

Université MUSTAPHA Stambouli

Mascara



جامعة مصطفى اسطمبولي

معسكر

Faculté des sciences exactes

Département de chimie

*Laboratoire de chimie physique des macromolécules et interfaces biologiques*

## THESE de DOCTORAT

Spécialité : Chimie

Intitulée

**Etude des réactions de complexation mettant en  
jeu des cyclodextrines et des biomolécules**

*Présentée par : AZAYEZ Mansour*

Le 20/05/2021

Devant le jury :

Président	SAHNOUN Mohamed	Professeur	Université de Mascara
Examineur	BOUNACEUR Boumediene	Professeur	Université d'Oran 1
Examineur	BOUKLI HACENE Fouad	MCA	Ecole Supérieure des Sciences Appliquées Tlemcen
Examineur	BENMALTI Mohamed El Amine	Professeur	Université de Mostaganem
Encadreur	BOUHADDA Youcef	Professeur	Université de Mascara
Co-encadreur	FERGOUG Teffaha	Professeur	Université de Mascara

Année Universitaire : 2020-2021

# R

## EMERCIEMENTS

Ce travail a été réalisé au laboratoire de chimie physique des macromolécules et interfaces biologiques (LCPMIB) de l'université de Mustapha Stanbouli de Mascara. Dans lequel, monsieur Mr **BOUHADDA Youcef** et Mme **FERGOUG Teffaha** ont bien voulu m'accueillir. Je leur exprime ma profonde reconnaissance pour la confiance qu'ils m'ont accordée pour réaliser ce travail. Leurs compétences scientifiques, leurs conseils et leur disponibilité m'ont permis de mener à bien ce travail.

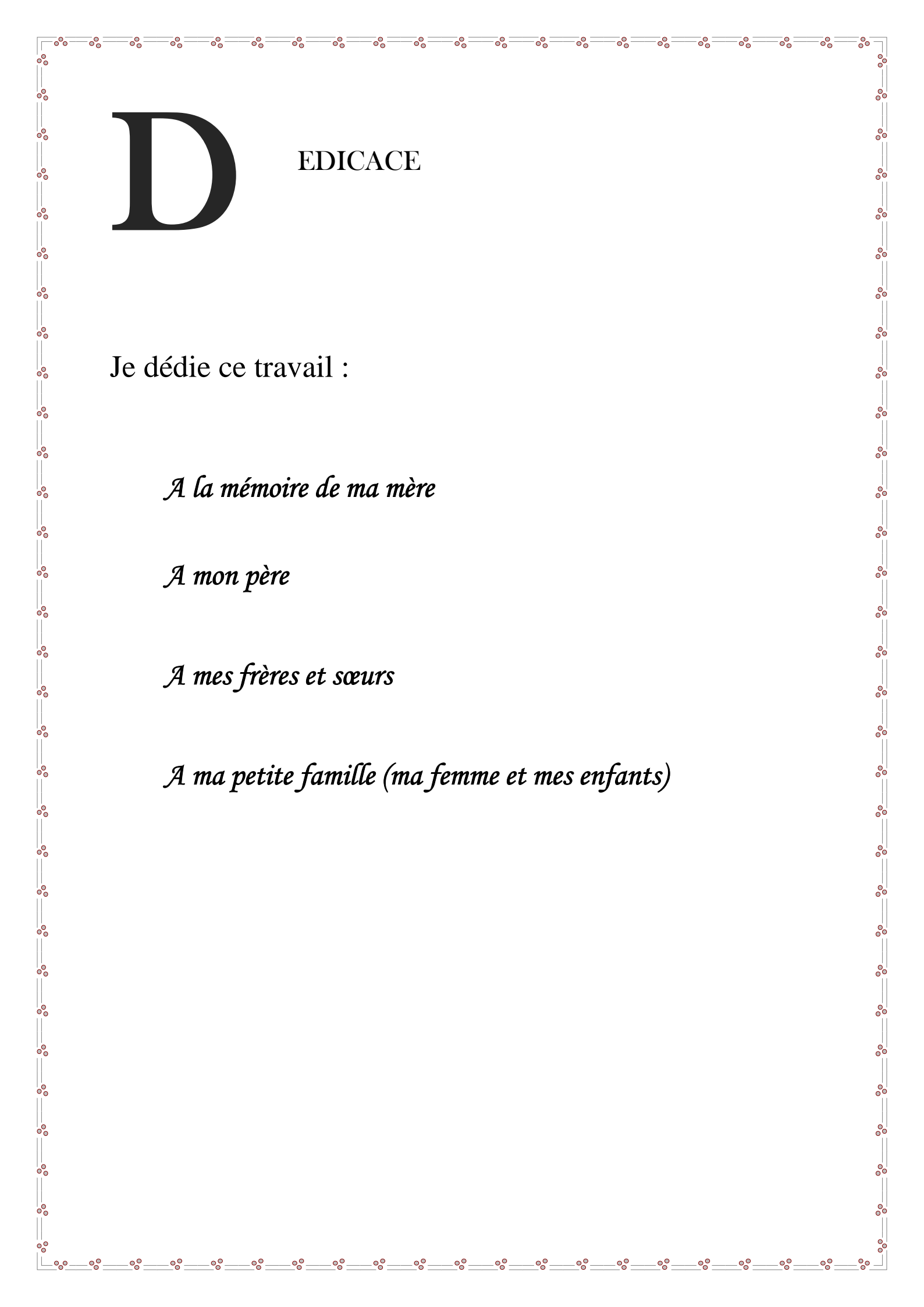
A monsieur le professeur **SAHNOUN Mohammed**: Je suis très sensible à l'honneur que vous me faites, en acceptant de présider le jury de ma soutenance. Soyez assurée, monsieur, de mon profond respect.

Mes remerciements les plus respectueux vont aux messieurs les professeurs **BOUNACEUR Boumediene**, **FOUAD BOUKLI Hacene** et **BENMALTI Mohamed El Amine** qui m'ont fait l'honneur de prendre connaissance de ce travail et d'en être examinateurs. Veuillez trouver ici l'expression de ma profonde reconnaissance.

Je tiens à remercier tous les membres du laboratoire LCPMIB ainsi que l'ingénieur du laboratoire et tous ceux qui ont contribué de près ou de loin dans la réalisation de ce travail.

Au cours de cette thèse j'ai été amenée à travailler au sein du laboratoire de Mr **BELLIL Ali** dont je tiens à le remercier pour son aide.

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



# D

## EDICACE

Je dédie ce travail :

*A la mémoire de ma mère*

*A mon père*

*A mes frères et sœurs*

*A ma petite famille (ma femme et mes enfants)*

# Sommaire

<b>Introduction générale</b> .....	01
<b>Chapitre I : Généralités sur les cyclodextrines et les principes actifs</b> .....	04
I.1. Les cyclodextrines .....	04
I.1.1. Définition et historique .....	04
I.1.2. Structures et nomenclature des cyclodextrines .....	07
I.1.3. Propriétés physico-chimiques des cyclodextrines .....	08
<i>I.1.3.1. Cyclodextrines naturelles</i> .....	08
<i>I.1.3.2. Cyclodextrines modifiées</i> .....	09
I.1.4. Métabolisme et toxicité des cyclodextrines .....	09
<i>I.1.4.1. Cyclodextrines naturelles</i> .....	09
<i>I.1.4.2. Cyclodextrines modifiées</i> .....	10
I.1.5. Stabilité des cyclodextrines en solution .....	11
I.1.6. Biodégradabilité des cyclodextrines .....	11
I.1.7. Les complexes d'inclusion à base de cyclodextrines .....	12
<i>I.1.7.1. Généralités</i> .....	12
<i>I.1.7.2. Formation des complexes et intérêt de la complexation</i> .....	13
<i>I.1.7.3. Facteurs responsables de la stabilité des complexes d'inclusion</i> .....	15
I.1.8. Méthodes de préparation des complexes d'inclusion .....	16
<i>I.1.8.1. Méthode de mélange physique</i> .....	16
<i>I.1.8.2. Méthode de malaxage</i> .....	16
<i>I.1.8.3. Méthode d'évaporation de solvant</i> .....	17
<i>I.1.8.4. Méthode de précipitation par neutralisation</i> .....	17
<i>I.1.8.5. Méthode anti-solvant supercritique</i> .....	17
<i>I.1.8.6. Méthode de lyophilisation</i> .....	18
<i>I.1.8.7. Méthode d'irradiation par micro-ondes</i> .....	18
<i>I.1.8.8. Méthode de séchage par pulvérisation</i> .....	18
I.1.9. Applications des cyclodextrines .....	19

<i>I.1.9.1. Application pharmaceutiques et médicinales</i> .....	19
<i>I.1.9.2. Applications en agroalimentaires</i> .....	21
<i>I.1.9.3. Applications cosmétiques</i> .....	22
<i>I.1.9.4. Domaine du textile</i> .....	22
<i>I.1.9.5. Domaine de l'environnement</i> .....	23
<i>I.1.9.6. Utilisation en synthèse organique (Activité catalytique)</i> .....	23
<i>I.1.9.7 Comme ingrédients actifs</i> .....	23
I.1.10. Auto assemblage des cyclodextrines et de leurs complexes .....	25
I.1.11 Cyclodextrins et nanotechnologie .....	26
I.1.12. Cyclodextrines et techniques de séparation .....	28
I.1.13 Cyclodextrines et tensioactifs à base de sucre .....	29
I.1.14. Cyclodextrines et tensioactifs à base de sucre.....	30
I.2. Les anesthésiques locaux.....	31
I.2.1. Introduction.....	31
I.2.2. Propriétés chimiques.....	32
<i>I.2.2.1. Structure</i> .....	32
<i>I.2.2.2. Classification</i> .....	33
I.2.3. Propriétés pharmacologiques des anesthésiques locaux.....	34
<i>I.2.3.1. Propriétés acido-basiques</i> .....	34
<i>I.2.3.2. Pharmacocinétique des anesthésiques locaux</i> .....	35
I.2.4. Interactions médicamenteuses.....	36
I.2.5. Relation entre structure et activité des anesthésiques locaux.....	37
I.2.6. Mécanisme d'action des anesthésiques locaux.....	38
I.2.7. Mode d'administration des anesthésiques locaux .....	40
<i>I.2.7.1. Anesthésie de surface</i> .....	40
<i>I.2.7.2. Anesthésie d'infiltration</i> .....	40
<i>I.2.7.3. Anesthésie de conduction</i> .....	40
I.2.8. Effets indésirables et toxicité.....	40
<i>I.2.8.1. Réactions allergiques</i> .....	41
<i>I.2.8.2. Manifestations cutanées</i> .....	41
<i>I.2.8.3. Nécrose</i> .....	41

<b>Chapitre II : Techniques de caractérisation &amp; méthodes de modélisation moléculaire</b> .....	43
II.1. Les techniques spectroscopiques .....	43
II.1.1. Introduction .....	43
II.1.2. La spectrophotométrie UV-Visible .....	44
<i>II.1.2.1. Principe et appareillage</i> .....	44
<i>II.1.2.2. Types de transitions électroniques</i> .....	45
<i>II.1.2.3. Effet du milieu sur les transitions électroniques</i> .....	47
<i>II.1.2.3.1. Terminologie</i> .....	47
<i>II.1.2.3.2. Effet de solvant</i> .....	47
<i>II.1.2.3.3. Effet de la concentration</i> .....	48
<i>II.1.2.3.4. Effet du pH</i> .....	48
<i>II.1.2.3.5. Effet de la température</i> .....	48
<i>II.1.2.4. Absorption de la lumière et la loi de Beer-Lambert</i> .....	49
<i>II.1.2.5. Avantages et applications de la spectroscopie UV-visible</i> .....	51
II.1.3. Spectrométrie de fluorescence moléculaire.....	52
<i>II.1.3.1. Caractéristiques des fluorophores</i> .....	55
<i>II.1.3.2. Changement de fluorescence lors de la complexation avec des cyclodextrines</i> .....	56
II.1.4. La spectroscopie de résonance magnétique nucléaire (RMN) .....	56
<i>II.1.4.1. Paramètres de base de la RMN à une dimension (1D)</i> .....	57
<i>II.1.4.1.1. Déplacement chimique</i> .....	57
<i>II.1.4.1.2. Intégration</i> .....	58
<i>II.1.4.2. RMN bidimensionnelles (2D)</i> .....	58
II.1.5. Modèles de calcul de la constante d'association .....	61
<i>II.1.5.1. Modelés linéaires</i> .....	61
<i>II.1.5.2. Modelés non linéaires</i> .....	64
II.2. Les méthodes de modélisation moléculaire.....	68
II.2.1. Introduction .....	68
II.2.2. Les méthodes de chimie quantique .....	68
<i>II.2.2.1. Méthodes Ab initio</i> .....	69

II.2.2.1.1. Méthode Hartree-Fock (HF) .....	69
II.2.2.1.2. Méthodes post Hartree-Fock (Post-HF) .....	72
II.2.2.2. Méthodes semi empiriques .....	75
II.2.2.3. Théorie de la fonctionnelle de la densité (DFT) .....	77
II.2.2.3.1. Approche de Kohn-Sham .....	78
II.2.2.3.2. Approche de la densité locale (LDA) .....	79
II.2.2.3.3. Approche de la densité locale de spin (LSDA) .....	80
II.2.2.3.4. Corrections non-locales : Approximation du gradient généralisé (GGA) .....	80
II.2.2.3.5. Fonctionnelles méta-GGA.....	81
II.2.2.3.6. Fonctionnelles hybrides .....	82
II.2.3. La méthode ONIOM .....	82
II.2.4. L'amarrage (Docking) moléculaire).....	84
Chapitre III : Caractérisation quantitative des complexes d'inclusion .....	89
III.1. Introduction.....	89
III.2. Matériels et méthodes .....	90
III.3. Discussion des résultats .....	94
<b>Chapitre IV : Caractérisation structurale des complexes d'inclusion.....</b>	<b>111</b>
IV.1. Introduction .....	111
IV.2. Protocole de caractérisation par RMN.....	112
IV.3. Résultats de la RMN du proton à une dimension ( <sup>1</sup> H RMN) .....	112
IV.3. Résultats de la RMN du proton à deux dimensions (RMN ROESY) .....	120
<b>Chapitre V : Complexes d'inclusion et modélisation moléculaire .....</b>	<b>123</b>
IV.1. Méthodes de calcul .....	123
IV.2. Discussion des résultats de l'amarrage moléculaire .....	127
IV.2. Discussion des résultats des calculs de chimie quantique.....	130
<b>Conclusion générale.....</b>	<b>140</b>
<b>Références bibliographiques .....</b>	<b>142</b>
<b>Résumé .....</b>	<b>170</b>

## Liste des figures

<b>Figure I.1.</b> Dégradation enzymatique de l'amidon.....	04
<b>Figure I.2.</b> Structure générale des cyclodextrines. ....	07
<b>Figure I.3.</b> Etapes déterminantes de la formation d'un complexe d'inclusion....	13
<b>Figure I.4.</b> Représentation des différentes stœchiométries des complexes d'inclusion .....	14
<b>Figure I.5.</b> Amélioration des propriétés de pénétration des molécules grâce aux CDs .....	15
<b>Figure I.6.</b> Structure de Sugammadex. ....	24
<b>Figure I.7.</b> Nombre de publications liées à la cyclodextrine, y compris des articles, des brevets et des conférences. ....	30
<b>Figure I.8 :</b> Structures typique des anesthésiques locaux de type ester et amide..	32
<b>Figure I.9.</b> Structure chimique de: (a) la procaine et (b) tetracaine.....	33
<b>Figure I.10.</b> Structure chimique des principaux anesthésiques locaux de type amide .....	34
<b>Figure I.11.</b> Représentation d'une cellule nerveuse.....	38
<b>Figure I.12:</b> Action d'un anesthésique local sur les canaux sodiques .....	39
<b>Figure II.1 :</b> Eléments d'un spectrophotomètre UV-Vis .....	44
<b>Figure II.2.</b> Principales transition électroniques .....	45
<b>Figure II.3.</b> Effet du solvant sur les transitions électroniques .....	47
<b>Figure II.4.</b> Représentation schématique des niveaux d'énergie des électrons et des différentes voies possibles correspondant aux phénomènes de photoluminescence (Diagramme de Jablonski) .....	53
<b>Figure II.5.</b> Eléments d'un spectrofluorimètre .....	53
<b>Figure II.6.</b> Représentation du moment du spin $\vec{I}$ .....	57
<b>Figure II.7.</b> Modes d'obtention des spectres uni et bidimensionnels .....	59
<b>Figure II.8.</b> Principales méthodes semi-empiriques .....	76
<b>Figure II.9.</b> Représentation de la méthode ONIOM à deux et trois couches .....	83
<b>Figure II.10.</b> Étapes typiques d'un docking moléculaire.....	85



<b>Figure III.1.</b> Structures de hydrochlorate de procaïne (a) et $\alpha$ -, $\beta$ - et HP- $\beta$ -CD (b) .....	89
<b>Figure III.2.</b> Spectrophotomètre UV-visible .....	90
<b>Figure III.3.</b> Equilibres acide-base de ProCHCl en solution aqueuse .....	94
<b>Figure III.4.</b> Variation du pH en fonction de la concentration en ProCHCl .....	95
<b>Figure III.5.</b> Diagramme de répartition des espèces de ProCHCl.....	96
<b>Figure III.6.</b> Spectres UV-Vis des solutions aqueuses de la ProCHCl à différentes concentrations .....	97
<b>Figure III.7.</b> Variation de l'absorbance en fonction de la concentration de ProCHCl à $\lambda_{max} = 291\text{nm}$ .....	98
<b>Figure III.8.</b> Spectres UV-vis de ProCHCl à la concentration $4.37 \cdot 10^{-5}$ M en absence et en présence de D-glucose (a), $\alpha$ -CD (b), $\beta$ -CD (c), HP- $\beta$ -CD (d) .....	100
<b>Figure III.9.</b> Courbe de Job de ProCHCl/ $\beta$ -CD et ProCHCl/HP- $\beta$ -CD à 25°C.....	101
<b>Figure III.10.</b> Variation de la longueur d'onde $\Delta\lambda$ en fonction des concentrations de $\beta$ -CD (a) et de HP- $\beta$ -CD (b) .....	101
<b>Figure III.11.</b> Spectres UV-vis de ProCHCl à la concentration $4.37 \cdot 10^{-5}$ M en absence et en présence de $\beta$ -CD à 15 °C (a), 25 °C (b) et 37 °C (c) .....	103
<b>Figure III.12.</b> Variation de la longueur d'onde $\Delta\lambda$ en fonction des concentrations de $\beta$ -CD à 15, 25, 32 et 37 °C.....	104
<b>Figure III.13.</b> Courbe de van't Hoff de l'association de ProCHCl avec $\beta$ -CD ...	105
<b>Figure III.14.</b> Spectres d'émission de ProCHCl à $5.2 \cdot 10^{-6}$ M en absence et en présence de $\beta$ -CD (a), HP- $\beta$ -CD (b) .....	108
<b>Figure III.15.</b> Variation de $I/I_0$ en fonction de la concentration de $C_{\beta\text{-CD}}$ (a) et $C_{\text{HP-}\beta\text{-CD}}$ (b).....	109
<b>Figure IV.1.</b> Spectre RMN du proton de la molécule hydrochlorate de procaïne	113
<b>Figure IV.2.</b> Spectre RMN du proton de la molécule de $\beta$ -CD .....	114
<b>Figure IV.3.</b> Spectre RMN du proton de la molécule de HP- $\beta$ -CD .....	115
<b>Figure IV.4.</b> Spectre RMN du proton du complexe ProCHCl/ $\beta$ -CD .....	118
<b>Figure IV.5.</b> Spectre RMN du proton du complexe ProCHCl/HP- $\beta$ -CD .....	119

<b>Figure IV.6.</b> Spectres RMN ROESY de la complexation de ProcHCl par $\beta$ -CD.....	121
<b>Figure IV.7.</b> Spectres RMN ROESY de la complexation de ProcHCl par HP- $\beta$ -CD.....	122
<b>Figure IV.8.</b> Architecture des complexes d'inclusion ProcHCl/CD .....	120
<b>Figure V.1.</b> Structures des isomères de HP- $\beta$ -CD (en annexe).	
<b>Figure V.2.</b> Processus d'inclusion de ProcHCl dans la cavité de $\beta$ -CD .....	124
<b>Figure V.3.</b> Structures et des complexes procaine: $\beta$ -CD ( <i>a</i> ) et procaine:HP- $\beta$ -CD ( <i>b</i> ) de l'association procaine: $\alpha$ -CD ( <i>c</i> ) .....	128
<b>Figure V.4.</b> Energies de complexation de ProcHCl/ $\beta$ -CD à différentes positions	131
<b>Figure V.5.</b> Structure du complexe (ProcHCl/ $\beta$ -CD) .....	131
<b>Figure V.6.</b> Spectres théoriques d'absorption de la ProcHCl libre ( <i>a</i> ) and complexée par $\beta$ -CD ( <i>b</i> ).....	135
<b>Figure V.7.</b> Spectres IR du complexe ProcHCl/ $\beta$ -CD .....	137
<b>Figure V.8.</b> Spectres IR du complexe ProcHCl/ $\beta$ -CD .....	138
<b>Schéma III.1.</b> Procédé de préparation des solutions à analyser par spectrophotomètre UV-vis .....	91
<b>Schéma III.2.</b> Procédé de préparation des solutions à analyser par spectrophotomètre UV-Vis selon la méthode de Job .....	92
<b>Schéma III.3.</b> procédé de préparation des solutions à analyser par spectrophotomètre de fluorescence .....	93

## Liste des tableaux

<b>Tableau I.1.</b> Propriétés physicochimiques des cyclodextrines natives.....	08
<b>Tableau I.2 :</b> Caractéristiques des cyclodextrines modifiées.....	09
<b>Tableau I.3.</b> Propriétés physicochimiques de quelques anesthésiques locaux....	37
<b>Tableau II.1.</b> Principales transitions électroniques de type $\pi \rightarrow \pi^*$ .....	46
<b>Tableau II.2.</b> Longueurs d'onde limites de certains solvants.....	50
<b>Tableau II.3.</b> Nombre d'intégrales calculées pour le propane.....	75
<b>Tableau II.4.</b> Liste de certains logiciels de docking moléculaire.....	86
<b>Tableau III.1.</b> Constante d'association $K$ , variation de la longueur d'onde $\Delta\lambda_{max}$ et l'énergie libre $\Delta G^\circ$ obtenues de l'analyse des spectres UV-Vis à $C_{ProcHCl} = 4.37 \cdot 10^{-5} M$ .....	102
<b>Tableau III.2.</b> Constante d'association $K$ et la variation de la longueur d'onde $\Delta\lambda_{max}$ , obtenues lors de l'analyse des spectres UV-Vis ( $C_{ProcHCl} = 4.37 \cdot 10^{-5} M$ ....	105
<b>Tableau III.3.</b> Valeurs des paramètres thermodynamiques liés à l'inclusion de ProcHCl par $\beta$ -CD selon l'analyse de Van't Hoff .....	106
<b>Tableau III.3.</b> Paramètres d'ajustement $K$ et $k_{CD-G}/k_G$ et l'enthalpie libre ( $\Delta G^\circ$ ) de la réaction.....	110
<b>Tableau IV.1.</b> Déplacements chimiques, en ppm, de ProcHCl, $\beta$ - et HP- $\beta$ -CD..	112
<b>Tableau IV.2.</b> Changements des déplacements chimiques des protons des espèces complexées ProcHCl: $\beta$ -CD et ProcHCl: HP- $\beta$ -CD.....	116
<b>Tableau V.1.</b> Energies de complexation de procaine/ $\beta$ -CD et procaine/HP- $\beta$ -CD.....	129
<b>Tableau V.2.</b> Les principales quantités énergétiques du complexe (procaine/ $\beta$ -CD 1:1) .....	132
<b>Tableau V.3.</b> Energies d'interactions $E^{(2)}$ entre ProcHCl et $\beta$ -CD.....	134
<b>Tableau V.4.</b> Principales transitions calculées pour le complexe d'inclusion ProcHCl/ $\beta$ -CD (B3LYP/6-31G (d, p) .....	136
<b>Tableau V.5.</b> Fréquences de vibration affectées par le processus d'association	

entre ProHCl et  $\beta$ -CD ..... 139

## Liste des abréviations

AL : anesthésique local

AM1: Austin model 1

CD: cyclodextrine

CNDO: Complet Neglect of Diatomic Overlap

COSY : COrrrelated SpectroscopY

CRYSMEB: Low methylated  $\beta$ -cyclodextrin

DFT : density functionnal theory

DIMEB : dimethyl beta cyclodextrin

DMF : N,N-dimethylformamide

DMSO : diméthylsulfoxyde

ECOSY : Exclusive COrrrelated SpectroscopY

FDA: Food and Drug Administration

GGA : Generalized Gradient Approximation

GTO : Gaussian Type Orbital

HF : Hartree-Fock

H-GGA : hybrid generalized gradient approximation

HMBC : Heteronuclear Multiple Bond Correlation

HP- $\beta$ -CD: hydroxypropyl  $\beta$ -cyclodextrine

HPLC : High Performance Liquid Chromatography

HSQC : Heteronuclear Single Quantum Coherence

IR: Infra-Red

INDO: Intermediate Neglect of Diatomic Overlap

LCAO: Linear combination

LDA : Local Density Approximation

LSDA: Local Spin Density Approximation

MINDO: Modified Intermediate Neglect of Diatomic Overlap

MNDO : Modified Neglect of Diatomic Overlap

NDDO: Neglect of Differential Diatomic Overlap

NOE : Nuclear Overhauser Effect

NOESY : Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy

ONIOM: Our-N-layered Integrated Molecular Orbital and Molecular Mechanics

OM: orbitale moléculaire

PCM : polarized continuum model

PIF: Parametrized Interaction Functions

PMMA: polymethyl methacrylate

PM3: parametric method 3

PM3MM : specifies the PM3 model including the optional molecular mechanics correction for HCON linkages

PM6: parametric method 6

PM7: parametric method 7

ProHCl : hydrochlorate de procaine

RAMEB : randomly methylated- $\beta$ -cyclodextrin

RMN : Résonance Magnétique Nucleaire

ROESY : Rotating-frame Overhauser Effect Spectroscopy

SBE- $\beta$ -CD: Sulfobutylether  $\beta$ -cyclodextrin

SCF : Self Consistent Field

STO : Slater Type Orbital

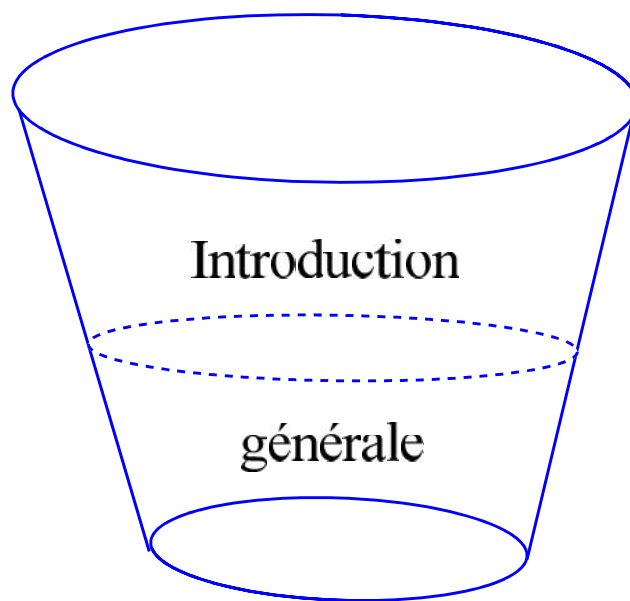
TD-DFT : Time dependant density functional theory

TPPI : Time Proportional Phase Incrementation

TOCSY : TOtal Correlation Spectroscopy

TRIMEB: Heptakis-(2,3,6-tri-O-methyl)-beta-Cyclodextrin

ZDO : Zero Differential Overlap



Introduction

générale

### Introduction

En chimie classique les molécules sont construites à partir de liaisons covalentes entre atomes voisins le plus souvent. Seulement la nature nous apprend que certains édifices moléculaires géants sont formés grâce à des interactions intra ou inter moléculaires sans liaison covalente. Ces molécules comme l'ADN et l'ARN sont appelées des super molécules et leurs études appartiennent au domaine de la chimie supramoléculaire. Ce concept a été décrit pour la première fois par Lehn en 1987 et vise l'étude des interactions intermoléculaires et la possibilité de former des associations ou des « super-molécules » par le biais d'interactions de faibles énergies. Ces interactions intermoléculaires jouent des rôles de première importance dans le vivant et sont primordiales dans le fonctionnement du système immunitaire à titre exemple. En effet, les anticorps se lient à leurs antigènes de manière non covalente afin de permettre leur élimination (Rossignol, 2016). Dans ce contexte, les super-molécules qui revêtent une grande importance sont celles composés des cyclodextrines et des molécules d'intérêt pharmaceutique telles que les anesthésiques locaux et les principes bioactifs des substances aromatiques d'origine végétale connus par leur faible solubilité en milieu aqueux.

Les cyclodextrines sont des espèces appartenant à la famille des oligosaccharides cycliques, composées d'unités de glucopyranoses reliés par des liaisons glycosidiques  $\alpha$ -(1,4). Les principales cyclodextrines que se soient naturelles telles que  $\alpha$ -,  $\beta$ - et  $\gamma$ -cyclodextrines ou modifiées, sont formées de 6, 7 ou 8 unités glucose, dont la structure est de la forme d'un cône tronqué avec une cavité interne hydrophobe et une surface externe hydrophile. Cette propriété leur permet de former des complexes d'inclusion (hôte/invité) avec une variété de composés organiques et inorganiques dont aucune liaison covalente ni formée ou rompue (Szejtli, 2004). Les complexes d'inclusion résultent de la bonne adéquation entre la taille de la molécule encapsulée et le diamètre de la cavité de la cyclodextrine. Les cyclodextrines peuvent être appliqués en toute innocuité dans plusieurs domaines tels que le domaine pharmaceutique, environnementale, cosmétique, agroalimentaire...etc. Ils sont alors des produits à forte valeur ajoutée, dont la préparation optimale est délicate à maîtriser.



Un anesthésique local possède la capacité de bloquer la conduction nerveuse. Au niveau moléculaire, ces médicaments agissent en ralentissant la vitesse de dépolarisation des fibres nerveuses et l'entrée d'ions de sodium dans le cytoplasme, il s'agit d'une propriété fondamentale partagée avec d'autres médicaments comme certains anti-arythmiques et d'autres anti-convulsivants. La structure chimique des anesthésiques locaux est composée de trois groupements: un groupement lipophile, une chaîne intermédiaire et un groupement ionique hydrophile. Ils sont utilisés depuis la fin du XIX siècle et sont fréquemment employés aussi bien par les urgentistes, chirurgiens, dermatologues, ...etc, cependant et comme tout médicament, ils possèdent des effets indésirables parfois graves notamment au niveau du système nerveux central (Scott, 1986 ; Groban, 2003). Leur encapsulation par des molécules cages (excipients) telles que les cyclodextrines sont souvent nécessaires pour pallier à leurs inconvénients.

Ce travail attache un intérêt tout particulier à la caractérisation des complexes d'inclusion formés par trois cyclodextrines ( $\alpha$ -,  $\beta$ - et hydroxypropyl  $\beta$ -cyclodextrines) et un anesthésique local (hydrochlorate de procaine) pris comme modèles. Un large éventail de techniques expérimentales et de méthodes de modélisation moléculaire sont utilisées afin d'identifier les facteurs qui conditionnent leur stabilité et leurs conformations spatiales. L'ensemble des résultats nous permet d'acquérir des connaissances fondamentales sur les mécanismes d'interaction et de trouver la recette optimale pour répondre le mieux possible aux effets espérés de l'encapsulation.

Ce manuscrit s'articule sur cinq chapitres:

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

Un rappel théorique sur les techniques de caractérisation (spectrophotométrie UV-Visible, spectrofluorimétrie et la résonance magnétique nucléaire) constitue la

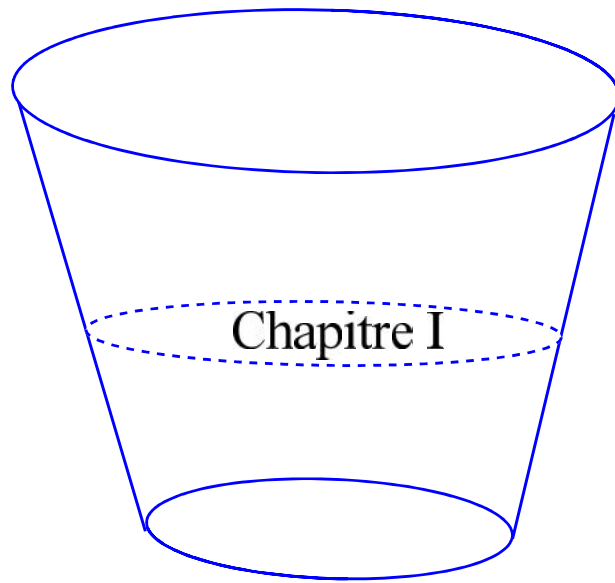
première partie du chapitre 2. La seconde partie est dédiée à la présentation des méthodes de modélisation moléculaire.

Le troisième chapitre est consacré à la discussion des résultats des méthodes de caractérisations quantitatives de la réaction de complexation du chlorhydrate de procaïne par trois cyclodextrines ( $\alpha$ -,  $\beta$ - et hydroxypropyle- $\beta$ -cyclodextrines), en mettant l'accent sur le calcul des constantes d'associations et les grandeurs thermodynamiques.

La caractérisation structurale par la résonance magnétique nucléaire à une dimension ( $^1\text{H}$  NMR) et à deux dimensions (ROESY NMR) constitue les grandes lignes du quatrième chapitre.

Le cinquième chapitre rassemble les résultats des calculs de docking moléculaire et des méthodes de chimie quantique, en déterminant les différentes grandeurs énergétiques qui permettent de discuter la stabilité des complexes d'inclusion procaïne/cyclodextrine.

Nos résultats et ceux trouvés dans la littérature sont discutés en arrivant enfin à une conclusion générale qui englobe tous ce qui a été décrit dans les pages de ce manuscrit.



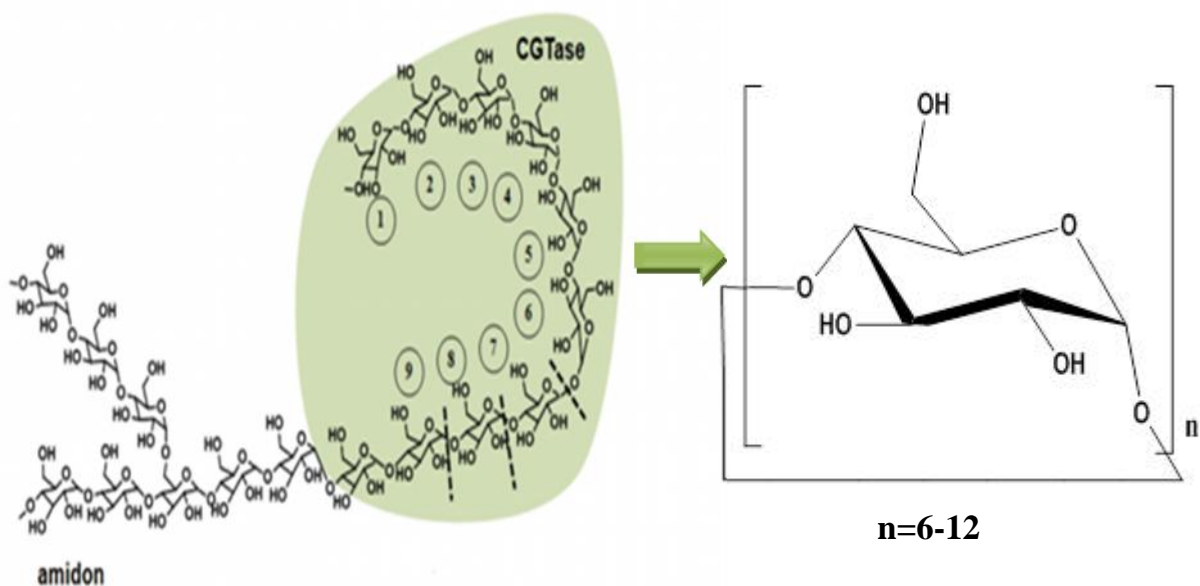
*Généralité sur les cyclodextrines et les principes actifs*

## I. Généralités sur les cyclodextrines et les principes actifs

### I.1. Les cyclodextrines

#### I.1.1. Définition et historique

Les cyclodextrines (CDs) sont des oligosaccharides cycliques de forme conique, produits lors du procédé d'une dégradation enzymatique suivie d'une transglycosylation intramoléculaire de l'amylose (forme linéaire de l'amidon) à l'aide de l'enzyme cyclodextrine glucosyltransférase (CGTase) (Biwer *et al.*, 2002) (figure I.1).



**Figure I.1.** Dégradation enzymatique de l'amidon

Selon Crini (2014), l'histoire des CDs est divisée en trois étapes: la découverte, l'exploration et l'utilisation.

#### ➤ **Découverte des cyclodextrins « CDs » (1891 – 1950)**

L'histoire des CDs a commencé en France en 1891 par le pharmaco-chimiste Antoine Villiers lors de sa publication sur l'isolement d'une substance cristalline issue de la dégradation de l'amidon par la bactérie *Bacillus amylobacter*. Villiers a proposé  $(C_6H_{10}O_5)_n \cdot 3H_2O$  comme formule pour cette substance et Cellulosine comme nom en raison des similitudes avec la cellulose : résistante à l'hydrolyse

acide et dépourvue de sucres réducteurs (Villiers, 1891(46) ; Villiers, 1891 (CXII)).

**1903-1911** : le chimiste et bactériologiste autrichien Franz Schardinger (1903(6) ; 1903(16)) a découvert qu'un type de micro-organisme extrêmement résistant à la chaleur est capable de dissoudre l'amidon en formant des cristaux, nommées plus tardivement dextrines cristallines A et B, similaires à la cellulose rapportée par Villiers. Entre 1905 et 1911, Schardinger a donné le premier détail descriptif de la préparation, la séparation et la purification des celluloses. En 1911, Schardinger a considéré que la nomenclature proposée auparavant pour les celluloses n'est pas appropriée et décide de les nommer -dextrine cristalline et -dextrine cristalline, mais leurs principales propriétés physicochimiques restaient indéfinies.

**1930-1950** : plusieurs investigations de Freudenberg et ses collaborateurs sur les CDs sont arrivées à la conclusion que leur structure est cyclique et qu'elles sont formées d'unités de maltose reliées les unes aux autres par des liaisons glycosidiques  $\alpha$ -1,4 (Freudenberg *et al.*, 1936 ; Freudenberg, 1943 ; Freudenberg et Cramer, 1948). Ces chercheurs ont été les premiers à préparer des -dextrines presque pures en utilisant le bromobenzène. Ils ont découvert la dextrine et élucidé sa structure entre 1948 et 1950 (Freudenberg et Cramer, 1948 ; Freudenberg et Cramer, 1950]. A la fin des années 40, Cramer a été le premier à utiliser le mot cyclodextrines pour les définir (Cramer, 1949).

### ➤ Exploration : 1950-1970

En 1953, Freudenberg, Cramer et Plieninger ont déposé un brevet qui couvrait de nombreux aspects importants de l'application des CDs dans la fabrication des médicaments, après avoir démontré la capacité des CDs pour protéger des substances facilement oxydables par l'atmosphère, l'augmentation de la solubilité des médicaments dans un milieu aqueux et la stabilisation des substances volatiles grâce à leur complexation avec les CDs (Freudenberg *et al.*, 1953). A la fin des années 60, de très bonnes connaissances des propriétés des CDs telles que, leurs structures (la forme en anneau et la masse moléculaire), leurs propriétés physicochimiques ainsi que leur fabrication dans le laboratoire étant désormais possible

(Loftsson et Duchêne, 2007). Des CDs à plus de huit unités de glucose ont été décrites pour la première fois dans les années 1950 mais leur purification difficile et les faibles rendements avec lesquels ils sont obtenus ont retardé leur caractérisation. Ce n'est que dans ces dernières années qu'elles ont commencé à être étudiées de façon plus approfondie (Ellouze *et al.*, 2011).

➤ **Production industrielle et utilisation multidisciplinaires : 1970 à nos jours**

La production des CDs a connu un essor particulier depuis les années 70 du dernier siècle et le cout de fabrication est devenu très réduit, par exemple, la production de 1 kg de  $\beta$ -CD qui était 2000 dollars en 1970, devient seulement quelques dollars dans les années 90 avec une production annuelle de l'ordre de 10000 tonnes par an, en augmentation constante (Loftsson et Duchêne, 2007). Depuis que la non-toxicité des CDs a été prouvée, une forte croissance du nombre de publications relatives à ce sujet a été signalée. Parallèlement, le développement des dérivées des CDs naturelles leur confère de nouvelles propriétés, comme par exemple le caractère amphiphile qui leur donne la capacité de s'auto-assembler en agrégats (Roux *et al.*, 2007).

**1976** :  $\alpha$ -CD et  $\beta$ -CD sont approuvées au japon comme additifs alimentaire

**1981-1986** : accroissement dans la synthèse des dérivés des CDs naturelles

**1988** : commercialisation des tablettes de Piroxicam/  $\beta$ -cyclodxtine en Europe

**1997** : commercialisation de la solution pharmaceutique à administration orale Itraconazole/HP-  $\beta$ -CD (sparonox) aux états unis.

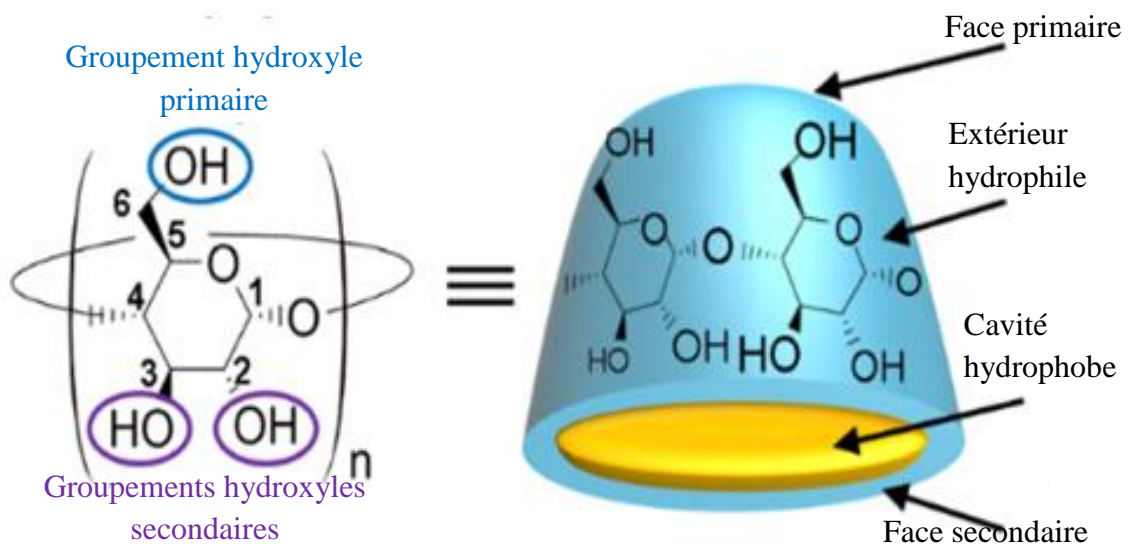
**2003** : environs 26000 publications sur les CDs ont été comptabilisées

**2008** :  $\beta$ -CD modifiée utilisée comme antidote de certains anesthésiques

**2008 à nos jours** : l'utilisation des CDs est devenu vaste telle que: domaine pharmaceutique, médicinales, nanotechnologie, cosmétique, catalyse, dépollution, chromatographie, textile et d'autres applications comme nous venons les montrer au cours des lignes de ce manuscrit.

### I.1.2. Structures et nomenclature des cyclodextrines

Les CDs sont des oligosaccharides cycliques de formule brute  $(C_6H_{10}O_5)_n$ , constituées par l'assemblage de 6 à 12 motifs de glucose reliés par des liaisons glycosidiques  $-1,4$ . Une molécule de CD est constituées d'une cavité relativement hydrophobe tapissée par des atomes de carbone et d'hydrogène (surface de contact avec la molécule invitée) et un extérieur relativement hydrophile (surface de contact avec le solvant) garni par des groupements hydroxyles primaires (portés par les carbones  $C_6$  autour de l'entrée étroite du cône) et secondaires (portés par les carbones  $C_2$  et  $C_3$  autour de l'entrée large du cône) (Szejtli, 2004) (figure I.2). C'est grâce à leur forme tronquée que les CDs jouent le rôle de molécules hôtes, capables d'inclure dans leurs cavités des molécules de tailles variables, donnant lieu à des complexes d'inclusion ou hôte-invité. Les CDs les plus abondantes lors de la dégradation de l'amidon renferment 6, 7 et 8 unités glucosidiques et sont désignées par  $\alpha$ -,  $\beta$ - et  $\gamma$ -CD respectivement.



**Figure I.2.** Structure générale des cyclodextrines

### I.1.3. Propriétés physico-chimiques des cyclodextrines

#### I.1.3.1. Cyclodextrines naturelles

Le tableau suivant rassemble les caractéristiques les plus importantes des CDs natives.

**Tableau I.1.** Propriétés physicochimiques des cyclodextrines natives (Stella et He, 2008 ; Kurkov et Loftsson, 2013).

Propriétés	-CD	-CD	-CD
Unités de glucose	6	7	8
Formule brute	$C_{36}H_{60}O_{30}$	$C_{42}H_{70}O_{35}$	$C_{48}H_{80}O_{40}$
Carbones asymétriques	30	35	40
Masse moléculaire (g/mole)	972	1135	1297
Diamètre de la cavité (Å)	4.7	6	7.5
Solubilité dans l'eau à 25°C (g/l)	145	18,5	232
Hauteur du cône (Å)	7,8	7.8	7.8
Molécules d'eau retenues dans la cavité	6-8	11-12	13-17
Température de fusion (°C)	275	280	275
Pouvoir rotatoire à 25°C	150,5	162,5	177,4
Hydrolyse par les amylases digestives	Négligeable	Lent	Rapide

L'analyse des informations illustrées dans ce tableau montre que la taille de la cavité des CDs est variable, ce qui suggère que ces systèmes sont capables d'encapsuler une grande variété de molécules. Les CDs piègent dans leurs cavités des molécules d'eau dont leur nombre varie d'une CD à une autre. Par ailleurs, la force des liaisons hydrogènes résultantes de l'interaction entre les groupements hydroxyles conduit à une solubilité fortement variable d'une CD à une autre. Ainsi la -CD est presque dix fois moins soluble que -CD ou -CD. Il est à noter également que les CDs possèdent de nombreux centres chiraux, chaque unité de glucose contient cinq carbones asymétriques, ce qui offre la possibilité de la séparation des énantiomères.



**I.1.3.2. Cyclodextrines modifiées**

Afin d'améliorer la solubilité et pour la recherche et le développement des applications thérapeutiques plus ciblées, de nombreuses dérivées de CDs ont été élaborées. Ainsi, les CDs de la dernière génération sont synthétisés pour s'adapter à la structure de l'invité et à la reconnaissance cellulaire. Les groupements hydroxyles des unités glucopyranoses peuvent alors être aminés, estérifiés ou étherifiés. Les CDs chimiquement modifiées ont des masses molaires moyennes correspondant à des nombres moyens de substitution (tableau I.2).

**Tableau I.2.** Caractéristiques des cyclodextrines modifiées (Loftsson et Duchêne, 2007).

Cyclodextrine	Moyenne de substitution	Masse moléculaire (g/mole)	Solubilité aqueuse à 25 °C (mg/ml)
Dimeb	2	1331	570
Trimeb	3	1429	310
Rameb	1.8	1312	>500
Crymeb	0.57	1191	220
HP- -CD	0.6	1380	>600
SBE- -CD	0.9	2163	>500

**I.1.4. Métabolisme et toxicité des cyclodextrines****I.1.4.1. Cyclodextrines naturelles**

L'administration de -CD par voie orale ne provoque aucun effet notoire, elle est métabolisée par la flore intestinale au niveau du colon et du caecum (Lina et Bar, 2004), alors que lors de son administration par voie intraveineuse, presque la totalité de la quantité administrée est éliminée par voie rénale. Les médicaments contenant de la -CD sont généralement administrés par voie orale, rectale et topique, tandis que l'administration parentérale est exclue car elle peut provoquer une néphrotoxicité due à la possibilité de -CD de former des cristaux en raison de sa faible solubilité aqueuse ou à l'extraction du cholestérol membranaire dans les tissus rénaux (Frank *et al.*,

1976). L'absorption de la  $\alpha$ -CD dans le tractus intestinal est négligeable et elle est généralement dégradée par les bactéries colonisant le colon et le caecum (Irie et Uekama, 1997). La  $\alpha$ -CD peut être hydrolysée par les amylases salivaires et pancréatiques et suite à une administration orale, elle sera métabolisée rapidement en glucose alors qu'elle est résistante après une administration par voie intraveineuse. La  $\alpha$ -CD est la moins toxique des CDs, mais elle forme des agrégats visibles dans les solutions aqueuses et n'est donc pas bien adaptée aux formulations parentérales (Polarz *et al.*, 2001).

#### *1.1.4.2. Cyclodextrines modifiées*

Les dérivés lipophiles tels que les CDs méthylées induisent des effets toxiques et augmentent l'hémolyse après une administration par voie parentérale (Irie et Uekama, 1997). Ces dérivées méthylées sont absorbées du tractus gastro-intestinal dans la circulation systémique (Vazquez *et al.*, 1991). Les dérivées hydrophiles sont moins toxiques, par exemple, La HP- $\alpha$ -CD est très soluble dans l'eau et moins toxique que la  $\alpha$ -CD, son administration par voie parentérale ne présente aucun effet nocif. La HP- $\alpha$ -CD est incluse dans diverses formulations orales, son élimination est complète par filtration glomérulaire après administration par voie pénétrable (Gould et Scott, 2005). La SBE- $\alpha$ -CD, à son côté, peut être administrée en toute innocuité par voies parentérale et orale (Irie et Uekama, 1997). Cette CD est utilisée dans les formulations parentérales à une dose de 14 g/jour (Kurkov, 2013) et l'un des médicaments contenant la SBE- $\alpha$ -CD est le voriconazole. L'élimination de cette CD se fait par filtration glomérulaire et se trouve intacte dans l'urine.

Des études avec des molécules marquées au <sup>14</sup>C ont montré que les CDs peuvent être dégradées par le métabolisme humain en maltose, glucose et CO<sub>2</sub> lors de l'absorption par voie orale. De plus, les CDs seront excrétées rapidement dans les urines lors de l'injection par voie intra-veineuse (Kondo *et al.*, 1990 ; Marshall et Miwa, 1981). Par ailleurs, les CDs natives et leurs dérivés hydrophiles traversent difficilement les barrières biologiques lipophiles. L'étude effectuée par Irie et Uekama en 1997 montre que seule une portion négligeable des CDs hydrophiles ou des complexes molécule/CD sont capables de traverser une membrane comme la muqueuse gastro-

intestinale après une administration par voie orale. Ils ont rapporté également que peu d'effets secondaires systémiques sont attribuables aux CDs elles-mêmes en raison de leur faible diffusion dans la circulation générale. Les dérivés lipophiles de la  $\beta$ -CD, même s'ils interagissent plus avec les membranes, ne les traversent plus (Del Valle, 2004).

Les monographies des CDs peuvent être trouvées dans plusieurs pharmacopées, par exemple, l' $\alpha$ -CD et la  $\beta$ -CD sont listées dans la pharmacopée américaine, la pharmacopée européenne et la pharmacopée japonaise. La  $\gamma$ -CD sera bientôt incluse dans la pharmacopée américaine et ensuite dans la pharmacopée européenne. Une monographie de la HP- $\beta$ -CD est apparue dans la pharmacopée européenne. La  $\alpha$ -CD, SBE- $\alpha$ -CD, HP- $\beta$ -CD et la  $\gamma$ -CD figurent également sur la liste « généralement considérée comme sûre » de la FDA pour être utilisées comme additifs alimentaires (Kurkov et Loftsson, 2013).

### **I.1.5. Stabilité des cyclodextrines en solution**

La stabilité des CDs en solution est relativement peu influencée par les conditions du pH et de température. L'hydrolyse des CDs peut avoir lieu dans certaines conditions de pH très acide (< 1) et à 80 °C (Stella et Rajewski, 1997). La structure des CDs est stabilisée par une véritable ceinture de liaisons hydrogène entre les hydroxyles des unités adjacentes du glucose.

### **I.1.6. Biodégradabilité des cyclodextrines**

La biodégradation des CDs natives ( $\alpha$ -CD,  $\beta$ -CD et  $\gamma$ -CD) est rapide et complète tandis que celle des CDs ramifiées est plus faible et dépend du degré de substitution (Singh *et al.*, 2002). De par leur nature chimique, les CDs constituent une source de carbone et d'énergie aisément utilisable par les micro-organismes présents dans les sols. Globalement, les CDs présentent relativement une bonne biodégradabilité dans les sols (Fenyvesi *et al.*, 2002 ; Fava *et al.*, 2002).

## I.1.7. Les complexes d'inclusion

### I.1.7.1. Généralités

Par définition, un complexe d'inclusion est formé à partir d'une espèce réceptrice qui inclut plus ou moins profondément en son sein un substrat moléculaire ou ionique. Le phénomène d'inclusion n'est en général pas accompagné de la formation de liaisons covalentes ou de coordinations. Dans le cas des CDs, le caractère relativement hydrophobe de leurs cavités permet d'insérer des molécules dont l'hydrophobicité de l'hôte et de l'invité est comparable, tandis que les fonctions hydroxyles assurent la solubilisation des complexes d'inclusion dans l'eau. Une ou plusieurs molécules peuvent être encapsulées simultanément dans une, deux et même parfois trois molécules de CDs (Landy *et al.*, 2007). Dans une réaction de complexation, l'un des facteurs déterminants est d'ordre géométrique : la partie incluse doit avoir une taille ajustée par rapport à celle de la cavité de la CD considérée; la taille de la molécule de CD et celle du substrat conditionnent alors la stœchiométrie du complexe formé.

Les interactions mises en jeu lors de la formation d'un composé d'inclusion font appel aux forces électrostatiques, de Van der Waals, hydrophobes ainsi qu'aux liaisons hydrogènes (Liu et Guo, 2002). En effet, la formation de ces complexes est accompagnée par le remplacement, dans la cavité, des molécules d'eau par des molécules hydrophobes qui créent des associations plus favorables de type hydrophobe. En fait, l'exclusion des molécules d'eau suite à l'inclusion d'une molécule dans la cavité de la CD peut être considérée comme une étape clé de la réaction de complexation (Merlin, 1998). La destruction du complexe peut se faire soit par effet thermique, soit par hydrolyse en modifiant le pH ou en utilisant des solvants organiques (Blyshak *et al.*, 1988); une molécule hydrophobe, par exemple, pourra avoir plus d'affinité pour un solvant apolaire que pour la cavité de la CD. La decomplexation peut permettre de séparer physiquement les constituants du mélange ou de recycler la CD pour des usages ultérieurs.

### I.1.7.2. Formation des complexes d'inclusion et intérêt de la complexation

La formation d'un complexe d'inclusion peut passer par les étapes suivantes :

- l'approche du substrat et l'expulsion des molécules d'eau hors de la cavité de CD,
- la présentation de la molécule invitée dans la cavité libre de la CD et stabilisation du complexe par des interactions de faibles énergies,
- le réarrangement des molécules d'eau expulsées (restauration de la structure d'eau autour de la partie du substrat qui reste en contact avec le solvant) (Szejtli, 1998).

Les complexes les plus courants sont de type 1:1 (figures I.3).

L'association d'une CD et d'une molécule invitée G, ainsi que la dissociation du complexe formé CD-G, sont gouvernées par un équilibre chimique de la forme:



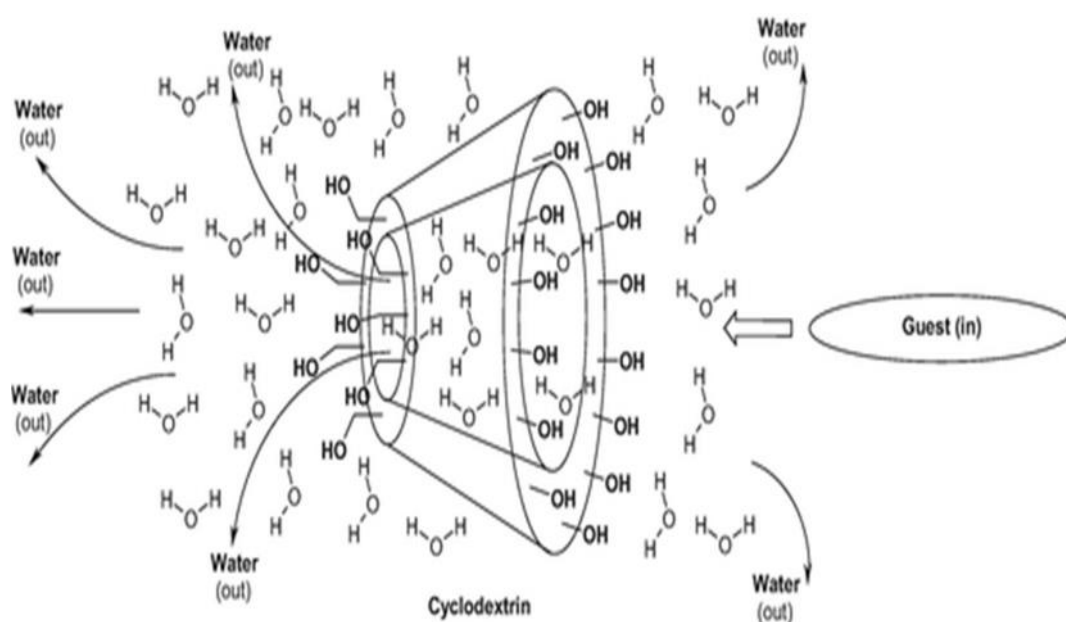
L'équilibre en solution est caractérisé par la constante d'association ou d'équilibre. La détermination de cette constante est primordiale car elle renseigne sur la stabilité des complexes formés. Dans le cas d'un complexe de stœchiométrie 1:1, cette constante est définie par :

$$K_{\text{assoc}} (1:1) = \frac{[\text{CD-G}]}{[\text{CD}][\text{G}]} \quad (\text{I.2})$$

[CD] : concentration de la CD.

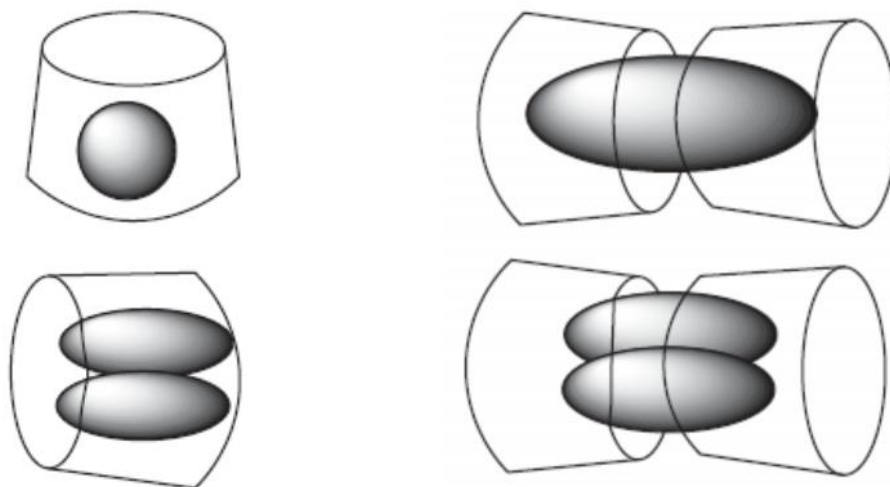
[G] : concentration de la molécule invitée.

