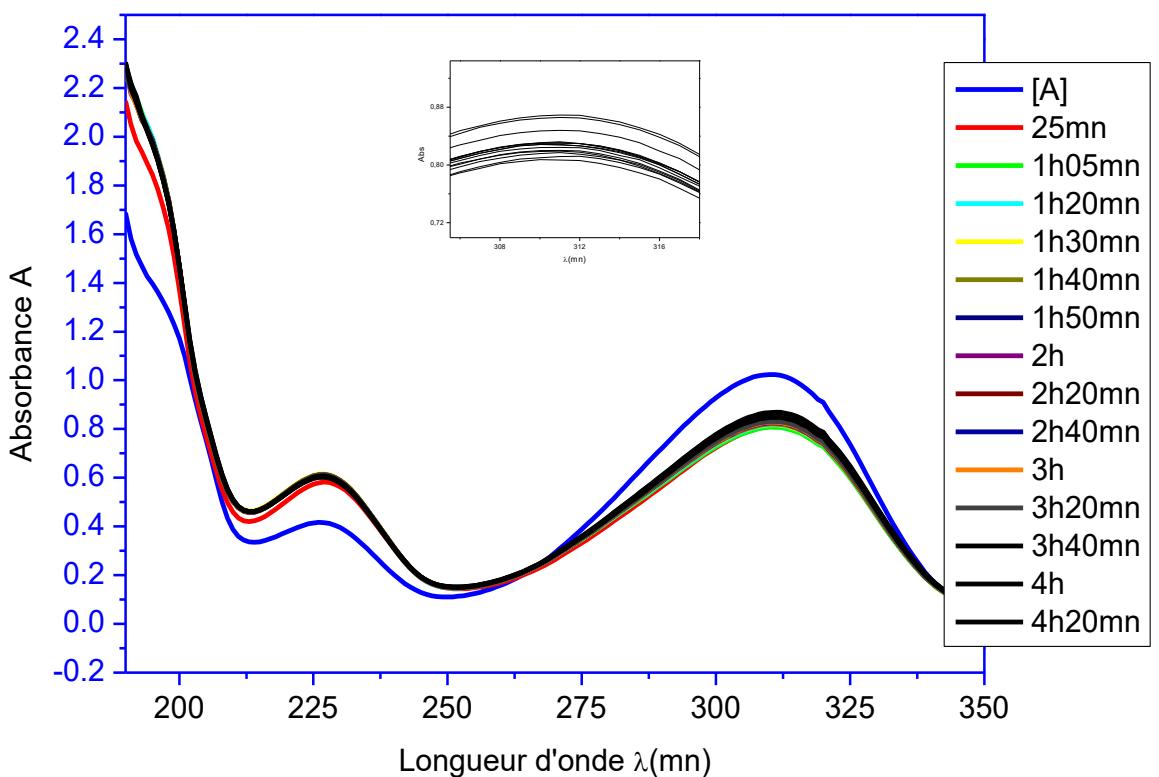


Figure III.14: Variation de l'absorbance du mélange (**TC, HCl + H₂SO₄**) en fonction du temps (de 25min à 4h 20min)

L'acide sulfurique, étant un acide fort, peut protoner la tétracaïne, ce qui pourrait affecter sa solubilité et sa réactivité (Smith, 2020). La protonation peut rendre la tétracaïne plus stable dans certaines conditions, mais aussi favoriser des réactions indésirables dans d'autres (Jones & Brown, 2019). En présence d'acide sulfurique, la tétracaïne pourrait subir des réactions de dégradation. Cela pourrait conduire à la formation de produits secondaires qui peuvent affecter son efficacité (Taylor, 2021).

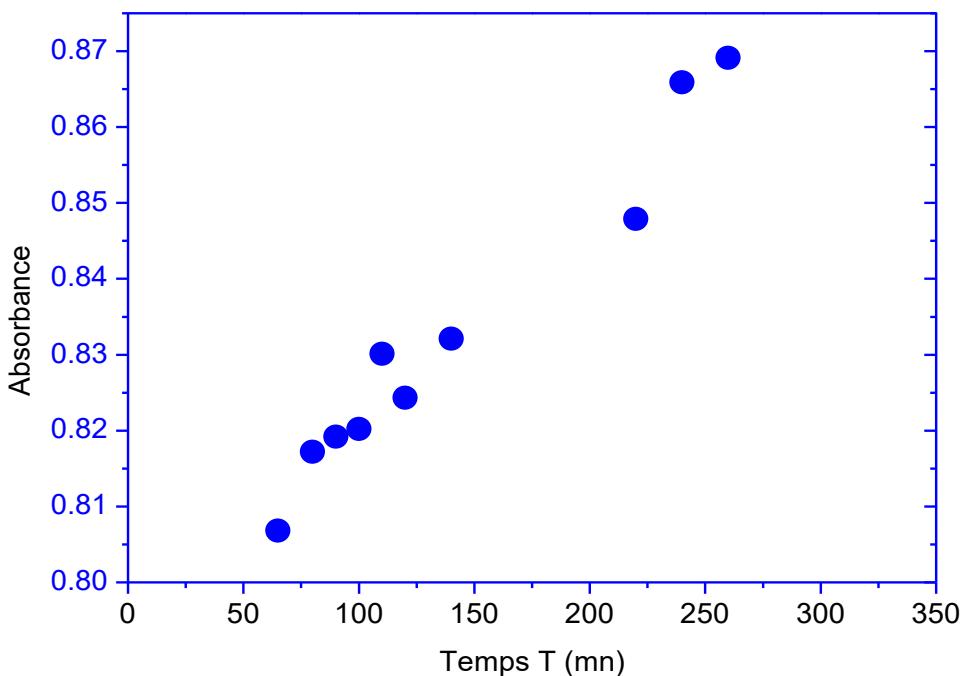


Figure III.15 : Variation de l'intensité de l'absorbance pour ($\lambda = 310$) du mélange ($TC, HCl + H_2SO_4$) en fonction du temps (de 25min à 4h 20min)

La figure montre les spectres de la tétracaïne hydrochloride en fonction du temps dans un milieu fortement acide. On remarque que l'allure du spectre reste la même avec une légère augmentation de l'intensité avec le temps (Martin & Lee, 2022). Sachant que dans un milieu acide, seule la forme protonnée existe, il est aisément de conclure qu'aucune dégradation n'a eu lieu (Garcia, 2021). Sur la figure, une légère augmentation est détectable de l'ordre de 0,07, qui est négligeable.

➤ Effet de l' acide chloridrique HCl

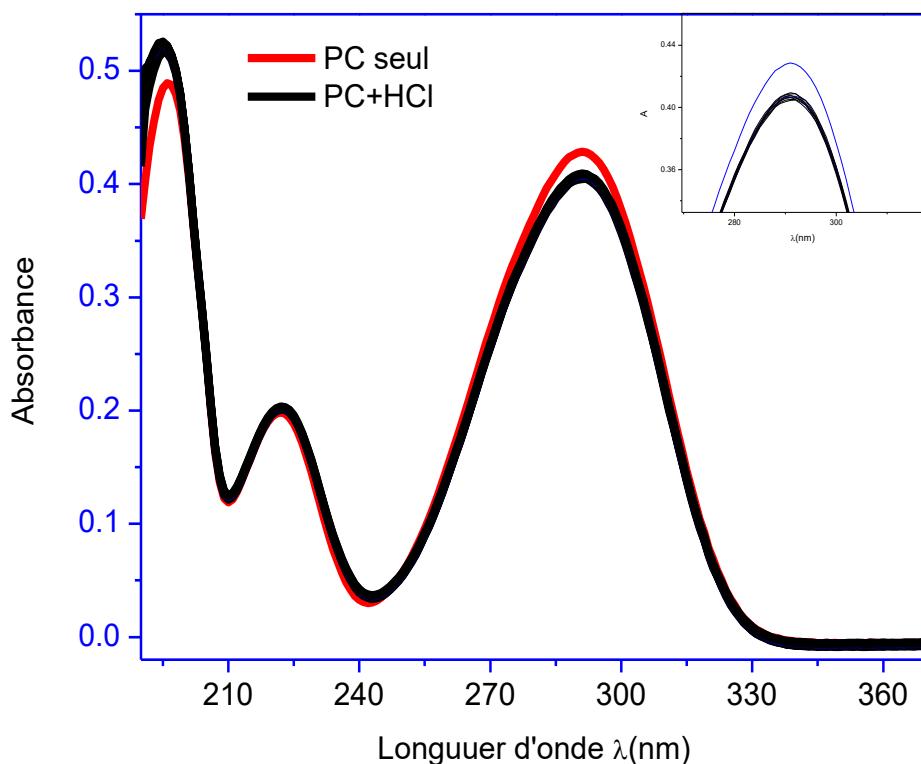


Figure III.16 : Effet de HCl ($pH = 2.4$) sur la procaïne (PC, HCl)

En présence de HCl à $pH = 2,4$, la procaïne est majoritairement protonée (PC-NH₃⁺), ce qui augmente sa solubilité aqueuse mais réduit sa capacité à traverser les membranes lipidiques (PubChem, n.d.; Carstensen et al., 1963). Son groupe ester reste relativement stable à ce pH, mais des conditions plus acides ou prolongées pourraient entraîner son hydrolyse (Valente et al., 2007; Gupta, 2024).

✓ Comparaison entre H₂SO₄ et HCl :

Bien que la procaïne soit déjà associée à un acide (le chlorhydrate, HCl), l'acide sulfurique étant un acide plus fort, il peut provoquer des effets différents :

- Formation de sels différents (par exemple, le sulfate de procaine).
- Une différence dans les propriétés du système, comme une modification du potentiel redox ou des interactions ioniques.

III.B.2-Effet de sel sur la procaine hydrochloride .

➤ Effet de NaCl

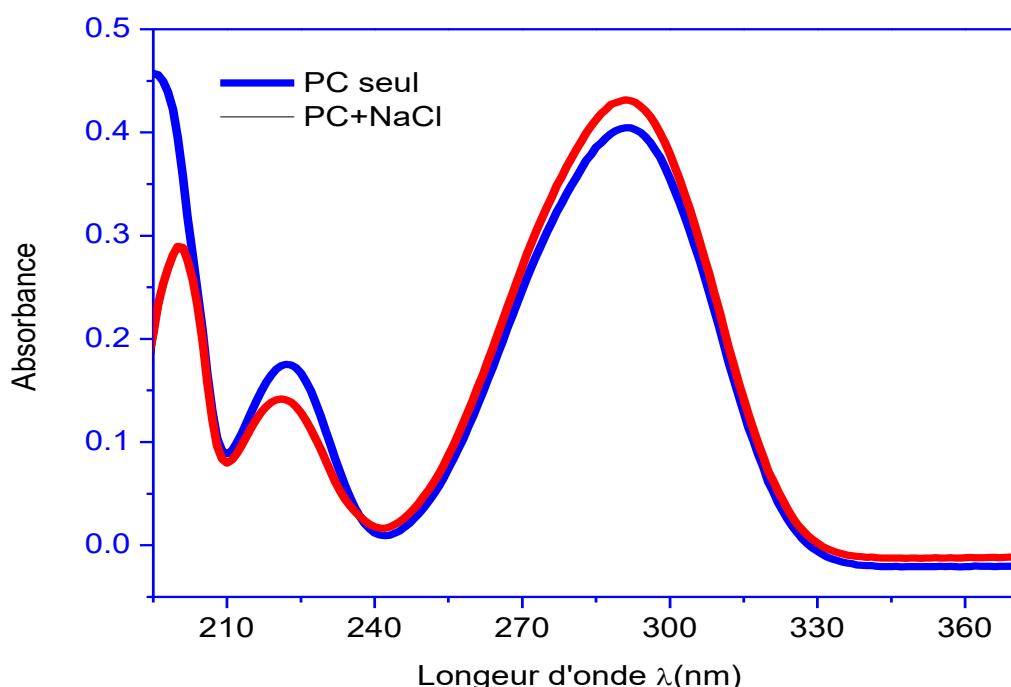


Figure III.17: Effet de NaCl ($C=0.0053M$) sur la procaine (PC, HCl)

L'ajout de NaCl à une solution de procaine (PC, HCl) aura des effets très limités sur la solubilité, la dissociation, et l'efficacité de la procaine (Wikipédia, n.d.; Chimie analytique et équilibres ioniques, 2011). À cette concentration, l'augmentation de la force ionique n'entraîne que des modifications minimes des propriétés physico-chimiques de la solution (Salhi, 2019/2020). La procaine reste stable et majoritairement sous sa forme protonée (PC-NH₃⁺).

➤ Effet de CaCl_2 :

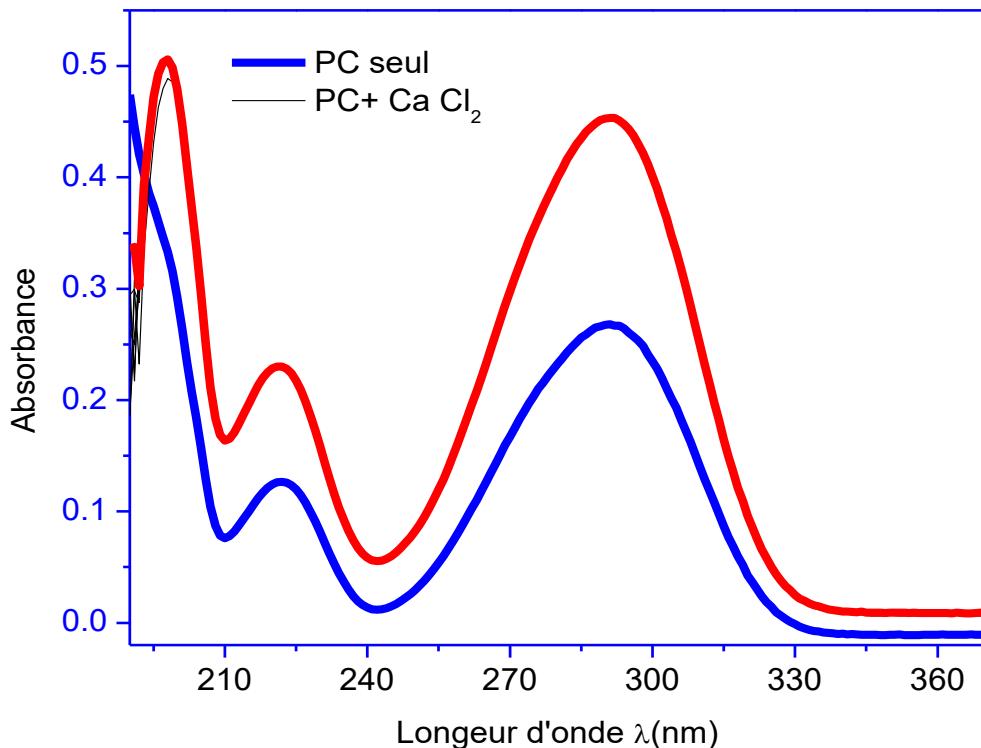


Figure III.18 : Effet de CaCl_2 ($C=0.0053\text{M}$) sur la procaïne (**PC, HCl**)

L'ajout de CaCl_2 ($C = 0,0053 \text{ M}$) à une solution de procaïne (PC, HCl) provoque une augmentation de la force ionique plus importante qu'avec NaCl (Chimie analytique et équilibres ioniques, 2011). Cela peut légèrement réduire la solubilité de la procaïne en raison d'un effet de salting-out et diminuer sa diffusion membranaire à cause de l'effet écran des ions (Salhi, 2019/2020). Cependant, ces effets restent faibles à cette faible concentration de CaCl_2 . La procaïne reste stable et majoritairement sous sa forme protonée ($\text{PC}-\text{NH}_3^+$).

III.B.3 . Effet de base sur TC-HCl

➤ Effet de NaOH

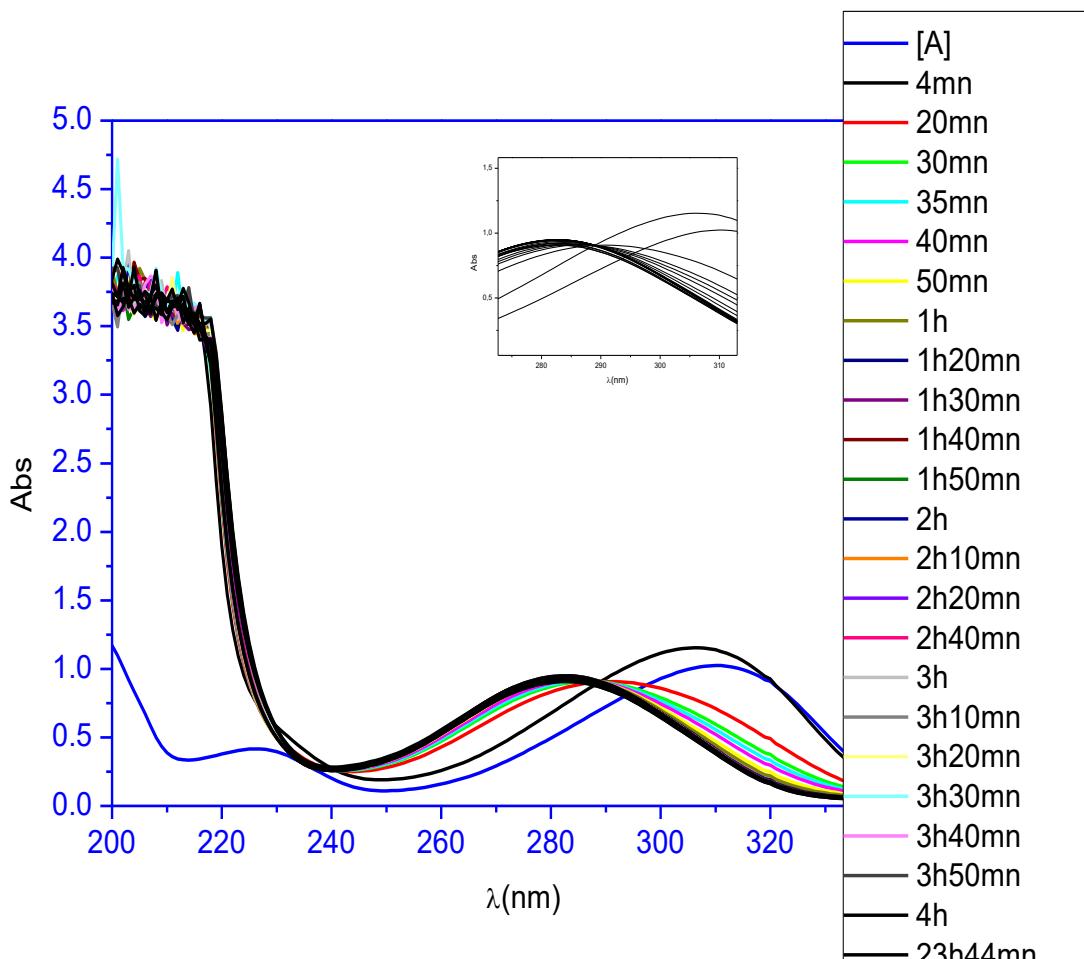


Figure III.19 : Variation de l'absorbance du mélange (TC, HCl + NaOH) en fonction du temps (4min - 23h 55min)

Quand le pH devient fortement basique suite à la présence d'une base forte comme NaOH, on note sur la figure l'apparition d'un point isobestique, indicateur de la présence d'un équilibre chimique (Tchouka et al., 2018). Sachant que dans ce milieu, seule la forme non protonnée de la tétracaïne (TC) existe, elle a probablement été attaquée par les ions OH⁻ et une réaction d'hydrolyse a eu lieu (Salhi, 2019/2020). Afin de vérifier cette hypothèse, nous avons suivi le déplacement du maximum d'absorption de la tétracaïne hydrochloride partant de la longueur d'onde 310 nm. Le résultat du déplacement de la bande maximale d'adsorption est visible sur la figure 7, où il est facile

de constater que la longueur d'onde maximale se déplace de 310 à 382 nm, confirmant la disparition progressive de la TC et sa dégradation sous forme d'acide carboxylique parabutylamino-benzoïque et d'alcool diméthylamine 2-hydroxyéthyle (Durand et al., 2020). On peut aussi noter que la réaction de dégradation a lieu relativement vite, car au bout d'une heure à 90 minutes, la nouvelle longueur d'onde de l'acide carboxylique formé est atteinte (Bernard et al., 2021).

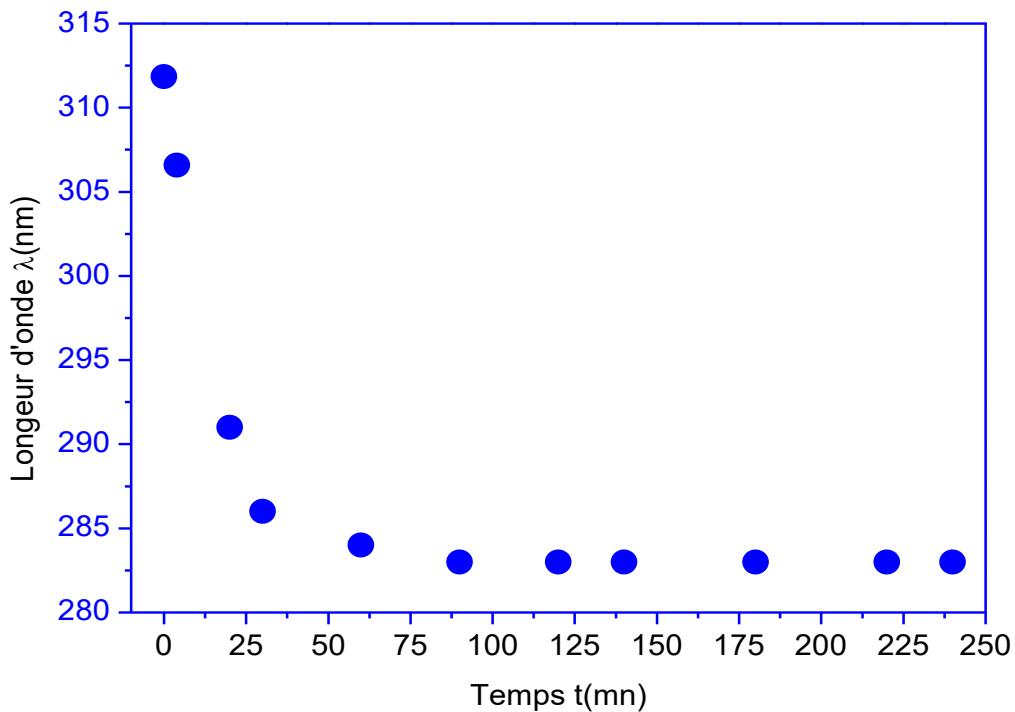


Figure III.20: Variation de fréquence de la longueur d'onde maximale ($TC, HCl + NaOH$) en fonction du temps (de 4min à 400min).

L'effet de la base forte NaOH est rapide et à l'air complet, car on obtient la longueur d'onde de l'acide carboxylique formé (282 nm) (Durand et al., 2020). Afin de vérifier cette hypothèse, nous avons entrepris de mener la même expérience avec une base plus faible, dont l'agressivité envers la tétracaïne (TC) serait plus faible. Avec cette base faible, Na_2CO_3 , une faible dégradation aura lieu ; sinon, nous conservons notre molécule de TC intacte (Bernard et al., 2021).

➤ Effet de base forte NaOH sur PC,HCl

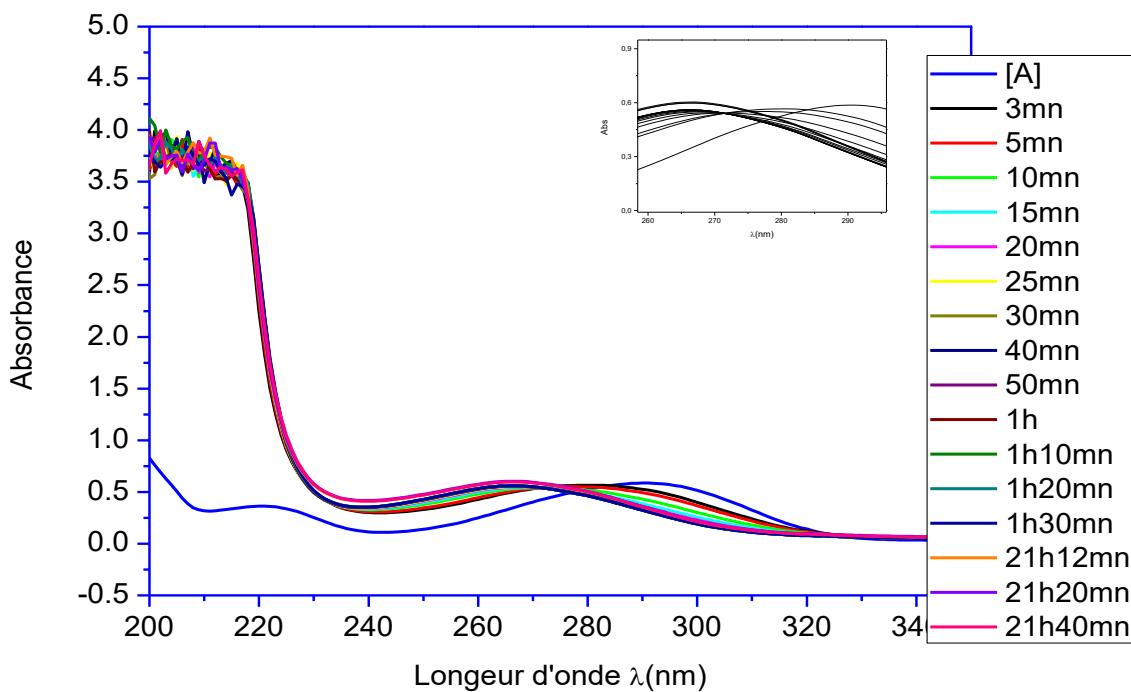


Figure III.21: Variation de l'absorbance du mélange (PC, HCl + NaOH) en fonction du temps (de 3min à 21h 40min)

La même approche a été appliquée à la procaine comme le montrent les figures (III-21, III-22, III-23 et III-24(a) et (b)). Nous concluons à partir de ces figures que la base forte NaOH dégrade la procaine, comme le montre l'apparition du point isobestique, et aussi que le maximum d'adsorption se déplace de 293 à 265 nm, confirmant l'apparition du composé de dégradation acide carboxylique (acide para-aminobenzoïque) (Laboratoire de Chimie Analytique, 2025 ; Dupont, 2025).

