

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

و البحث العلمي وزارة التعليم العالي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université MUSTAPHA Stambouli

Mascara



جامعة مصطفى اسطمبولي

معسكر

Faculté des sciences exactes

Département de chimie

*Laboratoire de chimie physique des macromolécules et interfaces biologiques*

## THESE de DOCTORAT

Spécialité : Chimie

Intitulée

### Etude des équilibres de complexation par des cyclodextrines

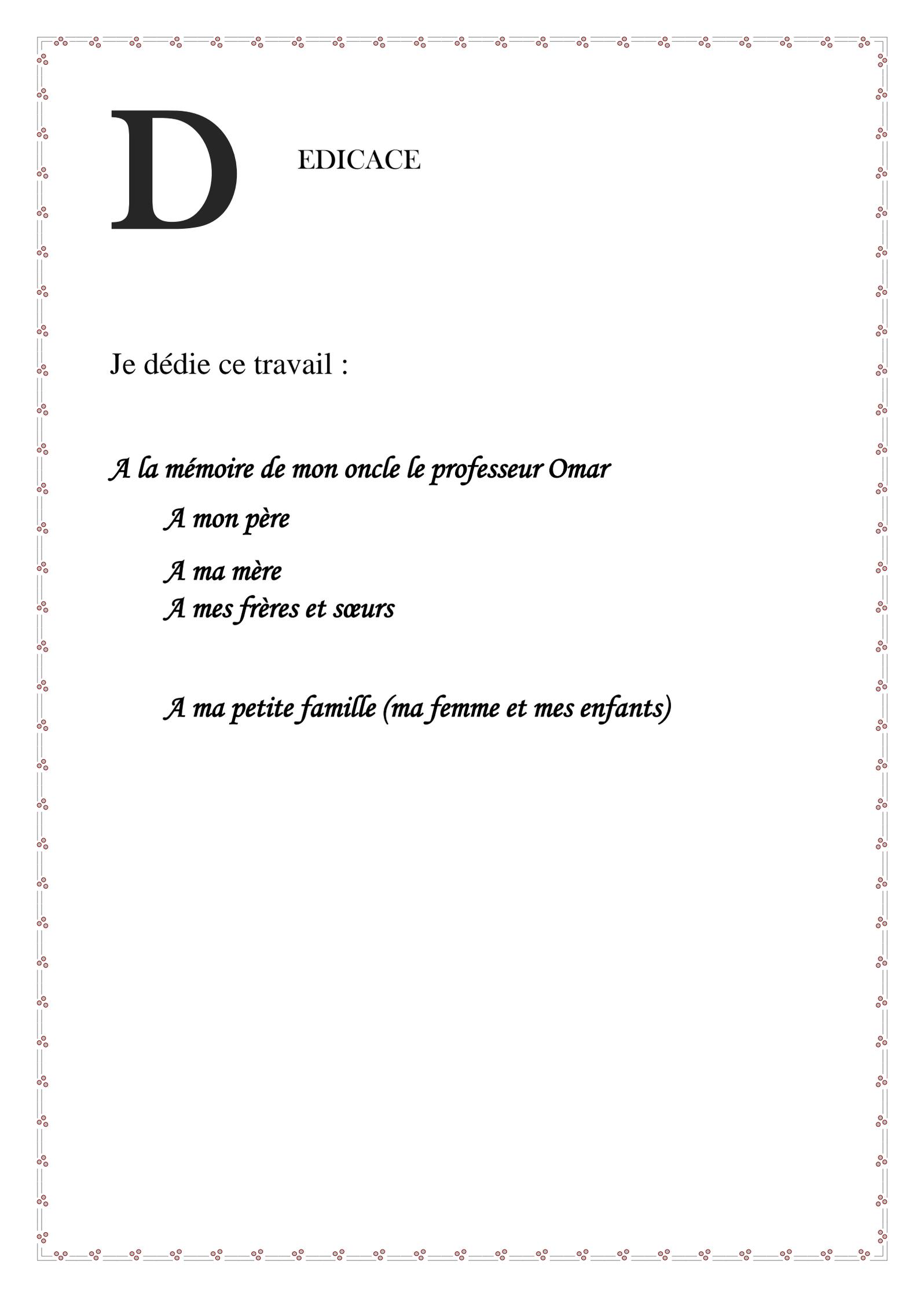
*Présentée par : MEDDAH ARAIBI Nourredine*

Le 27/ 09/2023

Devant le jury

Président	REGUIG BENDOUKHA Abdelkrim	Professeur	Université de Mascara
Examineur	BOUNACEUR Boumediene	Professeur	Université d'Oran 1
Examineur	DAAOU Mortada	Professeur	Université des sciences et technologie d'Oran
Examineur	BELALIA Mahmoud	Maitre de Conférence A	Université de Mostaganem
Directeur de Thèse	BOUHADDA Youcef	Professeur	Université de Mascara
Co- Directeur de Thèse	FERGOUG Teffaha	Professeur	Université de Mascara

Année Universitaire : 2022-2023



# D

## EDICACE

Je dédie ce travail :

*A la mémoire de mon oncle le professeur Omar*

*A mon père*

*A ma mère*

*A mes frères et sœurs*

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

# 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 **REGUIG BENDOUKHA Abdelkrim** 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 qui m'ont fait l'honneur de prendre connaissance **BOUNACEUR Boumediene, DAAOU Mortada** et le Docteur **BELALIA Mahmoud** qui m'ont fait l'honneur de prendre connaissance de ce travail et d'en être examinateurs.

Mes remerciements les plus respectueux vont au docteur **AZAYEZ Mansour**

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.

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

# Sommaire

Introduction générale	01
<b>Chapitre I : Etude bibliographique.</b>	<b>03</b>
I.1. Généralités sur les cyclodextrines	03
I.1.1. Introduction	03
I.1.2. Propriétés physico-chimiques des cyclodextrines	04
I.1.3. Modifications des cyclodextrines	05
I.1.4. Cyclodextrines larges	06
I.1.5. Les complexes d'inclusion	07
I.1.6. Mécanismes de libération de l'invité du complexe d'inclusion	08
I.1.6.1. Dilution	08
I.1.6.2. Déplacement de l'invité par compétition	09
I.1.6.3. Changement de la température	09
I.1.6.4. Changement de pH et de la force ionique	09
I.1.6.5. Présence d'un solvant organique en milieu aqueux	10
I.1.7. Caractérisation des complexes d'inclusion	10
I.1.8. Biodégradabilité et digestibilité des cyclodextrines dans l'intestin	12
I.1.9. Toxicité des cyclodextrines	13
I.1.10. Applications des cyclodextrines	13
➤ Vecteurs de livraison pour la therapie biomédicale	13
➤ Enantioséparation de médicament	14
➤ Nanoparticules de cyclodextrine en tant que systèmes de livraison de gènes	14
➤ Nanoparticules lipidiques à base de cyclodextrines	15
➤ Cyclodextrines en tant qu'excipients actifs	15
I.2. Les anesthésiques locaux	17
I.2.1. Introduction	17
I.2.2. Propriétés physico-chimiques et puissance des anesthésiques locaux	18
I.2.3. Propriétés pharmacologiques des anesthésiques locaux	22

I.2.3.1. Propriétés acido-basiques	22
I.2.3.2. Mécanisme d'action des anesthésiques locaux	23
I.2.3.3. Pharmacocinétique des anesthésiques locaux	25
I.2.4. Route d'administration	26
I.2.4.1. Anesthésie de surface	26
I.2.4.2. Anesthésie d'infiltration	26
I.2.5. Métabolisme et élimination	26
I.2.6. Effets indésirables	27
I.2.7. Encapsulation des anesthésiques locaux	29
<b>Chapitre II : Méthodes de caractérisation expérimentales et méthodes de modélisation moléculaire des complexes d'inclusion</b>	<b>33</b>
II.1. Introduction	30
II.2. La polarimétrie	30
II.2.2. Fiabilité de La polarimétrie pour déterminer les constantes de complexation	35
II.3. Méthodes spectroscopiques d'analyse	37
II.3.1 Absorption UV-visible	37
II.3.2. Niveaux d'énergie d'une molécule	37
II.3.3. Absorption de la lumière	38
➤ <i>Le modèle linéaire</i>	40
➤ <i>Modèles non linéaires pour la spectrophotométrie UV-vis</i>	40
II.4. Emission de fluorescence	41
II.4.1 Processus de désexcitation	41
Fluorescence	42
➤ <i>Modèles linéaires et non linéaires pour la spectroscopie de fluorescence</i>	42
➤ <i>Modèles linéaires</i>	42
➤ <i>Modèles non linéaires</i>	43
II.5. La spectroscopie de résonance magnétique nucléaire (RMN)	44
➤ <i>Modèles linéaires de la spectroscopie RMN</i>	47
II .6. Les méthodes de la chimie quantique	48

II .6.1. Introduction	48
II.6.2. Les méthodes Ab initio	48
II.6.2.1. La méthode Hartree-Fock (HF)	49
II.6.2.2. Les méthodes post Hartree-Fock	51
II.6.3. Les méthodes semi empiriques	52
II.6.4. La théorie de la fonctionnelle de la densité (DFT)	52
II.6.4.1.L'approche Kohn-Sham	53
II.6.4.2.L'approche LDA (Local Density Approximation)	54
II.6.4.3.L'approche LSDA (Local Spin Density Approximation)	55
II.6.4.4.Les corrections non-locales: Approximation du gradient généralisé (GGA)	55
II.6.4.5. Les fonctionnelles meta-GGA (Meta Generalised Gradient Approximation)	56
II.6.4.6. Les fonctionnelles hybrides	56
II.6.4.7. Les fonctionnelles MH-GGA (Meta Hybrid Generalised Gradient Approximation)	56
II.6.4.8. Les fonctionnelles à séparation de portée (long range & Short range)	57
II.6.4.9. Les fonctionnelles doubles hybrides (DH)	57
II.6.5. La théorie de la fonctionnelle de densité dépendante du temps (TD-DFT)	59
II.6.6. La méthode ONIOM	60
II.6.6.1. L'amarrage (Docking) moléculaire	61
<b>Chapitre III : Caractérisation expérimentale des complexes d'inclusion</b>	64
III.1. Introduction	64
III.2. Etude de l'effet de l'environnement chimique sur les propriétés spectrales	65
➤ Produits Chimiques et préparation de solutions	65
➤ Mesures UV-Visible	67
➤ <i>Mesures de la fluorescence</i>	67
III.2.1. Résultats UV-Visible	67
➤ <i>Spectres UV de la tetrac HCl et effet de solvant</i>	70
➤ <i>Spectres UV de la proc HCl, et effet de solvant</i>	77

➤ <i>Spectre UV de lido HCl et effet solvant</i>	78
➤ <i>Résultats de fluorescence</i>	79
III.2.2. Étude de Complexes d'inclusion par polarimétrie	90
III.2.3. Méthode de polarimétrie	91
III.2.4. Discussion des résultats	93
III.3. Discussion des résultats UV-Visible et fluorescence des complexes d'inclusion	98
➤ Détermination de la constante de complexation de ProcHCl,	98
➤ Détermination de la constante de complexation de LidoHCl,	104
➤ Détermination de la constante de complexation de TetracHCl,	107
Résultats RMN	108
III.4. Discussion des résultats RMN	109
• Protocole de caractérisation par RMN	109
• Résultats de la RMN du proton à une dimension ( <sup>1</sup> H RMN)	109
➤ <i>Conclusion</i>	115
<b>Chapitre IV : Résultats des méthodes de modélisation moléculaires</b>	116
IV. 1. Introduction	116
IV.2. Méthodes de calcul	118
a) Docking moléculaire	118
b) Calcul de chimie quantique	119
IV.3. Discussion des résultats	123
➤ Résultats du docking moléculaire	123
➤ Résultats des calculs de chimie quantique	123
➤ Inclusion de l'anneau benzylique par la face secondaire.	124
➤ Analyse NBO du complexe (1)	127
IV.4. Inclusion du pole « amine tertiaire (-N(C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>2</sub> ) » par la face secondaire	129
➤ Analyse NBO du complexe (2)	131

➤ Analyse des transitions électroniques	133
➤ Analyse des fréquences de vibration	135
➤ Analyse des déplacements chimiques	138
➤ Analyse de l'effet de solvant sur les propriétés spectrales de la lidocaïne	139
Conclusion générale	141
Références bibliographiques	143
Résumé	

## Liste des figures

<b>Figure I.1.</b> Structures des cyclodextrines naturelles	03
<b>Figure I.2 .</b> Exemples de cyclodextrines modifiées	06
<b>Figure I.3 .</b> Association possibles des cyclodextrines et des substrats	07
<b>Figure I.4.</b> Structures chimiques générales de anesthésiques locaux	19
<b>Figure I.5 .</b> Structure de (a) Articaïne, (b) Sameridine et (c) Centbucridine	20
<b>Figure I.6 .</b> Schéma d'une cellule nerveuse	23
<b>Figure I.7 .</b> Action d'un anesthésique local sur les canaux sodiques	24
<b>Figure II.1.</b> polarimètre de Laurent	32
<b>Figure II.2.</b> La lumière rectilignement polarisée sur la direction OP	33
<b>Figure II.3.</b> les deux régions A et B	34
<b>Figure II.4.</b> schéma de l'égalités de polarisation ( $OS = OS'$ )	35
<b>Figure II.5.</b> Principe de l'excitation	37
<b>Figure II.6 .</b> Absorption de la lumière conduisant à la transition $S_0 \rightarrow S_1$ . A gauche : les deux états ont des géométries similaires facilitant la transition (0,0), à droite : l'excitation induit un changement de géométrie facilitant la transition (0,n). Figure adaptée de la référence	39
<b>Figure II.7.</b> Diagramme de Perrin-Jablonski.	42
<b>Figure II.8 .</b> Schéma de transition	44
<b>Figure II.9.</b> représentation du mouvement	45
<b>Figure II.10.</b> application du champ $H_1$	45
<b>Figure II.11.</b> Représentation schématique de la méthode ONIOM à deux et trois couches. (a) : $E(\text{ONIOM}2) = E_3 - E_1 + E_2$ ; (b) $E(\text{ONIOM}3) = E_6 - E_3 + E_5 - E_1 + E_4$ .	61
<b>Figure III.1.</b> Structures de hydrochlorate de procaïne (a), Tétracaïne hydrochlorate(b), Licadoïne hydrochlorate(c)	64
<b>Figure III.2 .</b> Structure de résonance polaire de la procaïne HCl (a) et de la tétracaïne HCl(b)	69
<b>Figure III.3 .</b> Structure de résonance polaire de la lidocaïne HCl	69
<b>Figure III.4.a.1.</b> Spectres UV-vis de solutions aqueuses de tetrac HCl à différents pourcentages de solvants, à 25 ° C: (90: 10), (80: 20).	71

<b>Figure III.4.a.2.</b> Spectres UV-vis de solutions aqueuses de tetrac HCl à différents pourcentages de solvants, à 25 ° C: (70: 30), (50: 50).	72
<b>Figure III.4.b.1.</b> Spectres UV-vis de solutions aqueuses de procHCl à différents pourcentages de solvants, à 25°C : (90 : 10), (80 : 20)	73
<b>Figure III.4.b.2.</b> Spectres UV-vis de solutions aqueuses de procHCl à différents pourcentages de solvants, à 25°C : (70 : 30), (50 : 50)	74
<b>Figure III.4.c.1.</b> Spectres UV-vis de solutions aqueuses de lidoHCl à différents pourcentages de solvants, à 25°C : (90 : 10), (80 : 20)	75
<b>Figure III.4.c.2.</b> Spectres UV-vis de solutions aqueuses de lidoHCl à différents pourcentages de solvants, à 25°C : (70 : 30), (50 : 50)	76
<b>FigureIII.5.a.1.</b> Spectre de fluorescence d'émission d'une solution aqueuse de tétracHCl à différents pourcentages de solvants, à 25°C : (90:10), (80:20)	83
<b>FigureIII.5.a.2.</b> Spectre de fluorescence d'émission d'une solution aqueuse de tetracHCl à différents pourcentages de solvants, à 25°C : (70:30), (50:50))	84
<b>Figure III.5.b.1 .</b> Spectre de fluorescence d'émission d'une solution aqueuse de procHCl à différents pourcentages de solvants, à 25°C : (90 : 10), (80 : 20)	85
<b>Figure III.5.b.2 .</b> Spectre de fluorescence d'émission d'une solution aqueuse de procHCl à différents pourcentages de solvants, à 25°C : (70 : 30), (50 : 50)	86
<b>Figure III.5.c.1 .</b> Spectre de fluorescence d'émission d'une solution aqueuse de LidoHCl à différents pourcentages de solvants, à 25°C : (90 : 10), (80 : 20)	87
<b>Figure III.5.c.2 .</b> Spectre de fluorescence d'émission d'une solution aqueuse de LidoHCl à différents pourcentages de solvants, à 25°C : (70 : 30), (50 : 50)	88
<b>FigureIII.6.</b> Le double rotor à liaison glycosidique	91
<b>Figure III.7.</b> Variation de l'angle $\theta_i$ du complexe d'inclusion $\beta$ -CD-ProcHCl en fonction de concentration de ProcHCl	94
<b>Figure III.8.</b> Variation de l'angle $\theta_i$ du complexe d'inclusion $\beta$ -CD-TetracHCl en fonction de concentration de TetracHCl	95
<b>Figure III.9.</b> Variation de l'angle $\theta_i$ du complexe d'inclusion HP $\beta$ -CD-tetracHCl en fonction de concentration de tetracHCl	96
<b>Figure III.10.</b> Variation de l'angle $\theta_i$ du complexe d'inclusion $\beta$ -CD- LidoHCl en fonction de concentration de LidoHCl	97

<b>Figure III.11.</b> Spectres UV-Vis des solutions aqueuses de la ProcHCl à différentes concentrations.	98
<b>Figure III.12.</b> Variation de l'absorbance en fonction de la concentration de ProcHCl à $\lambda_{max} = 291\text{nm}$ .	99
<b>Figure III.13.</b> Spectres UV-vis de ProcHCl à la concentration $4.37 \cdot 10^{-5} \text{ M}$ en absence et en présence de $\beta$ -CD	100
<b>Figure III.14.</b> Variation de la longueur d'onde $\Delta\lambda$ en fonction de concentration de $\beta$ -CD	101
<b>Figure III.15.</b> Spectres d'émission de ProcHCl à $5.2 \cdot 10^{-6} \text{ M}$ en absence et en présence de $\beta$ -CD	102
<b>Figure III.16.</b> Variation de $I/I_0$ en fonction de la concentration de $C_{\beta\text{-CD}}$	103
<b>Figure III.17.</b> Absorbance de lidocaine à différentes concentrations	104
<b>Figure III.18 .</b> absorbance de la lidocaine en présence de $\beta$ CD	105
<b>Figure III.19.</b> L'absorbance de la lidocaine en présence et en absence de la $\beta$ CD.	106
<b>Figure III.20.</b> Variation de $\Delta A$ pour des solutions à une concentration de TetracHCl constante d'environ $5.10^{-5}\text{M}$ , en fonction de la concentration en $\beta$ CD, à $20^\circ\text{C}$	107
<b>Figure III.21.</b> Spectre RMN du proton de la molécule hydrochlorate de Lidocaïne	110
<b>Figure III.22.</b> Spectre RMN du proton de la molécule de $\beta$ -CD	111
<b>Figure III.23.</b> Spectre RMN du proton du complexe LidoHCl/ $\beta$ -CD	114
<b>Figure IV.1.</b> Structure moléculaire de la lidocaïne	117
<b>Figure IV.2.</b> Structure moléculaire de (a) $\alpha$ -CD et (b) $\beta$ -CD	118
<b>Figure IV.3.</b> Processus d'insertion de la lidocaïne dans la cavité de la CD	120
<b>Figure IV.4.</b> (a) Structures des complexes lidocaine: $\beta$ -CD et (b) l'association lidocaine: $\alpha$ -CD.	123
<b>Figure IV.5.</b> SCAN de l'inclusion de la lidocaïne dans la cavité de la $\alpha$ -CD (a) et de l'énergie de complexation lors de l'inclusion de la lidocaïne avec son groupe aromatique dans la cavité de $\beta$ -CD (b).	125
<b>Figure IV.6.</b> Structure du complexe (1) 1:1	126

<b>Figure IV.7.</b> Energie de complexation lors de l'inclusion de la lidocaine son groupement (-N(C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>2</sub> ) dans la cavité de β-CD.	par 129
<b>Figure IV.8.</b> Structure du complexe (2)	130
<b>Figure IV.9.</b> Spectres théoriques d'absorption de la lidocaïne libre (a) et complexée par β-CD (b).	134
<b>Figure IV.10 .</b> Spectre IR de (a) Lidocaine et (b) β-CD	136
<b>Figure IV.11 .</b> Spectre IR du complexe (1)	137
<b>Figure IV.12.</b> Désignation des protons de la lidocaïne et de la β-CD	139

## Liste des tableaux

<b>Tableau I.1.</b> Propriétés physicochimiques des cyclodextrines natives.	05
<b>Tableau I.2 :</b> Caracterisation des complexes d'inclusion à l'état solide	11
<b>Tableau I.3.</b> Aspect chronologique des anesthésiques locaux	17
<b>Tableau I.4.</b> Caractéristiques physiques et chimiques et puissance relative de certains anesthésiques locaux.	22
<b>Tableau II.1.</b> Fonctionnelles les plus utilisées en chimie quantique pour les applications ONL.	58
<b>Tableau II.2.</b> Liste de certains logiciels de docking moléculaire	63
<b>Tableau III. 1.</b> Solvants et quelques caractéristiques de polarité (Wypych,2001 )	66
<b>Tableau III.2.</b> Effet de solvant sur l'absorbance et la longueur d'onde maximale	68
<b>Tableau III. 3.</b> Résultats des mesures de fluorescence	80
<b>Tableau III.4.</b> Résultats de polarimétrie	95
<b>Tableau III.5.</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.	101
<b>Tableau III.6.</b> Paramètres d'ajustement $K$ et $k_{CD-G}/k_G$ et l'enthalpie libre ( $\Delta G^\circ$ ) de la réaction.	104
<b>Tableau III.7.</b> paramètres d'ajustement de l'équation II.9 ainsi que l'enthalpie libre de la réaction	106
<b>Tableau III.8.</b> Constante d'association $K$ (TetrachCl / $\beta$ CD)	108
<b>Tableau III.9.</b> Déplacements chimiques en ppm des protons de lidoHCl et $\beta$ -CD.	109
<b>Tableau III.10.</b> Changements des déplacements chimiques des protons des espèces complexées lidoHCl/ $\beta$ -CD.	112
<b>Tableau IV.1 .</b> Grandeurs énergétiques de la lidocaïne, $\alpha$ -CD et $\beta$ -CD.	124
<b>Tableau I V.2.</b> Grandeurs énergétiques du complexe (1), obtenues à l'état gazeux et en présence de solvant.	127
<b>Tableau IV.3.</b> Energies d'interaction $E^{(2)}$ entre la lidocaine et $\beta$ -CD.	128

<b>Tableau IV.4.</b> Grandeurs énergétique et thermodynamiques du complexe (2)	131
<b>Tableau IV.5.</b> Energie d'interaction $E^{(2)}$ de type donneur-accepteur	133
<b>Tableau IV.6 .</b> Transitions électroniques de groupements chromophores de la lidocaïne obtenues en présence de la $\beta$ -CD.	135
<b>Tableau IV.7 .</b> Fréquences de vibration affectées par le processus d'association entre lidocaïne et la $\beta$ -CD.	138
<b>Tableau IV.8.</b> Changements des déplacements chimiques des protons de la lidocaïne et de la $\beta$ -CD.	139
<b>Tableau IV.9.</b> Longueurs d'ondes des transitions électroniques de la lidocaïne en présence de différents solvants.	140

## Liste des abréviations

AL : Anesthésique Local

CDs : CycloDextrines naturelles

DFT : Density Functionnal Theory

DIMEB : Dimethyl beta cyclodextrin

DMF : N,N-Diméthylformamide

DMSO : Diméthylsulfoxyde

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

IR: Infra-Red

INDO: Intermediate Neglect of Diatomic Overlap

LCAO: Linear Combination

LDA : Local Density Approximation

LidoHCL: Hydrochlorate de Lidocaïne

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 Procaïne

RAMEB : Randomly Methylated- $\beta$ -cyclodextrin

RMN : Résonance Magnétique Nucleaire

ROESY : Rotating-frame Overhauser Effect Spectroscopy

TD-DFT : Time Dependant Density Functional Theor

TetrachCl: Hydrochlorate de Tetracaine

# **Introduction générale**

# Introduction générale

La vectorisation a fait de considérables progrès depuis l'énoncé du concept «Magic Bullet» qui consiste en une «balle magique» jouant le rôle d'un hôte pouvant transporter une molécule bioactive dans l'organisme, à des concentrations biologiquement adaptées et ayant une forte affinité avec les sites d'action (Winau et al., 2004). Le vecteur idéal doit protéger le principe actif jusqu'à sa cible et doit permettre sa libération d'une manière contrôlée. Ce concept de vectorisation qui est devenu une discipline scientifique à part entière se concentre sur l'élaboration de nouveaux vecteurs facilement tolérés par le patient et qui ne présentent aucun risque de toxicité. Nombreux sont les vecteurs proposés mais nous pouvons les classer en trois types de vecteurs qui sont : de type biologique vivant (virus, bactéries, hématies, champignons), soit particulaire (nanoparticules, liposomes, micelle, éthers coronés etc.), soit encore moléculaire (polymères conjugués, complexes d'inclusion de cyclodextrines (CDs), anticorps conjugués, etc.). Dans notre travail, seuls les complexes d'inclusion à base de CDs seront présentés car l'encapsulation par les cyclodextrines est un processus viable et en pleine essor dans le secteur pharmaceutique (Maazaoui et Abderrahim, 2015).