[CD - G] : concentration du complexe



**Figure I.3.** Etapes déterminantes de la formation d'un complexe d'inclusion.

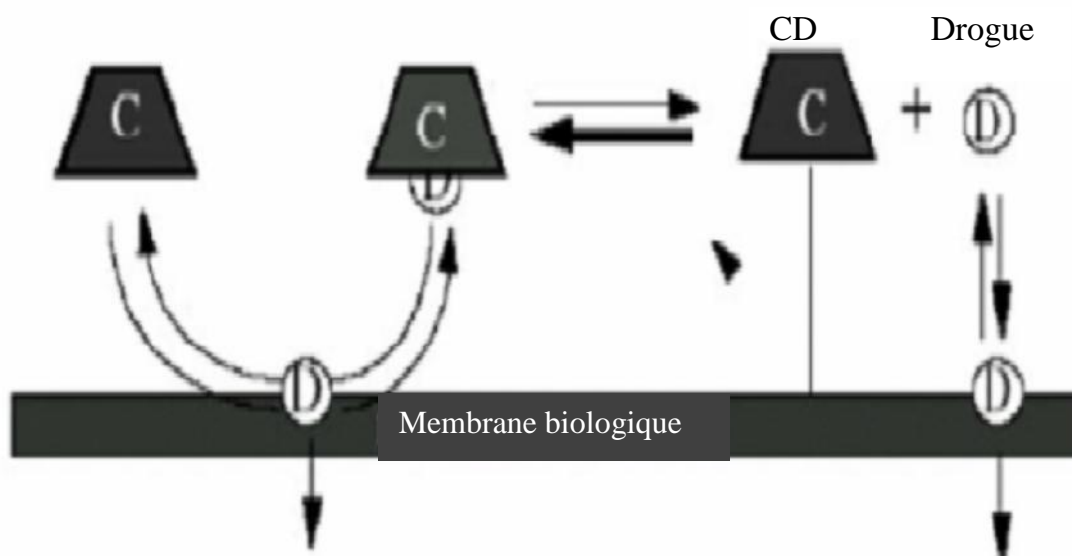
Des complexes de structures et stœchiométries plus compliqués (2:1, 1:2, 2:2) peuvent également être obtenus (figure I.4)



**Figure I.4.** Représentation des différentes stœchiométries des complexes d'inclusion (Landy *et al.*, 2007).

Les propriétés physico-chimiques telles que les déplacements chimiques en RMN, longueur d'onde du maximum d'absorption en UV-Vis, intensité de la fluorescence, la solubilité aqueuse et la biodisponibilité des molécules complexées peuvent être modifiées (Brewster et Loftsson, 2007 ; Ponce Cevallos *et al.*, 2010); les molécules pharmaceutiques présentent souvent une solubilité aqueuse limitée et les fluides biologiques sont principalement composés d'eau, le défi est donc de rendre ces molécules solubles de sorte qu'elles puissent pénétrer les membranes et être disponibles pour leur cible biologique, leur complexation par des CDs améliore leur solubilité comme elles jouent le rôle de transporteurs dans des formulations pharmaceutiques notamment pour des applications cutanées (Arun *et al.*, 2008). Dans ce cas, les CDs rendent le principe actif disponible à la surface des barrières biologiques. Les CDs se séparent du principe actif qui peut alors pénétrer dans la membrane sans déstabiliser les couches lipidiques de la barrière biologique (figure I.5) (Challa *et al.*, 2005). La complexation peut aussi protéger la molécule invitée contre les processus d'oxydation, d'hydrolyse, de déshydratation ou de photo-décomposition, améliorant ainsi sa stabilité chimique (Challa *et al.*, 2005 ; Sauceau *et al.*, 2008). Le fait d'inclure une molécule volatile dans la cavité d'une CD, il est possible de

contrôler leur volatilité, de masquer ses odeurs ou ses saveurs non désirables et de réduire sa réactivité, sa diffusion et sa sublimation (Szejtli, 2004). Dans certains cas, la complexation permet de réduire les effets secondaires et la toxicité d'une molécule (Al-Marzouqi *et al.*, 2009). L'utilisation des CDs est souvent associée à la notion de libération contrôlée (Singh *et al.*, 2002).



**Figure I.5.** Amélioration des propriétés de pénétration des molécules grâce aux CDs.

### ***1.1.7.3. Facteurs responsables de la stabilité des complexes d'inclusion***

Le phénomène de complexation est la résultante de nombreuses interactions mettant en jeu la molécule hôte, la molécule invitée et le solvant et conduisant à l'état le plus stable. Les interactions de Van der Waals sont suspectées d'intervenir comme le prouve le fait que l'on peut observer des complexes stables dans des solvants organiques comme le DMF, le DMSO ou l'heptane. De même, les liaisons hydrogène et les interactions électrostatiques faisant intervenir les fonctions hydroxyles ou leurs substituant sont impliquées comme facteurs stabilisants (Liu et Guo, 2002). Les interactions hydrophobes peuvent aussi avoir lieu car c'est la partie apolaire de la molécule invitée qui pénètre dans la cavité des CDs. En plus des interactions discutées auparavant, la complexation fait intervenir des paramètres stériques, c'est-à-dire, les dimensions et la géométrie des deux molécules qui viennent interagir (Szejtli, 2004). La  $\alpha$ -CD a tendance d'encapsuler dans sa cavité des molécules de faibles masses moléculaires ou ayant une chaîne aliphatique, la  $\beta$ -CD complexe les molécules

aromatiques ou hétérocycliques tandis que la  $\gamma$ -CD encapsule les molécules de plus grosses tailles contenant plusieurs cycles comme le pyrène (Del Valle, 2004).

### **I.1.8. Méthodes de préparation des complexes d'inclusion**

Plusieurs techniques de préparation des complexes d'inclusion ont été proposées dans le but de préparer différentes formes et de chercher la meilleure formulation des complexes qui répond notamment aux besoins des concepteurs des médicaments.

#### ***I.1.8.1. Méthode de mélange physique***

Le protocole est généralement réalisé à température ambiante. A l'échelle de laboratoire, un mélange physique solide de la molécule invitée et de la CD est préparé par broyage dans un mortier puis criblé à l'aide d'un tamis approprié pour obtenir la taille des particules désirées du produit final. Cette technique permet de transformer des particules solides en agrégats, elle est utilisée dans le domaine pharmaceutique dans le but de fabriquer les formes sèches telles que les comprimés, les sachets et les gélules. L'avantage de cette technique est de ne pas utiliser de l'eau, sauf pour le rinçage. Les inconvénients de cette technique sont le risque de formation de croûtes des poudres et l'obtention d'un mélange incomplet conduisant à une complexation insuffisante (Loftsson et Duchene, 2007).

#### ***I.1.8.2. Méthode de malaxage***

Cette méthode est basée sur l'imprégnation des CDs avec peu d'eau ou avec des solutions hydro-alcooliques pour obtenir une pâte. La molécule invitée est ensuite ajoutée à la pâte et pétrie dans un temps varié selon la nature de l'invité. Le mélange malaxé est séché et passé au tamis (Baboota *et al.*, 2005). A l'échelle du laboratoire, le pétrissage est effectué en utilisant un mortier et un pilon alors qu'à grande échelle le pétrissage se fait en utilisant les extrudeuses. Cette technique est la plus simple méthode utilisée pour préparer les complexes d'inclusion car elle présente un coût de production très bas.



### ***1.1.8.3. Méthode d'évaporation du solvant***

Cette méthode implique la dissolution de la molécule invitée et de la CD séparément dans deux solvants miscibles, les deux solutions sont ensuite mélangées pour obtenir la dispersion moléculaire de la drogue et l'agent complexant, finalement le solvant s'évapore sous vide pour obtenir un complexe d'inclusion à l'état solide (poudre). Cette méthode est également assez simple et économique à la fois en laboratoire et à grande échelle (Patil *et al.*, 2010).

### ***1.1.8.4. Méthode de précipitation par neutralisation***

Cette méthode est basée sur la précipitation des complexes d'inclusion par la technique de neutralisation. Elle consiste à dissoudre la molécule invitée dans des solutions alcalines comme l'hydroxyde de sodium ou d'ammonium puis en la mélangeant avec une solution aqueuse de CD. La solution résultante est ensuite neutralisée à l'aide de la solution d'acide chlorhydrique jusqu'à atteindre le point d'équivalence. Un précipité se forme à ce moment, correspondant à la formation d'un complexe d'inclusion. Ce précipité est ensuite filtré et séché (Patil *et al.*, 2010).

### ***1.1.8.5. Méthode de l'anti-solvant supercritique***

Cette méthode a été introduite à la fin des années 80 du dernier siècle (Muhrer *et al.*, 2006), elle constitue l'une des méthodes les plus innovantes pour préparer les complexes d'inclusion des médicaments avec des CDs à l'état solide. Il s'agit d'un processus rapide, ininflammable, non toxique et peu coûteux. Dans cette méthode, l'utilisation de dioxyde de carbone supercritique est avantageuse car sa température et sa pression critique basses le rendent attrayant pour le traitement de produits pharmaceutiques thermolabiles, même si une petite quantité de dioxyde de carbone reste piégée à l'intérieur du médicament, elle ne présente aucun danger pour le consommateur. En outre, le dioxyde de carbone supercritique est proposé comme nouveau milieu de complexation en raison de ses propriétés de transfert de masse amélioré et de pouvoir solvatant accru (Tirucherai, Mitra, 2003 ; Bandi *et al.*, 2004; Rodier *et al.*, 2005 ; Charoenchaitrakool *et al.*, 2009). Cette technique consiste que le médicament et la CD sont dissous dans un bon solvant, puis la solution est injectée

dans le fluide supercritique (CO<sub>2</sub>) et maintenu sous pression, le fluide supercritique se diffuse rapidement dans ce solvant liquide entraînant une forte diminution de la densité de la solution, cet effet conduit à la réduction de la solubilité et ainsi la précipitation du solide (Al-Marzouqui, 2007 ; Vamsi et Gowrisankar, 2007).

#### ***1.1.8.6. Méthode de lyophilisation***

La lyophilisation est considérée comme la technique la plus adaptée qui permet d'obtenir une poudre poreuse et amorphe avec un degré élevé d'interaction entre la molécule invitée et la CD (Cao *et al.*, 2005 ; Rodriguez-Perez, 2006). Dans cette méthode, le solvant est éliminé, à pression réduite, par une congélation suivie d'un séchage. Cette méthode permet de transformer les substances thermolabiles avec succès à la forme complexée. Elle est considérée alors comme une technique alternative de la méthode d'évaporation du solvant néanmoins elle est menacée par le processus de longue durée (Tsinontides *et al.*, 2004).

#### ***1.1.8.7. Méthode d'irradiation par micro-ondes***

Cette technique implique la réaction d'irradiation aux micro-ondes entre la molécule invitée et l'agent complexant en utilisant un four micro-ondes. Son principe consiste à dissoudre la molécule invitée et la CD dans un mélange d'eau et de solvant organique de proportion spécifique. Le mélange réagit, suite à un chauffage dû à la rotation des molécules, pendant une courte durée d'environ un à deux minutes à 60 °C. Le précipité obtenu est séparé en utilisant du papier filtre et séché dans un four à vide à 40 °C pendant 48 heures. De nos jours, l'irradiation par micro-ondes est devenue une méthode de préparation des complexes à l'échelle industrielle en raison de son principal avantage de temps de réaction plus court et d'un rendement plus élevé du produit final (Wen *et al.*, 2004 ; Saharan *et al.*, 2009).

#### ***1.1.8.8. Méthode de séchage par pulvérisation***

Le séchage par pulvérisation est une technique courante utilisée dans les produits pharmaceutiques pour produire une poudre sèche à partir d'une phase liquide. Une autre application de cette méthode est son utilisation comme méthode de

conservation ; augmentant la stabilité au stockage grâce à l'élimination de l'eau (Broadhead *et al.*, 1992). Le mélange (principe actif + CD) passe à un système d'élimination rapide du solvant et le produit obtenu par ce procédé donne des particules de tailles contrôlées, ce qui améliore la vitesse de dissolution du médicament sous forme complexée.

### **I.1.9. Applications des cyclodextrines**

Les CDs trouvent des applications dans de nombreux secteurs économiques tels que le domaine pharmaceutique, cosmétique, agroalimentaire ainsi que le domaine du textile et de l'environnement. Ces secteurs utilisent régulièrement des CDs dans la formulation de leurs produits à cause de leur capacité de former des complexes d'inclusion.

#### ***I.1.9.1. Application pharmaceutiques et médicinales***

Bien que les CDs soient présentes dans 56 produits pharmaceutiques (Loftsson *et al.*, 2004; Szejtli 2004; Loftsson *et al.*, 2005; Loftsson, Duchêne, 2007), elles sont toujours considérées comme de nouveaux excipients pharmaceutiques, des vecteurs de médicaments et des agents anti-agrégation (Kurkov et Loftsson, 2013; Chilajwar et al., 2014; Morin-Crini et al, 2015). Les CDs assurent la protection des médicaments sensibles à la lumière, à la chaleur ou à l'air. Ainsi, elles peuvent être employées comme vecteurs pour cibler et contrôler la libération du principe actif et pour maintenir ses distributions homogènes (Uekama, 2004). Les CDs entrent souvent dans la composition des médicaments comme excipient de formulation grâce à leurs nombreuses qualités; une structure bien définie, une disponibilité de CDs de tailles et de substitutions variables, de faibles activités pharmacologiques et toxicologiques et une solubilité relativement bonne dans l'eau (Uekama *et al.*, 1998). Les CDs permettent, par la précipitation des complexes d'inclusion, de transformer en solides (poudre, gélules, comprimés et sachets) des principes actifs liquides. Les substances actives, souvent hydrophobes, peuvent avoir une biodisponibilité et une stabilité améliorées vis-à-vis des dégradations causées par le stockage et la métabolisation précoce dans l'organisme (oxydation, hydrolyse,...) grâce à leur inclusion dans la

cavité de la CD (Hedges, 1998). A titre d'exemple, les vaccins DAPTACEL® contre la diphtérie, le tétanos et la coqueluche, sont complexés par la diméthyl- $\beta$ -CD (Crini, 2014). La majorité des applications pharmaceutiques utilise la  $\beta$ -CD native ou modifiée, les applications avec des  $\alpha$ - et  $\gamma$ -CD étant rares. En raison de ses propriétés hémolytiques, la  $\beta$ -CD native est généralement réservée aux spécialités administrables par les voies naturelles (sirops, comprimés, suppositoires (Matsuda et Arima, 1998) tandis que les spécialités administrables par voie nasale (Merkus *et al.*, 1999), oculaire (Loftsson et Jarvinen, 1999) ou intraveineuse (Matsuda et Arima, 1998) ont recours à des CDs modifiées (Méthyle-CD, hydroxypropyle-CD (HP-CD) ou sulfobutyl- $\beta$ -CD...).

L'utilisation des CDs et de leurs dérivés dans le domaine médical est vaste, y compris la biomédecine (pansement, biocapteurs, dispositifs médicaux), la nanomédecine (nanoparticules pour l'administration des médicaments), la thérapie antimicrobienne, la thérapie génique, l'ingénierie tissulaire, le traitement du cancer et l'imagerie par résonance magnétique (Moya-Ortega *et al.*, 2012; Miller *et al.*, 2015; Okano *et al.*, 2016; Silva *et al.*, 2016; Tian *et al.*, 2020). Les CDs peuvent être utilisées dans des formulations antifongiques en tant que substances auxiliaires pour modifier et améliorer les propriétés physicochimiques du composé actif telles que la solubilité et la stabilité. Les effets biologiques des CDs peuvent être divisés en:

- (i) effets basés sur la capacité des CDs à former des complexes d'inclusion avec des substances endogènes, par exemple, lipides membranaires ou cholestérol cellulaire
- (ii) effets basés sur la formation des complexes d'inclusion avec des composants des cellules fongiques
- (iii) effets basés sur la nature chimique des CDs et de leurs dérivés (propriétés responsables de leur effet synergique avec les composés antimycotiques).

En fait, les CDs sont également perçues comme des molécules de rêve pour le développement d'applications en biomédecine et nanomédecine, y compris la nano vectorisation, telles que, par exemple, les nanoparticules pour l'administration de médicaments, les biocapteurs innovants pour la détection de cibles biologiques, les événements de bio-reconnaissance et thérapie génique ou génie tissulaire (Zhang et

Ma, 2013; Dong *et al.*, 2015 ; Yuan et Zhang, 2016. Les dispositifs médicaux, y compris les cathéters, les prothèses, les greffes vasculaires et les implants osseux peuvent également bénéficier de la greffe de surface ou de la thermofixation des CDs, toutes ces applications expliquent l'augmentation du nombre de documents de recherche traitants de ces sujets (Concheiro et Alvarez-Lorenzo, 2013). Cependant, la translation de ces innovations de laboratoire à la réalité clinique reste difficile, le coût est un facteur important qui limite la translation réussie de nouveaux matériaux contenant des CDs. Un autre problème concerne le manque de données sur la toxicité de ces nanomatériaux. Malgré cela, Zhang et Ma (2013) ont conclu que l'avenir des systèmes supramoléculaires à base de CDs, principalement dans la livraison de gènes est prometteuse compte tenu du succès clinique notable.

### ***1.1.9.2. Applications en agroalimentaires***

L'incorporation des CDs dans le domaine agroalimentaire offre différents avantages tels que l'élimination ou la réduction du goût indésirable, d'odeurs, la protection des molécules actives contre l'oxydation, contre la lumière, contre la décomposition par la chaleur, contre l'humidité et des contaminations microbiennes (Marques, 2010 ; Alonso *et al.*, 2009 ; Szente et Szejtli, 2004 ; Matencio *et al.*, 2020 ). Les CDs permettent un ajout facile de composés gustatifs (sous forme complexés) ou de fixer des molécules trop volatiles comme les arômes et les parfums et d'allonger leur période de relargage comme dans le cas des chewing-gums (Szejtli et Szente, 2005; Crini, 2001). La  $\beta$ -CD, par exemple, peut être utilisée pour ôter certaines molécules indésirables, comme le cholestérol dans les beurres allégés, pour stabiliser des émulsions comme la mayonnaise ou les margarines ainsi que de nombreux plats déshydratés et encore certains composés amers ou oxydables présents dans les plats cuisinés ou des jus de fruits (Szente et Szejtli, 2004; Hicks *et al.*, 1996).

Ces dernières années, la croissance de l'industrie des aliments fonctionnels a accru la recherche de nouveaux composés à haute valeur ajoutée destinés à l'enrichissement des produits traditionnels. L'un des groupes d'aliments fonctionnels le plus prometteur est celui enrichi en composés antioxydants de nature lipophile. Malgré les nombreux avantages rapportés pour ces molécules antioxydantes, mais elles peuvent présenter

des inconvénients entravent leur utilisation dans les aliments fonctionnels, bien que ces problèmes puissent être évités par l'utilisation d'agents encapsulant tels que les CDs (Fenyvesi *et al.*, 2016).

### ***1.1.9.3. Applications cosmétiques*** (Hougeir et Kircik, 2012)

Les CDs sont couramment utilisés dans les produits cosmétiques. L'application dans le monde cosmétique se trouve à mi-chemin entre les domaines pharmaceutique et agroalimentaire, ainsi, les CDs sont utilisées pour:

- la protection des arômes, les colorants et les vitamines durant le stockage;
- la conversion des produits liquides en poudre;
- la protection contre la dégradation, l'oxydation, l'hydrolyse et l'évaporation;
- la diminution des irritations de la peau;
- la diminution des interactions entre les constituants d'un même produit.

### ***1.1.9.4. Domaine des textiles***

Ces dernières années, l'utilisation de technologies à faible impact environnemental basées sur des substances durables telles que les polysaccharides (chitosane, alginate), des CDs et d'autres composés a été proposée comme une nouvelle voie pour le développement à grande échelle de textiles bioactifs (Voncina, 2011; Voncina et Vivod, 2013; Islam *et al.*, 2013). Les CDs viennent de remplacer certains composés qui ne sont pas amis de l'environnement tels que les dérivés phénoliques, dérivés formaldéhydes, teintures...etc. Les CDs sont impliquées au niveau du finissage des textiles (Ammayappan et Jeyakodi-Moses, 2009 ; liu *et al.*, 2012), elles sont également utilisées pour renforcer la prise des colorants par le tissu et par suite de réduire la quantité de colorant perdue lors de lavage (Hedges, 1998). Les recherches indiquent que les CDs peuvent agir en tant que composés actifs dans les textiles fonctionnalisés appelés cosméto-textiles (Bilensoy, 2011) ; un cosméto-textile permet l'administration de substances naturelles actives, comme les vitamines, les huiles et les extraits thérapeutiques, de manière simple et contrôlable. Il peut également être utilisé pour modifier les propriétés de surface d'un tissu afin de le rendre autonettoyant, hydrophobe ou lipophobe.

### ***I.1.9.5. Domaine de l'environnement***

L'utilisation des CDs dans le domaine environnemental a été explorée depuis les années 1980. Les CDs sont employés surtout pour extraire et réduire la volatilité des polluants organiques atmosphériques ainsi que ceux qui se trouvent dans les sols et dans les eaux (Fakayode *et al.*, 2007; Landy *et al.*, 2012). Les eaux usées, par exemple, peuvent contenir des composés aromatiques indésirables tels que le phénol, le p-chlorophénol et le benzène, ces derniers peuvent être débarrassés en utilisant la  $\alpha$ -CD (Leudjo *et al.*, 2017). Les CDs jouent également un rôle important dans la protection de l'environnement par son utilisation dans la formulation d'insecticide.

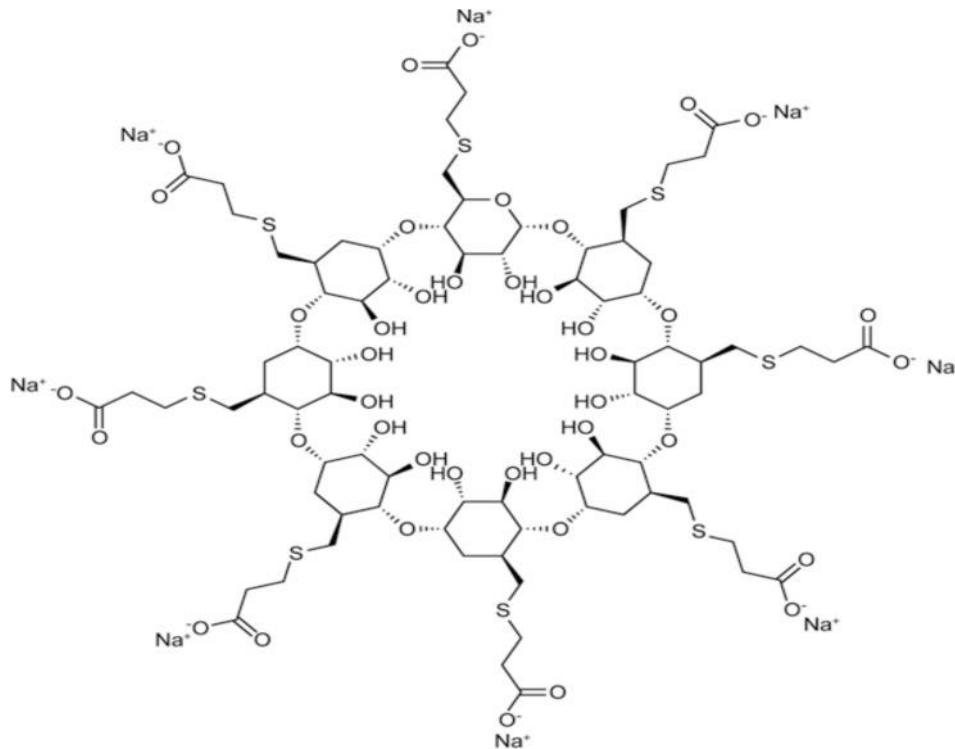
### ***I.1.9.6. Utilisation en synthèse organique (Activité catalytique)***

Les CDs peuvent accélérer de nombreuses réactions (Leclercq *et al.*, 2019). Elles sont utilisées, par exemple, pour fixer un atome de chlore ou d'iode sur une position donnée d'un cycle aromatique, alors qu'en solution et en absence des CDs, les réactions sont lentes et la fixation peut avoir lieu en plusieurs positions sur le cycle (Veglia et Rossi, 1988). La chloration, par exemple, en para de l'anisole par l'acide hypochloreux est 5,3 fois plus rapide et se fait pratiquement en présence de la CD (Stoddart, 1992).

### ***I.1.9.7 Comme ingrédients actifs***

Actuellement, le domaine de la médecine s'intéresse non seulement aux complexes d'inclusion des CDs qui sont préformés avant d'être administrés, mais elle s'intéresse également aux complexes à base de CDs qui se forment dans le corps. L'exemple le plus connu est celui contenant le composé actif sugammadex (Bridion®): il s'agit de  $\gamma$ -CD modifiée (figure I.6), utilisé, depuis 2008, comme antidote à certains relaxants musculaires de type curare en anesthésie (Booij, 2009; Ozbilgin *et al.*, 2016). Après administration intraveineuse, il neutralise les agents stéroïdes de type curare (rocuronium, vécuronium) en formant un complexe inactif dans le plasma qui est ensuite éliminé dans l'urine. Le Sugammadex a une efficacité améliorée par rapport aux méthodes actuellement disponibles pour accélérer l'inversion du blocage neuromusculaire. Son mécanisme d'action diffère également de celui des autres agents

d'inversion tels que le néostigmine et l'édrophonium. Le sugammadex est biologiquement inactif, ne se lie pas aux protéines plasmatiques et semble sûr et bien toléré, mais il a peu d'effets secondaires et son coût est nettement supérieur à celui de tout autre médicament utilisé en anesthésie (Donati, 2011).



**Figure I.6.** Structure de Sugammadex

Les CDs sont utilisées en autophagie, un mécanisme catabolique ayant une fonction essentielle dans le maintien de l'homéostasie cellulaire et tissulaire. Ce processus est principalement reconnu par son rôle dans la dégradation des protéines dysfonctionnelles et des organites indésirables (Glick *et al.*, 2010). Comme les membranes cellulaires jouent un rôle important dans l'autophagie, leur modulation par les CDs va modifier cet important processus d'entretien des cellules. D'autres travaux intéressants ont été publiés sur le rôle des CDs (Yokoo *et al.*, 2015; Motoyama *et al.* 2015, 2016; Manchon *et al.*, 2016), la HP- $\beta$ -CD, par exemple, s'est avérée efficace dans l'inhibition de la prolifération des cellules leucémiques au niveau de diverses lignées cellulaires leucémiques, comme a été signalé par Yokoo *et al.* (2015), leurs résultats ont démontré que la HP- $\beta$ -CD présente un agent anticancéreux potentiel dans la leucémie. Cette CD est également utilisée pour la prévention et le traitement de l'athérosclérose ; maladie inflammatoire chronique causée principalement par une



rétenion continue de cholestérol dans l'espace sous-endothélial où il précipite pour former des cristaux, comme il a été rapporté par Zimmer et collaborateurs (2016). Les CDs à fonctionnalité fluorophore ont été largement étudiées et utilisées avec succès en thérapie photodynamique (Mazzaglia *et al.*, 2012), cette approche thérapeutique s'est avérée efficace pour le traitement du cancer et des infections bactériennes. Si la chimiothérapie et la thérapie photodynamique sont combinées, la cavité de la CD est utilisée comme support pour un médicament à effet anticancéreux ou antibiotique tandis que l'entrée de la cavité sert d'échafaudage moléculaire pour fixer la photo sensibilisateur (porphyrine ou colorant xanthène), fraction libérant de l'oxyde nitrique (Fraix *et al.*, 2015 ; 2016).

#### **I.1.10. Auto assemblage des cyclodextrines et de leurs complexes**

Au cours de la dernière décennie, il a été observé que les CDs et leurs complexes s'auto-assemblent pour former des nanoparticules. Dans certaines conditions, ces nanoparticules peuvent s'auto-assembler pour former des microparticules, une tendance qui augmente lors de la formation des complexes d'inclusion avec des médicaments lipophiles (Gonzalez-Gaitano *et al.*, 2003). Ces propriétés ont changé la façon dont nous effectuons la recherche pharmaceutique sur les CDs et ont donné lieu à de nouvelles opportunités de formulation de médicaments, comme le résumant Kurkov et Loftsson (2013) et Ryzhakov *et al.* (2016). L'assemblage des CDs est alors une propriété intéressante en profit des domaines de la chimie supramoléculaire, de la science des matériaux, de la pharmacie, y compris la formulation et l'administration des médicaments (Kurkov et Loftsson, 2013; Oliveri et Vecchio, 2016). Dans des solutions aqueuses de CDs pures, les molécules de CD s'auto-assemblent pour former des nanoparticules de diamètre d'environ 20 à 200 nm (Loftsson *et al.*, 2004; He *et al.*, 2008) et l'agrégation augmente avec l'augmentation de la concentration de la CD. Les complexes sont maintenus ensemble par des liaisons hydrogène faibles et des forces hydrophobes et se dissocient facilement lors de la dilution des médias. Une autre possibilité mentionnée est la formation d'agrégats capables de dissoudre les molécules lipophiles insolubles dans l'eau. Ces dernières années, il a été observé, dans les applications pharmaceutiques, que d'autres types de

complexes de CDs tels que les non-inclusions complexes participent également à la solubilisation des médicaments peu solubles (Morin-Crini *et al.*, 2015). De plus, Il y a des indications que la formation des agrégats CD/médicament peut jouer un rôle important dans l'amélioration de la biodisponibilité des médicaments. L'utilisation de nano-agrégats à base de CDs dans l'administration des médicaments par voie orale pourrait être une stratégie prometteuse pour améliorer la biodisponibilité des médicaments peu solubles, mais une étude approfondie du comportement de ces nano-agrégats dans des conditions représentatives du tractus gastro-intestinal et des effets pouvant entraîner la désagrégation constitue l'objet des futurs travaux (Ryzhakov *et al.*, 2016). La stabilité des agrégats de CDs a été discutée, en particulier lorsque ces systèmes sont utilisés comme systèmes d'administration de médicaments (Kurkov et Loftsson, 2013; Saokham et Loftsson, 2017).

### I.1.11. Cyclodextrines et nanotechnologie

La conception de nanoparticules de CDs fonctionnelles formées par auto-assemblage est un domaine en développement dans la spécialité de nanomédecine tel que rapporté par Fülöp et collaborateurs (2012). Les systèmes à base de nanoparticules peuvent améliorer la biodisponibilité, réduire l'immunogénicité, modifier le métabolisme des médicaments, réduire la toxicité et augmenter la demi-vie biologique des médicaments après administration systémique (Brandariz et Iglesias, 2013; Sharma et Baldi, 2016). Les CDs et leurs dérivés ont été utilisés avec succès pour créer de nouveaux nanomatériaux, souvent appelés nano-éponges (Bilensoy et Hincal, 2009; Trotta *et al.*, 2014, 2015). Un large éventail de matériaux contenant de la CD avec des architectures supramoléculaires polyvalentes telles que des nanoparticules, des nano-éponges, des nano-micelles et des nano-vésicules a été synthétisé pour assembler des plateformes fonctionnelles. Pour les applications pharmaceutiques et biomédicales, les nanomatériaux peuvent être formulés sous forme posologique orale, parentérale, topique ou par inhalation (Goyal *et al.*, 2011). Chilajwar et collaborateurs (2014) ont rapporté que les analyses statistiques ont montré qu'environ 40% des médicaments actuellement commercialisés et environ 90% des médicaments en développement rencontrent des problèmes liés à la solubilité. Les nano-éponges offrent une charge de

médicament élevée par rapport à d'autres nano-supports et conviennent donc pour résoudre les problèmes liés à la solubilité, à la stabilité et à la libération retardée du principe actif (Tejashri *et al.*, 2013). Les nano-éponges à base de CD ont la capacité d'émerger comme une approche innovante par rapport aux CDs conventionnelles en surmontant les inconvénients associés à ces dernières. Ces matériaux ont également été développées comme outil pour l'administration de médicaments anticancéreux, par ex. paclitaxel, doxorubicine, 5-fluorourcil et tamoxifène, tels que rapportés par Trotta *et al.*, (2014 ; 2015).

L'électrofilage est une technique de production des nanofibres, Découverte au début des années 1900. La production des nanofibres par cette technique est rentable et efficace. Son principe consiste à un traitement de polymères afin de créer de nombreux produits pour des applications médicales (dispositifs médicaux, échafaudages d'ingénierie tissulaire), textiles et environnementales (milieux de filtration, membranes). Cependant, la production de nanofibres à base de polymère nécessite des solvants organiques, ce qui pose certains problèmes dans des applications spécifiques. Récemment, l'électrofilage de nanofibres fonctionnelles avec des molécules de CDs a été proposé avec une contribution importante a été apportée sur ce sujet par le groupe d'Uyar (2013 ; 2014 ; 2016 ; 2017). Des nano-fibres fonctionnelles incorporant de la CD ont été développées via l'électrofilage en utilisant différents polymères et réactions (réticulation, greffage, chimie clic). Les molécules de CDs ont également été proposées pour produire des nano-fibres sans utiliser de support polymère car la CD peut former des agrégats via une liaison hydrogène intermoléculaire dans leurs solutions concentrées ou structures de polymères par des réactions réticulées. Grâce à la technique d'électrofilage, le groupe de Uyar a réussi à produire des nano-fibres polymères fonctionnalisées à la CD en utilisant des polymères tels que le polystyrène, le polyméthylméthacrylate et le polyéthylène oxyde. Ces polymères ont été mélangés avec des -, - et -CDs et électrofilage en nanofibres uniformes. Les auteurs ont noté que l'ajout de CD dans les solutions de polymère a facilité la capacité de produire des nanofibres électrofilées à partir de solutions de polymère à faible concentration en polymère donnant des nanofibres sans billes et uniformes. Les molécules de CDs ont été réparties de manière homogène dans la matrice polymère sans former d'agrégats

cristallins séparés par phase. Cependant, le choix de la matrice polymérique est important dans lequel les chaînes polymères ne devraient pas faire de complexation d'inclusion avec la cavité de CD et cette dernière sera disponible pour une complexification supplémentaire en fonction de la cible d'application. Le groupe d'Uyar a également démontré que la combinaison de CDs et de nanofibres d'électrofilage peut potentiellement augmenter l'efficacité des filtres en facilitant la formation des complexes avec des composés organiques.

### I.1.12. Cyclodextrines et complexes ternaires

En raison de la faible efficacité de complexation des molécules de tailles plus grandes que les cavités des CDs, certaines études ont été menées pour surmonter cet inconvénient, par exemple, l'ajout de petites quantités de polymères hydrophiles, d'acides hydroxylés ou d'acides aminés comme milieu de complexation pour produire des complexes ternaires (Ribeiro *et al.*, 2003; Sauceau *et al.*, 2008; de Miranda *et al.*, 2011; Rao *et al.*, 2013). Cette stratégie entraîne une augmentation de l'efficacité de solubilisation (Loftsson, Fridriksdóttir, 1998; Mura *et al.*, 2001). Ces résultats peuvent être attribués à l'effet synergique de la solubilisation du polymère et du CD sur la formation des complexes ternaires (médicament: CD: polymères hydrosolubles) (Carrier *et al.*, 2007). Les polymères solubles dans l'eau sont capables d'interagir avec des médicaments, des molécules CDs et même avec des complexes médicament: CD (Loftsson *et al.*, 1996). Le mécanisme impliqué dans l'augmentation de l'efficacité de la complexation des CD en présence de polymères hydrosolubles n'est pas encore entièrement compris; cependant, les chercheurs pensent que les polymères hydrosolubles peuvent réduire la mobilité des CD et augmenter la solubilité du complexe (Veiga *et al.*, 2006). Il a été démontré également que l'ajout de polymères hydrosolubles augmente la biodisponibilité des médicaments et entraîne une réduction jusqu'à 80% de la quantité de CD requise (Loftsson, Fridriksdóttir, 1998; Mura *et al.*, 2001). Les polymères tels que les dérivés de cellulose hydrosolubles, polyéthylène glycol, povidone et d'autres polymères naturels ou synthétiques peuvent former des complexes avec la CD, ces complexes possédant des propriétés physicochimiques différentes de celles de la CD seule. Les polymères, en raison de leur participation

directe à la complexation des médicaments, améliorer les propriétés pharmaceutiques et biologiques des complexes 'médicament-CD', indépendants des propriétés physico-chimiques du médicament (Challa *et al.*, 2005).

### I.1.13. Cyclodextrines et techniques de séparation

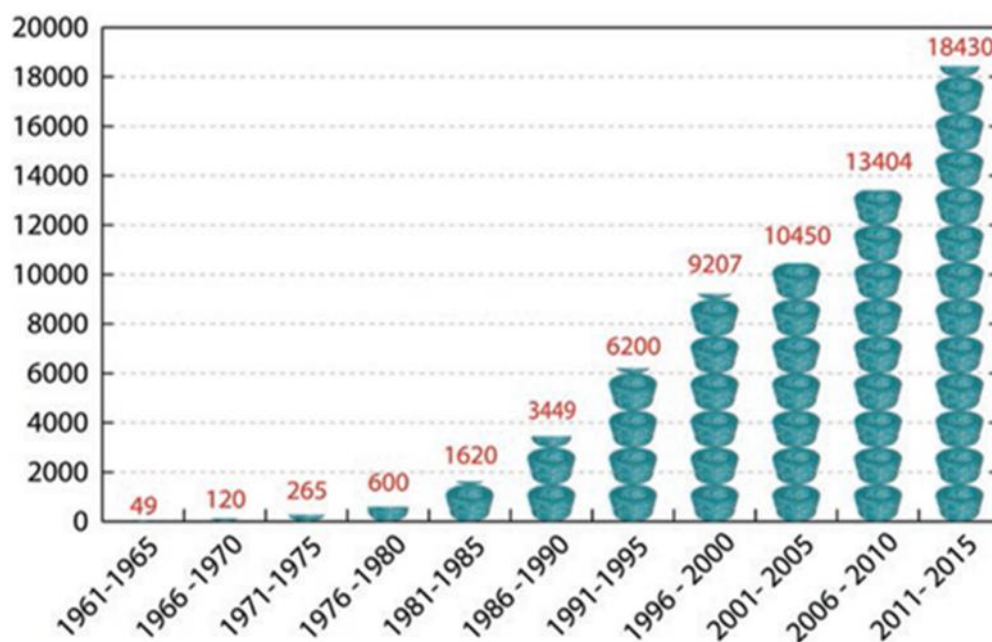
La chiralité est un modulateur important des effets et des propriétés des substances chirales, les CDs et leurs dérivés ont été largement utilisés dans la science de la séparation car il a été démontré qu'ils distinguent les isomères de positions, les groupes fonctionnels, les homologues et les énantiomères. Cette propriété en fait l'un des agents les plus utiles pour une grande variété de séparations (Vetter et Bester, 2006). Les CDs sont utilisées en chromatographie liquide (CL), chromatographie en phase gazeuse (CG), chromatographie à couche mince, électrophorèse sur gel, électrophorèse capillaire, chromatographie électrocinétique, dialyse, séparation sur fibres creuses, extractions en phase solide et liquide, chromatographie en phase fluide supercritique, séparation par liquide et des membranes composites ainsi que des polymères à empreinte moléculaire. Bien qu'un nombre important d'ouvrages ont été publiés, le secteur de la chromatographie et de l'électrophorèse à base de CDs continue d'intéresser la communauté scientifique (West, 2014; Scriba, 2016). La chromatographie en fluide supercritique (CFS) est considérée comme une technique de séparation verte car il évite l'utilisation de la phase mobile organique, elle est alors une technique alternative idéale avec une séparation rapide et efficace des substances pures. Xiao et collaborateurs (2012) ont rapporté diverses stratégies d'immobilisation de groupes synthétiques et fonctionnels de nouvelles phases stationnaires chirales de CDs pour la chromatographie, en particulier pour la chromatographie sur fluide supercritique. Les auteurs ont conclu que l'utilisation de phases stationnaires à base de CD pour la chromatographie liquide supercritique jouera probablement un rôle important pour la future industrie pharmaceutique. Alors que le secteur pharmaceutique est le principal domaine d'application des séparations énantiosélectives, d'autres industries telles que les produits agrochimiques et les parfums sont également concernées. Scriba (2016) a publié une revue de mise à jour intéressante sur les contributions à la compréhension du mécanisme de liaison entre les

sélecteurs chiraux et les CDs dans les énantio-séparations analytiques, cet auteur a montré que de nombreux outils sont disponibles de nos jours pour étudier le mécanisme de la reconnaissance chirale, y compris les techniques spectroscopiques (RMN) ainsi que la modélisation moléculaire pour la visualisation et l'analyse de la dynamique du processus.

#### I.1.14. Cyclodextrines et tensioactifs à base de sucre

Les surfactants à base de glucides sont aujourd'hui une classe importante de composés amphiphiles qui jouent un rôle important dans des applications à la fois fondamentales et pratiques. Lorsqu'ils sont complexés avec des CDs, les surfactants à base de glucides augmentent considérablement leurs performances et leur champ d'application potentiel (Villalonga *et al.* 2007; Li *et al.* 2011). La formation de composés CD/tensioactifs entraîne une augmentation de la concentration micellaire critique et de la solubilité des tensioactifs. L'utilisation de ces nouveaux systèmes est prometteuse, comme l'ont rapporté Valente et Söderman (2014).

Les données figurées dans la représentation graphique suivante montrent le nombre croissant des études liées aux CDs, ce qui indique l'utilisation vaste de ces dernières.



**Figure I.7.** Nombre de publications liées aux cyclodextrines, y compris des articles, des brevets et des conférences (Fourmentin *et al.*, 2018).

## I.2. Les anesthésiques locaux

### I.2.1. Introduction

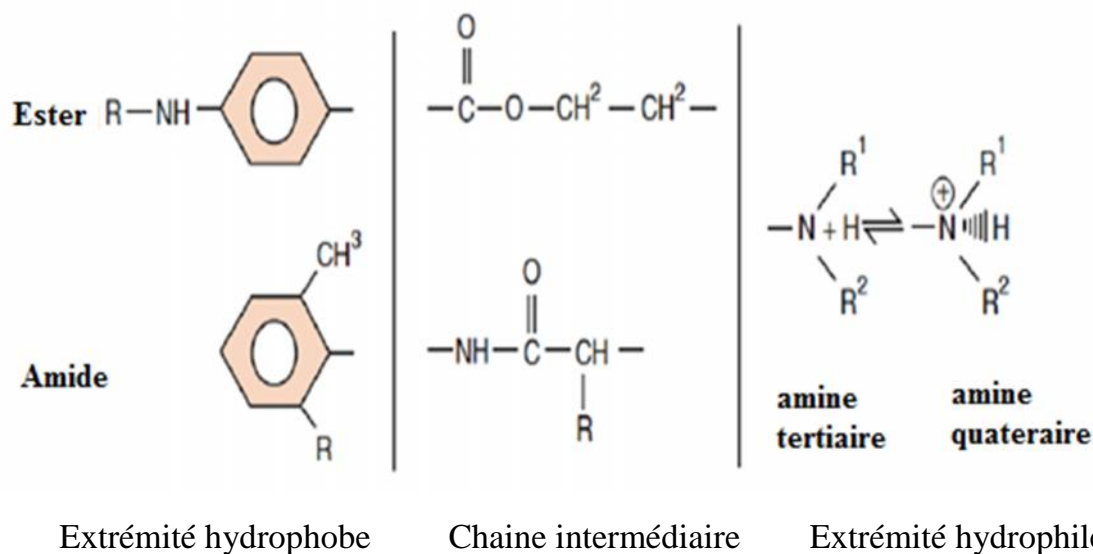
La découverte de l'anesthésie au milieu du XIXe siècle a révolutionné le domaine chirurgical en permettant le développement de la chirurgie et de mettre fin du souffrance de l'être humain ( Roewer et Thiel, 2003). Les anesthésiques sont des médicaments capables de supprimer de façon réversible la sensibilité sensorielle. Selon l'étendue de leur action, on distingue les anesthésiques locaux (ALs) et les anesthésiques généraux. Les anesthésiques généraux constituent un groupe hétérogène de médicaments dont la propriété commune est d'entraîner une perte de conscience et une immobilité permettant la réalisation de gestes douloureux. En pratique clinique, ils sont très souvent associés à un analgésique morphinomimétique et parfois un myorelaxant. On distingue d'une part les anesthésiques administrés par inhalation, représentés essentiellement par les agents halogénés et d'autre part les anesthésiques injectables. Quelle que soit la voie d'administration, tous ces agents permettent d'obtenir une perte de conscience. Les mécanismes d'action consistant essentiellement en la potentialisation de l'activité de canaux ioniques de type inhibiteur au niveau post-synaptique intracérébral. L'anesthésie locale correspond à la perte de sensibilité au niveau du lieu d'administration par interruption de la conduction nerveuse, son action est par définition limitée à la région d'administration. Le mécanisme d'action primaire des anesthésiques locaux est le blocage des canaux sodiques, empêchant d'une part la pénétration du  $\text{Na}^+$  à l'intérieur de la fibre, ralentissement de sa vitesse de conduction et élévation du seuil de dépolarisation) et en diminuant, d'autre part, la conduction de l'influx le long de la fibre nerveuse (allongement de la période réfractaire) (Hoizey *et al.*, 2005; Koehler *et al.*, 2005). Le premier AL répertorié est la cocaïne qui a été découvert par Albert Niemann en 1860, elle a trouvé sa première utilisation clinique en 1884 à Vienne, mais en raison de ses propriétés toxicomanogènes, elle n'est plus prescrite actuellement (Biscopig et Bachmann-Mennenga, 2000). Dans le début du vingtième siècle et en 1903, Ernest Fourneau synthétisère le premier AL, l'amylocaine. De nombreuses ALs ont été, par la suite, découverts comme la procaine (1904), la tétracaine (1930), la lidocaine (1943); premier anesthésique locaux

commercialisé dans la série des amino-amides, la mépivacaine (1957), la prilocaine (1960), la lévobupivacaine (1972), la cyclomecaine (1986), la ropivacaine (1996), la levobupivacaine (1999) et des dérivés N-alkyles des anilides de proline (2013).

## I.2.2. Propriétés chimiques des anesthésiques locaux

### I.2.2.1. Structure

Tous les ALs sont des composés dont l'architecture moléculaire est constituée de trois éléments (figure I.8): Un groupement aromatique responsable de la liposolubilité de la molécule et qui joue un rôle dans la diffusion et la fixation du produit, une chaîne intermédiaire contient soit une liaison ester, soit une liaison amide et un groupement fonctionnel, généralement une ammonium qui constitue le pôle hydrophile et conditionne la répartition et la diffusion du médicament dans le sang (Ruetsch *et al.*, 2001). Il s'agit de bases faibles de poids moléculaire compris entre 234 et 329 g/mole.



**Figure I.8.** Structures typiques des anesthésiques locaux (Mulroy *et al.*, 2009).

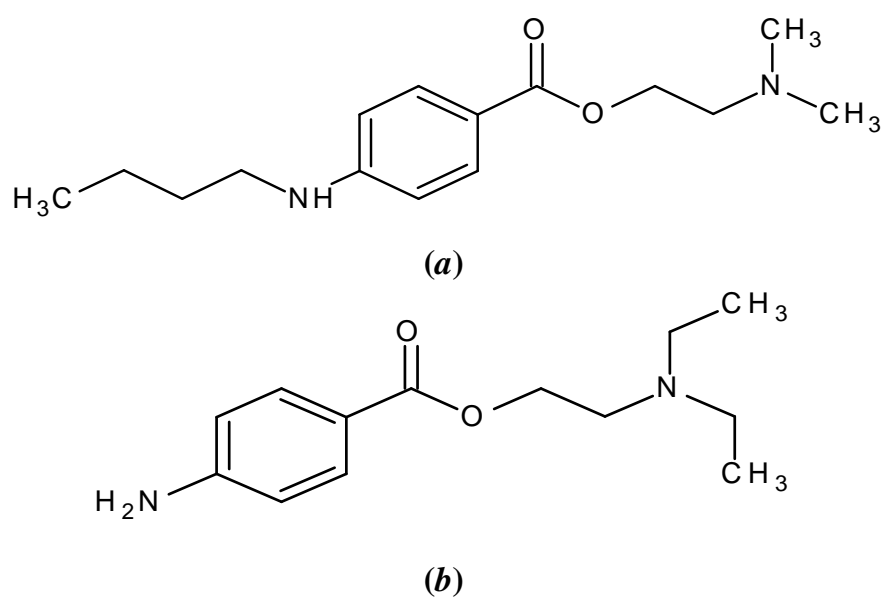
Du fait de leur structure particulière duale (hydrophobe/ hydrophile), ces composés possèdent des propriétés tensioactives.



### I.2.2.2. Classification

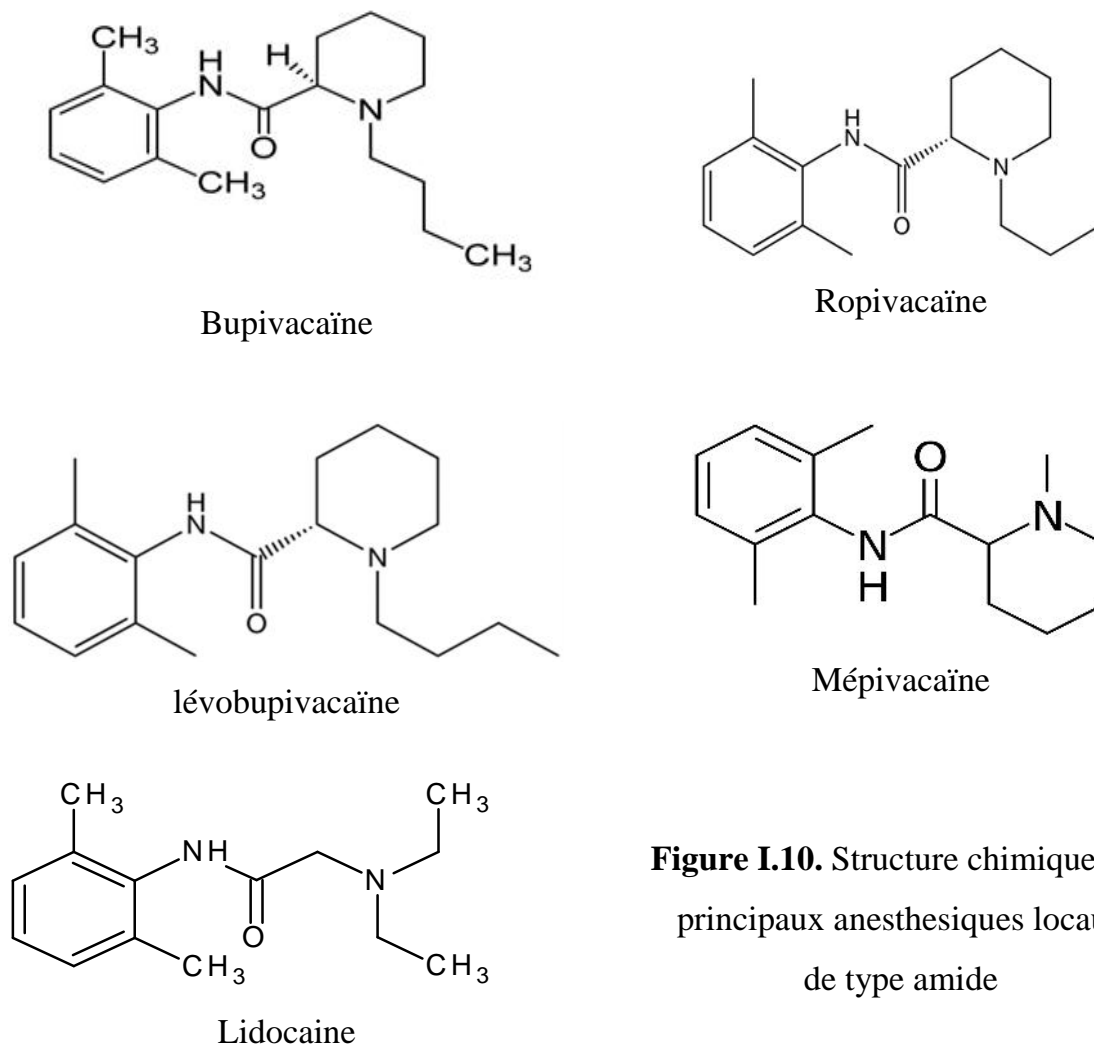
Les ALs sont classés en fonction de leur chaîne intermédiaire en 2 groupes principaux: les amino-esters ou amino-amides.

a) **Dérivés amino-esters :** Ces dérivés de l'acide para-amino-benzoïque possèdent une fonction amine en position para, comme par exemple la tetracaïne (figure I.9a) et la procaïne (figure I.9b). La procaïne qui fait objet de ce travail est un puissant anesthésique local, elle a été synthétisée en 1904 par Alfred Einhorn et son chlorhydrate a été commercialisé sous le nom de Novocaïne. Cette drogue est principalement utilisée pour l'anesthésie d'infiltration et de conduction notamment dans les procédures dentaires pour engourdir la zone autour d'une dent, comme elle peut être combinée avec d'autres médicaments tel que le carboplatine pour diminuer le niveau global de méthylation de l'ADN dans les cellules cancéreuses du côlon (Sabit *et al.*, 2016). En outre de son action anesthésique, il a été rapporté que la procaïne a la possibilité de réduire les effets secondaires de la radiothérapie (Jalili et Saeedi, 2017) et d'améliorer l'influence de la chimiothérapie (Esposito, 1992; Viale *et al.*, 1998). Malheureusement, son utilisation est menacée par de nombreux effets tels qu'une irritation des tissus, convulsion et une légère toxicité cardiaque et neurologique (Sawaki et Kawaguchi, 1989 ; Fusier, 2009 ; Catterall et Mackie, 2011), il est donc recommandé de l'administrer sous forme complexée par des CDs pour surmonter ces inconvénients.



**Figure I.9.** Structure chimique de: (a) la procaïne et (b) tetracaïne.

**b) Dérivés amino-amides:** Ces composés ne possèdent pas de fonction amine en position para du cycle aromatique. Cinq ALs sont couramment utilisés en pratique quotidienne: la bupivacaïne, la ropivacaïne, la lévobupivacaïne, la mépivacaïne et la lidocaïne (figure I.10).



**Figure I.10.** Structure chimique des principaux anesthésiques locaux de type amide

### I.2.3. Propriétés pharmacologiques des anesthésiques locaux

#### I.2.3.1. 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 :

$$K_a = \frac{[B].[H_3O^+]}{[BH^+]} \quad (I.4)$$

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:

$$pH = pK_a - \log \frac{[B]}{[BH^+]} \quad (I.5)$$

Le pKa représente le pH auquel les formes ionisés ou non ionisés sont réparties 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 (Hall, 1972). 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.

### ***1.2.3.2. Pharmacocinétique des anesthésiques locaux***

La pharmacocinétique a pour but de décrire le devenir d'un médicament dans l'organisme au cours du temps. Les anesthésiques locaux présentent des propriétés pharmacocinétique différentes en raison de leurs propriétés physico-chimiques différentes. En effet, la lipophile, l'affinité pour les protéines plasmatiques et tissulaires sont des paramètres qui conditionnent la vitesse d'absorption et la distribution de l'anesthésique local dans la circulation et les tissus périphériques. La pharmacocinétique des ALs est caractérisée par un phénomène connu sous le nom de flip-flop (Yáñez *et al.*, 2011). En d'autres termes, la vitesse avec laquelle ils sont absorbés dans la circulation systémique est le facteur limitant de leur élimination systémique. Au niveau sanguin, la liaison aux globules est assez faible, environ 15-30 % des molécules d'AL présentes dans le sang seront fixées par les globules (Mazoit, 2001), la majorité des Als, plus particulièrement ceux de type amide, sont liés aux protéines du sérum (Srinivasa *et al.*, 2003). Pour la fixation protéique, les ALs se lient principalement à l'albumine et à l'acide  $\alpha_1$ - glycoprotéine ou orosomucoïde et ils ne se

fixent que très peu aux  $\alpha_2$ -globulines et pas du tout aux  $\beta$ -globulines (Borgeat *et al.*, 2001). La fixation des ALs à la sérum albumine se caractérise par une faible affinité mais par une grande capacité tandis que l'affinité de la fixation à l'acide  $\alpha_1$ -glycoprotéine est élevée alors que sa capacité est faible (Denson *et al.*, 1984). Si la concentration totale de AL augmente au-delà d'un seuil ou que le pH baisse, le système de fixation est dépassé (saturation) ou l'affinité de l'orosomucoïde est diminuée qui se traduit par un excès plasmatique de fraction libre d'AL.

#### I.2.4. Interactions médicamenteuses

Les ALs entraînent des interactions médicamenteuses pharmacocinétiques (déplacement de sites de fixation protéique, diminution du débit sanguin hépatique ou de la clairance intrinsèque) ou pharmacodynamiques (déplacement du site effecteur). Les ALs peuvent être déplacés de leur site de liaison sur l'acide  $\alpha_1$ -glycoprotéine par d'autres ALs, d'où une toxicité additive. De manière générale, il existe un risque réel augmenté de dépression myocardique avec tous les ALs lorsqu'ils sont administrés avec des médicaments anti-arythmiques (Sweetman, 2005). En effet, ces derniers agissent également sur les canaux, notamment sodiques, comme les ALs. De la même façon, les solutions d'AL adrénalinées, administrées au cours du travail obstétrical par voie péridurale ou para-cervicale, peuvent en association avec des médicaments oxytociques favoriser la survenue d'une hypertension artérielle. Des médicaments associés peuvent également accroître les effets toxiques des ALs. Il existe par exemple, une interaction entre les ALs et les médicaments dépresseurs. Ces derniers peuvent masquer les premiers signes et symptômes d'excitation centrale provoqués par les ALs. Des résultats ont été publiés concernant les interactions entre la bupivacaïne et certains antagonistes du récepteur  $H_2$  de l'histamine montrent une diminution de la clairance de la bupivacaïne lors d'une prémédication à la cimétidine (Noble *et al.*, 1987), cependant cet effet n'a pas été enregistré dans une autre étude effectuée par Flynn *et al.* (1989). Il a été observé que la dose neurotoxique de la bupivacaïne est multipliée par 2,5 avec le sévoflurane et par 4 avec le propofol (Ohmura *et al.*, 1999). De même, la cardiotoxicité de la bupivacaïne est modifiée par ces deux agents chez le

rat. Par ailleurs la procaine, elle ne doit pas être utilisée avec un sulfamide, car l'acide para-aminobenzoïque inhibe l'action du sulfamide (Weiner et Mason., 2019).

### I.2.5. Relation entre structure et activité des anesthésiques locaux

Les propriétés structurales des ALs expliquent en grande partie leur variabilité d'action. Leur diffusion transmembranaire dans les cellules nerveuses est dépendante du gradient de concentration et des coefficients de diffusion propres à chaque AL. La gaine nerveuse étant de nature lipidique, l'anesthésique doit avoir un degré de liposolubilité suffisant pour pouvoir la traverser. En effet, l'allongement de la chaîne intermédiaire (jusqu'à 0,9 nm) du composé ainsi que l'augmentation du poids moléculaire de l'un de ses pôles  $R$ ,  $R_1$  et  $R_2$ , (voir figure I.8), favorise la liposolubilité. Cette affinité favorise également la fixation des ALs sur la partie hydrophobe des protéines membranaires en contact avec les phospholipides, ce qui se traduit par une augmentation de l'activité intrinsèque de l'AL et une réduction du délai d'action, comme le montre le tableau I.3.

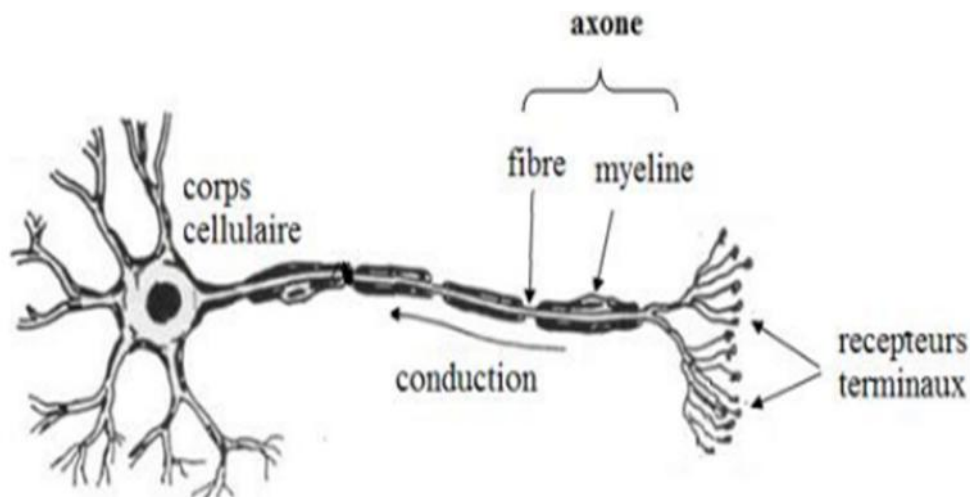
**Tableau I.3.** Propriétés physicochimiques de quelques anesthésiques locaux (Denson et Mazoit, 1992).