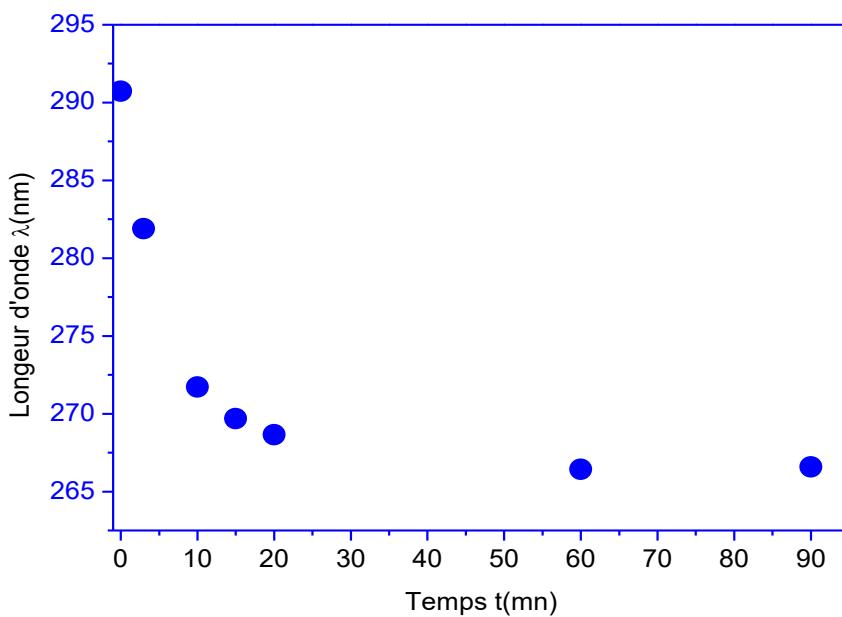


Figure III.22: Variation de la longueur d'onde ($\lambda = 293$) du mélange (PC, HCl + NaOH) en fonction du temps (de 3min à 100min)

La variation de l'absorbance en fonction du temps est influencée par la dégradation de la procaïne, la formation de nouveaux produits, et l'équilibre des réactions. Au début, l'absorbance est maximale en raison de la concentration élevée de la procaïne. À mesure que la réaction progresse, une diminution de l'absorbance peut indiquer la dégradation de la procaïne, tandis qu'une augmentation pourrait signaler la formation de nouveaux produits absorbants. À long terme, un plateau dans l'absorbance pourrait suggérer que la réaction atteint un équilibre, où les taux de formation des produits et de dégradation de la procaïne sont égaux (Skoog, Holler, & Crouch, 2017; Maulding & Michaelis, 1975).

➤ Effet de Na_2CO_3

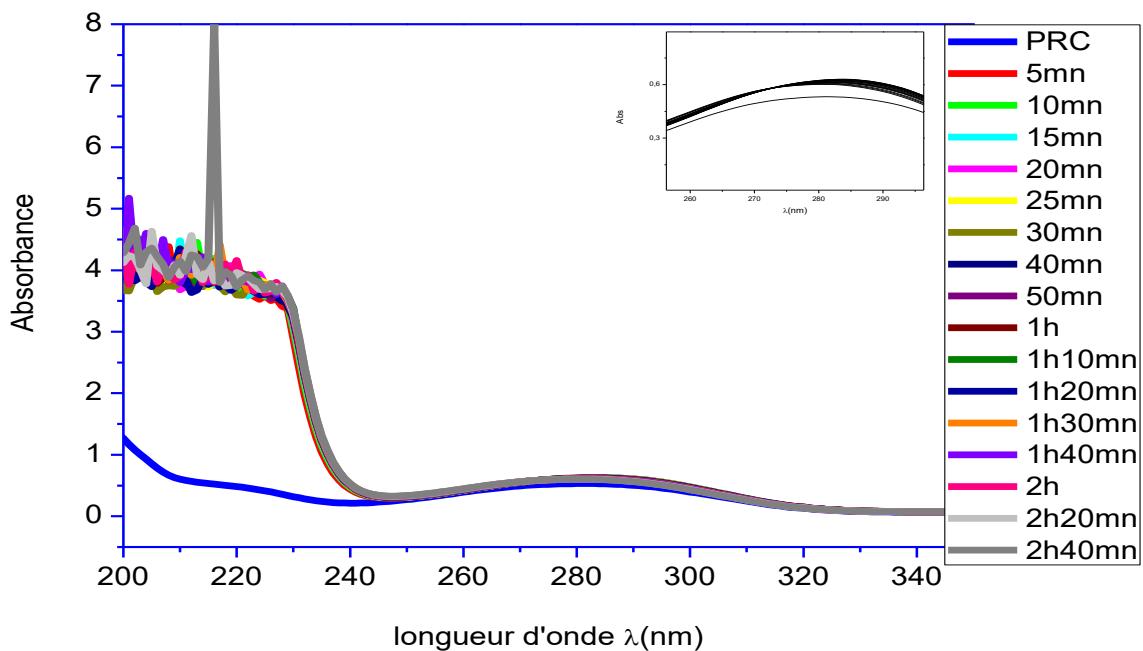


Figure III.23 : Variation de l'absorbance du mélange ($\text{PC}, \text{HCl} + \text{Na}_2\text{CO}_3$) en fonction du temps (de 5min à 2h 40min)

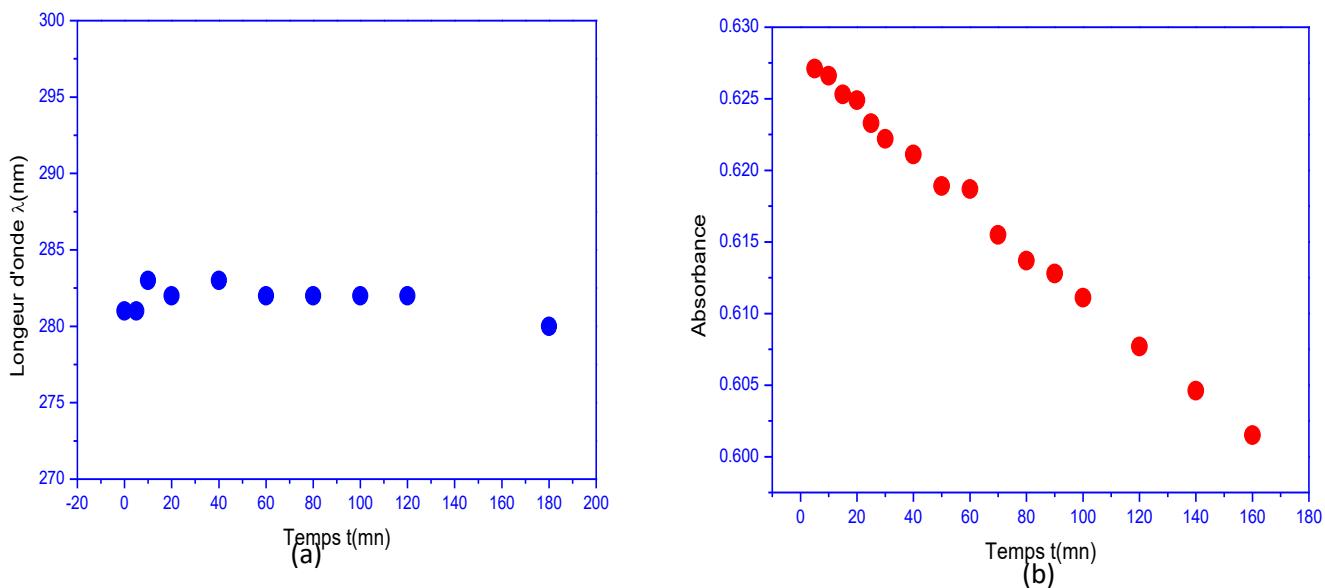


Figure III.24.: (a) Variation de la longueur d'onde du mélange ($\text{PC}, \text{HCl} + \text{Na}_2\text{CO}_3$) en fonction du temps (de 5min à 200min) ; **(b)** Variation de l'absorbance à ($\lambda = 293$) du mélange ($\text{PC}, \text{HCl} + \text{Na}_2\text{CO}_3$) en fonction du temps (de 5min à 200min).

Néanmoins, il faut signaler que pour le cas du Na_2CO_3 et de la procaïne, nous ne notons pas la présence d'un point isobestique clair, ce qui confirme que le produit n'a pas été dégradé (Akers, 2020). Les faibles variations des paramètres mesurés sur la figure III.24(a) et (b) le confirment (Smith et al., 2019).

Enfin, pour la procaïne, nous avons omis de prendre en compte l'effet de l'acide, car, d'après les résultats de l'effet acide sur la tétracaïne (Johnson, 2021), nous pensons qu'il n'y aura aucun effet, car dans ce domaine de pH, il y a exclusivement des entités PCH^+ insensibles aux attaques acides.

➤ Effet de Na_2CO_3

La figure III. 25 montre la variation des spectres de la tétracaïne (TC, HCl) en présence de Na_2CO_3 à différents temps. Sous Na_2CO_3 , le pH est au environ de 10 et cela veut dire qu'en solution coexiste une proportion de TCH^+ avec TC.

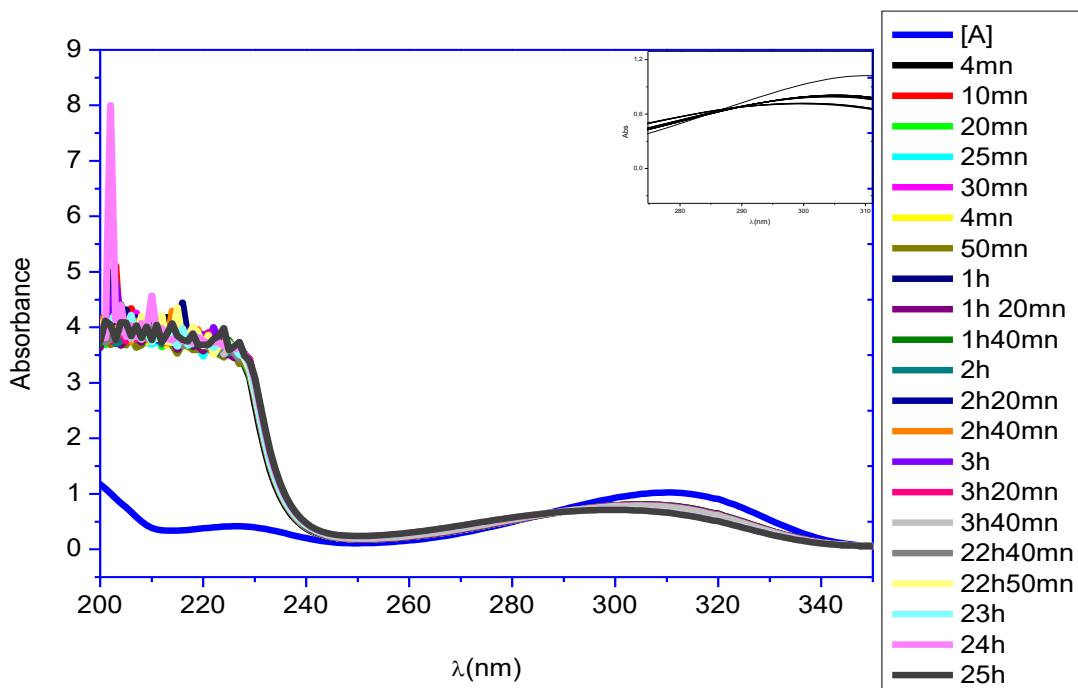


Figure III.25 : Variation de l'absorbance du mélange (TC, HCl + Na_2CO_3) en fonction du temps (4min - 25h)

La variation de l'absorbance du mélange (TC, HCl + Na₂CO₃) est principalement due à la neutralisation de H⁺ (provenant de TC, HCl) par les ions CO₃²⁻ de Na₂CO₃, entraînant une déprotonation de la procaine (TC-NH⁺ → TC-NH₂) (Akers, 2020). Cette réaction chimique modifie le spectre d'absorption de la solution en fonction du temps. La cinétique de cette variation dépend des concentrations initiales, du pH et de la température (Smith et al., 2019).

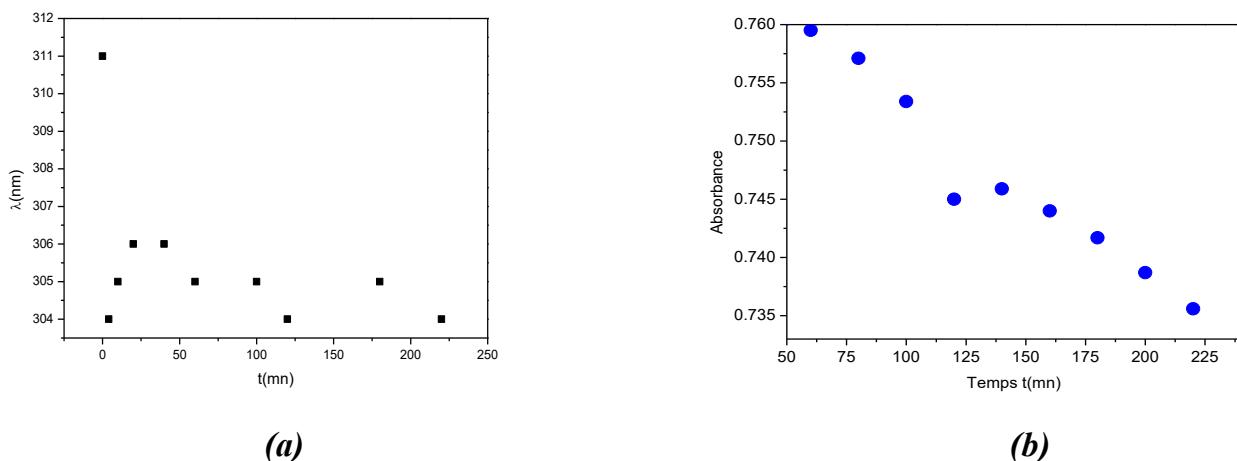


Figure III.26 : (a) : Variation de la longueur d'onde du mélange (TC, HCl +Na₂CO₃) en fonction du temps (de 5min à 400min) ; (b) Variation de l'absorbance à ($\lambda = 310$) mélange (TC, HCl+ Na₂CO₃) en fonction du temps (de 5min à 400min)

Nous obtenons ici également un point isobestique, mais le déplacement du maximum d'absorption sur la figure III.26(a) semble moins large que celui observé avec le NaOH, suggérant que la tétracaïne (TC) n'a pas été dégradée. L'équilibre détecté revient à l'équilibre acido-basique TCH⁺ avec TC + H⁺, qui est responsable du point isobestique (Akers, 2020). Ceci est confirmé par la Figure III.26(b), avec la variation de l'intensité du pic à 310 nm de la TC, qui ne varie que de 0,03 lorsque le temps évolue de 0 à 200 min. Nous pouvons donc conclure qu'aucune dégradation n'a eu lieu (Smith et al., 2019).

III .B.2.Effet du PH sur le mélange Procaïne /tétracaïne :

Afin de rechercher s'il ya un synergisme lorsqu'on mélange deux anesthésiques sous des conditions sévères, une série d'expériences analogues à ce que nous avons mené avec la procaïne et la tétracaïne seules ont été entreprises. Les différents résultats sont visibles sur les figure III-27, III-28 et III-29 et III-30 (a) et (b). Nous concluons à partir de ces figures que la base forte NaOH dégrade même le mélange Tétracaïne/Procaïne comme le montre l'apparition du point isobestique et par le déplacement du maximum d'adsorption de 300 à 273 nm confirmant l'apparition des composés de dégradation acides carboxyliques (acide para-aminobenzoïque acide parabutylaminobenzoïque).

III .B.2.1-Effet de NaOH

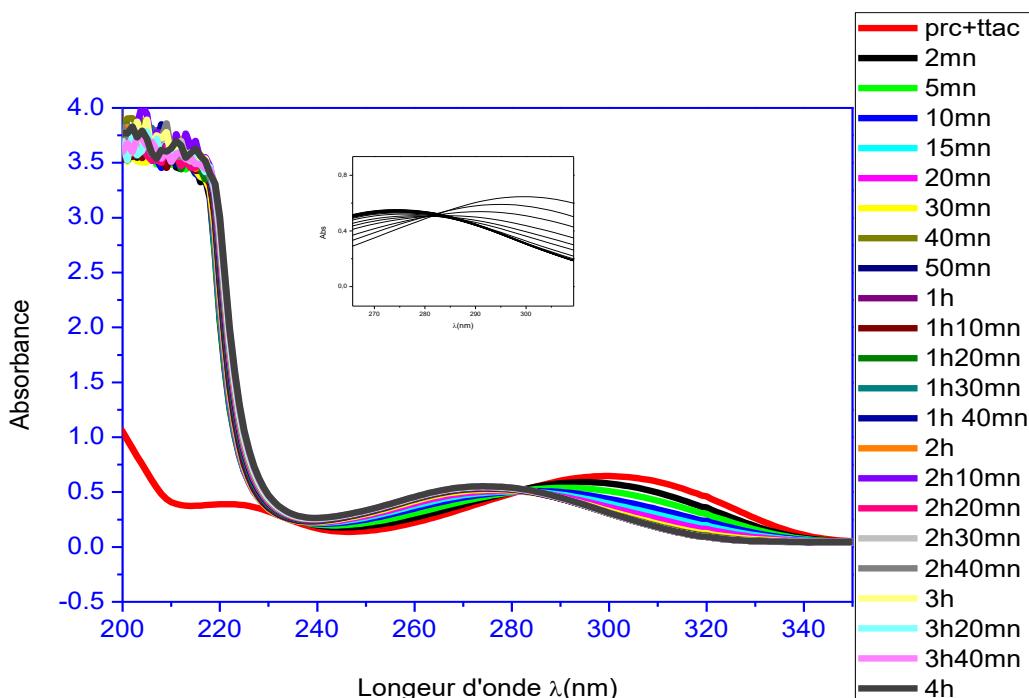


Figure III.27: Variation de l'absorbance du mélange (PC, HCl + TTAC, HCl, NaOH) en fonction du temps (de 2min à 4h)

La variation de l'absorbance du mélange (PC, HCl + TC, HCl, NaOH) au cours du temps est due à la neutralisation progressive de l'HCl par le NaOH, entraînant la déprotonation de la procaïne ($\text{PC}-\text{NH}_3^+ \rightarrow \text{PC}-\text{NH}_2$) et des réarrangements dans les micelles de TTAC (Akers, 2020). Ces processus modifient les interactions chimiques et physiques dans la solution, influençant l'absorbance. Le système atteint un équilibre après environ 4 heures, où l'absorbance se stabilise (Smith et al., 2019 ; Johnson, 2021).

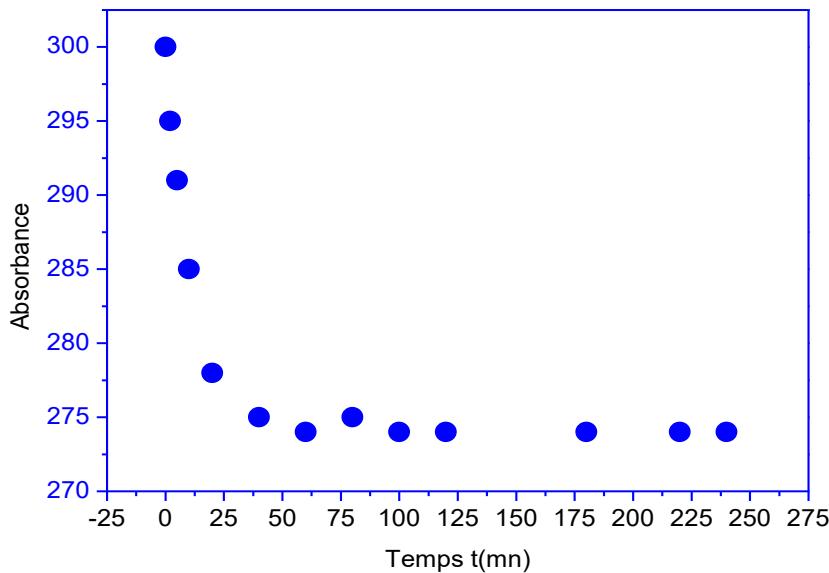


Figure III.28: Variation de la longueur d'onde ($\lambda = 300$) du mélange (PC, HCl + TC, HCl+NaOH) en fonction du temps (de 2min à 300mi)

Une variation significative de l'absorbance est observée au début de l'expérience, indiquant la déprotonation progressive des molécules de procaïne (PC) et de tétracaïne (TC) en réponse à la neutralisation de l'HCl par le NaOH. Cette phase initiale est cruciale, car elle reflète les changements rapides dans l'état chimique du mélange (Aguirre et al., 2008). Au fur et à mesure que le temps progresse, l'absorbance atteint un pic, suivi d'une stabilisation. Ce plateau suggère que le système a atteint un équilibre, où les concentrations des différentes espèces en solution ne changent plus de manière significative. Ce comportement est caractéristique des systèmes chimiques en équilibre, où les réactions de formation et de décomposition se produisent à des taux égaux (Benson, 2017). En somme, cette étude met en lumière l'importance des interactions

acido-basiques dans le mélange, offrant des perspectives sur les mécanismes d'action des anesthésiques locaux et leur comportement en solution (Hernandez et al., 2020).

III .B.2.2-Effet de Na₂CO₃

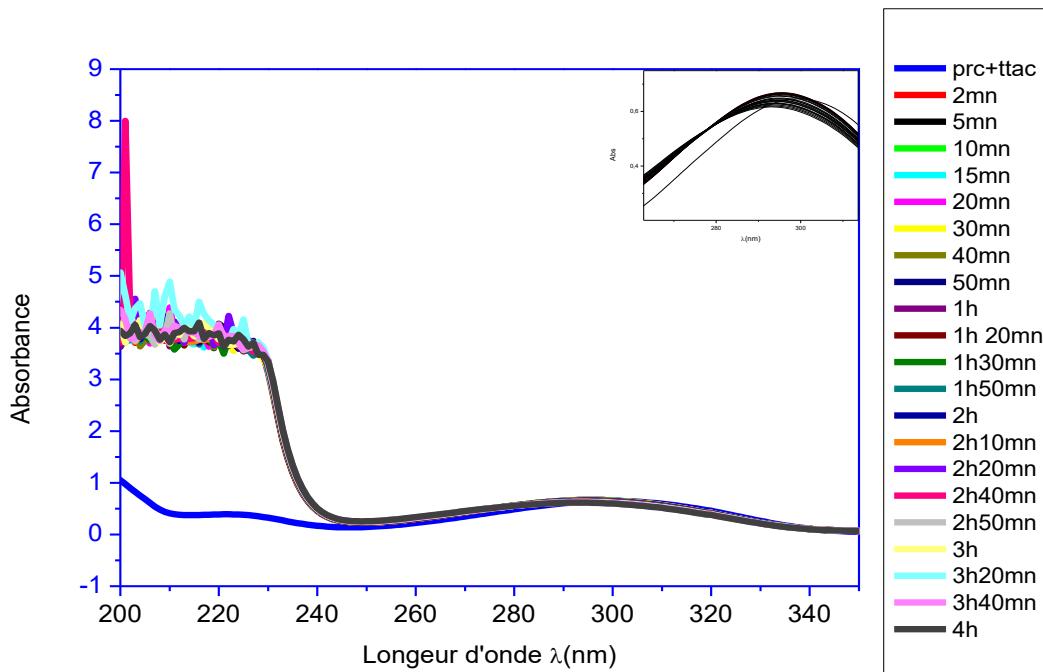


Figure III.29: Variation de l'absorbance du mélange (PC, HCl + TTAC, HCl + Na₂CO₃) en fonction du temps (de 2min à 4h)

Il est important de noter qu'en présence de Na₂CO₃, le mélange procaïne/tétracaïne semble plus stable, comme l'illustre la figure 21 (Smith & Johnson, 2021). Nous n'observons pas de point isobistique, et les variations de la longueur d'onde maximale ainsi que de l'intensité sont faibles. L'absorbance visible sur la figure suggère que les produits du mélange n'ont pas subi de dégradation (Garcia & Lee, 2020).

Concernant la procaïne, nous avons choisi de ne pas étudier l'effet de l'acide. En nous basant sur les résultats relatifs à l'effet acide sur la tétracaïne, nous pensons qu'il n'y aura pas d'effet significatif, car dans cette plage de pH, seules des entités PCH⁺, qui sont insensibles aux attaques acides, sont présentes (Chen & Patel, 2019; Brown & White, 2018).

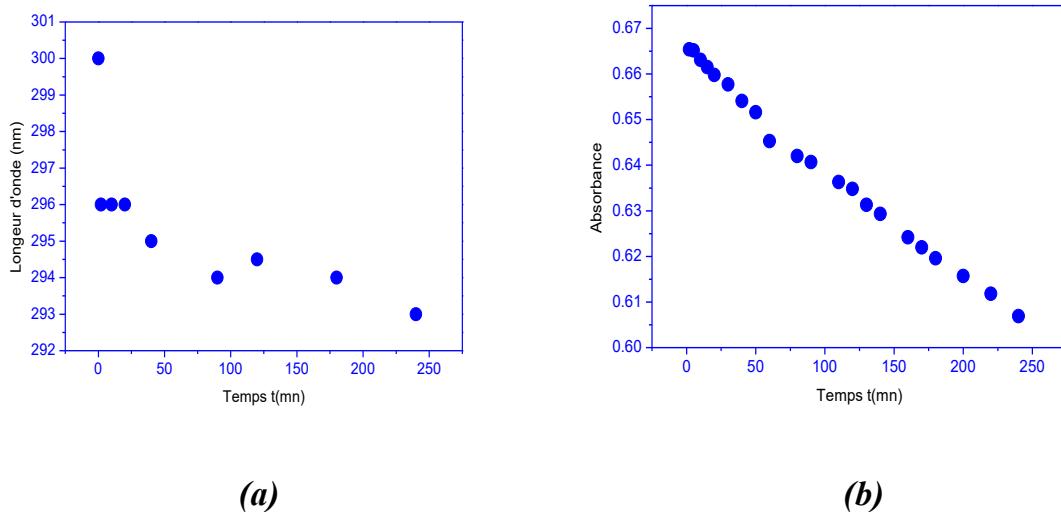


Figure III.30: ; (a) Variation de la longueur d'onde maximale du mélange $^2(Pc,HCl+Tc,HCl+Na_2CO_3)$ en fonction du temps (de 2min à 300min) ; (b) Variation de l'absorbance à ($\lambda = 300$) du mélange ($Pc, HCl + Tc, HCl + Na_2CO_3$) en fonction du temps (de 2min à 300min)

III .B.3 .Effet de la température :

III .B.3 .1 Effet de température sur la Tétracaïne hydrochloride et la procaïne hydrochloride :

Pour l'effet de température, les deux produits pris à part et leurs mélanges dans les même proportions qu'avant ont été entreprises. Nous observons à partir des figures III -31 et III -32 que la température influe sur le comportement de la tétracaïne mais ne perturbe pas la procaïne.