Les cyclodextrines (CDs) sont des oligosaccharides cycliques, composées d'unités de glucopyranoses reliés par des liaisons glycosidiques  $\alpha$ -(1,4). Trois CDs naturelles sont principalement rencontrées :  $\alpha$ -,  $\beta$ - et  $\gamma$ -CD, formées de 6, 7 et 8 unités glucose respectivement. Elles possèdent la structure d'un cône tronqué avec une cavité interne hydrophobe et une surface externe hydrophile, ceci leur confère la propriété de former des complexes d'inclusion (hôte/invité) avec une variété de composés organiques et inorganiques sans qu'aucune liaison covalente ne soit formée ou rompue.

Un anesthésique local (AL) est défini comme une substance chimique qui possède la capacité de bloquer la conduction électrique axonale au niveau des fibres nerveuses et de stopper la sensation de douleur. Les ALs s'utilisent depuis la fin du XIX siècle et sont fréquemment employés aussi bien par les urgentistes, chirurgiens, dermatologues, ...etc. Cependant et comme tout médicament, ils présentent des effets indésirables souvent au niveau de leur point d'application ou lors de leur

## Introduction générale

formulation et peuvent parfois entraîner la mort. Il est alors utile de les encapsuler par des excipients telles que les cyclodextrines pour minimiser ou inhiber ces effets secondaires.

Ce travail s'intègre dans le contexte de l'étude du phénomène d'inclusion de trois anesthésiques locaux procaineHCL, tetracaineHCL et la lidocaïneHCL dans la cavité des cyclodextrines ( $\alpha$ - $\beta$ -cyclodextrines) au moyen de techniques expérimentales et des méthodes de modélisation moléculaires. Les résultats obtenus dans cette étude seront discutés à la lumière des résultats relevés dans la littérature.

Ce manuscrit s'articule en quatre 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, polarimétrie et la résonance magnétique nucléaire) constitue la première partie du chapitre II. La seconde partie est dédiée à la présentation des méthodes de modélisation moléculaire. Pour chaque techniques, les principaux paramètres rendant compte du phénomène d'inclusion sont établis.

Le troisième chapitre est consacré à la discussion des résultats des méthodes de caractérisation expérimentale de la réaction de complexation de trois Als par ( $\alpha$ -,  $\beta$ -cyclodextrines), à travers le calcul des constantes d'associations et les grandeurs thermodynamique. D'autre part, la caractérisation structurale du complexe  $\beta$ -CD/Lidocaïne HCl par la résonance magnétique nucléaire à une dimension ( $^1\text{H}$  NMR) est développée en particulier.

Le quatrième chapitre rassemble les résultats des calculs de docking moléculaire et des méthodes de chimie quantique. Notre choix des méthodes de calculs et les mécanismes proposés pour inclure la molécule invitée (lidocaïne) dans la cavité de la molécule hôte ( $\beta$ -CD) sera justifié. Ensuite, les résultats seront discutés pour faire ressortir les interactions électroniques les plus pertinentes lors du processus d'inclusion moléculaire et élargir l'interprétation des résultats expérimentaux.

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

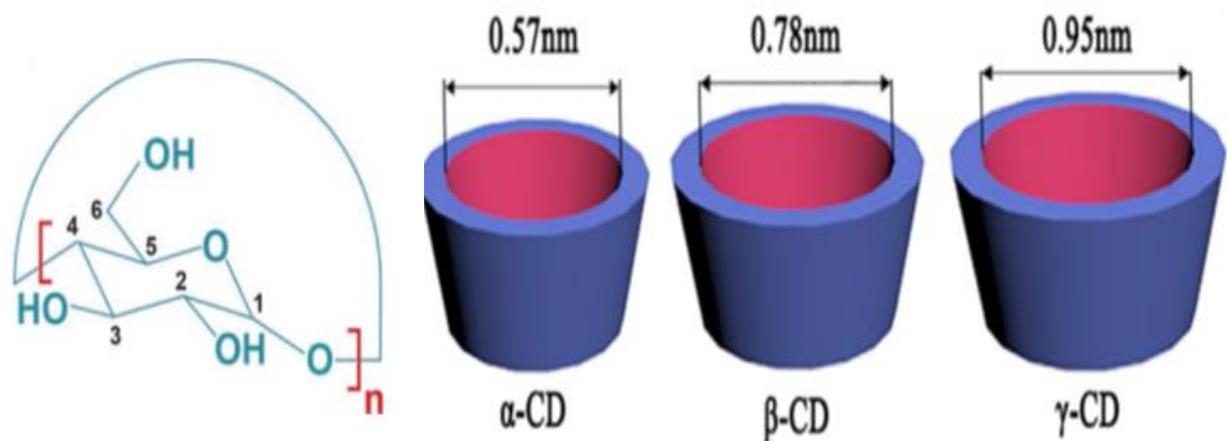
# **Chapitre I**

## **Etude bibliographique**

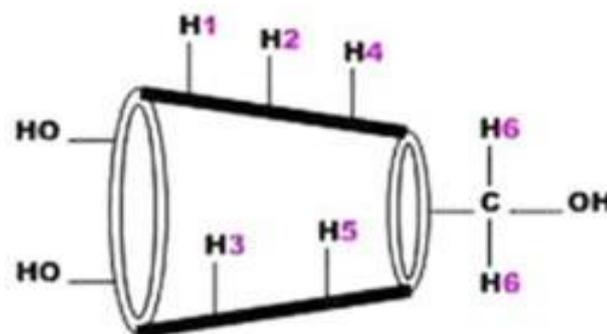
## I.1. Généralités sur les cyclodextrines

### I.1.1. Introduction

Les cyclodextrines (CDs) sont des oligomères cycliques obtenues à partir de la dégradation enzymatique de l'amidon. Ces espèces sont composés d'au moins six unités D-glucopyranoside liées par des liaisons glycosidiques  $\alpha$ -1,4. Il existe trois CDs naturelles, il s'agit de  $\alpha$ -,  $\beta$ - et  $\gamma$ -CD, avec six, sept et huit unités de glucose respectivement (Saenger, 1980). Les CDs ont une particularité dans leurs structures stéréochimiques et leurs cavités internes relativement hydrophobes. La surface externe des CDs sont hydrophiles au niveau des deux bords du godet car occupés par les groupes hydroxyles de l'unité glucopyranose: des groupements hydroxyles primaires (portés par les carbones C6 autour de l'entrée étroite du cône) et secondaires (portés par les carbones C2 et C3 autour de l'entrée large du cône) (figure I.1) (Szejtli, 2004 ; Chen et Jiang, 2011).



(a)



(b)

**Figure I.1:** Structures des cyclodextrines naturelles

Les CDs peuvent ainsi fournir un microenvironnement favorable pour former des complexes d'inclusion avec divers éléments organiques et des molécules bioactives dans différents rapports stoechiométriques (Szejtli, 1998 ; Pinho *et al.*, 2014). Lorsqu'elles sont administrées par voie orale, les CDs natives sont absorbées en petites quantités par le tractus gastro-intestinal et sont éliminées sous forme inchangée par les voies urinaires, ce qui entraîne une faible toxicité à des doses faibles à modérées. Les dérivés de CD hydrophiles sont généralement bien tolérés après administration orale et parentérale et ne produisent que des effets secondaires mineurs tels que la diarrhée, en revanche, il a été démontré que les CD lipophiles ont des effets toxiques en raison de leur absorption gastro-intestinale accrue (Jambhekar et Breen, 2016). Puisque les CDs sont des structures polyvalentes, obtenues industriellement par des procédés simples et avec une pureté supérieure, elles ont été utilisées avec succès dans le domaine pharmaceutique afin d'obtenir des complexes avec des extraits de plantes (Tutunchi *et al.*, 2019 ; Hill *et al.*, 2013) et avec des composés purs d'origine naturelle ou synthétique (Franco et De Marco, 2021). Les complexes d'inclusion formés par les CD avec divers principes actifs possèdent plusieurs avantages par rapport au composé d'origine, dont la stabilité et la biodisponibilité de ces complexes se trouvent améliorées. La complexation par les CDs permet également la réduction des caractéristiques organoleptiques désagréables, la prévention des interactions avec d'autres médicaments et la libération contrôlée des principes actifs (Carneiro *et al.*, 2019). Récemment, une nouvelle stratégie visant à améliorer la biodisponibilité des médicaments et l'activité biologique qui consiste à synthétiser de nouveaux bioconjugués de composés actifs des CD par la modulation chimique des groupes hydroxyle situés sur la surface extérieure des CD (Tian *et al.*, 2020).

### **I.1.2. Propriétés physico-chimiques des cyclodextrines**

Les caractéristiques physico-chimiques des CDs sont décrites dans le tableau I.1. L'une des principales propriétés des CDs est la taille de la cavité des CDs qui est variable, ce qui suggère que les CDs sont capables d'encapsuler une grande variété de molécules. De plus, certaines molécules d'eau sont piégées dans la cavité des CDs et leur nombre varie d'une CD à une autre. Par ailleurs, les groupements hydroxyles des CDs naturelles, conduisent à une bonne solubilité qui est cependant fortement variable d'un composé à

un autre. Ainsi la  $\beta$ -CD est dix fois moins soluble que la  $\alpha$ -CD ou la  $\gamma$ -CD. Les CDs possèdent de nombreux centres chiraux, chaque unité de glucose contient cinq carbones asymétriques, la  $\beta$ -CD, par exemple, contient 35 centres chiraux.

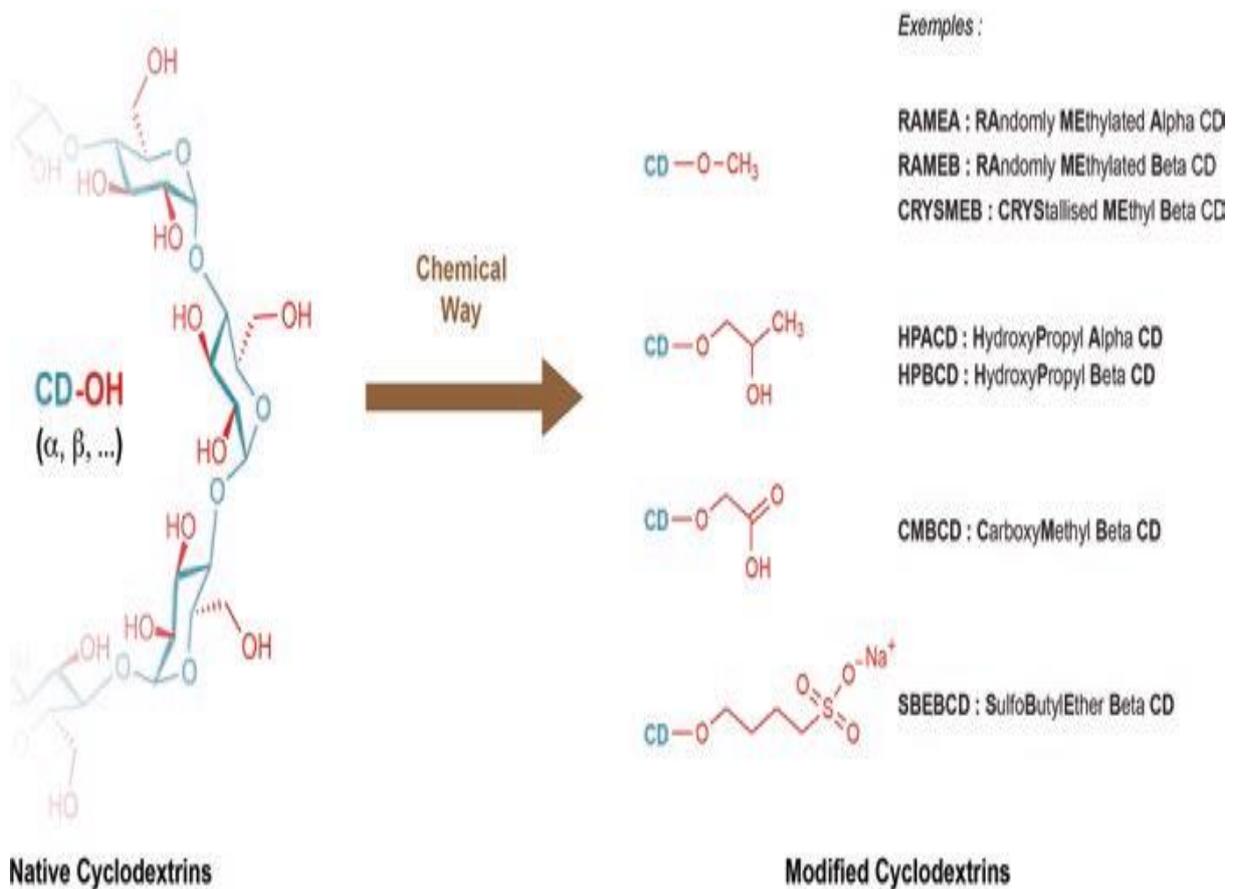
**Tableau I.1:** Propriétés physico-chimiques des cyclodextrines (Kurkov et Loftsson, 2013 ; Stella, 2008 ; Loftsson et Brewster, 2010).

<b>Cyclodextrines natives</b>			
Propriétés	$\alpha$ -CD	$\beta$ -CD	$\gamma$ -CD
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
Diamètre de la cavité (Å)	5,7	7,8	9,5
Diamètre de la périphérie (Å)	14.6-15	15.4-15.8	17.5-17.9
Solubilité dans l'eau à 25°C (g/100)ml	14.5	1.85	23.2
Hauteur du cône (Å)	7,8	7.8	7.8
Molécules d'eau retenues dans la cavité	6-8	11-12	13-17
Pouvoir rotatoire à 25°C	+150.5	+162.5	+177.4
Hydrolyse par les amylases digestives	Négligeable	Lente	Rapide

### I.1.3. Modifications des cyclodextrines

Afin d'améliorer la solubilité et le coût de fabrication et pour la recherche et le développement d'applications thérapeutiques plus ciblées, de nombreux dérivés de CDs ont été élaborés par substitution des groupements hydroxyles par d'autres groupements fonctionnels. Les CDs ont trois types de groupes hydroxyle : les hydroxyles OH-6 facilement modifiés, les hydroxyles OH-2 qui sont les plus acides et OH-3 qui sont moins accessibles à la modification. La réactivité différente de ces groupes hydroxyles offre la possibilité d'une substitution régiosélective pour produire des dérivés de cyclodextrines par greffage de groupes fonctionnels comme les amines, amino acides, groupes aromatiques ...etc, (figure I.2). De plus, la complexité structurale peut être élargie par la formation d'un complexe entre les CDs ramifiés et les molécules invitées pour construire des systèmes supramoléculaires tels que des polymères, des charpentes

métallo-organiques, des hydrogels et d'autres assemblages supramoléculaires (He *et al.*, 2019 ; Zhang *et al.*, 2020).



**Figure I.2 :** Exemples de cyclodextrines modifiées (Crini *et al.*, 2020)

#### I.1.4. Cyclodextrines larges

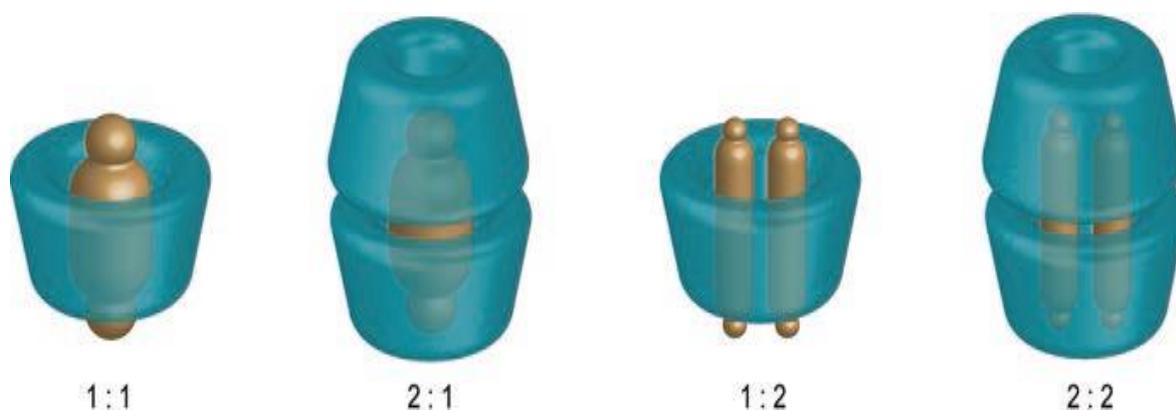
L'existence de cyclodextrines à plus de 8 unités glucose est décrite et étudiée pour la première fois dans les années 1950 par Freudenberg, French et Cramer. Ce n'est qu'au milieu des années 1990 que les cyclodextrines contenant 9, 10, 11 et 12 d'unités de glucose ont été étudiées par Miyazawa et collaborateurs (1995) mais leur purification difficile et les faibles rendements empêchaient leur étude. Certains travaux ont rapporté l'existence de cyclodextrines de plus de 100 unités de glucose (Qi *et al.*, 2004). Larsen (2002) a publié la première revue intéressante sur les grandes cyclodextrines.

### I.1.5. Les complexes d'inclusion

La sélectivité de la reconnaissance hôte-invité résulte d'un mécanisme de correspondance taille/forme qui nécessite que les molécules invitées soient piégées entièrement ou partiellement dans les cavités des CDs (Liu et Chen, 2006). Cette inclusion n'est en général accompagnée ni par formation d'une liaison covalente ou de coordination. Les groupes hydroxyles des CDs sont également impliqués dans les processus de liaison via des forces électrostatiques, de Van der Waals et des interactions de liaison hydrogène (Liu et Guo, 2002). Une ou plusieurs molécules peuvent être encapsulées simultanément dans une, deux et même parfois trois molécules de CDs (figure I.3) (Wang, 1995). La formation d'un complexe d'inclusion peut passer par les étapes suivantes (Cramer, 1954) :

- Approche du substrat et l'expulsion des molécules d'eau hors de la cavité de la CD;
- Présentation de la molécule invitée dans la cavité libre de la CD et stabilisation du complexe par des interactions de faibles énergies ;
- Réarrangement des molécules d'eau expulsées autour de la partie du substrat qui reste en contact avec le solvant.

La force de liaison repose sur l'effet synergique de ces interactions non covalentes faibles et réversibles. Cette capacité d'encapsulation modifiera les propriétés physicochimiques des molécules invitées incluses, qui a été largement exploré pour des applications pratiques dans les domaines biomédicaux en développant des CDs basés systèmes fonctionnels (Davis et Brewster, 2004).



**Figure I.3 :** Association possibles des cyclodextrines et des substrats

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



La constante d'association dans le cas d'un complexe de stœchiométrie 1:1 est définie par:

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

[CD]: concentration de la CD.

[G]: concentration de la molécule invitée.

[CD - G] : concentration du complexe

Pour qu'une molécule invitée de petite taille pénètre dans une cavité CD avec peu de barrière énergétique potentielle, les constantes de vitesse des réactions de complexation sont comprises entre  $10^8$  et  $10^9 \text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$  (Bakirci et Nau, 2005). Dans la plage de concentration habituelle du CD ( $\leq 10^{-2} \text{M}$ ) utilisée pour les études de complexation, les constantes de vitesse sont généralement inférieures à  $10^7 \text{s}^{-1}$ . Les constantes de vitesse de décomplexation sont liées à la stabilité des complexes, elles sont comprises entre  $10^6$  et  $10^7 \text{s}^{-1}$  pour les complexes de faible stabilité.

### **I.1.6. Mécanismes de libération de l'invité du complexe d'inclusion**

La molécule invitée est toujours en équilibre dynamique entre la forme libre et la forme encapsulée, son mécanisme de libération est régi par différents processus décrits ci-dessous :

#### ***I.1.6.1. Dilution***

La libération de la molécule invitée par dilution semble être le mécanisme majeur de la dissociation des complexes d'inclusion. L'effet de la dilution dépend de la voie d'administration, par exemple, cet effet est plus faible dans le cas d'une administration ophtalmique par rapport à une administration par voie parentérale (Stella *et al.*, 1999).

***I.1.6.2. Déplacement de l'invité par compétition***

Le déplacement par compétition de la molécule invitée de la cavité de la CD est un facteur crucial pour sa libération *in vivo*. La co-administration d'un compétiteur est bénéfique surtout pour augmenter la libération et la biodisponibilité d'un principe actif fortement lié à la CD. C'est le cas, par exemple, de la phénylalanine avec le complexe CD/cinnarizine, *in vivo*, favorisant ainsi la libération de la cinnarizine (Tokumura *et al.*, 1985).

***I.1.6.3. Changement de la température***

La complexation CD/invité a été décrite comme un processus exothermique. Généralement, il apparaît qu'une augmentation de la température a souvent un effet favorable sur la libération de l'invité du complexe d'inclusion. En effet, bien que la plupart des complexes commencent à se dissocier vers 50 à 60°C, mais certains peuvent demeurer stables à de plus hautes températures, particulièrement si la molécule invitée est fortement hydrophobe. Par exemple, le rendement de la complexation de dérivés d'imidazoles par  $\beta$ -CD diminue considérablement quand la température augmente de 8 à 70°C (Simer et Kurvits, 1998).