AL	Durée d'action	Délai d'action	pKa	Fixation Protéique (%)	% de la base à pH= 7,4	Puissance anesthésiante relative/ Procaine
Procaine	1h -1h30	Lent	8,9	6	3	1
Tétracaine	3h -4h	Lent	8,5	80	7	8
Lidocaïne	1h30 -2h	Rapide	7,8	65	24	2
Bupivacaine	3h -3h30	Intermédiaire	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

Néanmoins, il faut souligner que cet aspect n'est pas toujours prépondérant comme le montre le cas de la lidocaïne et de la bupivacaine. Cette dernière bien que possédant des groupements butyles au lieu des éthyles sur sa fonction amine a un délai d'action plus long que celui de la lidocaïne en raison de la valeur du pKa car plus celui-ci est élevé, plus la quantité de la forme basique qui traverse la membrane est faible et par conséquent le délai d'action sera plus long. Il est important de noter aussi que c'est l'état d'ionisation qui va conditionner l'activité et la distribution des ALs comme il a été rapporté par Buttterworth et Strichartz (1990).

### I.2.6. Mécanisme d'action des anesthésiques locaux

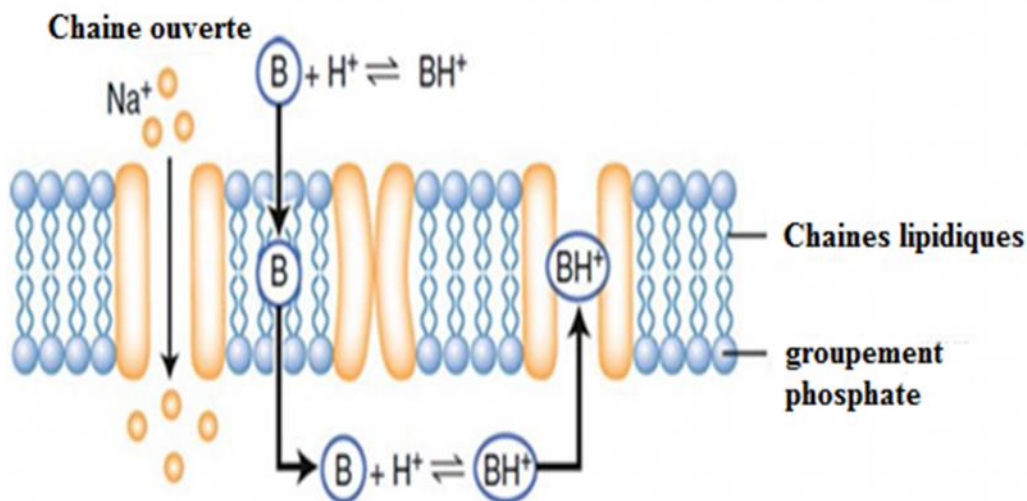
La douleur est une sensation qui résulte de la stimulation des récepteurs spécifiques portés par les terminaisons nerveuses libres de la cellule nerveuse (figure I.11).



**Figure I.11.** Représentation d'une cellule nerveuse (Derville *et al.*, 1990).

Les terminaisons se prolongent par l'axone qui est constitué d'une fibre nerveuse de diamètre variable entourée de myéline. La membrane d'une fibre nerveuse est composée de molécules phospholipidiques organisées en bicouches et intégrant des structures protéiniques dont certaines constituent des canaux sodiques perméables non seulement aux ions  $\text{Na}^+$  mais également aux ions  $\text{K}^+$ . La conduction de l'influx nerveux (ou potentiel d'action) le long des fibres est liée aux modifications du gradient

électrique de part et d'autre de leur membrane. Elle dépend essentiellement des mouvements entre le milieu intérieur riche en ions  $K^+$  et le milieu extérieur riche en ions  $Na^+$ . L'effet analgésique résulte du blocage de l'influx nerveux dans les fibres sensibles. Effectivement, les ALs entraînent une stabilisation du potentiel de repos en bloquant de façon réversible les canaux sodiques, rendant difficile ou empêchant la dépolarisation et donc la création d'un potentiel d'action. Ainsi, la propagation de l'influx nerveux est inhibée. Les cations (forme protonique de l'anesthésique local) se fixent sur un récepteur spécifique; il s'agit d'un site «de liaison» qui se situe dans le canal de sodium à proximité de son ouverture intracellulaire (Yarov-Yarovoy *et al.*, 2001). C'est, d'une part, une région hydrophobe à laquelle se lie la partie hydrophobe de la molécule anesthésique locale, d'autre part, une région hydrophile avec laquelle l'amine quaternaire interagit. Les ALs diffusent sous forme basique à travers la membrane nerveuse, la forme non ionisée se met ensuite en équilibre avec la forme ionisée à l'intérieur de la cellule (figure I.12). Leur forme non ionisée peut également contribuer directement à l'activité de l'anesthésique local par diffusion à travers la bicouche phospholipidique, entraînant des modifications conformationnelles de la matrice lipoprotéique.



**Figure I.12:** Action d'un anesthésique local sur les canaux sodiques  
(Rathmell *et al.*, 2004).

### **I.2.7. Mode d'administration des anesthésiques locaux**

#### ***I.2.7.1. Anesthésie de surface***

Un anesthésique topique est un anesthésique local utilisé pour engourdir la surface d'une partie du corps. Ils peuvent être utilisés pour engourdir n'importe quelle zone de la peau ainsi que l'avant du globe oculaire, l'intérieur du nez, de l'oreille ou de la gorge, l'anus et la région génitale. Les anesthésiques topiques de type ester sont métabolisés par la cholinestérase plasmatique et d'autres estérases non spécifiques, tandis que les anesthésiques amides sont principalement métabolisés dans le foie via des enzymes microsomales. Les anesthésiques esters peuvent provoquer des manifestations allergiques au contact, alors que cela serait rare avec les anesthésiques amides (Suhonen et Kanerva, 1997; Fuzier *et al.*, 2009 ; Kluger *et al.*, 2011).

#### ***I.2.7.2. Anesthésie d'infiltration***

L'effet des ALs qui peuvent être injecté en intradermique ou en sous-cutané est immédiat et de durée dépendante de l'AL. Le volume injecté dépend de la surface chirurgicale à anesthésier mais il faut toujours respecter les doses maximales autorisées, par exemple, pour la lidocaïne (400 mg) et pour la bupivacaïne (150 mg). Les ALs trop puissants et présentant une toxicité potentielle ne sont pas en général utilisés de cette manière sauf à des concentrations très inférieures.

#### ***I.2.7.3. Anesthésie de conduction***

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

### **I.2.8. Effets indésirables et toxicité**

Les ALs sont souvent considérés comme des médicaments « peu dangereux », efficaces et facilitent le geste chirurgical à réaliser, cependant et comme tout médicament, ils sont menacés par certains effets indésirables. L'apparition de ces effets peut être fonction de la dose totale injectée, de la vitesse d'injection, du site d'injection de l'AL en cause, de la présence ou non d'adjuvants, du terrain du patient



et dans un certain nombre de cas des médicaments associés (Tucker *et al.*, 1972). Par exemple, les ALs de longue durée d'action induisent des effets toxiques majeurs lorsque leur concentration plasmatique atteint ou dépasse 3-5 mg/l pour la bupivacaïne racémique, 5-6 mg/l pour la lévobupivacaïne et 5-8 mg/l pour la ropivacaïne (Huet *et al.*, 2003). Le nombre d'atomes de carbone sur la chaîne intermédiaire peut varier, ce qui entraîne l'augmentation de la puissance de la molécule, de sa liposolubilité mais également son risque d'induction d'effets indésirables. La plupart des anesthésiques sont d'abord toxiques au niveau du système nerveux central puis, à plus forte concentration, ils deviennent cardiotoxiques. Certains ALs peuvent avoir une toxicité musculaire, c'est le cas de la bupivacaïne lorsqu'elle est injectée localement, cette toxicité s'observe particulièrement au niveau oculaire, mais également au niveau des autres muscles de l'organisme (Hogan *et al.*, 1994).

#### ***1.2.8.1. Réactions allergiques***

L'allergie aux AL est souvent évoquée par les patients, bien qu'habituellement elle reste rare avec les ALs de type amide, en revanche, avec les ALs de type ester dérivant de l'acide para-amino-benzoïque, c'est-à-dire les agents comme la procaine, la chlorprocaine et la tétracaïne, une allergie croisée avec certains conservateurs présents dans les solutions adrénalinées est observée (Warrington et McPhillips, 1997). Quelques cas rares d'allergie à des amides comme la lidocaïne ou la bupivacaïne ont cependant été rapportés par Cuesta-Herranz et collaborateur (1997).

#### ***1.2.8.2. Manifestations cutanées***

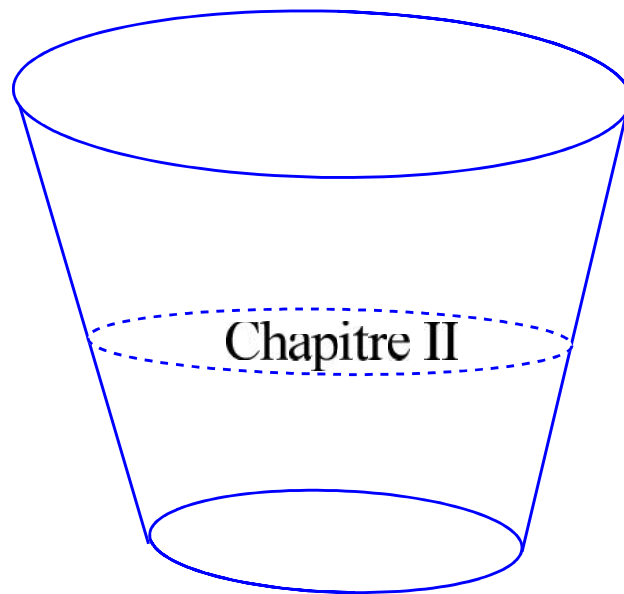
Les rares éruptions cutanées sont essentiellement dues aux conservateurs utilisés, plus rarement aux solvants ou aux lubrifiants. Quelques cas d'eczéma ont été rapportés avec l'utilisation des dérivés esters (procaine, tétracaïne).

#### ***1.2.8.3. Nécrose***

L'injection rapide d'une quantité trop importante d'AL trop froid avec une concentration trop élevée de vasoconstricteur peut entraîner l'apparition d'une nécrose, surtout chez les sujets diabétiques.

Il est important de noter qu'un bon nombre de complications a été rapporté avec les anesthésiques locaux du groupe ester. Or, ce sont principalement les anesthésiques locaux du groupe amide qui sont utilisés en pratique quotidienne.

Des études relativement récentes ont été consacrées aux propriétés physicochimiques des anesthésiques locaux et à leurs complexes d'inclusion avec les CDs afin de comprendre leur comportement (Brandariz et Iglesias, 2013). Ces études montrent que l'étendue de la complexation avec les CDs varie considérablement avec l'état de protonation des molécules impliquées, un fait intéressant dans l'administration de AL, comme l'ont rapporté Brandariz et Iglesias (2013). Il est donc utile de choisir le bon excipient, le bon procédé d'encapsulation et les techniques de caractérisation les plus appropriées pour faire une étude complète sur la complexation des Als par les CDs.



*Techniques de caractérisation & méthodes  
de modélisation moléculaire*

## Chapitre II

### Techniques de caractérisation & méthodes de modélisation moléculaire

---

## II. Techniques de caractérisation & méthodes de modélisation moléculaire

### II.1. Les techniques spectroscopiques

#### II.1.1. Introduction

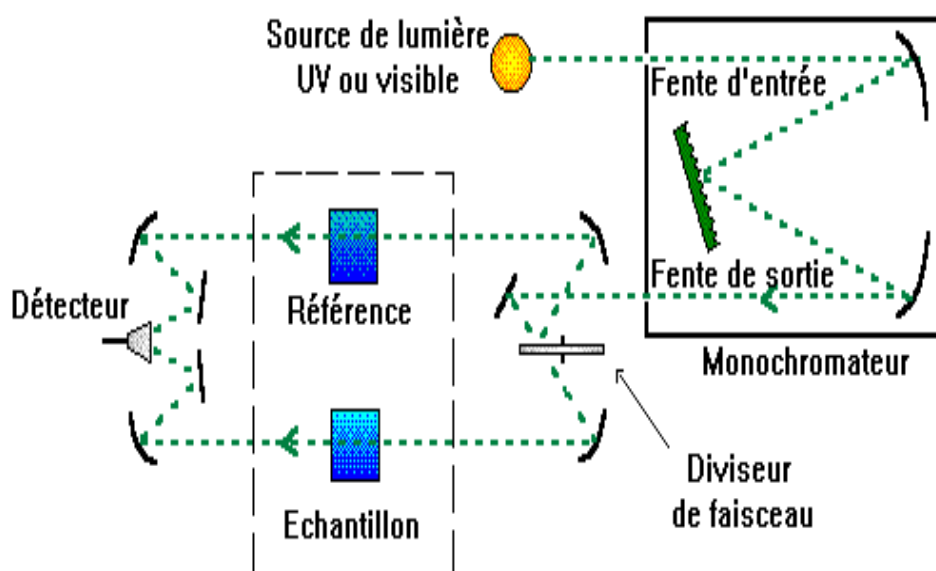
La spectroscopie est basée généralement sur l'interaction entre la matière et les radiations lumineuses. La spectrophotométrie est une technique de mise en œuvre facile permettant la mesure quantitative des propriétés de réflexion ou de transmission d'un matériau en fonction de la longueur d'onde. Les techniques spectroscopiques sont adaptées pour l'étude des espèces moléculaires libres ou complexées en solution ou même à l'état solide. La spectroscopie UV-Visible, la fluorescence et la résonance magnétique nucléaire (RMN), par exemple, sont adaptées pour l'étude spectrale des complexes en solution (Toma et Toma, 2007), tandis que la spectroscopie infrarouge, la diffraction des rayons X, la microscopie électronique à balayage et la calorimétrie différentielle à balayage conviennent généralement aux composés obtenus à l'état solide (Perez-Martinez *et al.*, 1998 ; Perez-Martinez *et al.*, 2000 ; Saikosin *et al.*, 2002). Pour la chimie supramoléculaire, les techniques spectroscopiques telles que l'absorption UV-Vis, la fluorescence et la RMN permettent de suivre les changements spectrales lors des réactions de complexation; à la suite de la formation de complexes d'inclusion, la molécule invitée est entourée par le microenvironnement hydrophobe de la cavité CD. Ce changement environnemental affecte les propriétés chimiques de la molécule invitée tels que les paramètres cinétiques et certains changements dans les propriétés physiques comme la longueur d'onde d'absorption, le déplacement chimique et le rendement quantique. Généralement, les modifications spectrales sont dues à une perturbation des niveaux d'énergie électronique de l'invité, liée soit à des interactions directes entre le substrat et la CD, soit à l'exclusion autour du substrat des molécules solvatantes d'eau, soit encore par une combinaison de ces deux effets (Clarke *et al.*, 1988). Par exemple, les spectres RMN du proton à une dimension peuvent renseigner sur la stœchiométrie ou le rapport molaire hôte : invité, la constante de stabilité et même l'orientation de la molécule incluse dans la cavité de la CD. La RMN travaille à des concentrations de l'ordre de  $10^{-3}$ - $10^{-4}$  M, alors que la spectroscopie UV-Vis atteint  $10^{-6}$  M et la spectrophotométrie de fluorescence  $10^{-10}$  M.

### II.1.2. La spectrophotométrie UV-Visible

La spectrophotométrie UV-Vis consiste à mesurer l'absorbance de la lumière par un composé chimique présent dans une solution, dans une gamme étroite de longueur d'ondes du spectre électromagnétique. Un spectre d'absorption est une courbe précisant la variation d'absorption d'énergie d'une substance soumise aux rayonnements ultraviolet et visible. L'absorption d'énergie est quantifiée et résulte du passage des électrons de l'état fondamental vers un état énergétique supérieur (excité). Son utilisation est de plus en plus réservée à l'analyse quantitative en utilisant la loi de Beer-Lambert.

#### II.1.2.1. Principe et appareillage

Lorsqu'une lumière d'intensité  $I_0$  passe à travers une solution, une quantité de lumière sera absorbée par le soluté. L'absorption de la lumière provoque des transitions électroniques entre différents niveaux énergétiques. L'étude des transitions électroniques résultantes de l'absorption des quantités d'énergies nécessite l'utilisation d'un appareil de mesure appelé spectrophotomètre dont les éléments sont représentés dans la figure II.1.



**Figure II.1** : Eléments d'un spectrophotomètre UV-Vis

Ce dispositif est constitué d'éléments suivants :

## Chapitre II

### Techniques de caractérisation & méthodes de modélisation moléculaire

- **Source** : elle fournit la radiation lumineuse. Dans la région (190 à 350 nm) de l'UV, la source est une lampe à décharge au deutérium, tandis que, une lampe à filament de tungstène est utilisée pour la région du visible dont la longueur d'onde varie de 350 à 800 nm.
- **Monochromateur** : le monochromateur sert la dispersion du rayonnement polychromatique provenant de la source et l'obtention des radiations monochromatiques. Les monochromateurs les plus utilisés sont composés d'une fente d'entrée, d'un dispositif de dispersion (un prisme) et d'une fente de sortie.
- **Diviseur de faisceau (photomètre)** : la lumière monochromatique sortant du monochromateur est séparée en deux faisceaux qui traversent les compartiments de l'échantillon et de la référence.
- **Détecteur** : il est soit un tube photomultiplicateur ou un détecteur photodiode qui convertit le signal lumineux à un signal électrique. Il est relié à un enregistreur qui permet de tracer un spectre d'absorption de l'échantillon analysé.

#### II.1.2.2. Types de transitions électroniques

Les transitions électroniques correspondent au passage des électrons des orbitales moléculaires (OM) liantes et non liantes remplies, vers des orbitales moléculaires antiliantes vides. L'absorption d'un photon dans le domaine UV-Vis peut souvent être attribuée à des électrons appartenant à des petits groupes d'atomes appelés chromophores (C=C, C=O, C=N, C≡C, C≡N ...). Le diagramme suivant illustre les principales transitions électroniques.

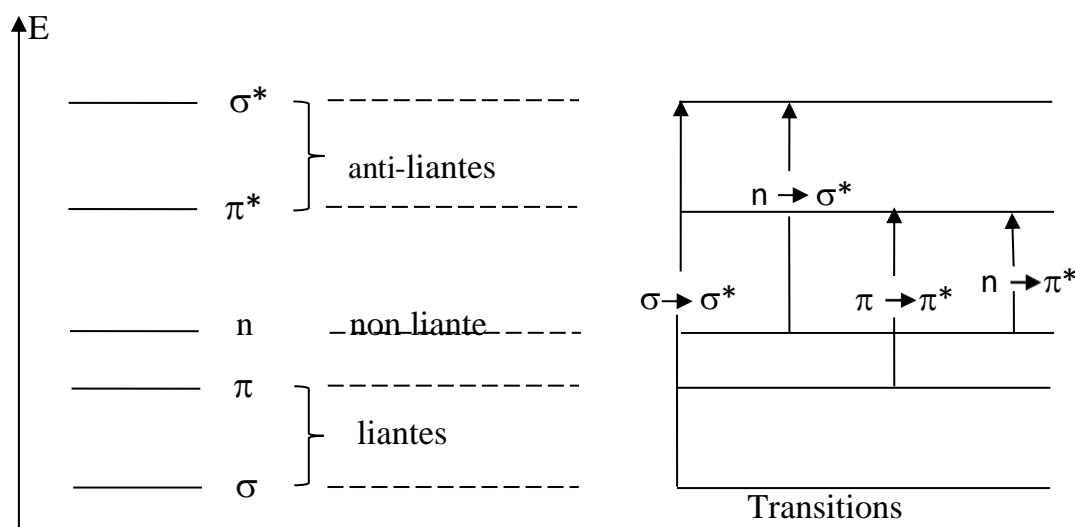


Figure II.2. Principales transitions électroniques

## Chapitre II

### Techniques de caractérisation & méthodes de modélisation moléculaire

---

La longueur d'onde d'absorption dépend de la nature des orbitales mises en jeu.

- **Transition  $\sigma \rightarrow \sigma^*$**  : la transition d'un électron d'une OM liante  $\sigma$  vers une OM antiliante  $\sigma^*$  nécessite beaucoup d'énergie en raison de la grande stabilité des liaisons  $\sigma$  des composés organiques. La bande d'absorption correspondante est intense et située dans l'UV-lointain, vers 130 nm.
- **Transition  $n \rightarrow \pi^*$**  : cette transition résulte du passage d'un électron d'une OM non-liante  $n$  à une OM antiliante  $\pi^*$ . Ce type de transition a lieu dans le cas où la molécule comportant des atomes porteurs de doublets électroniques libres appartenant à un système insaturé.
- **Transition  $n \rightarrow \sigma^*$**  : cette transition a lieu lors du transfert d'un électron du doublet non liant d'un hétéroatome (O, N, S, Cl..) à un niveau  $\sigma^*$ , elle est observée pour les alcools, les éthers, les amines ainsi que pour les dérivés halogénés. La bande résultante de cette transition est d'intensité moyenne située à l'extrême limite du proche-UV.

Méthanol :  $\lambda_{\max} = 183 \text{ nm}$ ,  $\epsilon = 500 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$

Ether diéthylique :  $\lambda_{\max} = 190 \text{ nm}$ ,  $\epsilon = 2000 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$

Ethylamine :  $\lambda_{\max} = 210 \text{ nm}$ ,  $\epsilon = 800 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$

- **Transition  $\pi \rightarrow \pi^*$**  : ce type de transition a lieu dans les composés possédant des électrons  $\pi$ , issus des doubles ou triples liaisons chimiques. Ces transitions électroniques sont énergétiquement favorables et conduisent à de fortes bandes d'absorption vers 165-200 nm (tableau II.1).

**Tableau II.1.** Principales transitions électroniques de type  $\pi \rightarrow \pi^*$

Composé	Chromophore	$\lambda_{\max}$ (nm)	$\epsilon_{\max}$ ( $\text{M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ )
Ethylène	C=C	162	10000
E but-2-ène	C=C	178	13000
Butyne	C=C	172	4500
Acétone	C=O	195	9000

#### II.1.2.3. Effet du milieu sur les transitions électroniques

Un certain nombre de facteurs, dont le solvant utilisé, la concentration, le pH ainsi que la température de l'échantillon peuvent affecter la position et intensité des bandes d'absorption des molécules.

##### II.1.2.3.1. Terminologie

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

##### II.1.2.3.2 Effet de solvant

La position, l'intensité et la forme des bandes d'absorption des composés en solution dépend de la nature du solvant et plus particulièrement de sa polarité. Les interactions physiques soluté-solvant modifient la différence d'énergie entre l'état fondamental et l'état excité, c'est le cas de la transition  $n \rightarrow \pi^*$  du groupement carbonyle des fonctions cétones.

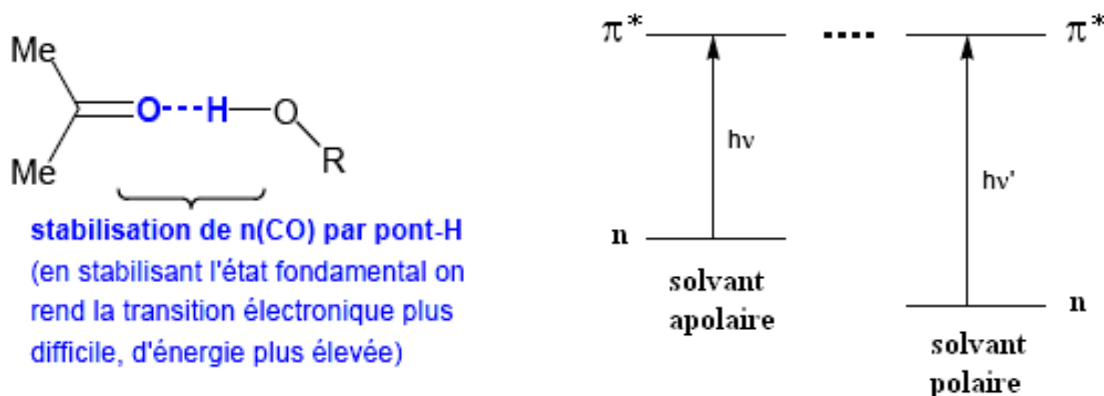


Figure II.3. Effet du solvant sur les transitions électroniques



## Chapitre II

### Techniques de caractérisation & méthodes de modélisation moléculaire

---

La liaison  $\delta^+C=O\delta^-$  est stabilisée par un solvant polaire, ce qui nécessite alors plus d'énergie pour provoquer la transition électronique. Une situation inverse est observée pour un solvant appolaire ( $\lambda$  diminue par augmentation de la polarité du solvant) (Owen, 1996).

#### *II.1.2.3.3. Effet de la concentration*

La concentration n'affecte que l'intensité des bandes, mais à des concentrations plus élevées, les interactions moléculaires, telle que la dimérisation, peuvent provoquer des changements dans la forme et la position de la bande d'absorbance. Ces changements affectent à leur tour la linéarité de la relation concentration / absorbance et peuvent conduire à des résultats quantitatifs inexacts (Owen, 1996).

#### *II.1.2.3.4. Effet du pH*

Les effets du pH sur les spectres d'absorbance peuvent être très importants et résultent principalement du déplacement de l'équilibre entre deux formes acide-base. Si le spectre de l'échantillon étudié est affecté par le pH, un remède consiste à préparer l'échantillon dans une solution tampon afin de maintenir le pH à une valeur stable, le tampon doit cependant être transparent sur la plage de longueurs d'onde des mesures (Owen, 1996).

#### *II.1.2.3.5. Effet de la température*

La température peut affecter les mesures UV-vis notamment pour certains solvants organiques. Elle peut affecter également les équilibres chimiques ou physiques (lorsque la température augmente, l'absorptivité change). D'autre part, quand les courants de convection provoquent des températures différentes dans différentes parties de la cellule, l'effet Schlieren qui en résulte peut changer l'absorbance apparente. S'il s'avère que la température a un effet significatif sur les mesures, la température de l'échantillon doit être alors contrôlée à l'aide d'un support de cellule thermostatée (Owen, 1996).

## Chapitre II

### Techniques de caractérisation & méthodes de modélisation moléculaire

---

#### II.1.2.4. Absorption de la lumière et la loi de Beer –Lambert

Le domaine spectral UV-Vis est largement exploité en analyse quantitative. La loi de Beer-Lambert est une loi applicable pour une grande variété de molécules présentes en solution, cette loi sert à établir une relation entre l'absorbance, l'épaisseur de l'échantillon et la concentration des espèces absorbantes. Cette relation s'écrit :

$$\text{Log} \frac{I_0}{I} = A = \varepsilon Cl \quad (\text{II.1})$$

avec A: absorbance,  $\varepsilon$ : coefficient d'extinction molaire ( $\text{M}^{-1}.\text{cm}^{-1}$ ), C : concentration (mol/L),  $l$  représente l'épaisseur de la cuve (cm),  $I_0$  est l'intensité de l'énergie d'irradiation arrivant sur l'échantillon et  $I$  est l'intensité de la radiation qui a traversé l'échantillon (lumière transmise).

L'absorbance est une grandeur positive sans unité. Elle est d'autant plus grande, l'intensité transmise est faible. La loi de Beer-Lambert n'est vérifiée que si les conditions suivantes sont respectées : (une lumière monochromatique, des solutions très diluées et pas de réflexion, de diffusion ou de fluorescence du faisceau incident) (Benaissa, 2011). Selon la loi de Beer-Lambert, l'absorbance est additive. Ainsi, pour une solution contenant plusieurs substances absorbantes, l'absorbance de la solution est la somme de leurs absorbances :

$$A_\lambda = \sum \varepsilon l C = \varepsilon l C_1 + \varepsilon l C_2 + \varepsilon l C_3 \quad (\text{II.2})$$

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

- par la cuve: le verre absorbe la plus grande partie du spectre IR et le lointain UV ;
- par des fibres optiques à cœur silice (si l'appareil en comporte);
- par l'oxygène de l'air: en dessous de 190 nm l'absorption par l'oxygène trouble systématiquement toutes les mesures ;
- par les impuretés sur le trajet de la solution ;

## Chapitre II

### Techniques de caractérisation & méthodes de modélisation moléculaire

---

- par le solvant: le tableau ci-dessous indique les longueurs d'onde limites en dessous desquelles la mesure sera affectée (le solvant absorbe le faisceau incident).

**Tableau II.2.** Longueurs d'onde limites de certains solvants (Owen, 1996):

Acétone	Toluène	Acétate d'éthyle	Chloroforme	Glycérol	Hexane	Ethanol	Méthanol
330 nm	290 nm	260 nm	250 nm	230 nm	230 nm	220 nm	210nm

Les cuvettes les plus utilisées sont en général en silice fondue de haute qualité ou en quartz car elles sont transparentes dans les régions UV-VIS et proche-infrarouge. L'épaisseur usuelle est de 1 cm, mais des cuves de 5 à 10 cm sont employées pour des solutions très diluées. Les cuvettes en verre et en plastique sont aussi communes, bien que le verre et la plupart des plastiques absorbent dans l'UV, ce qui limite leur usage au visible et proche infrarouge.

- Les cuves en plastique : en polystyrène optique (350-800 nm) ou en PMMA (250-800 nm), sont bon marché mais ne résistent pas à la plupart des produits organiques.
- Cuves en verre : résistent aux solvants (300- 800 nm).
- Cuves en quartz sont utilisées pour obtenir des spectres dans l'UV lointain (200 nm- 800 nm), mais ce sont les plus coûteuses.

L'appareil mesure l'absorbance sans se préoccuper s'il s'agit de celle de l'air, de la cuve, du solvant ou du soluté, c'est pourquoi il faut faire un blanc c'est à dire que l'on doit balayer en longueur d'onde le domaine choisi avec une cuve rempli du solvant afin d'éviter les pertes par réflexions (Thomas et Burgess, 2007).

#### II.1.2.5. Avantages et applications de la spectroscopie UV-visible

La spectroscopie UV-Vis est une technique de caractérisation fiable et peut intervenir dans les disciplines suivantes:

- La spectroscopie UV-visible peut renseigner sur la concentration de la solution, soit à partir d'une courbe d'étalonnage qui donne l'absorbance en fonction de la concentration, soit quand le coefficient d'extinction molaire est déjà connu ;
- Un spectrophotomètre UV-Vis peut être utilisé comme détecteur pour une HPLC (Lough et Wainer, 1995). La présence d'un analyte donne une réponse que l'on peut supposer proportionnelle à la concentration. Pour des résultats précis, la réponse de l'instrument à l'analyse dans la solution inconnue doit être comparée à un étalon : c'est assez similaire à l'utilisation de courbe d'étalonnage;
- les substances inorganiques ou organiques qui n'absorbent pas dans le domaine UV-Vis, elles peuvent réagir avec des chromophores dont on peut aisément suivre leurs concentrations par UV-Vis (Clark *et al.*, 1993),
- 90% des analyses médicales reposent sur la spectrophotométrie UV-visible,
- une grande précision : les erreurs ne dépassent pas 5% et peuvent être réduites sous certaines précautions,
- la simplicité et la rapidité d'utilisation,
- renseigner sur la constante d'association dans les complexes d'inclusion (Jiang *et al.*, 2008 ; Rahim *et al.*, 2019) : malgré les petits effets rencontrés dans l'absorption et les décalages de pic de l'ordre de quelques nm et les changements des coefficients d'absorption inférieurs à dix pour cent, la spectrométrie UV-Vis est un premier test facilement réalisable de l'occurrence de la réaction de complexation notamment pour les systèmes non fluorescents (Alves et Fonseca, 1989; Kundu et Chattopadhyay, 1995). De plus, les techniques chimométriques permettent de précieuses applications analytiques des petits effets spectraux issus de la réaction de complexation par les CDs (Busch *et al.*, 2003 ; Davis *et al.*, 2007).

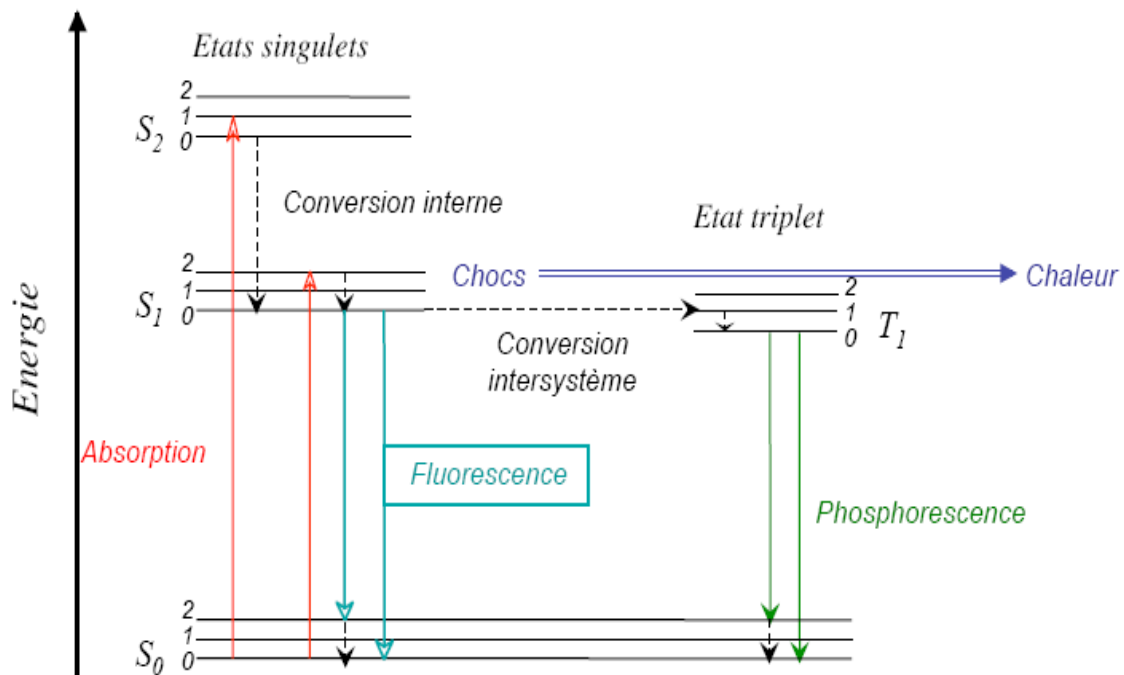
#### II.1.3. Spectrométrie de fluorescence moléculaire

La fluorescence est une émission lumineuse provoquée par diverses formes d'excitation autres que la chaleur. C'est un phénomène physique classé dans l'ensemble des phénomènes de luminescence comprenant la photoluminescence (fluorescence et phosphorescence) et les autres types de luminescence (chimiluminescence et bioluminescence). Une molécule fluorescente (fluorophore) peut absorber l'énergie lumineuse (lumière d'excitation) et la restituer sous forme de lumière fluorescente (lumière d'émission). Plus l'énergie absorbée est importante, plus les niveaux électroniques supérieurs sont atteints. L'émission de lumière par une substance, à partir des états électroniques excités vers l'état fondamental, se produit à une longueur d'onde plus grande que la longueur d'onde absorbée (effet de Stokes). Les transitions des états excités vers l'état fondamental sont permises avec des constantes de vitesse d'émission autour de  $10^8 \text{ s}^{-1}$ . Si le système émet de la lumière à partir d'un état excité singulet, on parle de la fluorescence, s'il émet à partir d'un état excité triplet, c'est la phosphorescence. Le spectre d'émission de fluorescence ou de phosphorescence représente l'intensité d'émission d'une molécule aux différentes longueurs d'onde pour une longueur d'onde d'excitation donnée. La figure II.4 représente le diagramme schématisant les différents niveaux d'énergie d'une molécule et les différents phénomènes liés à la photoluminescence.

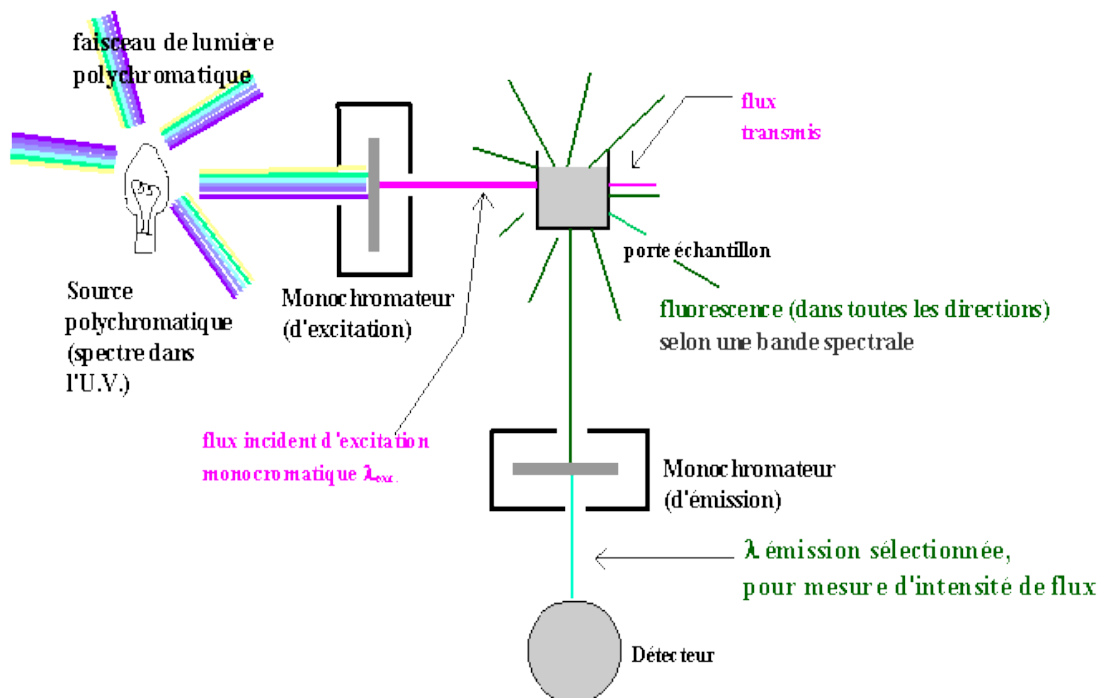
La spectrofluorimétrie permet :

- une analyse qualitative car les longueurs d'ondes d'excitation et celles qui sont émises sont caractéristiques des substances étudiées.
- une analyse quantitative car dans certaines conditions l'intensité de fluorescence est proportionnelle à la concentration. Il faut en particulier que la concentration soit très faible (Bortolus et Monti, 1996).

L'appareil de mesure est un spectrofluorimètre, dont le schéma est présenté sur la figure II-5.



**Figure II.4.** Représentation schématique des niveaux d'énergie des électrons et des différentes voies possibles correspondant aux phénomènes de photoluminescence (Diagramme de Jablonski, 1935).



**Figure II.5.** Eléments d'un spectrofluorimètre

## Chapitre II

### Techniques de caractérisation & méthodes de modélisation moléculaire

---

Un tel spectrofluorimètre est composé de :

- Source polychromatique: la source est une lampe à arc Xénon émettant un rayonnement continu dans l'UV et dans le visible,
- Monochromateur à l'excitation : le monochromateur permet d'obtenir une lumière excitatrice de très haute pureté spectrale,
- Porte d'échantillon : les échantillons sont placés dans des cuves en quartz de 1 cm de chemin optique. L'émission de fluorescence est observée à 90° par rapport à la lumière incidente afin d'éliminer les interférences entre la lumière émise par l'échantillon et la lumière excitatrice incidente,
- Monochromateur à l'émission : Il permet d'obtenir une sensibilité optimale pour l'étude du spectre de fluorescence,
- Détecteur : permet de convertir l'énergie lumineuse captée en signal électrique. Les signaux produits sont traités par ordinateur à l'aide d'un logiciel approprié.

La mesure de la fluorescence est soumise à certaines relations fondamentales :

- La loi de Beer-Lambert:

$$I_a = I_0 - 2,3 \cdot I_f \cdot c \cdot l \quad (\text{II.3})$$

où  $I_a$ ,  $I_0$ ,  $I_f$ ,  $c$  et  $l$  représentent respectivement l'intensité de la lumière absorbée, l'intensité de la lumière incidente, l'intensité de la lumière transmise, la concentration de la solution et l'épaisseur de la cuve.

Cette relation n'est valable que pour des solutions faiblement absorbantes car si n'était pas le cas, une diminution de la fluorescence due à la forte absorption propre à la solution est observée (Bortolus et Monti, 1996). L'intensité du spectre de fluorescence dépend entre autres de la population de molécules se trouvant à l'état excité. D'autre part, en présence d'espèces étrangères en concentration appréciable, la molécule fluorescente risque de perdre son énergie sous forme non radiative due à la collision entre ces espèces, cette situation conduit à une diminution de l'intensité de la fluorescence : c'est le processus d'extinction ou d'inhibition "quenching".

## Chapitre II

### Techniques de caractérisation & méthodes de modélisation moléculaire

---

- Si la solution est très diluée, l'intensité du rayonnement émis par fluorescence est proportionnelle à la concentration de la molécule interceptant le faisceau lumineux ; c'est la loi fondamentale de la fluorimétrie.

$$I_f = K.I_0.\Phi_F \quad (\text{II.4})$$

où  $I_f$  est l'intensité de fluorescence,  $K$  le facteur d'appareillage avec  $K = 2.3\epsilon cl$  et  $\Phi_F$  est le rendement quantique défini par le nombre de photons émis par seconde / nombre de photons absorbés par seconde.

#### II.1.3.1. Caractéristiques des fluorophores

Les différentes caractéristiques des fluorophores sont :

- Longueurs d'onde : correspondent aux pics des spectres d'excitation et d'émission.
- Coefficient d'extinction ou d'absorption molaire: il relie, pour une longueur d'onde donnée, la quantité de la lumière absorbée à la concentration du fluorophore en solution.
- Rendement quantique : efficacité relative de la fluorescence comparée aux autres voies de désexcitation.
- Durée de vie à l'état excité : c'est la durée caractéristique pendant laquelle la molécule reste à l'état excité avant de retourner à son état fondamental.
- Photoblanchiment: lorsque la molécule se trouve à l'état excité, il existe une certaine probabilité pour qu'elle participe à des réactions chimiques (on parle alors de réactions photochimiques), en particulier avec l'oxygène sous forme de radicaux libres. Le fluorochrome perd alors ses propriétés de fluorescence.

Plusieurs phénomènes peuvent entrer en compétition avec l'émission de fluorescence telles que la conversion interne, la collision des molécules (quenching), couplage inter systèmes et la photo-décomposition des molécules fluorescentes. Ces phénomènes sont conditionnés par de nombreux facteurs comme la température, le pH, les effets des substituants et la polarité du solvant. L'augmentation de la température se traduit par une augmentation de la probabilité de collision entre les molécules à l'état excité, ce qui accroît la probabilité de conversions internes et diminue donc l'efficacité de fluorescence. Les substituants de groupements donneurs d'électrons augmentent



## Chapitre II

### Techniques de caractérisation & méthodes de modélisation moléculaire

---

l'efficacité d'émission de fluorescence tandis que les accepteurs d'électrons diminuent l'intensité de fluorescence. Les interactions soluté-solvant vont affecter le signal de fluorescence de façon variable en fonction du pH, du degré de solvation, de la possibilité de former des liaisons hydrogène, de la viscosité, de la force ionique ainsi que de la polarité du solvant.

#### *II.1.3.2. Changement de fluorescence lors de la complexation avec des cyclodextrines*

La caractéristique la plus courante d'une molécule fluorescente, résultant de la complexation avec des CDs non fluorescents dans des milieux aqueux, est l'amélioration de l'intensité et le décalage spectral vers le bleu de son spectre de fluorescence (Park *et al.*, 2006). Cela est principalement dû à la nature hydrophobe de la cavité CD: la caractéristique est similaire à celle observée lorsqu'on substitue l'eau par un solvant moins polaire. La micropolarité réduite de la molécule fluorescente à l'intérieur d'une cavité de CD entraîne également des variations d'intensités relatives des fines structures vibroniques des spectres de fluorescence. Bien que de nombreux hydrocarbures aromatiques présentent cet effet, le système le plus étudié est le pyrène : la durée de vie de fluorescence du pyrène augmentent lorsque la molécule de pyrène quitte l'eau vers la cavité de la CD (Dyck *et al.*, 2003).

#### **II.1.4. La spectroscopie de résonance magnétique nucléaire (RMN)**

La Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) fut découverte dans la matière condensée à la fin de 1945 par deux équipes américaines : groupe de Purcell et celui de Bloch. Au début des années cinquante la méthode fut appliquée pour la première fois dans le domaine de la chimie. Depuis la découverte de la RMN jusqu'à aujourd'hui, ce domaine ne cesse de s'élargir. La RMN et ses développements ont fait l'objet de plusieurs prix Nobel en chimie (Bloch et Purcell en 1952, Ernst en 1991 et Wüthrich en 2002) et en médecine (Lauterbur et Mansfield en 2003). L'originalité de la RMN par rapport aux autres techniques spectroscopiques réside dans le fait d'apporter une information précise sur la majorité des atomes constitutifs de la molécule, de fournir la

## Chapitre II

### Techniques de caractérisation & méthodes de modélisation moléculaire

---

possibilité d'identifier les connexions entre atomes de diverses entités, squelette, groupes fonctionnels et également de permettre de les situer dans l'espace les uns par rapport aux autres. La RMN constitue actuellement la technique la plus puissante et la plus générale d'analyse structurale des composés organiques.

Le principe de la RMN est expliqué par un modèle de la mécanique quantique. En première approximation, on assimile le noyau de tout atome à une particule sphérique tournant autour d'un axe, mouvement auquel on associe un moment cinétique de rotation, dit « de spin », représenté par un vecteur  $\vec{I}$ . La charge du noyau en rotation génère alors un champ magnétique, associé à un moment magnétique  $\mu$  non nul (figure II.6). Le moment magnétique et le moment de spin nucléaire sont liés par le rapport gyromagnétique  $\gamma$ , propriété intrinsèque du noyau.

$$\vec{\mu} = \gamma \cdot \vec{I} \quad (\text{II.5})$$

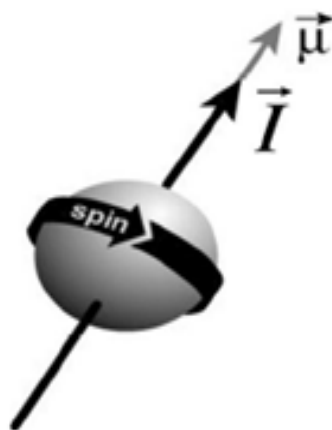


Figure II.6. Représentation du moment du spin  $\vec{I}$

#### II.1.4.1. Les paramètres de base de la RMN à une dimension (1D)

##### II.1.4.1.1. Le déplacement chimique

Les noyaux observables en RMN sont soumis à un champ magnétique noté  $B_0$ , l'intensité de ce dernier n'est pas la même pour toutes les particules d'un même type. Cela résulte du fait que les électrons propres d'un tel noyau ou appartenant à d'autres créent leur propre champ très faible opposé à  $B_0$ . Le nuage électronique spécifique d'un noyau permet de différencier son spin aux autres spins de même nature selon la

## Chapitre II

### Techniques de caractérisation & méthodes de modélisation moléculaire

---

fréquence de Larmor à laquelle ils résonnent. Pour caractériser un noyau en RMN, quel que soit le champ magnétique, on définit la notion de déplacement chimique

$$\delta_{(ppm)} = \frac{\nu - \nu_{TMS}}{\nu_0} \cdot 10^6 \quad (\text{II.6})$$

la fréquence  $\nu$  caractérise un noyau avec un environnement propre.

avec :

$\nu - \nu_{TMS}$  est la fréquence du signal par rapport à une fréquence de référence

$\nu_0$  est la fréquence de Larmor de l'appareil pour le noyaux considéré.

#### II.1.4.1.2. Intégration

C'est la surface du pic d'absorption qui est proportionnelle au nombre de protons. Cette surface est mesurée grâce à la courbe d'intégration en obtenant une information sur le nombre de protons correspondant à un signal. Le couplage scalaire (couplage spin – spin) traduit l'effet du champ magnétique créé par le spin d'un noyau X et transmis par les électrons de liaisons sur un noyau A. Le noyau A peut percevoir deux champs locaux ( $B + BX$ ) ou ( $B - BX$ ) suivant l'orientation du spin du noyau X. La RMN du proton ( $^1\text{H}$ ) et celle du carbone ( $^{13}\text{C}$ ) sont couramment les utilisées pour l'identification des structures chimiques. Cependant, il existe d'autres types de la RMN à une dimension, avec de meilleures sensibilités et une large gamme spectrale que la RMN du carbone ( $^{13}\text{C}$ ), tels que la RMN de l'azote ( $^{15}\text{N}$ ), du fluor ( $^{19}\text{F}$ ) et de phosphore ( $^{31}\text{P}$ ).

#### II.1.4.2. La RMN bidimensionnelles (2D)

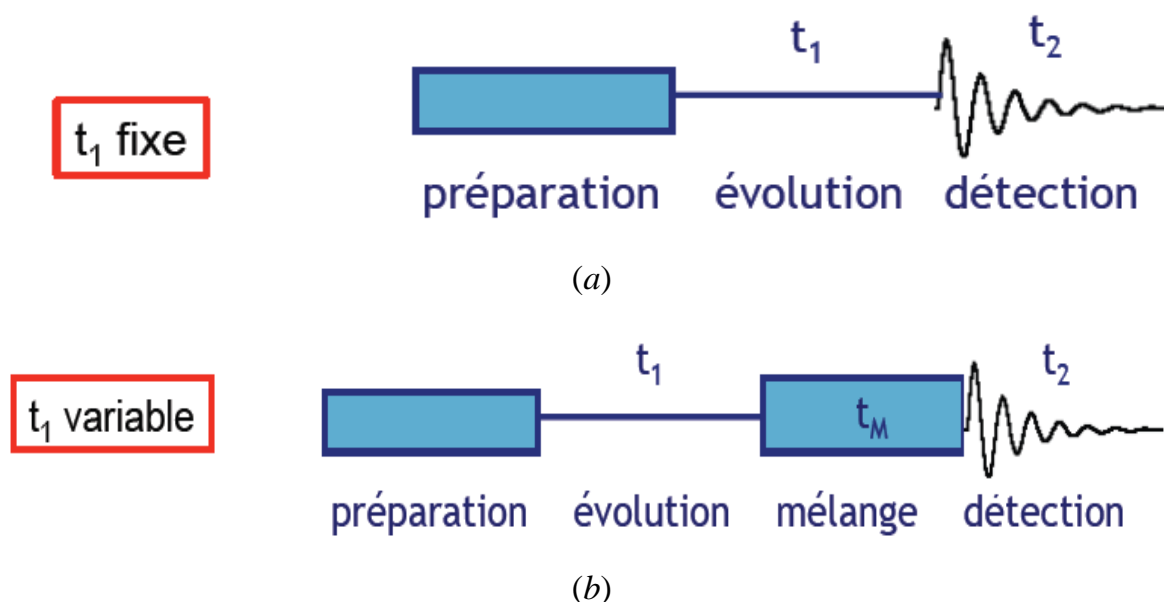
Un spectre 1D consiste en une série de raies de résonances caractérisées par leur position en fréquence (déplacement chimique), leur phase et leur amplitude. Ces paramètres sont liés à l'évolution des aimantations nucléaires avant la période d'acquisition (détection)  $t_2$ . Dans le cas d'un spectre 2D, la période d'évolution  $t_1$  devient une variable (figure II.7). À la suite de  $k$  expériences avec des périodes d'évolution  $t_1+n \Delta t_1$ , le signal devient une fonction dépendant de deux variables temporelles  $t_1$  et  $t_2$ . La variation d'intensité des signaux en fonction de la durée de  $t_1$  est l'origine de la 2<sup>ème</sup> dimension. L'information 2D est représentée alors avec deux

## Chapitre II

### Techniques de caractérisation & méthodes de modélisation moléculaire

---

axes de fréquence représentant chacun un déplacement chimique et est particulièrement utile pour déterminer la structure d'une molécule compliquée qui est difficile à déterminer en utilisant la spectroscopie RMN à une seule dimension.



**Figure II.7.** Modes d'obtention des spectres RMN uni (a) et bidimensionnels (b)  
(Gunther, 2013).

La RMN bidimensionnels est classée, selon la corrélation des deux spins de couplage en :

- méthodes de corrélation par liaison homonucléaire, elles comprennent la spectroscopie de corrélation (COSY), la spectroscopie de corrélation exclusive (ECOSY), la spectroscopie corrélée totale (TOCSY);
- méthodes de corrélation par liaison hétéronucléaire, comprennent la cohérence quantique simple hétéronucléaire (HSQC), la corrélation de liaison multiple hétéronucléaire (HMBC);
- méthodes de corrélation dans l'espace, y compris la spectroscopie nucléaire à effet Overhauser (NOESY) et la spectroscopie nucléaire à effet tournant Overhauser (ROESY).

## Chapitre II

### Techniques de caractérisation & méthodes de modélisation moléculaire

---

#### *a) Méthodes de corrélation par liaison homonucléaire*

L'expérience COSY (COrelated SpectroscopY) par exemple permet d'identifier les protons  $^1\text{H}$  couplés scalairement. Elle permet de mettre en évidence l'existence de couplage spin-spin ou scalaire entre deux protons portés par le même atome de carbone ( $^2\text{J}$ ), entre deux protons portés par des atomes de carbone en position  $\alpha$  ( $^3\text{J}$ ) et entre deux : protons séparés par quatre liaisons chimiques ( $^4\text{J}$ ).

#### *b) Méthodes de corrélation par liaison hétéronucléaire*

Dans ce type d'expériences, il est possible de détecter les carbones directement liés à un proton. Sur la carte HSQC 2D par exemple, les déplacements chimiques des protons sont obtenus dans la première dimension (axe horizontal) et les déplacements chimiques des carbones dans la deuxième dimension (axe vertical). Chaque tache de corrélation indique une connexion entre un carbone et un proton.

#### *c) Méthodes de corrélation dans l'espace (interactions dipolaires)*

L'objectif des expériences de corrélation dipolaire à deux dimensions est de mettre en valeur la proximité de certains noyaux dans l'espace. Le résultat de ce type d'expériences est une carte 2D dont les signaux hors diagonales proviennent de l'effet Overhauser nucléaire, en anglais "Nuclear Overhauser Effect" (NOE) qui présente la description des interactions entre deux spins à travers de l'espace et non pas à travers les liaisons chimiques. Contrairement aux termes de relaxation croisée longitudinale détectés par la NOESY, la ROESY s'intéresse aux termes de relaxation croisée transversale. Notons ici que dans certaines conditions de mobilité moléculaire, les termes de relaxation croisée longitudinale deviennent très faibles voire nuls tandis que les termes de relaxation croisée transversale sont toujours positifs. Les pics de corrélation provenant de l'effet ROE (Rotating Overhauser Effect) sont de signes opposés aux pics de la diagonale et d'intensité non nulle, par contre, les pics de corrélation provenant d'un phénomène d'échange chimique sont de mêmes signes que la diagonale. Les informations dispensées par l'expérience ROESY sont identiques à celles du NOESY, par contre la phase des divers signaux diffère. La séquence ROESY

## Chapitre II

### Techniques de caractérisation & méthodes de modélisation moléculaire

---

est alors complémentaire de la séquence NOESY. Une extension cohérente du principe de la spectroscopie RMN bidimensionnelle a permis l'introduction de la RMN tridimensionnelle (3D) et même quadridimensionnelle (4D). Généralement les techniques expérimentales multidimensionnelles sont précieuses pour l'analyse des spectres des complexes biologiques (peptides, protéines, acides nucléiques) où le chevauchement des signaux rend l'interprétation difficile.

Les avancées spectaculaires des techniques de RMN au cours des dernières années ont conduit à une élucidation structurale beaucoup plus détaillée des CDs et de leurs complexes (Morin-Crini *et al.*, 2015 ; Ferro *et al.*, 2016). Ces tâches représentent un défi fascinant pour les spectroscopistes RMN compte tenu de la complexité des systèmes étudiés. L'environnement magnétique des atomes constituant les molécules intervenant dans le processus de complexation se trouve modifié, ces modifications peuvent être mesurées par spectrométrie RMN (Lis-Cieplak *et al.*, 2014).

#### II.1.5. Modèles de calcul de la constante d'association

La constante d'association ( $K_a$ ) du complexe d'inclusion peut être déterminée par différentes méthodes telles que la spectroscopie d'absorption, la fluorescence et la résonance magnétique nucléaire (RMN). La détermination de  $K_a$  se fait par des méthodes graphiques permettant d'avoir une relation linéaire ou non linéaire entre la propriété observable  $P_{obs}$  (Absorbance pour la spectrophotométrie UV-Visible, l'intensité pour la fluorescence et le déplacement chimique pour la RMN) et  $K_a$ .

##### II.1.5.1. Modèles linéaires

Les représentations graphiques linéaires proviennent de l'équation proposée par Benesi et Hildebrand (1949). Cette approche permet de déterminer graphiquement la constante  $K_a$  dans le cas d'un complexe de stœchiométrie 1:1, tenant en compte la condition que l'un des deux composés soit en très large excès par rapport à l'autre et qu'un seul composé est observé expérimentalement. Le cas le plus courant est de considérer que  $[G]_t \ll [CD]_t$  si l'invité est observé.

En supposant qu'un complexe de stœchiométrie 1:1 est formé entre une CD et une molécule invitée, l'équilibre chimique suivant a lieu.

## Chapitre II

### Techniques de caractérisation & méthodes de modélisation moléculaire

---



La constant d'association  $K_a$  peut être écrite comme:

$$K_a = \frac{[G:CD]}{[G][CD]} \quad (\text{II.8})$$

avec

$$[G] = [G]_t - [G:CD] \quad (\text{II.9})$$

$$[CD] = [CD]_t - [G:CD] \quad (\text{II.10})$$

où  $[CD]_t$  est la concentration initiale (totale) de la molécule hôte,  $[G]_t$  est la concentration initiale (totale) de la molécule invitée.  $[CD]$ ,  $[G]$ ,  $[CD-G]$  sont les concentrations d'équilibre de l'hôte, de l'invité et du complexe, respectivement.

Les propriétés observables sont exprimées comme suit :

$$P_{obs} = X_G P_G + X_{CD-G} P_{CD-G} \quad (\text{II.11})$$

$$[G:CD] = \frac{\Delta P_{(G)obs}}{\Delta P_{(G)c}} \cdot [G]_t \quad (\text{II.12})$$

La combinaison de ces équations conduit à l'équation II.13

$$\Delta P_{(G)obs} = \frac{K_a [CD]_t \Delta P_{(G)c}}{1 + K_a \cdot [CD]_t} \quad (\text{II.13})$$

Ou bien encore

$$\frac{1}{\Delta P_{obs}} = \frac{1}{\Delta P_{(G)c} \cdot K_a [CD]_t} + \frac{1}{\Delta P_{(G)c}} \quad (\text{II.14})$$

avec  $\Delta P_{obs} = P_{obs} - P_G$  et  $\Delta P_{(G)c} = P_{CD-G} - P_G$

Si on trace la courbe  $1/\Delta P_{obs}$  en fonction de  $1/[CD]_t$ , on obtient une droite de pente

$\frac{1}{K_a \cdot \Delta P_{(G)c}}$  et  $1/\Delta P_{(G)c}$  est l'ordonnée à l'origine.

Pour la spectroscopie UV-vis où la propriété observable mesurée est l'absorbance de la molécule invitée en absence et en présence de différentes concentrations en CD. La constante d'association peut être alors déterminée en utilisant l'équation suivante:

$$\frac{1}{\Delta A} = \frac{1}{\Delta \varepsilon [G]_0 [CD]_0 K_a} + \frac{1}{\Delta \varepsilon [CD]_0} \quad (\text{II.15})$$

## Chapitre II

### Techniques de caractérisation & méthodes de modélisation moléculaire

---

Où  $\Delta A$ ,  $\Delta \epsilon$  et  $K_a$  représentent respectivement la variation de l'absorbance, la variation du coefficient d'extinction molaire et la constante d'association.