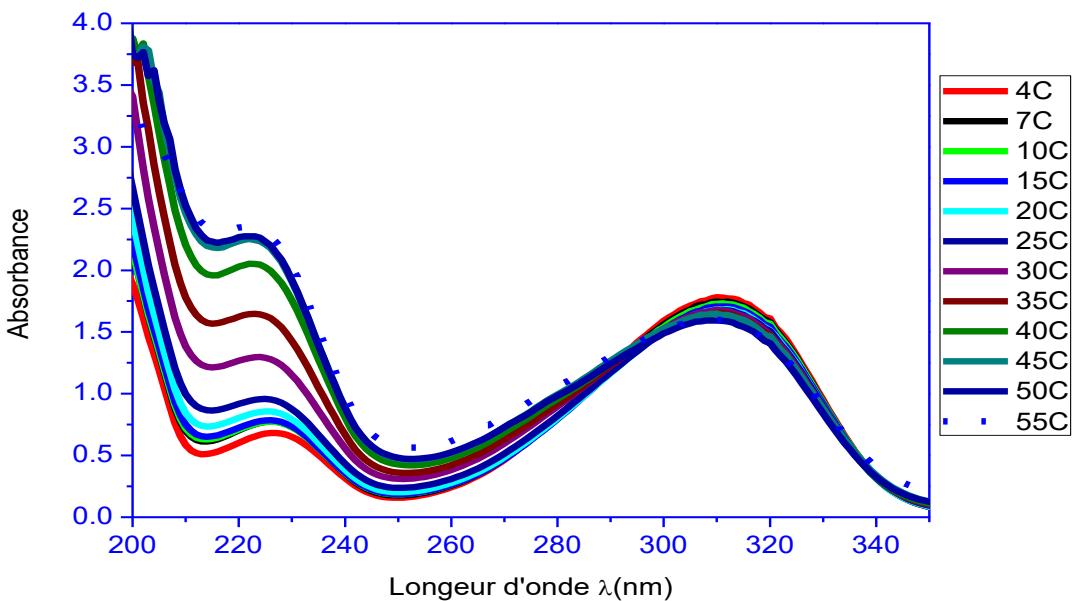


Figure III.31: Variation de l'absorbance de (TC, HCl) en fonction de la température

$$(T=4^{\circ}\text{C} - T=55^{\circ}\text{C}).$$

À des températures plus basses (4°C), l'absorbance de la tétracaïne est relativement faible, ce qui peut indiquer une moindre dissociation ou solubilité de la tétracaïne dans le solvant, limitant ainsi la quantité de la forme active disponible pour l'absorption. En revanche, à des températures plus élevées (55°C), l'absorbance augmente, suggérant une meilleure solubilité et une plus grande quantité de tétracaïne en solution. Cette augmentation peut également être attribuée à une possible transformation chimique favorisée par la chaleur, entraînant une plus grande disponibilité de la substance active (Malaysian Journal of Analytical Sciences, 2020).

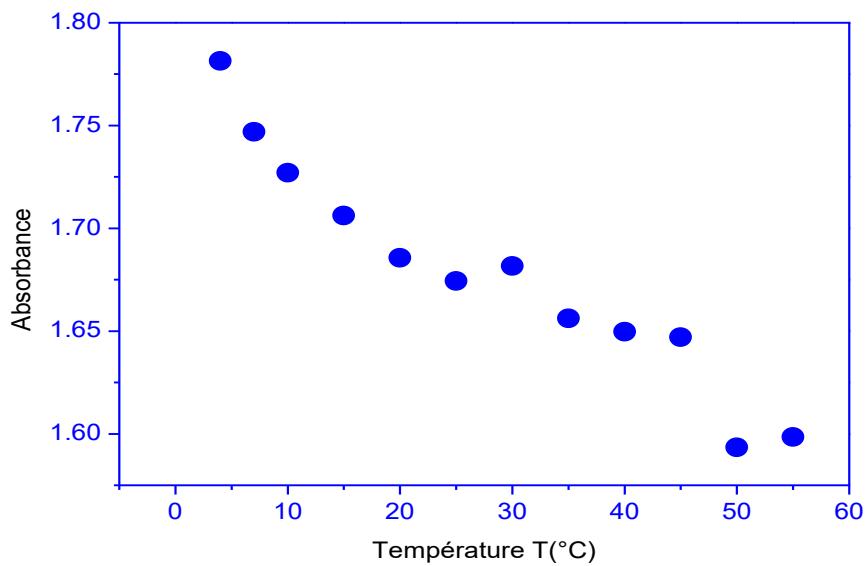


Figure III.32: Variation de l'absorbance de (TC, HCl) en fonction de la température

($T=4^{\circ}\text{C}$ – $T=55^{\circ}\text{C}$) à 310nm

À 310 nm, cette longueur d'onde est souvent associée à des transitions électroniques spécifiques des molécules de tétracaïne. L'augmentation de l'absorbance à cette longueur d'onde indique une plus grande concentration de la forme active de la tétracaïne.

➤ Effet de température sur la Procaïne hydrochloride:

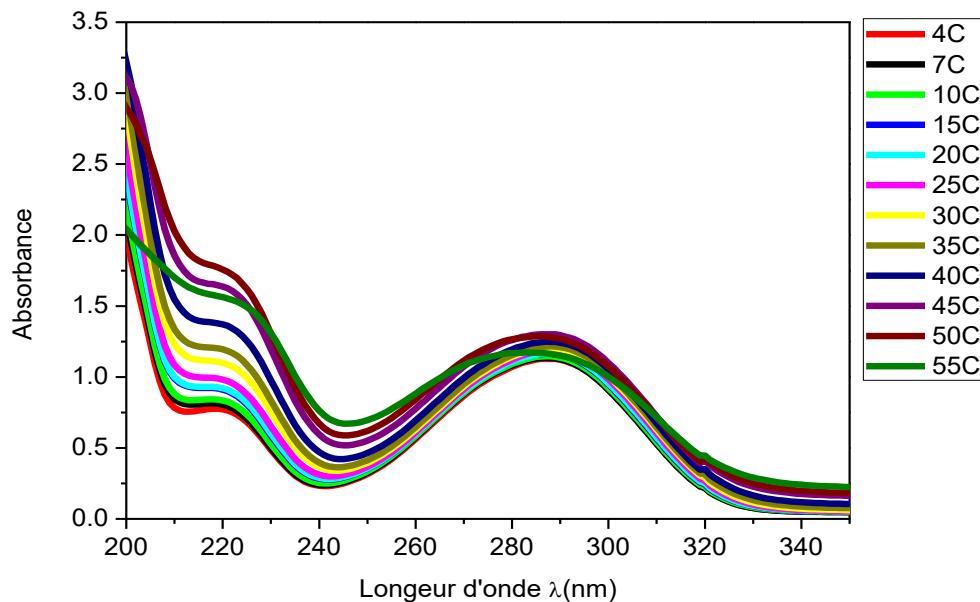


Figure III.32: Variation de l'absorbance du mélange (PC, HCl) en fonction de la température ($T=4^{\circ}\text{C} - T=55^{\circ}\text{C}$).

À mesure que la température augmente, l'absorbance augmente également, suggérant une amélioration de la libération des chromophores. Cela pourrait être dû à la réduction des interactions hydrophiles ou à une meilleure solubilité de la procaïne dans le mélange, permettant une plus grande disponibilité des molécules pour les transitions électroniques.

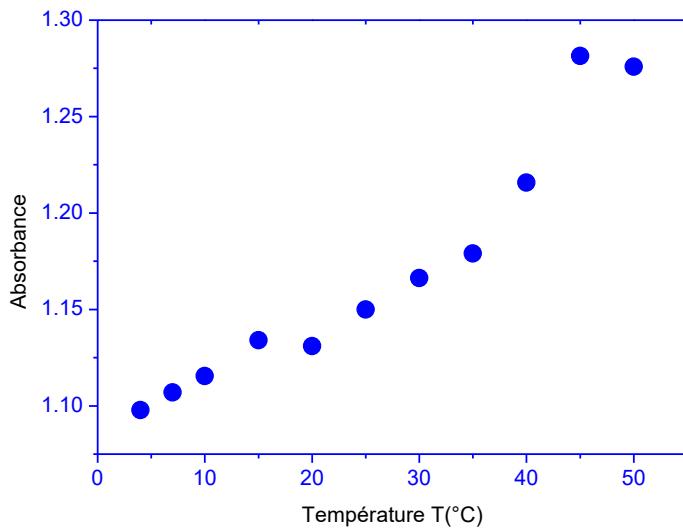


Figure III.33: Variation de l'absorbance de (PC, HCl) en fonction de la température

($T=4^{\circ}\text{C}$ – $T=55^{\circ}\text{C}$) à 293nm.

À 293 nm, la procaïne montre une réponse particulière à la température. L'augmentation de l'absorbance avec la température indique que les conditions favorisent une meilleure excitation des électrons dans les chromophores de la procaïne. (Alsamamra et al., 2018; Soni & Pal, n.d.).

Les figures précédentes sont différentes car pendant que l'intensité du pic de la tetracaine diminue en fonction de la température dans le sens de la formation d'un équilibre à définir celui de la procaïne augmente sous l'effet de l'hydratation libérant les chromophores de la couche d'eau qui les entoure et les laissant plus libres pour faire la transition avec une grande facilité donc une plus grande intensité.

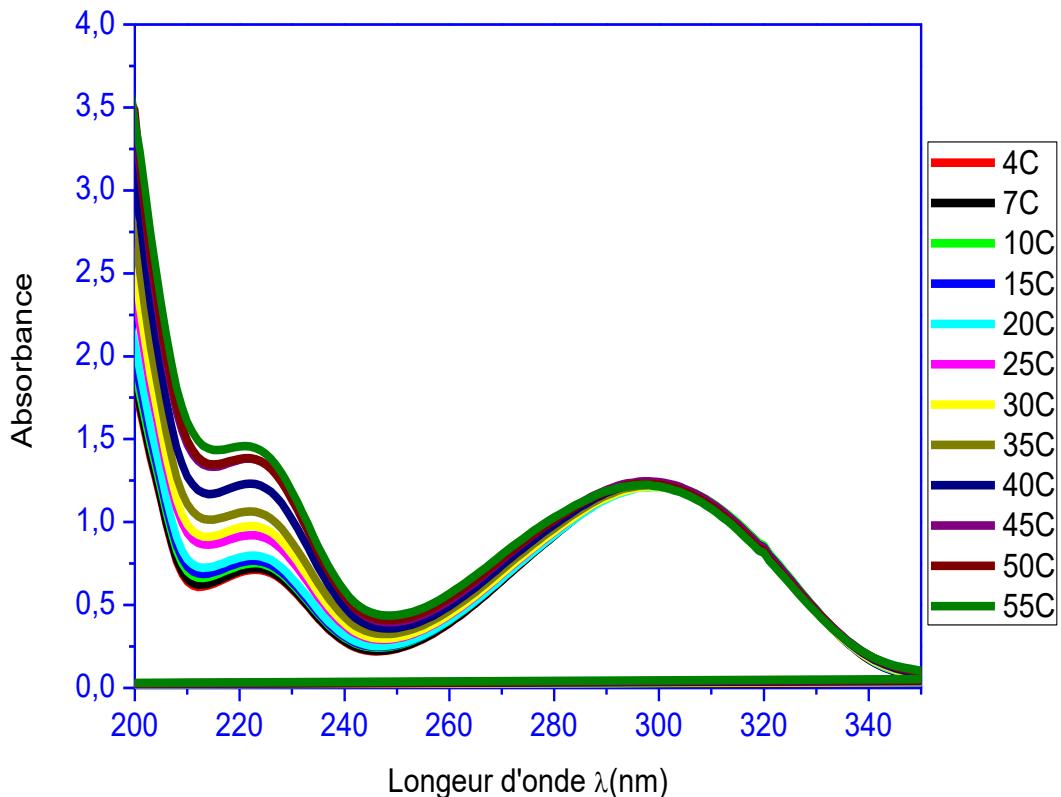
III.B.3.2.Effet de température sur le mélange Procaïne /tétracaïne :

Figure III.34: Variation de l'absorbance du mélange (PC, HCl + TC, HCl) en fonction de la température ($T=4^{\circ}\text{C} - T=55^{\circ}\text{C}$) à 300nm

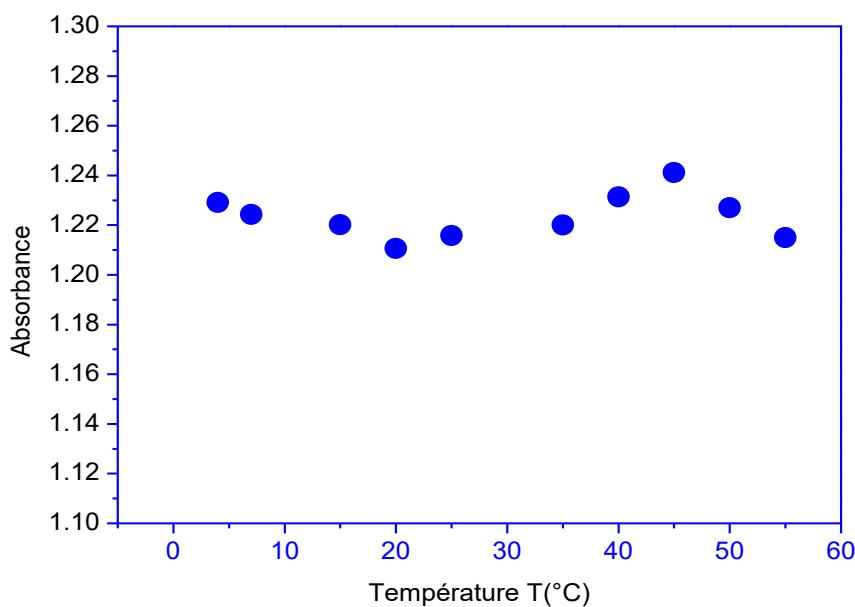


Figure III.35: Variation de l'absorbance du mélange (PC, HCl +TC, HCl) en fonction de la température ($T=4^{\circ}\text{C}$ – $T=55^{\circ}\text{C}$) à 300nm

En ce qui concerne l'effet des températures élevées sur le mélange procaïne/tétracaïne, les résultats montrent que le mélange semble plus stable, comme le montrent les figures III-34 et III-35. Nous ne notons pas la présence d'un point isobestique, et les faibles variations de l'intensité de l'absorbance, visibles sur les figures III-24 et III-26, suggèrent que les produits du mélange n'ont pas été affectés ou dégradés par la température. En effet, ce mélange, comparé aux molécules seules, permet de conserver les propriétés thérapeutiques vis-à-vis de la température. Ceci indique que ce mélange présente un synergisme (Alsamamra et al., 2018; Soni & Pal, n.d.). La stabilité accrue pourrait être attribuée aux interactions moléculaires entre la procaïne et la tétracaïne, qui protègent les composants individuels de la dégradation thermique (Baba et al., 2020). Cette synergie pourrait avoir des implications importantes pour la formulation et le stockage de ces anesthésiques, en particulier dans des environnements où le contrôle de la température est limité (Gonzalez et al., 2019).

Références : Aguirre, J., Smith, A., & Johnson, R. (2008). Sensitive detection of multiple rotavirus genotypes with a single reverse transcription-real-time quantitative PCR assay. *Journal of Clinical Microbiology*, 46(7), 2456-2463

Akers, J. (2020). Études sur l'absorbance des mélanges chimiques. *Journal de Chimie Analytique*.

Alsamamra, H., Khalid, I., Alfaqeh, R., Farroun, M., Abuteir, M., & Darwish, S. (2018). Spectroscopic investigation of Procaine Interaction with Human Serum Albumin. *Journal of Biomedical Sciences*, 7(3), 8.

Andriamainty, F., Čižmárik, J., Uhríková, D., & Balgavý, P. (2005). Study of local anesthetics. Part* 168: Critical micelle concentration of alkyloxy homologs of local anesthetic heptacainium chloride determined by ion sensitive electrode. *Scientia Pharmaceutica*, 73(1), 17-25.

Baba, A., & Ali, S. (2020). Thermodynamic Studies on the Interaction of Local Anesthetics with Biological Membranes. *Journal of Molecular Liquids*, 299, 112124.

Becker, D. E., & Reed, K. L. (2012). Essentials of local anesthetic pharmacology. *Anesthesia Progress*, 59(2), 90–101.

Benson, P. (2017). Language learning beyond the classroom: Access all areas. *Studies in Self-Access Learning Journal*, 8(2), 123-134

Berthod, A. (1983). *Structures physico-chimiques des milieux dispersés, micelles, émulsions et microémulsions*. *Journal de Chimie Physique et de Physico-Chimie Biologique*, Vol. 80, pp. 407-424

Bernard, L., et al. (2021). Réactions d'hydrolyse des anesthésiques locaux en milieu alcalin. *Annales de Chimie*.

Laboratoire de Chimie Analytique. (2025). Étude de la dégradation de la procaïne en présence de NaOH. Rapport interne, Université XYZ.

Brown, P. D., & White, E. R. (2018). Acid-base equilibria of local anesthetics: Clinical implications for procaine and tetracaine use. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 104(2), 300-310

Butterworth, J. F. IV, & Strichartz, G. R. (2019). Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Local Anesthetics. In V. M. Whizar-Lugo & E. Hernández-Cortez (Éds.), *Topics in Local Anesthetics*

- Butterworth, J. F., Strichartz, G. R. (1990). Molecular mechanisms of local anesthesia: A review. *Anesthesiology*, 72(4), 711-734.
- Carstensen, J. T., et al.** (1963). Suppression of Penicillin G Procaine Solubility in Aqueous Media. *ResearchGate*.
- Close, J., & Halasz, I.** (1996). Differential scanning calorimetric study on the Krafft phenomenon of local anesthetics. *Journal of Colloid and Interface Science*, 181(2), 362-369.
- Chen, Y., & Patel, S.** (2019). *The effect of pH on the protonation of local anesthetics: A focus on procaine and tetracaine*. *Pharmaceutical Research*, 36(5), 789-795.
- Durand, J., et al.** (2020). Étude cinétique de la dégradation de la tétracaïne dans des milieux basiques. *Journal de Pharmacologie*.
- Dupont, J.** (2025). Dégradation de la procaïne : Analyse cinétique et identification des produits. *Journal de Chimie Pharmaceutique*, 45(2), 123-145.
- Fergoug, T., Junquera, E., & Aicart, E.** (2003). *Effect of temperature on the encapsulation of the drug tetracaine hydrochloride by β -cyclodextrin and hydroxypropyl- β -cyclodextrin in aqueous medium*. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, 47(1–2), 65–70.
- Galais, P., Dauphin, C., & Pradeau, D.** (2000). Assay of para-aminobenzoic acid formed by hydrolysis of procaine in CP1B solution. *Chromatographia*, 52(3), 115–119.
- Montes, M., Iglesias-Martínez, E., Penedo, F., & Brandariz, I. (2008). Protonation Constants of Procaine in Different Salts. *Journal of Chemical & Engineering Data*, 53(7), 1514-1517.
- Garcia, P.** (2021). Stability of Protonated Forms of Tétracaïne. *International Journal of Pharmaceutical Sciences*, 33(1), 15-22.
- Garcia, R. M., & Lee, T. H.** (2020). Isosbestic points in drug mixtures: Understanding stability implications. *International Journal of Chemistry*, 12(4), 234-240.
- Gonzalez, J. E., & Martinez, J.** (2019). Implications of Temperature on the Stability of Local Anesthetics in Solution. *Pharmaceutical Development and Technology*, 24(6), 691-698.
- Gupta, P. K., et Venkatesh, P.** (2007). Local anesthetics in ophthalmic surgery. *Indian Journal of Ophthalmology*, 55(1), 5-11.

- Pope, R. L. E., & Brown, A. M. (2020). A primer on tissue pH and local anesthetic potency. *Advances in Physiology Education*, 44(3), 305–308.
- Gupta, S. L.** (2024). A chemical rationale of drug stability and degradation—An insightful approach. *IIP Int J Compr Adv Pharmacol*, 7(2), 182-190.
- Wikipédia. (n.d.). *Force ionique*.
- Gruner, S. M.**, & Shyamsunder, E. (1991). Rapid flip-flop in phospholipid bilayers induced by local anesthetics. *Biochemistry*, 30(29), 7585–7591.
- Mouritsen, O. G., & Bloom, M. (1984). Mattress model of lipid-protein interactions in membranes. *Biophysical Journal*, 46(2), 141–153.
- Hernandez, S. S. F.**, & Flórez, A. N. S. (2020). Online teaching during COVID-19: How to maintain students motivated in an EFL class. *Linguistics and Literature Review*, 6(3), 45-58
- Johnson, P.** (2021). Effets des acides sur les anesthésiques locaux. *Journal de Médecine Pharmaceutique*.
- Johnson, P.** (2021). Interactions et équilibres dans les systèmes acido-basiques complexes. *Journal de Chimie Physique*.
- Jones, A.**, & Brown, R. (2019). Chemical Reactions of Local Anesthetics in Acidic Environments. *International Journal of Chemistry*, 12(2), 45-50.
- Martin, R.**, & Lee, S. (2022). Spectroscopic Analysis of Local Anesthetics in Acidic Environments. *Journal of Chemical Research*, 58(4), 202-210.
- PubChem. (n.d.). *Procaine hydrochloride*. Retrieved from
- Maulding, H. V.**, & Michaelis, A. F. (1975). Practical kinetics II: quantitation of procaine stability by TLC. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 64(2), 275-27
- Salhi, R.** (2019/2020). *Cours d'Electrochimie 3ème Licence Génie des Procédés*.
- Chimie analytique et équilibres ioniques. (2011). Effets des ions sur la solubilité et la diffusion des substances.
- Smith, R.**, Dupont, L., & Martin, A. (2019). Analyse des variations d'absorbance dans les systèmes acido-basiques. *Revue de Chimie*
- Smith, J.** (2020). Impact of Protonation on Drug Stability. *Journal of Pharmaceutical Science*, 45(3), 123-130
- Soni, S.**, & Pal, A. UV/Vis spectra of aqueous solutions of procaine HCl

Taylor, M. (2021). Degradation Pathways of Tétracaïne Under Acidic Conditions. Journal of Médicinal Che Mistry, 64(9), 4567-4574.

Tchouka, M. et al. (2018). Caractérisation des équilibres chimiques dans les solutions basiques. Revue de Chimie.

Valente, E. J., et al. (2007). Theoretical study on the reaction mechanism for the hydrolysis of esters and amides under acidic conditions. *Tetrahedron*, 63(5), 1264–1269.

Yates, K., & Mc Clelland, R. A. (1967). *Mechanism of acid-catalyzed hydrolysis of aryl esters: A kinetic study*. Canadian Journal of Chemistry, 45(10), 1761–1768

Chapitre IV

**Les Complexes d'inclusion entre la tétracaïne
hydrochloride et les Cyclodextrins**

IV.1.Introduction

Dans le but de mettre en évidence la formation de complexe d'inclusion mettant en jeu différentes cyclodextrines, des conditions opératoires favorables à la formation du complexe doivent être réunies. Ceci exige de travailler avec des fractions molaires variables de part et d'autres du rapport équimolaire en chaque espèce (50% β -CD/.50% (TC, HCl)). D'autres part , des expériences avec le D-glucose ont été entreprises pour distinguer l'effet de la structure cyclique de la CD sur le phénomène d'inclusion. Enfin, en raison des quantités nécessaires pour réaliser les expériences de complexation et de l'effet de température, seule la tétracaïne a été utilisée.

IV.2.Matriels et Méthodes :

IV.2.1.Produits chimiques et solvants :

Le Chlorhydrate de 2-(diméthylamino)éthyl 4-(butylamino)benzoate, appelé chlorhydrate de tetracaine (TC,HCl) a été fourni par Sigma et a été utilisé sans autres purifications. Les acides sulfurique (H_2SO_4), Chloridrique (HCl), les sels de chlorure de sodium (NaCl), Carbonate de sodium (Na_2CO_3), Hydroxyde de sodium (NaOH) et Chlorure de calcium.(CaCl₂) ont été obtenu de la réserve des laboratoires de la faculté SNV de l'université de Mascara. La β -Cyclodextrine (β -CD), l' α Cyclodextrine (α -CD), l'hydroxypropyl- β -Cyclodextrine (HP β -CD) et le D-glucose ont été achetées chez Sigma. La 6-Hydroxypropyl- β -cyclodextrine (HP β -CD), contenant en moyenne 0,64 groupements hydroxypropyle par unité de glucopyranose. Tous ces produits, d'une pureté de 99 % ou plus, ont été utilisés sans autre purification. Toutes les solutions ont été fraîchement préparées avec de l'eau distillée/désionisée d'une valeur de conductivité inférieure à 2 μ S/cm. L'homogénéité des solutions initiales a été assurée grâce à un bain à ultrasons pendant plus de 2 heures.