***I.1.6.4. Changement de pH et de la force ionique***

Cet effet est observé dans le cas d'invités ionisables ou de faibles électrolytes (Zia *et al.*, 2001). La complexation des CDs avec des molécules ionisables devra donc nécessairement prendre en compte l'influence du pH. Ainsi, l'inclusion d'un anesthésique local (base faible) par une CD dépend du pH du milieu car les proportions relatives des formes ionisée et non ionisée varient en changeant le pH du milieu (Valsaraj, 1995). L'effet de la force ionique sur la solubilité aqueuse des molécules invitées ainsi que sur leur complexation par les CDs est fonction de leur nature (ionisables ou non) : par exemple, la solubilisation de lapancratistatine (qui est une molécule ionisable) augmente dans HP- $\beta$ -CD lorsqu'on ajoute un sel d'hydroxyde d'ammonium (Torras, 1996).

### ***I.1.6.5. Présence d'un solvant organique en milieu aqueux***

Bien que les CDs peuvent former des composés d'inclusion dans certains solvants organiques comme les alcools, l'association est en général plus faible que celle observée pour le même composé en milieu aqueux (Blyshak *et al.*, 1988). Par exemple, Pitha (1993) a indiqué que la présence d'éthanol (30%) inhibe la formation du complexe d'inclusion de la testostérone dans  $\beta$ -CD. Brusseau *et al.* (1994) ont utilisé le mélange en volume eau/méthanol (50/50) pour dissocier les complexes de CD avec des hydrocarbures aromatiques polycycliques. Ainsi, l'addition d'un solvant organique au milieu aqueux peut modifier les solubilités individuelles du complexant et du soluté et donc déplacer les équilibres de complexation (Wang et Brusseau, 1998).

### **I.1.7. Caractérisation des complexes d'inclusion**

La caractérisation des complexes d'inclusion se fait expérimentalement soit en solution ou à l'état solide comme elle peut être effectuée en utilisant des méthodes computationnelles.

➤ Les techniques de caractérisation en solution sont nombreuses telles que la polarimétrie, la spectroscopie UV-Visible, la calorimétrie de titration isotherme, la résonance magnétique nucléaire, la fluorescence, ...etc. L'utilisation de ces techniques rend l'estimation des constantes de liaison des complexes d'inclusion facile et précise au moyen des mesures simples (LoMeo, 2006). Il sera possible par la suite de remonter aux grandeurs thermodynamiques du système. Nous obtenons alors les valeurs d'enthalpie, d'entropie et d'énergie libre (Bouchemal et Mazzaferro, 2012). La RMN, par exemple, permet de prévoir les modifications de l'environnement magnétique des atomes intervenant dans le processus de complexation et de proposer une géométrie du complexe d'inclusion formé (Pirna *et al.*, 2014). La fluorescence et la spectroscopie UV-Visible permettent de leur côté de prévoir la variation des propriétés spectrales de la molécule invitée (Maskevich *et al.*, 2013 ; Soni et Pal, 2016). Des résultats prometteurs ont été obtenus par ces méthodes (Cid-Samamed *et al.*, 2022; Khan *et al.*, 2018 ; Rahim *et al.*, 2020).

- La caractérisation des complexes d'inclusion à l'état solide peut être effectuée par la calorimétrie différentielle à balayage, par la spectroscopie infra-rouge, par la diffraction des rayons X, ...etc. La DSC, par exemple, permet d'analyser la modification ou la disparition du pic caractéristique de la molécule invitée suite à la diminution du pic endothermique de fusion de la molécule invitée et sa disparition dans le cas d'une complexation complète (Takahashi *et al.*, 2012). La DSC a été largement utilisée dans la littérature pour la caractérisation des complexes entre les CDs et les anesthésiques locaux (Moraes *et al.*, 2006 ; Moraes *et al.*, 2007 ; Jug *et al.*, 2010). La spectrophotométrie FTIR permet d'examiner les modifications des pics d'absorption lors du processus d'inclusion et qui sont dues à la perte de la vibration et de la transition de l'invité à cause du changement de son environnement et de ses interactions avec la CD (Ayala-Zavala *et al.*, 2008 ; Takahashi *et al.*, 2012). La diffraction des rayons X est utilisée pour étudier les aspects microscopiques de la CD, de la molécule invitée et des complexes d'inclusion (Ceborska *et al.*, 2012). Ces méthodes de caractérisation restent à nos jours utilisées comme le montre le nombre assez élevé des travaux présentés dans le tableau ci-dessous.

**Tableau I.2** : Caractérisation des complexes d'inclusion à l'état solide

Auteurs	Intitulé
Abdul Ahad <i>et al.</i> , 2022	Formulation and characterization of eprosartan mesylate and $\beta$ -cyclodextrin inclusion complex prepared by microwave technology
Priyono <i>et al.</i> , 2022	Preparation, Cellular Uptake, and Cytotoxic Evaluation of Remdesivir-Hydroxypropyl- $\beta$ -Cyclodextrin Inclusion Complex.
Grygorova <i>et al.</i> , 2019	Inclusion complexes of melatonin and randomly methylated $\beta$ -cyclodextrin: Spectroscopic study
Wolf <i>et al.</i> , 2018	Evaluation of novel formulations of D- $\beta$ -hydroxybutyrate and melatonin in a rat model of hemorrhagic shock
Terauchi <i>et al.</i> , 2018	Enhanced cellular uptake and osteogenic differentiation efficiency of melatonin by inclusion complexation with 2-hydroxypropyl $\beta$ -cyclodextrin
Niu <i>et al.</i> , 2021	Melatonin and doxorubicin co-delivered via a functionalized graphene-dendrimeric system enhances apoptosis of osteosarcoma cells

- Les méthodes de modélisation moléculaire ont commencé à prendre leur position à côté des techniques expérimentales. Elles permettent d'apporter des précisions, voire des réponses concernant la description des phénomènes de complexation. La contribution des méthodes de modélisation moléculaire dans l'étude des réactions de complexation des espèces d'intérêt médicamenteux par des CDs a connu un avancé remarquable car elle permet de mieux comprendre les mécanismes et énergies d'inclusion régissant la formation et la stabilité des complexes (Cai *et al.*, 2011 ; Stachowicz *et al.*, 2011 ; Attoui Yahia *et al.*, 2017 ; Touadjine *et al.*, 2017 ; Yang *et al.*, 2019). Ces études ont été réalisées à différents niveaux de calculs : mécanique moléculaire, semi empirique et la théorie de la fonctionnelle de la densité (Azayez *et al.*, 2020; Nurhidayah *et al.*, 2019 ; Seridi *et al.*, 2018 ). D'un autre côté, le docking moléculaire sert à prédire et à reproduire les interactions CD-ligand et présente l'avantage d'estimer rapidement et sans trop d'approximation les valeurs de leurs énergies (Imtiaz *et al.*, 2021 ; Zhu *et al.*, 2021).

### I.1.8. Biodégradabilité et digestibilité des cyclodextrines dans l'intestin

La biodegradation des CDs natives ( $\alpha$ -CD,  $\beta$ -CD,  $\gamma$ -CD) est rapide et complète tandis que celle des CDs ramifiées est plus faible et dépend du degré de substitution (Loftsson et Duchene, 2007). Les CDs constituent une source de carbone et d'énergie aisément utilisable par les micro-organismes présents dans les sols (Singh *et al.*, 2002). Globalement, il ressort que les CDs présentent relativement une bonne biodégradabilité dans les sols. La  $\alpha$ -CD et la  $\beta$ -CD ne sont pas digérées par les enzymes salivaires ou pancréatiques et sont à peine absorbées dans l'intestin grêle. La dégradation microbienne de la  $\alpha$ -CD entraîne la génération d'acides gras à chaîne courte (acétate, propionate, butyrate) qui offrent de nombreux avantages pour la santé (Nihei *et al.*, 2018 ; Sakurai *et al.*, 2017). D'autre part, la  $\gamma$ -CD diffère de la  $\alpha$ -CD et de la  $\beta$ -CD par sa dégradation presque complète par l' $\alpha$ -amylase salivaire et pancréatique, similaire à la digestion de l'amidon et des dextrines linéaires, et donc la  $\gamma$ -CD peut être considérée comme un lent glucide libérant de l'énergie (Saokham et Loftsson, 2017).

**I.1.9. Toxicité des cyclodextrines**

En général les CDs sont considérés comme des espèces non toxiques par administration par voie orale. Par exemple, aucun effet notoire n'a été constaté suite à une prise orale de la  $\alpha$ -CD et la  $\beta$ -CD (Lina et Bar, 2004). Cependant, L'administration parentérale de la  $\beta$ -CD est exclue car elle peut provoquer une néphrotoxicité due à sa possible cristallisation vu sa faible solubilité aqueuse (1,85 mg/ml) (Frank *et al.*, 1976). La HP- $\beta$ -CD et la SBE- $\beta$ -CD peuvent être administrée par voie parentérale en toute innocuité (Gould et Scott, 2005 ; Irié et Uekama, 1997), tandis que certaines CDs modifiées, comme les CDs méthylées, induisent des effets toxiques et augmentent l'hémolyse après une administration par voie parentérale (Irie et Uekama, 1997).

**I.1.10. Applications des cyclodextrines**

Les CDs trouvent des applications dans de nombreux secteurs notamment dans le domaine pharmaceutique (Uekama, 2004 ; Voncina et Vivod, 2013 ; Crini, 2014), en agroalimentaire (Voncina et Vivod, 2013), en cosmétique (Fenyvesi *et al.*, 2016), dans le domaine du textile (Ammayappan et Jeyakodi, 2009 ; Liu *et al.*, 2012), dans l'environnement (Blach *et al.*, 2008 ; Landy *et al.*, 2012), dans le domaine de la catalyse (Vosko *et al.*, 1980)...etc. Les CDs sont utilisés également comme ingrédients nutraceutiques dans les suppléments et les aliments diététiques avec divers avantages pour la santé humaine (Uekaji et Terao, 2019). Ces secteurs utilisent régulièrement des CDs dans la formulation de leurs produits à cause de leur capacité de former des complexes d'inclusion et leur faible coût de production. Parmi les diverses applications des CDs, leurs applications dans le secteur pharmaceutique et médicinale qui attire la communauté scientifique. Diverses interventions des CDs dans ce domaine ont été citées dont certains sont exposées ci-dessous.

**➤ Vecteurs de livraison pour la thérapie biomédicale**

Le développement de système d'administration de médicaments est une stratégie efficace pour améliorer l'efficacité curative et la sécurité des molécules thérapeutiques. Les vecteurs d'administration de médicaments à base de CDs, par exemple, peuvent être administrés par différentes voies et sont avérés capables d'améliorer l'absorption du

médicament, la libération du médicament et la perméabilité du médicament à travers la barrière biologique (Brewster et Loftsson, 2007 ; Carrier et al., 2007). Les CD peuvent s'auto-agréger via des liaisons hydrogène pour former des structures plus grandes construisant ainsi des architectures optimales avec une efficacité de livraison élevée et une faible cytotoxicité (Hu et al., 2014). De nouvelles stratégies de ciblage introduisent des groupes récepteurs à la surface des CDs afin d'améliorer la capacité de livraison sélective des CDs (Guo *et al.*, 2020 ; Peng *et al.*, 2020).

➤ **Enantioséparation de médicament**

Les CDs natives présentent une énatio-reconnaissance pour différencier les espèces énantiomères par la formation de complexes diastéréoisomères. Un grand nombre de dérivés (par exemple, CDs neutres, cationiques et anioniques) ont été synthétisés en introduisant des groupes fonctionnels neutres ou chargés (Zhou *et al.*, 2015). Ces CD chargés présentent une bonne solubilité, une profondeur de cavité accrue et d'une forte capacité de complexation des médicaments chiraux, ce qui améliore encore l'efficacité, la durée et la consommation des processus d'énantioséparation. Par exemple, Sun et ses collègues (2019) ont pu améliorer le processus d'énantioséparation en liant un per-4-chlorophénylcarbamate- $\beta$ -CD à une phase stationnaire chirale.

➤ **Nanoparticules de cyclodextrine en tant que systèmes de livraison de gènes**

La thérapie génique en tant qu'option à la thérapie médicamenteuse conventionnelle ouvre une nouvelle voie pour le traitement des maladies génétiques et héréditaires, telles que l'hémophilie, la fibrose kystique et les cancers. La thérapie génique offre des avantages par rapport à la thérapie protéique conventionnelle, tels qu'une biodisponibilité améliorée et une toxicité systémique réduite. Par conséquent, pour éviter le problème de toxicité des vecteurs viraux, les chercheurs ont développé des nanoparticules à base de CDs en tant que vecteurs non viraux. Teijeiro-Osorio *et al.* (2009) ont signalé le potentiel d'une nouvelle génération de nanosupports polysaccharidiques hybrides composés de chitosane et de CDs anioniques pour la livraison de gènes à l'épithélium des voies respiratoires.

De plus, des nanoparticules hybrides de chitosane et de cyclodextrine anionique ont été développées et chargées avec un modèle d'ADN plasmidique qui code l'expression de la phosphatase alcaline sécrétée.

➤ **Nanoparticules lipidiques à base de cyclodextrines**

Les nanoparticules lipidiques de CDs représentent de nombreux exemples tels que les liposomes, les nanoémulsions, les nanoparticules lipidiques solides ou les transporteurs lipidiques nanostructurés. L'association de CDs dans des formulations de nanoparticules lipidiques favorise non seulement la charge de médicament hydrophobe dans les composants aqueux des nanoparticules lipidiques de CDs, mais maintient également la capacité de ciblage des nanoparticules. Il a été confirmé que les molécules hautement lipophiles incluses dans les membranes des liposomes sont libérées rapidement après administration in vivo (Maestrelli *et al.*, 2005). (Arima *et al.*, 2006) ont développé des liposomes pégylés piégeant le complexe doxorubicine avec de la  $\gamma$ -cyclodextrine et évalué l'effet antitumoral de la doxorubicine chez des rongeurs porteurs de cellules tumorales du côlon-26. Les résultats de l'étude ont montré un retard de la croissance tumorale et une augmentation de la rétention du médicament. La curcumine est bien connue pour ses effets thérapeutiques tels qu'antibactérien, anti-inflammatoire, antioxydant et antitumoral. Mais, il présente une instabilité et une faible solubilité. Par conséquent, pour résoudre le problème de l'instabilité et de la solubilité, (Dhule *et al.*, 2012) ont fabriqué des nanoparticules liposomales à base de CDs chargées de curcumine pour traiter l'ostéosarcome.

➤ **Cyclodextrines en tant qu'excipients actifs**

Les CDs sont toujours considérés comme de nouveaux excipients, ingrédients actifs, véhicules d'administration de médicaments et agents anti-agrégation (Conceição *et al.*, 2018). Les recherches récentes ont clairement révélé que les CDs ne peuvent plus être considérées comme des excipients inactifs (Arima *et al.*, 2017). L'hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrine (HP- $\beta$ -CD) s'est avérée utile pour ralentir la progression de la maladie de Niemann-Pick de type C ; la maladie génétique mortelle. En outre, (Yokoo *et al.*,

2015) ont démontré que la (HP- $\beta$ -CD) était un agent anticancéreux potentiel dans la leucémie.

La HP- $\beta$ -CD est utilisée pour la prévention et le traitement de l'athérosclérose, une maladie inflammatoire chronique entraînée principalement par une rétention continue du cholestérol dans l'espace sous-endothélial pour empêcher sa précipitation sous forme de cristaux de cholestérol (Zimmer *et al.*, 2016). Les CDs décorées par un groupe photosensibilisateur peuvent être utilisées pour l'administration de médicaments en photothérapie où la libération d'ingrédients actifs est contrôlée par la lumière (Benkovics *et al.*, 2017).

**I.2. Les anesthésiques locaux**

**I.2.1.Introduction**

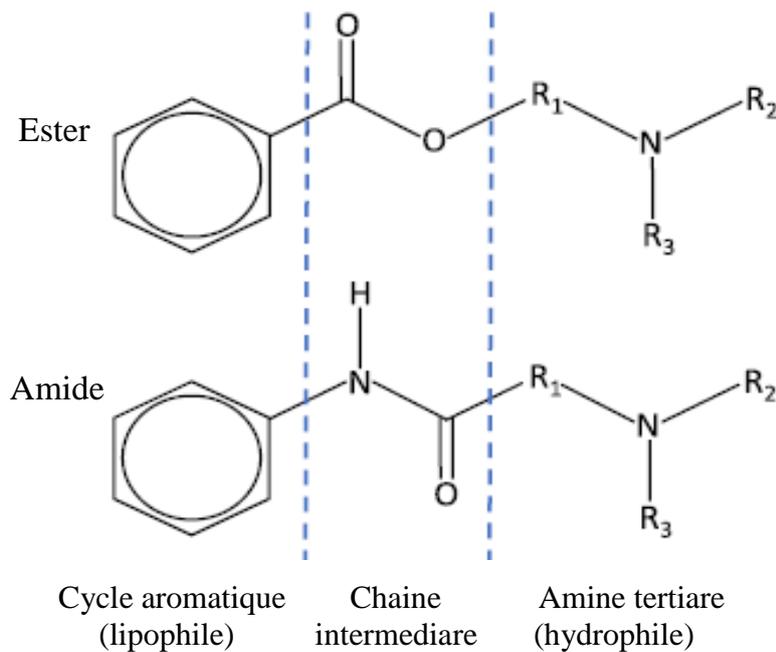
Les anesthésiques locaux (AL) sont des médicaments couramment utilisés en médecine et en particulier en anesthésiologie. Lorsqu'ils sont administrés à proximité du tissu neural périphérique, produisent des changements dans la conformation des canaux sodiques qui dépolarisent le tissu neural et produisent une analgésie, une anesthésie et un système sympathique. Ce phénomène inhibiteur est réversible et est connu sous le nom d'anesthésie régionale et est classé en nerfs locaux, périphériques, plexus nerveux, péridurale et anesthésie intraveineuse. Il existe plusieurs utilisations pharmacologiques des AL telles que des effets antiarythmiques, anti-asthmatiques, anti-inflammatoires, antithrombotiques ainsi qu'une activité d'amplificateur d'agent antitumoral (Razavi et Fazly Bazzaz, 2019 ; Lagadinou, 2020). Cependant, les AL peuvent atteindre des concentrations plasmatiques élevées et produire une toxicité systémique qui se manifeste principalement dans le système nerveux central et le système cardiovasculaire, provoquant des effets secondaires pouvant parfois entraîner la mort. Le premier AL répertorié est la cocaïne qui a été découvert par Niemannen 1864, mais en raison de ses propriétés toxicomanogènes, elle n'est plus prescrite actuellement. Plusieurs autres AL ont été synthétisés que ce soit de type ester ou de type amide (voir tableau I.3).

**Tableau I.3 :** Aspect chronologique des anesthésiques locaux(Siyi *et al.*,2019).

Anesthésique Local	Année de synthèse	Introduction en clinique
Procaine	1904	1905
Tetracaine	1928	1932
Lidocaine	1943	1947
Chloroprocaine	1950	1952
Mepivacaine	1956	1957
Bupivacaine	1957	1963
Prilocaine	1959	1960
Etidocaine	1971	1972
Levobupivacaine	1972	1999
Articaine	2002	2002
Anilides de N-alkylproline .	2012	2013

**I.2.2. Propriétés physico-chimiques et puissance des anesthésiques locaux**

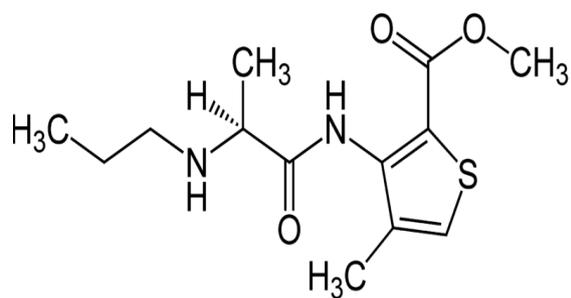
Les AL sont divisés en deux groupes selon leur structure chimique : les esters aminés tels que la cocaïne, la procaïne, la chloroprocaïne et la tétracaïne et les amides aminés comme la lidocaïne, la bupivacaïne, la mépivacaïne, la ropivacaïne et la prilocaïne). La molécule typique d'un AL est constituée de trois composants : un cycle aromatique lipophile, généralement du benzène, une chaîne intermédiaire lie l'amine basique au cycle aromatique et présente une liaison de type ester (CO) ou amide (CNH) et une amine tertiaire terminale hydrophile, qui est une base accepteuse de protons ( $H^+$ ) (voir figure I.4). Chacune de ces trois parties contribue à des propriétés différentes. Le cycle aromatique de la molécule améliore la liposolubilité du composé qui peut être augmentée par des substitutions aliphatiques à certains sites. Lorsque la liposolubilité des AL est augmentée, sa diffusion est augmentée à travers les structures nerveuses (gaines nerveuses et membranes axonales), ce qui améliore leur puissance anesthésique et toxique puisqu'une plus grande proportion du médicament pénètre dans le tissu neural et s'y fixe avec une affinité plus élevée. L'augmentation de la longueur des chaînes carbonées attachées au cycle aromatique, à la liaison amide ou à l'amine tertiaire offre une solubilité des lipides, une puissance et une durée d'action plus élevées. L'amine terminale peut exister sous forme tertiaire qui est liposoluble et facilite la pénétration membranaire cellulaire, ou sous forme quaternaire qui est chargée positivement et rend la molécule hydrosoluble, ce qui rend difficile le passage à travers le lipide membranes (Strichartz, 1998). Le remplacement de l'amine tertiaire par un cycle pipéridine augmente la solubilité des lipides et la durée d'action ; l'addition d'un groupe butyle à la place de l'amine sur le cycle benzénique de la procaïne donne la tétracaïne et l'ajout d'un groupe propyle ou butyle à l'extrémité amine de la mépivacaïne donne respectivement la ropivacaïne ou la bupivacaïne. Il existe une corrélation directe entre la puissance, la durée de l'effet, le caractère lipophile, la taille moléculaire et la toxicité. La chloroprocaïne est la moins toxique, suivie de la procaïne, de la prilocaïne, de la lidocaïne, de la mépivacaïne, de l'étidocaïne, de la ropivacaïne, de la bupivacaïne, de la tétracaïne et de la dibucaïne, la cocaïne étant l'AL la plus toxique (Burke et Henderson, 2002).



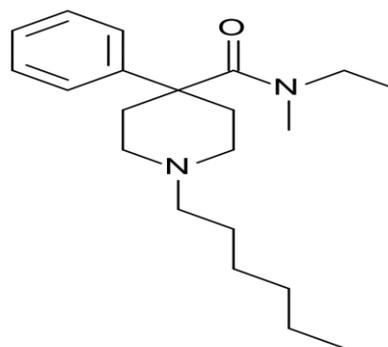
**Figure I.4.** Structures chimiques générales de anesthésiques locaux :

(Lecha *et al.*, 1982).

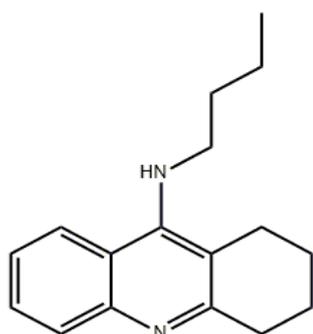
Il existe trois AL qui, en raison de leur structure chimique, diffèrent des AL classiques: l'articaine, la saméridine et la centbucridine (figure I.5). L'articaine est classée dans le groupe des amides, utilisé maintenant en dentisterie dans de nombreux pays. Elle est liposoluble avec une courte durée d'action et a une puissance intermédiaire, avec un métabolisme rapide en raison d'un groupe ester dans sa structure. Contrairement à d'autres anesthésiques locaux, l'articaine est exceptionnelle en ce qu'elle contient un groupe ester supplémentaire qui est rapidement métabolisé par l'estérase plasmatique en acide articaïnique (Mojumdar et Lyubartsev, 2010). La saméridine, en revanche, a des effets mixtes en tant qu'agoniste opioïde et des propriétés de l'AL à l'étude pour une utilisation intrathécale (Westman *et al.*, 1998). La centbucridine est un médicament nonester et nonamide. Il a été décrit que d'autres médicaments de structure moléculaire différente tels que l'amitriptyline, la mépéridine, l'eugénol, les antagonistes bêta-adrénergiques, les agonistes alpha 2, les spasmolytiques, les anticonvulsivants et les antihistaminiques ont des effets anesthésiques locaux (Norris *et al.*, 1996; Patel *et al.*, 1990).