La fluorimétrie est utilisée pour déterminer  $K_a$  en se basant sur la mesure de l'intensité de fluorescence de la molécule invitée comme propriété observable, sachant que les CDs ne sont pas fluorescents. L'équation de Benesi-Hildebrand est reformulée alors comme suit:

$$\frac{1}{\Delta I_{obs}} = \frac{1}{\Delta I_c \cdot K_a \cdot [CD]_t} + \frac{1}{\Delta I_c} \quad (\text{II.16})$$

Où  $\Delta I_{obs}$ ,  $\Delta I_c$  et  $K_a$  représentent respectivement la variation de l'intensité de fluorescence en présence et en absence de la CD, la variation de l'intensité de fluorescence dans le cas où la totalité des molécules invitées sont complexées et la constante d'association.

La résonance magnétique nucléaire permet non seulement de prévoir l'architecture du complexe d'inclusion mais également l'évaluation de sa constante de formation. Les études RMN pour déterminer la constante d'association s'effectuent le plus souvent à partir des déplacements chimiques. Trois modèles sont utilisés :

- la première équation proposée indépendamment par Mathur et collaborateurs (1963), Hanna et Ashbaugh (1964) dérivante de celle de Benesi– Hildebrand.

$$\frac{1}{\Delta \delta_{obs}} = \frac{1}{K_a \cdot \Delta \delta_c \cdot [CD]_t} + \frac{1}{\Delta \delta_c} \quad (\text{II.17})$$

- Le modèle de Foster et Fyfe (1965)

$$\frac{\Delta \delta_{obs}}{[CD]_t} = -K_a \cdot \Delta \delta_{obs} + K_a \cdot \Delta \delta_c \quad (\text{II.18})$$

- L'approche proposée par Scott (1956)

$$\frac{[CD]_t}{\Delta \delta_{obs}} = \frac{[CD]_t}{\Delta \delta_c} + \frac{1}{K_a \cdot \Delta \delta_c} \quad (\text{II.19})$$

avec  $\Delta \delta$  et  $K$  représentent respectivement la variation du déplacement chimique et la constante d'association.



**II.1.5.2. Modèles non linéaires**

Plusieurs modèles non linéaires, correspondants aux différentes techniques de caractérisation, sont utilisés pour déterminer la constante d'association. Les modèles les plus courants sont ceux proposés pour la spectrophotométrie UV-vis et pour la fluorescence.

**a) Modèles non linéaires pour la spectrophotométrie UV-vis**

Deux modèles sont construits pour la spectrophotométrie UV-vis. Le premier donne la variation de l'absorbance en fonction de la concentration de la CD selon le développement suivant :

$$K = \frac{[CD-G]}{([CD]_t - [CD-G])([G]_t - [CD-G])} \quad (\text{II.20})$$

Il est bien connu que l'absorbance ou densité optique est proportionnelle à la concentration du chromophore absorbant, donc l'absorbance observée pour un système constitué d'espèces CD, molécule invitée et complexes est exprimée par:

$$A_{abs} = A_{CD} + A_G + A_{CD-G} \quad (\text{II.21})$$

$A_{CD}$ ,  $A_G$  et  $A_{CD-G}$  représentent respectivement l'absorbance de la CD, de la molécule invitée et du complexe. Les absorbances de ces espèces sont exprimées comme suit.

$$A_0 = \varepsilon_G [G]_0 \quad (\text{II.22})$$

$$A_{CD} = \varepsilon_{CD} ([CD]_0 - [CD-G]) \quad (\text{II.23})$$

$$A_G = \varepsilon_G ([G]_0 - [CD-G]) \quad (\text{II.24})$$

$$A_{CD-G} = \varepsilon_{CD-G} [CD-G] \quad (\text{II.25})$$

où  $A_0$  représente l'absorbance de la molécule invitée en l'absence de CD et  $A_{CD}$ ,  $A_G$  et  $A_{CD-G}$  sont les absorbances de la CD, de la molécule invitée et du complexe dans la solution. En supposant que la CD n'absorbe pas la lumière dans le domaine proche UV-Visible, la combinaison des équations II.20 à II.25 donne l'équation (II.26) qui relie la variation de l'absorbance et la concentration de la CD.

## Chapitre II

### Techniques de caractérisation & méthodes de modélisation moléculaire

---

$$\Delta A = [\varepsilon_G - \varepsilon_{CD-G}] \left[ \begin{array}{l} \left( [G]_0 + [CD]_0 + \frac{1}{K} \right) \\ - \sqrt{\left( \left( [G]_0 + [CD]_0 + \frac{1}{K} \right)^2 - 4[G]_0[G]_0 \right)} \end{array} \right] \quad (\text{II.26})$$

où  $\Delta A$ ,  $\Delta\varepsilon$ ,  $K$ ,  $[G]$  et  $[CD]$  représentent respectivement la variation de l'absorbance, la variation du coefficient d'extinction molaire, la constante d'association, la concentration de la molécule invitée et la concentration de la molécule hôte (CD).

Le second modèle est proposé par Merino et collaborateurs (2000) qui exprime la variation de la longueur d'onde d'absorption en fonction de la concentration de la CD, dont le formalisme est donné comme suit :

La longueur d'onde observée est exprimée comme:

$$\lambda_{obs} = X_G \lambda_G + X_{CD-G} \lambda_{CD-G} \quad (\text{II.27})$$

où  $\lambda$  et  $X$  représentent, respectivement, la longueur d'onde et la fraction molaire de chaque espèce absorbante en solution, avec :

$$X_G = \frac{[G]}{[G]_0}$$

$$X_{CD-G} = \frac{[CD-G]}{[G]_0}$$

Cinq équations peuvent être alors se produites, (Eqs II. (28-32)), pour obtenir l'équation finale (II.33), qui relie la variation de la longueur d'onde à la constante d'équilibre  $K$ .

$$\lambda_{obs} = \frac{[CD-G]}{[G]_0} \lambda_{CD-G} + \frac{[G]}{[G]_0} \lambda_G \quad (\text{II.28})$$

$$\lambda_{obs} = \frac{[CD-G]}{[G]_0} \lambda_{CD-G} + \frac{[G]_0 - [CD-G]}{[G]_0} \lambda_G \quad (\text{II.29})$$

$$\lambda_{obs} = \frac{[CD-G]}{[G]_0} (\lambda_{CD-G} - \lambda_G) + \lambda_G \quad (\text{II.30})$$

$$\Delta\lambda = \lambda_{obs} - \lambda_G = \frac{[CD-G]}{[G]_0} \Delta\lambda_{max} \quad (\text{II.31})$$

$$\Delta\lambda = \Delta\lambda_{max} \frac{K[CD][G]}{[G] + [CD-G]} \quad (\text{II.32})$$

## Chapitre II

### Techniques de caractérisation & méthodes de modélisation moléculaire

---

$$\Delta\lambda = \frac{\Delta\lambda_{\max} K[CD]}{1 + K[CD]} \quad (\text{II.33})$$

où  $\lambda_{obs}$ ,  $\lambda_G$ ,  $\Delta\lambda_{max}$  et  $K$  correspondent respectivement aux longueurs d'onde du complexe, longueurs d'onde de la molécule invitée libre, le décalage maximum de la longueur d'onde qui correspond à la complexation totale de la molécule invitée et  $K$  est la constante d'association.

#### b) *Modèle non linéaire pour la spectroscopie de fluorescence*

Pour la spectroscopie de fluorescence, le modèle proposé pour calculer  $K_a$  consiste à exprimer l'intensité de fluorescence en fonction de la concentration de la CD selon le développement suivant :

L'intensité de la lumière émise est donnée par :

$$I = 2,3I_0 \cdot \Phi_F \cdot \varepsilon \cdot C \cdot l \quad (\text{II.34})$$

Où  $\Phi_F$ ,  $\varepsilon$ ,  $C$ ,  $l$ ,  $I$  et  $I_0$  représentent respectivement le rendement quantique, le coefficient d'extinction molaire (Reflète la probabilité d'absorption d'une molécule à une longueur d'onde donnée), la concentration de l'espèce fluorescente en solution, la largeur de la cuve, l'intensité de la lumière émise et l'intensité de la lumière incidente.

Dans le cas de complexe d'inclusion (host-guest) ou (CD-Guest), l'intensité de la lumière émise en présence et en absence de la CD est donnée par :

$$I = 2,3 \cdot l \cdot I_0 \cdot \Phi_F^{CD-G} (\varepsilon_{CD-G} \cdot C_{CD-G} + \varepsilon_G \cdot C_G) \quad (\text{II.35})$$

et

$$I_{G_0} = 2,3 \cdot l \cdot I_0 \cdot \Phi_F^G (\varepsilon_G \cdot C_{G_0}) \quad (\text{II.36})$$

Le rapport  $I/I_{G_0}$  représente l'intensité observable.

$$\frac{I}{I_{G_0}} = \frac{2,3 \cdot l \cdot I_0 \cdot \Phi_F^{CD-G} (\varepsilon_{CD-G} \cdot C_{CD-G} + \varepsilon_G \cdot C_G)}{2,3 \cdot l \cdot I_0 \cdot \Phi_F^G (\varepsilon_G \cdot C_{G_0})} \quad (\text{II.37})$$

$$\frac{I}{I_{G_0}} = \frac{\Phi_F^{CD-G} (\varepsilon_{CD-G} \cdot C_{CD-G} + \varepsilon_G (C_{G_0} - C_{CD-G}))}{\Phi_F^G (\varepsilon_G \cdot C_{G_0})} \quad (\text{II.38})$$

## Chapitre II

### Techniques de caractérisation & méthodes de modélisation moléculaire

---

Avec

$$\Phi_F \cdot \varepsilon = k, \quad \Phi_F = \frac{\text{nombre de photons émis}}{\text{nombre de photons absorbés}}$$

Où  $k$  représente la brillance, Elle exprime donc à la fois l'efficacité (rendement quantique) et la capacité à absorber l'énergie (coefficient d'extinction molaire) d'un fluorophore. D'une manière générale un fluorophore possédant une brillance élevée sera privilégié pour des applications en biologie puisqu'il pourra être utilisé à de faibles concentrations.

Après réarrangement, nous obtenons l'équation qui relie l'intensité de fluorescence en fonction de la concentration de la CD (Eq. II.39).

$$\frac{I}{I_{G_0}} = \frac{\frac{k_{CD-G}}{k_G} K[CD]}{1 + K[CD]} \quad (\text{II.39})$$

## Chapitre II

### Techniques de caractérisation & méthodes de modélisation moléculaire

---

#### II.2. Les méthodes de modélisation moléculaire

##### II.2.1. Introduction

Le développement des méthodes de chimie quantiques ou des méthodes basées sur des lois de mécanique classique est accompagné par un progrès important des moyens informatiques, ce qui a permis la naissance d'une nouvelle discipline permettant à tout chimiste de mieux appréhender les problèmes liés au domaine moléculaire: c'est la modélisation moléculaire. La modélisation moléculaire implique l'utilisation de méthodes des calculs théoriques (mécanique moléculaire, dynamique moléculaire, mécanique quantique ...) afin de déterminer la représentation graphique de la géométrie ou la configuration des atomes constituant une molécule et d'évaluer ses propriétés physico-chimiques. La modélisation s'impose souvent lorsque l'expérience réelle est trop difficile, trop dangereuse, trop coûteuse, trop longue ou trop rapide ou même impossible à réaliser.

Les méthodes de modélisation moléculaire permettent d'apporter des précisions, voire des réponses dans le domaine de la chimie supramoléculaire et notamment dans la description des phénomènes de complexation et elles commencent à prendre leur position à côté des techniques expérimentales. La contribution des méthodes de modélisation classique telles que la mécanique ou la dynamique moléculaire et les méthodes de chimie quantique dans l'étude des réactions de complexation des molécules d'intérêt pharmaceutique ou médicinale par des CDs a connu une avancée remarquable avec le développement des outils informatiques. En effet un nombre assez important d'articles a été publiés dans ce contexte (Stachowicz *et al.*, 2011 ; Attoui Yahia *et al.*, 2017 ; Touadjine *et al.*, 2017 ; Yang *et al.*, 2019).

##### II.2.2. Les méthodes de chimie quantique

Les méthodes de la chimie quantique sont des techniques permettant la résolution approchée de l'équation de Schrödinger des états stationnaires (eq. II.40).

$$\hat{H}\Psi = E\Psi \quad (\text{II.40})$$

## Chapitre II

### Techniques de caractérisation & méthodes de modélisation moléculaire

---

Plusieurs approximations ont été élaborées pour résoudre cette équation, ce qui justifie l'existence de plusieurs méthodes de calcul.

#### II.2.2.1. Les méthodes *Ab initio*

Les méthodes dites *ab initio* sont basées sur les lois de la mécanique quantique, elles utilisent la fonction d'onde pour décrire les systèmes quantiques. Aucune approximation n'a été faite sur le hamiltonien et la totalité des électrons de la molécule sont pris en compte. La seule approximation utilisée réside dans la construction de la fonction d'onde à partir de déterminants de Slater et que la taille de la base d'orbitales atomiques utilisées est une combinaison linéaire des orbitales atomiques (LCAO). Ces méthodes ne comportent pas des paramètres expérimentaux ou empiriques à part les données usuelles de chimie physique. Les méthodes *ab initio* comprennent la méthode Hartree-Fock (HF) et les méthodes post-HF.

##### II.2.2.1.1. La méthode *Hartree-Fock* (HF)

La méthode Hartree-Fock (HF) est le point de départ de nombreux calculs de chimie quantique. Son principe consiste à remplacer la répulsion instantanée entre électrons par la répulsion moyenne entre un électron du système poly-électroniques et la totalité des autres électrons (champ moyen créé par les autres électrons et les noyaux immobiles). L'idée de cette méthode a été inspirée en premier lieu par Hartree en 1928 et développée ensuite par Fock (1930), ce dernier a montré comment formuler une méthode "self-consistent" se servant d'un déterminant de Slater comme fonction d'onde (eq. II.41):

$$\Phi_{HF}(1,2, \dots, 2N) = \frac{1}{\sqrt{(2N)!}} \begin{vmatrix} \varphi_1\alpha_1 & \varphi_1\beta_1 & & \varphi_n\beta_1 \\ \varphi_1\alpha_2 & \varphi_1\beta_2 & & \varphi_n\beta_2 \\ & & & \\ \varphi_1\alpha_{2n} & \varphi_1\beta_{2n} & & \varphi_n\beta_{2n} \end{vmatrix} \quad (\text{II.41})$$

Dans le cas des systèmes à couches fermées, les équations de Hartree-Fock ont été simplifiées en ne prenant en compte que les orbitales spatiales  $\varphi$ .

## Chapitre II

### Techniques de caractérisation & méthodes de modélisation moléculaire

---

$$\hat{F}(1) \varphi_i(1) = \varepsilon_i \varphi_i(1) \quad (\text{II.42})$$

Où  $\varepsilon_i$  désigne l'énergie de l'orbitale  $\varphi_i$  et  $F(1)$  est l'opérateur de Fock de l'électron (1) défini par la relation:

$$\hat{F}(1) = \hat{h}(1) + \sum_{j=1}^{n/2} [2\hat{J}_j(1) - \hat{K}_j(1)] \quad (\text{II.43})$$

$\hat{h}(1)$  est l'opérateur de cœur, il prend en compte l'énergie cinétique de l'électron 1 et son interaction avec les noyaux:

$$\hat{h}(1) = \frac{-1}{2} \nabla_1^2 - \sum_{A=1}^N \frac{Z_A}{r_{1A}} \quad (\text{II.44})$$

$Z_A$  représente la charge nucléaire du noyau A, N est le nombre d'atomes et  $r_{1A}$  étant la distance entre l'électron 1 et le noyau A.

Les termes  $\hat{J}_j$  et  $\hat{K}_j$  représentent respectivement l'opérateur de coulomb et l'opérateur d'échange, avec :

$$\hat{J}_j \varphi_i(1) = \varphi_i(1) \int d r_2 \frac{\varphi_j^*(2) \varphi_j(2)}{r_{12}} \quad (\text{II.45})$$

$$\hat{K}_j \varphi_i(1) = \varphi_j(1) \int d r_2 \frac{\varphi_j^*(2) \varphi_i(2)}{r_{12}} \quad (\text{II.46})$$

L'énergie d'un système à couche fermée s'écrit comme :

$$E = 2 \sum_{i=1}^{n/2} H_{ii} + \sum_i^{n/2} \sum_j^{n/2} (2J_{ij} - K_{ij}) \quad (\text{II.47})$$

$H_{ii}$  représente l'énergie d'un électron situé dans une orbitale  $\varphi_i$  placé dans le champ des noyaux,

$J_{ij}$  est l'intégrale de coulomb, représente l'énergie potentielle de répulsion moyenne exercée par un électron situé dans l'orbitale  $\Phi_j$  sur l'électron i,

$K_{ij}$  est l'intégrale d'échange, provient de la nécessité d'antisymétriser la fonction d'onde. Ce terme est une conséquence directe du principe de Pauli et conduit à une valeur d'énergie plus basse, donc à une stabilisation.

## Chapitre II

### Techniques de caractérisation & méthodes de modélisation moléculaire

---

Les équations de Hartree-Fock sont un jeu d'équations intégral-différentielles, elles ne peuvent être résolues que par une méthode itérative. Ce processus consiste à choisir un jeu d'orbitales d'essais, l'opérateur de Fock est ensuite construit et le système d'équations monoélectroniques est résolu de façon à obtenir un nouveau jeu d'orbitales. Cette procédure est appelée méthode du champ auto-cohérent SCF (Self Consistent Field) car les itérations sont poursuivies jusqu'à ce que le champ électrique ressenti par un électron reste stationnaire (convergence).

Cependant, les équations de Hartree-Fock ne pouvant être résolues rigoureusement que pour des atomes dans l'hypothèse d'une distribution électronique globale sphérique, ce qui les rend inadéquates pour un bon nombre d'applications. Des développements supplémentaires sont alors exigés notamment dans le cas des systèmes poly-atomiques (molécules), dont la géométrie n'est plus sphérique. L'approximation la plus populaire est celle proposée par Mulliken (1935) et consiste à construire un jeu limité d'orbitales atomiques  $\Phi_\mu$  qui constituera la base sur laquelle seront développées les orbitales moléculaires  $\Psi_i$  : c'est l'approximation « LCAO » (eq. II.48).

$$\Psi_i = \sum c_{\mu i} \phi_\mu \quad (\text{II.48})$$

Où  $c_{\mu i}$  sont les coefficients des orbitales atomiques  $\phi_\mu$  servant comme base pour le développement de l'orbitale moléculaire  $\Psi_i$ .

Grace aux travaux de Hall et Roothaan (1951) que la résolution approchée de l'équation de Schrödinger pour les molécules est devenue possible. Ils ont démontré qu'en introduisant un jeu de fonctions spatiales connues, les équations intégral-différentielles peuvent être transformées en un système d'équations algébriques et ainsi résolues en utilisant la méthode habituelle des matrices. Les nouvelles équations que l'on obtient dans cette approximation sont les équations de Hartree-Fock-Roothaan, définies par :

$$FC = SC\varepsilon \quad (\text{II.49})$$

où  $C$  est la matrice des coefficients du développement,  $\varepsilon$  est la matrice diagonale contenant les énergies mono-électroniques de chaque orbitale,  $F$  est la matrice de Fock avec les éléments de matrice suivants:

$$F_{\mu\nu} = \int \phi_\mu F \phi_\nu d\tau \quad (\text{II.50})$$



## Chapitre II

### Techniques de caractérisation & méthodes de modélisation moléculaire

---

S est la matrice de recouvrement dont les éléments sont définies par:

$$S_{\mu\nu} = \int \phi_{\mu} \phi_{\nu} d\tau \quad (\text{II.51})$$

L'équation (II.49) est résolue d'une manière analogue à celle utilisée dans les équations HF (processus SCF).

#### II.2.2.1.2. Les méthodes post Hartree-Fock (Post-HF)

L'utilisation de la méthode Hartree-Fock permet de récupérer ~99% de l'énergie ; c'est la limite Hartree-Fock. Néanmoins, le ~1% restant est souvent cruciaux pour décrire les phénomènes chimiques, comme par exemple la formation de liaisons. La différence d'énergie entre l'énergie exacte non-relativiste et l'énergie de Hartree-Fock est appelée l'énergie de corrélation électronique, définie selon Löwdin (Rivail, 1999 ; Löwdin, 1995) par:

$$E_{corr} = E_{exacte} - E_{HF} \quad (\text{II.52})$$

Cette quantité d'énergie résulte de l'interaction instantanée entre électrons et plus particulièrement entre ceux de spins opposés occupant la même région de l'espace.

Des techniques approximatives basées sur la théorie HF et servent à calculer l'énergie de corrélation sont appelées les méthodes post-Hartree-Fock. Deux familles de méthodes post-HF ont été développées : une méthode de type 'perturbatif' qui s'appuie sur une approche mono-déterminante (méthodes des perturbations Moller-Plesset (1934) aux différents ordres (MP2, MP3, MP4 et MP6) ; la méthode qui sera développée dans ce document. La deuxième famille des méthodes Post-HF est l'interaction de configurations qui prend en compte plusieurs déterminants de Slater et qui est basée sur le principe variationnel (Hehre *et al.*, 1986). Ces méthodes produisent de meilleurs résultats par rapport aux calculs HF, tandis que le supplément de précision entraîne un coût de calcul supplémentaire en terme du temps.

L'idée principale de la méthode des perturbations a été publiée en premier lieu par Rayleigh (1894), son principe consiste à décomposer l'hamiltonien en deux termes :

- un hamiltonien du système non perturbé  $\hat{H}^{(0)}$ , dont les fonctions propres et les valeurs propres sont connues,
- une partie perturbée  $\lambda V$  supposée petite devant  $\hat{H}^{(0)}$ .

## Chapitre II

### Techniques de caractérisation & méthodes de modélisation moléculaire

---

Les travaux de Moller-Plesset (1934) ont permis d'apporter l'effet de la corrélation électronique au moyen de la théorie des perturbations de Rayleigh-Schrödinger. Dans l'approche de Møller et Plesset, l'Hamiltonien  $H$  s'écrit comme:

$$\hat{H} = \hat{F} + \hat{V} \quad (\text{II.53})$$

$\hat{F}$  étant ici l'opérateur de Fock et  $V$  est un champ électrique externe faible.

La méthode de calcul MP1 est identique à la méthode HF, car elle ne comporte pas de terme de correction. La méthode MP2 ajoute un terme de perturbation à l'hamiltonien dépendant des états doubles excités possibles du système. La méthode de calcul MP3 ajoute à la méthode MP2 une correction par l'addition d'états triplets excités à l'énergie électronique. La méthode de calcul MP4 est la correction maximale acceptable en comparant la validité de l'énergie électronique du système obtenue au temps de calcul associé à l'ajout des termes de correction. La méthode de calcul MP2 est la méthode la plus utilisée parmi les MPn car la plus grande partie de l'énergie de corrélation est déjà contenue dans ce terme correctif. Dans ce niveau, l'énergie totale s'écrit alors :

$$E_{tot} = E_{HF} + E_{corr}^{(2)} \quad (\text{II.54})$$

$$E_{corr}^{(2)} = \frac{1}{4} \sum_{i \neq j} \sum_{a \neq b} \frac{\langle \varphi_i \varphi_j | \frac{1}{r_{12}} | \varphi_a \varphi_b \rangle \langle \varphi_a \varphi_b | \frac{1}{r_{12}} | \varphi_i \varphi_j \rangle - \langle \varphi_i \varphi_j | \frac{1}{r_{12}} | \varphi_a \varphi_b \rangle \langle \varphi_a \varphi_b | \frac{1}{r_{12}} | \varphi_j \varphi_i \rangle}{E_i + E_j - E_a - E_b} \quad (\text{II.5})$$

5)

où  $\varphi_i$  et  $\varphi_j$  étant les orbitales occupées,  $\varphi_a$  et  $\varphi_b$  sont les orbitales virtuelles,  $E_i$ ,  $E_j$ ,  $E_a$  et  $E_b$  sont les énergies des orbitales associées.

Afin de mettre en œuvre le modèle LCAO, il est nécessaire d'approcher les orbitales atomiques réelles par des fonctions mathématiques, ce sont les fonctions de base. Deux types de fonctions sont principalement employés : les orbitales de type Slater 'STO' (Slater Type Orbital) décrites par Davidson et Feller (1986) et les orbitales gaussiennes 'GTO' décrites par Shavitt (1993). Les orbitales STO, inspirées

## Chapitre II

### Techniques de caractérisation & méthodes de modélisation moléculaire

---

des solutions exactes de l'équation de Schrödinger pour les ions hydrogénoïdes, sont définies par :

$$S_{n,l,m}(\vec{r}) = Nr^{n-1}e^{-\zeta r}y_{lm}(\theta, \varphi) \quad (\text{II.56})$$

$n$ ,  $l$ ,  $m$  sont respectivement les nombres quantiques principal, orbitale et magnétique.  $N$  est une constante de normalisation,  $\zeta$  est le coefficient de l'orbitale et  $Y_{lm}$  sont les harmoniques sphériques. Toutefois, la résolution des équations avec ce type d'orbitale ne peut se faire que de façon numérique ce qui entraîne des imprécisions et un coût du calcul important. Pour simplifier les calculs, des fonctions gaussiennes, notées GTO (Gaussian Type Orbital), sont utilisées. Ce type de fonctions a été proposé par Boys (1950) et leur expression est de la forme :

$$G_{n,l,m}(\vec{r}) = Nx^ny^mz^le^{-\alpha r^2} \quad (\text{II.57})$$

$\alpha$  une constante qui spécifie la taille ou l'extension spatiale de la fonction gaussienne.

Il existe différents jeux de fonctions pour décrire les orbitales atomiques ou plus précisément les électrons totaux du système moléculaire, ces jeux constituent les bases d'orbitales atomiques et deux types de base seront discutés dans ce manuscrit :

#### ➤ *Bases minimales (STO-nG)*

Une base minimale comprend le plus petit nombre de fonctions possibles permettant la description de tous les électrons des atomes neutres. Dans ces bases, les orbitales de cœur et de valence comprennent le même nombre de gaussiennes primitives. Le sigle «nG» signifie que les orbitales de type Slater (STO) sont représentées par  $n$  fonctions gaussiennes. Ces bases sont d'usage rare car elles ne permettent pas de bien décrire toute la région de l'espace entourant les atomes notamment dans le cas des éléments chimiques possédant des électronégativités distinctes.

#### ➤ *Bases à valence séparée (split valence)*

Dans ce type de bases, deux jeux différents de fonctions gaussiennes sont utilisés pour décrire la patrie électronique proche du noyau et la zone éloignées des noyaux. La notation des bases à valence séparée vient de l'équipe de John Pople

## Chapitre II

### Techniques de caractérisation & méthodes de modélisation moléculaire

---

(1971), elle est de type  $x-yz...G$ . Ce type de base permet de bien décrire la liaison chimique.

Pour une plus grande flexibilité de la base, on peut rajouter des fonctions de polarisation, permettant une description fine des systèmes plus ou moins polarisés. D'autre type de fonctions dites fonctions diffuses peuvent être également rajoutées à la base pour traiter les régions éloignées des noyaux notamment dans le cas des anions ou la présence d'atomes possédant des doublets non liants.

#### II.2.2.2. Les méthodes semi empiriques

L'un des problèmes majeurs des calculs *ab initio* est le nombre élevé d'intégrales biélectroniques à évaluer, limitant ainsi les études à des systèmes comportant un nombre réduit d'atomes. Ce problème est contourné en développant des méthodes dites semi-empiriques qui réduisent de manière importante le nombre des intégrales à calculer (voir tableau II.3). Les erreurs introduites en utilisant les modèles semi empiriques sont compensées par l'introduction de paramètres tirés de l'expérience. Ces méthodes ne constituent qu'un ensemble de compromis et ne donnent pas des résultats qualitatifs, en particulier lorsque les composés étudiés sont très différents des composés de références.

**Tableau II.3.** Nombre d'intégrales calculées pour le propane (Rivail, 1999)

Intégrales	Ab Initio (base minimale)	MNDO	INDO	CNDO
1 centre	368	173	26	11
2 centres	6652	568	55	55
3, 4 centres	31206	0	0	0

Les méthodes semi-empiriques développées sont fondées sur les approximations suivantes :

a) la base d'orbitales atomiques utilisée est constituée uniquement par les orbitales de la couche de valence,

## Chapitre II

### Techniques de caractérisation & méthodes de modélisation moléculaire

---

b) les intégrales de recouvrement sont négligées dans la résolution des équations de Roothaan : on parle ici de l'approximation ZDO, dans laquelle on néglige tous les produits de fonctions de base dépendant de la même coordonnée électronique si ces fonctions sont localisées sur des atomes différents A et B, c'est-à-dire

$$\int \varphi_A(i) \cdot \varphi_B(i) = 0 \quad (\text{II.58})$$

c) les termes non diagonaux de l'hamiltonien de cœur  $H_{\mu\nu}$  sont estimés au moyen des relations empiriques qui reposent sur l'hypothèse que ces intégrales sont proportionnelles à l'intégrale de recouvrement des orbitales atomiques concernées,

d) toutes les intégrales biélectroniques à trois ou quatre centres sont supposées nulles, ce qui nécessite d'introduire des paramètres pour compenser ces approximations et obtenir des résultats raisonnables. Certaines intégrales biélectroniques à un ou deux centres sont également négligées et leur nombre ou leur nature différencie les méthodes semi-empiriques.

De nombreuses méthodes semi-empiriques ont été développées et basées sur ces approximations : citons les méthodes MNDO, AM1, PM3, PM6 et PM7. L'avantage majeur de ces méthodes est la rapidité des calculs mais cela n'est pas en faveur de la qualité de la description énergétique. Ces méthodes utilisent un jeu réduit de fonctions de base (une seule fonction par orbitale atomique). Parmi les méthodes semi-empiriques les plus utilisées, citons celle nommée Parametrized Model 3 (PM3), développés par Stewart en 1989, dans laquelle, la paramétrisation atomique a été effectuée sur un large groupe d'éléments (500 composés) y compris certains éléments du groupe d. Cette méthode a été améliorée donnant naissance de deux méthodes :

MP3MM : méthode MP3 auquel a été introduit des paramètres de la mécanique moléculaire pour améliorer la description de certaines liaisons,

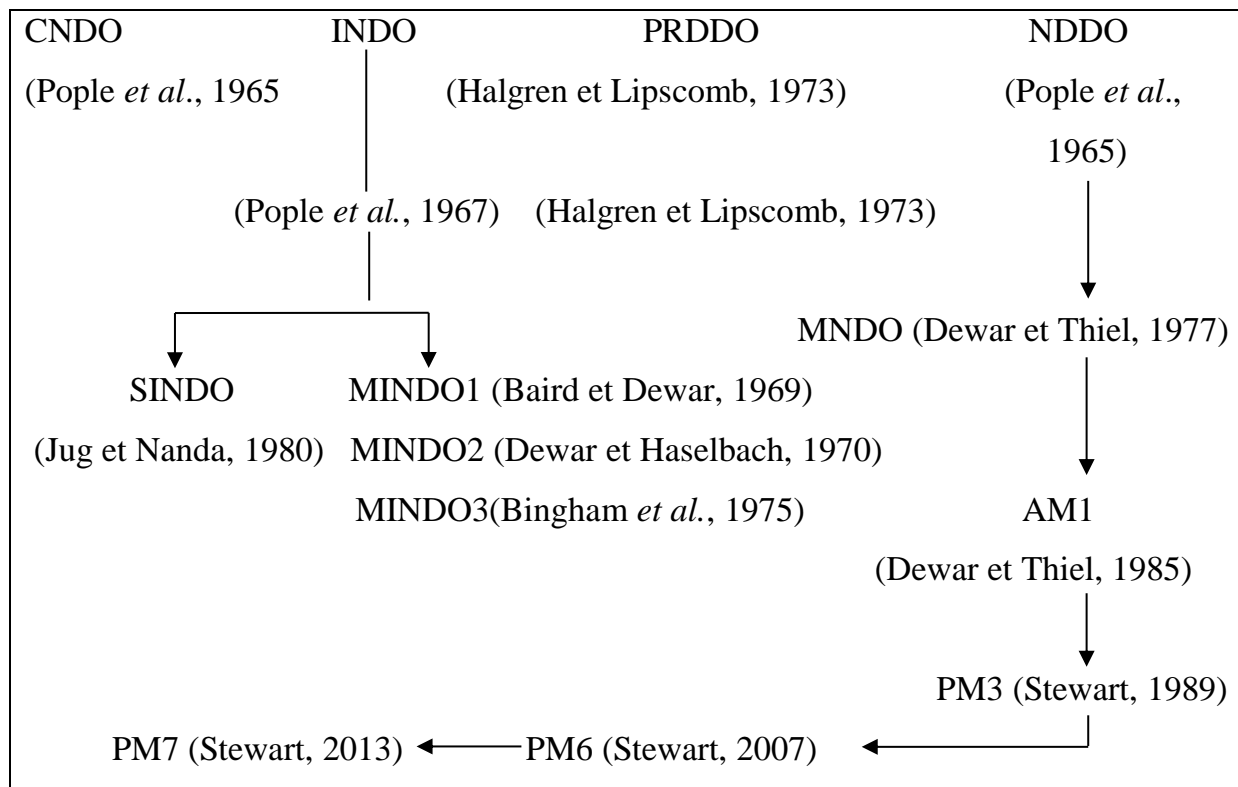
PM3-PIF (Parametrized Interaction Functions) : développée en 2000 par Bernal-Uruchurtu et Ruiz-Lopez (2000) pour corriger la répulsion cœur-cœur.

Une autre méthode semi-empirique s'appuyant sur MP3 est nommée PM6, auquel a été incorporé un nouveau paramétrage cœur-cœur avec un accent sur les composés d'intérêt biologique (Stewart, 2007). Environ 9000 composés ont été utilisés pour développer la nouvelle méthode PM6 à partir de PM3. L'incorporation des effets de

## Chapitre II

### Techniques de caractérisation & méthodes de modélisation moléculaire

dispersion et de liaison hydrogène passe par l'ajout de fonctions empiriques, c'est le cas du modèle le plus récent 'PM7'. Les principales méthodes semi empiriques sont rassemblées dans la figure II.8.



**Figure II.8.** Principales méthodes semi-empiriques

#### II.2.2.3. La théorie de la fonctionnelle de la densité (DFT)

L'objectif principale de la théorie de la fonctionnelle de la densité DFT (Density Functional Theory) est de remplacer la fonction d'onde multiélectronique  $\Psi$  par la densité électronique  $\rho(r)$  en tant que variable de base pour les calculs parce que la complexité de la fonction d'onde augmente avec le nombre des variables, néanmoins la densité est seulement fonction de trois variables. Le but de la DFT est de trouver une fonctionnelle permettant de connecter la densité avec l'énergie. Une autre simplification du calcul découle du fait que la DFT n'exige qu'une minimisation du potentiel d'énergie  $E[\rho(r)]$  au lieu de chercher la solution exacte de l'équation de Schrödinger comme le cas des méthodes *Ab initio*.

La DFT constitue actuellement l'une des approches les plus utilisées dans les calculs de chimie quantique de la structure électronique de la matière. Cette théorie trouve ces

## Chapitre II

### Techniques de caractérisation & méthodes de modélisation moléculaire

---

origines dans le modèle développé par Thomas et Fermi (Thomas, 1927 ; Fermi, 1927) à la fin des années 20 du dernier siècle, néanmoins il fallait attendre jusqu'à l'année 1964 ; date des deux théorèmes de Hohenberg et Kohn qui constituent le formalisme théorique sur lequel repose cette méthode de calcul. Hohenberg et Kohn ont montré qu'un système quantique, dans son état fondamental, peut être défini uniquement à l'aide de la densité électronique. Ceci vient du fait qu'il existe une correspondance entre la densité électronique et le potentiel externe (créé par les noyaux ou tout autre phénomène extérieur). On peut donc écrire l'énergie et, par extension, toutes les grandeurs physiques comme des fonctionnelles de la fonction  $\rho(r)$ , en séparant les termes selon leur dépendance du potentiel externe.

$$E[\rho] = \int \rho(r)V_{ext} dr + T[\rho] + E_{ee} [\rho] \quad (\text{II.59})$$

Le premier terme de cette équation correspond à la fonctionnelle énergie d'attraction électron-noyau. La partie qui contient les termes énergie cinétique  $T[\rho]$  et le potentiel d'interaction électron-électron est appelée la fonctionnelle universelle de Hohenberg-Kohn  $F_{HK}[\rho]$ . Malheureusement, sa forme analytique est complètement inconnue. Le premier défi était la recherche d'un formalisme permet d'évaluer la fonctionnelle d'énergie cinétique avec assez de précision car il n'existe pas de méthode capable d'extraire avec précision le mouvement des électrons à partir de la densité de façon générale. Les efforts de Kohn et Sham ont permis de trouver une approche permettant d'exprimer la fonctionnelle énergie cinétique d'un système non interagissant.

#### II.2.2.3.1. L'approche Kohn-Sham

Cette approche met en évidence un système dit « fictif » mettant en jeu des électrons non-interagissant entre eux. La fonctionnelle universelle de Hohenberg et Kohn est exprimée alors:

$$F_{HK}[\rho] = T_s[\rho] + J[\rho] + E_{ncl}[\rho] \quad (\text{II.60})$$

$T_s[\rho(r)]$  représente l'énergie cinétique effective ou sans interactions,  $J[\rho(r)]$  l'interaction coulombienne classique.  $E_{ncl}[\rho(r)]$  contient tout ce qui est non-classique (une partie de l'énergie cinétique et les effets d'échange et de corrélation). Notons ici que seule l'expression de  $J[\rho(r)]$  est explicitement connue :

## Chapitre II

### Techniques de caractérisation & méthodes de modélisation moléculaire

---

$$J[\rho(r)] = \frac{1}{2} \iint \frac{\rho(r_1)\rho(r_2)}{r_{12}} dr_1 dr_2 \quad (\text{II.61})$$

En prenant en compte la définition de la fonctionnelle universelle, l'expression de l'énergie d'échange et de corrélation devient :

$$E_{xc}[\rho] = T[\rho] - T_s[\rho] + V_{ee}[\rho] - J[\rho] \quad (\text{II.62})$$

$$T_s = \frac{-1}{2} \sum_i^N \langle \varphi_i | \nabla^2 | \varphi_i \rangle \quad (\text{II.63})$$

où  $\varphi_i$  sont les orbitales de Kohn-Sham

Le lien entre ce système fictif et les systèmes réels se fait en choisissant le potentiel effectif  $V_s(r)$  de sorte que la densité tirée du carré du module des orbitales  $\varphi_i$  soit exactement égale à la densité de l'état fondamental du vrai système d'électrons avec interactions (eq. II.64). L'avantage est de pouvoir exprimer directement l'énergie à partir d'orbitales de Kohn-Sham que l'on peut directement relier à la densité.

$$\rho_s(r) = \sum_i^N \sum_{\sigma} |\varphi_i(r, \sigma)|^2 = \rho_o(r) \quad (\text{II.64})$$

On peut donc écrire l'énergie d'un système moléculaire comme:

$$\begin{aligned} E[\rho] &= T_s[\rho] + \Delta T[\rho] + \int \rho(r_1) v_{ext}(r_1) dr_1 + J[\rho] + (V_{ee}[\rho] - J[\rho]) \\ &= T_s[\rho] + \int v_{ext}(r) \rho(r) dr + J[\rho] + E_{xc}[\rho] \end{aligned} \quad (\text{II.65})$$

L'énergie d'échange et de corrélation fait effectivement le lien entre le système réel et le système fictif. Aucune expression analytique exacte n'existe pour quantifier cette énergie, toutefois le lien entre les deux systèmes s'établit à travers le formalisme de la connexion adiabatique. L'évaluation de l'énergie échange-corrélation est obtenue en combinant une fonctionnelle d'échange et une fonctionnelle de corrélation. A cet effet, plusieurs approximations ont été proposées.

#### II.2.2.3.2. L'approche de la densité locale (LDA)

L'approximation *LDA* est une approche simple, elle permet de calculer l'énergie d'échange et de corrélation d'un système inhomogène en considérant la densité comme étant équivalente à celle d'un gaz d'électrons homogène. Cette approximation décrit correctement les systèmes dans le cas où la densité varie lentement en fonction de la coordonnée  $r$ . L'approximation locale nous autorise à écrire la fonctionnelle  $E_{xc}$  sous la forme :



$$E_{XC}^{LDA} = \int p(r) \varepsilon_{xc}[\rho(r)] dr = E_X^{LDA} + E_C^{LDA} \quad (\text{II.66})$$

$\varepsilon_{xc}(\rho(r))$  est l'énergie d'échange et de corrélation par particule pour un gaz uniforme d'électron de densité  $\rho(r)$ .

La méthode  $X\alpha$  de Slater (1951) est considérée comme une fonctionnelle *LDA* où la partie d'échange est proposée par Dirac (1930) en se basant sur le modèle de Thomas-Fermi et la corrélation électronique est négligée. Vosko et collaborateurs (1980) ont réussi par la suite d'établir une expression pour la fonctionnelle énergie de corrélation.

### ***II.2.2.3.3. L'approche de la densité locale de spin (LSDA)***

Pour les systèmes à couches-fermées, les deux densités de spin  $\rho^\alpha$  et  $\rho^\beta$  sont identiques. Ce n'est pas le cas lorsque le système traité possède des orbitales partiellement occupées, dans ce cas il faut résoudre les équations pour les densités  $\alpha$  et  $\beta$  séparément.

$$E_{xc}^{LSD}[\rho^\alpha(r), \rho^\beta(r)] = E_x^{LSD}[\rho^\alpha(r), \rho^\beta(r)] + E_c^{LSD}[\rho^\alpha(r), \rho^\beta(r)] \quad (\text{II.67})$$

Dans un système moléculaire, l'approximation locale peut sembler inadaptée car la densité électronique est loin d'être constante et homogène. Pour aller vers une amélioration de ce modèle, la première idée consiste d'ajouter une contribution non-locale sous la forme d'une correction dépendant du gradient de la densité  $\rho(r)$  : ce sont les corrections non locales ou l'approximation du gradient généralisé (*GGA*).

### ***II.2.2.3.4. Les corrections non-locales : Approximation du gradient généralisé (GGA)***

Les méthodes dites *GGA* (Generalized gradient approximation) ont été développées de manière à prendre en compte la variation de la densité, en exprimant les énergies d'échanges et de corrélation en fonction de la densité et également de son gradient. De façon générale, l'expression de l'énergie  $E_{XC}^{GGA}$  s'écrit :

$$E_{XC}^{GGA}[\rho_\alpha, \rho_\beta] = \int (\rho_\alpha, \rho_\beta, \nabla\rho_\alpha, \nabla\rho_\beta) dr \quad (\text{II.68})$$

## Chapitre II

### Techniques de caractérisation & méthodes de modélisation moléculaire

---

Habituellement, on sépare les deux contributions d'échange et de corrélation et les approximations pour ces deux parties sont recherchées individuellement. Globalement, les fonctionnelles *GGA* sont construites selon deux types de procédures différents : l'un est de nature empirique et consiste en une interpolation numérique des résultats expérimentaux obtenus sur un grand nombre de molécules. La deuxième procédure consiste à construire les fonctionnelles sur la base des principes de la mécanique quantique (approches non empiriques). Plusieurs fonctionnelles d'échange et de corrélation de type *GGA* ont été développées, citons par exemple, les fonctionnelles d'échange de Perdew-Wang (1986), de Becke (1988), Perdew-Burke-Ernzerhof (1996), « OPTX » proposée par Handy et Cohen (2001) et les fonctionnelles de corrélation *P86* de Perdew (1986), *PW91* (1992) et celle proposée par Lee et collaborateur en 1988 (*LYP*).

#### II.2.2.3.5. Les fonctionnelles méta-GGA

Les méthodes *GGA* permettent d'obtenir une amélioration des résultats par rapport à une approche locale. Cependant, l'approche *GGA* n'est pas toujours suffisante pour une description correcte de diverses propriétés chimiques des composés. C'est pourquoi, à partir du milieu des années 90 du dernier siècle, de nouveaux types de fonctionnelles ont été développées de manière à aller au-delà des résultats fournis par des méthodes *GGA* ; ce sont les fonctionnelles dites méta-GGA (*m-GGA*). Ces dernières font ainsi intervenir la dérivée seconde de la densité dans les équations et elles prennent en compte la densité d'énergie cinétique des orbitales Kohn-Sham. On peut citer comme exemple de fonctionnelles *m-GGA*, la fonctionnelle de corrélation *B95* développée par Becke (1996), *TPSS* (Tao *et al.*, 2003) et les fonctionnelles *Minnesota* : *M11-L* (Peverati et Truhlar, 2012) et *M06-L* (Zhao et Truhlar, 2006).

Un degré de précision supplémentaire est atteint en combinant l'échange et la corrélation obtenue par des méthodes *GGA* avec un certain pourcentage d'échange décrit par la théorie Hartree-Fock. Les fonctionnelles construites sur ce principe sont qualifiées de fonctionnelles hybrides, on parle alors de fonctionnelles *H-GGA* (hybrid-GGA functional).

### *II.2.2.3.6. Les fonctionnelles hybrides*

L'utilisation de ce type de fonctionnelle permet une amélioration significative des résultats et est devenue depuis plusieurs années le choix le plus populaire dans le domaine de la chimie quantique. Les fonctionnelles hybrides d'échange-corrélation permettent, grâce au caractère délocalisé de l'échange de Hartree-Fock, d'obtenir de meilleurs résultats qu'avec les fonctionnelles de type *LDA* et *GGA*. La fonctionnelle hybride *B3LYP*, par exemple, trouve des usages vastes notamment pour l'optimisation des géométries (Beck, 1988 ; Lee *et al.*, 1988), dont l'expression de l'énergie  $E_{xc}$  est donnée par :

$$E_{XC}^{B3LYP} = a_0 E_X^{LDA} + (1-a_0) E_x^{exact} + a_1 \Delta E_x^{B88} + E_C^{LDA} + a_2 (E_C^{LYP} - E_C^{LDA}) \quad (\text{II.69})$$

avec  $a_0 = 0.80$ ,  $a_1 = 0.72$ ,  $a_2 = 0.81$  et  $\Delta E_x^{B88} = E_x^{GGA} - E_x^{LDA}$

Plusieurs autres fonctionnelles hybrides ont été développées comme par exemple *P3P86*, *B3PW91*, *BH&HLYP*, *MPW1K*, *MPW3LYP*, *O3LYP*, *X3LYP*, *PBE0*, *PBE1PBE*....etc.

D'autres fonctionnelles représentent une nouvelle classe de fonctionnelles et font actuellement l'objet de nombreux développements ; ce sont les fonctionnelles *HM-GGA* (Hybrid-Meta *GGA* functional). C'est le cas, par exemple, des fonctionnelles *MPW1B95*, *MPWB1K* et *M06-2X* (Zhao et Truhlar, 2004 ; 2006).

### **II.2.3. La méthode ONIOM**

La méthode *ONIOM* (Our own N-layered Integrated Molecular Orbital and Molecular Mechanics) développée par le groupe de Morokuma (Svensson *et al.*, 1996 ; Humbel *et al.*, 1996 ; Dapprich *et al.*, 1999) est une approche permettant d'effectuer des calculs en utilisant deux ou trois niveaux de calculs, correspondant aux diverses parties du système et à différents niveaux de théories, que ce soit *DFT*, *ab initio*, semi-empirique ou même en mécanique moléculaire. Le principe de base de cette méthode consiste à définir un système d'énergie  $E_{\text{modèle}}$  à l'intérieur du système global (système réel). Ce système réel d'énergie  $E_{\text{réelle}}$  est traité au bas niveau de théorie, tandis que le système modèle d'énergie  $E_{\text{modèle}}$  est traité à la fois à haut niveau et au bas niveau de

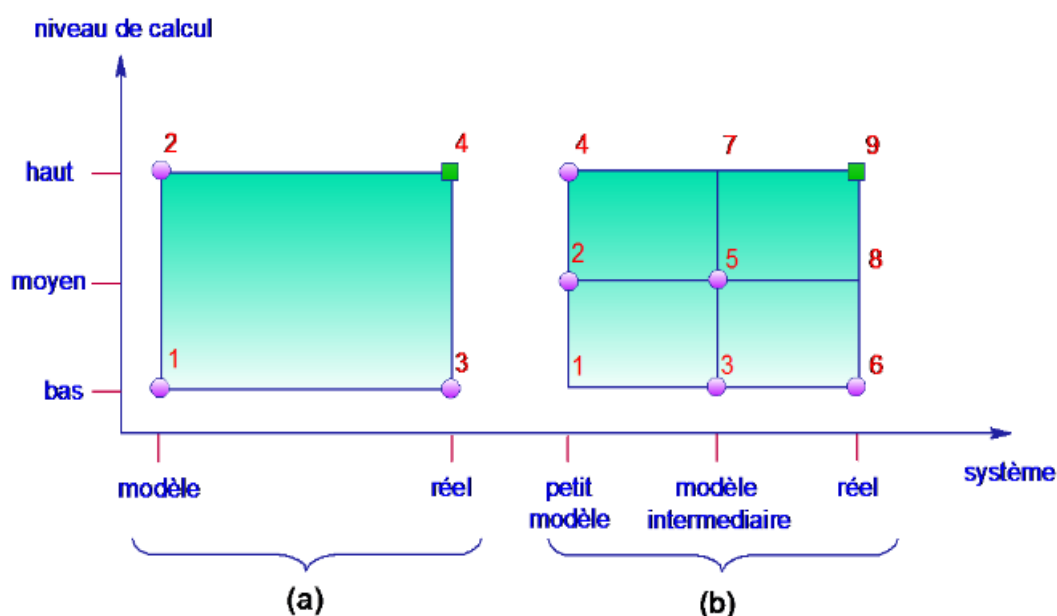
## Chapitre II

### Techniques de caractérisation & méthodes de modélisation moléculaire

théorie. Les deux calculs sur le système modèle permettent donc d'obtenir un facteur correctif sur le calcul du système réel effectué au bas niveau ( $E_{réel} - E_{modèle}$ ). L'énergie totale  $E(ONIOM)$  du système réel est alors définie par:

$$E(ONIOM) = E_{modèle}(\text{haut niveau}) + E_{réel}(\text{bas niveau}) - E_{modèle}(\text{bas niveau}) \quad (\text{II.70})$$

Le principe des calculs *ONIOM* a donné naissance aux méthodes à deux couches en combinant la mécanique quantique et la mécanique moléculaire (*QM/MM*) ou des méthodes de la mécanique quantique (*QM/QM*) (Svensson *et al.*, 1996) ou bien encore celles à trois couches (*QM/QM/MM*) (figure II.9).



**Figure II.9.** Représentation de la méthode *ONIOM* à deux et trois couches. (a) :  $E(ONIOM2) = E_3 - E_1 + E_2$ ; (b)  $E(ONIOM3) = E_6 - E_3 + E_5 - E_1 + E_4$ .

Une des questions difficiles dans l'utilisation de la méthode *ONIOM* est le choix des différentes couches et des niveaux de calcul à appliquer. La première chose est de décider du haut niveau de calcul. En effet, le calcul du système modèle à ce niveau est le but à atteindre. Il existe deux cas où les résultats *ONIOM* convergent vers les résultats cibles, le premier cas est lorsque la méthode bas niveau est proche de la méthode haut niveau. Le deuxième cas est lorsque la taille du système modèle est proche à celle du système réel. Le choix du découpage entre partie haute et partie basse et des niveaux de théories est alors un point essentiel. Le temps nécessaire pour

effectuer les calculs ONIOM doit être inférieur à celui qu'il faudrait pour calculer le système réel en haut niveau de théorie. L'utilisation de cette méthode permet de travailler sur des systèmes plus importants comme les complexes à base de CDs, limitant ainsi les effets de taille, mais tout en contrôlant le temps de calcul.

#### II.2.4. L'amarrage (Docking) moléculaire

Au cours de ces dernières décennies, la modélisation moléculaire et plus précisément le docking moléculaire a très vite pénétré le domaine de la chimie supramoléculaire et de la recherche en biologie. Celui-ci peut être défini comme la recherche de la meilleure association entre une molécule réceptrice et un ligand. Le docking moléculaire sert à prédire et à reproduire les interactions protéine-ligand (Wodak et Janin, 1978 ; Huang et Zou, 2010; Meng *et al.*, 2011 ) et présente l'avantage d'estimer rapidement et sans trop d'approximation les valeurs de leurs énergies et au criblage de base de données avec de nombre important de composés pour une même molécule cible, ce qui ne serait pas réalisable avec des tests expérimentaux classiques. Pour prédire correctement un mode d'interaction ligand-récepteur, des étapes clés doivent être suivre comme l'indique la figure II.10.

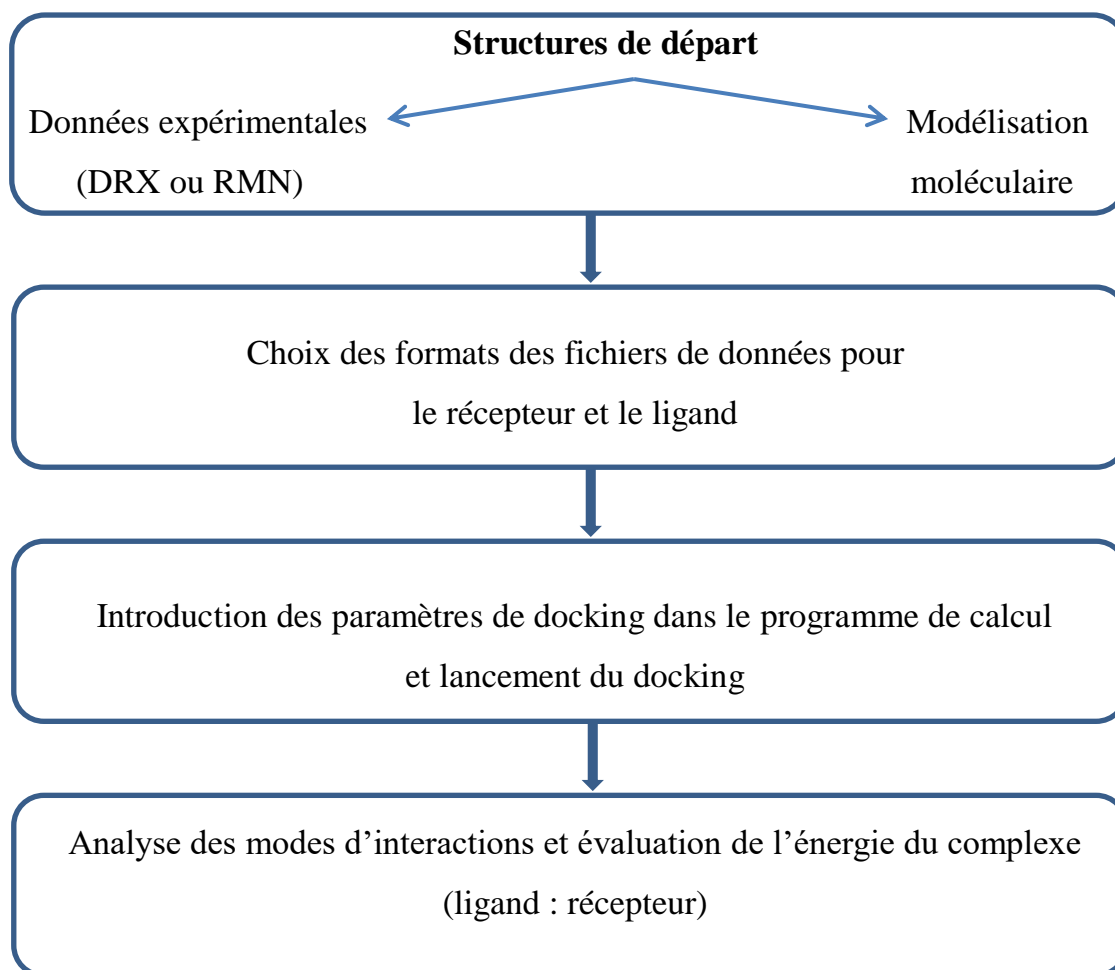
Le meilleur complexe est défini par l'estimation de :

- nombre d'atomes qui interagissent (détermine le degré de complexité entre le récepteur et le ligand)
- déviation de la structure générée (RMSD) pour « root mean square deviation » de celle des rayons X, définie par la formule II.71. Notons que les meilleures conformations ont toujours une valeur de  $RMSD \leq 2\text{Å}^\circ$  (Gohlke *et al.*, 2000).

$$RMSD(m_1, m_2) = [1/a * \sum_a (C_a^{m1} - C_a^{m2})^2]^{1/2} \quad (\text{II.71})$$

Dont  $m_1$ ,  $m_2$  sont deux conformations pour la même molécule,  $C_a^{m_i}$  est la coordonnée de l'atome (a) dans une conformation  $m_i$ .

- Le pourcentage du clash-score par rapport au total-score qui ne doit pas dépasser 10% pour un bon complexe.



**Figure II.10.** Étapes typiques d'un docking moléculaire.

Deux types de docking peuvent être choisis :

- Docking rigide : seuls des mouvements de translation et de rotation sont considérés.
- Docking flexible : des mouvements de torsion intramoléculaire sont ajoutés à ceux du docking rigide.

Plusieurs types des programmes de docking existent. Cette variété est due essentiellement aux différents algorithmes utilisés et à la nature des systèmes étudiés. Le tableau II.4 rassemble quelques programmes de docking moléculaires.

## Chapitre II

### Techniques de caractérisation & méthodes de modélisation moléculaire

---

**Tableau II.4.** Liste de certains programmes de docking moléculaire (site web).

<b>Programme</b>	<b>Année de Publication</b>	<b>Organisation</b>	<b>Description</b>
AutoDock	1990	Institut de recherche Scripps (Californie)	Amarrage automatisé du ligand à la macromolécule par l'algorithme génétique lamarckien et la fonction de score (scoring function).
SEED	1999	Université de Zurich	Docking automatisé des fragments, incluant les effets de solvation électrostatiques dans l'approximation diélectrique continue
FlexX	2001	BioSolveIT (Allemagne)	basé sur la construction incrémentielle
FDS	2003	Université de Southampton	Docking flexible pour le ligand et le récepteur avec le modèle de solvation PCM et fonction d'énergie 'soft-core'
Docking (par HyperChem)	2006	Motonori Tsuji (Japon)	Biomacromolécule et ligand: docking flexible

## Chapitre II

### Techniques de caractérisation & méthodes de modélisation moléculaire

---

Molecular Operating Environment (MOE)	2008	Groupe de chimie computationnelle	Incluant les méthodes de sphère alpha et les fonctions de score
Auto Dock Vina	2010	Institut de recherche Scripps (Californie)	Nouvelle génération de AutoDock
Swiss Dock	2011	Institut Suisse de Bioinformatique	Prédiction des interactions entre protéines et petits ligand
MOLS 2.0	2016	Université de Madras (Inde)	Docking par utilisation de la technique des carrés Latins mutuellement orthogonaux

Le programme Autodock, qui est utilisé dans nos calculs, est un ensemble de sous-programmes destinés à simuler un Docking flexible-rigide. Il comprend 3 parties: AutoTors, AutoGrid et AutoDock.

AutoTors définit les angles de torsion du ligand qui seront explorés durant la simulation. Ce sous-programme accepte des fichiers aux formats PDBQ et mol2 et contient trois termes pour définir les différentes possibilités. Le premier terme ROOT/ENDROOT définit les parties rigides du ligand, le terme BRANCH/ENDBRANCH définit les parties du ligand contenant des angles de torsion et le dernier terme TORSION/ENDTORSION définit les liaisons sur lesquelles une



## Chapitre II

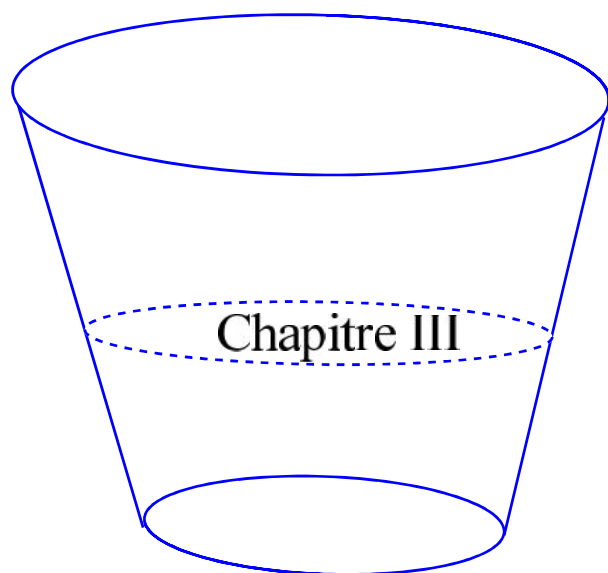
### Techniques de caractérisation & méthodes de modélisation moléculaire

---

torsion peut être définie. Le nombre maximum de torsions applicable est défini par la variable MAX\_TORS du fichier autodock.h.