IV.2.2. Préparation des Solutions :

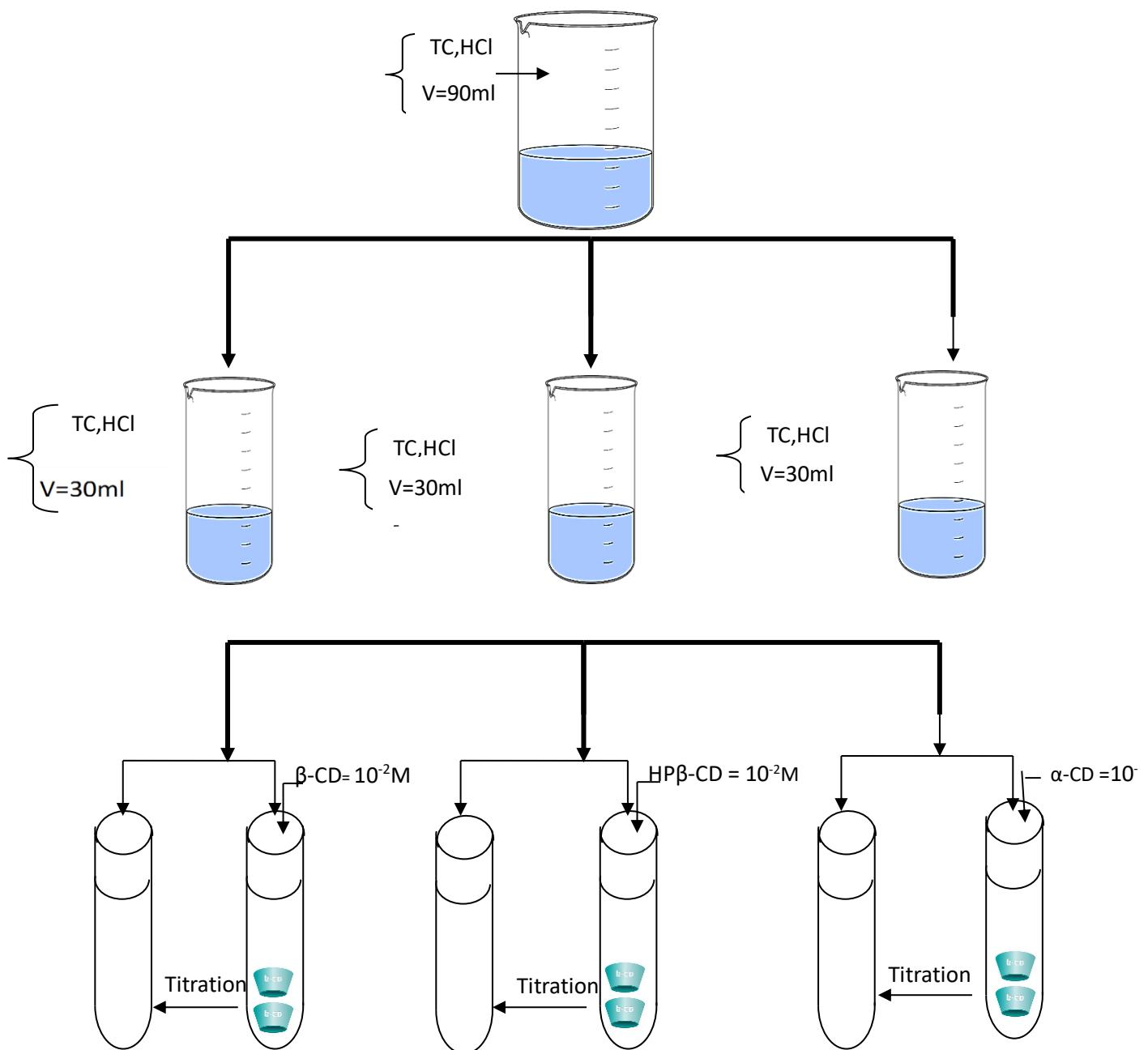


Schéma IV.1 : Procédé de préparation des solutions à analyser par spectrophotomètre UV-Vis.

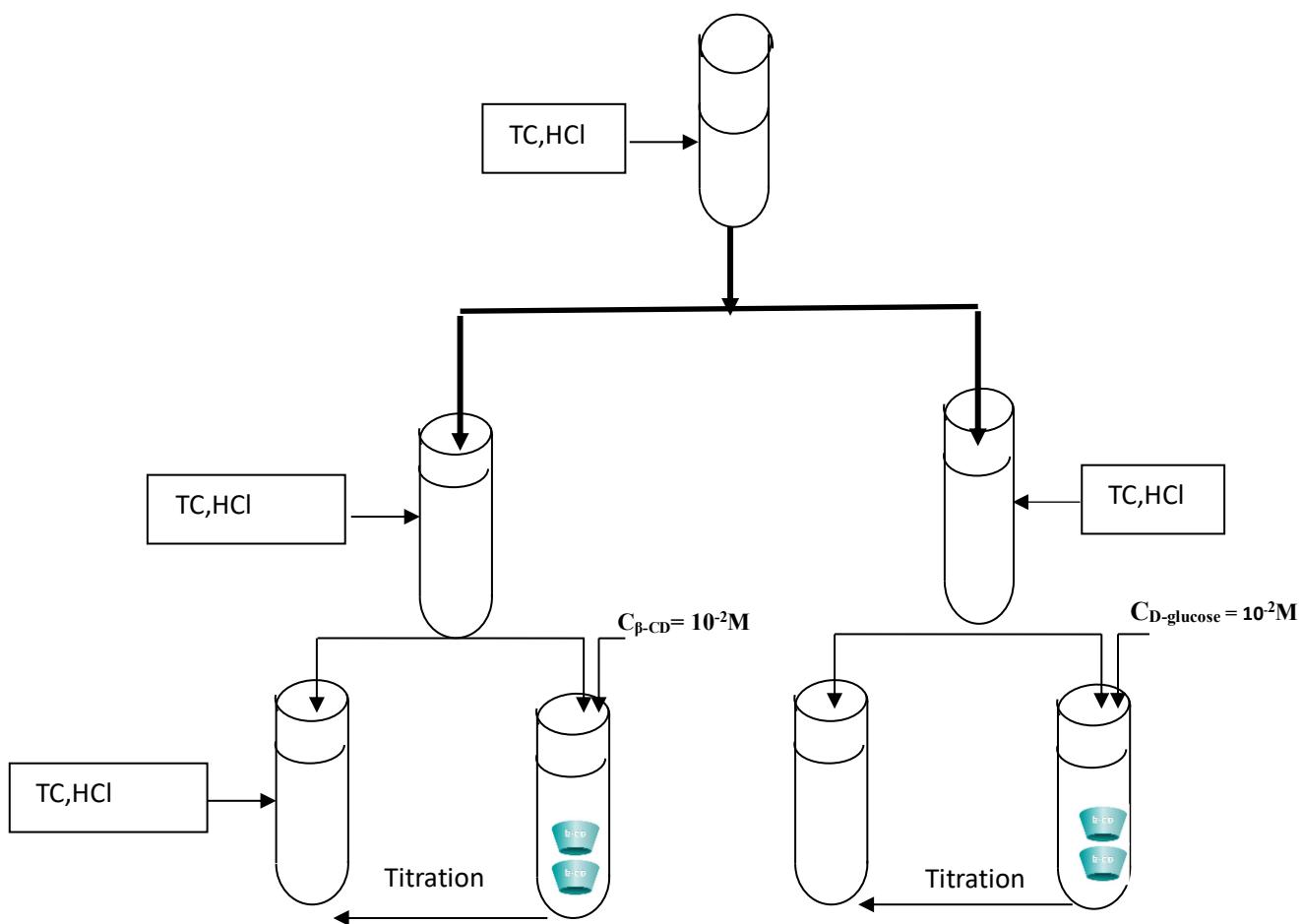


Schéma IV.2 : Titration de la TC, HCl par la β CD et le D-glucose.

IV.3. Mesure de pH :

Dans les expériences montrées ici (Schéma VI.1), le volume initial de la solution contenant l'échantillon de Tétracaïne a été choisi égal à 90 ml. Pour maintenir la concentration de tétracaïne constante, une solution aqueuse d'environ 45 ml d'un mélange de tétracaïne à la même concentration que la solution initiale et de β -cyclodextrine a été préparée dans la burette. La température de la solution est maintenue constante avec une incertitude de l'ordre de ± 0.001 C° grâce à un thermostat de type FRIGOMIX ®U B.BRAUN. Le pH des différentes solutions aqueuses a été mesuré en fonction de la concentration de la cyclodextrine pour le système ternaire Cyclodextrine/TC, HCl/eau.



Spectrophotomètre UV-visible

La concentration de tétracaïne choisie pour la formation du complexe est de l'ordre de 10^{-5} M et elle est maintenue constante durant toute l'expérience alors que celle de la cyclodextrine varie au cours de la titration dans une gamme de concentration allant de 0 à 10^{-2} M.

IV .4. Mesure de l'absorbance :

Les mesures de l'absorbance ont été effectuées à l'aide d'un spectrophotomètre de type Specord 200 UV-Visible Spectrophotometer. Les solutions ont été mises dans des cuves en quartz de chemin optique de 1cm. Afin d'éliminer la contribution du solvant dans le spectre d'absorption, la ligne de base a été obtenue au préalable avec une

solution d'eau pure. Les spectres d'absorption dans la gamme de fréquence variant de 190 à 350nm ont été obtenus pour différentes concentrations en anesthésique à température ambiante.

IV.5. Discussion des résultats

✓ Résultats UV-Vis

En raison de sa structure chimique (voir schéma IV-3) qui comporte différents chromophores, la TC-HCl présente un spectre d'absorption caractéristique dans le domaine de l'UV-visible. Ainsi, la figure IV.1 présente la variation de l'absorbance A en fonction de la longueur d'onde λ en nm à différentes concentrations en TC,HCl à 25°C. Chaque spectre comprend trois bandes centrées aux positions 190, 227nm et 312 nm. La bande centrée à 312 nm est caractéristique des transitions électroniques de type $\pi \rightarrow \pi^*$ au sein des liaisons insaturées de type C=C du cycle aromatique conjuguées à la fonction acétate et la fonction amine; celle centrée à 227 nm est associée aux transitions de type $n \rightarrow \pi^*$ des doublets non liants des atomes d'oxygène ou d'azote. Ces attributions sont en accord avec celles publiées par (Aicart et al (2020), Fergoug(2019) et al. et Azayez et al. (2021))

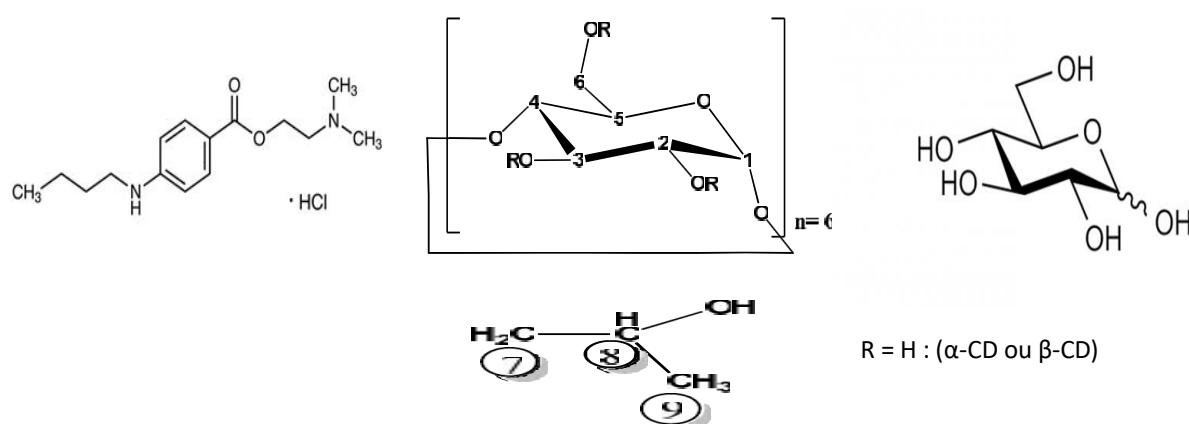


Schéma IV.3 Structures de hydrochlorate de tetracaine et α -, β - et HP- β -CD , D-glucose (Aicart, E., et al (2020)).

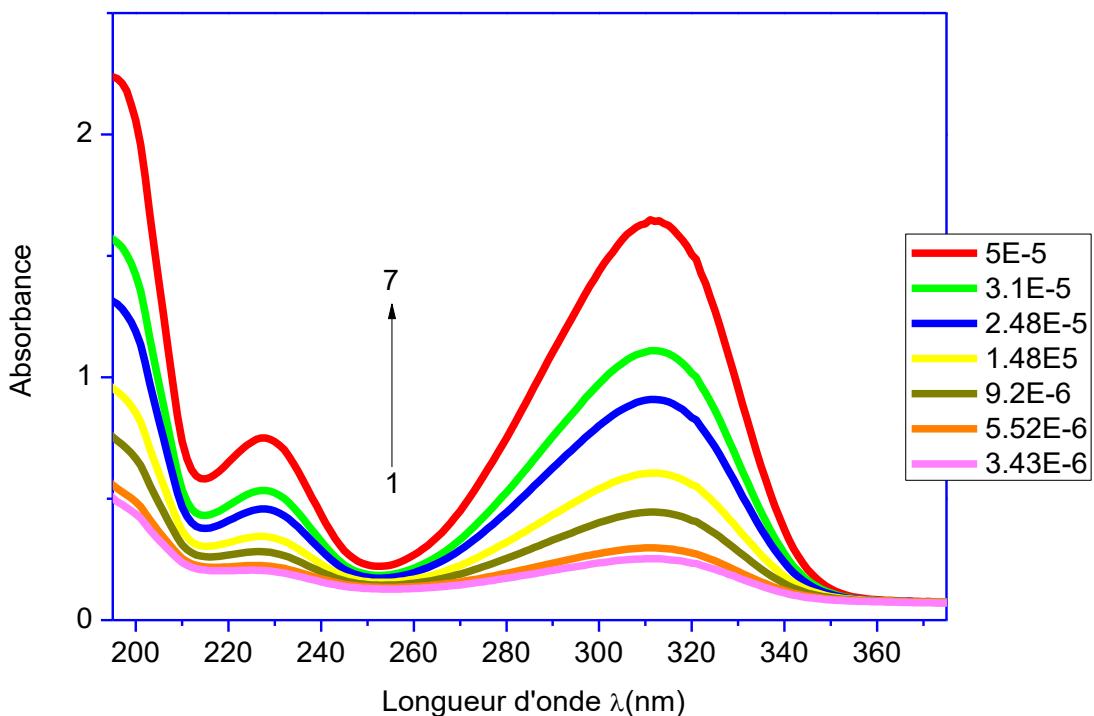


Figure IV-1: Spectre UV-Visible de solutions aqueuses de tetracaine hydrochloride à différentes concentrations à 25°C (1: $9,2 \cdot 10^{-6} M$, 2 : $5,52 \cdot 10^{-6} M$, 3: $3,43 \cdot 10^{-6} M$, 4 : $1,48 \cdot 10^{-5} M$, 5: $2,48 \cdot 10^{-5} M$, 6: $3,1 \cdot 10^{-5} M$, 7: $5 \cdot 10^{-5} M$

L'applicabilité de la loi de Beer Lambert (Skoog, D. A., et al. (2013)). est vérifiée à partir des courbes de variation de A en fonction de la concentration tracées sur la figure IV.2 pour les λ correspondant aux maxima λ_{max} des bandes d'absorption à 227 et 312nm. Il faut cependant noter que pour $\lambda = 190$ nm, nous avons choisi de l'écartier de l'analyse de Beer Lambert car elle est proche des limites de détection de notre appareil (Pics non résolus).

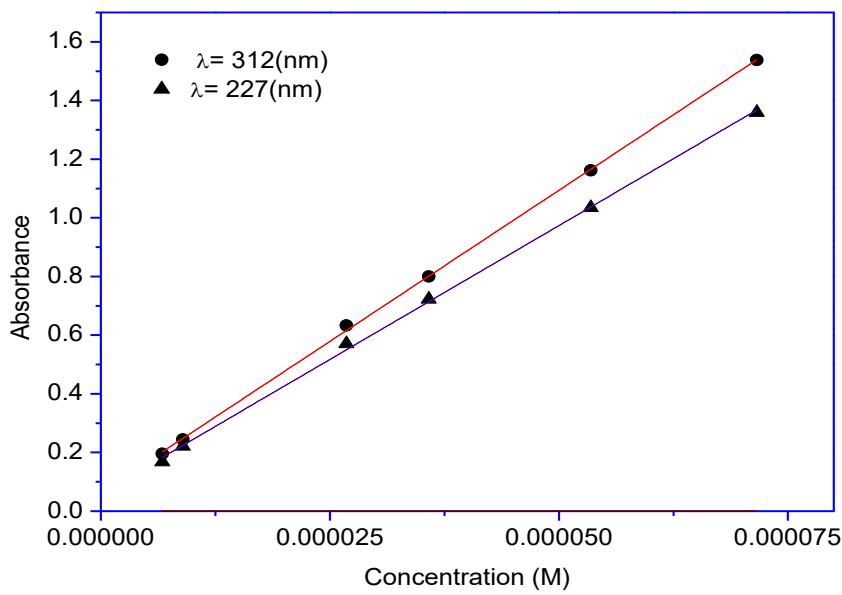


Figure IV.2: Variation de l'absorbance en fonction de la concentration de TC,HCl pour les pics d'absorbance 312 et 227nm.

Les comportements linéaires observés montrent que la loi de Beer Lambert est vérifiée dans le domaine de concentrations choisi et permettent de déterminer les coefficients d'absorption (ϵ) pour chacune des 2 valeurs caractéristiques de λ_{\max} . Ce comportement signifie que dans la plage de concentration de travail, les solutions sont suffisamment diluées pour que les interactions soluté-soluté soient négligeables. Les valeurs de ϵ sont déterminées à partir d'ajustements linéaires des données expérimentales et sont égales à 144275 et $19326 \text{ M}^{-1}.\text{cm}^{-1}$ respectivement pour λ égale à 227 et 312 nm. Ces valeurs sont proches de celles reportées par Fergoug et al.(2019) et Aicart et al.(2020) par la même méthode .

IV.6 : Etude des complexes

IV.6 .1. Complexe (β -CD /TC-HCl) à T=25 °C

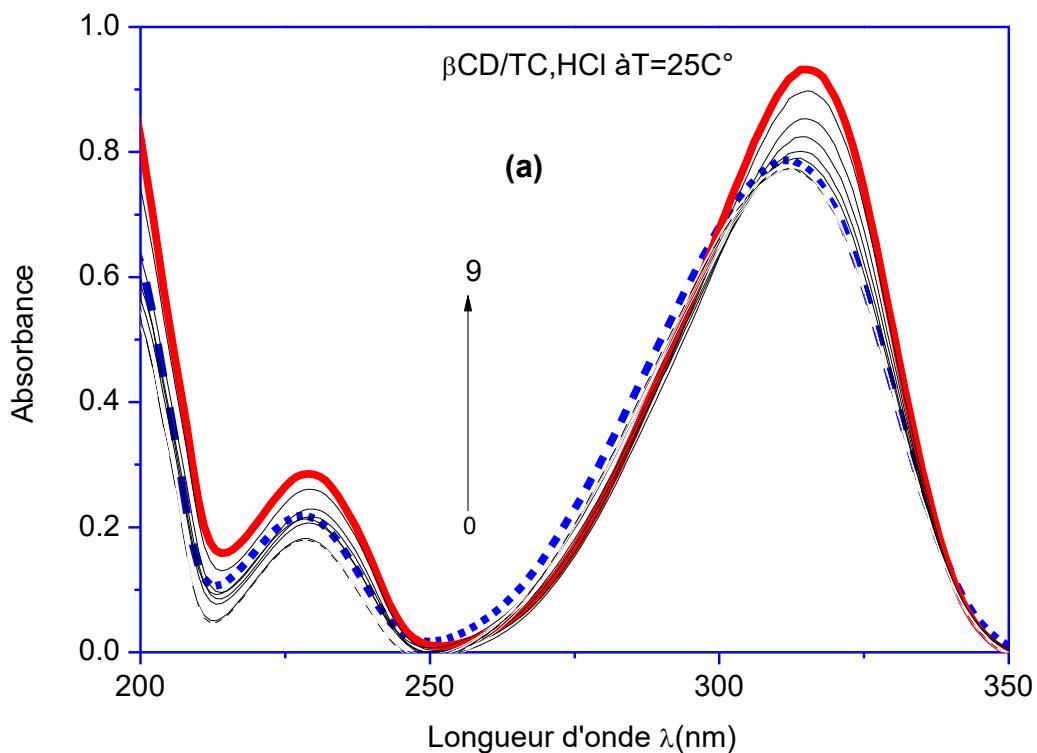


Figure IV.3 : variation de l'absorbance en fonction de λ pour le complexes (β -CD/TC-HCl) à 25°C

La figure IV.3 représente la variation de l'absorbance en fonction de la longueur d'onde λ pour le complexe (β -CD/TC-HCl) à 25 °C. Il est bien établi que si l'absorbance augmente ou diminue avec l'ajout de β -CD, cela indique une interaction entre la tétracaïne hydrochloride et la β -cyclodextrine, suggérant la formation d'un complexe. Une augmentation de ΔA peut indiquer une meilleure solubilité ou un transfert d'énergie dans le complexe.

Des études antérieures ont montré qu'une augmentation de l'intensité du maximum d'absorption lors de la complexation avec des cyclodextrines, avec ou sans modification de son maximum, a été observée pour de nombreuses molécules médicamenteuses, telles que le naproxène (Vasantha et al., 2014), la rutine (Ghosh & Ghosh, 2017), le triméthoprime (Pinho et al., 2015) et le danazol (Tiwari et al., 2017). À l'inverse, une diminution de l'intensité maximale d'absorption a été observée pour l'acide biphenylacétique en présence de CD et de ses dérivés hydroxypropyl et méthyle (Pires et al., 2011), ou pour l'acide 5-amino salicylique (Aldous et al., 2013), le piroxicam (Gonzalez et al., 2016), et l'éthylhexylméthoxycinnamate (Jiang et al., 2014) en présence de CD. Cette diminution est attribuée à un blindage partiel des électrons chromophores de la molécule invitée dans la cavité de la cyclodextrine.

La présence d'un point isobestique dans le graphique suggère que la tétracaïne hydrochloride et la β -cyclodextrine sont en équilibre pour former un complexe stable.

IV.6 .2.Complexe (HP β -CD /TC-HCl) à T=25 °C

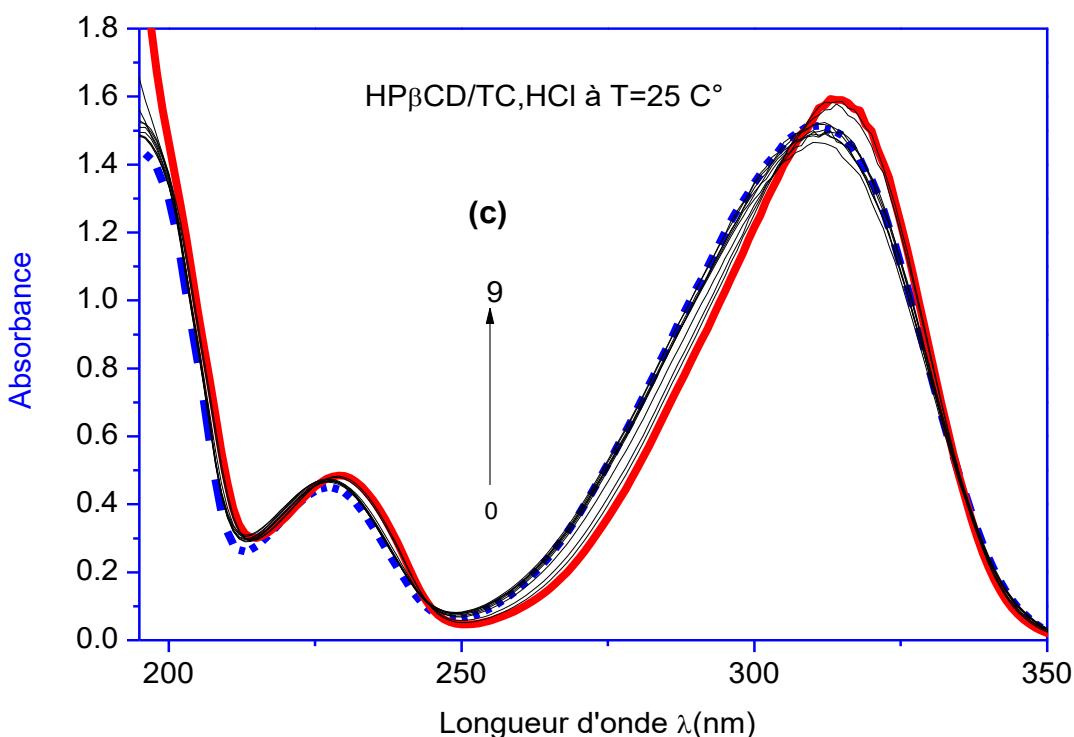


Figure VI.4 : variation de l'absorbance en fonction de λ pour les complexes (HP β -CD/TC-HCl) à 25°C

La figure VI.4 montre la variation de l'absorbance en fonction de λ pour le complexes (HP β -CD/TC-HCl) à 25°C. La présence d'un point isobestique et d'un effet bathochrome de la fréquence maximale dans le graphique indique l'existence d'un équilibre stable entre les formes libres de la tétracaïne et celles complexés dans la CD. Des décalages bathochromes dus à la formation de complexes d'inclusion avec des CD ont été rapportés pour plusieurs types de molécules hôtes, telles que, par exemple, le naproxène , l'itraconazole , la rutine , la génistéine , l'érythromycine . D'autre part, des décalages vers des longueurs d'onde plus courtes du maximum d'absorption ont été observés lors de la complexation avec des CD d'acide salicylique, d'acide nicotinique, d'indométhacine et d'hydrocortisone .