(a)



(b)



(c)

**Figure I.5 :** Structure de (a) Articaine, (b) Sameridine et (c) Centbucridine

Le développement d'autres anesthésiques locaux à action plus longue s'est concentré sur les dérivés de toxines naturelles, l'utilisation de récepteurs supplémentaires sur les membranes nerveuses ou la fixation des AL à des polymères biodégradables (Pauchet *et al.*, 1927).

Les AL sont de petites molécules de poids moléculaire compris entre 234 et 350 g/mole, peu solubles et instables dans l'eau, et par conséquent, elles doivent être combinées avec un acide fort pour obtenir un sel stable qui est soluble dans l'eau à pH 4,7. La solubilité des AL dans l'eau est directement liée au degré d'ionisation et inversement liée à la solubilité des graisses. En solution, les AL existent sous deux formes : basique, non ionisée (B) et acide, cationique, ionisée (BH<sup>+</sup>). Le rapport entre ces deux formes dépend de la constante de dissociation (K<sub>a</sub>) de l'acide conjugué et de la concentration locale en ions H<sup>+</sup>. A un pH spécifique pour chaque AL, la concentration de B est égale à celle de BH<sup>+</sup>. Ce pH est appelé pK<sub>a</sub>. La relation peut s'exprimer ainsi :

$$pK_a = pH - \log \frac{B}{BH^+} \quad (I.3)$$

A un pH de 7.4, le pourcentage de forme  $BH^+$  sera d'autant plus élevé que le pKa sera élevé.

Pour que les AL agissent, ils doivent entrer en contact avec l'axone en traversant l'épinièvre, le périépièvre et l'endoneurièvre du nerf périphérique, ainsi que la couche de myéline dans les fibres myélinisées et enfin traverser la membrane cellulaire être en contact avec le site récepteur sur les canaux sodiques. La forme basique liposoluble diffuse facilement à travers les structures périépiévrales et la membrane axonale ; une fois à l'intérieur de la cellule, il est protonisé et c'est cette forme ionisée qui occupe le site récepteur précité (Scholz, 2002).

La puissance des AL fait référence à la sensibilité du tissu neural aux différents AL. Cette puissance augmente avec l'augmentation de l'affinité pour les lipides. La capacité de liaison des AL à la membrane phospholipidique en raison des caractéristiques physico-chimiques et de l'interaction in vivo est directement liée à leur puissance. D'autres facteurs affectant la puissance d'un AL comprennent : l'équilibre des ions hydrogène, la taille des fibres, le type et myélinisation, fréquence de stimulation nerveuse, pH tissulaire et concentrations d'électrolytes.

La liposolubilité des anesthésiques locaux est exprimée par le coefficient de partage, qui est défini comme le rapport des concentrations lorsque l'anesthésique local est dissous dans un mélange de solvants lipidiques et aqueux. Une plus grande solubilité des lipides permet une diffusion plus rapide à travers les membranes lipidiques pour atteindre leur site d'action. De plus, une plus grande solubilité des lipides donne un plus grand volume de distribution. Les principales caractéristiques physiques et chimiques de certaines AL fréquemment utilisées sont rassemblées dans le tableau I.4.

**Tableau I.4:** Caractéristiques physiques et chimiques et puissance relative de certains anesthésiques locaux

Caractéristiques physico-chimiques				
	pKa	% de la forme ionisée à pH 7.4	coefficient de partition	% liaisons aux protéines
Bupivacaine	8.1	83	3420	95
Levobupivacaine	8.1	83	3420	97
Etidocaine	7.7	66	7317	94
Lidocaine	7.9	76	366	64
Mepivacaine	7.6	61	130	77
Prilocaine	7.9	76	129	55
Ropivacaine	8.1	83	775	94
Chlorprocaine	8.7	95	810	—
Procaine	8.9	97	100	6
Tetracaine	8.5	93	5822	94

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

#### I.2.3.1. Propriétés acido-basiques

Les propriétés acido-basiques des AL découlent de leur structure qui dépendent en partie du milieu environnant. En solution aqueuse, il existe un équilibre entre la forme non ionisée (basique) et la forme ionisée (acide):



Avec une constante d'acidité :

$$K_a = \frac{[\text{B}] \cdot [\text{H}_3\text{O}^+]}{[\text{BH}^+]} \quad (\text{I.5})$$

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

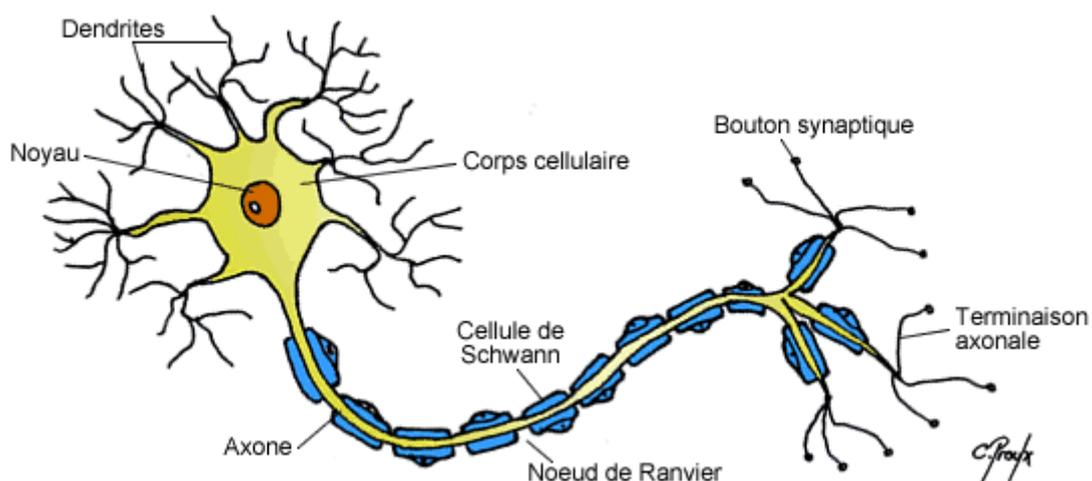
$$\text{pH} = \text{p}K_a - \log \frac{[\text{B}]}{[\text{BH}^+]} \quad (\text{I.6})$$

Le pKa de la lidocaïne par exemple est de 7.89, 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. Ritchie et collaborateurs (Ritchie *et al.*, 1965) ont montré que la lidocaïne est plus efficace à réduire le potentiel d'action d'un nerf lorsque celui-ci baigne dans un milieu de conservation alcalin (pH=8,8) que dans un milieu neutre (pH=7,2). Strobel et Bianchi (1970) ont confirmé ces données en montrant que la pénétration de la procaine ainsi que celle de la lidocaïne sont deux fois plus rapides à pH= 8,2 qu'à pH= 7,2. Plus le pKa de l'AL est alcalin, plus le délai d'action au pH physiologique sera long étant donné que la fraction de la forme non ionisée sera plus faible dans ces conditions.

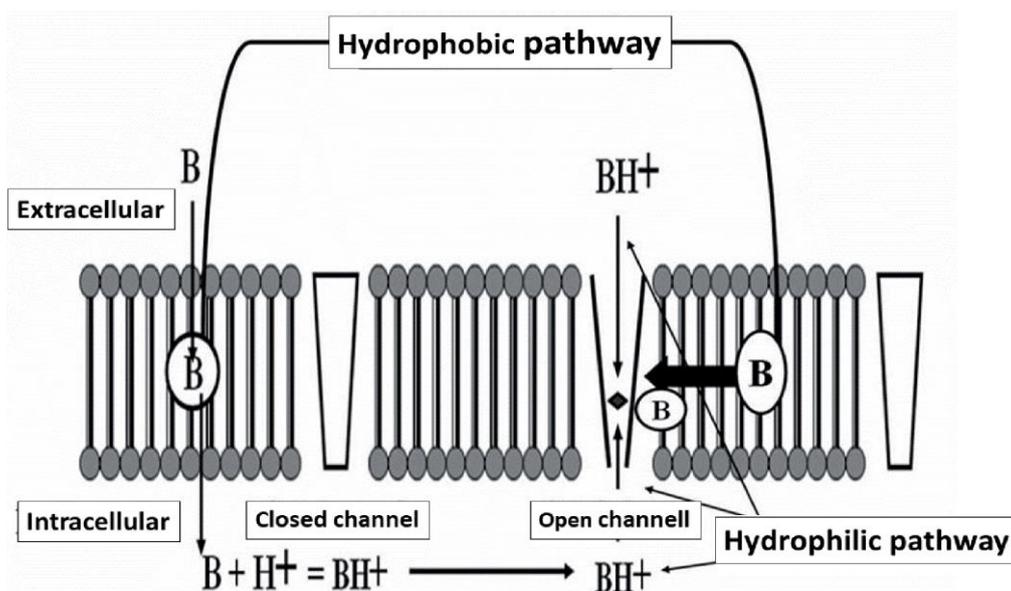
### I.2.3.2. Mécanisme d'action des anesthésiques locaux

La douleur est une sensation qui résulte de la stimulation des récepteurs spécifiques portés par les terminaisons nerveuses libres de la cellule nerveuse schématisée sur la figure I.6. Ces 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 protéiques 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 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  $\text{K}^+$  et le milieu extérieur riche en ions  $\text{Na}^+$ .



**Figure I.6 :** Schéma d'une cellule nerveuse (Lecron, 1990).

L'effet analgésique résulte du blocage de l'influx nerveux dans les fibres sensibles. Les AL entraînent une stabilisation du potentiel de repos en bloquant de façon réversible les canaux sodiques, rendant difficile la dépolarisation et donc la création d'un potentiel d'action, la propagation de l'influx nerveux est ainsi inhibée. Les molécules des AL se dissocient pour atteindre un nouvel équilibre de fractions ionisées et non ionisées, dépendant du pH intracellulaire et du pKa de l'anesthésique local (figure I.7). Les cations (forme protonique de AL) se fixent alors au niveau des canaux sodiques sur des récepteurs spécifiques (lipoprotéines) situés sur le segment interne du canal, bloquant ainsi l'entrée rapide des ions  $\text{Na}^+$ . L'anesthésique local lié stabilise l'état du récepteur inactivé, empêchant ainsi la transmission neuronale. Le bloc nerveux de l'anesthésique local dépend de la concentration ; ainsi avec des concentrations accrues d'anesthésique local, le pic du potentiel d'action est réduit, le seuil de déclenchement augmente, la conduction impulsionnelle est atténuée et la période réfractaire allongée. Des concentrations accrues inhibent alors toute conduction nerveuse. Leur forme non ionisée peut également contribuer directement à l'activité de l'anesthésique local par diffusion à travers la bicouche phospholipidique en étant capable d'entraîner des modifications conformationnelles de la matrice lipoprotéique.



**Figure I.7 :** Action d'un anesthésique local sur les canaux sodiques (Lecron, 1990)

**I.2.3.3. Pharmacocinétique des anesthésiques locaux**

La concentration sanguine des AL dépend de la quantité injectée, de l'absorption à partir du site d'injection, de la distribution tissulaire, ainsi que de la biotransformation et de l'excrétion de chacun des produits. Un certain nombre de facteurs individuels va influencer la concentration sanguine en modifiant particulièrement la distribution : l'âge et l'état cardiovasculaire et hépatique (Horlocker et Neal, 2001; Auroy *et al.*, 2002). L'absorption de AL dépend, d'une part, des caractéristiques du tissu ; elle augmente dans les territoires très vascularisés et diminue dans le tissu adipeux. La concentration plasmatique dépend de la dose totale administrée plutôt que de la concentration, pour la plupart des AL, il existe une relation linéaire entre la dose totale et la concentration sanguine (Miller *et al.*, 2018). D'autre part, les caractéristiques physico-chimiques modulent également l'absorption du médicament, par exemple, les AL les plus lipophiles et ayant une plus grande affinité pour les protéines seront absorbés plus lentement que celles ayant moins d'affinité pour les tissus adipeux.

Au niveau sanguin, la liaison aux globules est assez faible. La majorité des médicaments non liés aux globules va se lier aux protéines du sérum, avec une concentration faible dans l'eau plasmatique (Srinivasa *et al.*, 2003). La distribution des AL dépend des caractéristiques physico-chimiques de chaque LA, de son coefficient de solubilité et de sa liaison aux protéines plasmatiques. Les AL traversent les barrières hémato-encéphaliques et placentaires par simple diffusion ; cette diffusion est d'autant plus importante que la capacité de liaison aux protéines plasmatiques est plus faible. Des taux variables se lient aux protéines plasmatiques dans la circulation sanguine, en particulier l'acide alpha-1-glycoprotéique. Cette propriété de liaison aux protéines est en corrélation avec son affinité pour les canaux sodiques et prédit la durée du blocage neural. La bupivacaïne a le pourcentage le plus élevé de liaison aux protéines et est donc l'AL avec la durée d'action la plus longue (Borgeat *et al.*, 2001). Les anesthésiques locaux à forte liaison protéique à la glycoprotéine acide ont une durée d'action plus longue et une biodisponibilité plus faible. L'hypoxie, l'hypercapnie et l'acidémie diminuent toutes la liaison aux protéines et augmentent le risque de toxicité.

### I.2.4. Route d'administration

Les anesthésiques locaux sont administrés par plusieurs voies. Ceux-ci comprennent les applications topiques, par exemple pour la peau et les voies respiratoires, sous-cutanées, intraveineuses, péri-neurales, épidurales et intrathécales.

#### I.2.4.1. Anesthésie de surface

On utilise en général la forme non ionisée incorporée dans des pommades grasses (application cutanées) ou des gelsinertes (application sur muqueuses). Certains anesthésiques qui ne seraient efficaces qu'à des concentrations très importantes comme par exemple la procaine, ne sont pas utilisés de ce fait dans l'anesthésie de surface (Lechat *et al.*, 1982).

#### I.2.4.2. Anesthésie d'infiltration

Par injection intra dermique ou sous cutanée, on recherche un blocage des terminaisons nerveuses. Les AL trop puissants et présentant de ce fait une trop grande toxicité potentielle, ne sont pas en général utilisés de cette manière sauf à des concentrations très inférieures à celles généralement en usage. Elle se fait par injection au voisinage d'un nerf ou d'un tronc nerveux ou de ganglions vertébraux postérieurs (dans l'anesthésie spinale) ou encore de nerfs spinaux para-vertébraux.

### I.2.5. Métabolisme et élimination

Les AL diffèrent dans leur métabolisme selon leur structure chimique ; ceux ayant une liaison de type ester (sauf la cocaïne) sont rapidement hydrolysés par les estérases plasmatiques de sorte que la durée de leur action augmente avec le déficit de cette enzyme ou la présence de cholinestérase atypique. La cocaïne est hydrolysée dans le foie. Les métabolites des esters sont éliminés par le rein tandis que les AL amides sont métabolisés dans le foie ; il s'agit d'un processus lent, qui favorise une demi-vie plus longue que les esters et peut s'accumuler lors de l'administration de doses ou de perfusions répétées. Les métabolites et le médicament non métabolisé sont éliminés par l'urine et une petite quantité par les selles. L'élimination est favorisée par un pH urinaire acide. Le fait que les AL de type ester aminé soient rapidement métabolisés favorise qu'ils restent dans le sang pendant une courte période de temps, y compris le sang

placentaire et le fœtus. Les AL de type amino-amide passent plus facilement au fœtus, en particulier ceux ayant une affinité plus faible pour les protéines plasmatiques telles que la lidocaïne, ce qui peut entraîner une toxicité fœtale.

### **I.2.6. Effets indésirables**

Les effets anesthésiques et analgésiques des AL et leur toxicité ont pour origine le même mécanisme d'action ; c'est son interaction dans les canaux sodiques. En 1905, Braun mentionna les caractéristiques qu'un nouvel AL devrait être moins toxique, il ne devrait pas irriter ou endommager les tissus, il doit être soluble dans l'eau et stable en solution, il doit pouvoir se mélanger à l'adrénaline et doit être rapidement absorbé dans la membrane cellulaire (Braun, 1905). Les AL sont utilisés avec une marge de sécurité acceptable, sans être le médicament idéal. Les paragraphes suivants décrivent brièvement les effets secondaires les plus rencontrés.

#### ➤ **Toxicité**

L'histoire de la toxicité des AL a commencé à la fin du XIXe siècle, lorsque les cliniciens de l'époque ont réalisé les effets délétères de la cocaïne et ont commencé à rechercher de meilleurs médicaments. Dans le groupe des esters, la cocaïne reste l'AL le plus toxique, la procaine et la chlorprocaine sont les moins puissantes et les moins toxiques, non seulement dans le groupe des esters, mais parmi tous les AL connus. Dans le groupe amino-amide, la bupivacaïne racémique, l'étidocaïne et la mépivacaïne sont plus toxiques que la lévobupivacaïne et la ropivacaïne. La lidocaïne et la prilocaïne sont les moins toxiques de ce groupe.

Les effets toxiques des AL sur le système cardiovasculaire sont divisés en deux groupes ; les changements physiologiques générés par certaines techniques d'anesthésie régionale et les effets qui découlent de l'action de ces médicaments sur les canaux sodiques, potassiques, calciques et les récepteurs bêta myocardale.

### ➤ *Neurotoxicité*

La toxicité des AL sur le système nerveux se manifeste dans deux domaines :

- ceux qui sont déclenchés par des concentrations sanguines élevées et sont dus à leur action sur les canaux sodiques,
- ceux qui sont provoqués par l'application directe de l'anesthésique sur ou à proximité des structures neurales, en particulier l'injection de lidocaïne dans l'espace subarachnoïde.

### ➤ *Myotoxicité*

Il est bien connu que l'injection péri-neurale continue et l'injection intramusculaire directe des AL ont des effets toxiques sur le muscle strié provoquant des changements inflammatoires. Ces médicaments agissent sur les membranes cellulaires externes et sur les membranes des organites intracytoplasmiques, en particulier sur la double membrane mitochondriale. La bupivacaïne, par exemple, produit des altérations du métabolisme oxydatif intracellulaire actif en dépolarisant la membrane mitochondriale et en oxydant le nucléotide pyridine. Cela se traduit par l'ouverture du port de transition de perméabilité ; un type de canal situé dans les membranes intracellulaires qui joue un rôle important dans diverses formes de mort cellulaire (Irwin, 2002). Zink *et al.* (2003) ont comparé la bupivacaïne à la ropivacaïne et ont démontré que la première induisait une nécrose et une apoptose des fibres musculaires, tandis que la seconde produisait des modifications moins sévères du muscle squelettique porcin.

### ➤ *Allergie*

Les vraies allergies aux AL sont rares et surviennent généralement avec les AL de type ester, bien que des allergies aient été rapportées avec les AL amino-amides (Whizar-Lugo , 2004). Lorsqu'une personne réagit à un AL, elle sera allergique pour le reste de sa vie en raison de la réponse des mastocytes qui libèrent des médiateurs chimiques responsables des réponses cliniques chez chaque patient. Les manifestations d'une véritable allergie vont de légères à sévères et sont parfois mortelles. L'expression la plus fréquente est la dermatite de contact, mais elles peuvent également se manifester par

une urticaire, un rash, une rhinite, un spasme bronchique, un œdème de Quincke, une tachycardie, une hypotension et conduire à un choc anaphylactique.

### **I.2.7. Encapsulation des anesthésiques locaux**

L'encapsulation d'agents anesthésiques locaux permet de libérer lentement de fortes doses et procure une analgésie sur une période prolongée sans toxicité (Shikanov *et al.*, 2007). Les agents d'encapsulation comprennent les liposomes (Boogaerts *et al.*, 1995), les liposphères (Blanco *et al.*, 1999), les cyclodextrines (Dollo *et al.*, 1998 ; Welliver et McDonough, 2007) et les microparticules (de Paula *et al.*, 2012). Les études sur les complexes anesthésiques locaux de cyclodextrine ont créé des applications possibles intéressantes. Il a été démontré que les cyclodextrines améliorent la solubilité aqueuse des anesthésiques locaux et diminuent la formation de précipités lors de l'alcalinisation de ces solutions (Myoshi *et al.*, 1998). Les effets analgésiques de la bupivacaïne complexé avec une hydroxypropyl-bêta-cyclodextrine a été conclu par de Araujo (2005) comme étant plus prononcé que la bupivacaïne seule. Kopecky (2004) a complexé avec succès la bupivacaïne à la fois par une CD naturelle et modifiée et a trouvé que le complexe se dissocie facilement au niveau des tissus neuronaux. Heavnor (2000) a trouvé de la cocaïne complexée avec une cyclodextrine a permis d'administrer des doses plus élevées avec aucun effet toxique. Cet effet de réduction de la toxicité de complexes cyclodextrine-anesthésiques locaux a également été trouvé avec la benzocaïne (Pinto, 2005). Bien qu'il y ait peu études de complexes de CDs avec des anesthésiques locaux, les données suggèrent que les CDs peuvent offrir une option plus sûre et plus efficace pour l'administration d'anesthésiques locaux.

## **Chapitre II**

# **Méthodes de caractérisation expérimentales et méthodes de modélisation moléculaire des complexes d'inclusion**

**II.1. Introduction**

Une évaluation précise des constantes de liaison hôte-invité est un problème majeur en chimie supramoléculaire. En effet, la thermodynamique du processus d'équilibre est une information essentielle avec les informations structurales pour parvenir à une compréhension approfondie du phénomène de liaison à un niveau microscopique, en particulier lorsqu'une reconnaissance moléculaire sélective est impliquée. Afin d'estimer les constantes de liaison entre les cyclodextrines (CD, à la fois natives et modifiées chimiquement) et les molécules invitées organiques appropriées, diverses méthodes ont été développées et appliquées, exploitant différentes techniques expérimentales, allant de la spectrométrie (UV, fluorimétrie, dichroïsme circulaire induit, RMN) à chromatographie et électrophorèse, et à la calorimétrie (Connors, 1996).

Bien que les méthodes actuellement utilisées aient tendance à devenir de plus en plus sophistiquées, cela n'est en effet pas une garantie d'exactitude ou de faisabilité ou de valeur des informations obtenues. En fait, l'estimation des constantes de liaison pour le même couple hôte-invité au moyen de différentes méthodes expérimentales peut conduire à des résultats très différents, comme le montrent les différents cas rapportés dans la littérature (Rekharsky et Inoue, 1998).

Dans ce travail, nous avons l'intention de montrer comment une technique ancienne et simple telle que la polarimétrie est capable de fournir une méthode facile, peu exigeante (en termes de temps et de matériaux) et précise pour l'évaluation des constantes de liaison.

**II.2. La polarimétrie**

La polarisation rotatoire est la propriété qu'ont certaines substances (fluides ou solides) de faire tourner le plan de polarisation d'une onde polarisée rectilignement qui les traverse. On l'appelle aussi biréfringence circulaire ou activité optique. Elle a été découverte en 1811 par D'Arago sur le quartz ( $\text{SiO}_2$ ) et par J. B. Biot sur l'essence de térébenthine ( $\text{C}_{10}\text{H}_{16}$ ). Elle présente un intérêt à la fois théorique et pratique. En effet, elle prouve expérimentalement la nature vectorielle de la variable lumineuse. En outre,

elle est à la base du dosage des substances chimiques constituées de stéréo- isomères telles que certains sucres.