Le programme AutoGrid est chargé de calculer des grilles d'interaction afin de maximiser l'étape d'évaluation des différentes configurations du ligand. Une grille d'affinité est calculée pour chaque type d'atome du ligand ainsi que pour les termes de répulsion/dispersion selon un potentiel de Lennard-Jones et les liaisons hydrogène.

Le programme AutoDock effectue la partie de recherche et d'évaluation des différentes configurations du ligand. Trois techniques sont utilisées pour obtenir les configurations (par recuit simulé (Hart et Read, 1992), par algorithme génétique ou par algorithme génétique Lamarckien (Morris *et al.*, 1998)).



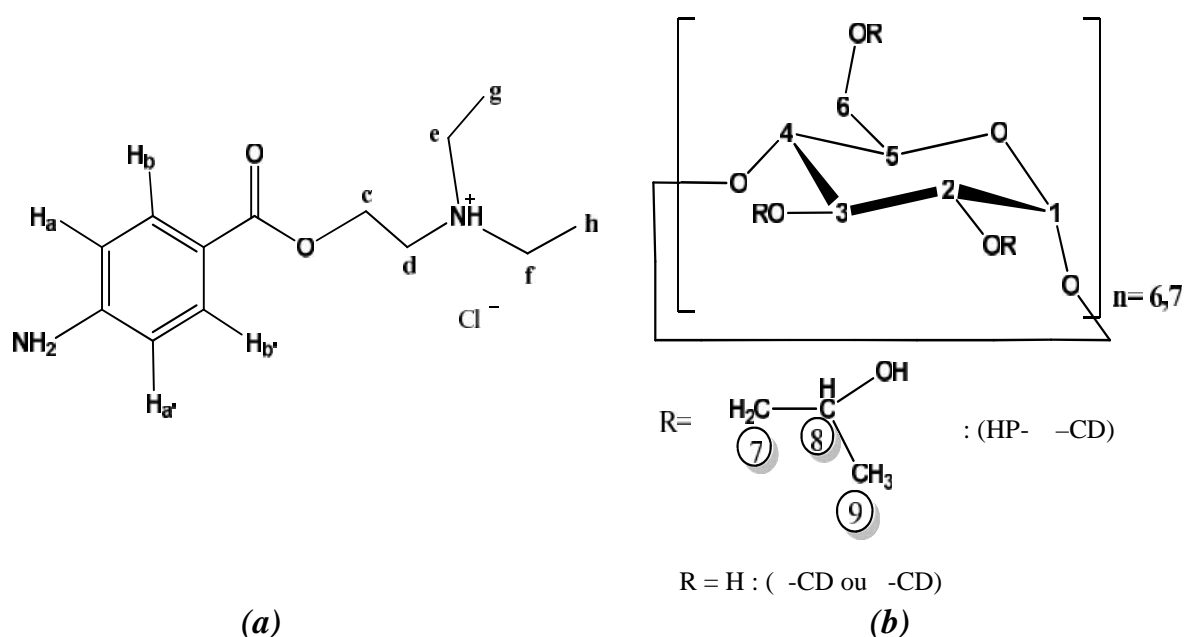
*Caractérisation quantitative des  
complexes d'inclusion*

### III. Caractérisation quantitative des complexes d'inclusion

#### III.1. Introduction

Dans le domaine pharmaceutique, les substances bioactives sont souvent des molécules de faible solubilité aqueuse et une stabilité thermique et chimique faible. Pour améliorer ces propriétés et augmenter la biodisponibilité, l'utilisation des CDs comme molécules protectrices et porteuses représente l'un des meilleurs procédés.

De nombreux travaux expérimentaux et théoriques ont été effectués pour étudier les réactions de complexation des anesthésiques locaux par la  $\alpha$ -CD (Dollo *et al.*, 2000 ; Pinto *et al.*, 2004 ; Pinto *et al.*, 2005; Sabermoghadam Ranjbar *et al.*, 2012; Soni et Pal, 2016 ; Bezamat *et al.*, 2020 ; Ferreira *et al.*, 2020), mais peu ont abordé la réaction de ces médicaments avec la  $\beta$ -CD ou l'hydroxypropyl- $\beta$ -CD (HP- $\beta$ -CD). Cette section expérimentale vise d'étudier la réaction de complexation de l'hydrochlorate de procaine, dont le nom chimique est « hydrochlorate 4-aminobenzoate 2-(diéthylamino)éthyle » (figure III.1a) avec trois cyclodextrines CDs ( $\alpha$ -,  $\beta$ -, HP- $\beta$ -CD) (figure III.1b) en solution aqueuse. La méthode de préparation du système binaire (hydrochlorate de procaine + eau) et des systèmes ternaires (hydrochlorate de procaine + eau + CDs ou D-glucose) et les résultats spectroscopiques (UV-Vis et fluorescence) seront exposés et discutés.



**Figure III.1.** Structures de hydrochlorate de procaine (a) et  $\alpha$ -,  $\beta$ - et HP- $\beta$ -CD (b)

### III.2. Matériels et méthodes

Procaine hydrochlorate  $\geq 97\%$ , alpha-cyclodextrine ( $\alpha$ -CD) 98%, bêta-cyclodextrine ( $\beta$ -CD)  $\geq 97\%$ , hydroxypropyl bêta cyclodextrine (HP- $\beta$ -CD) substitution molaire 0,6 et D-glucose (D-Glu)  $\geq 99,5\%$  ont été achetés auprès de Sigma-Aldrich et utilisés sans aucun traitement. Toutes les solutions ont été fraîchement préparées avec de l'eau déminéralisée de conductivité inférieure à  $2 \mu\text{S}/\text{cm}$ .

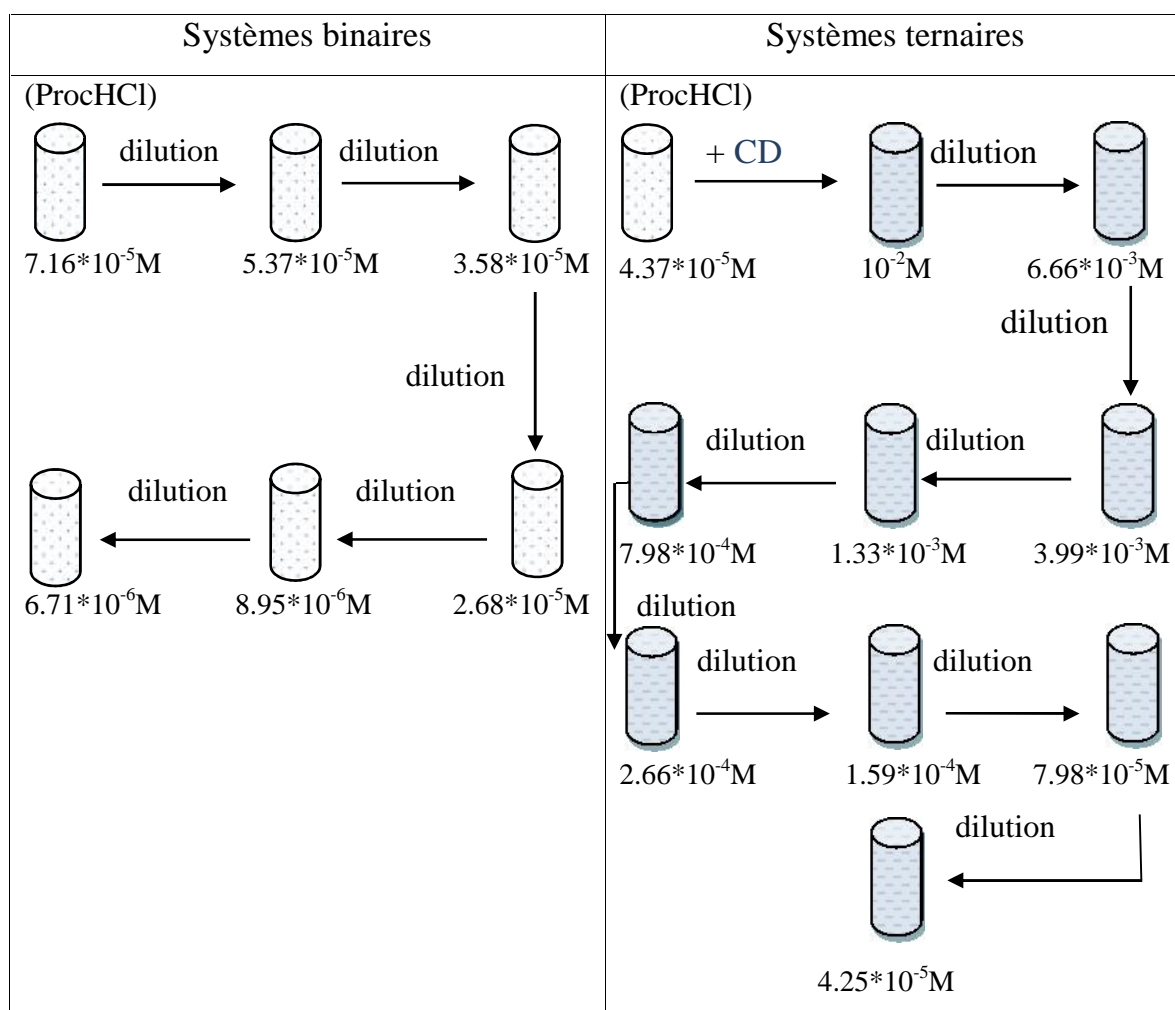
#### ➤ *La spectrophotométrie UV-Vis*

La ProcHCl dont la structure chimique est visible sur la figure III.1 porte un groupement aromatique lié à une fonction ester et une fonction amine en position para et est donc visible dans le domaine d'absorption UV-Visible au-delà de 190 nm. Par contre, les CDs qui ne possèdent que des liaisons simples ne sont pas visibles dans le domaine UV-Visible du spectre électromagnétique d'absorption (190nm - 750nm). Les mesures de l'absorbance de la ProcHCl en absence et en présence des CDs, ont été faites dans une gamme de longueurs d'onde allant de 190 à 500 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Vis de type SPECORD 200 (figure III.2) dotés d'un système de thermostatisation pouvant maintenir la température constante par effet Peltier à  $0.01^\circ\text{C}$ .



**Figure III.2.** Spectrophotomètre UV-visible.

Les échantillons sont placés dans des cuves en quartz, de chemin optique de 1cm. La concentration de la molécule invitée est choisie de telle sorte que la courbe de variation de l'absorbance en fonction de la température obéisse à la loi de Beer-Lambert. La mesure de l'absorbance du solvant a été prise comme ligne de base (blanc). La préparation des échantillons des systèmes binaires (ProcHCl+eau) et des systèmes ternaires (ProcHCl+eau+ CD ou D-glucose) se fait selon le procédé expérimental illustré dans le schéma III.1:



















**Schéma III.1.** Procédé de préparation des solutions à analyser par spectrophotomètre UV-Vis.

Pour confirmer la formation des complexes, les mêmes expériences ont été menées avec du D-glucose en tant que système modèle au lieu de la CD. Avec le D-glucose nous cherchons à imiter l'environnement chimique autour de la molécule invitée

qu'elle rencontre en présence de la CD, mais en l'absence de structure cyclique comme vue chez les CDs.

Une fois qu'un complexe hôte-invité est mis en évidence, il est important de spécifier sa stœchiométrie. La détermination des stœchiométries est réalisée par l'utilisation de la méthode proposée par Job (1928) qui consiste à mesurer l'absorbance pour un ensemble de solutions ProcHCl/CD en faisant varier la fraction molaire "X" de la CD et en gardant constant le nombre total de moles comme le montre le schéma III.2.

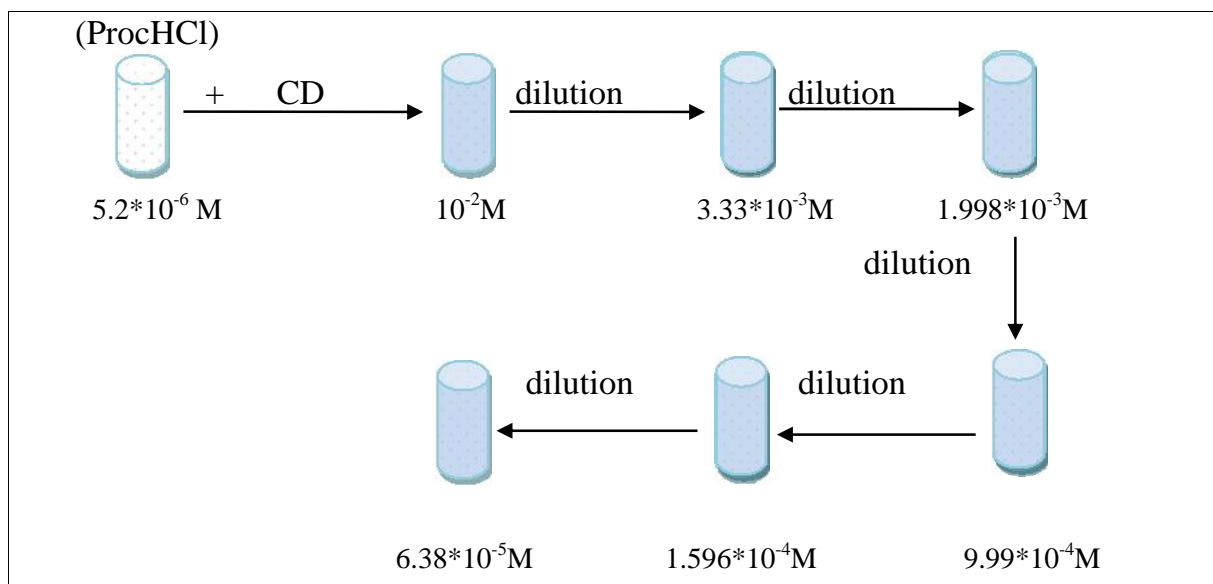
ProcHCl/ $1.5 \cdot 10^{-5} \text{M}$		CD/ $1.5 \cdot 10^{-5} \text{M}$	ProcHCl/ $1.5 \cdot 10^{-5} \text{M}$		CD/ $1.5 \cdot 10^{-5} \text{M}$
				+	
4ml			1.5 ml		2.5 ml
	+			+	
3.5 ml		0.5 ml	1 ml		3 ml
	+			+	
3 ml		1 ml	0.5 ml		3.5 ml
	+				
2.5ml		1.5 ml			4 ml
	+				
2 ml		2 ml			

**Schéma III.2.** Procédé de préparation des solutions à analyser par spectrophotomètre UV-Vis selon la méthode de Job.

➤ *Spectroscopie de fluorescence*

La formation des complexes d'inclusion à base de CD peut également être suivie par la spectroscopie de fluorescence car le phénomène s'accompagne d'un changement dans les propriétés de luminescence de la molécule invitée en termes d'intensité maximale, de position de transition électronique et de rendement quantique. La luminescence est le terme général pour l'émission de lumière à partir de molécules excitées électroniquement et la fluorescence se réfère à un type spécifique de luminescence, à savoir l'émission de la lumière lors d'une transition électronique plus élevée (premier singulet excité  $S_1$ ) à un état électronique inférieure (généralement état fondamental  $S_0$ ) de la même multiplicité.

Les mesures ont été effectuées avec un spectrofluoromètre Shimadzu RF-6000. La valeur de la longueur d'onde d'excitation était  $\lambda_{ex} = 300$  nm et la plage d'émission spectrale était de 310 à 550 nm avec un pas de 1 nm. Pour les systèmes ternaires ProcHCl /eau/CD, la concentration de ProcHCl a été maintenue constante à  $5,2 \cdot 10^{-6}$  M et celle de la CD variant de  $10^{-2}$  à  $6,38 \cdot 10^{-5}$  M. La préparation des échantillons se fait selon le procédé expérimental illustré dans le schéma III.3.



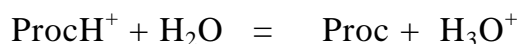
**Schéma III.3.** procédé de préparation des solutions à analyser par spectrophotomètre de fluorescence.

Pour maintenir la concentration de ProcHCl constante, la dilution s'opère avec une solution aqueuse de ProcHCl à  $5,2 \cdot 10^{-6}$  M.

### III.3. Discussion des résultats

#### ➤ Diagramme de répartition des espèces

Comme la plupart des anesthésiques locaux, la ProcHCl est fournie sous forme de sel afin d'améliorer sa solubilité dans l'eau. Le sel de procaine se dissocie complètement dans l'eau sous forme d'un cation ProcH<sup>+</sup> qui est un acide faible et de l'anion chlorure. En solution aqueuse l'espèce ProcH<sup>+</sup> réagit avec l'eau et engendre sa base conjuguée qui est une espèce non ionisée selon la réaction générale suivante:



En générale, selon l'acidité de la solution, la procaine peut exister sous 3 formes: molécule neutre, mono-cationique ou di-cationiques (figure III.3).

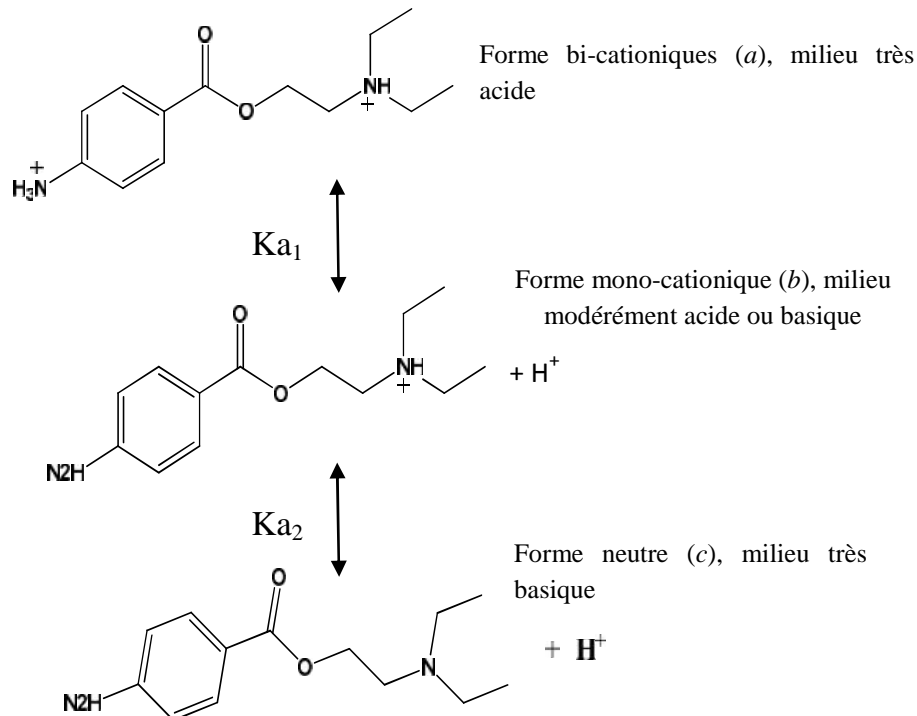


Figure III.3. Equilibres acide-base de ProcHCl en solution aqueuse



avec des constantes d'acidités de la forme :

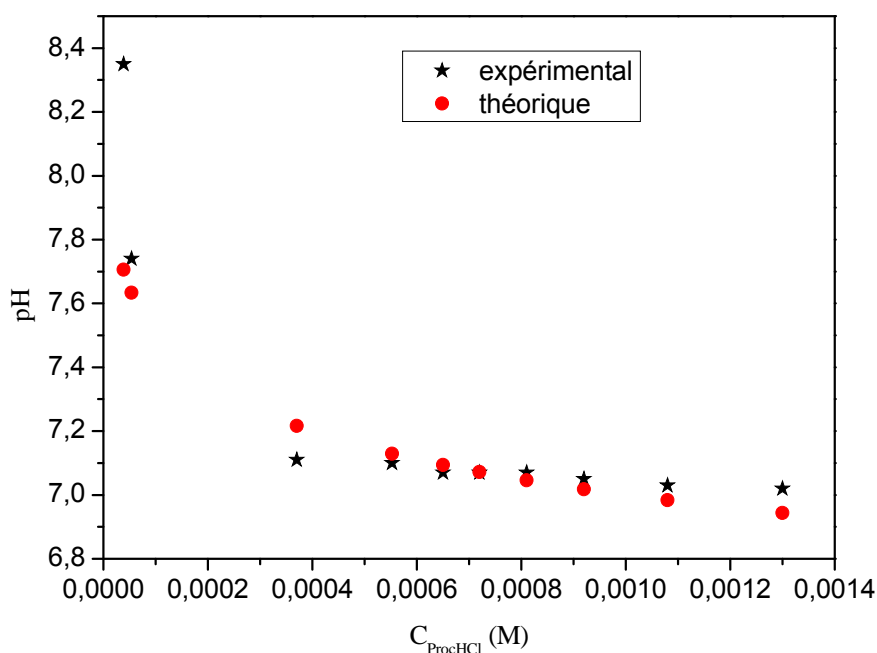
$$K_{a1} = a_{H^+} a_{(b)} / a_{(a)} \quad (\text{III.1})$$

$$K_{a2} = a_{H^+} a_{(c)} / a_{(b)} \quad (\text{III.2})$$

Où  $a_{H^+}$ ,  $a_{(a)}$ ,  $a_{(b)}$  et  $a_{(c)}$  désignant respectivement les activités des ions  $H^+$  et des espèces (forme  $a$ , forme  $b$  et forme  $c$ ). Il est donc important d'estimer les proportions de chaque espèce en fonction du pH par l'établissement d'un diagramme de répartition des espèces en solution. Ceci passe par le tracé de la variation du pH des solutions de procaine en fonction de sa concentration (figure III.4) qui conduit à déterminer la valeur du  $pK_{a2}$  par un ajustement non linéaire de l'équation (III.3) applicable aux acides faibles sous certaines conditions;

$$pH \approx \frac{1}{2}(pK_{a2} - \log C) \quad (\text{III.3})$$

En considérant que la dissociation de l'acide est faible, le milieu assez acide et en négligeant la réaction d'auto-protolyse de l'eau.



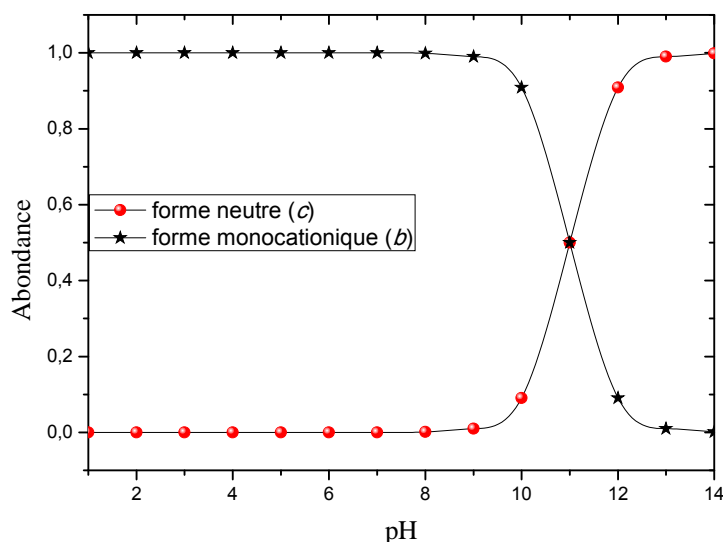
**Figure III.1:** Variation du pH en fonction de la concentration de ProcHCl.

La figure III.4 montre la variation du pH des solutions de procaine à différentes concentrations. Des valeurs de pH variant de 6.8–8.5 sont obtenues et qui plaident pour l'existence de l'équilibre 2 en solution mais orienté vers la formation de l'espèce ProcH<sup>+</sup> exclusivement avec une très faible contribution de l'espèce non ionisée. L'ajustement effectué sur les data expérimentaux donne une valeur de  $pK_a = 11$ . Les fractions molaires de la forme neutre (*c*) et de la forme mono-cationique (*b*), liées par l'équilibre (2), sont définies par :

$$X_{\text{forme (c)}} = \frac{\text{forme (c)}}{C_T} = \frac{1}{1 + \frac{H_3O^+}{K_{a2}}} \quad (\text{III.4})$$

avec  $X_{\text{forme (b)}} = 1 - X_{\text{forme (c)}}$

Les courbes représentant la variation des fractions molaires  $X_{\text{forme (c)}}$  et  $X_{\text{forme (b)}}$  en fonction du pH constituent le diagramme de répartition des différentes espèces, est représenté sur la figure III.5.



**Figure III.5.** Diagramme de répartition des espèces de ProcHCl.

Ainsi, quand le  $pH \leq 9$  ( $pK_{a2}-2$ ), l'équilibre de dissociation est presque totalement déplacé vers la formation de la forme mono-ionisée (forme *b*) avec une quasi absence de la forme non ionisée (forme *c*). Quand le  $pH > 13$  ( $pK_{a2}+2$ ) seule l'espèce

non ionisée (forme (c)) existe en solution. Pour des pH intermédiaires, nous aurons des proportions variables des deux espèces.

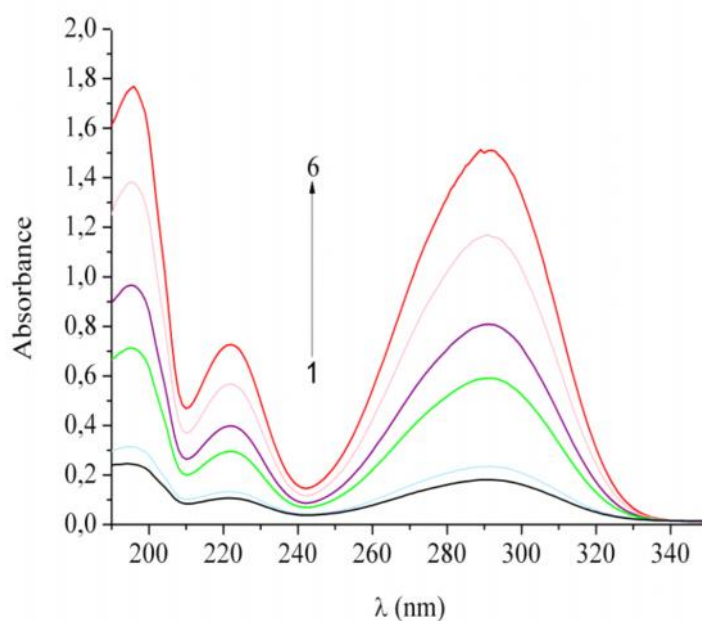
Pour :

- des pH  $pK_a-2 = 9$ , la CD va interagir exclusivement avec la forme (b).
- des pH  $pK_a+2 = 13$ , la CD interagira uniquement avec la forme (c).

Pour les CDs, dans un milieu fortement alcalin ( $pH > 12.5$ ), la forme anionique ( $CD^-$ ) de  $\alpha$ -CD et de  $\beta$ -CD sont prédominantes et à un  $pH < 12.5$ , c'est la forme neutre qui domine (Geld *et al.*, 1982).

### ➤ Résultats UV-Vis

Pour les systèmes binaires, les spectres UV-Vis des solutions aqueuses de la ProchCl sont enregistrés dans une gamme de concentrations allant de  $6.71 \cdot 10^{-6}$  à  $7.16 \cdot 10^{-5}$  M (figure III.6).

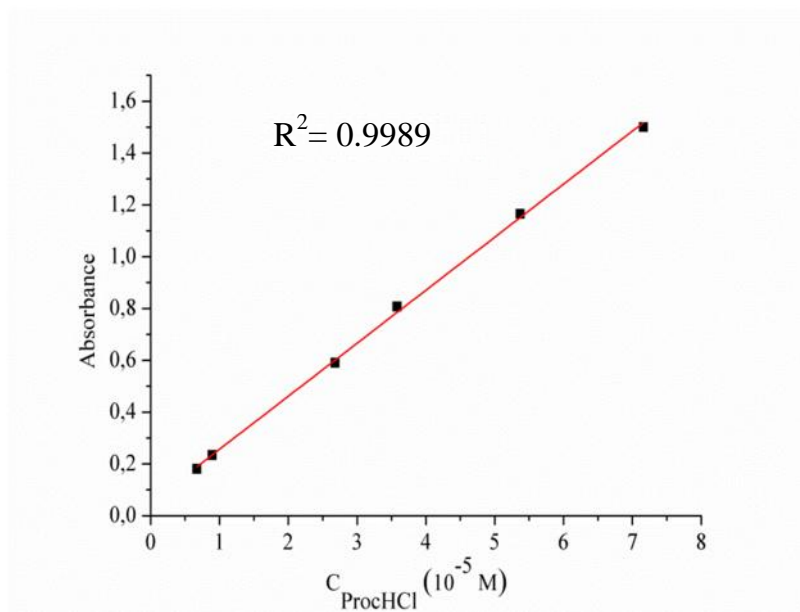


**Figure III.6.** Spectres UV-Vis des solutions aqueuses de la ProchCl à différentes concentrations.

Trois pics centrés sur les longueurs d'onde d'absorption 196, 222 et 291 nm sont observés, attribués aux transitions électroniques liées aux fonctions  $NH_2$ ,  $C=O$  et le

chromophore C=C conjugués au cycle benzénique. Il est clair que pour tous les pics, les valeurs d'absorbance augmentent à mesure que la concentration de la procHCl augmente sans aucun déplacement des positions des pics ou de longueurs d'ondes de transitions électroniques, vérifiant ainsi la loi de Beer-Lambert comme il est indiqué sur le graphique de la figure III.7, où l'absorbance varie linéairement avec la concentration pour  $\lambda_{\max} = 291 \text{ nm}$ . Ce comportement signifie que dans la plage de concentration de travail, les solutions sont suffisamment diluées pour que les interactions soluté-soluté soient négligeables.

Lors de l'ajustement linéaire des données d'absorbance en fonction de la concentration, les coefficients d'extinction molaires sont déduits et sont égaux à 23603, 9607 et 20597  $\text{M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  pour les longueurs d'onde 196, 222 et 291 nm, respectivement. Ces valeurs sont proches de celles reportées pour la tetracaine hydrochloride, un autre anesthésique local dont la nature des chromophores est très proches de celle de la procaine (Fergoug, 2010).



**Figure III.7.** Variation de l'absorbance en fonction de la concentration de ProcHCl à  $\lambda_{\max} = 291 \text{ nm}$ .

Les spectres UV-Vis des systèmes ternaires (eau/ProcHCl/D-glucose ou eau/ProcHCl/CD) présentés dans la figure III.8 sont obtenus à une concentration constante de ProcHCl ( $4,37 \times 10^{-5} \text{ M}$ ) et des quantités variables de D-glucose ou de CD. L'analyse des résultats obtenus montre que lorsque le D-glucose est ajouté à la solution

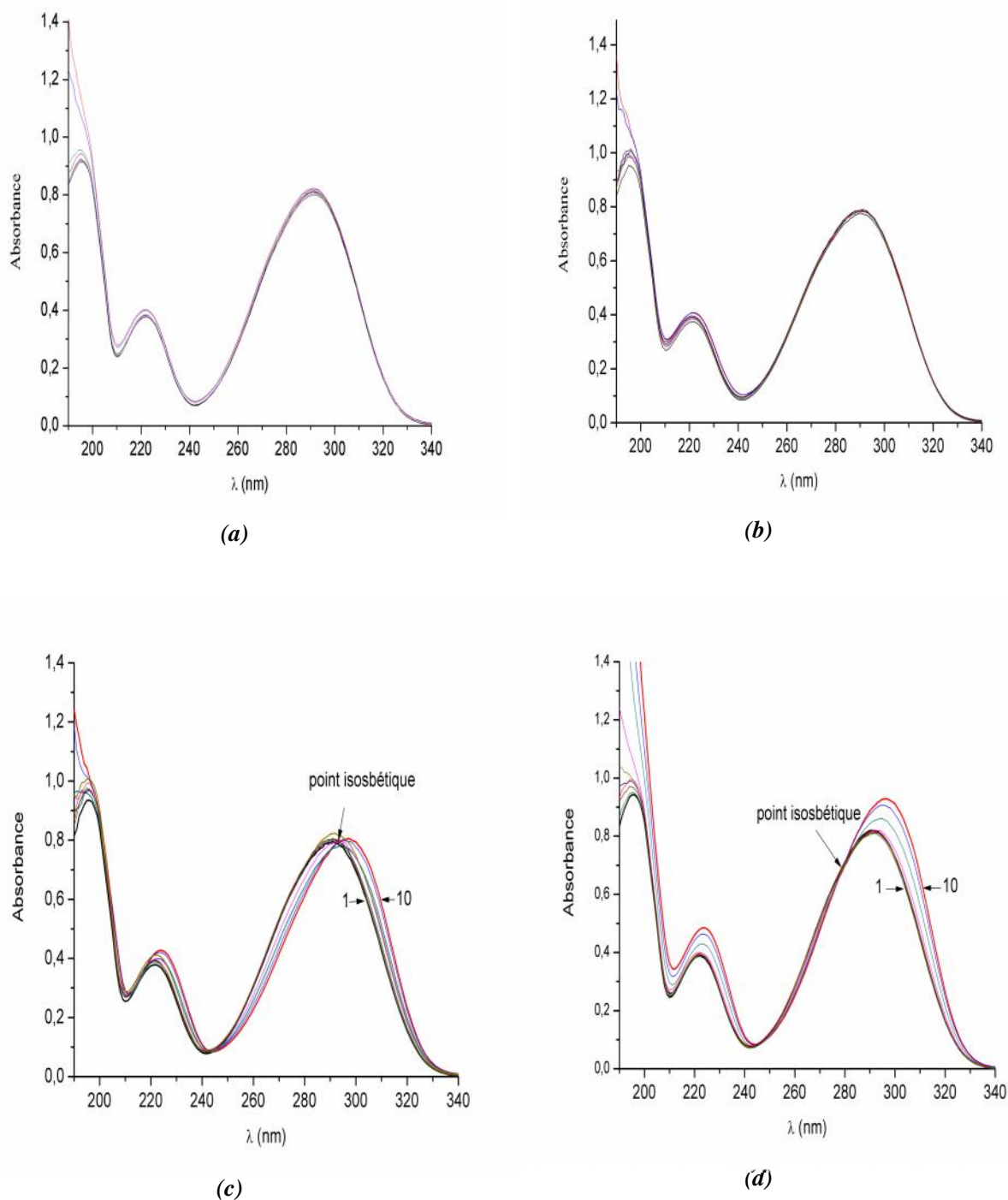
aqueuse de ProcHCl, ni l'intensité d'absorbance ni la position des pics sont affectées. Ce résultat suggère qu'aucune interaction notable n'est établie entre les molécules de D-glucose et celles de ProcHCl (figure (III.8a)). Ce résultat représente une indication que les groupements fonctionnelles de la ProcHCl et les groupements hydroxyles de D-glucose et par la suite, les groupements hydroxyle de CDs n'interagissent pas entre eux, excluant ainsi toute possibilité de formation de liaisons hydrogène entre ProcHCl et le D-glucose ou les CDs.

La même tendance est obtenue lorsque la  $\alpha$ -CD est ajoutée à la solution aqueuse de ProcHCl (figure III.8b), indiquant que cette CD n'interagit pas avec ProcHCl ou du moins très faiblement. Cette conclusion est confirmée par l'absence de points isobestiques sur les spectres, excluant ainsi l'existence d'un équilibre chimique entre ProcHCl et  $\alpha$ -CD et donc la formation d'un complexe hypothétique. L'absence d'un tel complexe signifie que la taille de  $\alpha$ -CD (diamètre interne de l'anneau secondaire = 4,7 Å) ne favorise pas la pénétration de ProcHCl dans la cavité. Cette observation est en accord avec celle rapportée par Gu et Pan (1999) mais est en contradiction avec la conclusion de Soni (2016) qui a affirmé que ProcHCl forme un complexe faible avec  $\alpha$ -CD avec une constante de complexation  $K = 34 \text{ M}^{-1}$ . Cette faible valeur de  $K$  signifie clairement que l'interaction entre ProcHCl et  $\alpha$ -CD est trop faible et ne mérite pas d'être classée comme réaction d'inclusion.

Lorsque des CDs de plus grandes cavités, tels que  $\beta$ -CD ou HP- $\beta$ -CD, sont utilisés dans les mêmes conditions expérimentales, les spectres UV-Vis de ProcHCl varient comme indiqué sur les figures III. 8(c) et 8(d).

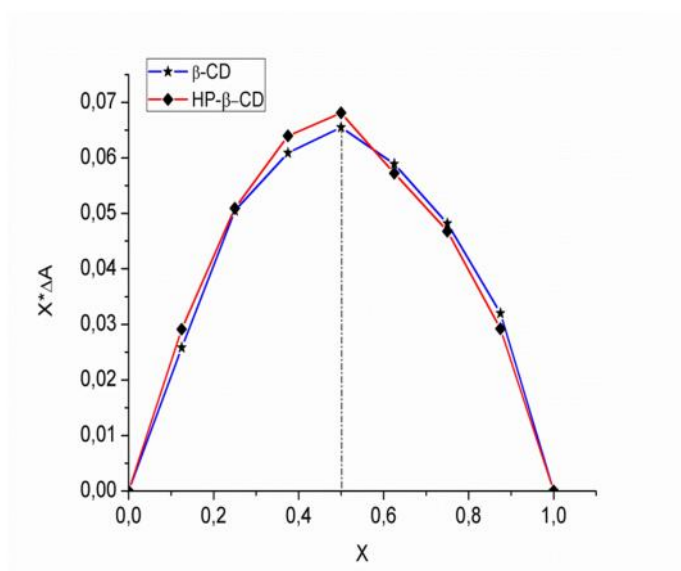
Il est facile d'identifier la présence de points isobestiques indiquant l'existence d'un équilibre chimique entre la molécule ProcHCl libre et complexée. Les spectres UV-Vis du système ProcHCl/  $\beta$ -CD montrent un décalage vers des longueurs d'onde plus élevées lorsque la concentration de  $\beta$ -CD augmente (effet bathochromique). Cependant, dans le cas de HP- $\beta$ -CD, l'intensité et la position des pics sont simultanément variées lorsque la concentration de la HP- $\beta$ -CD augmente; les positions des pics se déplacent vers des longueurs d'ondes plus grandes (effet bathochromique) alors que l'intensité des pics augmente (effet hyperchromique). L'effet bathochrome résulte du fait qu'une interaction hydrophobe s'est produite entre la ProcHCl et la CD

tandis que l'effet hyperchrome se traduit par la formation de liaison hydrogène entre ces deux espèces.



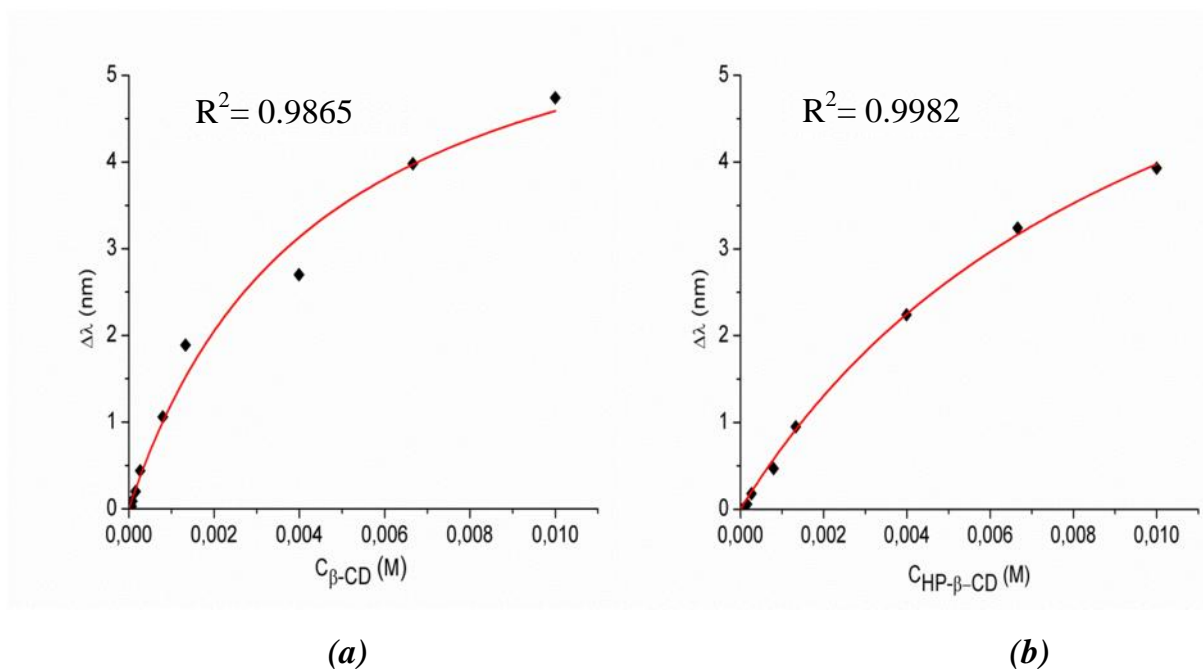
**Figure III.8.** Spectres UV-vis de ProCHCl à la concentration  $4.37 \cdot 10^{-5}$  M en absence et en présence de D-glucose (a),  $\alpha$ -CD (b),  $\gamma$ -CD (c), HP- $\beta$ -CD (d).

La courbe de Job (figure III.9) est générée en traçant  $X \cdot \Delta A$  en fonction de  $X$ , où  $\Delta A$  est la différence de l'absorbance de ProchCl en présence et en absence de CD. La valeur de  $X$  qui correspond à l'écart maximum donne la stœchiométrie du complexe d'inclusion.



**Figure III.9.** Courbe de Job de ProchCl/  $\beta$ -CD et ProchCl/HP-  $\beta$ -CD à 25°C.

Pour les deux CD utilisées, l'écart maximal est obtenu pour une fraction  $X = 0.5$ , ce qui correspond à un complexe de stœchiométrie 1:1, c'est-à-dire qu'une molécule de CD ( $\beta$ -CD ou HP-  $\beta$ -CD) encapsule une seule molécule de ProchCl.



**Figure III.10.** Variation de la longueur d'onde  $\lambda$  en fonction des concentrations de  $\beta$ -CD (a) et de HP-  $\beta$ -CD (b).

Le tracé de  $\lambda_{max}$  en fonction des concentrations de  $\beta$ -CD et HP- $\beta$ -CD (figure III.10) permet d'extraire les valeurs des paramètres de l'équation proposée par Merino (voir équation II.33), en utilisant la méthode de régression non linéaire et l'ajustement de chaque équation permet de calculer  $K$ ,  $\lambda_{max}$  et de déduire l'enthalpie libre de la réaction ( $\Delta G^\circ$ ) comme illustré sur le tableau III.1.

**Tableau III.1.** Constante d'association  $K$ , variation de la longueur d'onde  $\lambda_{max}$  et l'énergie libre  $\Delta G^\circ$  obtenues de l'analyse des spectres UV-Vis à  $C_{ProcHCl} = 4.37 \times 10^{-5}$  M.

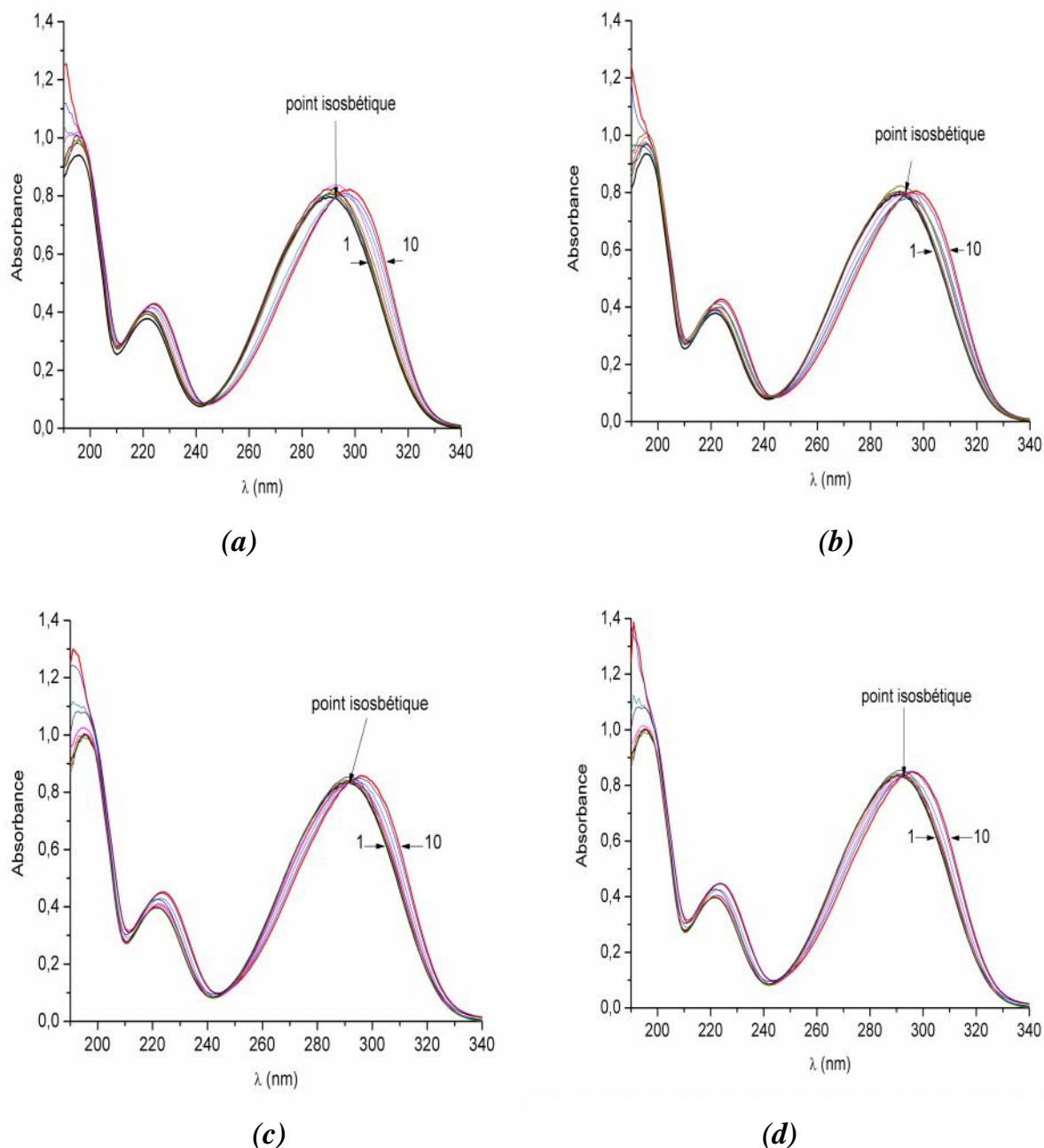
	ProcHCl/ $\beta$ -CD	ProcHCl/HP- $\beta$ -CD
$K$ ( $M^{-1}$ )	223.18	95.82
$\lambda_{max}$ (nm)	6.65	8.12
$\Delta G^\circ$ (Kcal/mole)	-3.223	-2.719

D'après les résultats de ce tableau, on peut conclure que le complexe ProcHCl/  $\beta$ -CD est plus stable que ProcHCl/HP-  $\beta$ -CD. Ce résultat peut être expliqué par le fait que pour HP-  $\beta$ -CD, les groupes hydroxy-propyle greffés sur les anneaux ne forment pas une ceinture de liaisons hydrogène comme dans le cas de  $\beta$ -CD et peuvent gêner la pénétration profonde de ProcHCl dans la cavité de cette CD, tandis que pour  $\beta$ -CD les groupes hydroxyle, des fragments moins étendus, forment un arrangement semblable à une ceinture le long du périmètre de l'anneau, ce qui réduit la solubilité de cette CD dans l'eau, mais en revanche, n'obstrue pas l'inclusion de ProcHCl dans sa cavité. De plus, compte tenu de la nature hydrophile du HP-  $\beta$ -CD, la désolvatation de sa cavité nécessite une énergie plus élevée afin d'avoir une pénétration plus profonde. Ainsi, la  $\beta$ -CD fournit un environnement favorable pour une meilleure protection de ProcHCl par rapport à HP-  $\beta$ -CD. Les valeurs négatives de l'énergie libre représentent un signe de la spontanéité du phénomène d'inclusion et donc de l'expulsion des molécules d'eau en dehors de la cavité de  $\beta$ -CD et de HP- $\beta$ -CD.

La température est l'un des facteurs pouvant affecter la réaction de complexation, à cet effet, nous avons mis l'accent sur ce point en investiguant la



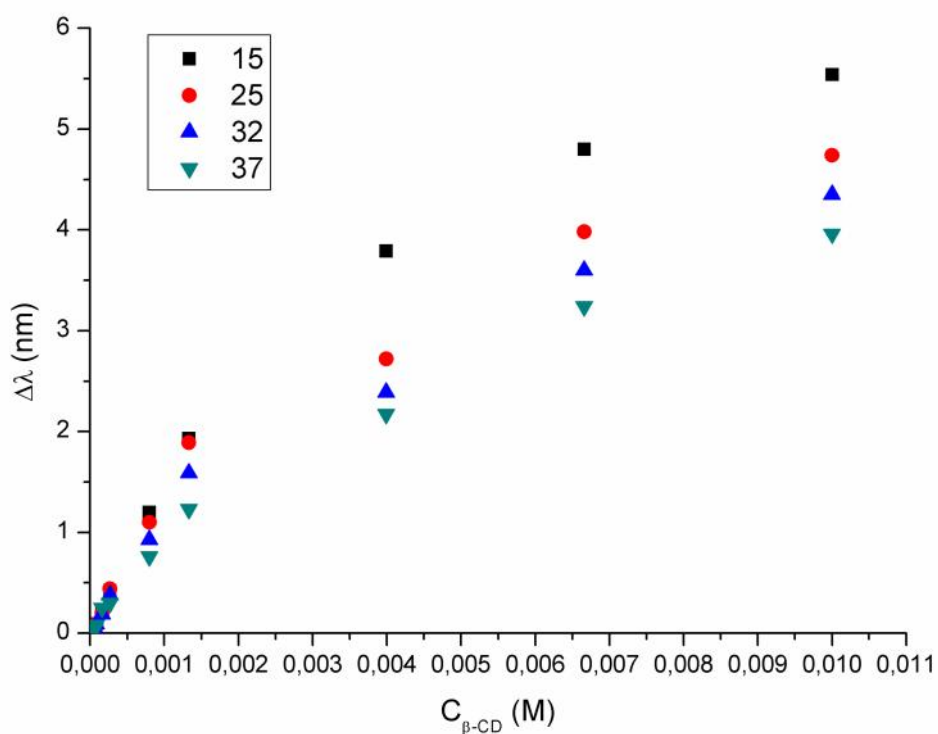
stabilité du complexe d'inclusion à base de  $\beta$ -CD en utilisant la spectrophotométrie UV-Vis et à différentes températures : 15, 25, 32 et 37°C, cette dernière correspond à la température du corps humain. La variation des informations spectrales sont représentées dans la figure III.11.



**Figure III.11.** Spectres UV-vis de ProcHCl à la concentration  $4.37 \cdot 10^{-5}$  M en absence et en présence de  $\beta$ -CD à 15 °C (a), 25 °C (b), 32 °C (c) et 37 °C (d).

Comme le montre cette figure, seule la variation de la longueur d'onde vers des valeurs plus élevées est observée. La variation de la longueur d'onde est significative à  $T = 15^\circ\text{C}$  et devient faible en augmentant la température. De plus, l'existence des points isobétiques indique, pour les trois températures, qu'un équilibre est produit entre la procaine à l'état libre et complexée, c'est-à-dire que le complexe garde son architecture à la température du corps humain.

L'utilisation du modèle proposé par Merino, en traçant la variation de la longueur d'onde en fonction de la concentration de  $\beta$ -CD à différentes températures (figure III.12), permet alors de prévoir les constantes d'association comme le montre les résultats du tableau III.2.



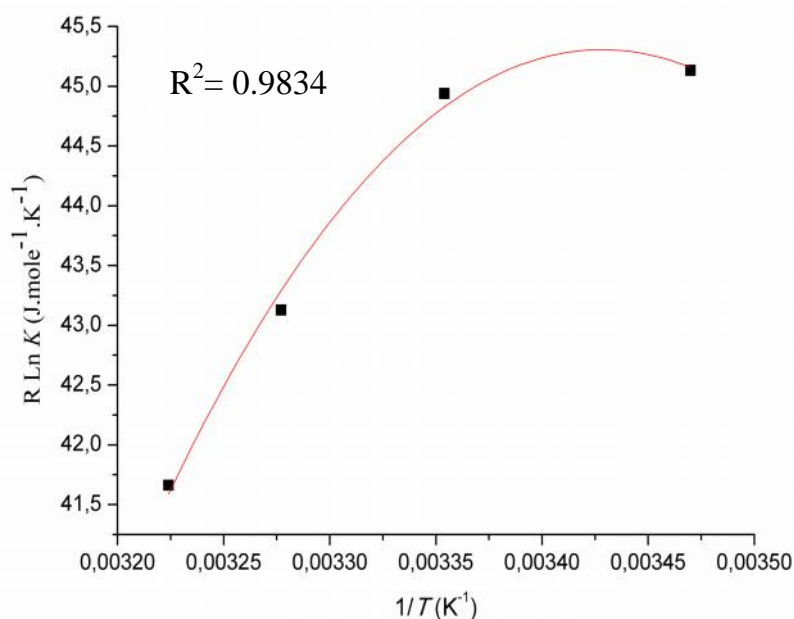
**Figure III.12.** Variation de la longueur d'onde  $\Delta\lambda$  en fonction des concentrations de  $\beta$ -CD à 15, 25, 32 et 37 °C.

**Tableau III.2.** Constante d'association  $K$  et la variation de la longueur d'onde  $\lambda_{max}$ , obtenues lors de l'analyse des spectres UV-Vis ( $C_{ProcHCl} = 4.37 \cdot 10^{-5}$  M).

ProcHCl/ -CD				
Température (°C)	15	25	32	37
$K$ ( $M^{-1}$ )	228.45	223.18	179.48	150.47
$\lambda_{max}$ (nm)	7.96	6.65	6.53	6.45

L'image globale des résultats montre une diminution des valeurs des constantes d'association en augmentant la température, affectant négativement la stabilité du complexe d'inclusion. Ce résultat montre que les forces responsables de la stabilité des complexes d'inclusion deviennent de plus en plus faibles aux températures élevées comme celle du corps humain. L'augmentation de la température est un facteur favorisant la dissociation du complexe d'inclusion et ainsi la libération du principe actif vers la cible.

La variation de la constante d'association en fonction de la température, indiquée dans le tableau III.2, permet d'effectuer une analyse thermodynamique de l'association ProcHCl/ -CD en se basant sur l'équation de Van't Hoff (voir figure III.13).



**Figure III.13.** Courbe de van't Hoff de l'association de ProcHCl avec -CD

Le comportement non linéaire du  $R \ln(K)$  vis-à-vis  $1/T$  suggère qu'il y a une dépendance de l'enthalpie ( $H^\circ$ ) et de l'entropie ( $S^\circ$ ) avec la température. Dans ce cas, ces deux grandeurs thermodynamiques peuvent être exprimées selon les lois de Kirchoff par :

$$H = H^\circ + C_p^\circ (T-298,15) \quad (\text{III.5})$$

$$S = S^\circ + C_p^\circ \ln (T/298,15) \quad (\text{III.6})$$

$T= 298,15$  K est prise comme une température de référence et  $C_p^\circ$  est le résultat de la différence entre la capacité calorifique molaire (à pression constante) du complexe et celles de ProCHCl et de -CD.

Si  $C_p^\circ = 0$ , la relation de Van't Hoff est exprimée alors en fonction des quantités  $H^\circ$ ,  $S^\circ$  et  $C_p^\circ$  comme suit :

$$R \ln(K) = (1/T) * [- H^\circ - C_p^\circ (T-298,15)] + S^\circ + C_p^\circ \ln (T/298,15) \quad (\text{III.7})$$

La détermination de  $H^\circ$ ,  $S^\circ$  et  $C_p^\circ$  se fait par l'utilisation de la régression non linéaire des valeurs de la constante d'association à différentes températures (tableau III.3), ce qui permet de prévoir le caractère enthalpique ou entropique du processus d'inclusion.

**Tableau III.3.** Valeurs des paramètres thermodynamiques liés à l'inclusion de ProCHCl par -CD selon l'analyse de Van't Hoff.

Complexe	Ajustement	$H^\circ$ (J.mole <sup>-1</sup> )	$S^\circ$ (J.mole <sup>-1</sup> .K <sup>-1</sup> )	$C_p^\circ$ (J.mole <sup>-1</sup> .K <sup>-1</sup> )
ProCHCl/ -CD	Non linéaire	-12979	1.295	-2012.12

A partir des résultats de ce tableau, on peut conclure que:

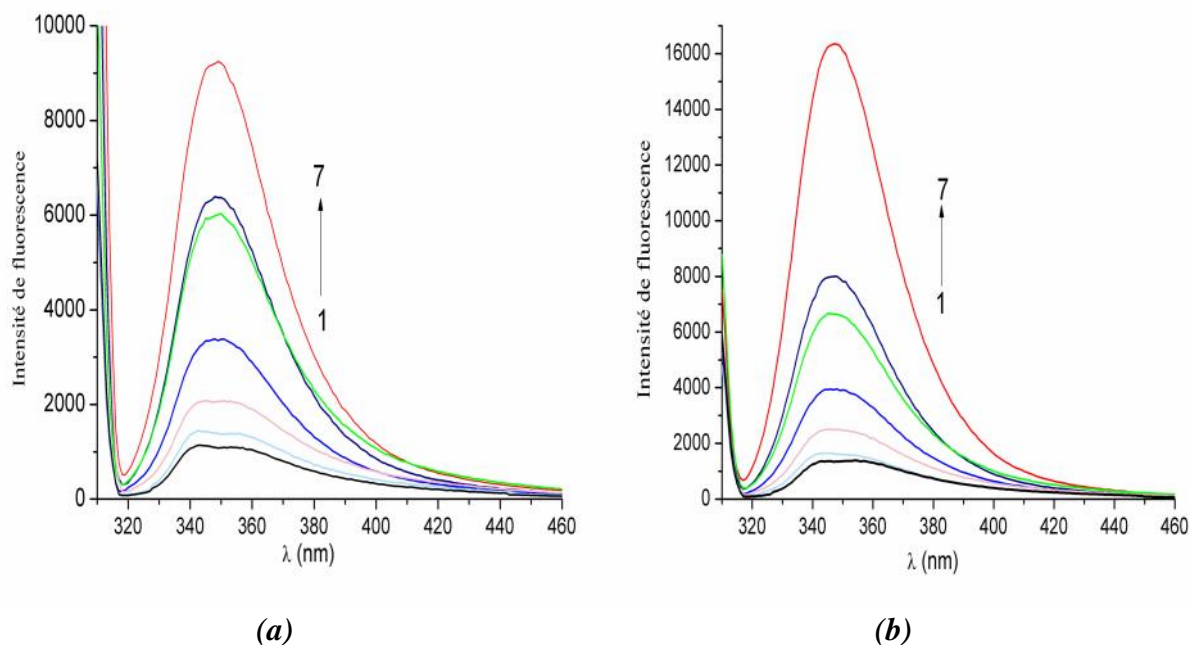
- (i)  $H$ , obtenue avec l'équation III.5, est négative,
- (ii)  $S$ , obtenue avec l'équation III.6, est positive pour des températures inférieures à 25°C et négative pour des températures supérieures à 25°C,
- (iii)  $C_p^\circ$  est toujours négative : une valeur négative de  $C_p^\circ$  est généralement trouvée dans le cas de l'inclusion des molécules non polaires dans la cavité de la CD (Harrison et Eftink, 1982 ; Rekharsky *et al.*, 1994).