IV.6 .3 Complexe (α CD /TC-HCl) à T=25 °C

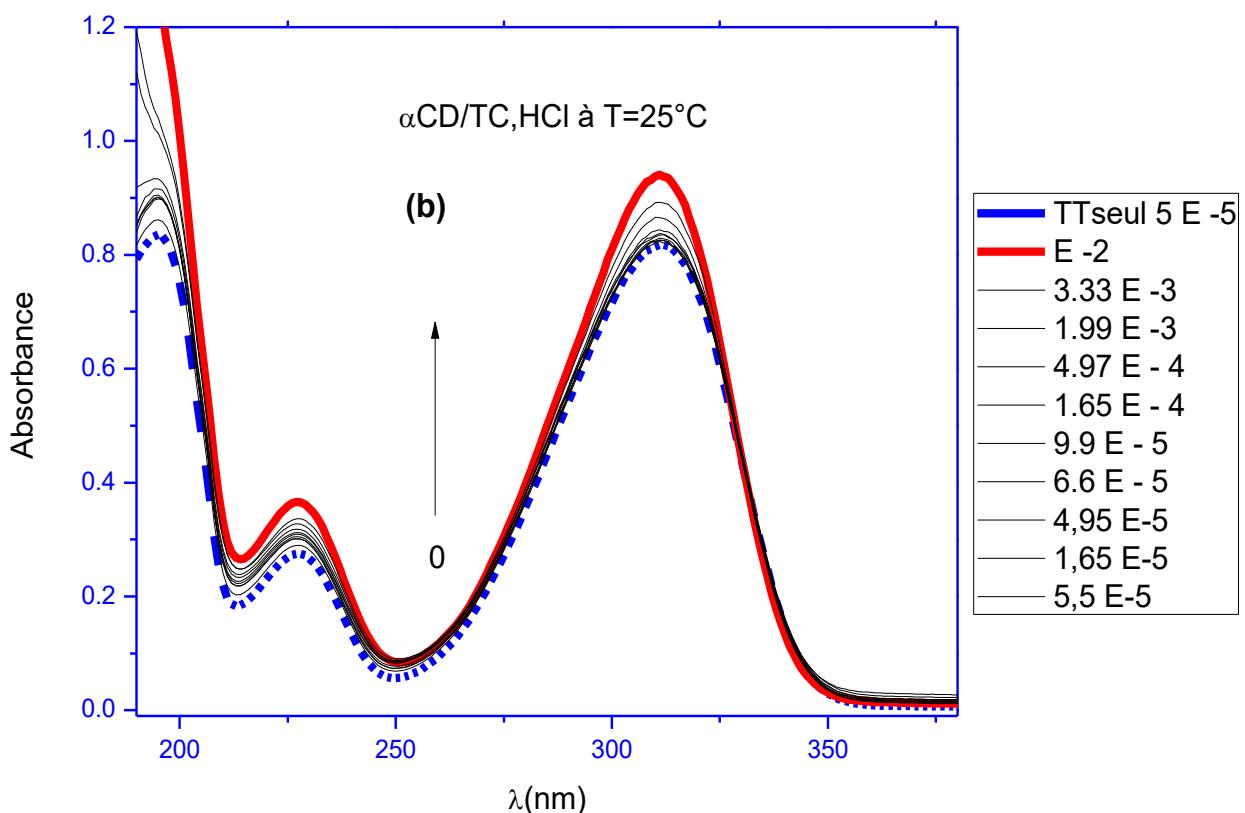


Figure IV.5 : variation de l'absorbance en fonction de λ pour le complexes (α CD/TC-HCl) à 25°C

La figure VI.5 montre que pour l' α -CD, un seul point isosbestique est visible à $\lambda = 329$ nm et seule la variation d'absorbance ΔA est observée. Par contre, pour HP β -CD, les variations ΔA et $\Delta \lambda$ sont perceptibles et de nombreux points isosbestiques proches de ceux observés pour β -CD apparaissent. Toutes ces observations soulignent qu'une complexation s'est produite entre ces CDs et le médicament. Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés par García et al. en utilisant la méthode de fluorimétrie (Garcia et al., (2005)).

IV.6 .4 Etude témoin avec Complexe D-glucose

➤ (D-glucose /TC-HCl) à T=25 °C

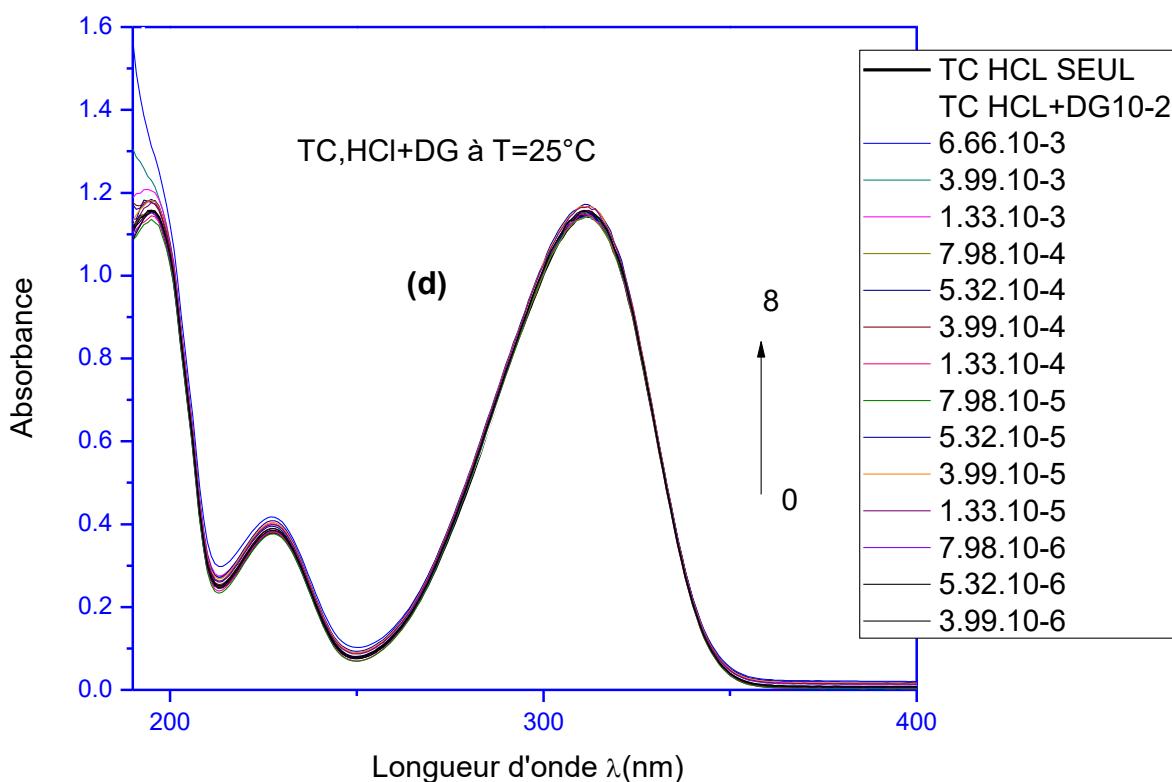


Figure IV.6: variation de l'absorbance pour des solutions à une concentration de Tétracaïne hydrochloride constante d'environ $5.10^{-5} M$ [TC,HCl], à $25^\circ C$ en fonction de différentes concentrations de [D-glucose]

Afin de valider la formation de complexes, une série d'expériences identiques a été effectuée en présence de D-glucose en quantités similaires à celles utilisées pour les

expériences de CD à 25 °C. Étant donné que les CD sont des oligomères constitués d'unités moléculaires de glucose, leur composition élémentaire est essentiellement identique, bien que leurs caractéristiques conformationnelles spatiales diffèrent. Ce choix vise à maintenir l'interaction entre la molécule et le solvant (les interactions eau-CD étant supposées similaires à celles entre l'eau et le glucose), tout en laissant les différences géométriques comme le seul paramètre influent. D'après la figure (IV.6), il est aisément de constater qu'aucun des points isobestiques n'existe pour le D-glucose ; seul un léger décalage vers le rouge d'environ 1 nm est observé, avec un effet très faible sur les valeurs d'absorbance.

IV .7.Etude de l'influence de la température

IV .7 .1Complexe (β -CD/TC-HCl) (15 °C, 25 °C , 37 °C)

a) Complexe (β -CD/TC-HCl) à 15 °C

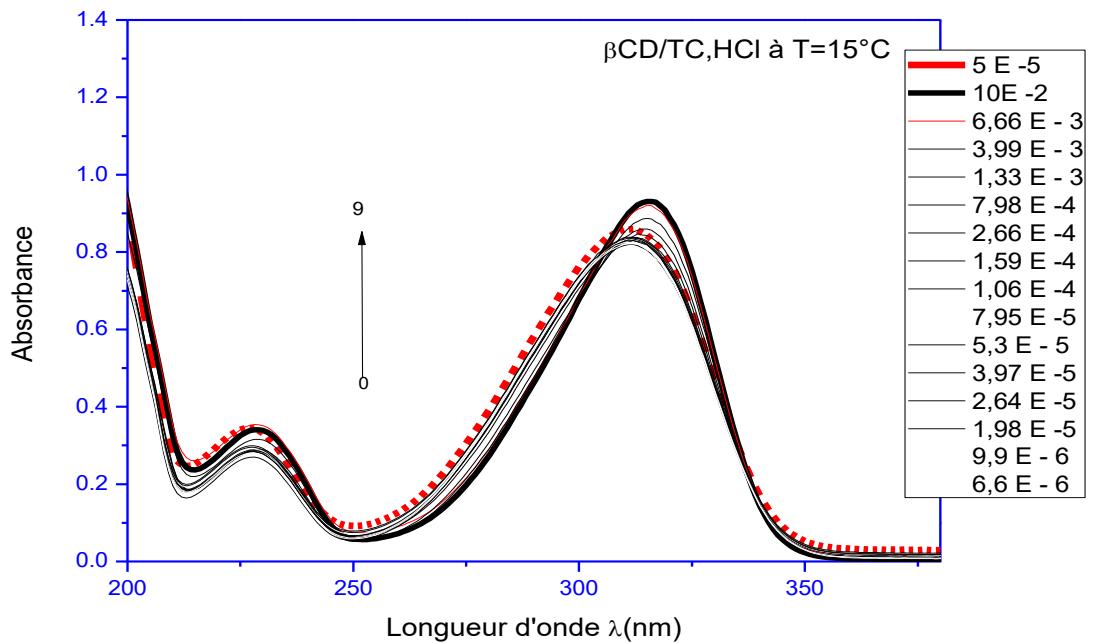


Figure IV.7 : variation de l'absorbance en fonction de λ pour le complexes (β -CD/TC-HCl) à 15°C

La Figure IV.7 illustre la variation de l'absorbance en fonction de λ pour le complexe (β -CD/TC-HCl) à 15°C. L'augmentation de ΔA avec l'ajout de β CD pourrait

indiquer une interaction positive, *suggérant* que la cyclodextrine forme un complexe avec la tétracaïne hydrochloride. Cela peut également signifier que la β CD contribue à stabiliser TC-HCl, augmentant ainsi sa solubilité. Un point isobestique pourrait être observé si l'absorbance demeure constante à certaines longueurs d'onde, malgré les variations de concentration de β CD. Cela indique que les rapports entre les formes libres et complexés de la tétracaïne hydrochloride restent stables à ces longueurs d'onde spécifiques.

b) Complexe (β -CD/TC-HCl) à 25°

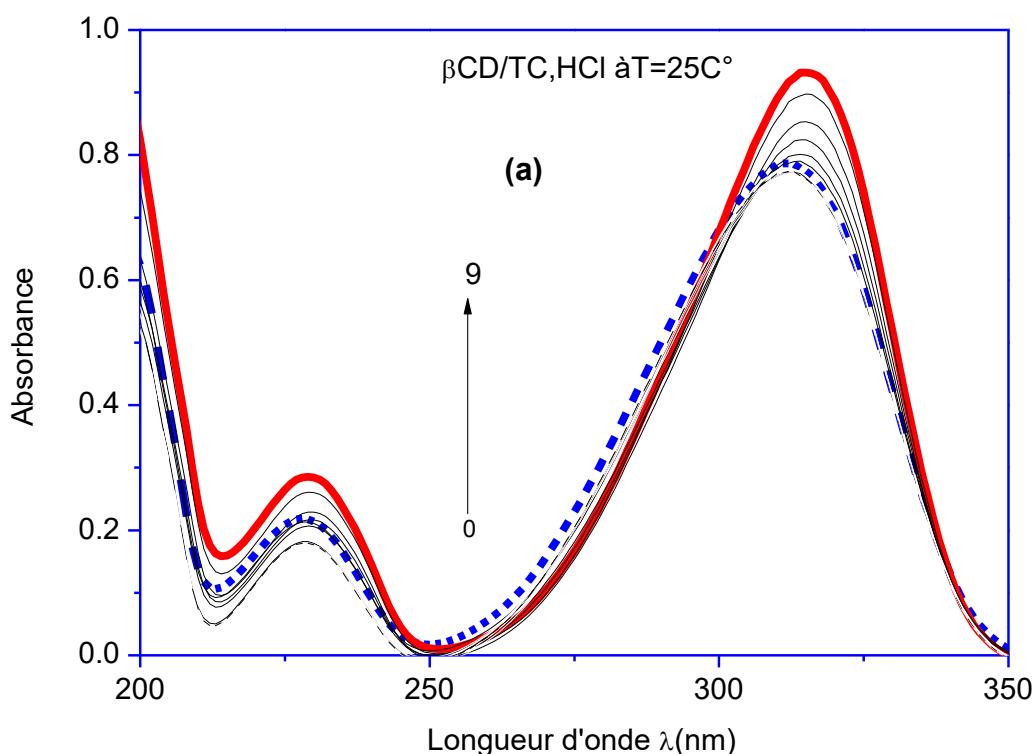


Figure IV.8 : variation de l'absorbance en fonction de λ pour le complexes (β -CD/TC-HCl) à 25°C

A partir de la figure IV.8 qui illustre variation de l'absorbance en fonction de λ pour le complexes (β -CD/TC-HCl) à 25°C, il est clair qu'à mesure que la concentration de β CD augmente, ΔA augmente également plus que dans le cas à température de 15°C. Cela indique que la température améliore formation du complexe entre TC-HCl et la β CD. Cette variation suggère que la β -cyclodextrine aide à solubiliser la TC-HCl. Le point

isobestique est généralement observé à une certaine longueur d'onde où l'absorbance reste constante, peu importe les variations de concentration de β CD. Cela signifie que l'équilibre entre les formes libres et complexes de la tétracaïne est maintenu à cette longueur d'onde.

c) Complexe (β -CD/TC-HCl) à 37°C

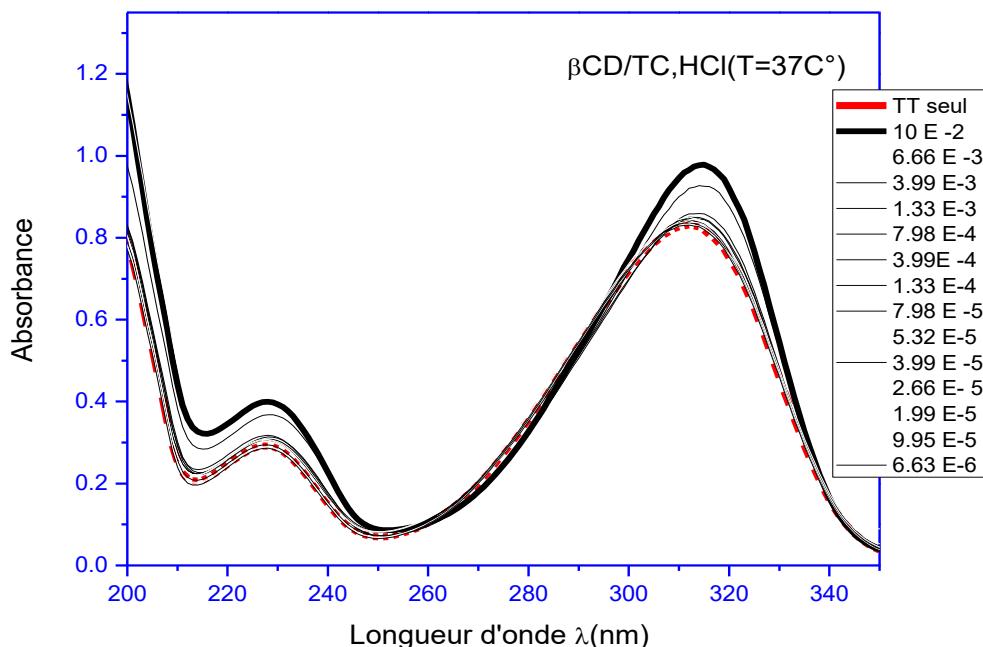


Figure IV.9 : variation de l'absorbance en fonction de λ pour le complexes (HP β -CD/TC-HCl) à 37°C

De la figure IV.9 qui montre la variation de l'absorbance en fonction de λ pour le complexes (HP β -CD/TC-HCl) à 37°C, le graphe montre des points isobestiques, mais leurs positions pourraient varier légèrement. À 37 °C, le point isobestique pourrait se situer à une longueur d'onde différente, indiquant que la nature de l'interaction entre TC-HCl et β CD change avec la température. L'augmentation de la température à 37 °C favorise probablement l'interaction entre la TC-HCl et la β CD, augmentant ainsi la solubilité et l'absorbance.

Pour le spectre à 15°C, les variations d'absorbance et de longueur d'onde (ΔA et $\Delta\lambda$) sont évidentes, mais pour les spectres à 25 et 37°C, le décalage de longueur d'onde $\Delta\lambda$ diminue considérablement avec l'augmentation de la température.

IV.7.2 :Etude du complexe (α CD/TC,HCl) à différentes températures (15°C, 25°C, 37°C)

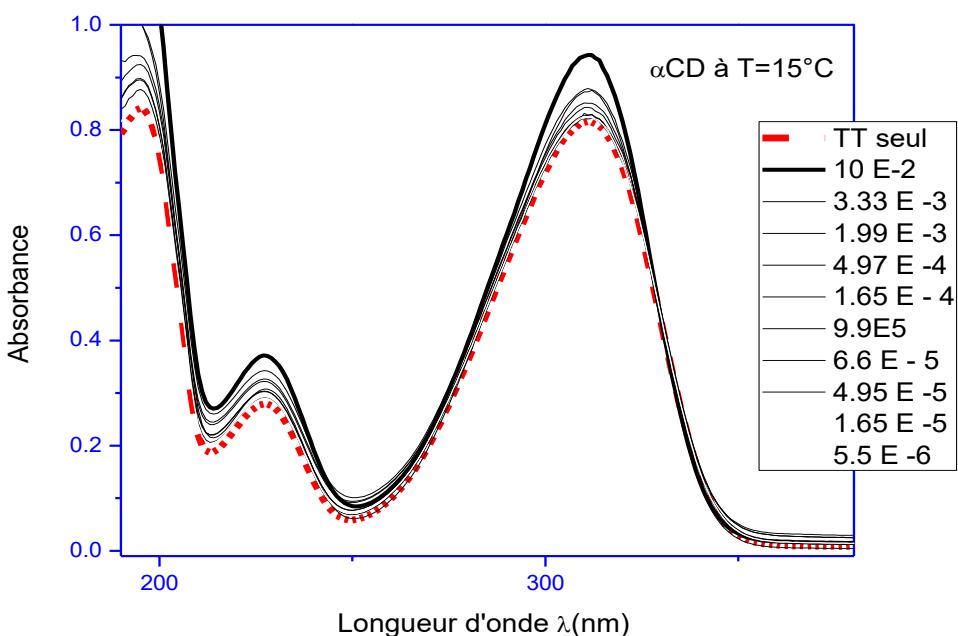


Figure IV.10 :variation de l'absorbance en fonction de λ pour le complexes (α -CD/TC-HCl)
à 15°C

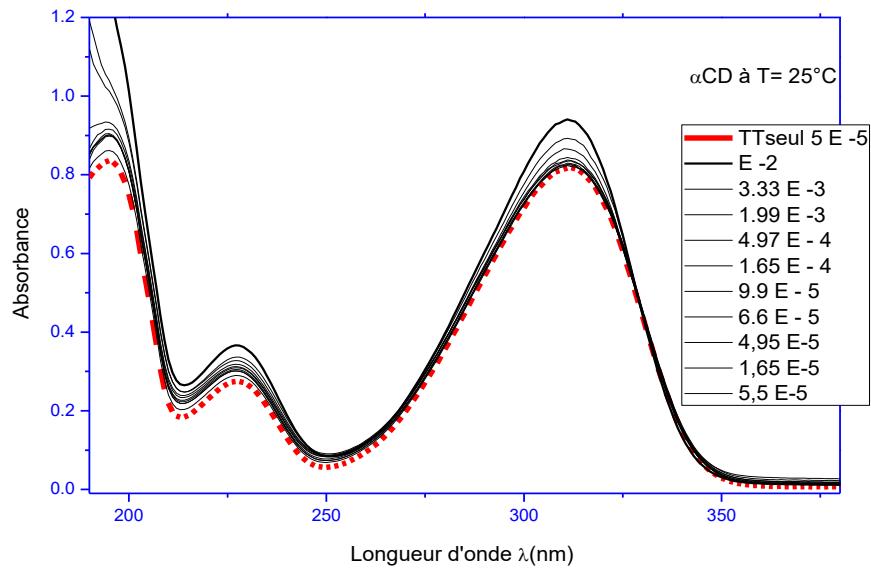


Figure IV.11 : variation de l'absorbance en fonction de λ pour les complexes (α -CD/TC-HCl) à 25°C

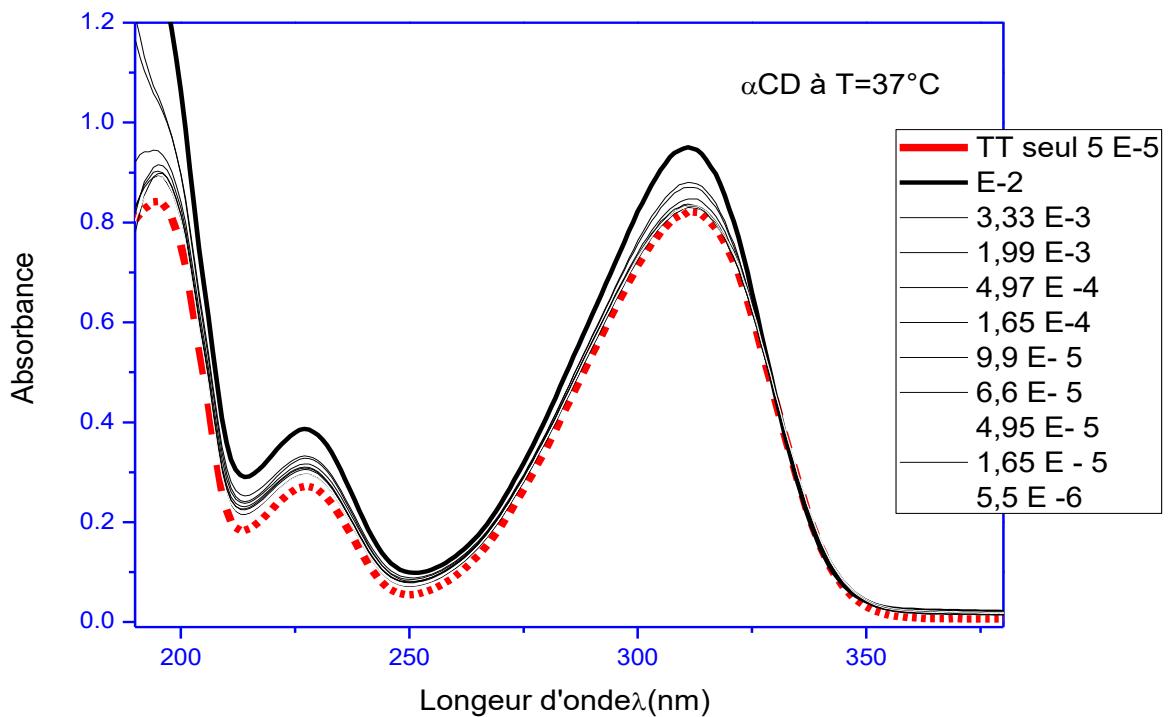


Figure IV.12 : variation de l'absorbance en fonction de λ pour les complexes (α -CD/TC-HCl) à 37°C

Les figures IV.10-11 et IV.12 représentent la variation de l'absorbance en fonction de la longueur d'onde λ pour les complexes (α -CD/TC-HCl) à trois températures : 15, 25 et 37 °C respectivement. La formation d'un complexe pourrait être suggérée en raison de l'évidence que l'absorbance augmente avec l'ajout de la concentration de CD. Cependant, l'augmentation de ΔA semble insensible à l'augmentation de la température, ce qui peut indiquer une augmentation de la solubilité sans transfert d'énergie dans le complexe.

Des résultats corrélant l'augmentation de ΔA avec la formation de complexes ont été rapportés pour de nombreuses molécules médicamenteuses, telles que le naproxène (Vasantha et al., 2014), la rutine (Ghosh & Ghosh, 2017), le triméthoprime (Pinho et al., 2015), et le danazol (Tiwari et al., 2017). Cependant, l'absence d'un point isobestique dans les graphiques pourrait remettre en cause l'hypothèse que la tétracaïne hydrochloride et l' α -cyclodextrine sont en équilibre pour former un complexe d'inclusion stable.

IV.7.3 : Etude du complexe (HP- β CD/TC, HCl) à différentes températures

(15°C, 25°C, 37°C)

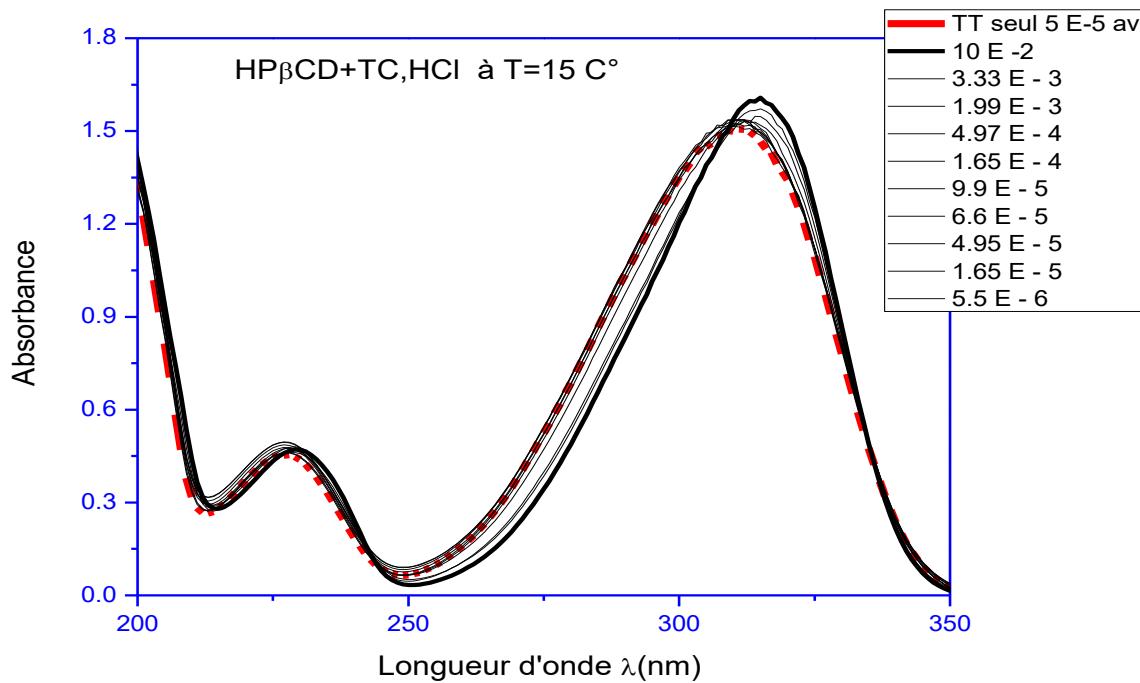


Figure IV.13 : variation de l'absorbance en fonction de λ pour le complexes(HP- β -CD/TC-HCl) à 15°C

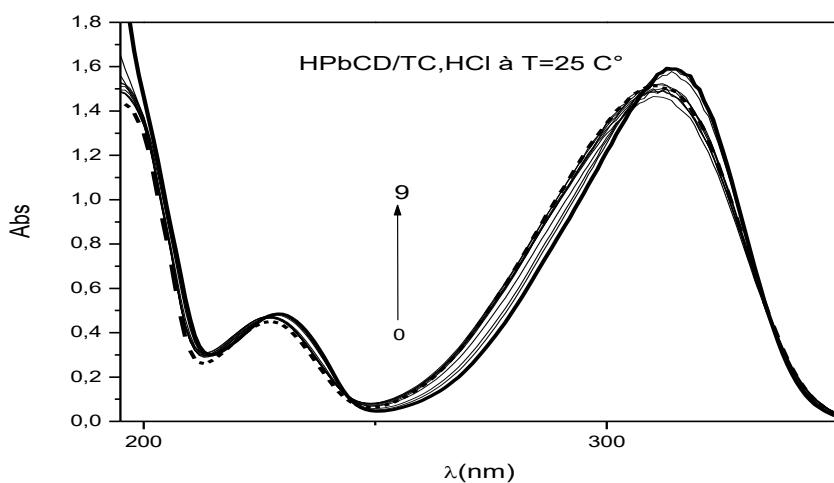


Figure IV.14 : variation de l'absorbance en fonction de λ pour le complexes (HP- β -CD/TC-HCl) à 25°C

Les figures IV.13 et 14 représentent la variation de l'absorbance en fonction de la longueur d'onde λ pour le complexes (HP- β -CD/TC-HCl) à deux températures 15, 25°C respectivement. On observe en même temps des variations d'absorbance et de longueur d'onde (ΔA et $\Delta \lambda$) avec apparition de points isosbestiques. La formation de complexe selon les critères reconnus est établi.