Les lois de la polarisation rotatoire ont été établies expérimentalement par Biot.

- Certains corps isotropes transparents, traversés par une lumière monochromatique polarisée rectilignement, font tourner le plan de polarisation autour de la direction de propagation du faisceau.
- Il existe deux variétés de substances actives : les substances lévogyres qui font tourner le plan de polarisation vers la gauche d'un observateur qui reçoit la lumière et les substances dextrogyres qui font tourner ce plan vers sa droite.
- L'angle de rotation du plan de polarisation est proportionnel à l'épaisseur de la substance traversée.

Aussi on introduit pour un solide et pour un liquide pur le pouvoir rotatoire spécifique  $\{\alpha\}$  :

$$\{\alpha\} = \frac{\alpha}{l} \quad (\text{II.1})$$

Pour une solution de concentration  $C$ , le pouvoir spécifique  $\{\alpha_c\}$  défini par :

$$\{\alpha_c\}^{20}_D = \frac{\alpha}{lc} \quad (\text{II.2})$$

Il est pratiquement indépendant de la concentration.

Avec :

$\alpha$  : l'angle de déviation mesuré en degré °

$l$  : la longueur de la cuve en dm

$C$  : la concentration en g/cm<sup>3</sup>

Le chiffre 20 indique que la mesure est effectuée à la température de 20°C

D : la lettre D indique la raie du Sodium, la longueur d'onde utilisée pour la mesure

$[\alpha]^{20}_D$  : le pouvoir rotatoire spécifique °.g<sup>-1</sup>.dm<sup>-1</sup>.cm<sup>3</sup>

- L'angle de rotation  $\alpha$  dépend de la longueur d'onde  $\lambda$  (dans le vide) suivant une loi approchée de la forme :

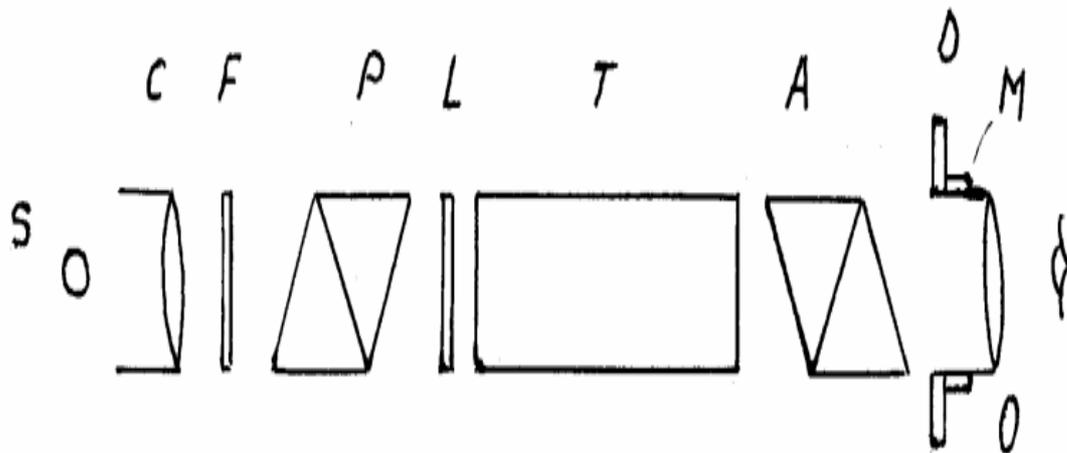
$$\alpha = A/\lambda^2 \tag{II.3}$$

L'angle de rotation est donc plus élevé dans le bleu que dans le rouge.

- Le sens de la rotation du plan de polarisation ne dépend pas du sens de la propagation de la lumière dans le milieu. (Cette loi est caractéristique de la polarisation rotatoire naturelle).

**II.2.1. La description de l'installation expérimentale**

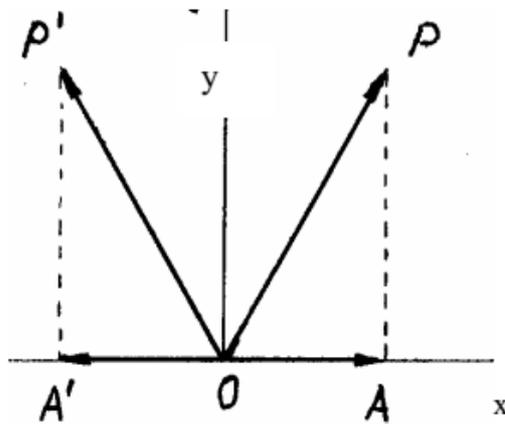
Le polarimètre (Figure. II.1) est un dispositif utilisé pour la détermination rapide et précise de la concentration des solutions optiques actives. Le fonctionnement de cet appareil s'appuie sur la capacité de l'œil d'apprécier dans la pénombre, l'égalité des éclairagements de deux pages.



**Figure II.1.**Schéma du polarimètre de Laurent

La source de la lumière  $S'$  est mise dans le foyer de la lentille  $C$  avec le rôle de collimateur. Le filtre  $F$  permet de passer seulement une onde monochromatique. Le nicol  $P$  polarise rectilignement la lumière. La région centrale du faisceau polarisée passe par une lame demi-onde  $L$ . La lumière rectilignement polarisée sur la direction  $OP$  (Figure II.2), incidente sur la lame biréfringente  $L$ , sort en deux ondes : ordinaire et extraordinaire, dont la différence de chemin optique est  $\lambda/2$ .

En recomposant les deux ondes on obtient une onde rectilignement polarisée avec la direction de vibration  $OP'$  symétrique avec la direction de l'onde incidente  $OP$ .



**Figure II.2.** La lumière rectilignement polarisée sur la direction  $OP$

Le faisceau de lumière  $OP$  passe par le tube  $T$  et puis par le nicol  $A$  avec le rôle d'analyseur, qui laisse passer une onde linéairement polarisée avec le vecteur lumineux et la projection du vecteur d'onde incidente sur son axe optique (la direction principale d'analyseur). L'image du champ visuel émergent est obtenue dans l'oculaire  $O$  qui peut être réglé en utilisant le manchon  $M$ . Dans la Figure II.2,  $OP$  est l'amplitude de l'onde qui vient du polariseur à laquelle correspond l'illumination des régions  $B$  (Figure II.3) dans le champ visuel émergent et  $OP'$  est l'amplitude de l'onde qui sort de la lame demi-onde à laquelle correspond l'illumination de la région  $A$ .

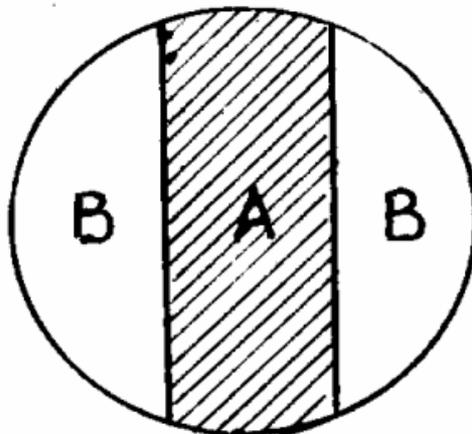


Figure II.3. les deux régions A et B

Si dans le tube T n'est pas une substance optique active, les vecteurs  $OP$  et  $OP'$  sont symétriques à l'axe  $Oy$ . Si l'analyseur polarise la lumière rectilignement sur la direction  $OA \parallel Ox$  les projections des vecteurs  $OP$  et  $OP'$  sont égales, et, dans le champ visuel on obtient l'égalité des éclairagements des régions A et B. Cette égalisation est de minimum, parce que les vecteurs  $OP$  et  $OP'$  ont les directions plus proches de l'axe  $Oy$  que l'axe  $Ox$ . (Si l'analyseur A est tourné avec  $90^\circ OA \parallel Oy$ , on obtient une égalisation de maximum). Si on introduit le tube T avec substances optiques actives les vecteurs  $OP$  et  $OP'$  tournent d'un angle  $\alpha$  (ils ne sont plus symétriques vis-à-vis de l'axe  $Oy$ ) et l'égalité des éclairagements n'est plus réalisée. On la rétablit en tournant l'analyseur du même angle  $\alpha$ . Les projections  $OS$  et  $OS'$  des vecteurs  $OP$  et  $OP'$  sur la nouvelle direction de polarisation sont égales ( $OS = OS'$ ) (Figure II.4).

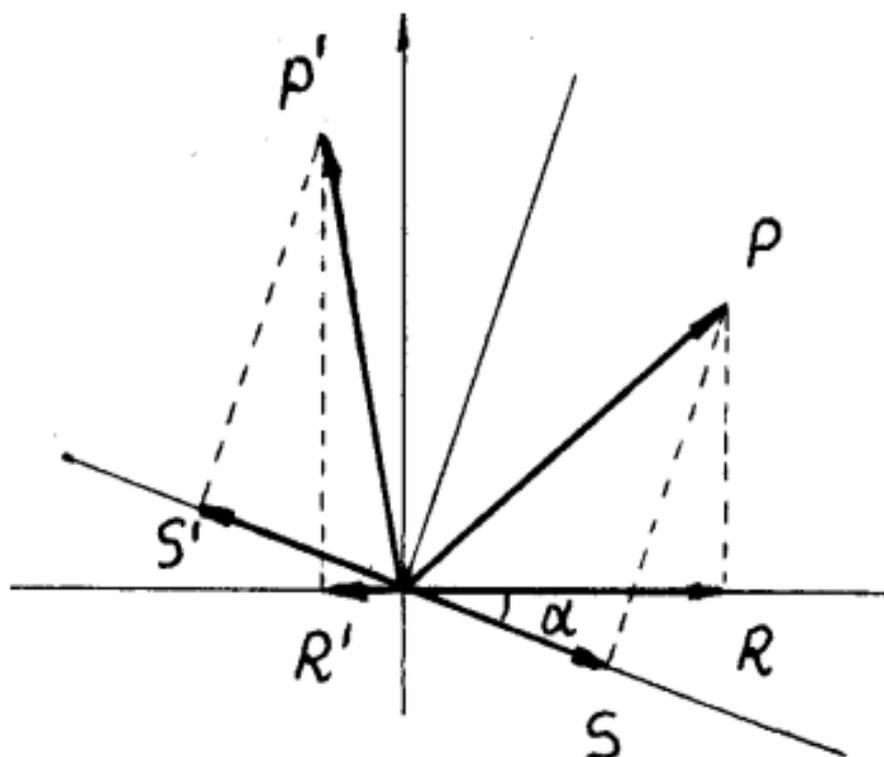


Figure II.4. schéma de l'égalité de polarisation ( $OS = OS'$ )

### II.2.2. Fiabilité de la polarimétrie pour déterminer les constantes de complexation

La polarimétrie simple n'a pas attiré l'attention des chercheurs en tant qu'outil d'évaluation des constantes de liaison. Au meilleur de notre connaissance, un seul rapport occasionnel (Bergeron *et al.*, 1977) peut être trouvé dans la littérature récente. Cependant, nous pensons que la polarimétrie mérite beaucoup plus de considération, car elle peut être utilisée avec profit pour obtenir à la fois des informations thermodynamiques et structurales. Notre approche exploite les caractéristiques de l'hôte plutôt que de l'invité, et repose sur quelques idées simples.

L'activité optique des CD est due non seulement à la présence d'un nombre donné d'unités de glucose chirales dans leur disposition spatiale, ainsi qu'au comportement conformationnel global de l'ensemble du macrocycle (Rees, 1970). En fait, la représentation habituelle des CD comme des seaux symétriques  $C_n$  n'est qu'un simple artefact pictural expliquant leur comportement dynamique moyen. Leurs structures réelles subissent un degré important de désymétrisation, (Lipkowitz, 1998) en raison du

déplacement de torsion mutuelle des unités de glucose. De plus, le caractère d'hélicité a été attribué aux deux bords hydroxyles du macrocycle CD, afin d'expliquer les propriétés de reconnaissance chirale de certains CD modifiés (Kano et Hasegawa, 2001).

Il est à noter que les activités optiques molaires  $[\Theta_{CD}]_D^{25}$  de CDs natifs ( $+140 \pm 1$ ,  $+180 \pm 1$  et  $+224 \pm 1$  deg  $\text{dm}^{-1}\text{M}^{-1}$  pour  $\alpha\text{CD}$ ,  $\beta\text{CD}$  et  $\gamma\text{CD}$ , respectivement dans l'eau sont significativement différents de la somme des contributions dues aux unités D-glucose. Ainsi, on peut raisonnablement s'attendre à observer une variation de l'activité optique du CD lors de l'inclusion d'un invité, en raison à la fois des changements de conformation du macrocycle et de l'effet local du microenvironnement dipolaire de l'invité lui-même. L'estimation des valeurs K au moyen de la polarimétrie nécessite de travailler à une concentration CD fixe et une concentration variable de l'invité. Afin d'effectuer une détermination fiable, seules quelques exigences doivent être satisfaites. La concentration en CD doit être suffisamment élevée pour permettre une mesure fiable de la rotation optique de l'échantillon.

En utilisant un équipement moderne, une sensibilité de détection de 0,001 deg ou moins peut être facilement atteinte par conséquent, compte tenu des activités optiques molaires des cyclodextrines natives, la concentration de l'hôte peut être réduite jusqu'à  $5 \cdot 10^{-4}$  M.

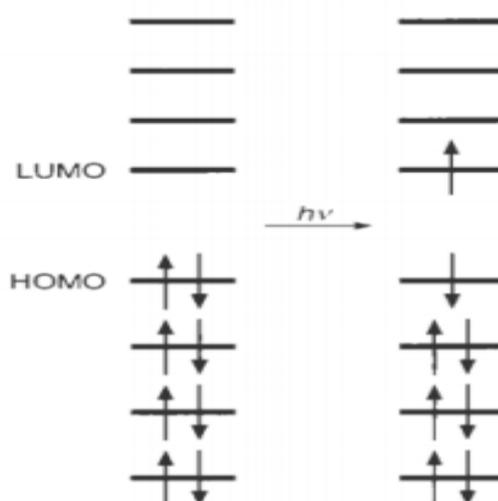
## II.3. Méthodes spectroscopiques d'analyse

## II.3.1 Absorption UV-visible

## II.3.2. Niveaux d'énergie d'une molécule

Les orbitales moléculaires HO (pour Haute Occupée) et BV (pour Basse Vacante) sont les orbitales les plus importantes à prendre en compte lors des phénomènes d'absorption et de fluorescence. L'orbitale HO est l'orbitale occupée la plus haute en énergie tandis que l'orbitale BV est l'orbitale inoccupée la plus basse en énergie. Une transition électronique consiste à promouvoir un électron d'une orbitale d'une molécule à l'état fondamental vers une orbitale inoccupée en absorbant un photon. La molécule est dite alors à l'état excité.

Quand l'absorption d'un photon permet le passage d'un électron de l'orbitale  $\pi$  vers



**Figure II.5.** Principe de l'excitation

l'orbitale antiliante  $\pi^*$ , il s'agit alors d'une transition  $\pi - \pi^*$ . La transition  $\sigma - \sigma^*$  qui consiste à promouvoir un électron  $\sigma$  nécessite une énergie beaucoup plus élevée. Les transitions  $n - \pi^*$  sont caractérisées par la promotion d'un électron d'un doublet non liant appartenant à un hétéroatome vers l'orbitale antiliante  $\pi^*$ .

Les énergies des transitions électroniques sont classées généralement dans cet ordre :

$$n - \pi^* < \pi - \pi^* < n - \sigma^* < \sigma - \pi^* < \sigma - \sigma^*$$

## Chapitre II Méthodes de caractérisation expérimentales et méthodes de modélisation moléculaire des complexes d'inclusion

Deux règles de sélection régissent les transitions entre les niveaux d'énergie d'une molécule :

- Les niveaux ont la même multiplicité de spin. Malgré cela, la probabilité de transition entre un état singulet et un état triplet n'est pas rigoureusement nulle à cause du couplage spin-orbite
- Les transitions entre états électroniques possédant la même symétrie sont interdites. Cependant, celles-ci sont rendues possibles grâce au couplage entre les niveaux électroniques et les niveaux vibrationnels (appelé couplage vibronique).

### II.3.3. Absorption de la lumière

La capacité des molécules de soluté à absorber la lumière dans une solution à une longueur d'onde  $\lambda$  est définie par l'absorbance  $A(\lambda)$  qui suit la loi de Beer-Lambert :

$$A(\lambda) = \log \frac{I_{\lambda}^0}{I_{\lambda}} = \varepsilon(\lambda)lc \quad (\text{II.4})$$

Où  $I^0$  et  $I_{\lambda}$  représentent respectivement l'intensité de lumière incidente et de la lumière transmise,  $\varepsilon$  le coefficient d'absorption molaire,  $l$  la longueur du trajet optique et  $c$  la concentration en espèces absorbantes.

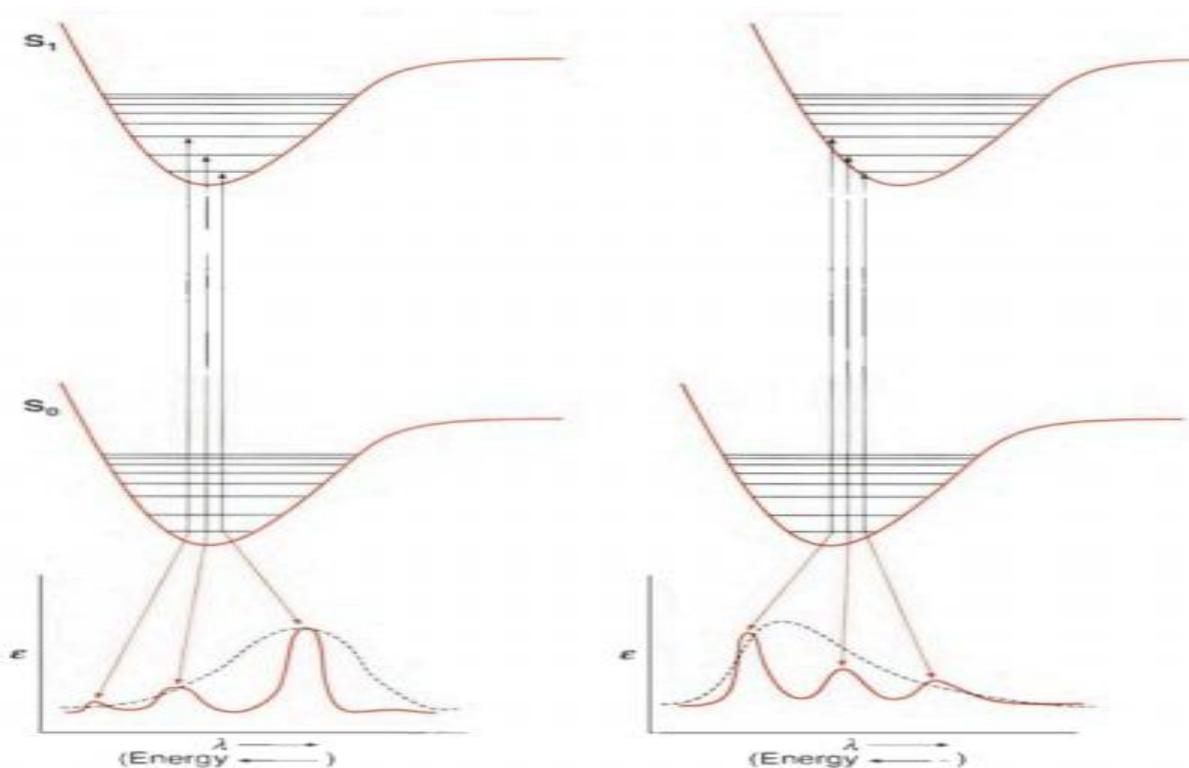
Si plusieurs molécules absorbantes sont présentes en solution, l'absorbance totale à une longueur d'onde sera la somme des absorbances de chaque molécule à cette longueur d'onde. Il existe ainsi une relation linéaire entre l'absorbance et la concentration de l'espèce absorbante. L'absorption d'un photon UV ou visible induit des transitions  $\pi - \pi^*$  ou  $n - \pi^*$ . Comme les transitions  $n - \pi^*$  sont en général interdites par symétrie, les coefficients d'absorption molaire prennent dans ce cas des valeurs assez faibles ( $\varepsilon \approx 10^2 - 10^3 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$ ). Les valeurs de  $\varepsilon$  sont beaucoup plus élevées hautes pour les transitions permises  $\pi - \pi^*$  ( $\varepsilon \approx 10^4 - 10^5 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$ ).

L'absorption d'un photon peut se faire seulement si l'énergie de ce dernier est au moins aussi élevée que la différence d'énergie entre l'état fondamental  $S_0$  et l'état excité  $S_1$  de la molécule (Valeur, 2001). Selon le principe de Franck-Condon, les noyaux restent immobiles pendant la transition électronique. L'état atteint est appelé état Franck-Condon. La figure II.6 schématise les courbes de potentiels des niveaux

électroniques d'une molécule en fonction de la distance des noyaux. La transition la plus probable a lieu à la verticale dans le diagramme de Morse c'est-à-dire à distance internucléaire fixe. Si la géométrie de l'état excité est proche de l'état fondamental, la transition la plus probable sera la transition  $S_0, v = 0 \rightarrow S_1, v = 0$ . Cette transition est la plus faible en énergie. Si les géométries de  $S_0$  et  $S_1$  sont différentes, la transition se produit entre les états  $S_0, v = 0$  et  $S_1, v \neq 0$ . Des transitions vers d'autres niveaux vibrationnels de l'état  $S_1$  sont aussi possibles mais avec des intensités moindres. La molécule peut aussi passer dans un état  $S_n, n > 1$  par absorption d'un photon. Le spectre d'absorption reflète donc la somme de toutes les composantes de chaque transition électronique.

$S_0$  et  $S_1$  possèdent la même géométrie :  
la transition (0,0) est la plus probable

$S_0$  et  $S_1$  possèdent des géométries différentes :  
la transition (0,n) est la plus probable



**Figure II.6 :** Absorption de la lumière conduisant à la transition  $S_0 \rightarrow S_1$ . A gauche : les deux états ont des géométries similaires facilitant la transition (0,0), à droite : l'excitation induit un changement de géométrie facilitant la transition(0,n). Figure adaptée de la référence(Anslyn et Dougherty, 2006).

## Chapitre II Méthodes de caractérisation expérimentales et méthodes de modélisation moléculaire des complexes d'inclusion

### ➤ *Le modèle linéaire*

Les représentations graphiques linéaires proviennent de l'équation proposée par Benesi et Hildebrand (Hildebrand et Benesi, 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.

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:

$$\frac{1}{\Delta A} = \frac{1}{\Delta \varepsilon [G]_0 [CD]_0 K_a} + \frac{1}{\Delta \varepsilon [CD]_0} \quad (\text{II.5})$$

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

### ➤ *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 :

$$K = \frac{[CD-G]}{([CD]_t - [CD-G])([G]_t - [CD-G])} \quad (\text{II.6})$$

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:

$$A_{abs} = A_{CD} + A_G + A_{CD-G} \quad (\text{II.7})$$

$A_{CD}$ ,  $A_G$  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.

la combinaison des équations précédentes donne l'équation (II.8) qui relie la variation de l'absorbance et la concentration de la CD.

$$\Delta A = [\varepsilon_G - \varepsilon_{CD-G}] \left[ \left( [G]_0 + [CD]_0 + \frac{1}{K} \right) - \sqrt{\left( \left( [G]_0 + [CD]_0 + \frac{1}{K} \right)^2 - 4[G]_0[G]_0 \right)} \right] \quad (\text{II.8})$$

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 deuxième 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.

$$\Delta\lambda = \frac{\Delta\lambda_{\max} K [CD]}{1 + K [CD]} \quad (\text{II.9})$$

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.