Smithrud et collaborateurs (1991) ont expliqué les valeurs négatives de  $C_p^\circ$  par l'augmentation avec la température de la différence d'enthalpie entre les états solvatés des espèces libres et du complexe. Notons que des valeurs positives de  $C_p^\circ$  peuvent être rencontrées dans le cas où les interactions hydrophobes sont responsables de l'association (Sigurskjold et Bundle, 1992), tandis que des valeurs proches de zéro ou nulles correspondent à un petit changement conformationnel (Baines *et al.*, 1992). De plus, des valeurs de  $C_p^\circ$  de l'ordre de  $-2090 \text{ J.mole}^{-1}.\text{K}^{-1}$  sont typiques des associations biologiques et des processus de reconnaissance où des liaisons hydrogène et / ou des groupes polaires sont présents (Harrison et Eftink, 1982 ; Smithrud *et al.*, 1991 ; Diederich *et al.*, 1992 ; Chervenak et Toone, 1994).

L'analyse globale de ces informations indique que la réaction de complexation est gouvernée enthalpiquement à  $T = 25^\circ\text{C}$  ( $H^0 < 0$ ) et entropiquement à  $T > 25^\circ\text{C}$ . Ce modèle est généralement trouvé dans les systèmes biologiques où l'enthalpie gouverne le processus d'association à des températures élevées tandis que c'est l'entropie qui le gouverne à basses température (Hobza, 1988). Une combinaison des interactions hydrophobiques ( $H^0 \sim 0$ ,  $S^0 > 0$ ), des forces de Van der Waals ( $H^0 < 0$ ,  $S^0 < 0$ ) et de la réorganisation du solvant pourraient expliquer un tel modèle thermodynamique.

➤ *Résultats de la fluorescence*

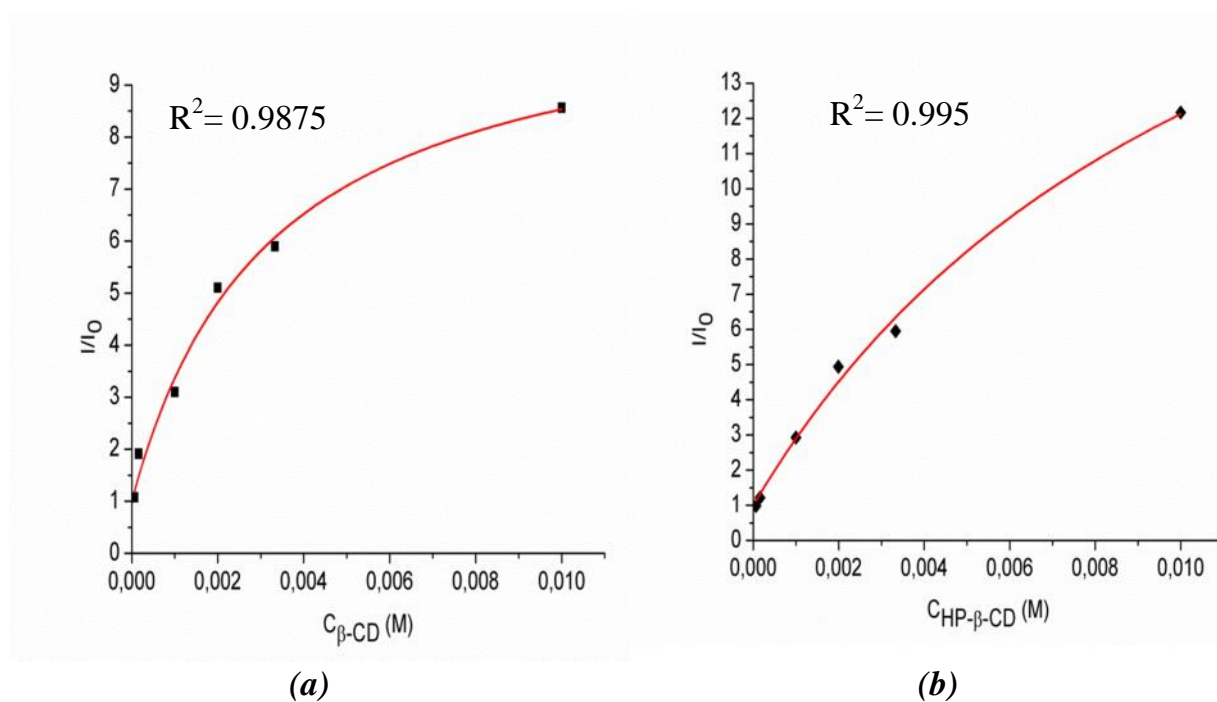
Les spectres d'émission de fluorescence des systèmes ProcHCl/eau/CD à différentes concentrations sont illustrés sur la figure III.14.



**Figure III.14.** Spectres d'émission de ProcHCl à  $5.2 \cdot 10^{-6}$  M en absence et en présence de  $\beta$ -CD (a), HP- $\beta$ -CD (b).

Lorsque la  $\beta$ -CD est ajoutée, un effet hyperchromique se produit en augmentant la concentration de cette CD (figure III.14a). Ce comportement indique qu'un phénomène a eu lieu entre les molécules 'hôte et invité' ; c'est la formation d'un complexe d'inclusion déjà déduit de l'analyse des spectres UV-Vis. La même constatation a été observée lors de l'ajout de HP- $\beta$ -CD à la solution aqueuse de ProcHCl (figure III.14b). Wagner (2006) rapporte que la plupart des sondes fluorescentes sensibles à la polarité montrent une augmentation de l'intensité et un décalage vers le bleu de leur spectre lors de l'inclusion dans la CD. En effet, l'état électronique  $S_1$  de la plupart des fluorophores est plus polaire que l'état fondamental  $S_0$ . Ainsi, la polarité réduite du CD entraîne une déstabilisation importante de l'état excité  $S_1$  relativement polaire, mais une déstabilisation beaucoup plus faible de l'état fondamental  $S_0$  moins polaire qui induit d'une part un élargissement significatif de

l'écart énergétique  $S_1 - S_0$  et provoque dans l'autre une augmentation de l'intensité de fluorescence de l'invité. C'est ce dernier effet qui est exploité pour extraire la constante d'équilibre en ajustant les résultats expérimentaux avec le modèle approprié. Dans ce cas, les constantes d'association sont évaluées à l'aide d'un modèle basé sur une stœchiométrie 1:1, dont l'intensité des pics d'émission est fonction de la concentration de la CD (Eq. II.39).  $I$  et  $I_0$  représentent respectivement l'intensité des pics d'émission du complexe et de la ProcHCl libre, le rapport  $k_{CD-G}/k_G$  représente les constantes de proportionnalité reliant les intensités et les concentrations et  $K$  est la constante d'association. Le graphique de la variation de  $I/I_0$  en fonction de la concentration des CDs est donné dans la figure III.15.



**Figure III.15.** Variation de  $I/I_0$  en fonction de la concentration de  $C_{\beta\text{-CD}}$  (a) et  $C_{\text{HP-}\beta\text{-CD}}$  (b).

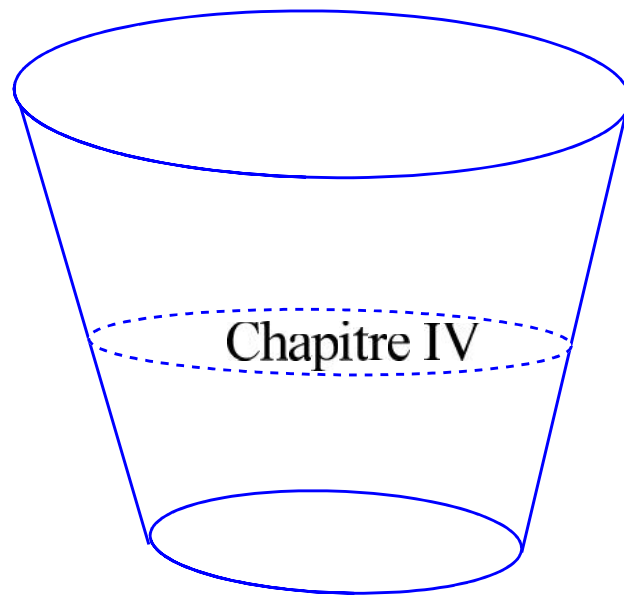
L'ajustement de chaque équation permet de calculer les paramètres  $K$  et  $k_{CD-G}/k_G$  et également de déduire l'enthalpie libre de la réaction  $G^\circ$  comme il est illustré sur le tableau III.4.

**Tableau III.4.** Paramètres d'ajustement  $K$  et  $k_{CD-G}/k_G$  et l'enthalpie libre ( $G^\circ$ ) de la réaction.

	ProcHCl/ $\beta$ -CD	ProcHCl/HP- $\beta$ -CD
$K$ ( $M^{-1}$ )	311.69	85.06
$k_{CD-G}/k_G$	10.95	25.19
$G^\circ$ (Kcal/mole)	-3.422	-2.648

D'après ces résultats, il est évident d'affirmer une fois de plus que le complexe en  $\beta$ -CD est le plus stable que celui de ProcHCl/HP-  $\beta$ -CD et que les réactions de complexation de ProcHCl par ces deux CDs sont favorisées thermodynamiquement.





*Caractérisation structurale  
des complexes d'inclusion*

### IV.1. Introduction

Dans une réaction de complexation par les CDs, la  $^1\text{H}$  RMN qui permet de confirmer que les variations des déplacements chimiques sont bien dues à une réelle inclusion et ne résultent pas de simples interactions de surface. Des variations des déplacements chimiques des protons situés à l'intérieur de la cavité ( $\text{H}_3$  et  $\text{H}_5$ ) seront observées, tandis que les déplacements chimiques des protons localisés à l'extérieur ( $\text{H}_2$ ,  $\text{H}_4$  et  $\text{H}_6$ ) de la cavité restent pratiquement inchangés. La molécule invitée présente quant à elle, des modifications des déplacements chimiques au niveau des protons de la partie incluse dans la cavité de la CD. Les signaux des déplacements chimiques des protons  $\text{H}_3$  et  $\text{H}_5$  de la CD sont généralement décalés vers les champs forts. Ce déplacement est induit par l'effet anisotropique suite à l'inclusion des entités riches en électrons  $\pi$  de l'invité dans la cavité hydrophobe de la CD. Le déplacement vers les champs faibles des signaux des protons de l'invité impliqués dans la complexation est souvent dû au changement de la polarité de son environnement (Ribeiro *et al.*, 2005). Ces variations de déplacements chimiques permettent de confirmer la formation ou non d'un complexe d'inclusion et également d'établir sa géométrie (Piel *et al.*, 2004).

La RMN 2D de son côté apporte des informations précieuses sur la structure des complexes d'inclusion en regardant les corrélations NOE (Nuclear Overhauser Effect). Cette technique est complémentaire à la RMN unidimensionnelle, elle permet de proposer une géométrie du complexe (Pirnau *et al.*, 2014) par identification des proximités spatiales des protons et de détecter les interactions dipolaires intermoléculaires entre les protons de la CD et de la molécule invitée. Plus la distance entre deux protons est grande plus l'intensité de la corrélation NOE est faible. En fait, la distance ne doit pas dépasser 4 Å pour avoir une corrélation.

La caractérisation par RMN du proton à une dimension ( $^1\text{H}$  RMN) et à deux dimensions (RMN ROESY) d'éventuels complexes d'inclusion formés à partir de l'hydrochlorate de procaïne (ProcHCl) et des cyclodextrines ( $\beta$ - et HP- $\beta$ -CD) est discutée dans cette partie. Cette technique fournit grâce à l'analyse des variations des déplacements chimiques ( $\delta$ ), des informations sur les distances relatives moyennes des protons inter- et intramoléculaires.

## IV.2. Protocole de caractérisation par RMN

Les spectres  $^1\text{H}$  RMN ont été enregistrés sur un appareil Bruker Avance III à 300 MHz et une résolution du signal FID à 0,18 Hz/point. Toutes les solutions ont été préparées avec de l'eau deutérée  $\text{D}_2\text{O}$  pure à 99,98 % et dégazées avant l'analyse. Les déplacements chimiques ( $\delta$ ) sont exprimés en partie par million « ppm » par rapport au pic du tétraméthylsilane (TMS) pris comme référence.

Les spectres RMN-ROESY ont été enregistrés sur un appareil Bruker Avance III spectrophotomètre à 500 MHz et les expériences ont été menées avec des temps de mélange de 600 ms durant le spin-lock en utilisant la méthode « States-TPPI ». Toutes les solutions ont été préparées et laissées 24 h à l'équilibre.

## IV.3. Résultats de la RMN du proton à une dimension ( $^1\text{H}$ RMN)

Le tableau IV.1 rassemble les déplacements chimiques des protons de ProcHCl,  $\beta$ - et HP- $\beta$ -CD, tirés des spectres des espèces libres illustrés sur les figures IV.1, IV.2 et IV.3.

**Tableau IV.1.** Déplacements chimiques, en ppm, des protons de ProcHCl,  $\beta$ -CD et HP- $\beta$ -CD.

Déplacements chimiques des protons (ppm)					
ProcHCl		$\beta$ -CD		HP- $\beta$ -CD	
H <sub>a</sub> , H <sub>a'</sub>	6.663, 6.693	H <sub>1</sub>	4.952	H <sub>1</sub>	4.938
H <sub>b</sub> , H <sub>b'</sub>	7.689, 7.719	H <sub>2</sub>	3.546	H <sub>2</sub>	3.527
H <sub>c</sub>	4.453, 4.486	H <sub>3</sub>	3.843	H <sub>3</sub>	3.825
H <sub>d</sub>	3.46, 3.493	H <sub>4</sub>	3.46	H <sub>4</sub>	3.436
H <sub>e</sub> , H <sub>f</sub>	3.163-3.236	H <sub>5</sub>	3.727	H <sub>5</sub>	3.703
H <sub>g</sub> , H <sub>h</sub>	1.167-1.216	H <sub>6</sub>	3.756	H <sub>6</sub>	3.737
-	-	-	-	H <sub>7</sub>	3.378
-	-	-	-	H <sub>8</sub>	3.892
-	-	-	-	H <sub>9</sub>	1.002-1.024

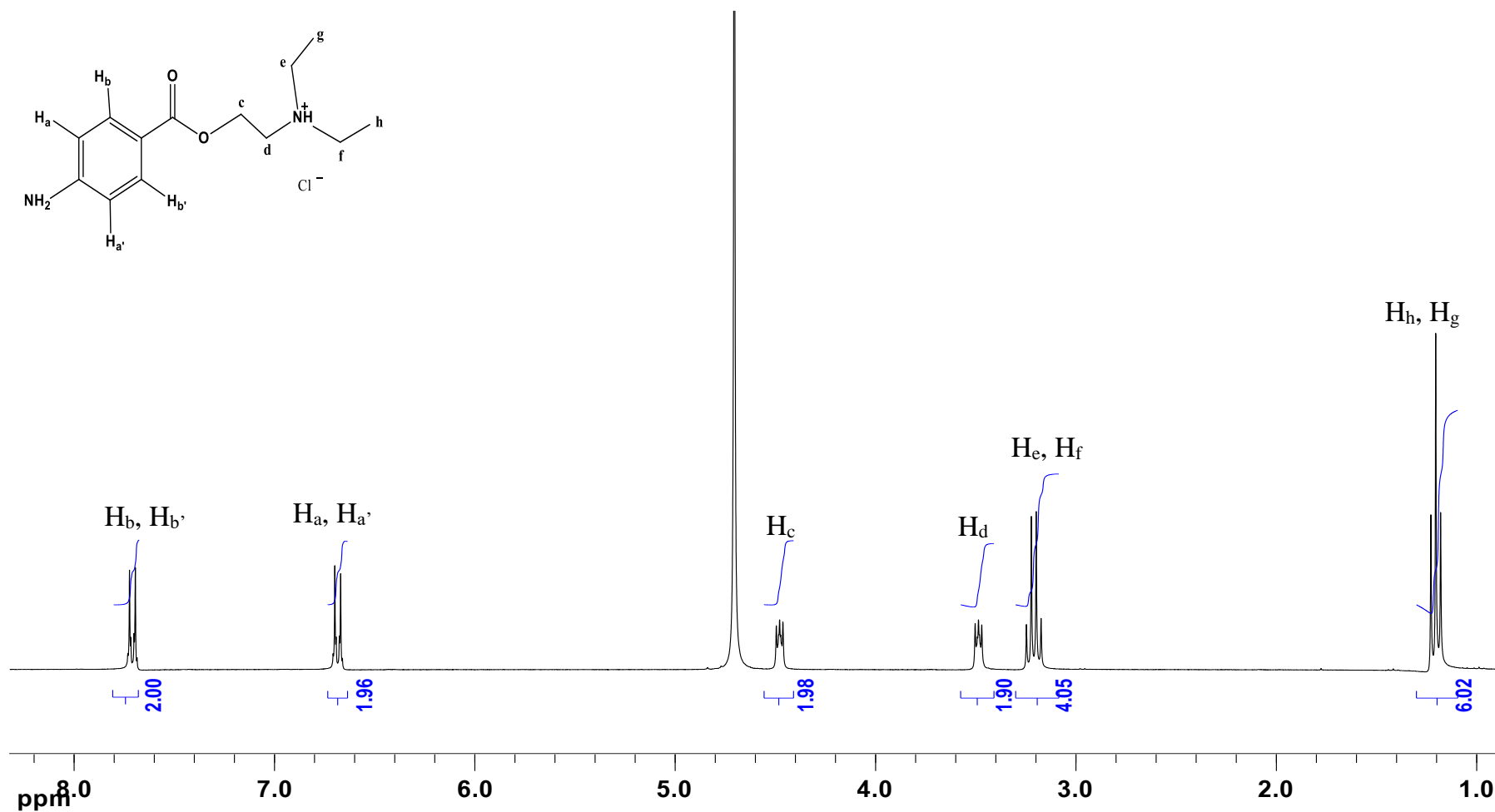


Figure IV. 1. Spectre RMN du proton de la molécule hydrochlorate de procaine

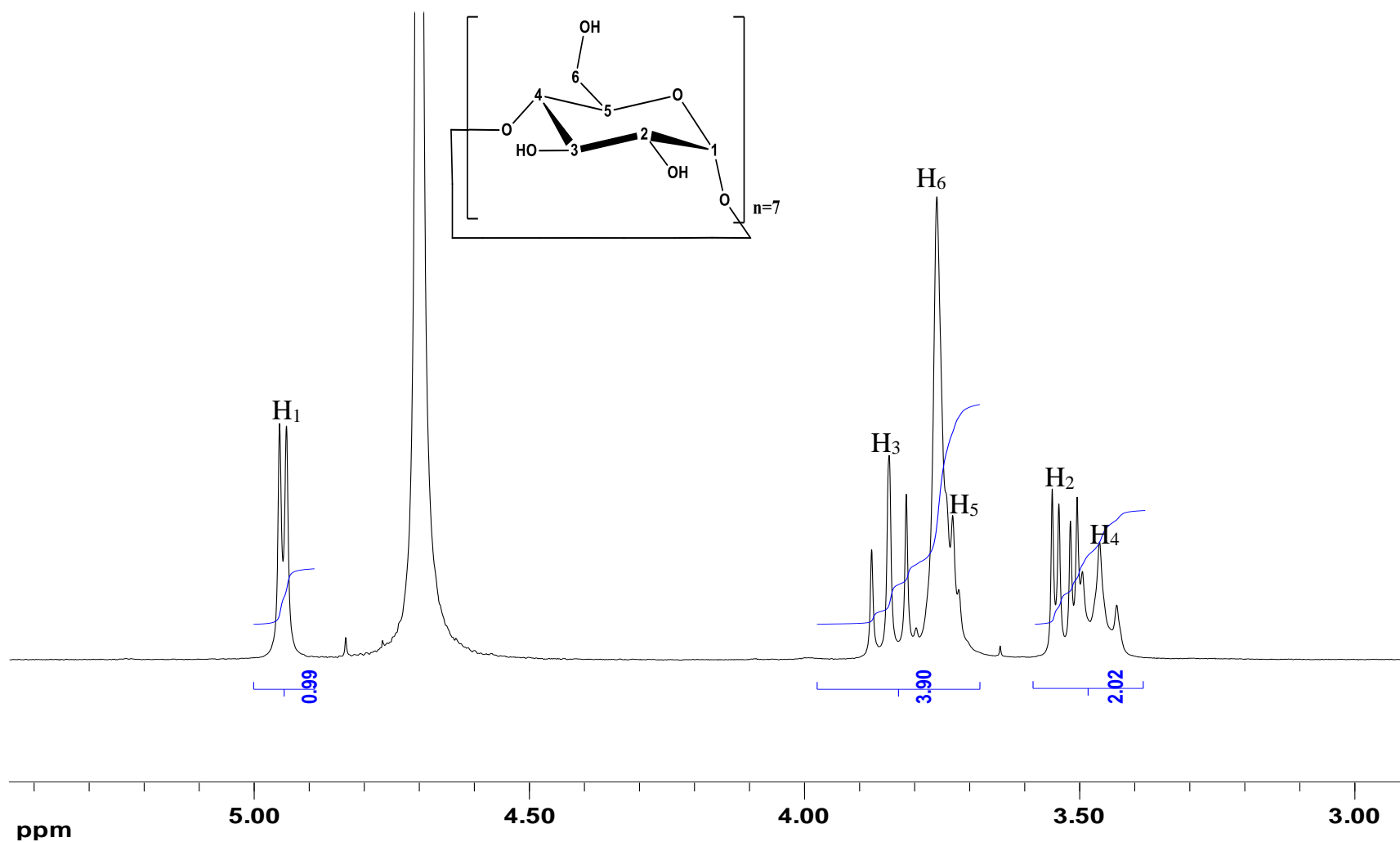


Figure IV.2. Spectre RMN du proton de la molécule de β-CD

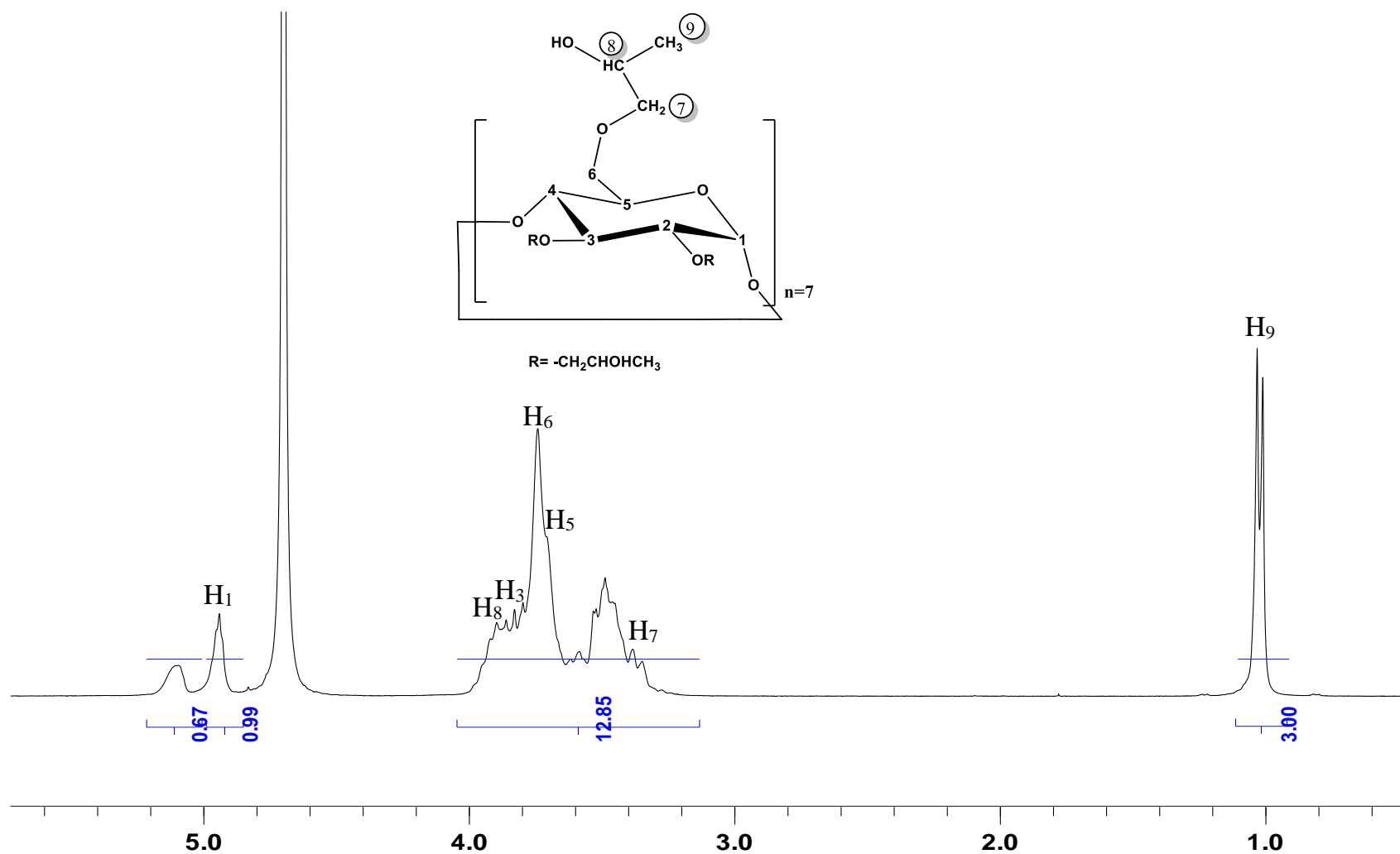


Figure IV.3. Spectre RMN du proton de la molécule de HP-β-CD

L'hydrochlorate de procaïne comprend 18 protons, le  $\beta$ -CD est composé de 7 unités de D-glucose, chacune comprend 2 protons situés à l'intérieur de la cavité, ce sont les protons H<sub>3</sub> et H<sub>5</sub> et 5 protons orientés vers l'extérieur (H<sub>1</sub>, H<sub>2</sub>, H<sub>4</sub> et H<sub>6,6'</sub>). Concernant l'hydroxypropyle- $\beta$ -CD (HP- $\beta$ -CD), elle comporte d'autres protons en plus que le  $\beta$ -CD, il s'agit de 6 protons orientés vers l'extérieur de sa cavité (H<sub>7,7'</sub>, H<sub>8</sub> et H<sub>9,9',9''</sub>).

Il est évident que lors de la formation des complexes d'inclusions procaïne :cyclodextrine, un changement de l'environnement se produit pour les protons de la partie pénétrée de ProCHCl dans la cavité de la CD et pour les protons H<sub>3</sub> et H<sub>5</sub> de cette CD. Les résultats <sup>1</sup>H RMN montrent effectivement qu'il y a une variation des déplacements de ces protons lors de l'interaction de ProCHCl avec  $\beta$ -CD et avec HP- $\beta$ -CD comme le montre les données du tableau IV.2.

**Tableau IV.2.** Changements des déplacements chimiques des protons des espèces complexées ProCHCl/ $\beta$ -CD et ProCHCl/HP- $\beta$ -CD.

ProCHCl/ $\beta$ -CD		ProCHCl/HP- $\beta$ -CD	
proton	$\Delta\delta$	proton	$\Delta\delta$
H <sub>a</sub> , H <sub>a'</sub>	0.08	H <sub>a</sub> , H <sub>a'</sub>	0.07
H <sub>b</sub> , H <sub>b'</sub>	0.01	H <sub>b</sub> , H <sub>b'</sub>	0.01
H <sub>3</sub>	0.1	H <sub>3</sub>	0.09
H <sub>5</sub>	0.2	H <sub>5</sub>	0.18
H <sub>6</sub>	0.04	H <sub>6</sub>	0.01

Les protons aromatiques H<sub>b</sub> et H<sub>b'</sub> situés à proximité du groupe attracteur de CO sont moins blindés par rapport à ceux de H<sub>a</sub> et H<sub>a'</sub> situés en position ortho. Lorsque la complexation avec  $\beta$ -CD et HP- $\beta$ -CD se produit, des décalages des déplacements chimiques, en particulier pour les protons aromatiques H<sub>a</sub> et H<sub>a'</sub>, H<sub>3</sub> et H<sub>5</sub> ont lieu comme le rapporte les figures IV.4 et IV.5.

Pour le complexe ProCHCl/ $\beta$ -CD, une variation de 0,08 ppm est trouvée pour les protons H<sub>a</sub> et H<sub>a'</sub> alors qu'un déplacement de 0,01 ppm seulement est noté pour ceux de H<sub>b</sub> et H<sub>b'</sub>. Ainsi, combiné avec la variation observée des déplacements chimiques des

protons  $H_3$  et  $H_5$  de la cavité  $\beta$ -CD, il est justifié de conclure que la molécule de ProcHCl pénètre par son cycle benzénique dans les cavités de ces CDs.

Pour le complexe ProcHCl/HP- $\beta$ -CD, les plus grandes variations des déplacements chimiques sont enregistrées pour  $H_a$  et  $H_a'$  (0.07 ppm) et pour  $H_5$  (0.18 ppm). Ce résultat suggère que le cycle benzénique de ProcHCl a tendance de pénétrer dans la cavité de cette CD modifiée.

L'intégration montre la présence des protons en plus dans les spectres du complexes d'inclusion, cela peut être justifié par l'excès de la CD par rapport à la ProcHCl. Dans ce cas certaines molécules de CD n'entre pas dans la réaction de complexation et peuvent former des d'arrangements de types tête-à-tête et tête-à-queue. Notons que dans un arrangement tête-à-tête, les groupes hydroxyles secondaires de deux les CDs se font face et sont reliées par des liaisons hydrogène pour créer une cavité similaire à un canon, mais dans la disposition tête-queue, l'hydroxyle primaire fait face à côté de l'hydroxyle secondaire de l'autre CD, formant des liaisons hydrogène et des cycles de CDs seront alors empilées linéairement. D'un autre côté, la partie de l'hydrochlorate de procaine non incluse dans la cavité de la CD peut être entourée par des molécules de CDs ce qui entraine l'apparition de nouveaux déplacements chimiques.



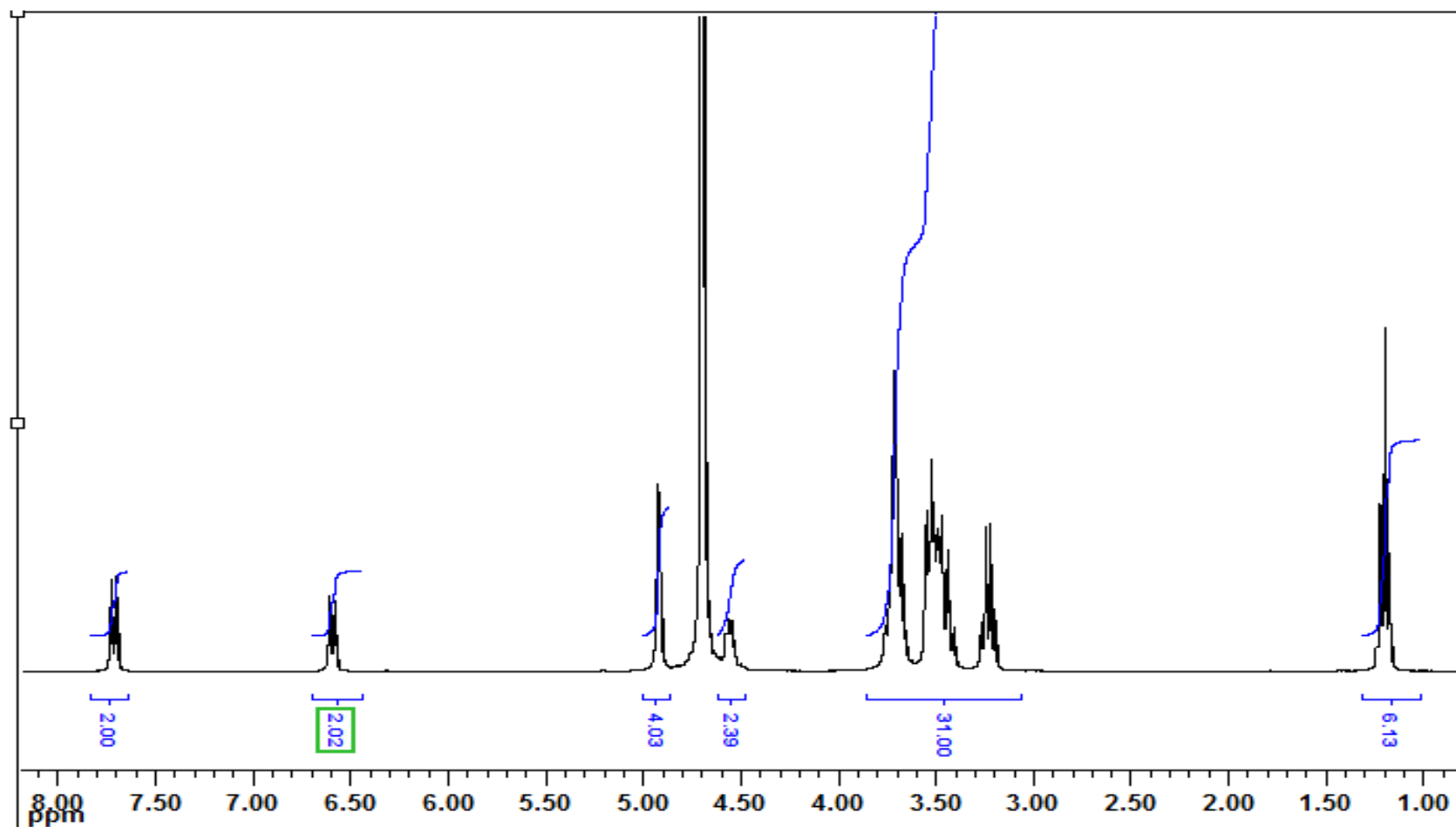


Figure IV.4. Spectre RMN du proton du complexe ProchCl/β-CD

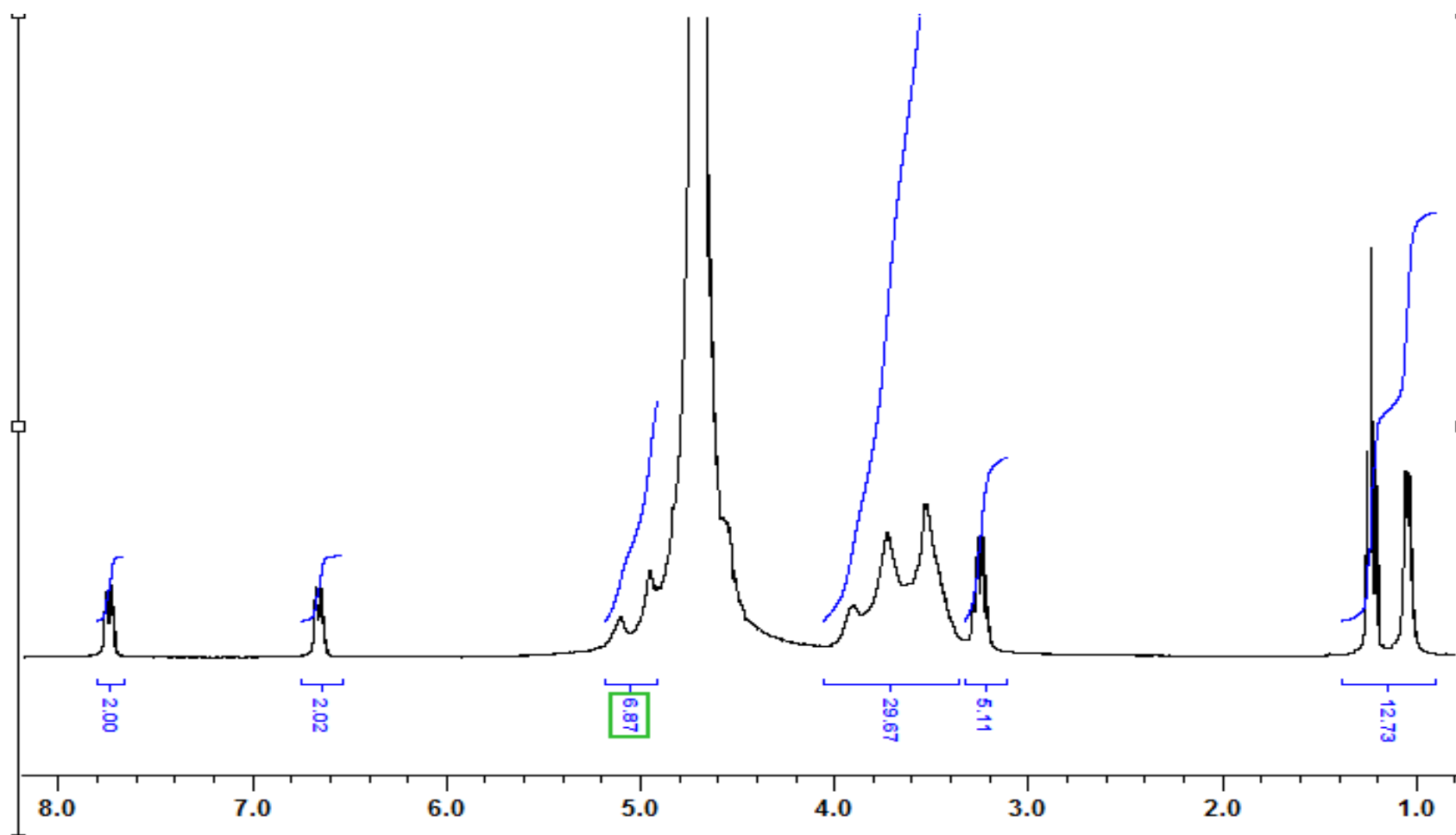
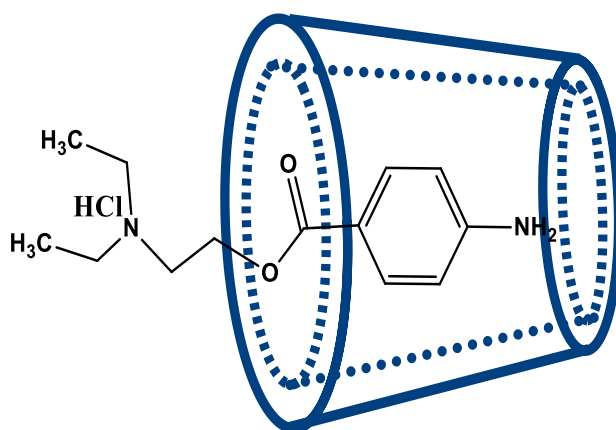


Figure IV.5. Spectre RMN du proton du complexe ProchCl/HP- $\beta$ -CD

#### IV.4. Résultats de la RMN du proton à deux dimensions (RMN ROESY)

La caractérisation des complexes d'inclusion par la RMN à deux dimensions (RMN ROESY) est une justification des résultats trouvés par les techniques de caractérisation précédentes. Les zones d'intersection dans les spectres à deux dimensions montrent la nature du groupement de ProcHCl qui entre en interaction avec la CD (figures IV.6, 7). L'existence de plusieurs pics croisés (intersections encadrés) justifie le couplage entre les protons de l'anneau aromatique de la procaine  $H_a$ ,  $H_a$ ,  $H_b$  et  $H_b'$  et les protons  $H_2$ ,  $H_3$ ,  $H_4$ ,  $H_5$  et  $H_6$  de  $\beta$ -CD (figure IV.6) et également avec les protons  $H_3$  et  $H_5$  de HP- $\beta$ -CD (figure IV.7). Ces résultats montrent que la molécule de ProcHCl forme des complexes d'inclusion avec  $\beta$ -CD et HP- $\beta$ -CD et qu'elle pénètre par son groupe  $H_2N$ -Phényl dans les cavités de ces CD.

L'architecture proposée des complexes formés peut être alors illustrée sur la figure IV.8.



**Figure IV.8.** architecture des complexes d'inclusion ProcHCl/CD

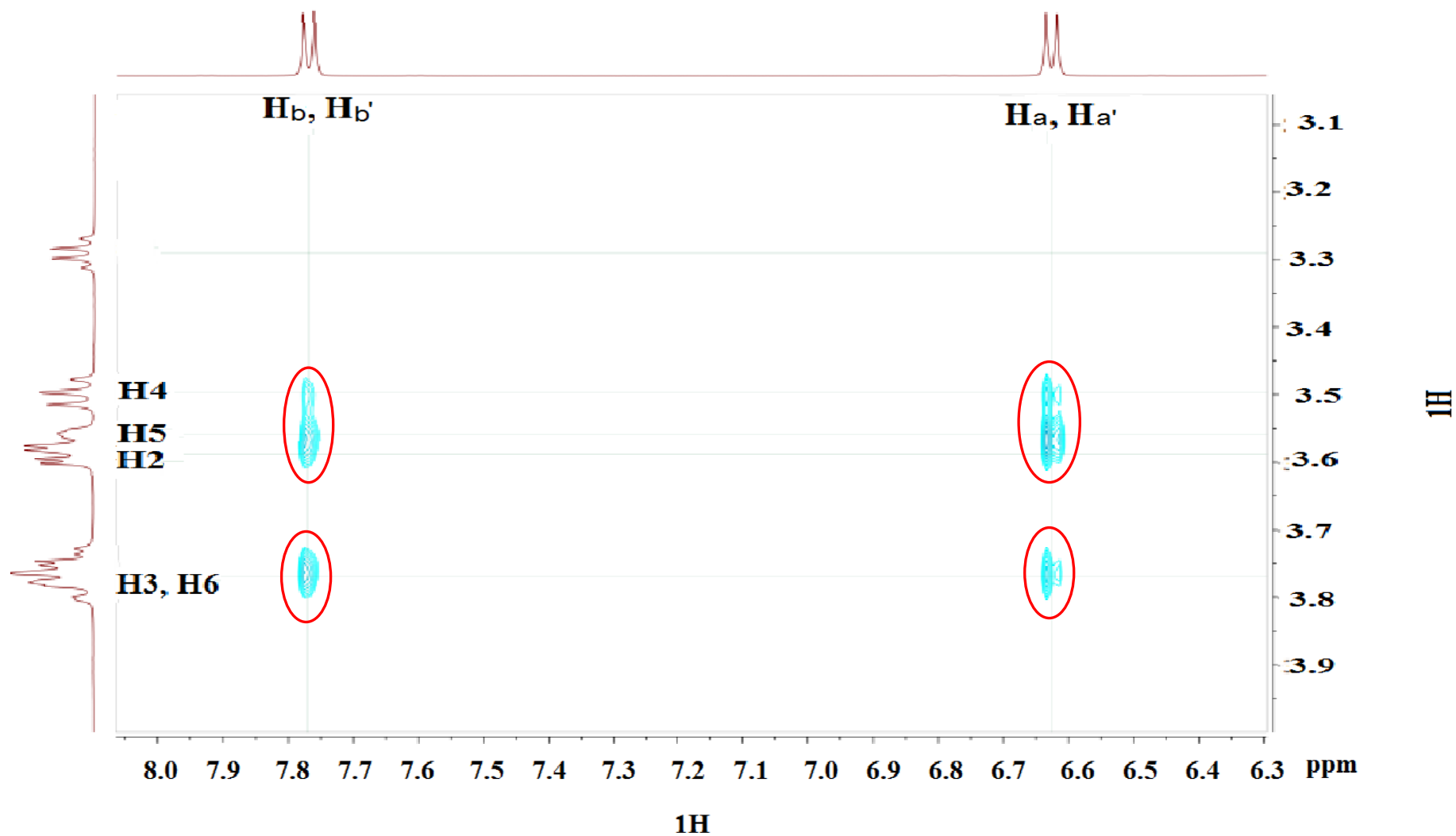


Figure IV.6. Spectre RMN ROESY de la complexation de ProchCl par  $\beta$ -CD.

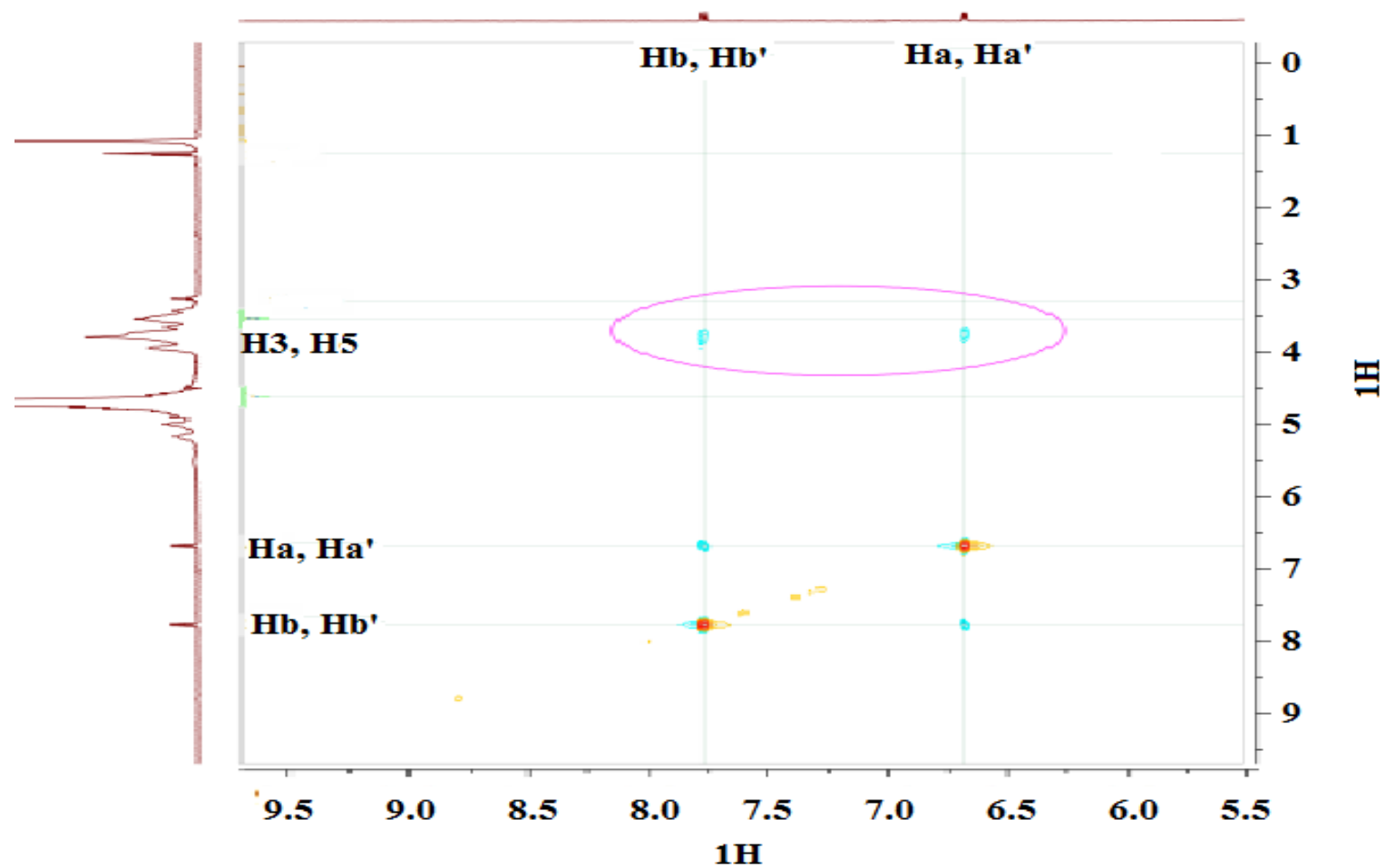
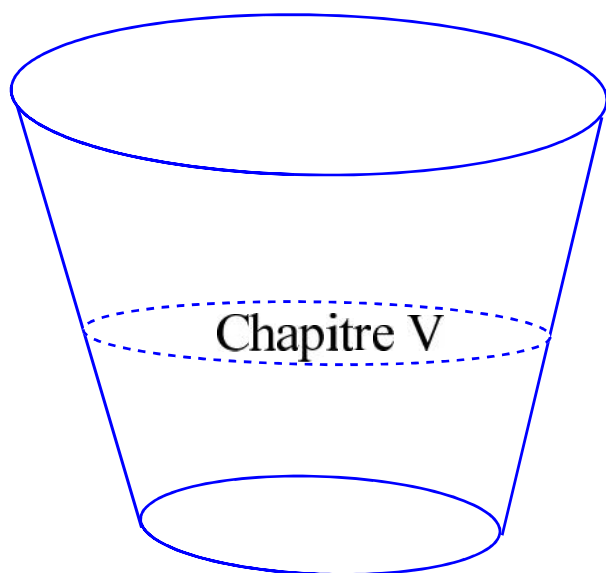


Figure IV.7. Spectre RMN ROESY de la complexation de ProCHCl par HP- $\beta$ -CD.



*Complexes d'inclusion & modélisation  
moléculaire*

## V. Complexes d'inclusion & modélisation moléculaire

Dans cette section d'étude, deux méthodes de modélisation moléculaire ont été utilisées :

L'amarrage « docking » moléculaire pour examiner la capacité de  $\alpha$ -,  $\beta$ - et HP- $\beta$ -CD d'encapsuler la procaine au sein de leur cavités.

Les méthodes de modélisation quantique pour analyser les interactions entre ProcHCl et la  $\beta$ -CD et prévoir l'architecture du complexe formé.

### V.1. Méthodes de calcul

#### a) Docking moléculaire

L'amarrage (docking) moléculaire est une stratégie intéressante pour examiner l'interaction ligand-récepteur en utilisant les principes de la mécanique moléculaire. L'amarrage est effectué pour prédire les énergies de liaison entre la procaine et les CDs ou l'interaction ligand-récepteur, en utilisant le programme Auto Dock 4.2 (Morris *et al.*, 1998). Les structures 3D de la  $\alpha$ -CD et de la  $\beta$ -CD sont extraites du complexe de l'alpha-amylase (Protein Data Bank) (Larson *et al.*, 2010 ; Yokota *et al.*, 2001). Les trois isomères de positions de HP- $\beta$ -CD (substitution molaire 0,6) sont obtenus via une substitution des groupes hydroxyles de  $\beta$ -CD par le radical ( $R = \text{CH}_2\text{CHOHCH}_3$ ) comme décrit par Mura *et al.* (1995) (figure V.1 en annexe). La structure de l'hydrochlorate de procaine est construite à l'aide du logiciel GaussView 3.0. Toutes les structures des composés sélectionnés sont optimisées en utilisant la méthode PM3 implémentée dans Gaussian 09 (Frisch *et al.*, 2009). Dans la simulation de l'amarrage, la méthode de l'algorithme génétique Lamarkian est utilisée pour générer les interactions possibles entre les récepteurs rigides (CDs) et le ligand flexible (procaine). Afin de rechercher les énergies d'interactions favorables entre l'hôte et l'invité, une grille de dimensions  $60\text{\AA} \times 60\text{\AA} \times 60\text{\AA}$  avec un espacement de  $0,375\text{\AA}$  où la molécule hôte occupe le centre de la boîte (box). La procaine est amarrée aux molécules de CDs en utilisant les coordonnées cartésiennes suivantes comme le centre de l'espace de recherche:  $x = 2,5 \text{ \AA}$ ,  $y = 6,5 \text{ \AA}$  et  $z = 7,5 \text{ \AA}$ .

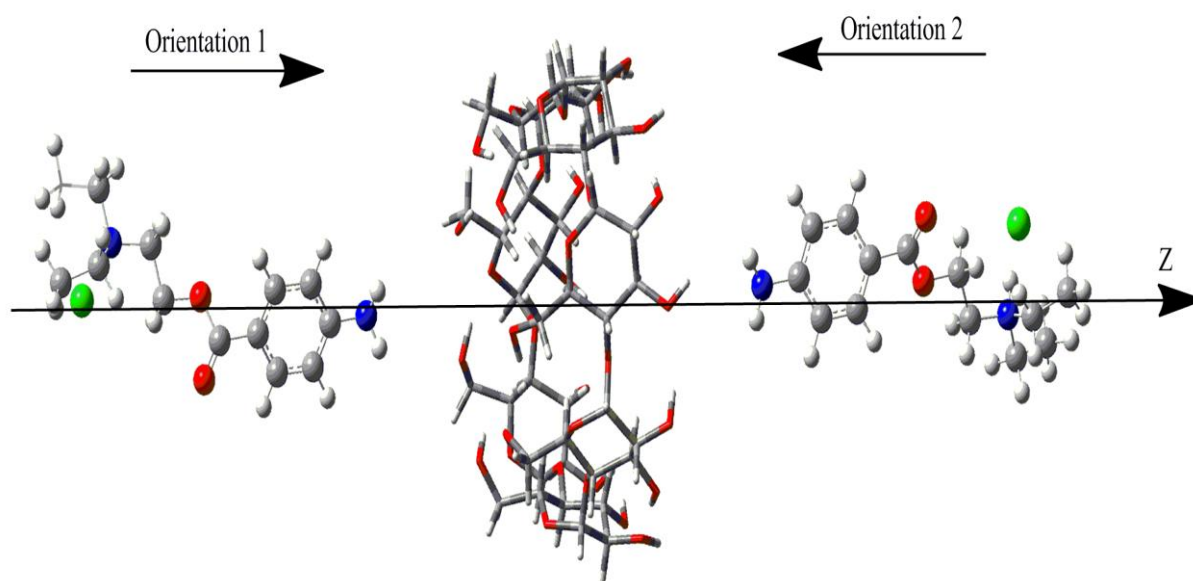
**b) Les méthodes de chimie quantique**

Les calculs effectués en utilisant les méthodes de chimie quantique sont réalisés avec le logiciel Gaussian 09 aux conditions standards (1atm et 25 °C). La structure initiale de la procaïne a été construite à l'aide du logiciel GaussView 3.0 et celle du  $\beta$ -CD a été extraite de Chem-office 3D ultra (version 6.0, logiciel Cambridge). Les deux structures, procaïne et  $\beta$ -CD, ont d'abord été optimisées séparément par la méthode semi-empirique PM3 (Stewart, 1989) pour obtenir les géométries optimisées de départ nécessaires au calcul SCAN. La méthode PM3 est préférée entre autres méthodes semi-empiriques car elle est reconnue comme la plus appropriée dans l'étude conformationnelle des systèmes supramoléculaires tels que les composés d'inclusion; elle offre de meilleures performances et donne de bonnes estimations pour l'optimisation des géométries de départs (Yang *et al.*, 2004 ; Cao *et al.*, 2003 ; Rafati *et al.*, 2007 ; Liu et Guo 2004 ; Chekirou *et al.*, 2012). Des calculs de fréquences de vibration ont été effectués sur les structures de départ pour confirmer l'exhaustivité de l'optimisation.

**❖ Processus d'insertion**

Pour le processus d'insertion de ProCHCl dans la cavité de  $\beta$ -CD, deux orientations sont possibles; le fragment amine ( $-\text{NH}_2$ ) de cette drogue est orienté vers la face étroite « primaire » (orientation 1) ou vers la face large « secondaire » (orientation 2) de  $\beta$ -CD comme le montre la figure V.2, et l'insertion est effectuée jusqu'à la détection du minimum d'énergie. Le processus d'inclusion a été réalisé le long de l'axe Z avec un pas de 0,5 Å, en maintenant les atomes de  $\beta$ -CD figés.





**Figure V.2.** Processus d'inclusion de ProcHCl dans la cavité de  $\beta$ -CD.

Il est important de souligner que le groupe quaternaire  $(-\text{NH}(\text{C}_2\text{H}_5)_2)^+$  de la procaine est volumineux et ne peut pas être inséré dans la cavité de cette CD en raison de l'effet stérique, ce qui est cohérent avec le résultat trouvé par Pirnau et collaborateurs (2014) en utilisant la spectroscopie RMN.

Un calcul plus précis a été effectué sur la structure du complexe d'énergie la plus basse par la méthode ONIOM (Dapprich *et al.*, 1999). Deux méthodes de chimie quantique sont combinées; une méthode semi-empirique (PM3) et une méthode plus précise «la théorie fonctionnelle de la densité DFT». L'ensemble du système est divisé en deux niveaux, le modèle (ProcHCl) et le système réel (complexe). Un calcul de haut niveau (DFT) est effectué pour le système modèle alors qu'un bas niveau de calcul (PM3) est effectué pour le modèle et le système réel.

$$E_{\text{ONIOM}} = E_{\text{bas}}(\text{complexe}) + E_{\text{haut}}(\text{ProcHCl}) - E_{\text{bas}}(\text{ProcHCl}) \quad (\text{V.1})$$

Trois fonctionnelles d'échange et de corrélation sont choisies; B3LYP: la fonctionnelle la plus utilisée dans les calculs de chimie quantique en raison de son efficacité et de la qualité des résultats, WB97XD: une fonctionnelle de dispersion, utilisée pour étudier

les interactions à longue distance, et M06-2X: une fonctionnelle utilisée pour prédire la présence de liaisons hydrogène. La base d'orbitales atomiques utilisée dans cette section de calculs est la base de valence séparée (split valence) 6-31G (d,p).

Pour quantifier l'interaction entre l'hôte et l'invité dans la géométrie optimisée, nous avons évalué l'énergie de complexation et d'interaction à l'aide des équations suivantes:

$$E_{\text{complexation}} = E_{\text{complexe}} - (E_{\text{opt}}^{\beta\text{-CD}} + E_{\text{opt}}^{\text{ProcHCl}}) \quad (\text{V.2})$$

$$E_{\text{interaction}} = E_{\text{complexe}} - E(\text{ProcHCl})_{\text{sp}} - E(\beta\text{-CD})_{\text{sp}} \quad (\text{V.3})$$

où  $E_{\text{complexe}}$ ,  $E_{\text{opt}}(\beta\text{-CD})$  et  $E_{\text{opt}}(\text{ProcHCl})$  dans la première équation désignent, respectivement, les énergies des géométries optimisées du complexe 1:1, la molécule hôte libre ( $\beta\text{-CD}$ ) et la ProcHCl. Les termes  $E(\text{ProcHCl})_{\text{sp}}$ ,  $E(\text{host})_{\text{sp}}$  représentent respectivement les énergies des points uniques (pour single point energy) des géométries de  $\beta\text{-CD}$  et de ProcHCl tirées du complexe.

Au cours du processus d'inclusion, la ProcHCl subira une déformation structurelle due de son interaction avec la  $\beta\text{-CD}$ . Cette énergie de déformation est définie par l'équation (V.3):

$$E_{\text{déformation}} = E(\text{ProcHCl})_{\text{sp}} - E(\text{ProcHCl})^{\text{opt}} \quad (\text{V.3})$$

L'examen de l'effet du solvant sur la stabilité des complexes d'inclusion est un procédé qui simule le comportement des édifices moléculaires complexes dans un milieu aqueux. L'idée est de représenter le solvant de manière implicite (comme étant un milieu continu) pour modéliser les interactions électrostatiques dues au solvant en plaçant le soluté (complexe) dans une cavité entourée de molécules de solvant considérées comme un continuum. Ce modèle de continuum est le modèle de la cavité d'Onsager », dénommé modèle SCRF, pour « Self-Consistent Reaction Field » (Onsager, 1936). Ce modèle est implémenté dans le programme Gaussian, il utilise une cavité idéale (sphérique ou ellipsoïdale) qui permet une solution analytique pour le calcul de l'énergie d'interaction entre le multipôle du soluté et celui du continuum.