IV.8.Détermination des constantes d'équilibre

A partir de la variation de la courbe de ΔA en fonction de la concentration en CD il est possible d'extraire les valeurs K par une méthode de régression non linéaire comme mentionné au chapitre II. A titre d'exemple, la figure ((IV.15.16.17) montre la variation de ΔA en fonction de la concentration de β -CD à T=25°C. La même méthode a été appliquée à tous les systèmes pour chaque température et les constantes d'association correspondantes sont indiquées dans le tableau 1.

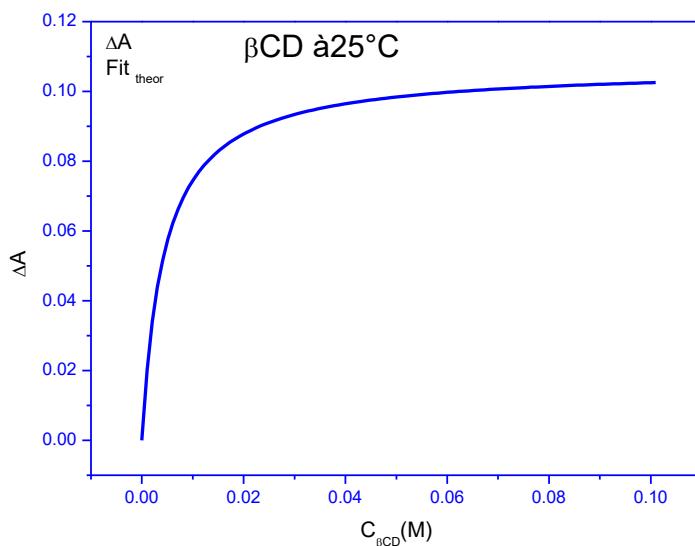


Figure IV.15 : Ajustement non linéaire de la variation de ΔA en fonction de la concentration β -CD à 25°C pour $\lambda=310$ nm.

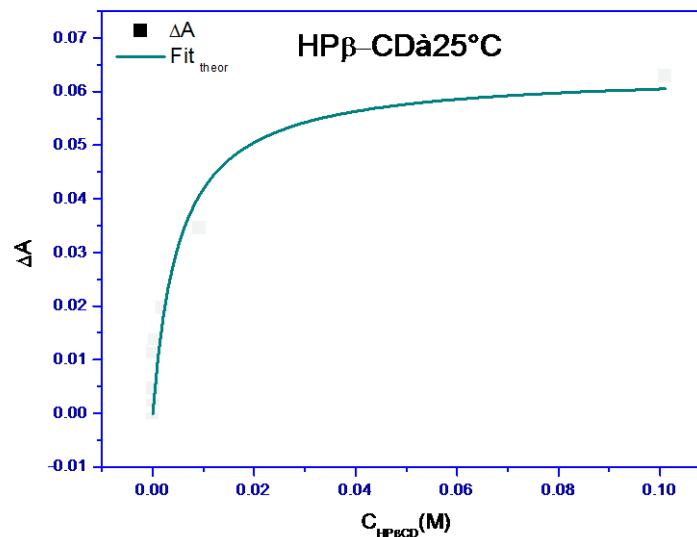


Figure IV.16 : Ajustement non linéaire de la variation de ΔA en fonction de la concentration α -CD à 25°C pour $\lambda=310$ nm.

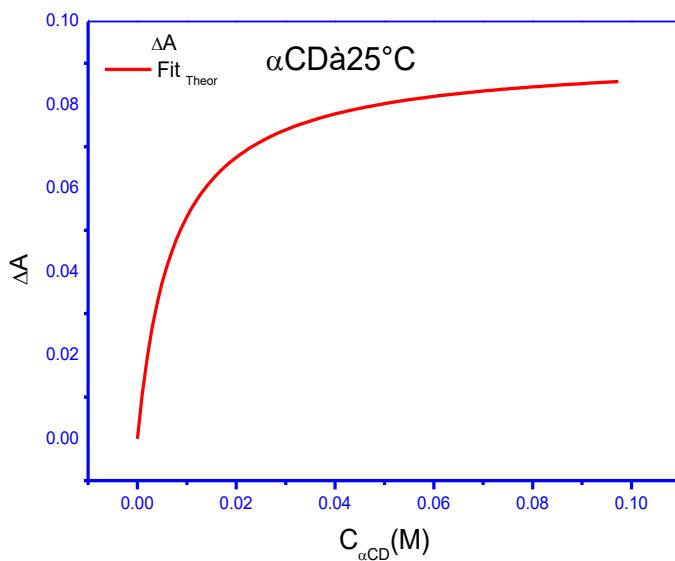


Figure IV.17 : Ajustement non linéaire de la variation de ΔA en fonction de la concentration HP β -CD à 25°C pour $\lambda=310$ nm.

T (°C)	$K_{\alpha\text{-CD}}$	$K_{\beta\text{-CD}}$	$K_{\text{HP}\beta\text{-CD}}$
	(l.mol ⁻¹)	(l.mol ⁻¹)	(l.mol ⁻¹)
15	155 ± 2	293 ± 26	285 ± 22
20	152 ± 14	263 ± 20	234 ± 12
25	137 ± 24 252 ± 14(**)	229 ± 36 1090 ± 40(**)	193 ± 81
37	76 ± 5.58	121 ± 9.6	91 ± 20

Tableau 1. Valeurs de la constante d'association (K_{CD}) à différentes températures, obtenues à partir de mesures UV-Vis pour les complexes $\beta\text{-CD/TC-HCl}$, $\text{HP}\beta\text{-CD/TC-HCl}$ et $\alpha\text{-CD/TC-HCl}$.

La dépendance des constantes d'équilibre avec la température peut être observée dans le tableau 1, où l'affinité de toutes les cyclodextrines pour le médicament diminue à mesure que la température augmente. Nos résultats à T=25 °C sont en accord avec les résultats de Takisawa (Takisawa et al 2021) qui ont étudié l'inclusion de TC-HCl dans des α -CD et des β -CD en utilisant la méthode potentiométrique à l'aide d'électrodes sensibles aux médicaments. Ils ont indiqué que le complexe formé (β CD/TC-HCl) est plus stable que celui formé (α CD/TC-HCl).

IV .9.Etude Thermodynamique

IV.9.1 Diagramme de *Vant-Hoff*

A partir des résultats précédents, il est possible de déterminer certains paramètres thermodynamiques de la complexation à partir de la variation de $R \ln K$ en fonction de $1/T$. La figure (IV18) montre les diagrammes de Van't Hoff plots de tous les processus

d'association en utilisant à la fois la méthode linéaire ($\Delta Cp^\circ=0$) et non linéaires ($\Delta Cp^\circ\neq0$).

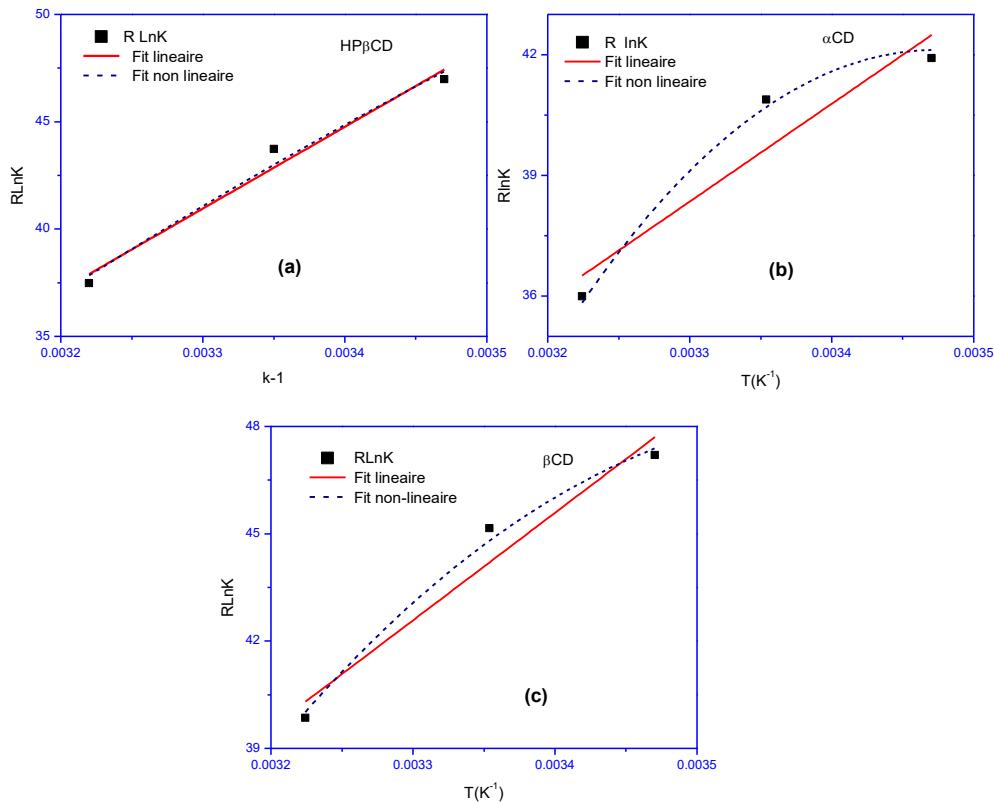


Figure IV.18 : Graphique de Van't Hoff pour l'association de TC-HCl avec
 a) α -CD, b) β -CD and c) HP β -CD.

IV.9.2 Interprétation des paramètres thermodynamiques

À partir des pentes des ajustements linéaires des données à l'équation classique de Van't Hoff ($R\ln K = -\Delta H^\circ/T + \Delta S^\circ$), des valeurs de ΔH° égales à -24,3, -30,06 et -38,08 Kj.mol⁻¹ sont obtenues respectivement pour les complexes α -CD, β -CD et HP β -CD (Tableau 2)

Tableau 2. Valeurs de ΔH° ; ΔS° , et ΔCP° pour l'association de TC-HCl avec différents

CD obtenues à partir de l'ajustement linéaire et non linéaire de l'équation de Van't Hoff.

CD	Fitting	ΔH°	ΔS°	ΔC_P°
		(KJ.mol ⁻¹)	(J.mol ⁻¹ .K ⁻¹)	(J.mol ⁻¹ .K ⁻¹)
α -CD	Linéaire	-24.3 ± 7.74	-41.8 ± 25.9	-
	Non linéaire	-23.0 ± 0.077	-39.29	-2311 ± 464.4
β -CD	Linéaire	-30.06 ± 6.68	-56.63 ± 22.4	-
	Non linéaire	-29.23 ± 0.00	-53.40 ± 4.81	-1000 ± 4.85
HP β -CD	Linéaire	-38.08 ± 6.06	-84.73 ± 20	-
	Non linéaire	-37.78 ± 5.10	-83.57 ± 17.08	-300

Des valeurs négatives de l'enthalpie de liaison sont le signe que le médicament établit des interactions favorables avec les cyclodextrines. Dans ce type d'association, le changement d'enthalpie est le résultat de deux contributions conflictuelles principales : l'enthalpie favorable associée aux forces de van der Waals couplées à la formation de liaisons hydrogène hôte/invité et l'enthalpie défavorable associée à la désolvatation des groupes polaires invités (Liu, Y., et al. (2019)).

Les interactions de Van der Waals deviennent maximales lorsqu'un ajustement parfait de la taille entre la cyclodextrine et le médicament a lieu, tandis que l'optimisation de la formation de liaisons hydrogène est atteinte lorsque les groupes polaires du médicament préfèrent former des liaisons hydrogène avec la cyclodextrine avant les molécules d'eau environnantes. Ainsi, une enthalpie de liaison défavorable indique généralement que la désolvatation n'est pas suffisante pour permettre l'inclusion de la molécule invitée. Cependant, la contribution enthalpique n'est pas le seul facteur de stabilisation du complexe et il faut tenir compte de la contribution entropique ΔS° . Deux termes principaux contribuent à l'entropie de la liaison ; le premier est le changement

favorable de l'entropie de désolvatation qui provient de la libération de molécules d'eau lorsque la molécule de médicament et la cavité de liaison subissent une désolvatation lors de la liaison (Azevedo, C. M. G. P. L. , et al (2015)).

Le second terme est lié au changement d'entropie conformationnelle qui est presque toujours défavorable puisque pendant le processus de liaison, le médicament et les molécules de cyclodextrine induisent la perte de degrés de liberté conformationnels. Ainsi, pour notre système étudié, à partir des ordonnées du diagramme de Van't Hoff, des valeurs de ΔS° égales à -41,8, -56,63 et -84,73 J.K-1.mol-1 sont extraites pour les complexes α -CD, β -CD et HP β - CD respectivement (Tableau 2). Dans tous les cas, on peut observer que le médicament se lie aux CD avec un terme enthalpique favorable ($\Delta H^\circ < 0$) et un terme entropique défavorable ($\Delta S^\circ < 0$). Tous les processus sont exothermiques et induits par l'enthalpie ($|\Delta H^\circ| > T|\Delta S^\circ|$),] Avec son entropie négative $\Delta S^\circ < 0$, la complexation semble être principalement dirigée par les forces attractives de Van der Waals ($\Delta H^\circ < 0$; $\Delta S^\circ < 0$) et les effets de réorganisation du solvant. La contribution provenant de l'effet hydrophobe semble être négligeable surtout pour HP β -CD ($\Delta S^\circ = -84$ J.mol-1.K-1).

Pour HP β -CD, une relation linéaire a été trouvée dans le tracé de Van Hoff, révélant l'indépendance du ΔH° et du ΔS° des processus d'association avec T. Pour β -CD et α -CD, les tracés de Van Hoff sont mieux décrits par des courbes non linéaires comme cela est habituellement rapporté pour ce type de processus par différents auteurs (Szejtli, 1998). Avec ses chaînes hydrocarbonées hydroxypropylées, le second bord de la HP β -CD est une structure relativement flexible comparée à celle appartenant à la β -CD native qui est plus rigide car on pense qu'il existe une ceinture de liaisons hydrogène tout autour du bord. Ces chaînes d'hydrocarbures peuvent empêcher l'inclusion complète de la molécule invitée et diminuer le processus de désolvatation et donc diminuer la force de la contribution de l'entropie positive de désolvatation. Ainsi, la contribution de la réorganisation du solvant et des effets hydrophobes ne peut être similaire dans les deux processus d'inclusion, ce qui rend la liaison du β -CD et du TC-HCl énergétiquement plus favorable que celle du HP β -CD avec le TC-HCl.

IV.9.3 Model structural proposé

L'architecture proposée des complexes formés peut alors être illustrée dans la *Figure IV.19*.

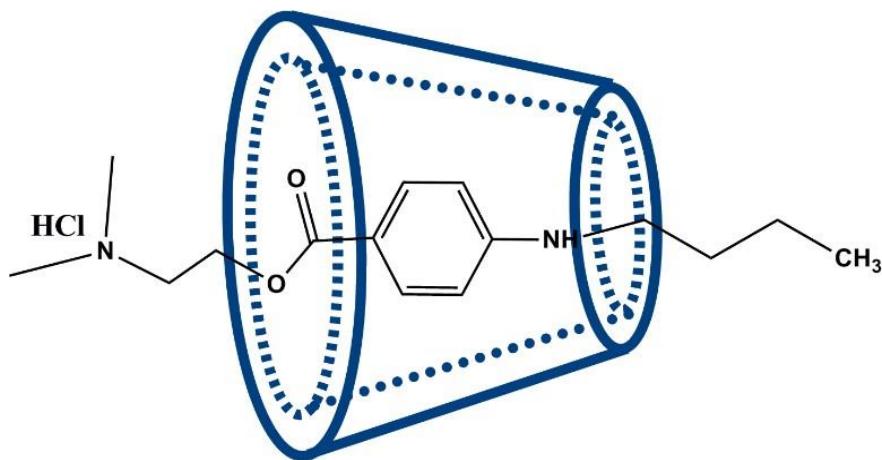


Figure IV.19 : Architecture des complexes d'inclusion TC-HCl/CD

La valeur négative de tous les ΔC_p° dans le tableau 2 obtenue par l'ajustement des données expérimentales avec l'équation non linéaire de Van Hoff ($R \cdot \ln K = [-(\Delta H^\circ + (T - T_0) \Delta C_p^\circ)/T + \Delta S^\circ + (\Delta C_p^\circ \ln(T/T_0))]$) est proche des valeurs généralement trouvées lorsque des solutés apolaires sont encapsulés dans des CD . La différence trouvée dans les valeurs de ΔC_p° pour β -CD et HP β -CD confirme le fait que le complexe β -CD est plus stable que le complexe HP β -CD, probablement en raison de la diminution des groupes OH sur la molécule HP β -CD, qui limite la formation de liaisons hydrogène avec l'eau environnante (Tiwari, G. et al (2017)).

Le diamètre de la face secondaire de la β -CD est plus grand que celui de la α -CD et pourrait mieux accueillir l'inclusion d'une molécule invitée portant une structure benzénique. Cette hypothèse est confirmée par l'apparition de décalages de l'absorbance et de la longueur d'onde λ et, par conséquent, les interactions attractives de Van der Walls doivent être optimales pour le complexe TC-HCl/ β -CD par rapport au complexe TC-HCl/ α -CD. L'effet hyperchromique est généralement attribué à la dissociation des liaisons hydrogène et l'effet bathocromique est lié au changement du milieu environnant du médicament qui devient plus apolaire. Selon les calculs théoriques DFT de (Bernardi, F., et al. (2008)). dans l'eau, l'extrémité terminale azotée de la tétracaïne possède une

hydrophilie appréciable qui peut atteindre la fonction ester proche du cycle benzénique, tandis que la chaîne hydrocarbonée butyle est complètement hydrophobe. On peut donc proposer que le médicament pénètre profondément dans la cavité β -CD dans une mesure où la chaîne butyle hydrophobe et la structure aromatique du benzène sont influencées par les parois de la cavité, ce qui explique la variation simultanée de ΔA et de $\Delta\lambda$. Pour l' α -CD, en raison de son diamètre de bord plus étroit, seule la chaîne hydrophobe est pénétrée et la signature hyperchromique est révélée par spectrophotométrie UV-Visible.

Références bibliographique

:

- Aicart**, E., Dupont, J., & Martin, R. (2020). *Étude des propriétés d'absorption de la TC-HCl dans le domaine UV-visible*. Journal de Chimie Physique, 18(3), 215–223.
- Aldous**, L., et al. (2013). *Cyclodextrin complexes of 5-amino salicylic acid: Preparation, characterization, and drug delivery*. Journal of Pharmaceutical Sciences, 102(5), 1550–1560.
- Azevedo**, C. M. G. P. L., de Oliveira, A. L. F. A., & de Azevedo, A. F. (2015). *Exploring the origins of enthalpy–entropy compensation by calorimetric studies of cyclodextrin complexes*. Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry, 81(3–4), 309–316.
- Azayez**, F., Khodja, A., & Boudia, F. (2021). *Transitions électroniques dans les systèmes organiques : une analyse des spectres UV-visible*. Archives de Chimie, 26(1), 55–64.
- Bernardi**, F., & Rizzoli, C. (2008). *Computational Studies on the Inclusion Complexes of Cyclodextrins*. Journal of Molecular Modeling, 14(5), 441–449.
- Fergoug**, A., Benali, M., & Ziani, H. (2019). *Comportement spectroscopique des composés aromatiques*. Revue de Spectroscopie, 45(2), 101–109.
- Garcia**, A., et al. (2005). *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.*, 53, 121–129.
- Ghosh**, A., & Ghosh, C. (2017). *Cyclodextrin-based drug delivery systems for bioactive compounds*. International Journal of Pharmaceutics, 515(1–2), 1–12.
- Gonzalez**, M., et al. (2016). *Study of piroxicam inclusion complexes with β -cyclodextrin: A spectroscopic and molecular modeling approach*. Molecules, 21(8), 1063.
- Jiang**, Y., et al. (2014). *Inclusion complex of ethylhexyl methoxycinnamate with β -cyclodextrin: Characterization and photostability*. Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry, 78(1), 25–34.
- Liu**, Y., Zhang, H., & Zhang, H. (2018). *Thermodynamics of hydrogen bond and hydrophobic interactions in cyclodextrin complexes*. Journal of Molecular Recognition, 31(5), e2705.
- Ochoa**, M. E., & et al. (2019). *Solvation and desolvation: Role in molecular recognition*. Chemical Reviews, 119(6), 3874–3924.

- Pinho**, E., et al. (2011). *Inclusion complexes of biphenylacetic acid with cyclodextrins*. Journal of Pharmaceutical Sciences, 100(7), 2777–2786.
- Pinho**, E., et al. (2015). *Cyclodextrin inclusion complexes: A review*. Journal of Molecular Liquids, 211, 1–10.
- Skoog**, D. A., West, D. M., Holler, F. J., & Crouch, S. R. (2013). *Fundamentals of Analytical Chemistry* (9th ed.).
- Takisawa**, H., Suzuki, T., & Tanaka, K. (2021). *Étude de l'inclusion de TC-HCl dans des cyclodextrines par méthode potentiométrique*. Journal of Pharmaceutical Sciences, 110(5), 1234–1240.
- Tiwari**, G., Tiwari, R., & Tiwari, S. (2017). *Cyclodextrins: Structural, chemical, and physical properties, and applications*. Journal of Chemical and Pharmaceutical Research, 9(4), 1–10.
- Vasantha**, V., et al. (2014). *Inclusion complex of naproxen with cyclodextrins: A review*. Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry, 78(1), 1–12

Conclusion

Cette étude a permis de démontrer avec succès, grâce à la technique de spectrophotométrie UV-Visible, la formation de complexes d'inclusion entre la tétracaïne chlorhydrate (TC-HCl) et trois cyclodextrines différentes (α -CD, β -CD et HP β -CD). Les preuves spectrales, incluant la présence de points isobestiques ainsi que des effets hyperchromiques et des déplacements bathochromiques, ont confirmé de manière indubitable l'interaction entre la molécule hôte et les cyclodextrines, conduisant à la création de ces complexes.

L'analyse quantitative des constantes de complexation a révélé que l'affinité de la tétracaïne pour les cyclodextrines suivait un ordre bien précis : elle était la plus faible avec l' α -CD, intermédiaire avec la β -CD, et la plus forte avec la HP β -CD. Cet ordre, qui corrobore les données disponibles dans la littérature scientifique, identifie la hydroxypropyl- β -cyclodextrine (HP β -CD) comme l'excipient le plus performant pour former un complexe stable avec le principe actif.

Sur le plan fondamental, l'étude thermodynamique, basée sur l'analyse de Van't Hoff, a fourni des indications précieuses sur le mécanisme de complexation. Les valeurs négatives des paramètres d'enthalpie libre (ΔG°), d'enthalpie (ΔH°) et d'entropie (ΔS°) indiquent que le processus est spontané et principalement piloté par une contribution enthalpique favorable. Cela signifie que la force motrice de la réaction est un gain d'énergie, très probablement dû à des interactions de Van der Waals et à des effets de réorganisation du solvant, qui surcompense une perte de désordre moléculaire (contribution entropique défavorable).

De plus, l'analyse des représentations de Van't Hoff a mis en lumière une différence comportementale significative entre les cyclodextrines. La relation linéaire observée pour le complexe TC-HCl/HP β -CD témoigne d'un mécanisme thermodynamique simple et stable. En revanche, la non-linéarité constatée pour les complexes avec l' α -CD et la β -CD, impliquant une capacité calorifique non nulle ($\Delta Cp^\circ \neq 0$), révèle une interaction

plus complexe, probablement liée à des réarrangements plus importants des molécules d'eau autour du complexe.

En conclusion, ces résultats fondamentaux fournissent une base scientifique solide pour une application pharmaceutique prometteuse : la reformulation de la tétracaïne sous forme de complexes d'inclusion. Une telle approche, particulièrement avec la HP β -CD, ouvre la perspective d'améliorer le profil de sécurité du médicament et de réduire ses effets secondaires indésirables. Ceci est d'un intérêt majeur pour son utilisation en anesthésie locale ou régionale, notamment dans le domaine sensible de la chirurgie ophtalmologique, où une tolérance optimale est cruciale.

Conclusion

Cette étude a permis de démontrer avec succès, grâce à la technique de spectrophotométrie UV-Visible, la formation de complexes d'inclusion entre la tétracaïne chlorhydrate (TC-HCl) et trois cyclodextrines différentes (α -CD, β -CD et HP β -CD). Les preuves spectrales, incluant la présence de points isobestiques ainsi que des effets hyperchromiques et des déplacements bathochromiques, ont confirmé de manière indubitable l'interaction entre la molécule hôte et les cyclodextrines, conduisant à la création de ces complexes.