## II.4. Emission de fluorescence

### II.4.1 Processus de désexcitation

Les principaux processus qui suivent l'absorption d'un photon par une molécule sont rassemblés dans le diagramme de Perrin-Jablonski (Anslyn et Dougherty, 2006) (voir Figure II.7) à savoir : la conversion interne, la fluorescence, le croisement inter-système, la phosphorescence. L'absorption est très rapide ( $\approx 10^{-15}$ s) par rapport aux autres processus.

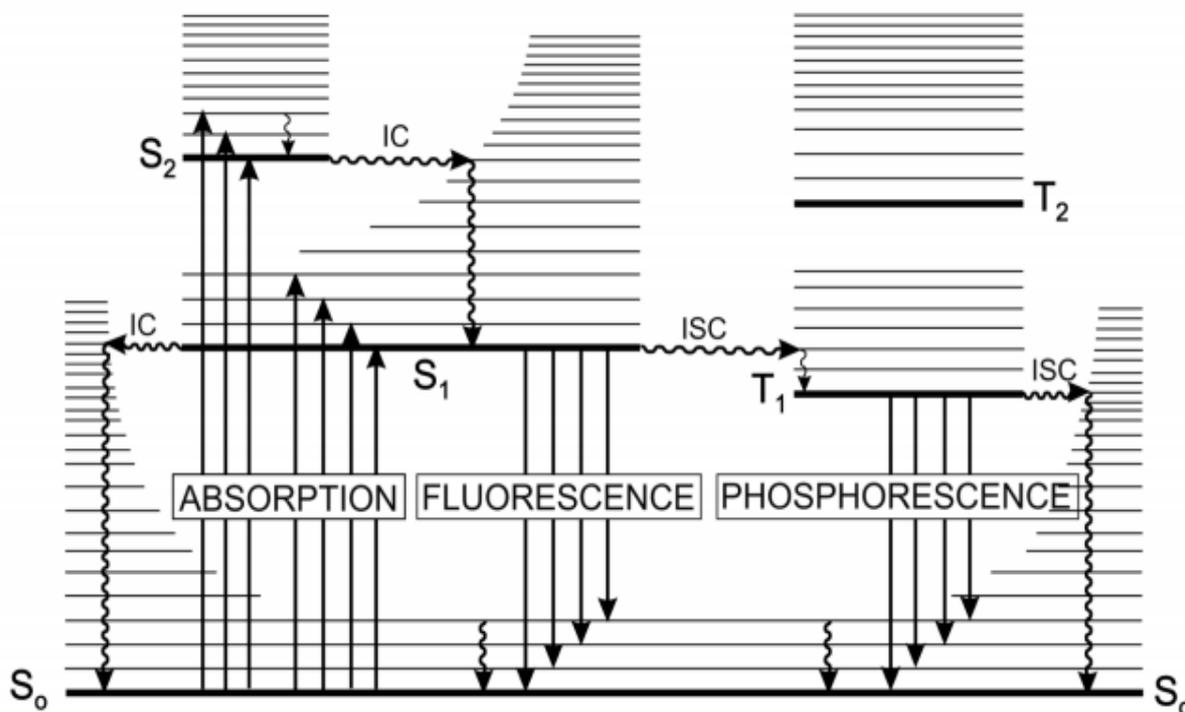


Figure II.7. Diagramme de Perrin-Jablonski.

➤ **Fluorescence**

L'émission d'un photon lors de la relaxation S<sub>1</sub> → S<sub>0</sub> correspond à la fluorescence. Dans de rares exceptions, la fluorescence est émise depuis l'état S<sub>n</sub>, ce qui correspond alors à la relaxation S<sub>n</sub> → S<sub>0</sub>. La relaxation vibrationnelle se produisant à l'état excité entraîne une perte d'énergie. Le spectre de fluorescence est situé à des longueurs d'onde plus élevées que le spectre d'absorption. La molécule fluorescente est alors caractérisée par le temps qu'elle met à se relaxer. Il s'agit de la durée de vie de fluorescence comprise la plupart du temps entre 10<sup>-10</sup> et 10<sup>-7</sup> secondes.

➤ *Modèles linéaires et non linéaires pour la spectroscopie de fluorescence*

➤ *Modèles linéaires*

La fluorimétrie est utilisée pour déterminer K<sub>a</sub> 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 :

$$\frac{1}{\Delta I_{obs}} = \frac{1}{\Delta I_c \cdot K_a \cdot [CD]_t} + \frac{1}{\Delta I_c} \quad (\text{II.10})$$

## Chapitre II Méthodes de caractérisation expérimentales et méthodes de modélisation moléculaire des complexes d'inclusion

Où  $\Delta I_{\text{obs}}$ ,  $\Delta I_c$  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.

### ➤ Modèles non linéaires

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 :

$$I = 2,3I_0 \cdot \Phi_F \cdot \varepsilon \cdot C \cdot l \quad (\text{II.11})$$

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 fluorescent en solution, la largeur de la cuve, l'intensité de la lumière incidente et l'intensité de la lumière émise.

Dans le cas de complexe d'inclusion (host-guest) ou (CD-Guest), les intensités de la lumière émise sont données par :

$$I_{CD-G} = 2,3 \cdot l \cdot I_0 \cdot \Phi_F^{CD-G} (\varepsilon_{CD-G} \cdot C_{CD-G}) \quad (\text{II.12})$$

$$I_G = 2,3 \cdot l \cdot I_0 \cdot \Phi_F^G (\varepsilon_G \cdot C_G) \quad (\text{II.13})$$

$I_{CD-G}$  et  $I_G$  représentent respectivement l'intensité du complexe et de la molécule invitée.

Le rapport donne :

Après réarrangement, nous obtenons l'équation qui relie l'intensité de fluorescence en fonction de la concentration de la CD (Eq. II.14).

$$\frac{I_{CD-G}}{I_{G_0}} = \frac{\frac{k_{CD-G}}{k_G} K[CD]}{1 + K[CD]} \quad (\text{II.14})$$

### II.5. La spectroscopie de résonance magnétique nucléaire (RMN)

La spectroscopie par résonance magnétique nucléaire (RMN) est sans doute la technique analytique la plus importante à la disposition des chimistes. Depuis ses humbles débuts en 1945, le domaine de la spectroscopie RMN a évolué en de nombreuses sous-disciplines qui se chevauchent.

Le principe de la RMN est expliqué par un modèle de la mécanique consiste à observer les transitions entre 2 niveaux d'énergie très proches d'un noyau soumis à un champ magnétique. Lorsque l'on soumet un noyau d'hydrogène à un champ  $H_0$ , les noyaux vont s'aligner sur champ magnétique (c'est à dire leur moment magnétique de spin  $\mu$ ). Leur nombre quantique magnétique de spin aura soit comme valeur  $m_s = 1/2$ , état le plus stable dans le même sens que  $H_0$ , soit  $m_s = -1/2$  à l'opposé de  $H_0$  et minoritaire (valable pour les noyaux de nombre de spin  $I = 1/2$ ). Le rapport entre les 2 populations est proche de 1. Il en résulte une légère aimantation notée  $M_0$ .

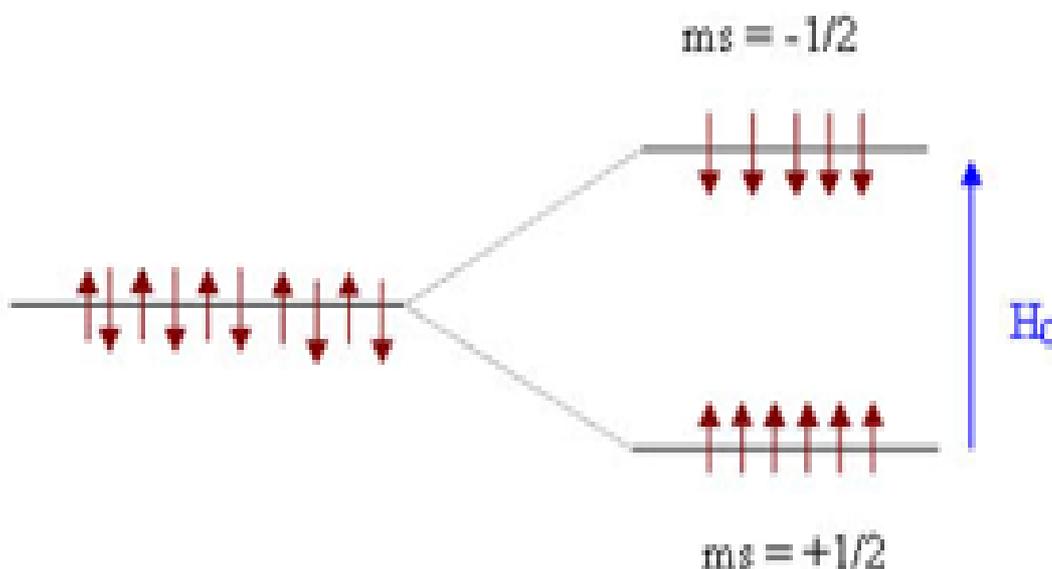
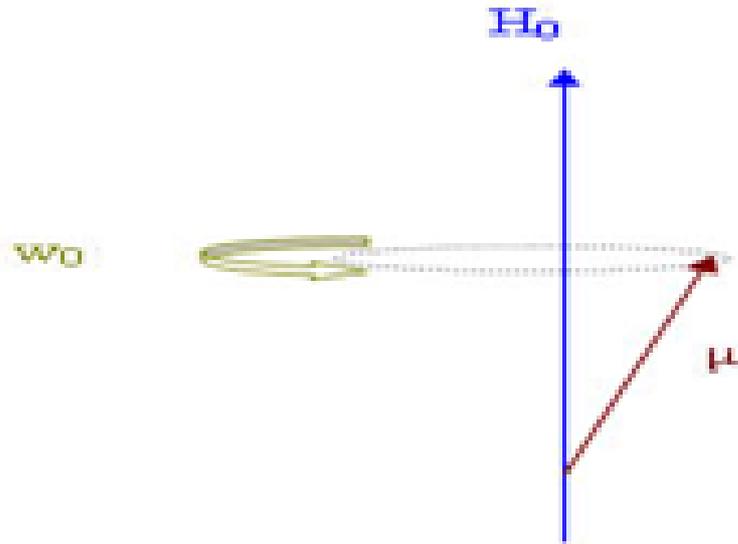


Figure II.8 Schéma De transition

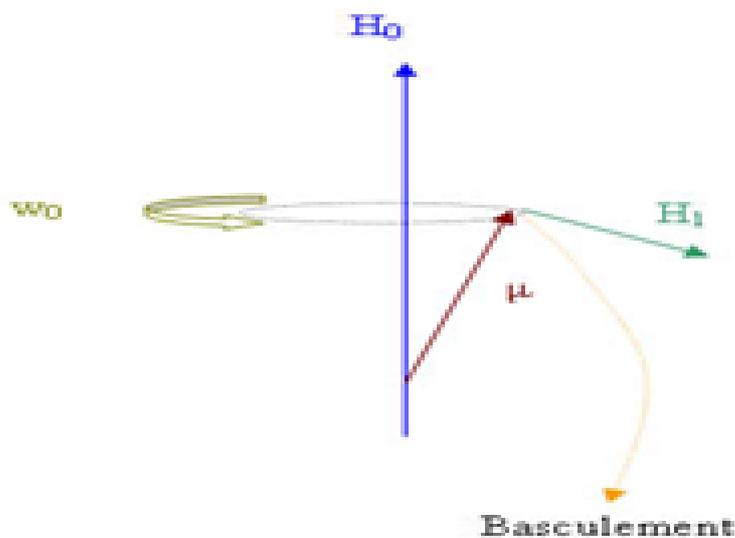
## Chapitre II Méthodes de caractérisation expérimentales et méthodes de modélisation moléculaire des complexes d'inclusion

Quand le noyau est soumis à  $H_0$  il s'aligne sur le champ mais entre aussi en précession (suite à son mouvement de rotation sur lui-même). Le moment magnétique prend une vitesse angulaire proportionnelle à  $H_0$  :  $w_0 = \gamma B_0$



**Figure II.9.** Représentation du mouvement

Pour qu'il y ait basculement, il faut appliquer un champ  $H_1$  perpendiculaire à  $\mu$  de façon à ce que la force générée fasse basculer  $\mu$  (règle de Lorentz ou des 3 doigts).



**Figure II.10.** Application du champ  $H_1$

## Chapitre II Méthodes de caractérisation expérimentales et méthodes de modélisation moléculaire des complexes d'inclusion

Si le champ  $H_1$  est fixe la condition n'est remplie qu'une fois par rotation d'où l'obligation de créer un champ tournant  $H_1$ . Concrètement on simule un champ tournant grâce à un solénoïde et un courant alternatif. La vitesse de rotation simulée  $w_1$  doit être égale à  $w_0$ . Les conditions pour un basculement sont ainsi toujours remplies. Lorsque la fréquence de Larmor est atteinte, il y a résonance et basculement de l'aimantation  $M_0$ .

La technique utilisant une fréquence fixe et un balayage de champ est abandonnée pour la RMN impulsionnelle car beaucoup plus précise:  $H_0$  reste fixe, et on envoie un « flash » de radiofréquence balayant la zone de fréquence intéressante. On excite ainsi tous les noyaux d'un coup (Rigamonti et Carretta, 2009.).

L'environnement magnétique des atomes des molécules intervenant dans le processus de complexation se trouve modifié. Ces modifications peuvent être mesurées par spectrométrie RMN (Lis-Cieplak *et al.*, 2014). Cette technique est surtout basée sur le fait que l'inclusion d'un invité dans la cavité d'une CD induit des variations des déplacements chimiques ( $\delta$ ) des protons situés à l'intérieur de la cavité (H-3 et H-5) tandis que les protons localisés à l'extérieur (H-2, H-4 et H-6) de la cavité restent pratiquement inchangés. La molécule invitée présente quant à elle, des modifications de déplacements chimiques au niveau de la plupart de ses protons. Les signaux des déplacements chimiques des protons H-3 et 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. Tandis que le déplacement vers les champs faibles des signaux des protons de l'invité impliqués dans la complexation est souvent dû au changement de polarité de son environnement (Ribeiro *et al.*, 2005). Ces variations permettent de confirmer la formation ou non d'un complexe d'inclusion et également d'en établir la géométrie (Piel *et al.*, 2004).

**Le déplacement chimique :** Le déplacement chimique permet de déterminer la position relative des fréquences d'absorption. La référence utilisée est le tétraméthylsilane (TMS). Il est noté  $\delta$ , n'a pas d'unité et est noté en ppm (parties par millions) il est déterminé à l'aide de la relation suivante : Le TMS est utilisé comme référence car il présente une constante d'écran élevée, il est volatil, soluble dans les solvants organiques,

## Chapitre II Méthodes de caractérisation expérimentales et méthodes de modélisation moléculaire des complexes d'inclusion

il est inerte chimiquement et utilisé en petite quantité. Si le signal est émis près du TMS on parle de champ fort : il y a blindage. Si le signal est émis loin du TMS (champ faible) il y a déblindage. Le déplacement chimique varie de 0 à 15 ppm.

### ➤ *Modèles linéaires de la spectroscopie RMN*

La résonance magnétique nucléaire permet non seulement de prévoir la construction du complexe d'inclusion mais aussi l'évaluation de sa constante d'association. Les études de résonance magnétique nucléaire pour déterminer la constante d'association s'effectuent à partir des déplacements chimiques. Les trois modèles utilisés :

- le premier modèle proposé indépendamment par Mathur et collaborateurs (1963), Hanna et Ashbaugh (1964) dérivante de celle de Benesi– Hildebrand.

$$\frac{1}{\Delta\delta_{obs}} = \frac{1}{K_a \cdot \Delta\delta_c \cdot [CD]_t} + \frac{1}{\Delta\delta_c} \quad (\text{II.15})$$

- Le modèle de Foster et Fyfe (1965)

$$\frac{\Delta\delta_{obs}}{[CD]_t} = -K_a \cdot \Delta\delta_{obs} + K_a \cdot \Delta\delta_c \quad (\text{II.16})$$

- le modèle proposé par Scott (1956)

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

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

## II.6. Les méthodes de la chimie quantique

### II.6.1. Introduction

Les méthodes de la chimie quantique sont des techniques permettant la résolution approchée de l'équation de Schrödinger. Le développement de ces méthodes 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 computationnels (mécanique moléculaire, dynamique moléculaire et mécanique quantique) afin de déterminer la représentation graphique de la géométrie moléculaire et d'évaluer ses propriétés physico-chimiques, spectrales, optiques...etc. 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. L'équation de Schrödinger des états stationnaires est donnée par l'équation (II.18)

$$\hat{H}\Psi = E\Psi \quad (\text{II.18})$$

$\hat{H}$  est le hamiltonien du système,  $\Psi$  est fonction d'onde et  $E$  est l'énergie du système

Les utilisateurs de la modélisation moléculaire se divisent en deux groupes :

- Ceux qui font des calculs relativement précis sur des petites molécules (moins de 300 atomes)
- Ceux qui cherchent, par des méthodes approximatives, à déterminer la structure des macromolécules.

### II.6.2. 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'est pas faite sur l'hamiltonien et la totalité des électrons de la molécule sont prises en compte. La seule approximation réside dans la construction de la fonction d'onde à partir du déterminant de Slater dont la base d'orbitale atomique est construite selon l'approximation de la combinaison linéaire des orbitales atomiques (LCAO). Les méthodes Ab-initio ne comportent pas des paramètres expérimentaux ou

empiriques sauf les données usuelles de chimie physique. Elles comprennent la méthode Hartree-Fock (HF) et les méthodes post-HF.

**II.6.2.1. 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 polyélectroniques avec 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 (Hartree, 1928) et développée ensuite par Fock en 1930), ce dernier a montré comment formuler une méthode "self-consistent" se servant d'un déterminant de Slater comme fonction d'onde :

$$\Phi_{HF}(1,2, \dots, 2n) = \frac{1}{\sqrt{(2n)!}} \begin{vmatrix} \varphi_1 \alpha_1 & \varphi_1 \beta_1 & & \varphi_n \beta_1 \\ \varphi_1 \alpha_2 & \varphi_1 \beta_2 & & \varphi_n \beta_2 \\ & & & \\ & & & \\ \varphi_1 \alpha_{2n} & \varphi_1 \beta_{2n} & & \varphi_n \beta_{2n} \end{vmatrix} \quad (\text{II.19})$$

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  $\varphi$ .

$$\hat{F}(1) \varphi_i(1) = \varepsilon_i \varphi_i(1) \quad (\text{II.20})$$

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:

$$\hat{F}(1) = \hat{h}(1) + \sum_{j=1}^{n/2} [2\hat{J}_j(1) - \hat{K}_j(1)] \quad (\text{II.21})$$

$h(1)$  est l'opérateur qui prend en compte l'énergie cinétique de l'électron 1 et son interaction avec les noyaux:

$$\hat{h}(1) = \frac{-1}{2} \nabla_1^2 - \sum_{A=1}^N \frac{Z_A}{r_{1A}} \quad (\text{II.22})$$

$Z_A$  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 :

$$\hat{J}_j \varphi_i(1) = \varphi_i(1) \int dr_2 \frac{\varphi_j^*(2)\varphi_j(2)}{r_{12}} \quad (\text{II.23})$$

$$\hat{K}_j \varphi_i(1) = \varphi_j(1) \int dr_2 \frac{\varphi_j^*(2)\varphi_i(2)}{r_{12}} \quad (\text{II.24})$$

Les opérateurs  $\hat{J}_j(1)$  et  $\hat{K}_j(1)$  requièrent la connaissance préalable des spin orbitales. L'énergie d'un système à couche fermée s'écrit comme :

$$E = 2 \sum_{i=1}^{n/2} H_{ii} + \sum_i^{n/2} \sum_j^{n/2} (2J_{ij} - K_{ij}) \quad (\text{II.25})$$

$H_{ii}$  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 et représente l'énergie potentielle de répulsion moyenne exercée par un électron situé dans l'orbitale  $\varphi_j$  sur l'électron i,  $K_{ij}$  est l'intégrale d'échange, provient de la nécessité d'anti symétriser la fonction d'onde. Ce terme est une conséquence directe du principe de Pauli et conduit à une valeur d'énergie plus basse et donc à une stabilisation du système moléculaire.

Les équations de Hartree-Fock sont donc un jeu d'équations intégral-différentielles, elles sont résolues par une méthode itérative (un processus itératif). 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 continuées jusqu'à ce que le champ électrique ressenti par un électron reste stationnaire (convergence). 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 moléculaires.

## Chapitre II Méthodes de caractérisation expérimentales et méthodes de modélisation moléculaire des complexes d'inclusion

Grâce aux travaux de Hall et Roothaan (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 intégrales 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.

$$FC=SC\varepsilon \quad (\text{II.26})$$

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

$$F_{\mu\nu}=\int\phi_{\mu}F\phi_{\nu}d\tau \quad (\text{II.27})$$

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

$$S_{\mu\nu}=\int\phi_{\mu}\phi_{\nu}d\tau \quad (\text{II.28})$$

### II.6.2.2. Les méthodes post Hartree-Fock

L'utilisation de la méthode Hartree-Fock permet de récupérer ~99% de l'énergie ; c'est la limite de Hartree-Fock. Néanmoins, le ~1% restant sont 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 Hartree-Fock est l'énergie de corrélation électronique, définie selon Löwdon (Rivail, 1998) par:

$$E_c = E_{\text{exacte}} - E_{\text{HF}} \quad (\text{II.29})$$

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 perturbative (méthode des perturbations Møller-Plesset aux différents ordres (MP2, MP3, MP4 et MP6 (Møller et Plesset, 1934),
- la méthode d'interaction de configurations (Hehre et al., 1986 ; Cizek, 1966) qui consiste à exprimer la fonction d'onde comme une combinaison linéaire de plusieurs déterminants (déterminant de l'état fondamental plus des déterminants

obtenus en excitant les électrons d'orbitales occupées vers les orbitales virtuelles).

Ces méthodes produisent des meilleurs résultats par rapport aux calculs HF, mais avec un coût de calcul supplémentaire.

### **II.6.3. 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 (Stewart, 1990) qui réduisent de manière importante le nombre des intégrales à calculer, grâce au recours des données tirées de l'expérience. Les erreurs introduites en utilisant des modèles semi empiriques sont compensées alors par l'introduction de paramètres tirés de l'expérience.

De nombreuses méthodes semi-empiriques ont été développées, les plus employées sont : la méthode AM1 (Dewar et *al* 1985), PM3 (Stewart, 1989), MP3MM ; méthode MP3 auquel on a introduit des paramètres de la mécanique moléculaire pour faire une correction et améliorer la description de certaines liaisons, la méthode PM3-PIF (Parametrized Interaction Functions) développée en 2000 par Bernal-Uruchurtu et Ruiz-Lopez (Bernal-Uruchurtu et Ruiz-López, 2000) pour corriger la répulsion cœur-cœur et la méthode PM6 (Liu et Guo, 2004), auquel a été incorporé un nouveau paramétrage cœur-cœur avec un accent sur les composés d'intérêt biologique.

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.