L'analyse de la nature des interactions intermoléculaires (hôte-invité) se fait en utilisant la méthode des orbitales naturelles de liaison (Natural Bond Orbital 'NBO'). L'idée originale des NBO est de proposer un découpage de la densité électronique d'un système moléculaire pour décrire la structure électronique de la molécule dans un schéma de type Lewis. Le transfert de charge entre les NBO occupés (donneurs) de type Lewis et les NBO inoccupés (accepteurs) est estimé par la théorie des perturbations de second ordre. Pour chaque donneur NBO (i) et accepteur (j), l'énergie de stabilisation de délocalisation des électrons est donnée par l'équation V.4 (Sadjadi *et al.*, 2007).

$$E^{(2)} = \Delta E_{ij} = q_i \frac{|F_{ij}|^2}{\epsilon_j^{NL} - \epsilon_i^L} \quad (\text{V.4})$$

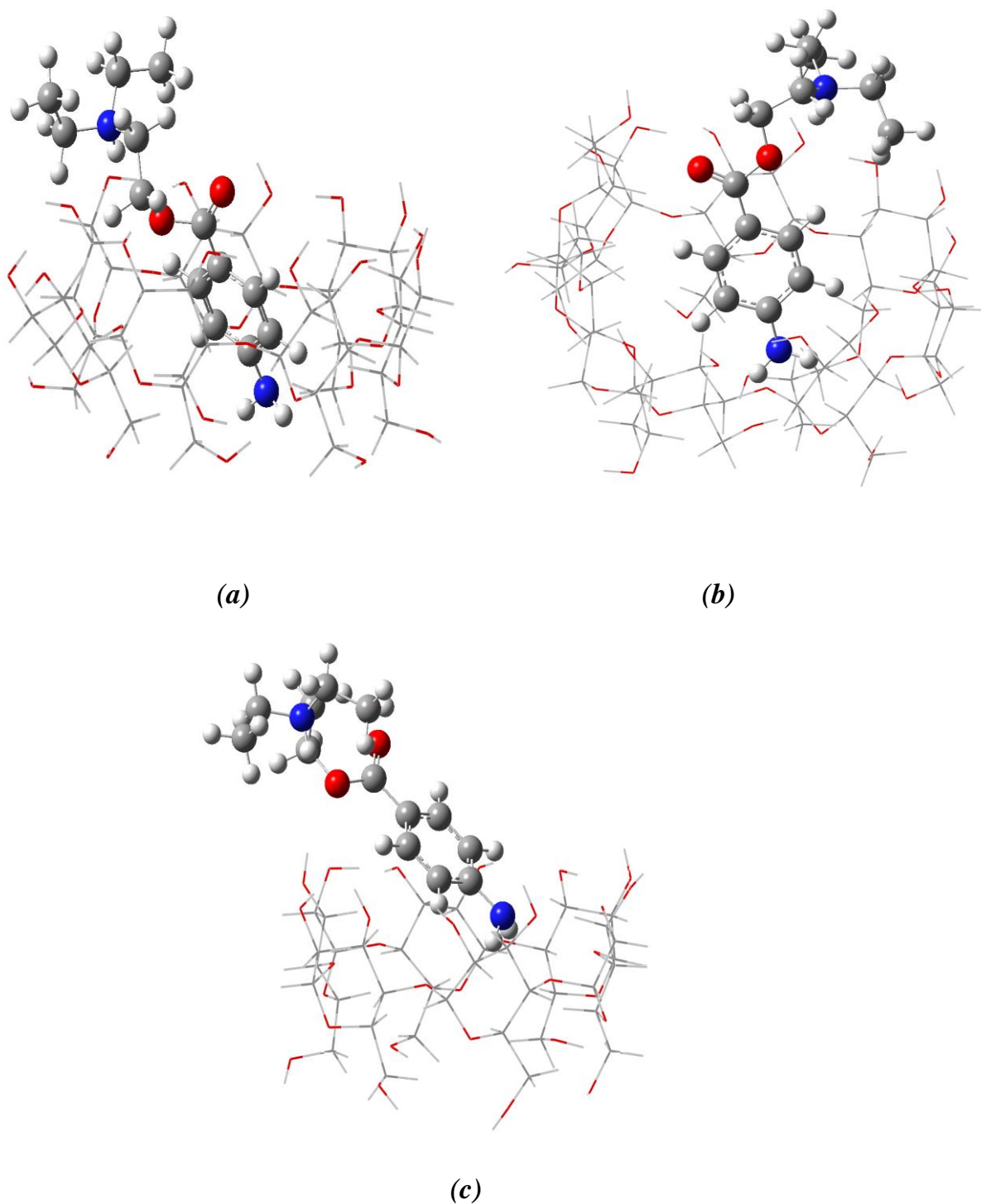
où  $q_i$  est l'occupation de l'orbitale donneuse,  $F(i,j)$  sont les éléments de la matrice de Fock et  $\epsilon_i$ ,  $\epsilon_j$  sont les énergies des orbitales NBO.

Pour étudier la nature des transitions électroniques, la DFT dépendante du temps (TD-DFT) est capable de détecter les longueurs d'onde d'absorption qui correspondent à des transitions électroniques calculées à partir de l'état fondamental, car l'absorption n'est rien d'autre que la réponse d'un système à un champ électrique dépendant du temps et l'on peut donc en principe utiliser la TD-DFT pour obtenir directement des spectres d'absorption. Les calculs effectués visent l'examen de l'effet de la complexation de ProcHCl sur les informations spectrales en utilisant le modèle de continuum polarisable (PCM pour Polarizable Continuum Model), l'eau est choisi comme solvant et B3LYP/6-31G(d,p) comme méthode de calcul.

## V.2. Discussion des résultats de l'amarrage moléculaire

Les structures des complexes d'inclusion obtenues lors des processus d'amarrage moléculaire montrent que la procaine pénètre par son groupement amine (-NH<sub>2</sub>) dans les cavités de  $\beta$ -CD et de HP- $\beta$ -CD (figures V.3a, 3b). Ceci montre l'existence d'une adéquation entre les formes des cavités de ces deux CDs et la taille de cette drogue, tandis que l'inclusion de la procaine dans la cavité de  $\alpha$ -CD est inhibé par l'effet stérique, en d'autres termes, le diamètre relativement petit de la cavité de  $\alpha$ -CD

entrave le procédé d'inclusion (figure V.3c). Ce résultat est en accord avec les observations expérimentales qui font l'objet de cette étude. Les conformations des complexes formés sont soumises à une optimisation par la méthode semi-empirique PM3 pour calculer les énergies de complexation (tableau V.1).



**Figure V.3.** Structures et des complexes procaine: $\beta$ -CD (a) et procaine:HP- $\beta$ -CD (b) et de l'association procaine: $\alpha$ -CD (c).

**Tableau V.1.** Energies de complexation de procaine:  $\beta$ -CD et procaine: HP- $\beta$ -CD

Complexe	Distribution des substituants dans les CDs	Energie de complexation (Kcal/mole)
Procaine: $\beta$ -CD	-	-28.55
Procaine: HP- $\beta$ -CD 0.6	(a)	-22.11
Procaine: HP- $\beta$ -CD 0.6	(b)	-25.97
Procaine: HP- $\beta$ -CD 0.6	(c)	-21.64

(a) la substitution des groupements OH primaires se fait de manière uniforme sur les unités de glucoses.

(b) trois substituants regroupés sur une unité de glucose, le quatrième substituant sur un groupement OH primaire.

(c) les substituants forment une chaîne oligomérique sur les groupements OH primaire.

Sur le tableau V.1, les valeurs négatives des énergies de complexation indiquent que les complexes d'inclusion formés sont stables par rapport aux réactifs de départ (procaine et CD). Le complexe à base de  $\beta$ -CD est énergétiquement stable par rapport à celui à base de HP- $\beta$ -CD, c'est le même ordre de stabilité observé expérimentalement. Les calculs d'amarrage montrent également que la réaction de complexation de la procaine par les trois isomères de la HP- $\beta$ -CD conduit à des résultats de même ordre de grandeur avec une complexation plus favorable de la procaine par la forme (b) de HP- $\beta$ -CD. La stabilité des complexes formés est contrôlée par des forces de faibles énergies en raison de l'absence d'aucune nouvelle liaison covalente.

### V.3. Discussion des résultats des calculs de chimie quantique

Dans cette partie d'étude, seule la stœchiométrie 1:1 est considérée pour explorer la complexation de ProcHCl par  $\beta$ -CD. L'optimisation des géométries des réactifs et les calculs de fréquences de vibration, effectués par la méthode PM3, montrent que les deux structures de départ correspondent à des états stationnaires. Les calculs de balayage 'SCAN' indiquent qu'aucun minimum n'a été observé lors de l'insertion du fragment amine (-NH<sub>2</sub>) de ProcHCl par la face primaire de  $\beta$ -CD (orientation 1). Seule l'insertion de ProcHCl par la face secondaire (orientation 2) a conduit à un minimum d'énergie comme le montre la courbe de l'énergie potentielle (figure V.4).

Les valeurs négatives des énergies de complexation pour toutes les positions de la courbe de l'énergie potentielle signifient que la structure du complexe est plus stable par rapport aux structures de départ. L'énergie de complexation au minimum vaut -13,5 kcal/mole ; une valeur plutôt faible qui suggère que les associations de type covalente n'ont pas lieu et seules des interactions de faible énergie assurent alors la stabilité du complexe formé. De point de vue pharmacocinétique, la ProcHCl peut être donc facilement libérée lors de son arrivée à l'organisme, notamment à des températures supérieures à 25°C ; température à laquelle les calculs ont été effectués. Néanmoins, le minimum énergétique réel correspond au minimum dont les atomes de  $\beta$ -CD ne sont pas figés, il faut alors libérer complètement la structure du complexe pour avoir le vrai minimum. Les énergies du complexe à l'état libre dans le vide et dans l'eau sont respectivement de -1577.2 et -1603.07 Kcal/mole et le calcul des fréquences vibrationnelles confirme que la structure du complexe correspond effectivement à un état stationnaire.

D'après la figure V.5, l'architecture du complexe d'inclusion au minimum montre que le cycle benzylique de ProcHCl pénètre complètement dans la cavité de  $\beta$ -CD.

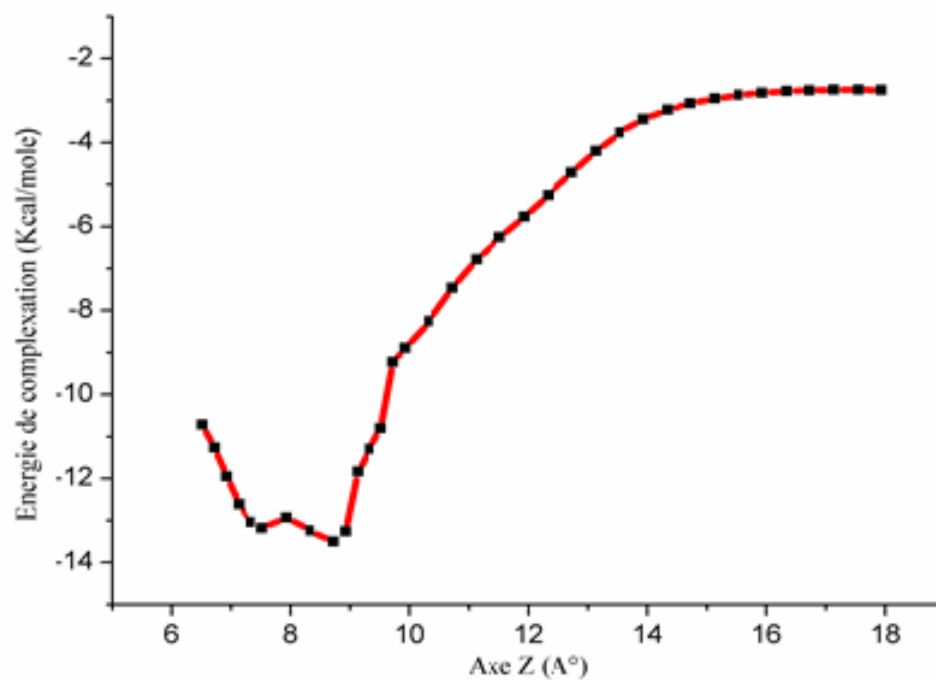


Figure V.4. Energies de complexation de ProcHCl/ $\beta$ -CD à différentes positions

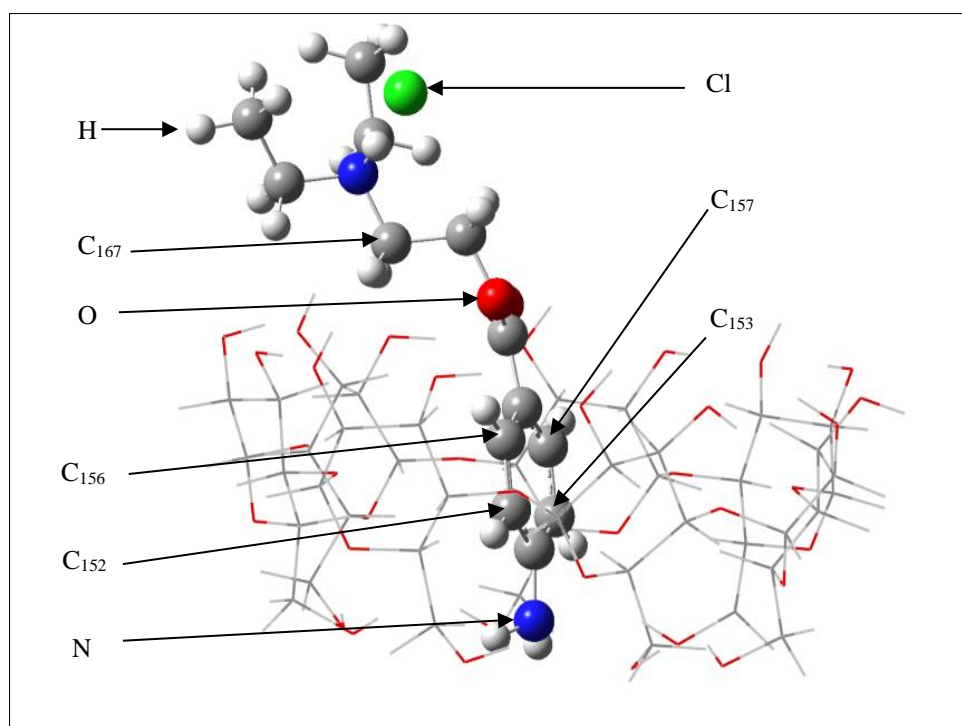


Figure V.5. Structure du complexe (ProcHCl/ $\beta$ -CD)

La partie de la molécule invitée restante à l'extérieur de la cavité peut être entourée par d'autres molécules de  $\beta$ -CD ou plus probablement par des molécules de solvant car cette partie représente un pôle hydrophile.

Afin d'obtenir des résultats plus précis pour la géométrie du complexe formé, nous avons effectué des calculs d'optimisation par la méthode ONIOM. Les principales quantités énergétiques, rassemblées dans le tableau V.2, montrent que lorsque l'effet de solvation est pris en compte, l'énergie de complexation devient plus basse ( $-14,68 \text{ Kcal.mole}^{-1}$ ) et l'écart HOMO/LUMO passe de  $8,272 \text{ eV}$  pour l'état gaz à  $8.61 \text{ eV}$  en présence de solvant. Le solvant est alors un facteur favorisant la réaction de complexation et peut affecter positivement la stabilité du complexe d'inclusion. La structure de la procaine a été déformée en raison des forces d'interaction exercées sur elle par le  $\beta$ -CD, sans destruction d'aucune liaison covalente.

**Tableau V.2.** Les principales quantités énergétiques du complexe (ProcHCl/ $\beta$ -CD).

	Complexe : ProcHCl / $\beta$ -CD	
	Dans le vide	Dans l'eau
Energie PM3 (Kcal/mol)	-1549.86	-1603.07
Ecart HOMO/LUMO (eV)	8.272	8.61
$\Delta_r G^\circ$ (Kcal/mole)	-17.78	-18.1
Energie de complexation (Kcal.mole <sup>-1</sup> )	-13.51	-14.68
Energie d'interaction (Kcal.mole <sup>-1</sup> )	-14.7	-14.94
Energie de déformation de ProcHCl (Kcal.mole <sup>-1</sup> )	1.2	1.27
Variation de l'entropie $\Delta S$ (cal.mole <sup>-1</sup> .K <sup>-1</sup> )	-66.41	-67.04
ONIOM [B3LYP/6-31(d,p): PM3] (Kcal.mole <sup>-1</sup> )	-772216.17	-
ONIOM [M06-2X/6-31(d,p): PM3] (Kcal.mole <sup>-1</sup> )	-771956.17	-
ONIOM [WB97XD/6-31(d,p): PM3] (Kcal.mole <sup>-1</sup> )	-772038.37	-



Les grandeurs thermodynamiques obtenues lors des calculs de fréquences de vibration indiquent que le complexe formé est bien structuré (la variation de l'entropie est négative) et la réaction de complexation est favorisée thermodynamiquement ( $\Delta_r G < 0$ ). En revanche, l'utilisation de la méthode ONIOM permet de sélectionner la meilleure combinaison entre deux méthodes de calcul, les résultats obtenus suggèrent que la combinaison B3LYP/6-31G (d, p): PM3 permet de prédire le bon minimum d'énergie.

#### ❖ Analyse NBO

Une analyse des orbitales naturelles de liaisons (NBO) a été effectuée comme une approche puissante pour l'évaluation des interactions intermoléculaires entre la ProcHCl et  $\beta$ -CD (tableau V.3), en utilisant la méthode DFT avec les fonctionnalités mentionnées auparavant.

L'image globale de cette analyse montre qu'aucune liaison hydrogène n'a été établie entre la procaine et la  $\beta$ -CD. Ce résultat était attendu car le groupement amine ( $-NH_2$ ) qui est profondément inséré dans la cavité interagit faiblement avec les atomes de cette CD comme en témoignent les faibles valeurs de l'énergie d'interaction (0,08 à 0,18 Kcal/mole). Ces valeurs sont loin de celles habituellement rapportées pour les énergies de liaisons hydrogènes. Concernant le cycle benzénique, ce groupe ne contient pas d'hétéroatomes électronégatifs et donc aucune liaison hydrogène n'est attendue. En conséquence, seules les forces de Van der Waals sont responsables de la stabilité du complexe formé, comme le montrent les résultats des calculs NBO. Cela peut être noté par l'existence d'un transfert de charge entre les NBO occupés (donneurs)  $\sigma(CH)$  et NBO inoccupés (accepteurs)  $\sigma^*(CH)$  du cycle benzénique et dans l'autre des NBO accepteurs  $\sigma^*(CH)$  et NBO donneurs  $\sigma(CH)$  de la cavité  $\beta$ -CD. Les valeurs des énergies  $E^{(2)}$  dérivées des calculs NBO sont de l'ordre de 2 à 3,2 Kcal/mole, cet ordre de grandeur est considéré comme une énergie moyenne d'une force de Van der Waals et loin d'être classé comme une énergie liaison forte (covalente ou dative). Les résultats obtenus en utilisant les fonctionnelles M06-2X et B3LYP sont moins descriptifs des interactions intermoléculaires de type Van der Waals par rapport aux résultats fournis par la fonction de dispersion WB97XD car cette dernière

fonctionnelle est enrichie par des paramètres empiriques permettant la description des interactions à longue distance.

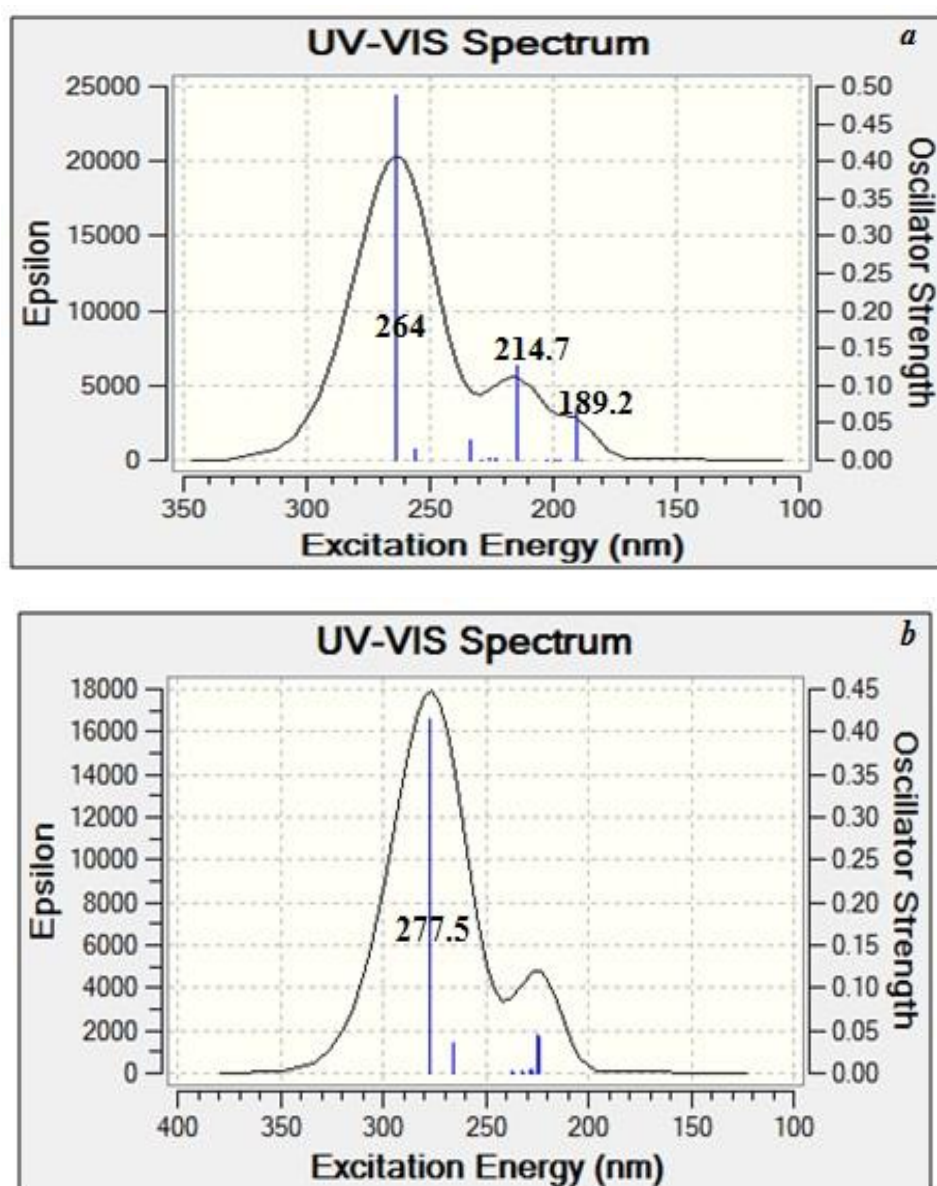
**Tableau V.3.** Energies d'interactions  $E^{(2)}$  entre ProCHCl et  $\beta$ -CD.

NBO donneur	NBO accepteur	Méthode de calcul
ProCHCl donneur et $\beta$ -CD accepteur		M06-2X /6.31G (d,p) (Kcal/mole)
$\sigma$ C 152 - H 154	$\sigma^*$ C 35 - H 116	2.54
$\sigma$ C 153 - H 155	$\sigma^*$ C 11 - H 89	2.77
$\beta$ -CD donneur et ProCHCl accepteur		
$\sigma$ C 9 - H 87	$\sigma^*$ C 157 - H 159	2.61
ProCHCl donneur et $\beta$ -CD accepteur		B3LYP/6-31(d,p) (Kcal/mole)
$\sigma$ C <sub>152</sub> - H <sub>154</sub>	$\sigma^*$ C <sub>35</sub> - H <sub>116</sub>	2.28
$\sigma$ C <sub>153</sub> - H <sub>155</sub>	$\sigma^*$ C <sub>11</sub> - H <sub>89</sub>	2.99
$\beta$ -CD donneur et ProCHCl accepteur		
$\sigma$ C <sub>9</sub> - H <sub>87</sub>	$\sigma^*$ C <sub>157</sub> - H <sub>159</sub>	2.50
$\sigma$ C <sub>33</sub> - H <sub>114</sub>	$\sigma^*$ C <sub>156</sub> - H <sub>158</sub>	2.26
$\sigma$ C <sub>39</sub> - H <sub>121</sub>	$\sigma^*$ C <sub>167</sub> - H <sub>168</sub>	2.80
ProCHCl donneur et $\beta$ -CD accepteur		WB97XD/6-31(d,p) (Kcal/mole)
$\sigma$ C <sub>152</sub> - H <sub>154</sub>	$\sigma^*$ C <sub>35</sub> - H <sub>116</sub>	2.91
$\sigma$ C <sub>153</sub> - H <sub>155</sub>	$\sigma^*$ C <sub>11</sub> - H <sub>89</sub>	3.17
$\sigma$ C <sub>157</sub> - H <sub>159</sub>	$\sigma^*$ C <sub>9</sub> - H <sub>87</sub>	2.39
$\beta$ -CD donneur et ProCHCl accepteur		
$\sigma$ C <sub>9</sub> - H <sub>87</sub>	$\sigma^*$ C <sub>87</sub> - H <sub>159</sub>	2.91

Le spectre théorique UV-Vis de la ProCHCl est présenté sur la figure V.6a.

Trois pics centrés aux longueurs d'ondes d'absorption 189.2, 214.7 et 264 nm, attribués aux transitions électroniques liées aux chromophores NH<sub>2</sub>, C=O et C=C. Un effet bathochromique, correspondant à un déplacement de longueur d'onde maximale de 13,5 nm, est observé lors de la complexation de ProCHCl par  $\beta$ -CD (figure V.6b).

Ce résultat s'explique par le fait que les paires d'azote non liantes sont protégées à l'intérieur de la cavité et ne contribuent pas à la formation de liaisons hydrogène avec les molécules de solvant, cela augmente la délocalisation électronique et réduit l'énergie d'écart HOMO/LUMO conduisant à un déplacement des transitions électroniques vers des longueurs d'onde plus élevées. Ces nouvelles transition résultent principalement du changement de l'environnement qui était polaire (eau) et devenu apolaire (cavité du  $\beta$ -CD). Ce résultat est en accord avec l'observation expérimentale de la longueur d'onde maximale en absence et en présence de  $\beta$ -CD.



**Figure V.6.** Spectres théoriques d'absorption de la procaine libre (a) et complexée par  $\beta$ -CD (b).

Les énergies calculées des états excités, la force de l'oscillateur, les transitions électronique et leurs contributions en pourcentage à la fonction d'onde TD-DFT de l'état excité sont rassemblés dans le tableau V.4.

**Tableau V.4.** Principales transitions calculées pour le complexe d'inclusion ProcHCl/ $\beta$ -CD (B3LYP/6-31G (d, p)).

	Bande	E (eV)	$f$	Configuration
Complexe (ProcHCl/ $\beta$ -CD)	277.5 nm	4.4681	0.415	H $\longrightarrow$ L (96.53)
	265.29 nm	4.6736	0.0347	H-11 $\longrightarrow$ L (6.36) H-10 $\longrightarrow$ L (7.86) H $\longrightarrow$ L+1 (80.7)
	(224.73 nm)	5.5171	0.0444	H-10 $\longrightarrow$ L (14.47) H-9 $\longrightarrow$ L (4.25) H-7 $\longrightarrow$ L (17.43) H-5 $\longrightarrow$ L (9.6) H $\longrightarrow$ L+1 (4.46)

Les transitions électroniques H  $\rightarrow$  L, H  $\rightarrow$  L+1, et H-7  $\rightarrow$  L sont celles qui ont des contributions plus élevées dans les bandes 277.5, 265.29 et 224.73 nm respectivement. La force de l'oscillation est une caractéristique de l'intensité des bandes et plus l'énergie de transition électronique sera faible plus la transition est permise.

Une analyse spectrale infrarouge peut également mettre en évidence la réaction de complexation de la ProcHCl par  $\beta$ -CD et de prévoir les sites d'interactions mis en jeu. Sur les Figure V.7 et V.8, nous avons illustré les spectres IR de ProcHCl isolée et de son complexe d'inclusion calculés par la méthode semi empirique PM3.

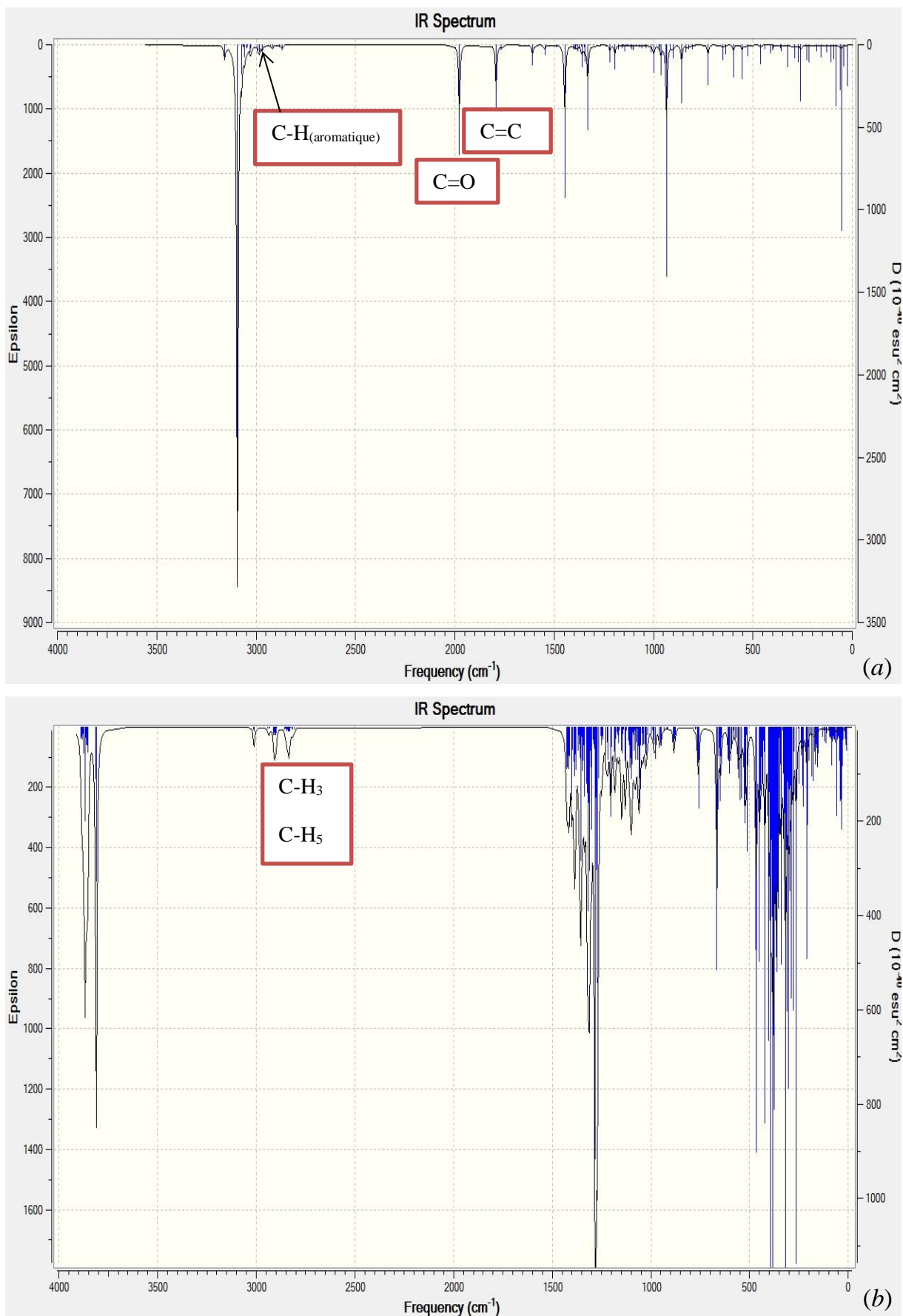
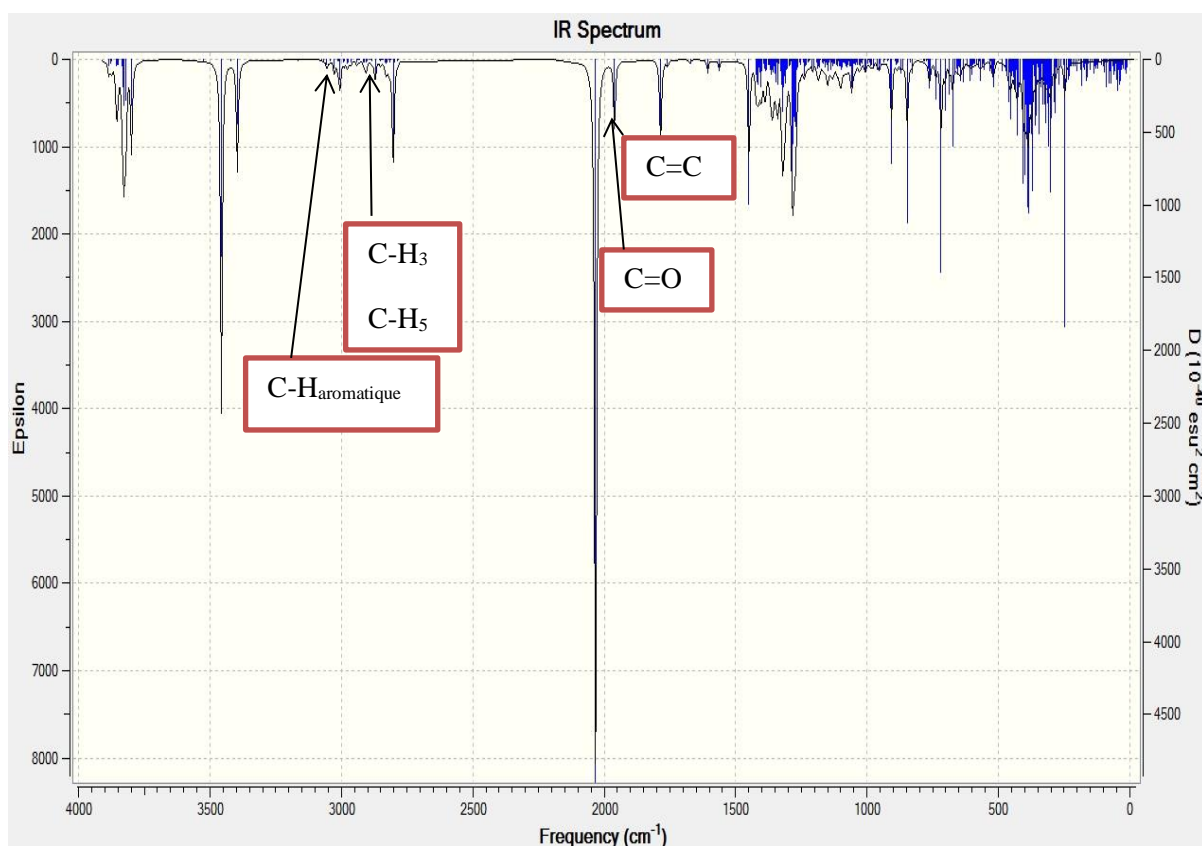


Figure V.7. Spectre IR de (a) ProchCl et (b) β-CD



**Figure V.8.** Spectres IR du complexe ProcHCl/ $\beta$ -CD

On se concentre dans l'analyse des spectres IR sur les déplacements des pics des fragments impliqués directement dans le processus d'association entre ProcHCl et la  $\beta$ -CD.

La partie de ProcHCl incluse dans la cavité de cette CD comporte les groupements : C=C et C-H du cycle aromatique et C=O du groupement ester. Deux pics de faibles intensités et de fréquences 3063.99 et 3048.65  $\text{cm}^{-1}$ , correspondent respectivement aux modes d'élongations symétrique et asymétrique du groupement C-H<sub>(aromatique)</sub>. Les pics de fréquences 1977.64 et 1792.65  $\text{cm}^{-1}$  sont attribués aux modes d'élongations des liaisons C=C et C=O respectivement.

Les propriétés spectrales IR des deux groupements (C-H<sub>5</sub> et C-H<sub>3</sub>) de la cavité de  $\beta$ -CD sont principalement affectées par le phénomène d'inclusion. Les valeurs des modes normaux de vibration (élongations) sont comprises entre valeurs 2807,16 et 2850,62  $\text{cm}^{-1}$ .

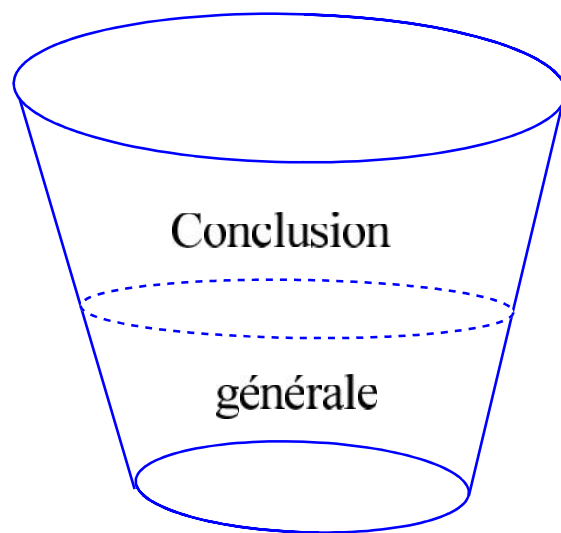
Dans le tableau V.5, nous portons les déviations des fréquences de vibration résultants de l'association ProCHCl/  $\beta$ -CD.

**Tableau V.5.** Fréquences de vibration affectées par le processus d'association entre ProCHCl et  $\beta$ -CD.

	Groupement	Fréquence à l'état libre (cm <sup>-1</sup> )	Fréquence à l'état complexé (cm <sup>-1</sup> )	Déviations des fréquences de vibration $\Delta\nu$ (cm <sup>-1</sup> )
ProCHCl	C-H <sub>symétrique</sub>	3063.99	3026.75	37.24
	C-H <sub>assymétrique</sub>	3048.65	3013.37	35.28
	C=O	1977.64	1960.73	16.91
	C=C	1792.65	1672.05	20.6
$\beta$ -CD	C-H <sub>5</sub> et C-H <sub>3</sub>	[2807.16 - 2912.21]	[2802.94 - 2906.09]	[4.22 – 6.12]

Une réduction remarquable des fréquences de vibration notamment pour les groupements de ProCHCl, cela est expliqué par les forces d'interaction exercées par  $\beta$ -CD sur cette espèce et qui affectent ses bandes d'absorption IR.

Nous notons que des pics d'intensités très faibles correspondent à l'élongation et la déformation du groupement amine primaire (-NH<sub>2</sub>) sont également affectés par le processus d'inclusion. Ces pics ne sont discutés car ils ne figurent pas de manière explicite dans le spectre IR.



Conclusion

générale



### Conclusion

Le travail effectué reporte une étude combinée, expérimentale et computationnelle, sur la réaction de complexation de l'hydrochlorate de procaïne par trois agents complexant :  $\alpha$ -CD,  $\beta$ -CD et HP- $\beta$ -CD. L'objectif était l'investigation sur la formation ou non de complexes d'inclusion entre cet anesthésique local et les trois CDs, en discutant les résultats obtenus et de donner notre point de vue concernant les informations tirées des études rencontrées dans la littérature.

Les techniques expérimentales, spectroscopique UV-Vis, fluorescence et la résonance magnétique nucléaire à une et bidimensionnelles, ont été utilisées pour la mise en évidence des complexes d'inclusion et pour estimer les valeurs des constantes d'association. L'image globale des résultats montrent que l'anneau benzénique de ProcHCl pénètre dans les cavités de  $\beta$ -CD et de HP- $\beta$ -CD, tandis que l'effet stérique n'était pas en faveur de l'inclusion de cette espèce dans la cavité de  $\alpha$ -CD. L'examen des constantes d'associations et des grandeurs thermochimiques indique que le complexe ProcHCl/ $\beta$ -CD est plus stable que celui formé par la ProcHCl et la HP- $\beta$ -CD. Les complexes formés sont bien structurés et les réactions de complexation sont favorisées thermodynamiquement.

Les calculs de la mécanique moléculaire prouvent que l'amarrage de la procaïne dans les cavités de  $\beta$ -CD et HP- $\beta$ -CD est possible, sans former ou rupture d'aucune liaisons de type covalente. En présence de  $\alpha$ -CD, la possibilité de la formation d'un complexe d'inclusion est pratiquement nulle, car le diamètre de cette CD est petit et n'est pas convenable pour laisser pénétrer la procaïne.

Une étude computationnelle plus approfondie a été entreprise pour examiner la formation de complexe d'inclusion entre la  $\beta$ -CD et la ProcHCl ce qui a permis de tirer les points suivants:

- Une réaction de complexation a eu lieu, conduisant à la formation d'un complexe de type hôte-invité de stœchiométrie 1:1,
- la pénétration de l'anneau benzénique de la ProcHCl par la face secondaire de  $\beta$ -CD est entière et les grandeurs thermodynamiques montrent que la réaction de

complexation est favorisée thermodynamiquement et que les complexes formés sont bien structurés, que ce soit à l'état gazeux ou en présence du solvant (eau),

- la méthode ONIOM permet d'affiner les résultats obtenus par la méthode PM3 et la combinaison B3LYP/6-31G(d,p) :PM3 a fourni de bons résultats pour l'optimisation des géométries du complexe d'inclusion et l'analyse des orbitales naturelles de liaisons (NBO) montre que seules les forces de Van der Waals semblent être responsable de la stabilité des complexes formés.

Comme perspectives de ce travail, il serait envisageable d'enrober les complexes d'inclusion dans des vecteurs lipidiques tels que les liposomes pour améliorer la vectorisation et la libération des anesthésiques locaux.

*Références  
bibliographiques*

## Références

- Al-Marzouqui, A.H.; Jobe, B.; Dowaidar, A.F.; Maestrelli, F.; Mura, P. **2007**. Evaluation of supercritical fluid technology as preparative technique of benzocaine cyclodextrin complexes-comparison with conventional methods. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 43, 566-574.
- Alonso, L. ; Cuesta, P.; Fontecha, J.; Juarez, M. ; Gilliland, S.E. **2009**. Use of  $\beta$ -cyclodextrin to decrease the level of cholesterol in milk fat. *J. Dairy Sci.*, 92, 863–869.
- Alves, O.L.; Fonseca, S.F. **1989**. Preparation and characterization of the  $\beta$ -cyclodextrin inclusion complex with phenylpropionic acid. *J. Incl. Phenom. Molecul. Recognit. Chem*, 7, 589-597.
- Ammayappan, L.; Jeyakodi Moses, J. **2009**. An over view on application of cyclodextrins in textile product enhancement. *J. Textile Assoc.*, 70, 9–18.
- Arun, R., Ashok, K. & Sravanthi, V. V. N. S. S. **2008**. Cyclodextrins as drug carrier molecule: a review. *Sci. Pharm.*, 76, 567-598.
- Attoui-yahia, H.; Attoui Yahia, O.; Khatmi, D.; Belghiche, R. **2017**. Amel Bouzitounal Quantum chemical investigations on hydrogen bonding interactions established in the inclusion complex  $\beta$ -cyclodextrin/benzocaine through the DFT, AIM and NBO approaches. *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.*, 89, 353–365
- Aytac, Z.; Uyar, T. **2016**. Antioxidant activity and photostability of  $\alpha$ -tocopherol/ $\beta$ -cyclodextrin inclusion complex encapsulated electrospun polycaprolactone nanofibers. *Eur. Polym. J.* 79, 140–149.
- Aytac, Z.; Uyar, T. **2017**. Core-shell nanofibers of curcumin/cyclodextrin inclusion complex and polylactic acid: enhanced water solubility and slow release of curcumin. *Int. J. Pharm.*, 518, 177–184.
- Baboota, S., Bhaliwal, M., Kohli, K. **2005**. Physicochemical characterization, *in-vitro* dissolution behaviour and pharmacodynamic studies of reficoxib-cyclodextrin Inclusion Compounds. Preparation and properties of reficoxib hydroxypropyl  $\beta$ -

- cyclodextrin inclusion complex: a technical note. *AAPS Pharm. Sci. Tech.*, 6, E 83-E 89.
- Baird, N. C.; Dewar, M. J. S. **1969**. Ground states of  $\sigma$ -bonded molecules. IV. The MINDO method and its application to hydrocarbons. *J. chem. Phys.*, 50, 1269-1274.
- Bandi, N.; Wei, W.; Roberts, C.B.; Kotra, L.P.; Kmpella, U.B. **2004**. Preparation of budesonide and indomethacin- hydroxypropyl  $\beta$ -cyclodextrin (HP $\beta$ CD) complexes using a single- step, organic solvent free supercritical fluid process. *Eur. J. Pharm. Sci.*, 24, 159-168.
- Becke, A.D. **1996**. Density-functional thermochemistry. A new dynamical correlation functional and implications for exact-exchange mixing », *J. Chem. Phys.*, 104, 1040-1046.
- Becke, A.D. **1988**. Density-functional exchange-energy approximation with correct asymptotic behavior. *Phys. Rev. A*, 38, 3098-3100.
- Benaissa, A. **2011**. Etude de la dégradation photocatalytique d'un colorant synthétique et d'un tensioactif . Thèse de doctorat, université Mentouri Constantine, Algérie.
- Bernal-Uruchurtu, M.I.; Ruiz-Lopez, M.F. **2000**. Basic ideas for the correction of semiempirical methods describing H-bonded systems. *Chem. Phys. Lett.*, 330, 118–124.
- Bezamat, J.M.; Yokaichiya, F.; Franco, M.K.K.D.; Castro, S.R.; Paula, E.; Cabeça, L.F. Complexation of the local anesthetic pramoxine with hydroxypropyl-beta-cyclodextrin can improve its bioavailability. *J. Drug Deliv. Sci. Technol.*, 55, 101475.
- Bilensoy, E. **2011**. Cyclodextrins in pharmaceuticals, cosmetics and biomedicine: current and future industrial applications. John Wiley & Sons, Inc. 440p. USA.
- Bilensoy, E.; Hincal, A.A. **2009**. Recent advances and future directions in amphiphilic cyclodextrin nanoparticles. *Expert. Opin. Drug Deliv.*, 6, 1161–1173.

- Bingham, R.C.; Dewar, M.J.S.; Lo, D.H. **1975**. Ground states of molecules. XXV. MINDO/3. Improved version of the MINDO semiempirical SCF-MO method. , *J. Am. Chem. Soc.*, 97, 1285–1293
- Biscopig, J.; Bachmann-Mennenga, M.B. **2000**. Local anesthetics from ester to isomer. *Anesthesiol. Intensivmed. Notfallmed. Schmerzther.*, 35, 285-292.
- Biwer, A.; Antranikian, G.; Heinzle, E. **2002**. Enzymatic production of cyclodextrins". *Appl. Microbiol. Biot.*, 59, 609–617.
- Blyshak, L.A.; Rossi, T.M.; Patonay, G.; Warner, I. **1988**. Cyclodextrin-modified solvent extraction for polynuclear aromatic hydrocarbons. *Anal. Chem.*, 60, 2127.
- Booij, L.H.D.J. **2009**. Cyclodextrins and the emergence of sugammadex. *Anaesthesia*, 64, 31–37.
- Borgeat, A.; Ekatodramis, G.; Kalberer, F.; Benz, C. **2001**. Acute and nonacute complications associated with interscalene block and shoulder surgery: a prospective study. *Anesthesiology*, 95, 875-880.
- Bortolus, P.; Monti, S. **1996**. Photochemistry in cyclodextrin cavities. In: Advances in photochemistry. Vol. 21, 1-133. Wiley, New York.
- Boys, S.F. 1950. Electronic wave functions-I. A general method of calculation for the stationary states of any molecular system. *Proc. Roy. Soc. A*, 200, 542–554
- Brandariz, I.; Iglesias, E. **2013**. Local anesthetics: acid-base behavior and inclusion with cyclodextrins. *Curr. Org. Chem.*, 10, 3050–3063.
- Brewster, M.E., Loftsson, T. **2007**. Cyclodextrins as pharmaceutical solubilizers. *Adv. Drug. Deliv. Rev.*, 59, 645–666.
- Broadhead, J.; Edmond R.K.; Rhodes, C.T. **1992**. The spray drying of pharmaceuticals. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 18, 1169.
- Busch, K.W.; Swamidoss, I.M.; Fakayode, S.O.; Busch, M.A. **2003**. Determination of the enantiomeric composition of guest molecules by chemometric analysis of the UV–Visible spectra of cyclodextrin guest– host complexes. *J. Am. Chem. Soc.*, 125, 1690-1691.
- Butterworth, J.F. ; Strichartz, G.R. **1990**. Molecular mechanisms of local anesthesia: a review. *Anesthesiology*, 72, 711-734.

- Cao, F.T.; Guo, J.; Ping, Q. **2005**. The physicochemical characteristics of freeze-dried scutellarin-cyclodextrin tetracomponent complexes. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 31, 747-756.
- Cao, Y.; Xiao, X.; Lu, R.; Qingxiang, G. **2003**. Theoretical study of the inclusion processes of ibuprofen enantiomers with native and modified  $\beta$ -CDs. *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.*, 46, 195-200.
- Carrier, R.L.; Miller, L.A.; Ahmed, I. **2007**. The utility of cyclodextrins for enhancing oral bioavailability. *J. Control. Release*, 123, 78-99.
- Catterall, W.A.; Mackie, K. **2011**. Local anesthetics. Goodman & Gilman's : The pharmacological basis of therapeutics 12th edition. C. B. McGraw Hill Medical (Brunton LL, Knollman BC). New York, Chicago, San Francisco.
- Challa, R., Ahuja, A., Ali, J.; Khar, R.K. **2005**. Cyclodextrins in drug delivery: an updated review. *AAPS PharmSciTech.*, 6, E329-E357.
- Charoenchaitrakool, M.; Dehghani, F.; Foster, N.R. **2009**. Utilization of supercritical carbon dioxide for complex formation of ibuprofen and methyl- betacyclodextrin. *Int. J. Pharm.*, 239, 103-112.
- Chekirou, N. L.; Benomrane, I.; Lebsir, F.; Krallafa, A. M. **2012**. Theoretical and experimental study of the tetracain/b-cyclodextrin inclusion complex. *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.*, 74, 211–221.
- Celebioglu, A.; Uyar, T. **2013**. Electrospinning of nanofibers from non-polymeric systems: electrospun nanofibers from native cyclodextrins. *J. Colloid. Interface Sci.*, 404, 1–7.
- Chervenak, M.C., Toone, E.J. **1994**. A direct measure of the contribution of solvent reorganization to the enthalpy of ligand binding. *J. Am. Chem. Soc.*, 116, 10533–10539.
- Chilajwar, S.V.; Pednekar, P.P.; Jadhav, K.R.; Gupta, G.J.C.; Kadam, V.J. **2014**. Cyclodextrin-based nanosponges: A propitious platform for enhancing drug delivery. *Expert. Opin. Drug. Deliv.*, 11, 111–120.

- Clarke, R.J.; Coates, J.H.; Lincoln, S.F. **1988**. Inclusion complexes of the cyclomalto-oligosaccharides (cyclodextrins). *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.*, 46, 205-249.
- Clark, B.J.; Frost, T.; Russell, M.A. **1993**. UV spectroscopy : technique, instrumentation and data handling. 1<sup>st</sup> edition, Chapman and Hall. Vol. 4, 146p. Netherlands.
- Concheiro, A.; Alvarez-Lorenzo, C. **2013**. Chemically cross-linked and grafted cyclodextrin hydrogels: from nanostructures to drug-eluting medical devices. *Adv. Drug. Deliv. Rev.*, 65, 1188–1203.
- Cramer, F. **1949**. Die cyclodextrine aus Stärke. Dissertation, Heidelberg.
- Crini, G.; Morcellet, M.; Morin, N. **2001**. Quelques applications des complexes d'inclusion cyclodextrine/substrat. *L'actualité Chimique*, 247, 18-25.
- Cuesta-Herranz, J. ; de las Heras, M. ; Fernandez, M. ; Lluch, M. ; Figueredo, E. ; Umpierrez, A. ; Lahoz, C. **1997**. Allergic reaction caused by local anesthetic agents belonging to the amide group. *J. Allergy. Clin. Immunol.*, 99, 427-428.
- Crini, G. **2014**. Review: a history of cyclodextrins, *J. Chem. Rev.*, 114, 10940–10975.
- Dapprich, S.; Komrom, I.; Byun, K.S.; Morokuma, K.; Frisch, M.J. 1999. A new ONIOM implementation in Gaussian98. Part I. The calculation of energies, gradients, vibrational frequencies and electric field derivatives. *J. Mol. Struct. (THEOCHEM)*, 461-462, 1-21.
- Davidson, E.R.; Feller, D. **1986**. Basis set selection for molecular calculations. *Chem. Rev.*, 86, 681-696.
- Davis, C.B.; Markey, C.E.; Busch, M.A.; Busch, K.W. **2007**. Determination of capsaicinoids in habanero peppers by chemometric analysis of UV spectral data. *J. Agric. Food Chem.*, 55, 5925-5933.
- Del Valle, E.M.M. **2004**. Cyclodextrins and their uses: a review. *Process Biochem.*, 39, 1033–1046.
- Denson, D.D.; Coyle, D.E.; Thompson, G.A. ; Myers, J.A. **1984**. Alpha1-acid glycoprotein and albumin in human serum bupivacaine binding. *Clin. Pharmacol. Ther.*, 35, 409-415.



- Denson, D.D. ; Mazoit, J.X. **1992**. Physiology and pharmacology of local anesthetics. 124-139. In: Sinatra R.S. (eds): Acute pain mechanisms and management., St Louis, Mosby-Year Book.
- Derville, M. ; Dubois, A. ; Lecron, L. **1990**. L'anesthésie locorégionale intraveineuse. 231-247. Dans: Anesthésie locorégionale. Lecron, L. (eds), Arnette, Paris.
- Dewar, M.J.S.; Haselbach, E. **1970**. Ground states of sigma.-bonded molecules. IX. MINDO [modified intermediate neglect of differential overlap]/2 method. *J. Amer. chem. Soc.*, 92, 590-598.
- Dewar, M.J.S.; Thiel, W., **1977**. Ground states of molecules.\_The MNDO method. Approximations and parameters. *J. Am. Chem. Soc.*, 99, 4907–4917.
- Dewar, M.J.S. ; Zebisch, E.G. ; Healy, E.F. ; Stewart, J.J.P. **1985**. Development and use of quantum mechanical molecular models. AM1: a new general purpose quantum mechanical molecular model. *J. Am. Chem. Soc.*, 107, 3902–3909.
- Diederich, F.; Smithrud, D.B.; Sanford, E.M.; Wyman, T.B.; Ferguson, S.B.; Carcanague, D.R.; Chao, I.; Houk, K.N. **1992**. Solvent effects in molecular recognition. *Acta Chem. Scand.*, 46, 205–215.
- Dirac, P. A. M. **1930**. Note on exchange phenomena in the Thomas atom. *Proc. Camb. Phil. Soc.*, 1930, 26, 376-385.
- Ditchfield, R; Hehre, W.J; Pople, J. A. **1971**. "Self-consistent molecular-orbital methods. IX. An extended gaussian-type basis for molecular-orbital studies of organic molecules". *J. Chem. Phys.*, 54,724–728.
- Dollo, G.; Le Corre, P.; Fréville, J.C. ; Chevanne, F.; Leverage, R. **2000**. Biopharmaceutics of local anesthetic-cyclodextrin complexes following loco-regional administration, *Ann. Pharm. Fr.*, 58, 425-432.
- Donati, F. **2011**. Sugammadex: a cyclodextrin-based novel formulation and marketing story. Chap. 19, 636–370. In: Bilensoy E. (eds): Cyclodextrins in pharmaceutics, cosmetics and biomedicine: current and future industrial applications. John Wiley.
- Dong, R.J.; Zhou, Y.F.; Huang, X.H.; Zhu, X.Y.; Lu, Y.F.; Shen, J. **2015**. Functional supramolecular polymers for biomedical applications. *Adv. Mater*, 27, 498–526.

- Dyck, A.S.M.; Kisiel, U.; Bohne, C. **2003**. Dynamics for the assembly of pyrene- $\gamma$ -cyclodextrin host-guest complexes. *J. Phys. Chem. B*, 107, 11652-11659.
- Ellouze, F.; Ben Amar, N.; Deratani, A. **2011**. Les cyclodextrines a large cycle : synthèse, purification et applications Large ring cyclodextrins: Synthesis, purification and applications. *C.R. Chimie*, 14, 967-971.
- Esposito, M.; Viale, M.; Vannozzi, M.O.; Zicca, A.; Cadoni, A.; Merlo, F.; Gogioso, L. **1996**. Effect of the antiarrhythmic drug procainamide on the toxicity and antitumor activity of cis-diamminedichloroplatinum(II). *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 140, 370-377.
- Fakayode, S.O.; Lowry, M.; Fletcher, K.A.; Huang, X.; Powe, A.M.; Warner, I.M. **2007**. Cyclodextrins host-guest chemistry in analytical and environmental chemistry. *Curr. Anal. Chem.*, 3, 171-181.
- Fava, F.; Bertin, L.; Fedi, S.; Zannoni, D. **2002**. methyl- $\beta$ -cyclodextrin-enhanced solubilization and aerobic biodegradation of polychlorinated biphenyls in two aged-contaminated soils. *Biotechn. Bioeng.*, 81, 1-10.
- Fenyvesi, E.; Csabai, K.; Molanr, M.; Gruiz, K.; Muranyi, A.; Szejtli, J. **2002**. quantitative and qualitative analysis of RAMEB in soil, *J. Incl. phenom.macro.*, 44, 413-416.
- Fenyvesi, É.; Vikmon, M.A.; Szente, L. **2016**. Cyclodextrins in food technology and human nutrition: benefits and limitations. *Crit. Rev. Food. Sci. Nutr.*, 56, 1981-2004.
- Fergoug, T. **2010**. Caractérisation physico-chimiques et thermodynamiques de complexes d'inclusion cyclodextrine/tetracaine. Thèse de doctorat. Université d'Oran. Algérie.
- Fermi, E. **1927**. Un metodo statistico per la determinazione di alcune priorieta dell'atome, *Rend. Accad. Naz. Lincei.*, 6, 602-607.
- Ferreira, L.E.N.; Abdalla, H.B.; da Costa, J.P.; de Freitas Domingues, J.S.; Burga-Sánchez, J.; Groppo, F.C.; Volpato, M.C. **2020**. Effects of 2-Hydroxypropil-B-Cyclodextrin-Lidocaine on Tumor Growth and Inflammatory Response. *Current Drug Deliv.*, 17, 588 – 598.

- Ferro, M.; Castiglione, F.; Punta, C.; Meloni, L.; Panzeri, W.; Rossi, B.; Trotta, F.; Mele, A. **2016**. Transport properties of ibuprofen encapsulated in cyclodextrin nanosponge hydrogels: a proton HR-MAS NMR spectroscopy study. *J. Vis. Exp.*, 114, 53769.
- Flynn, R.J.; Moore, J.; Collier, P.S.; McClean, E. **1989**. Does pretreatment with cimetidine and ranitidine affect the disposition of bupivacaine. *Br. J. Anaesth.*, 62, 87-91.
- Fock, V. **1930**. Näherungsmethode zur Lösung des quantenmechanischen Mehrkörperproblems. *J. Zeitschrift für Physik*, 61, 126-148.
- Foster R.; Fyfe C. A. **1965**. Interaction of electron acceptors with bases. Part 15. - Determination of association constants of organic charge-transfer complexes by nmr spectroscopy. *Trans. Faraday. Soc.*, 61, 1626 -1631.
- Fourmentin, S.; Crini, G.; Lichtfouse, E. **2016**. Cyclodextrin Fundamentals, Reactivity and Analysis. Springer, 262p.
- Fraix, A.; Marino, N.; Sortino, S. **2015**. Phototherapeutic release of nitric oxide with engineered nanoconstructs. 225-258. In: Sortino S. (eds): Light-responsive nanostructured systems for applications in nanomedicine. Springer, New York.
- Fraix, A.; Marino, N.; Sortino, S. **2016**. Phototherapeutic release of nitric oxide with engineered nanoconstructs. *Top. Curr. Chem.*, 370, 225–257
- Frank, D.W.; Gray, J.E.; Weaver, R.N. **1976**. cyclodextrin nephrosis in the rat. *Am. J. Pathol.*, 83, 367–382.
- Freudenberg K., Blomquist G., Ewald L., Soff K. **1936**. Hydrolyse und Acetolyse der Stärke und der Schardinger-Dextrine. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* 69, 1258-1266.
- Freudenberg, K. **1943**. Beiträge zur chemie der kohlenhydrate, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.*, 76, A71-A96.
- Freudenberg, K.; Cramer, F. **1948**. Die constitution der Schardinger-dextrine dextrine-alpha, dextrin-beta and dextrin-gamma, *Z. Naturforsch. B*, 3, 464-464.
- Freudenberg K., Cramer F., Plieninger H. **1953**. Verfahren zur herstellung von Einschlußverbindungen physiologisch wirksamer organischer Verbindunfen

- (Inclusion compounds of physiologically active organic compounds), *German Patent*, 895769.
- Freudenberg, K.; Cramer, F. **1950**. Über die Schardinger-dextrine aus Stärke, *Chem. Ber. Recl.*, 83, 296-304.
- Frisch, M.J.; Trucks, G.W.; Schlegel, H.B.; Scuseria, G.E.; Robb, M.A.; Cheeseman, J.R.; Scalmani, G.; Barone, V.; Mennucci, B.; Petersson, G.A.; Nakatsuji, H.; Caricato, M.; Li, X.; Hratchian, H.P.; Izmaylov, A.F.; Bloino, J.; Zheng, G.; Sonnenberg, J.L.; Hada, M.; Ehara, M.; Toyota, K.; Fukuda, R.; Hasegawa, J.; Ishida, M.; Nakajima, T.; Honda, Y.; Kitao, O.; Nakai, H.; Vreven, T.; Montgomery, J.A.; Jr.; Peralta, J.E.; Ogliaro, F.; Bearpark, M.; Heyd, J.J.; Brothers, E.; Kudin, K.N.; Staroverov, V.N.; Kobayashi, R.; Normand, J.; Raghavachari, K.; Rendell, A.; Burant, J.C.; Iyengar, S.S.; Tomasi, J.; Cossi, M.; Rega, N.; Millam, J.M.; Klene, M.; Knox, J.E.; Cross, J.B.; Bakken, V.; Adamo, C.; Jaramillo, J.; Gomperts, R.; Stratmann, R. E.; Yazyev, O.; Austin, A. J.; Cammi, R.; Pomelli, C.; Ochterski, J. W.; Martin, R.L.; Morokuma, K.; Zakrzewski, V.G.; Voth, G.A.; Salvador, P.; Dannenberg, J.J.; Dapprich, S.; Daniels, A.D.; Farkas, Ö.; Foresman, J.B.; Ortiz, J.V.; Cioslowski, J.; Fox, D. J., Gaussian 09, Revision D.01, **2009**, Gaussian Inc., Wallingford CT.
- Fülöp, Z.; Kurkov, S.V.; Nielsen, T.T.; Larsen, K.L.; Loftsson, T. **2012**. Self-assembly of cyclodextrins: formation of cyclodextrin polymer based nanoparticles. *J. Drug Deliv. Sci. Technol.*, 22, 215–221.
- Fuzier, R., **2009**. Effets indésirables des anesthésiques locaux en 2008: études pharmaco-épidémiologiques en France. Thèse de doctorat. Université Toulouse III-Paul Sabatier.
- Fuzier, R.; Lapeyre-Mestre, M. ; Mertes, P.M.; Nicolas, J.F. ; Benoit, Y. ; Didier, A.; Albert, N. ; Montastruc, J.L. **2009**. Immediate- and delayed-type allergic reactions to amide local anesthetics: Clinical features and skin testing. *Pharmacoepidemiol. Drug Saf.*, 18, 595–601.
- Geld, R.I.; Schwarts, L.M.; Laufer, D.A. **1982**. Acid dissociation of cyclooctaamylose. *Bioorg. Chem.*, 11, 274-280.