L'analyse quantitative des constantes de complexation a révélé que l'affinité de la tétracaïne pour les cyclodextrines suivait un ordre bien précis : elle était la plus faible avec l' α -CD, intermédiaire avec la β -CD, et la plus forte avec la HP β -CD. Cet ordre, qui corrobore les données disponibles dans la littérature scientifique, identifie la hydroxypropyl- β -cyclodextrine (HP β -CD) comme l'excipient le plus performant pour former un complexe stable avec le principe actif.

Sur le plan fondamental, l'étude thermodynamique, basée sur l'analyse de Van't Hoff, a fourni des indications précieuses sur le mécanisme de complexation. Les valeurs négatives des paramètres d'enthalpie libre (ΔG°), d'enthalpie (ΔH°) et d'entropie (ΔS°) indiquent que le processus est spontané et principalement piloté par une contribution enthalpique favorable. Cela signifie que la force motrice de la réaction est un gain d'énergie, très probablement dû à des interactions de Van der Waals et à des effets de réorganisation du solvant, qui surcompense une perte de désordre moléculaire (contribution entropique défavorable).

De plus, l'analyse des représentations de Van't Hoff a mis en lumière une différence comportementale significative entre les cyclodextrines. La relation linéaire observée pour le complexe TC-HCl/HP β -CD témoigne d'un mécanisme thermodynamique simple et stable. En revanche, la non-linéarité constatée pour les complexes avec l' α -CD et la β -CD, impliquant une capacité calorifique non nulle ($\Delta Cp^\circ \neq 0$), révèle une interaction

plus complexe, probablement liée à des réarrangements plus importants des molécules d'eau autour du complexe.

En conclusion, ces résultats fondamentaux fournissent une base scientifique solide pour une application pharmaceutique prometteuse : la reformulation de la tétracaïne sous forme de complexes d'inclusion. Une telle approche, particulièrement avec la HP β -CD, ouvre la perspective d'améliorer le profil de sécurité du médicament et de réduire ses effets secondaires indésirables. Ceci est d'un intérêt majeur pour son utilisation en anesthésie locale ou régionale, notamment dans le domaine sensible de la chirurgie ophtalmologique, où une tolérance optimale est cruciale.

Résumé

Ce travail de recherche s'inscrit dans le domaine de la formulation pharmaceutique et vise à améliorer les propriétés des anesthésiques locaux grâce aux cyclodextrines (CD). Ces oligomères cycliques, issus de la dégradation enzymatique de l'amidon, possèdent une cavité hydrophobe capable de former des complexes d'inclusion avec diverses molécules, permettant ainsi d'augmenter leur solubilité aqueuse, d'améliorer leur stabilité chimique et de réduire leurs effets indésirables.

L'étude s'est focalisée sur deux anesthésiques locaux largement utilisés en pratique clinique : le chlorhydrate de tétracaïne (TC,HCl) et le chlorhydrate de procaine (PC,HCl). Dans un premier temps, une caractérisation physico-chimique approfondie de ces molécules a été réalisée. Les résultats ont mis en évidence leur double nature : principes actifs bioactifs et tensioactifs cationiques. La détermination du pKa de la procaine (≈ 11) a permis d'établir que la forme cationique bioactive (PCH^+) prédomine à pH acide ou neutre ($\text{pH} < 9$). La tétracaïne a montré un caractère tensioactif marqué avec une concentration micellaire critique (CMC) de 0,0804 M à 20°C. Les études de stabilité ont révélé une sensibilité à l'hydrolyse en milieu basique fort, tandis que les milieux acides assuraient une stabilité satisfaisante.

La deuxième phase de l'étude a démontré, par spectrophotométrie UV-Visible, la formation de complexes d'inclusion entre la tétracaïne et trois types de cyclodextrines (α -CD, β -CD et HP- β -CD). Les preuves spectrales incluent l'apparition de points isobestiques, des effets hyperchromiques et des déplacements bathochromiques. L'analyse des constantes de complexation a révélé un ordre d'affinité croissant : α -CD < β -CD < HP- β -CD, indiquant que la HP- β -CD forme le complexe le plus stable.

L'étude thermodynamique a montré que le processus de complexation est spontané ($\Delta G^\circ < 0$), exothermique ($\Delta H^\circ < 0$) et associé à une diminution du désordre ($\Delta S^\circ < 0$). Ces résultats suggèrent que la complexation est principalement gouvernée par les forces de Van der Waals et par des effets de réorganisation du solvant. La relation linéaire de Van't Hoff pour le système TC-HCl/HP- β -CD indique un comportement

thermodynamique simple, tandis que les complexes avec l' α -CD et la β -CD présentent des interactions plus complexes.

En conclusion, cette étude fournit une base scientifique solide pour envisager la reformulation de la tétracaïne sous forme de complexes d'inclusion, particulièrement avec la HP- β -CD. Cette approche prometteuse pourrait permettre d'améliorer le profil de sécurité de cet anesthésique local et de réduire ses effets secondaires, notamment dans le cadre d'applications en chirurgie ophtalmologique. Les connaissances fondamentales acquises sur les mécanismes d'interaction ouvrent également des perspectives pour le développement d'autres formulations pharmaceutiques améliorées.

Abstract

This research work, situated in the field of pharmaceutical formulation, aims to improve the properties of local anesthetics through their complexation with cyclodextrins (CDs). These cyclic oligomers, derived from the enzymatic degradation of starch, form inclusion complexes capable of increasing aqueous solubility, enhancing chemical stability, and reducing the side effects of guest molecules.

The study focused on two commonly used local anesthetics: tetracaine hydrochloride (TC,HCl) and procaine hydrochloride (PC,HCl). An initial in-depth physico-chemical characterization revealed their dual nature as bioactive active ingredients and cationic surfactants. The determination of procaine's pKa (≈ 11) showed the predominance of its bioactive cationic form (PCH^+) at acidic or neutral pH. Tetracaine exhibited marked surfactant behavior, with a critical micellar concentration (CMC) of 0.0804 M at 20°C. Stability studies confirmed sensitivity to hydrolysis in a basic medium, unlike acidic conditions which provided satisfactory stability.

The second phase demonstrated, via UV-Visible spectrophotometry, the formation of inclusion complexes between tetracaine and three cyclodextrins (α -CD, β -CD, and HP- β -CD). Spectral evidence, including isosbestic points, hyperchromic effects, and bathochromic shifts, confirmed complexation. The analysis of stability constants revealed an increasing order of affinity: **α -CD < β -CD < HP- β -CD**, identifying **HP- β -CD** as the host forming the most stable complex.

The thermodynamic study established that the complexation process is **spontaneous** ($\Delta G^\circ < 0$), **exothermic** ($\Delta H^\circ < 0$), and associated with a **decrease in entropy** ($\Delta S^\circ < 0$). These parameters indicate a mechanism governed primarily by **Van der Waals forces** and **solvent reorganization**. The linear relationship observed in the Van't Hoff plot for the complex with HP- β -CD contrasted with the non-linear behavior of the complexes with α -CD and β -CD, suggesting more complex interactions for the latter.

In conclusion, these fundamental results provide a solid scientific basis for the **reformulation of tetracaine** as an inclusion complex, particularly with HP- β -CD. This promising strategy could help **improve the safety profile** of this anesthetic, especially for sensitive applications like ophthalmic surgery. The elucidated interaction mechanisms also open perspectives for the rational development of other improved pharmaceutical formulations.

ملخص

يندرج هذا العمل البحثي في مجال التطوير الصيدلاني ويهدف إلى تحسين خصائص المدرات الموضعية من خلال تكوين معقدات إدماجية مع سيكلوكسترينات (CDS). هذه البوليمرات الحلقية، المشتقة من التحلل الإنزيمي للنشا، تشكل معقدات إدماجية قادرة على زيادة الذوبانية في الماء، وتعزيز الثبات الكيميائي، وتقليل الآثار الجانبية لجزئيات الضيف.

ركرت الدراسة على مدررين موضعيين شائعين الاستخدام: هيدروكلوريد التيتراكائين (TC,HCl) وهيدروكلوريد البروكائين (PC,HCl). كشفت عملية توصيف فيزيوكيميائي عميق في البداية عن طبيعتهما المزدوجة كمادة فعالة حيوياً وكمؤثرات سطحية موجبة الشحنة. أظهر تحديد قيمة pKa للبروكائين (≈ 11) سيطرة شكله الموجي (PCH+) الحيوي النشط عند درجة الحموضة الحمضية أو المحامية. أظهر التيتراكائين سلوكاً مؤثراً سطحياً واضحاً، بتركيز ميسيلي حرج (CMC) قدره 0.0804 M عند 20°C . أكدت دراسات الثبات الحساسية للتحلل المائي في الوسط القاعدي، على عكس الظروف الحمضية التي وفرت ثباتاً مرضياً.

أثبتت المرحلة الثانية، باستخدام مطيافية الأشعة فوق البنفسجية-المرئية(UV-Vis)، تكوين معقدات إدماجية بين التيتراكائين وثلاثة أنواع من السيكلوكسترينات α -CD و β -CD و HP- β -CD. الأدلة الطيفية، التي شملت نقاط تساوي الامتصاص(isosbestic points)، والتأثيرات فرط الامتصاص(hyperchromic effects) والانزياحات نحو الأحمر(bathochromic shifts)، أثبتت حدوث عملية التكامل كشف تحليل ثوابت الثبات عن ترتيب متزايد للألفة $\text{HP-}\beta\text{-CD} > \alpha\text{-CD} > \beta\text{-CD}$ كمضيف يشكل المعقد الأكثر استقراراً.

أثبتت الدراسة الديناميكية الحرارية أن عملية التكامل هي تلقائية ($\Delta G^\circ < 0$)، طاردة للحرارة ($\Delta H^\circ < 0$)، ومرتبطة بانخفاض في الإنتروبي ($\Delta S^\circ < 0$). تشير هذه المعلومات إلى آلية يحكمها في المقام الأول قوى فإن دير فالس وإعادة تنظيم المذيب. العلاقة الخطية المرصودة في مخطط فانت هوف للمعقد مع HP- β -CD قوبلت بسلوك غير خطى لمعقدات α -CD و β -CD، مما يشير إلى تفاعلات أكثر تعقيداً في الحالة الأخيرة.

في الختام، توفر هذه النتائج الأساسية قاعدة علمية صلبة لإعادة صياغة التيتراكائين على شكل معقد إدماجي، خاصة مع HP- β -CD. يمكن لهذه الاستراتيجية الوعادة أن تساعد في تحسين ملف السلامة لهذا المدر الموضعى، لا سيما للتطبيقات الحساسة مثل جراحة العيون. كما تفتح آليات التفاعل المفسرة آفاقاً للتطوير العقلاني لتركيبيات صيدلانية محسنة أخرى.

Malaysian Journal of Analytical Sciences (MJAS)

Published by Malaysian Analytical Sciences Society



TEMPERATURE EFFECT ON THE ENCAPSULATION OF THE DRUG TETRACAIN HYDROCHLORIDE IN DIFFERENT CYCLODEXTRINS

(Kesan Suhu Terhadap Pengkapsulan Dadah Tetrakain Hidroklorida dalam Siklodekstrin yang Berbeza)

Houria Boudjoras, Teffaha Fergoug, Mansour Azayez*, Youcef Bouhadda, Noureddine Meddah-araibi, Cherifa Zelmat

*Laboratory of Physical Chemistry of Macromolecular and Biological Interfaces,
Faculty of Exact Sciences,
University of Mustapha Stambouli, Mascara, Algeria*

*Corresponding author: m.azayez@univ-mascara.dz

Received: 25 September 2021; Accepted: 30 December 2021; Published: 25 February 2022

Abstract

The encapsulation of tetrakain hydrochloride (TC-HCl) in α -cyclodextrin (α -CD), β -cyclodextrin (β -CD) and hydroxypropyl- β -cyclodextrin (HP β -CD) has been studied by UV-Visible at different temperatures. The appearance of isosbestic points as well as hyperchromic and bathochromic shifts on the different UV-Visible spectra confirm the complexes formation. From the complexation constants values the stability of the 1:1 type complexes is in the order of α -CD < HP β -CD < β -CD and decreases with increasing temperature for each complex. All complexation processes are spontaneous, with a favorable enthalpic contribution and an unfavorable entropic term as deduced from Van't Hoff plot analysis. The negative values obtained for ΔC_p° indicate that the apolar part of TC-HCl is encapsulated in the cavities of the CDs.

Keywords: UV-Vis spectrophotometry, cyclodextrins, tetracaine drug, temperature effect, Van't Hoff analysis

Abstrak

Pengkapsulan tetrakain hidroklorida (TC, HCl) dalam α -siklodekstrin (α -CD), β -sikloodekstrin (β -CD) dan hidroksipropil- β -siklodekstrin (HP β -CD) telah dikaji menggunakan spektrofotometri UV-cahaya nampak pada suhu yang berbeza. Kemunculan titik isosbestik serta pergeseran hipokromik dan bathokromik pada spektrum UV-cahaya nampak yang berbeza mengesahkan pembentukan kompleks. Daripada nilai pemalar kompleks, kestabilan kompleks jenis 1: 1 berada dalam urutan α -CD < HP β -CD < β -CD dan menurun dengan kenaikan suhu bagi setiap kompleks. Semua proses pengkompleksan adalah spontan, dengan sumbangan entalpik yang menggalakkan dan istilah entropik yang tidak menguntungkan seperti hasil analisis plot Van't Hoff. Nilai negatif yang diperoleh untuk ΔC_p° menunjukkan bahawa bahagian tidak berkutub TC-HCl dikemas dalam rongga CD.

Kata kunci: spektrofotometri UV-cahaya nampak, siklodekstrin, dadah tetrakain, kesan suhu, analisis Van't Hoff

Introduction

The administration of local anesthetics such as tetracaine or procaine during ophthalmologic or dentistry surgeries often shows adverse side effects

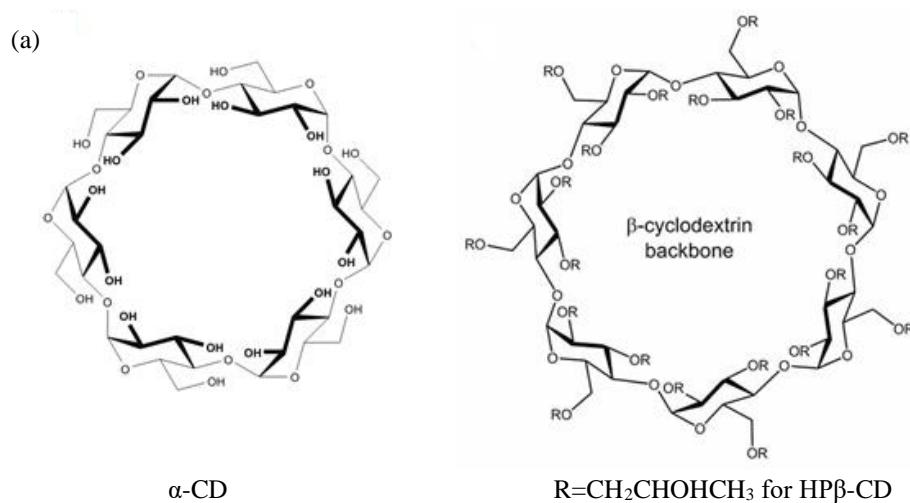
such as irritations and sometimes cardiac arrhythmias and neurological after effects [1-3]. To reduce these discomforting effects an alternative approach consisting in reformulating these anesthetics as

molecular complexes with adapted complexing agents, has emerged. In this option, the complexing agent is generally a molecule with a peculiar structural conformation shaping a hydrophobic pocket-like site suited to fully encompass the anesthetic molecule or a part of it. Molecules such as cyclodextrin, crown-ether and calixarene are examples of these complexing agents and they operate based on the molecular recognition principle better known as host-guest interaction [4-6].

Cyclodextrins (CDs) represent the most used molecules in host-guest processes because of their biodegradability, non-toxicity and aqueous solubility. They are cyclic oligomers comprising many α (1,4) bound glucopyranose units. They are often schematized in the form of a torus-shaped molecule having a dual nature with hydrophilic external faces and a hydrophobic cavity making them able to form non-covalently bonded inclusion complexes with a variety of hydrophobic molecules in an aqueous solution. The size of each cyclodextrin (CD) varies according to the number of glucose units forming the structure (α -, β - and γ -CD contain respectively 6, 7 and 8 units of D-glucopyranosyl) [7-9] (Figure 1a). The stability of the formed complex is therefore depending partly on the size compatibility between the host and the guest molecule and in the other part

on the nature of interacting forces. According to the chemical nature of the guest molecule different interactions may take place as Van der Waals interactions, hydrophobic effect, solvent reorganization, hydrogen bonding, charge transfer, etc. [10, 11]. So, structural information such as complex stoichiometry and geometry are important to know as well as thermodynamic parameters as the association constant, the variation of the free enthalpy (ΔG^0) and the entropy (ΔS^0) of binding. All these are necessary to achieve the best formulation of these complexes [12, 13].

In this present study, the formation of complexes made of tetracaine-hydrochloride (TC-HCl) and different CDs in an aqueous solution are investigated by UV-Visible spectrophotometry from a thermodynamic point of view. The guest molecule (Figure 1b) is a potent local anesthetic, primarily used for topical anesthesia and spinal block, but has a fairly toxic effect resulting in cauda equina syndrome among other compelling side effects [14]. Chemically, TC-HCl is an amino ester where the ester group links a hydrophilic ammonium group to an aromatic lipophilic ring. These peculiarities allow TC-HCl to behave both as a surfactant molecule and as a weak acid with a pK_a of 8.5 [15].



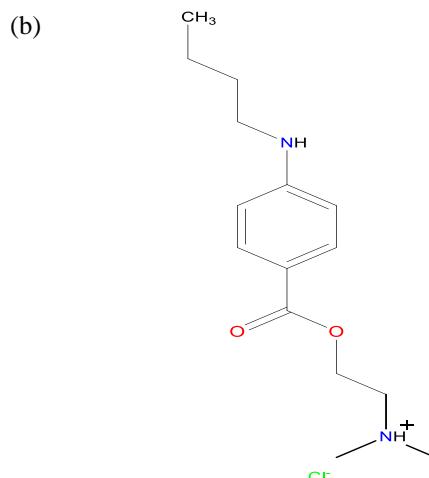


Figure 1. Chemical structures of: (a) CDs, (b) tetracaine hydrochloride

Materials and Methods

Materials

4-(Butylamino)benzoic acid 2-(dimethylamino)ethyl ester monohydrochloride, called tetracaine hydrochloride (TC-HCl) was obtained from Sigma in the crystalline form and was used without further purification. The β -cyclodextrin (β -CD), α -cyclodextrin (α -CD), and hydroxypropyl- β -cyclodextrin (HP β -CD) were purchased from Sigma. 6-Hydroxypropyl- β -cyclodextrin (HP β -CD), containing an average of 0.64 hydroxypropyl groups per glucopyranose unit. All of them, with 99% purity or greater, were used without further purification. All the solutions were freshly prepared with a distilled/deionized water of a conductivity value lower than 2 μ S/cm. The homogeneity of the initial solutions was assured by sonicating them in an ultrasonic bath.

UV-Vis measurements

The UV-Vis spectra were recorded with a Specord 200plus double-beam UV-Vis spectrophotometer (Germany), from 190 to 400 nm with 1 nm intervals at 15, 20, 25 and 37 °C, which temperature was kept constant with thermostated cell. Data acquisition of UV-Vis spectra was performed with software (Winspec) supported by the manufacturer and converted to ASCII format for their analysis. On the experiments with the Drug/water binary systems, the (TC-HCl) concentration was varied from 0 to 0.1mM, while for the CD/Drug/water ternary systems, the drug concentration was kept constant at

10^{-5} mol.l⁻¹ and CD concentration was varied from 0 to 10 mmol.l⁻¹.

Modeling stoichiometry and association constants

Assuming that a 1:1 complex between any CD and the drug is formed, the following chemical equilibrium takes place.



If one takes that the activity coefficients of all species are equal to unity, the equilibrium constant K can be written as:

$$K = \frac{[CD-G]}{[CD][G]} \quad (2)$$

The laws of mass conservation for all species require that

$$[CD]_0 = [CD] + [CD-G] \quad (3)$$

$$[G]_0 = [G] + [CD-G] \quad (4)$$

with $[CD]_0$: initial (total) concentration of host molecule, $[G]_0$: initial (total) concentration of the guest molecule. $[CD]$, $[G]$, $[CD-G]$: equilibrium concentrations of host, guest and complex respectively. The combination of these equations gives the expression of K the equilibrium constant as a function of initial concentrations of the host and the guest molecules as well as one of the formed complexes:

$$K = \frac{[CD-G]}{([CD]_0 - [CD-G])([G]_0 - [CD-G])} \quad (5)$$

So, to compute the equilibrium constant one has to determine the concentration of the formed complex since all other quantities are available. This quantity can be extracted from any technique for which intensity variation is proportional to the concentration of the complex. Amongst all available techniques, UV-Vis spectrophotometry represents the most used technique because of its simplicity and repeatability. For this technique, it is well known that the absorbance or optical density is proportional to the concentration of the absorbing chromophore so the observed absorbance for a system constituted of CD, guest and complex species is expressed as:

$$A_{abs} = A_{CD} + A_G + A_{CD-G} \quad (6)$$

A_{CD} , A_G and A_{CD-G} represent respectively the absorbance of the host, the guest and the complex. Taking that the length of the optical path is fixed to

$$\Delta A = [\varepsilon_G - \varepsilon_{CD-G}] \left[\frac{\left([G]_0 + [CD]_0 + \frac{1}{K} \right)}{-\sqrt{\left(\left([G]_0 + [CD]_0 + \frac{1}{K} \right)^2 - 4[G]_0 [G]_0 \right)_0}} \right] \quad (11)$$

which relates the difference in absorbance $\Delta A = A_{abs} - A_0$ to the equilibrium constant K. The use of a nonlinear regression permits to extract simultaneously the values of $\Delta\varepsilon$ and K from the experimental curve of the variation of ΔA versus $[CD]$.

Results and Discussion

The UV-Visible spectra of the drug TC-HCl in an aqueous solution at different concentrations at 25 °C are reported on Figure 2(a).

It can be observed that the spectra show three peaks centered at wavelength 190, 227 and 312 nm, corresponding to $\pi-\pi^*$ and $n-\pi^*$ electronic transitions of the unsaturated C = C bonds of the aromatic ring and the non-binding doublets of the nitrogen and the oxygen atoms [17]. With increasing drug concentration no significant wavelength shift occurs but the absorbance (A) increases obeying to a typical Lambert-Beer law (2b). This means that in this concentration range the solutions are dilute and no

1 cm, the different absorbances can be expressed as a function of the molar extinction coefficients ε of each absorbing species in solution.

$$A_0 = \varepsilon_G [G]_0 \quad (7)$$

$$A_{CD} = \varepsilon_{CD} ([CD]_0 - [CD-G]) \quad (8)$$

$$A_G = \varepsilon_G ([G]_0 - [CD-G]) \quad (9)$$

$$A_{CD-G} = \varepsilon_{CD-G} [CD-G] \quad (10)$$

where A_0 represents the absorbance of the drug in absence of cyclodextrin and A_{CD} , A_G and A_{CD-G} are absorbances of CD, Guest and the complex in the solution. Assuming that CD doesn't absorb light in the near-UV-Visible domain and combining equations 5 to 10 gives after a rearrangement the following equation (11) [16].

important intermolecular interactions exist as well as any solvent effect. From the linear fitting of the absorbance data as a function of drug concentration, the molar absorption coefficient, $\varepsilon=20604$ is determined for $\lambda_{max}=312\text{nm}$. The extracted value is comparable to one published by Merino *et al* for procaine hydrochloride anesthetic which possesses an identical chromophore as tetracaine, they reported a value of $\varepsilon=19825$ for $\lambda_{max}=311\text{nm}$ [18].

Figure 3 shows the UV spectra of aqueous solutions of TC-HCl at a constant concentration of 10^{-5}M in the absence and the presence of β -CD, at three different temperatures. The analysis of the obtained three spectra shows the presence of isosbestic points which indicates the occurrence of chemical equilibrium between the free and the complexed TC-HCl. For the spectrum at 15°C both absorbance and wavelength variations (ΔA and $\Delta\lambda$) are obvious but for the spectra at 25 and 37°C the wavelength shift $\Delta\lambda$ diminishes considerably with temperature increase. When the same sets of experiments are

conducted with α -CD and HP β -CD instead of β -CD different behaviors are noted as shown in Figure 4.

Figure 4 shows, as an example, the experiments performed at 25 °C. For α -CD only one isosbestic point is visible at $\lambda=329$ nm and only absorbance variation ΔA is observed. For HP β -CD both ΔA and $\Delta\lambda$ variation are noticeable and many isosbestic points close to ones observed for β -CD appear. All these observations underline that an inclusion complexation has occurred between these CDs and the drug [19]. These results agree with ones reported by García et al. using the fluorimetry method [20].

The analysis of the obtained three spectra shows the presence of isosbestic points which indicates the occurrence of chemical equilibrium between the free and the complexed TC-HCl. For the spectrum at 15°C both absorbance and wavelength variations

(ΔA and $\Delta\lambda$) are obvious but for the spectra at 25 and 37°C the wavelength shift $\Delta\lambda$ diminishes considerably with temperature increase. When the same sets of experiments are conducted with α -CD and HP β -CD instead of β -CD different behaviors are noted as shown in Figure 4.

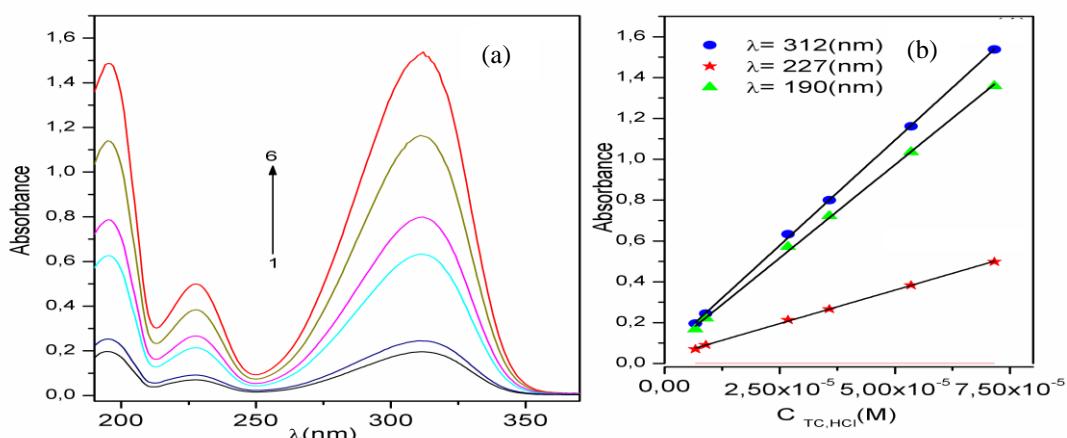


Figure 2. (a) UV-Visible spectra of aqueous solution of TC-HCl for different concentrations at 25°C. 1) 3.43×10^{-6} M, 2) 5.52×10^{-6} M, 3) 9.2×10^{-6} M, 4) 1.48×10^{-5} M, 5) 3.1×10^{-5} M, 6) 5×10^{-5} M. (b) Absorbance as function of concentration for different wavelengths.