### **II.6.4. 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 car la complexité de la fonction d'onde augmente avec le nombre des variables, cependant la densité est seulement fonction de trois variables. 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 c'est le cas dans les

méthodes *ab initio*. Le but de la DFT est alors de trouver une fonctionnelle permettant de connecter la densité avec l'énergie. La DFT constitue actuellement l'une des approches les plus utilisées dans les calculs quantiques de la structure électronique de la matière. Cette théorie trouve ces origines dans le modèle développé par Thomas et Fermi à la fin de l'année 1920, néanmoins il faudra attendre jusqu'à l'année 1964 lors des contributions de Hohenberg et Kohn (Hohenberg et Kohn, 1964) pour que soit établi le formalisme théorique sur lequel repose la méthode DFT. Ces auteurs ont montré qu'un système, dans son état fondamental, peut être défini uniquement à l'aide 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 densité  $\rho(r)$ , en séparant les termes selon leur dépendance du potentiel externe.

$$E[\rho] = \int \rho(r)V_{ext} dr + T[\rho] + E_{ee}[\rho] \quad (\text{II.30})$$

La partie qui contient de l'énergie cinétique et du potentiel d'interaction électron-électron est appelée la fonctionnelle de Hohenberg-Kohn  $F_{HK}[\rho]$ . Malheureusement, sa forme analytique est complètement inconnue, notamment la fonctionnelle d'énergie cinétique  $T[\rho]$  qui n'est pas connue avec assez de précision. Ces considérations ont été prises en compte en 1965 dans le travail de Kohn et Sham (Kohn et Sham, 1965).

#### II.6.4.1. L'approche Kohn-Sham

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

$$F_{HK}[\rho] = T_{eff}[\rho] + J[\rho] + E_{ncl}[\rho] \quad (\text{II.31})$$

$T_s[\rho(r)]$  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 (la partie de l'énergie cinétique et les effets d'échange et de corrélation). Seule l'expression de  $J[\rho(r)]$  est explicitement connue :

$$J[\rho(r)] = \frac{1}{2} \iint \frac{\rho(r_1)\rho(r_2)}{r_{12}} dr_1 dr_2 \quad (\text{II.32})$$

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

$$E_{xc}[\rho] = T_s[\rho] - T_{eff}[\rho] + V_{ee}[\rho] - J[\rho] \quad (\text{II.33})$$

$$T_s = \frac{-1}{2} \sum_i^N \langle \varphi_i | \nabla^2 | \varphi_i \rangle \quad (\text{II.34})$$

$\varphi_i$  : orbitales de Kohn-Sham

Le lien entre ce système fictif et les systèmes réels que l'on cherche à étudier se fait en choisissant  $V_s(r)$  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.

$$\rho_s(r) = \sum_i^N \sum_{\sigma} |\varphi_i(r, \sigma)|^2 = \rho_o(r) \quad (\text{II.35})$$

On peut donc écrire l'énergie exacte d'un système moléculaire en identifiant les différents termes :

$$\begin{aligned} [\rho] &= T_s[\rho] + \Delta T[\rho] + \int \rho(r_1) v_{ext}(r_1) dr_1 + J[\rho] + (V_{ee}[\rho] - J[\rho]) \\ &= T_s[\rho] + \int v_{ext}(r) \rho(r) dr + J[\rho] + E_{xc}[\rho] \end{aligned} \quad (\text{II.36})$$

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.6.4.2.L'approche LDA (Local Density Approximation)

L'approximation LDA est la plus simple et consiste à considérer la densité comme étant équivalente à celle d'un gaz d'électrons homogène, elle varie donc lentement en fonction de la coordonnée  $r$ . L'approximation locale nous autorise à écrire la fonctionnelle  $E_{XC}$  sous la forme :

$$E_{XC}^{LDA} = \int p(r) \varepsilon_{xc}(\rho(r)) dr = E_X^{LDA} + E_C^{LDA} \quad (\text{II.37})$$

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

#### II.6.4.3.L'approche LSDA (Local Spin Density Approximation)

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.

$$E_{xc}^{LSD}[\rho^\alpha(r), \rho^\beta(r)] = E_x^{LSD}[\rho^\alpha(r), \rho^\beta(r)] + E_c^{LSD}[\rho^\alpha(r), \rho^\beta(r)] \quad (\text{II.38})$$

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

#### II.6.4.4. Les corrections non-locales : Approximation du gradient généralisé (GGA)

Les méthodes dites GGA (Generalized gradient approximation), parfois aussi appelées méthodes non locales semi-locales, ont été développées de manière à prendre en compte cette variation de la densité en exprimant les énergies d'échanges et de corrélation en fonction de la densité et également de son gradient (c'est-à-dire sa dérivée première). De façon générale, l'expression de l'énergie  $E_{xc}^{GGA}$  s'écrit :

$$E_{xc}^{GGA}[\rho^\alpha, \rho^\beta] = \int (\rho_\alpha, \rho_\beta, \nabla\rho_\alpha, \nabla\rho_\beta) dr \quad (\text{II.39})$$

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 de ce dernier siècle, de nouveaux types de fonctionnelles ont été développées de manière à aller au-delà des résultats fournis par des méthodes GGA.

#### II.6.4.5. Les fonctionnelles meta-GGA (Meta Generalised Gradient Approximation)

## Chapitre II Méthodes de caractérisation expérimentales et méthodes de modélisation moléculaire des complexes d'inclusion

Les fonctionnelles meta-GGA font intervenir la dérivée seconde de la densité dans les équations et elles prennent en compte la densité d'énergie cinétique des orbitales Kohn-Sham. Ces fonctionnelles, qui vont au-delà de GGA, ont été suggérées pour surmonter les lacunes des méthodes LDA et GGA. 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).

### II.6.4.6. 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. La fonctionnelle d'échange-corrélation hybride B3LYP représentait ainsi 80 % d'utilisation sur la période 1990-2006 (Lee et al., 1988). Cette fonctionnelle hybride trouve des usages vastes notamment pour l'optimisation des géométries (Zhao et Truhlar, 2008), dont l'expression de l'énergie  $E_{xc}$  est donnée par :

$$E_{XC}^{B3LYP} = a_0 E_X^{LDA} + (1-a_0) E_x^{exact} + a_1 E_x^{B88} + E_C^{LDA} + a_2 (E_C^{LYP} + E_C^{LDA}) \quad (\text{II.40})$$

avec  $a_0 = 0.80$ ,  $a_1 = 0.72$ ,  $a_2 = 0.81$

### II.6.4.7. Les fonctionnelles MH-GGA (Meta Hybrid Generalised Gradient Approximation)

Malgré leur popularité surtout en chimie quantique, les fonctionnelles hybrides ont connu des fois moins de succès dans le traitement de l'état solide en physique. C'est pourquoi, 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.6.4.8. Les fonctionnelles à séparation de portée (long range & Short range)

Les méthodes post Hartree Fock présentent l'avantage de traiter correctement les interactions longue-portée (interactions du type forces de van der Waals, forces de London, etc.). La DFT permet de traiter correctement de la façon la plus précise

les interactions à courte-portée mais elle n'est pas capable de reproduire de manière adaptée les liaisons faibles (Kristyán et Pulay, 1994). Ces deux approches présentent donc des avantages complémentaires. L'idée de rassembler une méthode DFT (pour les interactions courte-portée) et les méthodes Post-HF (pour les interactions longue-portée) a tout d'abord été développée par Savin et Flad (Savin et Flad, 1995) dans le but de développer des fonctionnelles permettant une description parfaite des interactions de faible énergie. L'idée de base est de scinder le terme d'interaction bi-électronique en

$$\begin{aligned}
 V_{ee} &= \frac{1}{r_{ij}} = V_{ee}^{sr} + V_{ee}^{lr} \\
 &= \frac{\xi_{sr}^w}{r_{ij}} + \frac{1-\xi_{sr}^w}{r_{ij}}
 \end{aligned} \tag{II.41}$$

La partie à courte portée ( $\frac{\xi_{sr}^w}{r_{ij}}$ ) est traitée par un calcul DFT de type Kohn-Sham, alors que la partie longue-portée ( $\frac{1-\xi_{sr}^w}{r_{ij}}$ ) est traitée par un calcul Post-HF.

Ces fonctionnelles basées sur cette idée sont appelées fonctionnelles corrigées à longue portée (LRC) pour *long range corrections*. La forme plus générale de ces fonctionnelles, également connue sous le nom de méthode d'atténuation de Coulomb (CAM) dont l'expression est donnée par :

$$\frac{1}{r_{ij}} = \frac{1-\alpha-\beta \cdot \xi_{sr}^w}{r_{ij}} + \frac{\alpha-\beta(1-\xi_{sr}^w)}{r_{ij}} \tag{II.42}$$

Où  $\alpha$  est la fraction de l'échange global de HF et  $\alpha+\beta$  représente la fraction de l'échange de HF à longue portée, avec  $0 \leq \alpha \leq 1$  et  $0 \leq \beta \leq 1$ .

#### II.6.4.9. Les fonctionnelles doubles hybrides (DH)

Une fonctionnelle double hybride comprend une certaine quantité d'échange de HF et de corrélation issue de la théorie des perturbations (PT2) ; donc double hybride. Cette idée a été proposée pour la première fois par Donald Truhlar en 2004 et plus connue, par Stefan Grimme en 2006. L'énergie d'échange-corrélation peut alors s'exprimer par :

$$E_{XC} = a_x E_X^{HF} + (1-a_x) E_x^{DFT} + (1-a_c) E_c^{DFT} + a_c E_c^{PT2} \quad (\text{II.43})$$

Il existe des fonctionnelles doubles hybrides standard et d'autre à séparation de portée dénommées MC-sr-DEPT (multiconfiguration short-range DFT) c'est-à-dire une combinaison entre la méthode Post-HF « MC-SCF » avec une fonctionnelles de courte portée. On rencontre également la méthode MP2-srDFT dont on mit à la place du MCSCF la méthode MP2 ou bien MP2-lrDFT c'est-à-dire une combinaison entre la méthode MP2 et une fonctionnelle de longue portée. Ces fonctionnelles sont très efficace du fait de la réduction du temps de calcul par rapport aux méthodes Post-HF. Le tableau suivant récapitule quelques fonctionnelles avec les taux d'échange de HF correspondants :

**Tableau II.1.** Fonctionnelles les plus utilisées en chimie quantique pour les applications ONL.

Fonctionnelles	Années	Famille	Taux d'échange (HF)	Echange	Corrélation
BHLYP	1993	HGGA	50	B88	LYP
B3LYP	1994	HGGA	20	B88	LYP
PBE	1996	GGA	0	PBE	PBE
VSXC	1998	MGGA	0	VSXC	VSXC
PBEh	1999	HGGA	25	PBE	PBE
TPSSH	2003	MHGGA	10	TPSS	TPSS
B97-3	2005	HGGA	26.93	B97-3	B97-3
M05-2X	2005	MHGGA	56	M05-2X	M05-2X
M06-L	2006	MGGA	0	M06-L	M06-L
M06-HF	2006	MHGGA	100	M06-HF	M06-HF
M06-2X	2007	MHGGA	54	M06-2X	M06-2X
Fonctionnelles Long Range Correction (LRC)					
LC-BLYP	2001	LRC	100	B88	LYP
CAM-B3LYP	2004	LRC	100	CAM-B88	LYP
wPBE	2004	LRC	100	PBE	PBE

wB97XD	2008	LRC	22	B97	B97
Fonctionnelles doubles hybrides (DH)					
B2PLYP		DH	53	B88, MP2	LYP, MP2
mPW2PLYP		DH	55	mPW, MP2	LYP, MP2
PBE0-2		DH	79	PBE, MP2	PBE, MP2

### II.6.5. La théorie de la fonctionnelle de densité dépendante du temps (TD-DFT)

La théorie de la fonctionnelle de la densité dépendante du temps (TD-DFT) est une approche qui décrit les excitations électroniques, elle est basée sur le théorème de Runge-Gross 1984. Ce théorème représente la version dépendante du temps du premier théorème de Hohenberg et Kohn, où Runge et Gross ont établi une relation directe entre la densité électronique dépendante du temps et le potentiel dépendant du temps  $v[\rho(r,t)]$ . Des équations de Kohn-Sham dépendantes du temps ont été alors obtenues, en supposant qu'il existe un système de référence dépendant du temps sans interaction avec un potentiel extérieur  $v_s(r,t)$  dont la densité électronique  $\rho_s(r,t)$  est égale à la densité exacte du système réel avec interaction  $\rho(r,t)$ .

$$\rho(r,t) = \rho_s(r,t) = \sum_{i=1}^n |\phi_i(r,t)|^2 \quad (\text{II.44})$$

Les équations de Kohn-Sham dans le cadre de cette méthode s'écrivent comme suit:

$$\left[ -\frac{\hbar^2}{2m} \nabla^2 + v_s(r,t) \right] \phi_i(r,t) = i \frac{\partial}{\partial t} \phi_i(r,t) \quad (\text{II.45})$$

Cette méthode n'est valable que dans la limite d'une fonctionnelle de la densité exacte. Le calcul des états excités avec la TD-DFT est plus rapide que les méthodes ab initio comme l'interaction de configuration simple excitation (CIS) et la méthode Hartree-Fock dépendant du temps (TDHF) connu également sous le nom d'approximation de phase aléatoire pour « random-phase approximation RPA ».

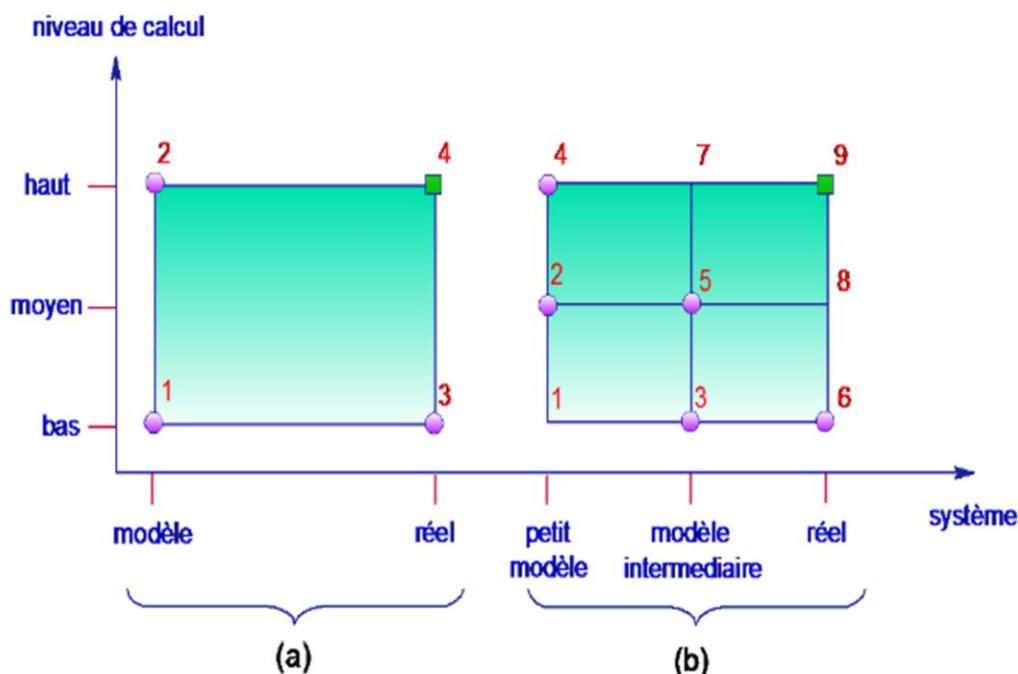
### II.6.6. La méthode ONIOM

La méthode ONIOM (Our-N-layered Integrated Molecular Orbital and Molecular Mechanics) développée par Morokuma et collaborateurs (Svensson et *al.*, 1996., Dapprich et *al.*, 1999 ; Humbel, 1996) est une approche permettant d'effectuer des calculs utilisant plusieurs « couches » (trois au maximum), correspondant aux diverses parties du système, à différents niveaux de théories, que ce soit DFT, ab initio, semi-empirique ou même en mécanique moléculaire. Le principe de base consiste à définir un système modèle nécessitant d'être traité à un haut niveau de théorie d'énergie  $E_{\text{modèle}}$  à l'intérieur du système global (dit système réel). Ce système réel est traité au bas niveau de théorie, d'énergie  $E_{\text{réel}}$ , tandis que le système modèle est traité à la fois au haut niveau ( $E_{\text{modèle}}^{\text{HN}}$ ) et au bas niveau ( $E_{\text{modèle}}^{\text{BN}}$ ) de théorie. La correction due au reste du système sur le système modèle est alors estimée par la différence d'énergie entre le système réel au BN et le système modèle au BN ( $E_{\text{réel}}^{\text{BN}} - E_{\text{modèle}}^{\text{BN}}$ ). L'énergie totale  $E(\text{ONIOM})$  du système réel est alors définie par:

$$E(\text{ONIOM}) = E_{\text{modèle}}(\text{haut niveau}) + E_{\text{réel}}(\text{bas niveau}) - E_{\text{modèle}}(\text{bas niveau}) \quad (\text{II.46})$$

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 combinant les deux approches (QM/QM/MM ou QM/QM:MM) (Figure II.13).

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 réel 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 BN est proche de la méthode HN. Le deuxième cas est lorsque la taille du système modèle approche celle du système réel.



**Figure II.13.** Représentation schématique de la méthode ONIOM à deux et trois couches. (a) :  $E(\text{ONIOM2}) = E_3 - E_1 + E_2$ ; (b)  $E(\text{ONIOM3}) = E_6 - E_3 + E_5 - E_1 + E_4$ .

Le choix du découpage entre partie haute et partie basse et des niveaux de théories est alors un point essentiel. Le but étant que le temps nécessaire pour effectuer les calculs ONIOM soit 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, limitant ainsi les effets de taille, mais tout en contrôlant le temps de calcul.

### II.6.6.1. L'amarrage (Docking) moléculaire

Dans le domaine de la modélisation moléculaire, l'amarrage est une méthode qui prédit l'orientation préférée d'une molécule à une seconde lorsqu'un ligand et une cible sont liés l'un à l'autre pour former un complexe stable. Au cours de ces dernières décennies, 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 en utilisant des fonctions de score (Meng *et al.*, 2011 ; Huang et Zou, 2010) et présente l'avantage d'estimer rapidement et sans trop d'approximation.

L'amarrage moléculaire est l'une des méthodes les plus fréquemment utilisées dans la conception de médicaments basée sur la structure, en raison de sa capacité à prédire la

conformation de liaison des ligands de petites molécules au site de liaison cible approprié (Kitchen *et al*, 2004; Mostashari-Rad *et al*, 2019 ).

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.

Pour effectuer un calcul de docking moléculaire, la première exigence est une structure de la molécule réceptrice d'intérêt. Habituellement, cette structure est déterminée à l'aide d'une technique biophysique telle que la cristallographie aux rayons X, la spectroscopie RMN ou la cryomicroscopie électronique (cryo-EM). Plusieurs types des programmes de docking existent. Cette variété est due essentiellement aux différents algorithmes utilisés et à la nature des systèmes étudiés. Le succès d'un programme d'amarrage dépend de deux composants : l'algorithme de recherche et la fonction de score. Les programmes d'amarrage génèrent un grand nombre de poses potentielles de ligands, dont certaines peuvent être immédiatement rejetées en raison de conflits avec le récepteur. Le reste est évalué à l'aide d'une fonction de score, qui prend une pose en entrée et renvoie un nombre de poses indiquant la probabilité que la pose considérée représente une interaction de liaison favorable. La plupart des fonctions de notation sont des champs de force de mécanique moléculaire basés sur la physique qui estiment l'énergie de la pose dans le site de liaison. Les différentes contributions à la liaison peuvent s'écrire sous la forme d'une équation additive (Murcko, 1995) :

$$\Delta G_{bind} = \Delta G_{solvant} + \Delta G_{conf} + \Delta G_{int} + \Delta G_{rot} + \Delta G_{t/t} + \Delta G_{vibr} \quad (\text{II. 47})$$

Où les composants consistent en des effets de solvant, des changements conformationnels de la molécule réceptrice et du ligand, de l'énergie libre due aux interactions protéine-ligand, des rotations internes, de l'énergie d'association du ligand et du récepteur pour former un seul complexe et de l'énergie libre due aux changements dans les modes vibrationnels. Une énergie faible (négative) indique un système stable et donc une interaction de liaison probable.

Le tableau II.2 rassemble quelques programmes de docking moléculaires.

Le programme Autodock, qui est utilisé dans nos calculs, est un ensemble de sous-programmes destinés à simuler un docking flexible-rigide et permet d'effectuer la recherche des différentes configurations du ligand.

**Tableau II.2.** Liste de certains programmes de docking moléculaire (site web).

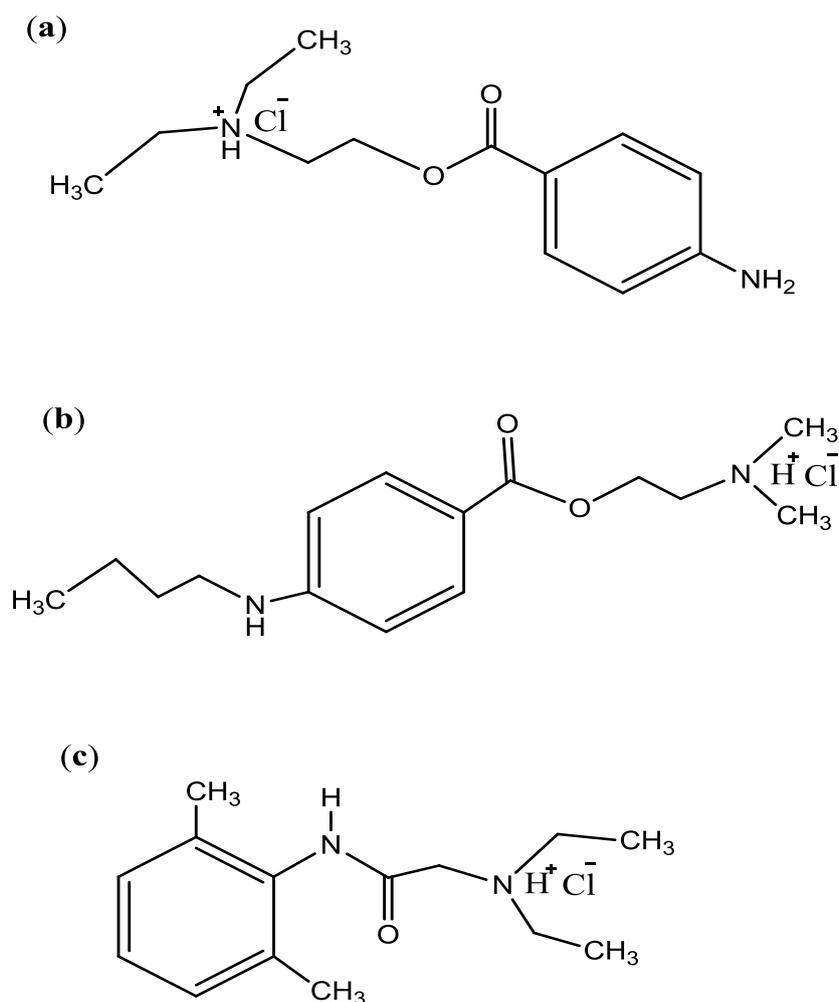
<b>Programme</b>	<b>Année de Publication</b>	<b>Organisation</b>	<b>Description</b>
FlexX	2001	BioSolveIT	basé sur la construction incrémentielle
FDS	2003	Université de Sud ampton	Docking flexible pour le ligand et le récepteur avec le modèle de solvation PCM et fonction d'énergie 'soft-core'
Molecular 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	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	Docking par utilisation de la technique des carrés Latins mutuellement orthogonaux

# **Chapitre III**

## **Caractérisation expérimentale des complexes d'inclusion**

## III.1. Introduction

Afin d'expliquer les différents déplacements des bandes d'absorption et d'émission observées sur les spectres d'absorption UV-Visible et de fluorescence lors de la formation des complexes d'inclusion « cyclodextrine-anesthésique local », nous avons jugé utile de procéder à l'étude de l'effet du solvant sur les molécules invitées lorsque la polarité du milieu évolue. Cette approche veut imiter l'environnement que la molécule invitée subie lorsqu'elle va évoluer d'un milieu polaire vers un milieu apolaire dans la cavité de la cyclodextrine. Donc la première section de cette partie expérimentale vise à étudier l'effet de l'environnement sur les propriétés spectrales UV-Vis et de fluorescence des trois anesthésiques locaux hydrochlorate de procaine (ProcHCl), hydrochlorate de tetracaine (TetracHCl) et hydrochlorate de lidocaïne (LidoHCl) (Figure III.1).