- Glick, D.; Barth, S.; MacLeod, K.F. **2010**. Autophagy: cellular and molecular mechanisms. *J. Pathol.*, 221, 3–12.
- Gohlke, H.; Hendlich, M.; Klebe, G. **2000**. Knowledge-based scoring function to predict protein-ligand interactions. *J. Mol. Biol.*, 295, 337–356
- Gonzalez-Gaitano, G.; Rodriguez, P.; Isasi, J.R.; Fuentes, M.; Tardajos, G.; Sanchez, M. **2003**. The aggregation of cyclodextrins as studied by photon correlation spectroscopy. *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.*, 44, 101–105.
- Gould, S., Scott, R.C. **2005**. 2-Hydroxypropyl-beta-cyclodextrin (HP-Beta-CD): a toxicology review. *Food Chem. Toxicol.*, 43, 1451–1459.
- Goyal, A.K.; Johal, E.S.; Rath, G. **2011**. Nanotechnology for water treatment. *Curr. Nanosci.*, 7, 640–654.
- Groban, L. **2003**. Central nervous system and cardiac effects from long-acting amide local anesthetic toxicity in the intact animal model. *Reg. Anesth. Pain. Med.*, 28, 3-11.
- Gu, J.; Pan, J. **1999**. Determination of the cyclodextrin inclusion constant with the constant current coulometric titration method. *Talanta*, 50, 35-39.
- Gunther, H. **2013**. NMR Spectroscopy: Basic Principles, Concepts, and Applications in Chemistry, Third Edition. Wiley-VCH Verlag, 736p.
- Halgren T.A.; Lipscomb, W.N. **1973**. Self-consistent-field wavefunctions for complex molecules. The approximation of partial retention of diatomic differential overlap. *J. Chem. Phys.*, 58, 1569-1591.
- Hall, M. **1972**. "Coca koller". The beginning of local anesthesia. *Anesth. prog.*, 19, 65-67.
- Handy, N.C.; Cohen, A.J. **2001**. Left-right correlation energy. *Mol. Phys.*, 99, 403-412.
- Hanna M. W.; Ashbaugh A. L. **1964**. Nuclear magnetic resonance study of molecular complexes of 7,7,8,8-Tetracyanoquinodimethane and aromatic donors. *J. Phys. Chem.*, 4, 811-816.
- Harrison, J.C.; Eftink, M.R. **1982**. Cyclodextrin-adamantanecarboxylate inclusion complexes: a model system for the hydrophobic effect. *Biopolymers* 21, 1153–1166.

- Hart, T.N.; Read, R.J. **1992**. A multiple-start Monte Carlo docking method. *Proteins*. 13, 206-222.
- Hartree, D.R. **1928**. The wave mechanics of an atom with a non-Coulomb central field. Part I. Theory and methods. *Math. Proc. Cambridge Phil. Soc.*, 24, 89-110.
- He, Y.; Fu, P.; Shen, X.; Gao, H. **2008**. Cyclodextrin-based aggregates and characterization by microscopy. *Micron*, 39, 495–516.
- Hedges, A.R. **1998**. Industrial Applications of Cyclodextrins. *Chem. Rev.*, 98, 2035-2044.
- Hehre, W.J.; Radom, L.; Schleyer, P.V.R.; Pople, J.A. **1986**. "Ab Initio Molecular Orbital Theory", John Wiley, New York, 548p.
- Hicks, K.B.; Haines, R.M.; Tong, C.B.S.; Sapers, G.M.; El-Atawy, Y.; Irwin, P.L.; Seib, A.; Agric, J. **1996**. Inhibition of enzymatic browning in fresh fruit and vegetable juices by soluble and insoluble forms of  $\beta$ -cyclodextrin alone or in combination with phosphates  
*Food. Chem.*, 44, 2591-2594.
- Hildebrand J. A.; Benesi H. A. **1949**. A spectrophotometric investigation of the interaction of iodine with aromatic hydrocarbons. *J. Am. Chem. Soc.*, 71, 2703 – 2710.
- Hobza, P., Zahradnik, R. **1988**. Intermolecular Complexes. Elsevier, New York .
- Hogan, Q.; Dotson, R.; Erickson, S.; Kettler, R.; Hogan, K. **1994**. Local anesthetic myotoxicity: a case and review. *Anesthesiology*, 80, 942-947.
- Hohenberg, P.; Kohn, W. **1964**. Inhomogenous electron gas. *J. Phys. Rev. B*, 136, 864-871.
- Hoizey, G.; Lamiable, D.; Robinet, A.; HuguesLudot, H.; Malinovsky, J.M.; Kaltenbach, M.L.; Binet, L.; Boulangier, C.; Millart, H. **2005**. Sensitive bioassay of bupivacaine in human plasma by liquid-chromatography-ion trap mass spectrometry. *J. Pharm. Biomed. anal.*, 39, 587-592.
- Hougeir, F.G.; Kircik, L. **2012**. A Review of delivery systems in cosmetics. *Dermatol. Ther.*, 25, 234– 237.

- Huet, O.; Eyrolle, L.J.; Mazoit, J.X.; Ozier, Y.M. **2003**. Cardiac arrest after injection of ropivacaine for posterior lumbar plexus blockade. *Anesthesiology*, 99, 1451-1453.
- Humbel, S.; Sieber, S.; Morokuma, K. **1996**. The IMOMO method: Integration of different levels of molecular orbital approximations for geometry optimization of large systems: Test for *n*-butane conformation and  $SN_2$  reaction:  $RCl+Cl^-$ . *J. Chem. Phys.*, 105, 1959-1967.
- Huang, S.Y.; Zou, X. **2010**. Advances and challenges in protein-ligand docking. *Int. J. Mol. Sci.*, 11, 3016–3034.
- Irie, T.; Uekama, K. **1997**. Pharmaceutical applications of cyclodextrins III. Toxicological issues and safety evaluation. *J. Pharm. Sci.*, 86, 147-162.
- Islam, S.U.; Shahid, M.; Mohammad, F. **2013**. Green chemistry approaches to develop antimicrobial textiles based on sustainable biopolymers - a review. *Ind. Eng. Chem. Res.*, 52, 5245–5260.
- Jablonski, A. **1935**. Uber den Mechanisms des Photolumineszenz von Farbstoffphosphoren, *Z. Phys.*, 94, 38–46.
- Jalili, S.; Saeedi, M. **2017**. Study of procaine and tetracaine in the lipid bilayer using molecular dynamics simulation. *Eur. Biophys. J.*, 24, 265-282.
- Jiang, H. ; Xu, Y. ; Na, L.; Jin, R. ; Zhang, S. **2008**. UV-vis spectral analysis of Inclusion complexes between  $\beta$ -cyclodextrin and aromatic/aliphatic guest molecules. *Curr. Drug Discov. Technol.*, 5, 173-176.
- Job, P. **1928**. Formation and stability of inorganic complexes in solution. *Annales de chimie*, 9, 113-203.
- Jug, K. Nanda, D.N. **1980**. SINDO1 II. Application to ground states of molecules containing carbon, nitrogen and oxygen atoms . *Theor. Chim. acta*, 57, 107–130.
- Kayaci, F.; Uyar, T. **2014**. Electrospun polyester/cyclodextrin nanofibers for entrapment of volatile organic compounds. *Polym. Eng. Sci.*, 54, 2970–2978.
- Kluger, N.; Raison-Peyron, N.; Michot, C.; Guillot, B.; Bessis, D. **2011**. Acute bullous irritant contact dermatitis caused by EMLA ® cream. *Contact Dermatitis*. ;65, 181–183.

- Koehler, A.; Oertel, R.; Kirch, W. 2005. Simultaneous determination of bupivacaine, mepivacain, prilocaine and ropivacain in human serum by liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A*, 1088, 126-130.
- Kohn, W.; Sham, L. 1965. Self-consistent equations including exchange and correlation effects. *J. Phys. Rev. A*, 140, 1133– 1138.
- Kondo, H.; Nakatani, H.; Hiromi, K. 1990. In vitro action of human and porcine [alpha]-amylases on cyclomalto-oligosaccharides, *Carbohydr. Res.*, 204, 207-13.
- Kundu, S. ; Chattopadhyay, N. 1995. Dual luminescence of dimethylaminobenzaldehyde in aqueous  $\beta$ -cyclodextrin: non-polar and TICT emissions. *J. Photochem. Photobiol. A*, 88, 105-108.
- Kurkov, S. V.; Loftsson, T. 2013. Cyclodextrins, *Int. J. Pharm.*, 453, 167–180.
- Landy, D., Mallard, I., Ponchel, A., Monflier, E., Fourmentin, S. 2012. Remediation technologies using cyclodextrins: an overview. *Environ. Chem. Lett.*, 10, 225–237.
- Landy, D.; Tetart, F.; Truant, E.; Blach, P.; Fourmentin, S.; Surpateanu, G. 2007. Development of a competitive continuous variation plot for the determination of inclusion compounds stoichiometry. *J. Incl. Phenom. Macro.*, 57, 409–413.
- Larson, S.B.; Day, J.S.; McPherson, A. 2010. X-ray crystallographic analyses of pig pancreatic  $\alpha$ -amylase with limit dextrin, oligosaccharide, and  $\alpha$ -cyclodextrin, *Biochem.*, 49, 3101-3115.
- Leclercq L.; Douyère G.; Nardello-Rataj V. 2019. Supramolecular chemistry and self-organization: A veritable playground for catalysis. *Catalysts*, 9,163-224.
- Lee, C.; Yang, W.; Parr, R.G. 1988. Development of the Colle-Salvetti correlation-energy formula into a functional of the electron density. *Phys. Rev. B*, 37, 785-789.
- Leudjo, T.A.; Pillay, K.; Yangkou, M.X. 2017. Nanosponge cyclodextrin polyurethanes and their modification with nanomaterials for the removal of pollutants from waste water. A review, *Carbohydrate Polymers.*, 159, 94-107.
- Lina, B.A.R.; Bar, A. 2004. Subchronic oral toxicity studies with  $\alpha$ -cyclodextrin in rats, *Regul. Toxicol. Pharm.*, 39, S14–S26.
- Lis-Cieplak, A. ; Sitkowski, J. ; Kolodziejcki, W. 2014. Comparative proton nuclear magnetic resonance studies of amantadine complexes formed in aqueous solutions with three major cyclodextrins. *J. Pharm. Sci.*, 103, 274–282.



- Liu, L.; Guo, Q.X. **2002**. The driving forces in the inclusion complexation of cyclodextrins, *J. Incl. Phenom. Macro.*, 42, 1-14.
- Liu, L.; Guo, Q.X. **2004**. Use of quantum chemical methods to study cyclodextrin chemistry. *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.*, 50, 95-103.
- Liu, X.; Zhang, X.; Chen, W.; Gaidau, C.C.; Miu, L. **2012**. Preparation of a colored  $\beta$ -cyclodextrin fragrance agent for leather finishing. *ICAMS*, 141–146.
- Li, J.J.; Zhao, F.; Li, J. **2011**. Polyrotaxanes for applications in life science and biotechnology. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 90, 427–443.
- Loftsson, T.; Duchêne, D. **2007**. Cyclodextrins and their pharmaceutical applications, *Int. J. Pharm.*, 329, 1-11.
- Loftsson, T; Fridriksdottir, H. **1998**. The effect of water-soluble polymers on the aqueous solubility and complexing abilities of  $\beta$ -cyclodextrin. *Int. J. Pharm.*, 163, 115-121.
- Loftsson, T; Fridriksdottir, H.; Gudmundsdottir, T.K. **1996**. The effect of water-soluble polymers on aqueous solubility of drugs. *Int. J. Pharm.*, 27, 293-296.
- Loftsson, T.; Jarbo, P.; Masson, T; Javinen, T. **2005**. Cyclodextrins in drug delivery. *Expert Opin. Drug Deliver.*, 2, 335-351.
- Loftssona, T.; Jarvinen, T. **1999**. Cyclodextrins in ophthalmic drug delivery. *Adv. Drug. Delivery. Rev.*, 36, 59-79.
- Loftsson, T.; Masson, M.; Brewster, M.E. **2004**. Self-association of cyclodextrins and cyclodextrin complexes. *J. Pharm. Sci.*, 93, 1091–1099.
- Lough, W.J. Wainer, I.W. 1995. High Performance liquid chromatography: fundamental principles and practice, 276P. Blackie academic & professional, glasgow.
- Lowdin, P.O. 1995. The historical development of the electron correlation problem. *Int. J. Quantum Chem.*, 55, 77-102.
- Macaev, F.; Boldescu, V.; Geronikaki, A.; Sucman, N. 2013. Recent advances in the use of cyclodextrins in antifungal formulations. *Curr. Top. Med. Chem.*, 21, 2677–2683.

- Manchon, J.F.M.; Uzor, N.E.; Kesler, S.R.; Wefel, J.S.; Townley, D.M.; Nagaraja, A.S.; Pradeep, S.; Mangala, L.S.; Sood, A.K.; Tsvetkov, A.S. **2016**. TFEB ameliorates the impairment of the autophagy-lysosome pathway in neurons induced by doxorubicin. *Aging*, 8, 3507–3519.
- Marques, H.M.C. **2010**. A review on cyclodextrin encapsulation of essential oils and volatiles. *Flav. Frag. J.*, 25, 313–326.
- Marshall, J.J.; Miwa, I. **1981**. Kinetic difference between hydrolyses of gamma-cyclodextrin by human salivary and pancreatic alpha-amylases. *Biochim. biophys. acta*, 661, 142-147.
- Matencio A.; Navarro-Orcajada S.; García-Carmona F.; López-Nicolás J.M. **2020**. Applications of cyclodextrins in food science. A review. *Trends Food Sci. Technol.*, 104, 132–143.
- Mathur. R, Becker. E. D, Bradley. R. B, Li. N. C. **1963**. Proton magnetic resonance studies of hydrogen bonding of benzenethiol with several hydrogen acceptors. *J. Phys. Chem.*, 67, 2190-2194.
- Matsuda, H.; Arima, H. **1999**. Cyclodextrins in transdermal and rectal delivery. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 36, 81-99.
- Mazoit J.X. **2002**. Pharmacology of local anesthetics. 303-331. In: *Principles and practice of pediatric anesthesia*. McGraw-Hill, 1<sup>st</sup> edition, New York.
- Mazzaglia, A.; Sciortino, T.; Kandoth, N.; Sortino, S. **2012**. Cyclodextrin-based nanoconstructs for photoactivated therapies. *J. Drug. Deliv. Sci. Technol.*, 22, 235–242.
- Meng, X.Y.; Zhang, H.X.; Mezei, M.; Cui, M. 2011. Molecular docking: A powerful approach for structure-based drug discovery. *Curr. Comput. Aided Drug Des.*, 7, 146–157.
- Merino, C.; Junquera, E.; Jiménez-Barbero, J.; Aicart, E. **2000**. Effect of the presence of  $\beta$ -cyclodextrin on the solution behavior of procaine hydrochloride. Spectroscopic and thermodynamic studies. *Langmuir*, 16, 1557-1565.

- Merkus, F.W.H.M.; Verhoef, J.C.; Marttin, E.; Romeijn, S.G.; Van Der Kuy, P.H.M.; Hermens, W.A.J.J.; Schipper, N.G.M. **1999**. Cyclodextrins in nasal drug delivery. *Adv. Drug Delivery Rev.*, 36, 41-57.
- Merlin M.P. **1998**. Energétique des interactions moléculaires eau/cyclodextrines (alpha, béta, gamma). Thèse de doctorat, université de Lyon, France.
- Miller, K.P.; Wang, L.; Chen, Y.P.; Pellechia, P.J.; Benicewicz, B.C.; Decho, A.W. **2015**. Engineering nanoparticles to silence bacterial communication. *Front. Microbiol.*, 6:189.
- Møller, C.; Plesset, M.S. **1934**. Note on an approximation treatment for many-electron systems. *Phys. Rev.*, 46, 618-622.
- Morin-Crini, N. ; Fourmentin, S. ; Crini, G. **2015**. Cyclodextrines. Presse universitaire de franche-comité, Besançon, 370 p.
- Morris, G.M.; Goodsell, D.S.; Halliday, R.S.; Huey, R.; Hart, W.E.; Belew, R.K.; Olson, A.J. **1998**. Automated docking using a Lamarckian Genetic Algorithm and empirical binding free energy function, *J. Comput. Chem.*, 19, 1639-1662.
- Motoyama, K.; Hirai, Y.; Nishiyama, R.; Maeda, Y.; Higashi, T.; Ishitsuka, Y.; Kondo, Y.; Irie, T.; Era, T.; Arima, H. **2015**. Cholesterol lowering effects of mono-lactose-appended beta-cyclodextrin in Niemann-Pick type C disease-like HepG2 cells. *Beilstein J. Org. Chem.*, 11, 2079–2086.
- Motoyama, K.; Nishiyama, R.; Maeda, Y.; Higashi, T.; Kawaguchi, Y.; Futaki, S.; Ishitsuka, Y.; Kondo, Y.; Irie, T.; Era, T.; Arima, H. **2016**. Cholesterol-lowering effect of octaarginine-appended beta-cyclodextrin in Npc1-Trap-CHO cells. *Biol. Pharm. Bull.*, 39, 1823–1829.
- Moya-Ortega, M.; Alvarez-Lorenzo, C.; Concheiro, A.; Loftsson, T. **2012**. Cyclodextrin-based nanogels for pharmaceuticals and biomedical applications. *Int. J. Pharm.*, 428,152–163.
- Muhrer, G.; Meier, V.; Fusaro, F.; Albano, S.; Mazzotti, M. **2006**. Use of compressed gas precipitation to enhance the dissolution behaviour of a poorly water-soluble drug: generation of drug microparticles and drug polymer solid dispersions. *Int. J. Pharm.*, 308, 69-83.

- Mulliken, R.S. **1935**. Electronic structure of polyatomic molecules and valence IV. On the method of molecular orbitals. *J. Chim. Phys.*, 3, 375-395.
- Mura, P.; Faucci, M.T.; Bettinetti, G.P. **2001**. The influence of polyvinylpyrrolidone on naproxen complexation with hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin. *Eur. J. Pharm. Sci.*, 13, 187-194.
- Mura, P.; Bettinetti, G.; Melani, F.; Manderioli, A. **1995**. interaction between naproxen and chemically modified  $\beta$ -cyclodextrins in the liquid and solid state, *Eur. J. Pharm. Sci.*, 3, 347-355.
- Mulroy M.F.; Wolters, K.; Lippincott, W.; Wilkins . **2009**. Typical structure of local ester and amide anesthetic molecules. P2. In: A practical approach to regional anesthesia. 4<sup>th</sup> edition, USA.
- Noble, D.W.; Smith, K.J.; Dundas, C.R. **1987**. Effects of H-2 antagonists on the elimination of bupivacaine. *Br. J. Anaesth.*, 59, 735-737.
- Ohmura, S.; Ohta, T.; Yamamoto, K.; Kobayashi, T. **1999**. A comparison of the effects of propofol and sevoflurane on the systemic toxicity of intravenous bupivacaine in rats. *Anesth. Analg.*, 88, 155-159.
- Okano, C.; Nasuno, E.; Iimura, K.; Kato, N. **2016**. Cyclodextrin-immobilized microspheres for uptake of the quorum-sensing signaling molecule N-acylhomoserine lactone. *J. Appl. Polym. Sci.*, 133, 1-7.
- Oliveri, V.; Vecchio, G. **2016**. Cyclodextrins as protective agents of protein aggregation: an overview. *Chem. Asian. J.*, 11, 1648–1657.
- Onsager, L. **1936**. Electric moments of molecules in liquids. *J. Am. Chem. Soc.*, 58, 1486-1493.
- Owen T. **1996**. Principles and applications of UV-visible spectroscopy. 9-36. In: Fundamentals of UV-visible spectroscopy. A primer: Hewlett-Packard, Germany.
- Ozbilgin, S.; Yilmaz, O.; Ergur, B.U.; Hanci, V.; Ozbal, S.; Yurtlu, S.; Gunenc, S.F.; Kuvaki, B.; Kucuk, B.A.; Sisman, A.R. **2016**. Effectiveness of sugammadex for cerebral ischemia/reperfusion injury. *Kaohsiung. J. Med. Sci.* 32, 292–301.
- Park, Y.K; Popescu, G.; Badizadegan, K.; Dasari, R. R.; Feld, M.S. **2006**. Diffraction phase and fluorescence microscopy, *Optics Express*, 14, 8263-8268.

- Patil, J.S.; Kadam, D.V.; Marapur S.C.; Kamalapur M.V. **2010**. Inclusion complex system; a novel technique to improve the solubility and bioavailability of poorly soluble drugs: a review. *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res.* 2, 29-34.
- Pearson, W.R.; Lipman D.J. **1988**. Improved tools for biological sequence comparison. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 8, 2444-2448.
- Perdew, J.P.; Burke. K.; Ernzerhof. M. **1996**. Generalized gradient approximation made simple. *Phys. Rev. Lett.*, 77, 3865-3868.
- Perdew, J. P.; Wang, Y. **1992**. Accurate and simple analytic representation of the electron-gas correlation energy. *Phys. Rev. B*, 45, 13244-13249.
- Perdew, J.P.; Wang, Y. **1986**. Accurate and simple density functional for the electronic exchange energy: Generalized gradient approximation. *Phys. Rev. B*, 33, 8800-8802.
- Perez-Martinez, J.I.; Arias, M.J.; Gines, J.M.; Moyano, J.R.; Morillo, E.; Sanchez-Soto, P.J. Novak, Cs. **1998**. 2,4-D-alpha-cyclodextrin complexes; preparation and characterization by thermal-analysis. *J. Thermal Anal.*, 51, 965-972.
- Perez-Martinez, J.I.; Gines, J.M.; Morillo, E.; Rodriguez, M.L.; Moyano, J.R. **2000**. 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid/partially methylated- $\beta$ -cyclodextrin inclusion complexes. *Environ. Technol.*, 21, 209-216.
- Peverati, R.; Truhlar, D.G. **2012**. "M11-L: A Local Density Functional That Provides Improved Accuracy for Electronic Structure Calculations in Chemistry and Physics". *J. Phys. Chem. Let.* 3, 117-124.
- Piel, G. ; Moutard, S. ; Perly, B. ; Henry De Hassonville, S. ; Bertholet, P. ; Barillaro, V. ; Piette, M. ; Delattre, L. ; Evrard, B. **2004**. Comparison of two methods currently used to determine the interaction between cyclodextrins and drugs: phase solubility diagrams and NMR spectroscopy. *J. Drug Deliv. Sci. Tec.* 14, 87-91.
- Pinto, L.M.A. De Jesus, M.B., De Paula, E. ; Lino, A.C.S. **2004**. Elucidation of inclusion compounds between  $\beta$ -cyclodextrin/local anaesthetics structure: A theoretical and experimental study using differential scanning calorimetry and molecular mechanics, *J. Mol. Struc. THEOCHEM*, 678, 63-66.

- Pinto, L.M.A.; Fraceto, L.F.; Santana, M.H.A.; Pertinhez, T.A.; Oyama, S.; de Paula, E. **2005**. Physico-chemical characterization of benzocaine- $\beta$ -cyclodextrin inclusion complexes. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 39, 956-963
- Pîrnău, A.; Mic M.; Bogdan, M.; Turcu, I. **2014**. Characterization of  $\beta$ -cyclodextrin inclusion complex with procaine hydrochloride by  $^1\text{H}$  NMR and ITC. *J. Incl. Phenom. Macro. Chem.*, 79, 283-289.
- Polarz, S.; Smarsly, B.; Bronstein, L.; Antonietti, M. **2001**. From cyclodextrin assemblies to porous materials by silica templating. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 40, 4417-4421.
- Ponce Cevallos, P.A.; Del Pilar Buera, M.; Elizalde, B.E. **2010**. Encapsulation of cinnamon and thyme essential oils components (cinnamaldehyde and thymol) in  $\beta$ -cyclodextrin: effect of interactions with water on complex stability. *J Food Eng* 99, 70-75.
- Pople, J.A.; Beveridge, D.L.; Dobosh P.A. 1967. Approximate self-consistent molecular-orbital theory. V. Intermediate Neglect of Differential Overlap. *J. Chem. Phys.*, 47, 2026-2033.
- Pople, J.A.; Santry, D.P.; Segal, G.A. **1965**. Approximate Self-Consistent Molecular Orbital Theory. I. Invariant Procedures. *J. Chem. Phys.*, 43, S129-S135.
- Rafati, A.A.; Hashemianzadeh, S.M.; Nojini, Z.B.; Safarpour, M.A. **2007**. Theoretical study of the inclusion complexes of  $\alpha$  and  $\beta$ -cyclodextrins with decyltrimethylammonium bromide (DTAB) and tetradecyltrimethylammonium bromide (TTAB). *J. Mol. Liq.*, 135, 153-157.
- Rahim, N.Y.; Samad, F.H.; Rohisham, A.M. **2019**. Spectroscopic studies od inclusion complex glipizide and  $\beta$ -cyclodextrin, *Malysian J. Anal. Sci.*, 23, 789 - 798
- Rathmell , J.P. ; Neal, J.M. ; Viscomi, C.M. **2004**. Regional Anesthesia ; The Requisites in Anesthesiology, Mosby: 1<sup>st</sup> edition, 415 pages.
- Rayleigh, J.W.S. **1894**. The theory of Sound, 2<sup>nd</sup>. Vol. 1 , 528p. Macmillan edition, London.
- Rekharsky, M.V.; Schwarz, F.P.; Tewari, Y.B.; Goldberg, R.N.; Tanaka, M.; Yamashoji, Y. **1994**. Thermodynamic and NMR study of the interactions of cyclodextrins with cyclohexane derivatives. *J. Phys. Chem.* 98: 4098-4103.

- Ribeiro, L. ; Carvalho, R.A. ; Ferreira, D.C. ; Veiga, F.J.B. **2005**. Multicomponent complex formation between vinpocetine, cyclodextrins, tartaric acid and water-soluble polymers monitored by NMR and solubility studies. *Eur. J. Pharm. Sci.*, 24, 1–13.
- Ribeiro, L., Loftsson, T., Ferreira, D., Veiga, F. **2003**. Investigation and physicochemical characterization of vinpocetine-sulfobutyl ether beta-cyclodextrin binary and ternary complexes. *Chem. Pharm. Bull.*, 51, 914–922.
- Rivail, J.L. **1999**. *Eléments de chimie quantique à l’usage des chimistes*, 2<sup>ème</sup> édition. CNRS, 435p.
- Rodier, E. ; Lochard, H. ; Sauceau, M. ; Letourneau, J.J. ; Freiss, B. ; Frages, J. **2005**. A three step supercritical process to improve the dissolution rate of Eflucimibe. *Eur. J. Pharm. Sci.*, 26, 184-193.
- Rodriguez-Perez, A.I. ; Rodriquez-Tenreiro, C., Alvarez-Lorenzo, C. ; Concheiro, A.; Torres Labandeira, J. J. **2006**. *J. Nanosci. Nanotechnol.*, 6, 3179-3186.
- Roewer, N. ; Thiel, H. **2003**. Atlas de poche d’anesthésie. Médecine–sciences Flammarion, Paris. pp : 218-235 ; 374p.
- Roothaan, C.C.J. **1951**. New developments in molecular orbital theory. *Rev. Mod. Phys.*, 23, 69-89.
- Rossignol, J. **2016**. Polymérisation supramoléculaire de cyclodextrines : application à la compaction d’ADN. Thèse de doctorat en chimie. Université Pierre et Marie Curie, France.
- Roux, M.; Perly, B.; Djedaïni-Pilard, F. **2007**. Self-assemblies of amphiphilic cyclodextrins, *Eur. Biophys. J.*, 36, 861–867.
- Ruetsch, Y.A.; Boni, T.; Borgeat, A. **2001**. From Cocaine to Ropivacaine: The History of Local Anesthetic Drugs. *J. Curr. Top. Med. Chem.*, 1, 175-182
- Ryzhakov, A.; Thi, T.D.; Stappaerts, J.; Bertoletti, L.; Kimpe, K.; Couto, A.R.S.; Saokham, P.; Van den Mooter, G.; Augustijns, P.; Somsen, G.W.; Kurkov, S.; Inghelbrecht, S.; Arien, A.; Jimidar, M.I.; Schrijnemakers, K.; Loftsson, T. **2016**. Self-assembly of cyclodextrins and their complexes in aqueous solutions. *J. Pharm. Sci.* 105, 2556–2569.

- Sabermoghdam Ranjbar, A.A.; Rajabi, O.; Salari, R.; Ashraf, H. **2012**. Lidocaine cyclodextrin complex ophthalmic drop, a new topical anesthetic choice. *Iran Red. Crescent. Med. J.* 14, 511-517.
- Sabit, H.; Samy, M.B.; Said, O.A.; El-Zawahri, M.M. **2016**. Procaine induces epigenetic changes in HCT116 colon cancer cells. *Genet. Res. Int.*, 2016, 1-7.
- Sadjadi, M.S.; Sadeghi, B.; Zare, K. **2007**. Natural bond orbital (NBO) population analysis of cyclic thionyl phosphazenes, [NSOX (NPCl<sub>2</sub>)<sub>2</sub>]; X = F (1), X = Cl (2). *J. Mol. Struct.: THEOCHEM.*, 817,27-33
- Saharan, V.A.; Kukkar, V.; Kataria, M.; Gera, M.; Choudhary, P.K. **2009**. Dissolution enhancement of drugs.Part I: Technologies and effect of carriers. *Int. J. Health. Res.*, 2, 107-124.
- Saikosin, R.; Limpaseni, T.; Pongsawasdi, P. **2002**. Formation of inclusion complexes between cyclodextrins and carbaryl and characterization of the complexes. *J. Incl. Phenom. Macro. Chem.*, 44, 191-196.
- Saokham, P.; Loftsson, T. 2017. Gamma-cyclodextrin. *Int. J. Pharm.*, 516, 278–292.
- Sauceau, M., Rodier, E. ; Fages, J. **2008**. Preparation of inclusion complex of piroxicam with cyclodextrin by using supercritical carbon dioxide. *J. Supercrit. Fluids*, 47, 326-332.
- Sawaki, K.; Kawaguchi, M. **1989**. Some correlations between procaine-Induced convulsions and monoamines in the spinal cord of rats. *Jpn. J. Pharmacol.*, 51, 369-376
- Schardinger, F. **1903**. Über thermophile bakterien aus verschiedenen speisen und milch, sowie über einige umsetzungsprodukte derselben in kohlenhydrathaltigen nährlösungen, darunter krystallisierte polysaccharide (dextrine) aus Stärke. *Z. Unters. Nahr. Genussm.*, 6, 865-880.
- Schardinger, F. **1903**. Ueber die zulässigkeit des warmhaltens von zum genuß bestimmten nahrungsmitteln mittelst wärme speichernder apparate, sog. thermophore. *Wien. Klin. Wochenschr.*, 16, 468-478.
- Schardinger, F. **1911**. Bildung kristallisierter polysaccharide (dextrine) aus särkekleister durch mikroben Centralbl. Bakteriolog. Parasitenkd. Infektionskrankh. *Hyg. Abt.*, 29, 188-197.



- Scott, R. L, **1956**. Some comments on the Benesi-Hildebrand equation. *Rec. Trav. Chem. Pays – Bas*, 75, 787-789.
- Scott, D.B. **1986**. Toxic effects of local anaesthetic agents on the central nervous system. *Br. J. Anaesth.*, 58,732-735.
- Scriba, G.K.E. 2016. Chiral recognition in separation science - an update. *J. Chromatogr.*, 1467, 56–78.
- Sharma, N.; Baldi, A. **2016**. Exploring versatile applications of cyclodextrins: an overview. *Drug Deliv.*, 23, 739–757.
- Shavitt, I. **1993**. The history and evolution of Gaussian basis sets. *Israël J. Chem.*, 33, 357-367.
- Silva, A.; Duarte, A.; Sousa, S.; Ramos, A.; Domingues, F.C. **2016** Characterization and antimicrobial activity of cellulose derivatives films incorporated with a resveratrol inclusion complex. *LWT-Food Sci. Technol.*, 73, 481–489
- Singh, M.; Sharma, R.; Banerjee, U.C. **2002**. Biotechnological applications of cyclodextrins, *Biotechnol. Adv.*, 20, 341–359.
- Slater, J. C. **1951**. A simplification of the Hartree-Fock method. *Phys. Rev.*, 81, 385-390.
- Smithrud, D.B.; Wyman, T.B.; Diederich, F. **1991**. Enthalpically driven cyclophane-arene inclusion complexation: solvent-dependent calorimetric studies. *J. Am. Chem. Soc.*, 113, 5420–5426.
- Soni, S.; Pal, A. **2016**. Spectroscopic studies on host–guest, interactions of  $\alpha$ - and  $\beta$ -cyclodextrin with lidocaine hydrochloride and procaine hydrochloride. *J. Solution Chem.*, 45, 665-674.
- Srinivasa, V.; Gerner, P.; Haderer, A.; Abdi, S.; Jarolim, P.; Wang, G.K. **2003**. The relative toxicity of amitriptyline, bupivacaine, and levobupivacaine administered as rapid infusions in rats. *J. Anesth. Analg.*, 97, 91-5.
- Stachowicz, A.; Styrz, A.; Korchowiec, J.; Modaressi, A.; Rogalski, M. **2011**. DFT studies of cation binding by  $\beta$ -cyclodextrin. *Theor Chem. Acc.*, 130, 939-953.
- Stella, V.J.; He, Q. **2008**. Cyclodextrins, *J. Toxicol. Pathol.*, 36, 30–42.
- Stella, V.; Rajewski, R.A. **1997**. cyclodextrins: their future in drug formulation and delivery, *Pharm. Res.*, 14, 556–567.

- Stewart, J.J.P. **1989**. Optimization of parameters for semiempirical methods II. Applications. *J. Comput. Chem.* 1989, 10, 209–220.
- Stewart, J.J.P. **1989**. Optimization of parameters for semiempirical methods II. Applications. *J. Comput.Chem.* 10, 221-264.
- Stewart, J.J.P. **2007**. Optimization of Parameters for Semiempirical Methods V: Modification of NDDO Approximations and Application to 70 Elements. *J. Mol. Model.*, 13, 1173–1213.
- Stewart, J.J.P. **2013**. Optimization of Parameters for Semiempirical Methods VI: More Modifications to the NDDO Approximations and Re-optimization of Parameters. *J. Mol. Model.*, 19, 1–32.
- Suhonen, R.; Kanerva, L. **1997**. Contact allergy and cross-reactions caused by prilocaine. *Am. J. Contact. Dermat.*, 8, 231–235.
- Svensson, M.; Humbel, S.; Froese, R.D.J.; Matsubara, T.; Sieber, S.; Morokuma, K. 1996. ONIOM: A Multilayered integrated MO + MM method for geometry optimizations and single point energy predictions. A test for Diels–Alder reactions and Pt(P(*t*-Bu)<sub>3</sub>)<sub>2</sub> + H<sub>2</sub> oxidative addition. *J. Phys.Chem.*, 100, 19357-19363.
- Sweetman, S.C. **2005**. Local anaesthetics. 1367-1385. In: Martindale: The complete drug reference. Sweetman, S.C. (34 eds).
- Szejtli, J. **1998**. Introduction and general overview of cyclodextrin chemistry, *Chem. Rev.*, 98, 1743–1754.
- Szejtli, J. **2004**. Past, Present, and future of cyclodextrin research, *J. Pure Appl. Chem.*, 76, 1825–1845.
- Szejtli, J.; Szente, L. **2005**. Elimination of bitter, disgusting tastes of drugs and foods by cyclodextrins. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 61, 115-125.
- Szente, L.; Szejtli, J. **2004**. Cyclodextrins as food ingredients, *Trends Food Sci.Technol.*, 15, 137-142.
- Tao, J.; Perdew, J. P.; Staroverov, V.N.; Scuseria, G.E. **2003**. Climbing the density functional ladder: Nonempirical meta–generalized gradient approximation designed for molecules and solids. *Phys. Rev. Lett.*, 91, 146401

- Tejashri, G.; Amrita, B.; Darshana, J. **2013**. Cyclodextrin based nanosponges for pharmaceutical use: a review. *Acta. Pharm.* 63, 335–358.
- Thomas, L. H. **1927**. The calculation of atomic fields. *Proc. Cambridge Phil. Soc.*, 23, 542-548.
- Tian, B.; Hua, S.; Liu J. **2020**. Cyclodextrin-based delivery systems for chemotherapeutic anticancer drugs: A review. *Carbohydr Polym.*, 15, 232-249.
- Thomas, O.; Burgess, C. **2007**. UV-visible Spectrophotometry of Water and Wastewater, 1st Edition, Vol. 27, 372p, Elsevier Science.
- Tirucherai, G.S.; Mitra A.K. **2003**. Effect of hydroxypropyl beta cyclodextrin complexation on aqueous solubility, stability, and corneal permeation of acyl ester prodrugs of ganciclovir. *AAPS PharmSciTech.*, 4, 124-135.
- Toma, S.H.; Toma, H.E. **2007**. Self-Assembled Rotaxane and pseudo-rotaxanes based on  $\beta$ -cyclodextrin inclusion compounds with trans-1,4-bis [(4-pyridyl) ethenyl] benzene pentacyanoferrate (II) complexes. *J. Braz. Chem. Soc.*, 18, 279-283.
- Touadjine, A.M.; Mostefai, A.; Rahmouni, A.; Humbel, S.; Krallafa, A. **2017**. A theoretical study of atropisomerism in *N*-(2-methylphenyl)-*N'*-(2-methylphenyl) thiourea and its inclusion in the  $\beta$ -cyclodextrin. *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.*, 88, 199–207.
- Trotta, F.; Caldera, F.; Dianzani, C.; Argenziano, M.; Barrera, G.; Cavalli, R. **2015**. New glutathione bio-responsive cyclodextrin nanosponges. *Chem. Plus. Chem.* 81, 439–443.
- Trotta, F.; Dianzani, C.; Caldera, F.; Moggetti, B.; Cavalli, R. **2014**. The application of nanosponges to cancer drug delivery. *Expert. Opin. Drug Deliv.* 11, 931–941.
- Tsinontides, S.C.; Rajnaik, P.; Pham, D.; Hunke, W.A.; Placek, J.; Reynolds, S.D. **2004**. Freeze drying-principles and practice for successful scale up to manufacturing. *Int. J. Pharm.*, 28, 1-16.
- Tucker, G.T.; Moore, D.C.; Bridenbaugh, P.O.; Thompson G.E. **1972**. Systemic absorption of mepivacaine in commonly used regional block procedures. *Anesthesiology*, 37, 277-287.
- Uekama, K. **2004**. Design and evaluation of cyclodextrin-based drug formulation. *Chem. Pharm. Bull.*, 52, 900-915.

- Uekama, K.; Hirayama, F.; Irie, T. **1998**. Cyclodextrin Drug Carrier Systems. *Chem. Rev.*, 98, 2045-2076.
- Valente, A.J.M.; Söderman, O. **2014**. The formation of host-guest complexes between surfactants and cyclodextrins. *Adv. Colloid. Int. Sci.*, 205, 156–176.
- Vamsi, K.M.; Gowrisankar, D. **2007**. Role of Supercritical fluids in the Pharmaceutical Research-A Review. *Indian J. Pharm. Edu. Res.*, 41, 10-17.
- Vazquez, M.L.; Cepeda, A.; Prognon, P.; Mahuzier, G.; Blais, J. **1991**. cyclodextrins as modifiers of the luminescence characteristics of aflatoxins. *Anal Chim Acta*, 255, 343–350.
- Veglia, A.V.; Rossi, R.H. **1988**. Selectivity in the iodination of phenol in the presence of beta-cyclodextrin. *Org. J. Chem.*, 53, 5281-5287.
- Veiga, F.; Pecorelli, C.; Ribeiro, L. **2006**. As ciclodextrinas em tecnologia farmacêutica. 9-33. Coimbra: Minerva Coimbra,
- Vetter W, Bester K. **2006**. Gas chromatographic enantioseparation of chiral pollutants – techniques and results. Chap. 6, 131–228. In: Busch K.W.; Busch, M.A. (eds): Chiral separation. Elsevier, Netherlands.
- Viale M, Pastrone I, Pellecchia C, Vannozzi MO, Cafaggi S, Esposito, M. **1998**. Combination of cisplatin-procaine complex DPR with anticancer drugs increases cytotoxicity against ovarian cancer cell lines. *Anticancer Drugs* 9, 457-463.
- Villalonga, R.; Cao, R.; Fragoso, A. **2007**. Supramolecular chemistry of cyclodextrin in enzyme technology. *Chem. Rev.*, 107, 3088–3116
- Villiers, A. **1891**. Sur la transformation de la féculé en dextrine par le ferment butyrique, *Bull. Soc. Chim.*, 46, 470-472.
- Villiers, A. **1891**. Sur la fermentation de la féculé en dextrine par le ferment butyrique, *Acad. Sci.*, CXII, 536-538.
- Voncina, B. **2011**. Application of cyclodextrins in textile dyeing. Chap. 17, 373–392. In: Hauser P.J. (ed) Textile dyeing. InTech., Croatia.
- Voncina, B.; Vivod, V. **2013**. Cyclodextrins in textile finishing. Chap. 3, 53–75. In: Günay M. (ed) Textile dyeing. InTech. Croatia.

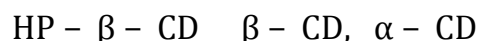
- Vosko, S.J.; Wilk, L.; Nusair, M. **1980**. Accurate spin-dependent electron liquid correlation energies for local spin density calculations: a critical analysis. *Can. J. Phys.*, 58, 1200-1211.
- Wagner, B.D. **2006**. The effects of cyclodextrins on guest fluorescence. Chap. 1, 27-60. In: Cyclodextrin materials photochemistry, photophysics and photobiology, 1<sup>st</sup> ed. Douhal, A. Vol. 1, Spain.
- Weiner, C.P. ; Mason, C. **2019**. Drugs for Pregnant and Lactating Women (3<sup>rd</sup> edition). Elsevier. 1043p.
- Warrington, R.J.; McPhillips, S. **1997**. Allergic reaction to local anesthetic agents of the amide group. *J. Allergy. Clin. Immunol.*, 100, 855-855.
- Wen, X.; Tan, F.; Jing, Z.; Iiu, Z. **2004**. Preparation and study of the 1:2 inclusion complex of carvedilol with  $\beta$ -cyclodextrin. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 34, 517-523.
- West, C. **2014**. Enantioselective separations with supercritical fluids – review. *Curr. Anal. Chem.*, 10, 99–120.
- Wodak, S.J.; Janin, J. **1978**. Computer analysis of protein-protein interactions. *J. Mol. Biol.*, 124, 323-342
- Xiao, Y.; Ng, S.C.; Tan, T.T.Y.; Wang, Y. **2012**. Recent development of cyclodextrin chiral stationary phases and their applications in chromatography. *J. Chromatogr.* 1269, 52–68.
- Yáñez, J.A.; Remsberg, C.M.; Sayre, C.L.; Forrest, M.L., Davies, N.M. **2011**. “Flip-Flop Pharmacokinetics – delivering a reversal of disposition: challenges and opportunities during drug development. *Ther. Deliv.*, 2, 643–672.
- Yang, L.; Li, D.; Guo, B.; Wei, D. **2019**. Theoretical study on the inclusion interaction of  $\beta$ -cyclodextrin with gabapentin and its stability. *J. Struct. Chem.*, 60, 564-574
- Yang, E.C.; Zhao, X.J.; Hua, F.; Hao, J.K. **2004**. Semiempirical PM3 study upon the complexation of  $\beta$ -cyclodextrin with 4,4'-benzidine and o-tolidine. *J. Mol. Struct.: THEOCHEM.*, 712, 75-79.
- Yarov-Yarovoy, V.; Brown, J.; Sharp, E.M.; Clare, J.J.; Scheuer, T.; Catterall, W.A. **2001**. Molecular determinants of voltage-dependent gating and binding of pore-blocking drugs in transmembrane segment IIIIS6 of the Na(+) channel alpha subunit. *J. Biol. Chem.*, 276, 20–27.

- Yokoo, M.; Kubota, Y.; Motoyama, K.; Higashi, T.; Taniyoshi, M.; Tokommaru, H.; Nishiyama, R.; Tabe, Y.; Mochinaga, S.; Sato, A.; Sueoka-Aragane, N.; Sueoka, E.; Arima, H.; Irie, T.; Kimura, S. **2015**. 2-Hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin acts as a novel anticancer agent. *PLoS One* 10:e0141946.
- Yokota, T. ; Tonozuka, T. ; Shimura, Y.; Ichikawa, K.; Kamitori, S.; Sakano, Y. **2001**. Structures of thermoactinomyces vulgaris R-47  $\alpha$ -amylase II complexed with substrate analogues, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 65, 619-626.
- Yuan, Z.; Zhang L. **2016**. Photoinduced controlled-release drug delivery systems for applications in nanomedicine. *Curr. Org. Chem.*, 20, 1768–1785.
- Zhang, J.; Ma, P.X. **2013**. Cyclodextrin-based supramolecular systems for drug delivery: Recent progress and future perspective. *Adv. Drug. Deliv. Rev.*, 65, 1215–1233
- Zhao, Y.; Schultz, N.E.; Truhlar, D.G. **2005**. Exchange-correlation functional with broad accuracy for metallic and nonmetallic compounds, kinetics, and noncovalent interactions. *J. Chem. Phys.*, 123, 161103.
- Zhao, Y.; Truhlar, D.G. **2004**. Hybrid meta density functional theory methods for Thermochemistry, thermochemical kinetics, and noncovalent interactions: the MPW1B95 and MPWB1K models and comparative assessments for hydrogen bonding and Van der Waals interactions. *J. Phys. Chem. A*, 108, 6908-6918.
- Zhao, Y.; Truhlar, D.G. **2005**. Design of density functionals that are broadly accurate for thermochemistry, thermochemical. kinetics, and nonbonded interactions. *J. Phys. Chem. A*, 109, 5656-5667.
- Zhao Y.; Truhlar, D.G. **2006**. "A new local density functional for main-group thermochemistry, transition metal bonding, thermochemical kinetics, and noncovalent interactions". *J. Chem. Phys.*, 125, 194101.
- Zhao Y.; Truhlar, D.G. **2006**. The M06 suite of density functionals for main group thermochemistry, thermochemical kinetics, noncovalent interactions, excited states, and transition elements: two new functionals and systematic testing of four M06-class functionals and 12 other functionals », *Theor. Chem. Acc.*, 120, 215-241.

Zimmer, S.; Grebe, A.; Bakke, S.S.; Bode, N.; Halvorsen, B.; Ulas, T.; Skjelland, M.; De Nardo, D.; Labzin, L.I.; Kerksiek, A.; Hempel, C.; Heneka, M.T.; Hawxhurst, V.; Fitzgerald, M.L.; Trebicka, J.; Bjorkhem, I.; Gustafsson, J.A.; Westerterp, M.; Tall, A.R.; Wright, S.D.; Espevik, T.; Schultze, J.L.; Nickenig, G.; Lutjohann, D.; Latz, E. **2016**. Cyclodextrin promotes atherosclerosis regression via macrophage reprogramming. *Sci. Transl. Med.*, 8, 333ra50.

Site web: [https://en.wikipedia.org/wiki/List\\_of\\_protein-ligand\\_docking\\_software](https://en.wikipedia.org/wiki/List_of_protein-ligand_docking_software)

هذا العمل يجمع بين دراستين نظرية وتجريبية لتفاعل التعقيد للكروهيديرات البروكايين بواسطة ثلاث جزيئات



يظهر التوصيف بواسطة التحليل الطيفي للأشعة المرئية وال فوق البنفسجية، الفلورة (طيف الانبعاث) والرنين المغناطيسي النووي بأن  $\text{HP} - \beta - \text{CD}$   $\beta - \text{CD}$  لهما القدرة على تغليف (تعقيد) هيدروكلورات البروكايين وبينما لا يوجد أي تأثير على المعلومات الطيفية لهذا الدواء في وج  $\alpha - \text{CD}$ . فحص ثوابت الارتباط يبين أن المعقد  $\text{ProcHCl}/\beta - \text{CD}$   $\text{ProcHCl}/\text{HP} - \beta - \text{CD}$ . التوظيف بواسطة طرق الكيمياء الكوانتية يبين أن الجزء الحلقى لجزيئة هيدروكلورات البروكايين هو الذي يتم تعقيده بصفة كاملة. تحليل المقادير الترموديناميكية يبين أن تشكيل هذا المعقد يكون مفضل ترموديناميكيا وهندسته منتظمة , آخر يظهر تحليل الأفلاك (NBO) Van der Waals هي المسؤولة عن استقرار هذا المعقد.

## Abstract.

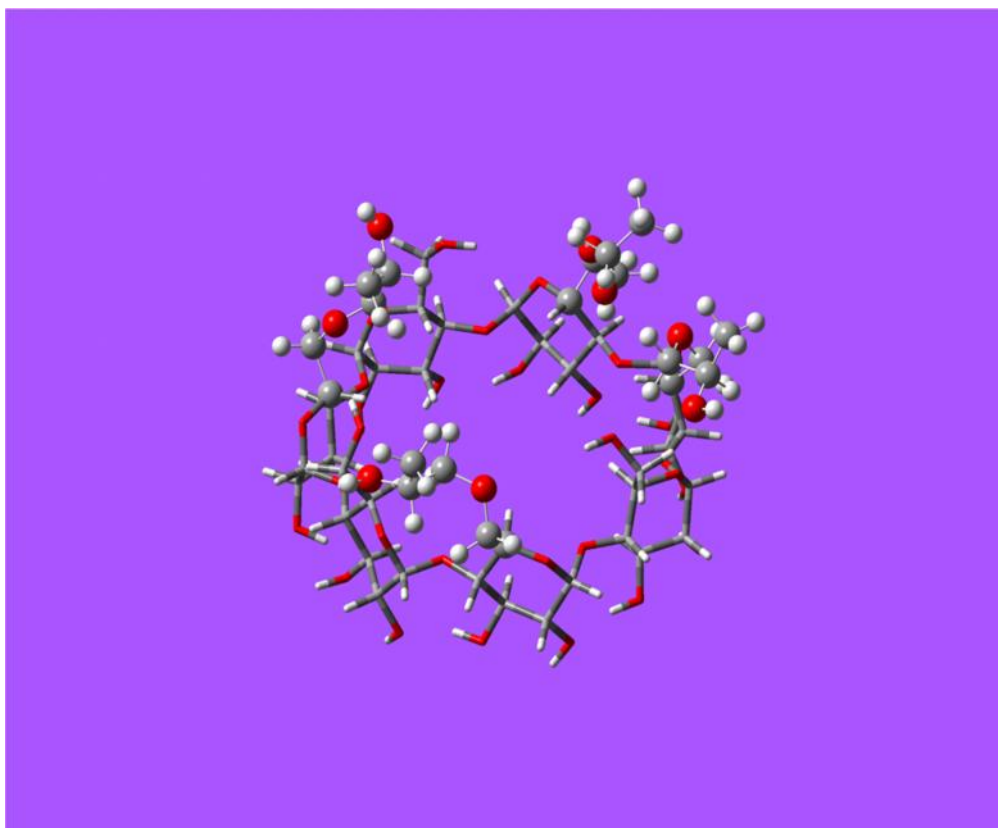
This work reports a combined experimental and computational study on the complexation reaction of procaine hydrochlorate by three complexing agents:  $\alpha$ -CD,  $\beta$ -CD and HP- $\beta$ -CD.

Characterization by UV-Vis spectroscopy, fluorescence and one-dimensional and two-dimensional nuclear magnetic resonance shows that  $\beta$ -CD and HP- $\beta$ -CD have the ability to encapsulate procaine hydrochloride, while no effect on the spectral informations of this drug has only been recorded in the presence of  $\alpha$ -CD. Examination of association constants indicates that the ProcHCl/ $\beta$ -CD complex is more stable compared to ProcHCl/HP- $\beta$ -CD.

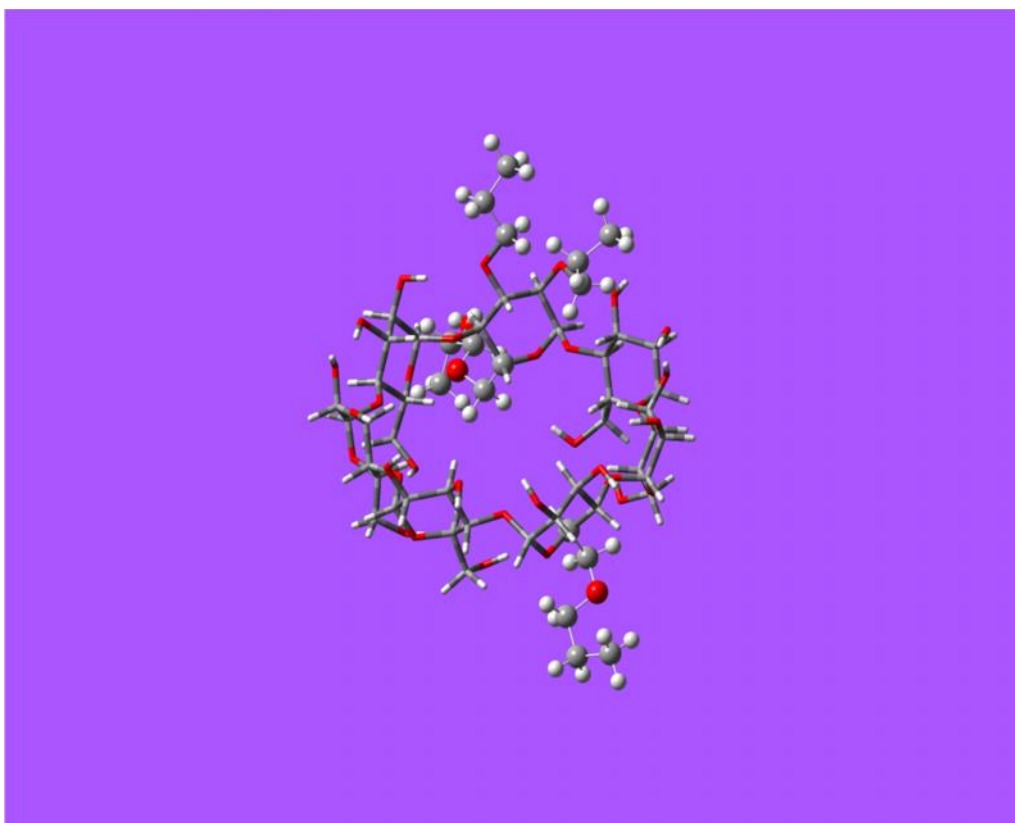
Quantum-chemical calculations were performed to study the complexation of procaine hydrochloride with beta cyclodextrin ( $\beta$ -CD) in the gas phase and in water. The inclusion process was optimized by the semi empirical method PM3 and the obtained complex structure was further refined by ONIOM method. Given the energy profile, the configuration of the complex formed indicates that the benzene ring is completely included in the cavity of the  $\beta$ -CD. The thermodynamic parameters analysis has shown that the procaine/ $\beta$ -CD complexation is enthalpically favorable, and the complex is well structured. Natural bond orbital (NBO) analysis indicates that the procaine/ $\beta$ -CD complex is mainly stabilized by Van der Waals forces.



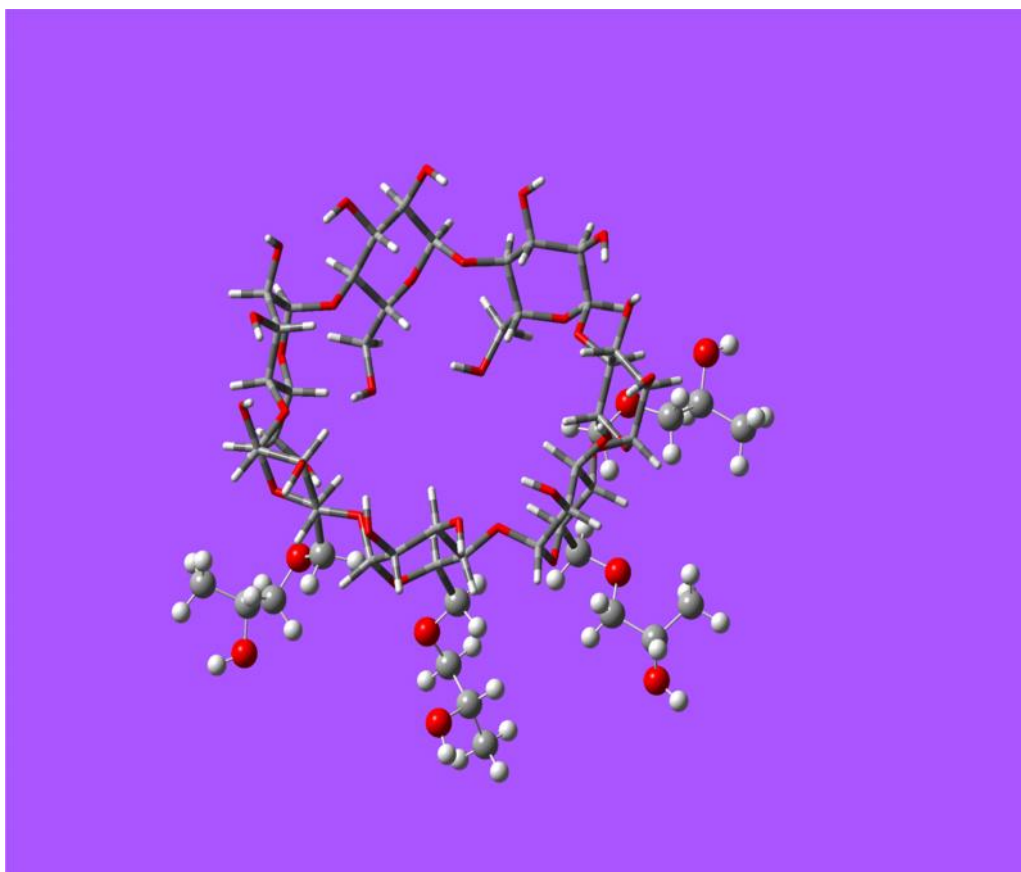
## Annexe



**Forme  
(a)**



**Forme  
(b)**



**Forme  
(c)**

**Figure V.1.** Structures proposées pour HP- $\beta$ -CD (Mura *et al.*, 1995)