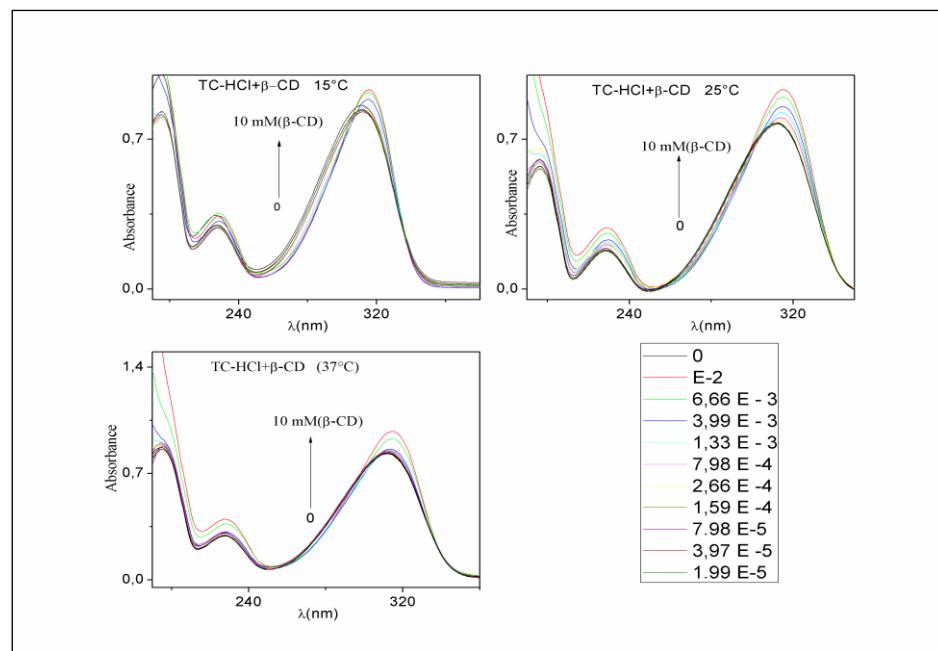


Figure 3. UV-Visible spectra of aqueous solutions of tetracaine hydrochloride (TC-HCl) 10^{-5} M with different amounts of β -CD (0-10mM) at different temperatures

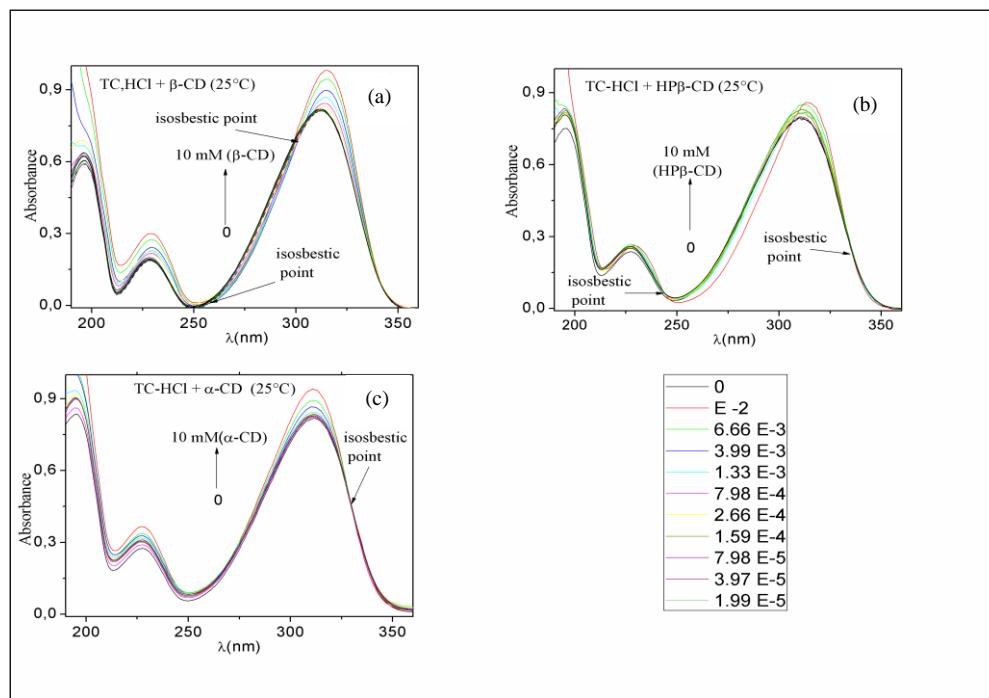


Figure 4. UV-Visible spectra of aqueous solutions (TC-HCl) 10^{-5} M in the presence of different host molecules.
 (a) β -CD, (b) HP β -CD and (c) α -CD at 25 °C

In order to confirm the formation of complexes the same set of experiments were carried out in the presence of d-(+)-glucose at amounts analogous to ones used for CD's experiments at 25 °C. Because CDs are oligomers of glucose molecule units, they have mainly the same elemental composition but different spatial conformational characteristics. With this choice one tries to preserve the solvent-molecule interaction (water-CD interaction are supposed close to water-glucose one) and letting the geometry differences be the only influencing parameter. From Figure 5 it is easy to note that for d-(+)-glucose no isosbestic points exist, only a slight red shift of the order of 1 nm is obtained with a very weak effect on absorbance values.

From the variation of the curve of ΔA against CD concentration it is possible to extract the K values by a nonlinear regression method [19]. As an example, Figure 6 shows the variation of ΔA against CD's concentration at T=25°C. The same method was

applied for all the studied systems at different temperatures and the corresponding association constants are reported in Table 1.

The dependence of equilibrium constants with the temperature can be noticed in Table 1, where the affinity of all cyclodextrins for the drug decreases as long as the temperature increases. Our results at T=25 °C agree with the findings of Takisawa and al. [21] who studied the inclusion of TC-HCl into α -CD and β -CD using the potentiometric method using drug-sensitive electrodes. They reported that the (β -CD/TC-HCl) formed complex is more stable than (α -CD/TC-HCl) one. From the preceding results, it is possible to determine some thermodynamic parameters of complexation from the variation of $R\ln K$ against $1/T$. Figure 7 shows the Van't Hoff plots of all association processes using both linear ($\Delta C_p^\circ = 0$) and non-linear ($\Delta C_p^\circ \neq 0$) fitting functions.

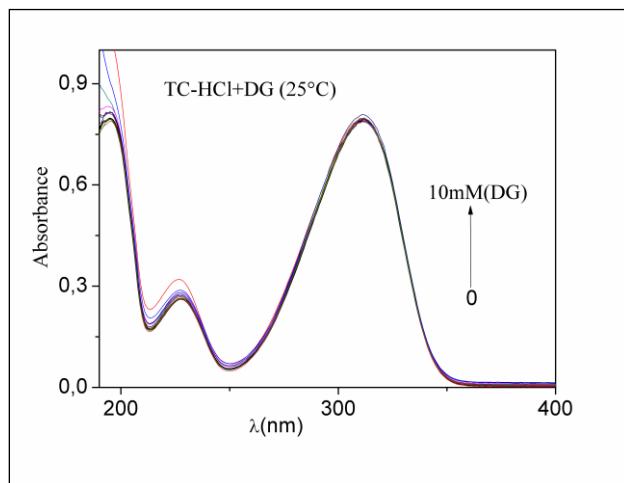


Figure 5. UV-Vis spectra of aqueous solutions of TC-HCl (10^{-5} M) for different amounts of d-(+)-glucose

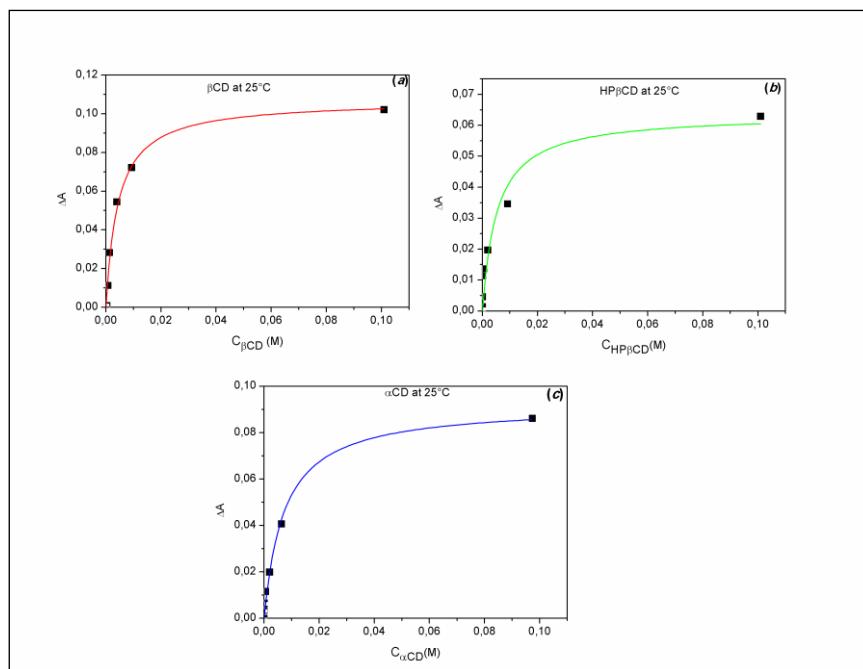


Figure 6. Non-Linear fitting of the variation of ΔA as a function of CD's concentration at 25°C for $\lambda=310$ nm

Table 1. Values of the association constant (K_{CD}) at different temperatures, obtained from UV-Vis measurements for the complex β -CD/TC-HCl, HP β -CD/TC-HCl and α -CD/TC-HCl

T (°C)	$K_{\alpha\text{-CD}}$ (l.mol ⁻¹)	$K_{\beta\text{-CD}}$ (l.mol ⁻¹)	$K_{\text{HP}\beta\text{-CD}}$ (l.mol ⁻¹)
15	155 ± 2	293 ± 26	285 ± 22
20	152 ± 14	263 ± 20	234 ± 12
25	137 ± 24	229 ± 36	193 ± 81
	$252 \pm 14^{(\text{**})}$	$1090 \pm 40^{(\text{**})}$	
37	76 ± 5.58	121 ± 9.6	91 ± 20

(**): reference [21]

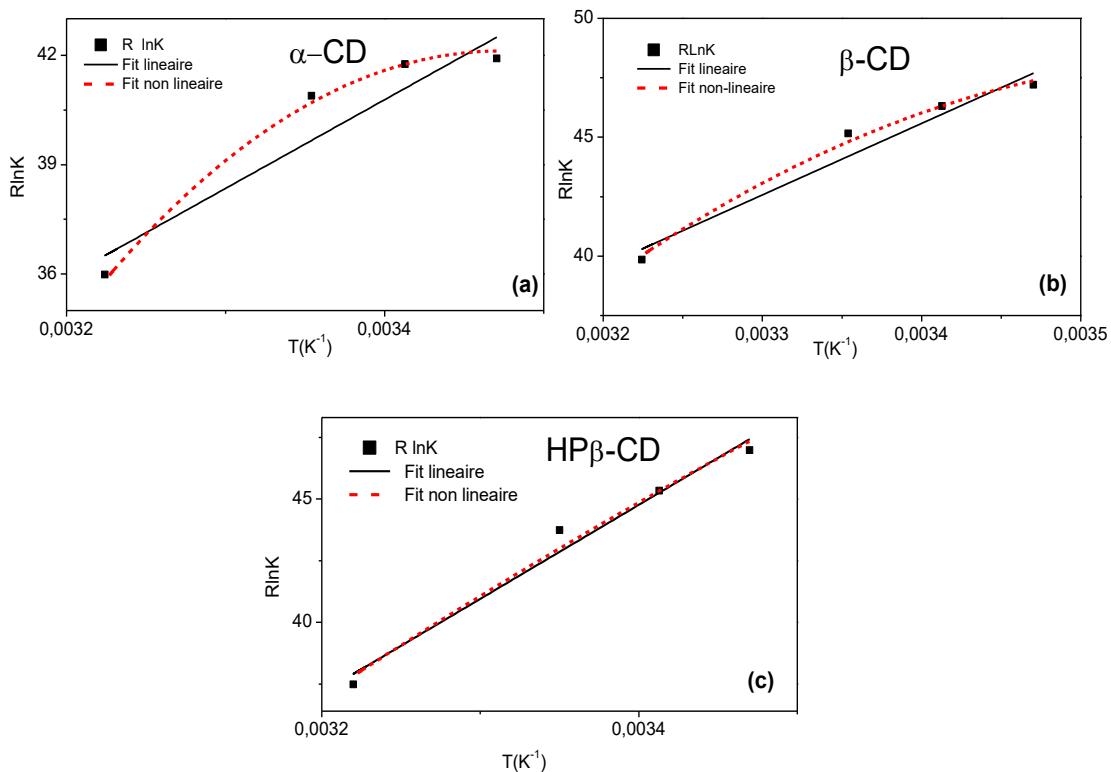


Figure 7. Van't Hoff plot for the association of TC-HCl with a) α -CD, b) β -CD and c) HP β -CD

From the slopes of the linear fits of the data to the classical Van't Hoff equation ($R\ln K = -\Delta H^\circ/T + \Delta S^\circ$), values of ΔH° equal to -24.3, -30.06 and -38.08 KJ.mol^{-1} are obtained respectively for α -CD, β -CD and HP β -CD complexes (Table 2). Negative values of the binding enthalpy are the sign that the drug establishes favorable interactions with cyclodextrins. In such association, the enthalpy change is the result of two main conflicting contributions: the favorable enthalpy associated with van der Waals forces coupled to the host/guest hydrogen bonds formation and the unfavorable enthalpy associated with the desolvation of the guest polar groups [11-13]. Van der Waals interactions become maximal when a perfect size fitting between cyclodextrin and the drug takes place while the hydrogen bonds formation optimization is reached when drug polar groups prefer forming hydrogen bond with the cyclodextrin prior to the surrounding water molecules. Thus, an unfavorable binding enthalpy usually indicates that the desolvation is not enough to permit the inclusion of the guest molecule. However, the enthalpic contribution is not the sole provider of the

stabilization of the complex and one has to consider the entropic contribution ΔS° . Two major terms contribute to the entropy of binding; the first one is the favorable desolvation entropy change which originates from the release of water molecules as the drug molecule and the binding cavity undergo desolvation upon binding [11-13].

The second term is related to the conformational entropy change which is almost always unfavorable since during the binding process both the drug and the cyclodextrin molecules induce the loss of conformational degrees of freedom. Thus, for our studied system, from the intercepts of Van't Hoff plot, ΔS° values equal to -41.8, -56.63 and -84.73 $\text{J.K}^{-1}.\text{mol}^{-1}$ are extracted for α -CD, β -CD and HP β -CD complexes respectively (Table 2). For all cases it can be observed that the drug bind to CDs with a favorable enthalpic term ($\Delta H^\circ < 0$) and an unfavorable entropic term ($\Delta S^\circ < 0$). All processes are exothermic and enthalpy driven ($|\Delta H^\circ| > T|\Delta S^\circ|$), as usually found for such associations [10, 22]. With its negative entropy $\Delta S^\circ < 0$ the complexation seems

to be mainly driven by Van der Waals attractive forces ($\Delta H^\circ < 0$; $\Delta S^\circ < 0$) and solvent reorganization effects. The contribution coming from the hydrophobic effect seems to be negligible especially for HP β -CD ($\Delta S^\circ = -84 \text{ J.mol}^{-1}.\text{K}^{-1}$).

For HP β -CD a linear relationship has been found in the Van Hoff plot, revealing independence of both the ΔH° and the ΔS° of the association processes with T . For β -CD and α -CD, Van Hoff plots are better described by nonlinear curves as usually reported for this kind of processes by different authors [10, 22]. With its hydroxypropyl hydrocarbon chains the HP β -CD second rim is a relatively flexible structure

compared to one belonging to native β CD which is more rigid since hydrogen bonds belt is thought to exist all around the rim. These hydrocarbon chains can hinder the complete inclusion of the guest molecule and decrease the desolvation process and thus diminish the strength of the desolvation positive entropy contribution. So, the contribution of solvent reorganization and hydrophobic effects couldn't be similar in both inclusion processes which make the binding of β -CD and TC-HCl energetically more favorable than that of HP β -CD with TC-HCl. The proposed architecture of the complexes formed can then be illustrated in Figure 8.

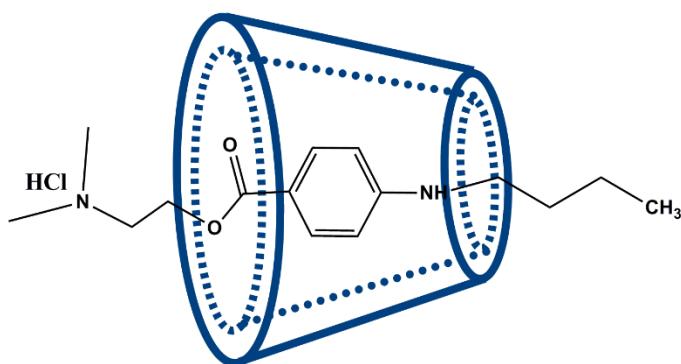


Figure 8. Architecture of inclusion complexes TC-HCl/CD

The negative value of all the ΔC_p° in table 2 obtained from the fitting of the experimental data with the non-linear Van Hoff equation ($R.\ln K = [-(\Delta H^\circ + (T - T_0) \Delta C_p^\circ)/T + \Delta S^\circ + (\Delta C_p^\circ \ln(T/T_0))]$) are close to values generally found when apolar solutes are encapsulated in CD's [23]. The difference found in the values of ΔC_p° for β -CD and HP β -CD confirm the fact that the β -CD complex is more stable than the HP β -CD one probably due to the diminution of the OH groups on the HP β -CD molecule, which limit the formation of hydrogen bonds with the surrounding water.

The β -CD secondary face diameter is larger than the α -CD one and could better accommodate the inclusion of a guest molecule bearing a benzene structure. This hypothesis is confirmed by the appearance of shifts of the absorbance and wavelength λ and consequently the attractive Van der Walls interactions must be optimal for the TC-HCl/ β -

CD complex compared to the TC-HCl/ α -CD one. The hyperchromic effect is usually attributed to the dissociation of the hydrogen bonds and the bathochromic is related to change of drug surrounding environment which become more apolar. According to Bernardi's theoretical DFT calculation in water the terminal nitrogen end of tetracaine possesses appreciable hydrophilicity which can reach the ester function close to the benzene cycle whereas the hydrocarbon butyl chain is completely hydrophobic [23, 24]. So, it can be proposed that the drug penetrates deeply in the β -CD cavity to an extent where both hydrophobic butyl chain and the benzene aromatic structure are influenced by the cavity walls which explain the simultaneous variation of ΔA and $\Delta \lambda$. For α -CD because of its narrower rim diameter only hydrophobic chain is penetrated and hyperchromic signature is revealed by UV-Visible spectrophotometry.

Table 2. Values of ΔH° ; ΔS° , and ΔC_p^0 for the association of TC-HCl with different CDs obtained from the linear and nonlinear fitting of Van't Hoff equation

CD	Fitting	ΔH° (KJ.mol ⁻¹) linear	ΔS° (J.mol ⁻¹ .K ⁻¹)	ΔC_p^0 (J.mol ⁻¹ .K ⁻¹)
α -CD	Linear	-24.3 ± 7.74	-41.8 ± 25.9	-
	Nonlinear	-23.0 ± 0.077	-39.29	-2311 ± 464.4
β -CD	Linear	-30.06 ± 6.68	-56.63 ± 22.4	-
	Nonlinear	-29.23 ± 0.00	-53.40 ± 4.81	-1000 ± 4.85
HP β -CD	Linear	-38.08 ± 6.06	-84.73 ± 20	-
	Nonlinear	-37.78 ± 5.10	-83.57 ± 17.08	-300

Conclusion

Employing the spectrophotometry technique for the inclusion complexation of tetracaine hydrochloride in different type of CDs (α -CD, β -CD and HP β -CD) was demonstrated. The occurrence of the complexation is confirmed by the appearance of isosbestic points, hyperchromic and bathochromic shift effects on the UV-Visible spectra. From the values of complexation constants, the strength of the complexation increases from α -CD to β -CD in accord with the majority of the studies earlier reported by different authors with other techniques. From the Van't Hoff analysis, the studied complexation processes are spontaneous, with a favorable enthalpic contribution and an unfavorable entropic term. This means that the complexation seems to be driven by Van der Waals attractive forces ($\Delta H^\circ < 0$; $\Delta S^\circ < 0$) and to the solvent reorganization effects. Van't Hoff plots well show that for the drug/HP β -CD association process linear fitting function is sufficient to describe the phenomena. However, for the α -CD and β -CD a non-linear fitting is necessary ($\Delta C_p^0 \neq 0$) to characterize their association with the drug.

Acknowledgement

The authors would like to thank the general directorate of scientific research and technological development, Algeria for the financial support.

References

- Mary Ann Vann, M. D., Babatunde O. Ogunnaike, M. D. and Girish P. Joshi, M.B. (2007). Sedation and anesthesia care for ophthalmologic surgery during local/regional anesthesia. *Anesthesiology*, 107(3): 502-508.
- Glantz, L., Drenger, B. and Gozal, Y. (2007). Perioperative myocardial ischemia in cataract surgery patients: general versus local anesthesia. *Anesthesia & Analgesia*, 91(6): 1415-1419.
- Cherobin, A. C. F. P. and Tavares, G. T. (2020). Safety of local anesthetics. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, 95 (1):82-90.
- Ariga, K. and Kunitake, T. (2006). Supramolecular chemistry-fundamentals and applications. Springer-Verlag Berlin, Heidelberg: pp. 207-238.
- Torchilin, V. P. (2006). Multifunctional nanocarriers. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 58(14): 1532-1555.
- Loftsson, T. and Masson, M. (2001). Cyclodextrin in topical drug formulation: Theory and practice. *International Journal of Pharmaceutics*, 225(1-2): 15-30.
- Frömming, K. H. and Szejtli, J. (1994). Cyclodextrin in pharmacy. Klumer Academies Publishers, Dordrecht: pp. 1-18.
- Martin Del Valle, E. M. (2004). Cyclodextrins and their uses: A review. *Process Biochemistry*, 39: 1033-1046.
- Maheriya, P. M. (2017). Cyclodextrin: A promising candidate in enhancing oral bioavailability of poorly water soluble drugs. *Bioequivalence & Bioavailability*, 3(3): 60-63.

10. Junquera, E. and Aicart, E. (1997). Potentiometric study of the encapsulation of ketoprophen by hydroxypropyl- β -cyclodextrin. Temperature, solvent, and salt effects. *Journal Physical Chemistry. B*, 101(36), 7163-7171.
11. Astray, G., Mejuto, J. C., Morales, J., Rial-Otero, R. and Simal-Gándara, J. (2010). Factors controlling flavors binding constants to cyclodextrins and their applications in foods. *Food Research International*, 43 (4): 1212-1218.
12. Rekharsky, M. V. and Inoue, Y. (1998). Complexation thermodynamics of cyclodextrins. *Chemical Reviews*, 98(5): 1875-1918.
13. Santos, C. I. A. V., Ribeiro, A. C. F. and Esteso, M. A. (2019). Drug delivery systems: Study of inclusion complex formation between methylxanthines and cyclodextrins and their thermodynamic and transport properties. *Biomolecules*, 9(5): 196-216.
14. Hugh, C., Hemmings, Jr. and Talmage D. E. (2019). Pharmacology and physiology for anesthesia: Foundations and clinical application, Elsevier, Philadelphia. pp: 20-43.
15. Shibata, A., Ikawa, K. and Terada, H. (1995). Site of action of the local anesthetic tetracaine in a phosphatidylcholine bilayer with incorporated cardiolipin. *Biophysical Journal*, 69(2): 470-477.
16. Schalley, C. (2007). Analytical methods in supramolecular chemistry. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim. pp: 419-471.
17. Nouiri, M. A., Fergoug, T., Azayez, M., Boujores, H., Zelmat, C. and Bouhadda, Y. (2017). Experimental and theoretical study of tetracaine-hydrochloride β -cyclodextrin complexation. *Journal of Materials Environmental Sciences*, 8(5): 1589-1598.
18. Merino, C., Junquera, E., Jiménez-Barbero, J. and Aicart, E. (2000). Effect of the presence of β -cyclodextrin on the solution behavior of procaine hydrochloride. spectroscopic and thermodynamic studies. *Langmuir*, 16(4): 1557-1565.
19. Mura, P. (2014). Analytical techniques for characterization of cyclodextrin complexes in aqueous solution: A review. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 101: 238-250.
20. García, I., Brandariz, I. and Iglesias, E. (2010). Fluorescence study of tetracaine-cyclodextrin inclusion complexes. *Journal of Supramolecular Chemistry*, 22(4): 228-236.
21. Takisawa, N., Shirahama, K. and Tanaka, I. (1993). Interactions of amphiphilic drugs with α -, β -, and γ - cyclodextrins. *Colloid and Polymer Science*, 271: 499-506.
22. Cano, J. Rodriguez, A. Aicart, E. and Junquera, E. (2007). Temperature effect on the complex formation between tricyclic antidepressant drugs (amitriptyline or imipramine) and hydroxypropyl- β -cyclodextrin in water. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, 59: 279-285.
23. Bernardi, R. C., Gomes, D. E. B., Pascutti, P., Ito, A. S. and Ota, A. T. (2006). Theoretical studies on water-tetracaine interaction. *International Journal Quantum Chemistry*, 106: 1277-1282.
24. Bernardi, R. C. Gomes, D. E. B. Ito, A. S. Ota, A. T. Pascutti, P. G. and Taft, C. (2007). Density functional and molecular dynamics simulations of local anesthetics in 0.9% NaCl solution. *Molecular Simulation*, 33(14): 1135-1141.