**Figure III.1.** (a) Structures de (ProcHCl), (b) (TetracHCl), (c) (LidoHCl)

## Chapitre III      Caractérisation expérimentale des complexes d'inclusion

Les observations recueillies vont être utilisées pour décrire la réaction de complexation de ces dernières avec la  $\beta$ -CD en solution aqueuse. Dans une seconde étape, nous allons appliquer la polarimétrie pour mettre en évidence le phénomène de complexation et estimer les constantes d'association en les comparant à ceux obtenus à partir des mesures de la spectrophotométrie UV-Visible. Cette technique est simple et fiable et peu exigeante en termes de temps et de matériaux et permet l'évaluation des constantes d'équilibre quand la variation de la rotation du plan de la lumière polarisée est détectable. Pour certaines techniques qu'on verra, les mêmes expériences de complexation avec la CD ont été menées avec du D-glucose en tant que système modèle. Avec le D-glucose nous cherchons à imiter l'environnement chimique autour de la molécule invitée si comme elle était en présence de la CD, mais sans la structure cyclique comme vue chez les CDs. En dernier, nous allons nous concentrer sur la complexation de la lidocaïne hydrochloride par des mesures de RMN liquide. Cette technique a été sollicitée car comme on va le voir les résultats des techniques citées en haut n'arrivent pas à donner une caractérisation satisfaisante avec ce dernier système.

### III.2. Etude de l'effet de l'environnement chimique sur les propriétés spectrales

#### ➤ Produits Chimiques et préparation de solutions

La Procaine hydrochlorate de pureté  $\geq 97\%$ , la Tetracaïne hydrochlorate  $\geq 97\%$ , la Licadoïne hydrochlorate  $\geq 97\%$ , la bêta-cyclodextrine ( $\beta$ -CD)  $\geq 97\%$ , l'hydroxypropyl bêta cyclodextrine (HP- $\beta$ -CD) de substitution molaire 0.6, l'éthanol, le diméthylesulfoxyde (DMSO), le 1,4-Dioxane ont tous été achetés auprès de Sigma-Aldrich et utilisés sans aucun autre traitement. Toutes les solutions ont été fraîchement préparées avec de l'eau déminéralisée de conductivité inférieure à  $2 \mu\text{S}/\text{cm}$ . Des mélanges de solvants de différentes proportions ont été préparés (éthanol-eau, DMSO-eau et 1,4-dioxane-eau) dont les constants diélectriques et les moments dipolaires sont reportés sur le tableau III.1 ainsi que celles pour l'eau pure,

### Chapitre III Caractérisation expérimentale des complexes d'inclusion

**Tableau III. 1 :** Solvants et quelques caractéristiques de polarité (Wypych, 2001)

Solvant	Constant diélectrique $\epsilon$ à 25 °C	$\mu$ (Debye)
Eau	80	1.78
Ethanol	25	1.69
DMSO	36.71	4.05
1,4-Dioxane	2.21	0.45
Eau / 1,4-Dioxane 90/10	72.221	1.64
Eau / 1,4-Dioxane 80/20	64.441	1.515
Eau / 1,4-Dioxane 70/30	56.663	1.381
Eau / 1,4-Dioxane 50/50	41.105	1.115
Eau / ethanol 90/10	74.5	1.77
Eau / ethanol 80/20	69	1.744
Eau / ethanol 70/30	63.5	1.7266
Eau / ethanol 50/50	52.5	1.691
Eau / DMSO 90/10	75.671	2.07
Eau / DMSO 80/20	71.342	2.234
Eau / DMSO 70/30	67.013	2.461
Eau / DMSO 50/50	58.355	2.915

## Chapitre III      Caractérisation expérimentale des complexes d'inclusion

### Appareillages

#### ➤ Mesures UV-Visible

Les mesures de l'absorbance ont été effectuées avec un spectrophotomètre à double faisceau de type (Jena Analytics-Specord 200). Les spectres ont été enregistrés pour des longueurs d'onde allant de 190 à 600 nm avec un pas de 1 nm et à une température constante  $T=25^{\circ}\text{C}$ . Les solutions étudiées ont été placées dans une cellule en quartz d'une longueur de trajet optique de 1 cm. Pour l'étude de l'effet de solvant, les concentrations des solutions en anesthésiques locaux ont été choisies de manière à éviter la saturation du signal et en se plaçant au-dessous de la concentration micellaire critique (TetrachCl et ProcHCl à  $5.10^{-5}$  M et la LidoHCl à  $5.10^{-4}$  M).

#### ➤ Mesures de la fluorescence

Les mesures ont été effectuées avec un spectrofluoromètre Shimadzu RF-6000 à  $25^{\circ}\text{C}$ . La longueur d'onde d'excitation choisie est  $\lambda_{\text{ex}} = 310, 320$  et  $300$  nm pour ProcHCl, TetrachCl et LidoHCl respectivement. Les spectres d'émission ont été enregistrés pour des longueurs d'onde allant de 320 à 550 nm avec un pas de 1 nm.

### III.2.1. Résultats UV-Visible

Les spectres UV-Visible des différents anesthésiques locaux (ProcHCl, TetrachCl et LidoHCl) dissous au sein des binaires (eau/éthanol, eau/DMSO, eau/ 1,4-Dioxane), avec les proportions volumiques différentes (90:10, 80:20, 70:30 et 50:50 v/v) sont visibles sur la figure III.4.a.1 jusqu'à la figure III.4.c.2. Les déplacements spectraux UV-visible (absorbance et longueur d'onde maximale) des anesthésiques sont représentés dans le tableau III.2. Pour s'approcher de l'environnement des cyclodextrines qui sont hydrophiles au niveau des deux ouvertures externes en raison des fragments hydroxyles et hydrophobes à l'intérieur de la cavité avec une certaine polarité, différents solvants ont été testés. Ainsi, certains solvants étudiés sont composés de groupements polaires aprotiques comme pour le DMSO ou protique polaire comme c'est le cas de l'éthanol et de l'eau et de groupements aprotiques non polaires comme pour le 1,4-Dioxane. La variation des volumes nous permet de moduler l'effet de leurs propriétés par rapport à l'eau pure qui constitue le solvant de référence.

## Chapitre III Caractérisation expérimentale des complexes d'inclusion

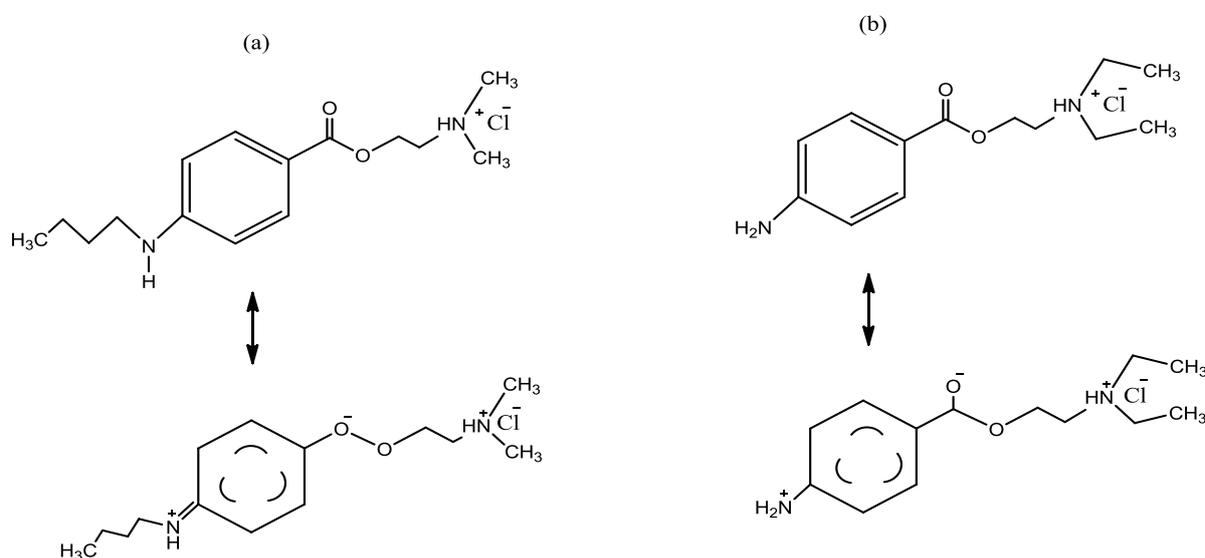
**Tableau III.2 :** Effet de solvant sur l'absorbance et la longueur d'onde maximale

			Eau / 1,4-Dioxane (v/v)	Eau/Ethanol (v/v)	Eau/DMSO (v/v)	
TetracHCl	(100 :00)	A	0.9743	0.9743	0.9743	
		$\lambda$ (nm)	312	312	312	
	(90 :10)	A	1.232	1.2474	0.8924	
		$\lambda$ (nm)	314	313	313	
	(80 :20)	A	1.6286	1.4585	0.7655	
		$\lambda$ (nm)	314	315	315	
	(70 :30)	A	1.7347	1.53	0.711	
		$\lambda$ (nm	317	315	315	
	(50 :50)	A	1.7821	1.5305	0.67	
		$\lambda$ (nm)	317	315	318	
	ProcHCl	(100 :00)	A	0,8569	0,8569	0,8569
			$\lambda$ (nm)	291	291	291
(90 :10)		A	0,8935	0,8920	0,9639	
		$\lambda$ (nm)	293	293	292	
(80 :20)		A	0,9855	0,9298	0,947	
		$\lambda$ (nm)	295	294	296	
(70 :30)		A	0,9976	0,9706	0,9641	
		$\lambda$ (nm	296	295	298	
(50 :50)		A	1,2078	0,9985	0,9452	
		$\lambda$ (nm)	300	297	300	
(100 :00)		A	0.13	0.13	0.13	
		$\lambda$ (nm)	264	264	264	
LidoHCl	(90 :10)	A	0.14	0.14	0.14	
		$\lambda$ (nm)	264	265	265	
	(80 :20)	A	0.3	/	0.17	
		$\lambda$ (nm)	265	/	264	
	(70 :30)	A	0.51	/	0.3	
		$\lambda$ (nm	265	/	265	
	(50 :50)	A	/	/	/	
		$\lambda$ (nm)	/	/	/	

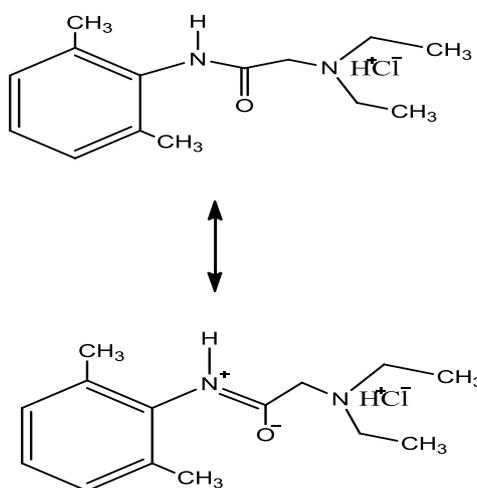
## Chapitre III Caractérisation expérimentale des complexes d'inclusion

Avant d'entreprendre la discussion des résultats, il est utile de dresser certaines remarques générales utiles concernant les structures chimiques des molécules invitées et la relation entre les états de transitions et la polarité du milieu d'un point de vue de la mécanique quantique.

La procHCl et la tetrac HCl, contenant des doubles liaisons conjuguées, portent deux substituants qui sont : d'un côté un donneur d'électrons et de l'autre côté un accepteur d'électrons, ce qui permet une structure de résonance dipolaire selon la figure III.2 suivante, cependant, la molécule de lidoHCl possède une structure limite de résonance conforme à la figure III.3.



**Figure III.2 :** Structure de résonance polaire de la procaine HCl (a) et de la tétracaïne HCl(b)



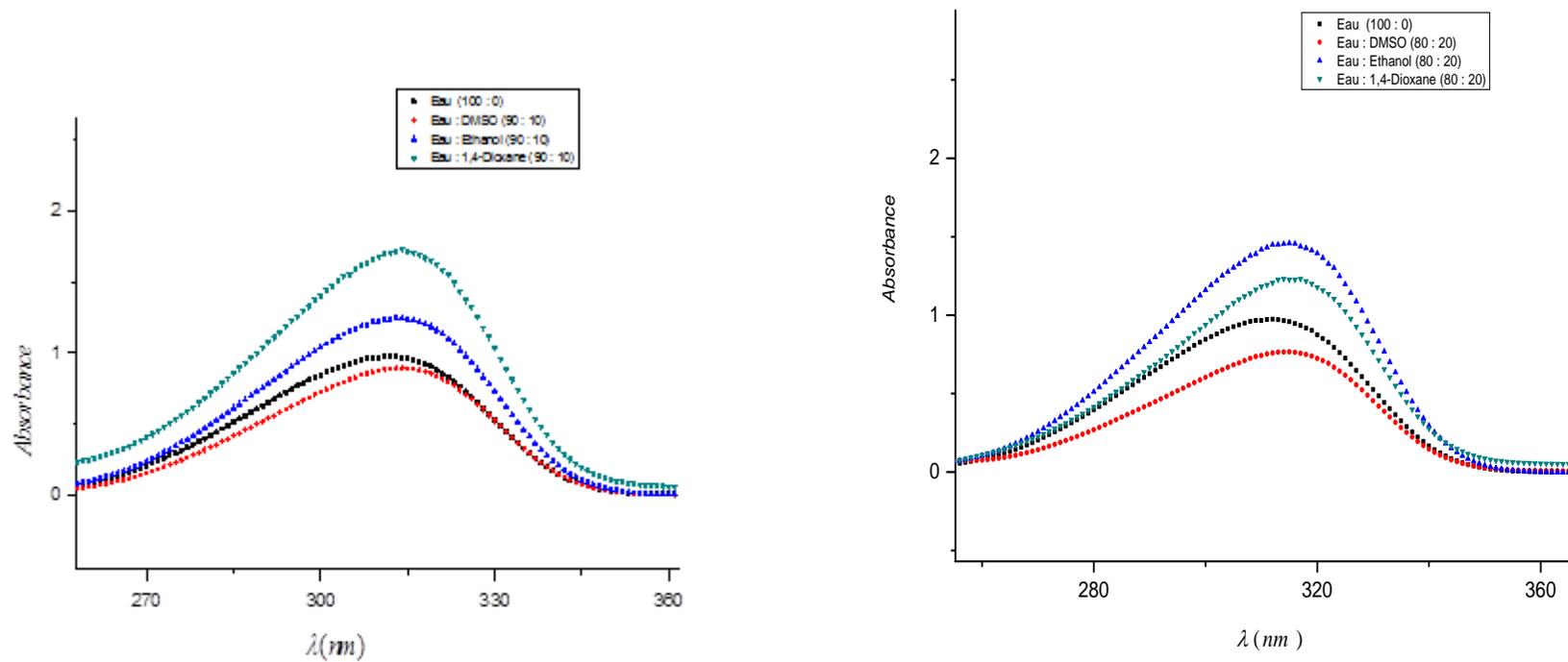
**Figure III.3 :** Structure de résonance polaire de la lidocaïne HCl

## Chapitre III      Caractérisation expérimentale des complexes d'inclusion

La mécanique ondulatoire montre que, pour des raisons énergétiques, la structure polaire de la résonance est plus prononcée à l'état excité qu'à l'état fondamental. Le moment dipolaire est plus important à l'état excité qu'à l'état fondamental. Une constante diélectrique élevée du solvant favorise la formation d'un grand moment dipolaire. Cela signifie que l'énergie de l'interaction mutuelle est augmentée. Il en résulte une diminution l'énergie de l'état excité, et par conséquent, un décalage de la bande de fluorescence vers le maximum par exemple.

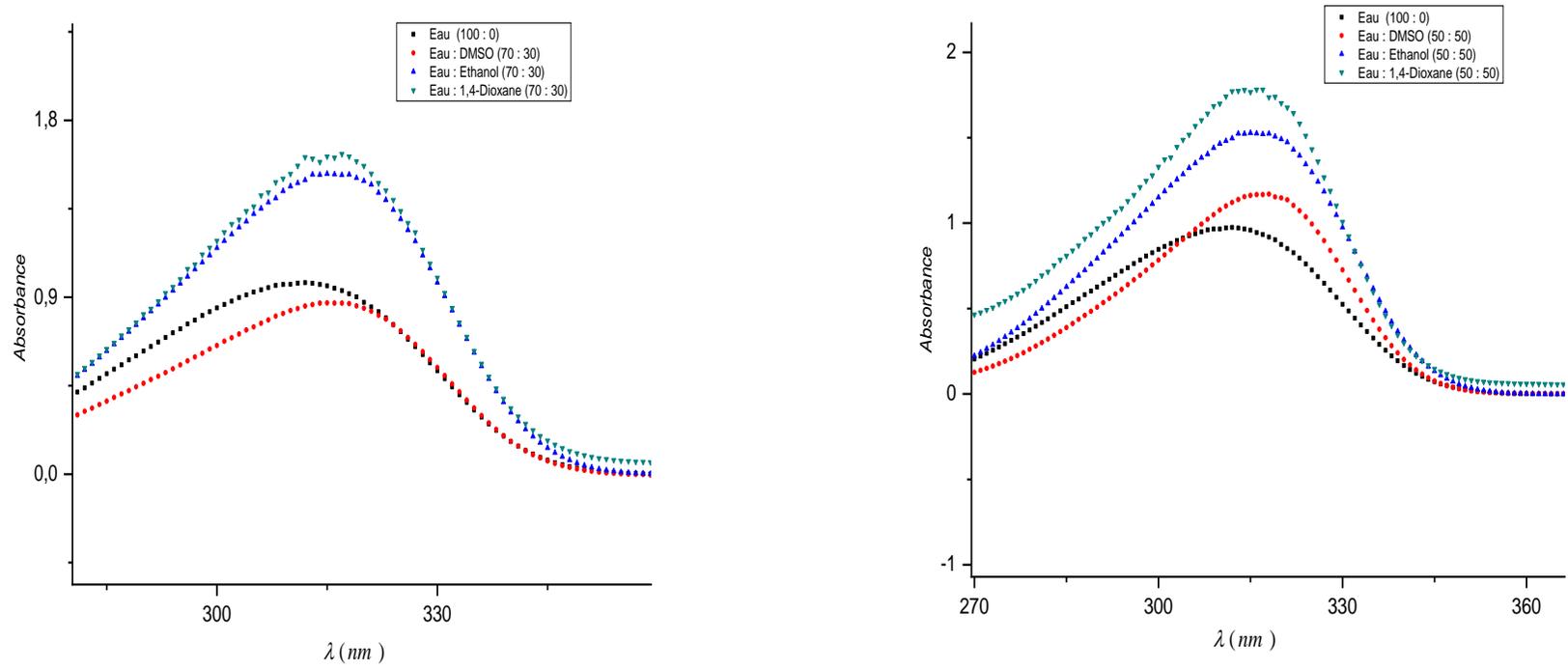
### ➤ *Spectres UV de la tetrac HCl et effet de solvant*

A partir des figures III.4 (a, b, c) et les résultats reportés sur le tableau III.2 on peut vérifier qu'il existe une relation linéaire de la longueur d'onde maximale en fonction de la polarité du solvant. Si la polarité du solvant diminue,  $\lambda_{\max}$  augmente. Il est probable que les dipôles associés aux molécules de solvant ont tendance à s'associer aux électrons non liants des groupes ester et amine, il semble probable que l'interaction des solvants provoquerait un décalage vers des longueurs d'onde plus courtes en nécessitant une plus grande quantité d'énergie pour les exciter en partie. Le degré de liaison aux molécules de solvant serait proportionnel à la longueur des dipôles de solvant, qui est liée à la valeur de la constante diélectrique. Par conséquent, à mesure que la constante diélectrique augmente, dans ce cas, on s'attendrait à ce que la bande d'absorption principale se déplace vers des longueurs d'onde plus courtes.

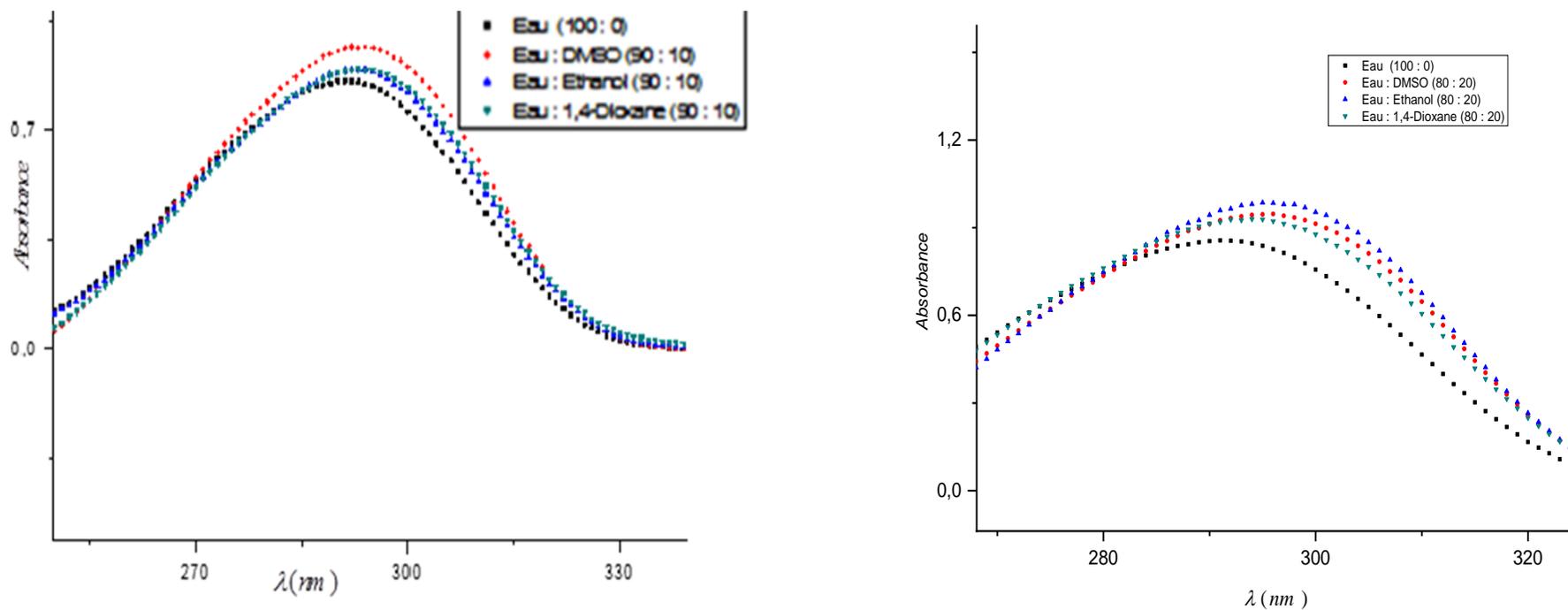


**Figure III.4.a.1:** Spectres UV-vis de solutions aqueuses de tetrac HCl à différents pourcentages de solvants, à 25 °C: (90: 10), (80: 20).

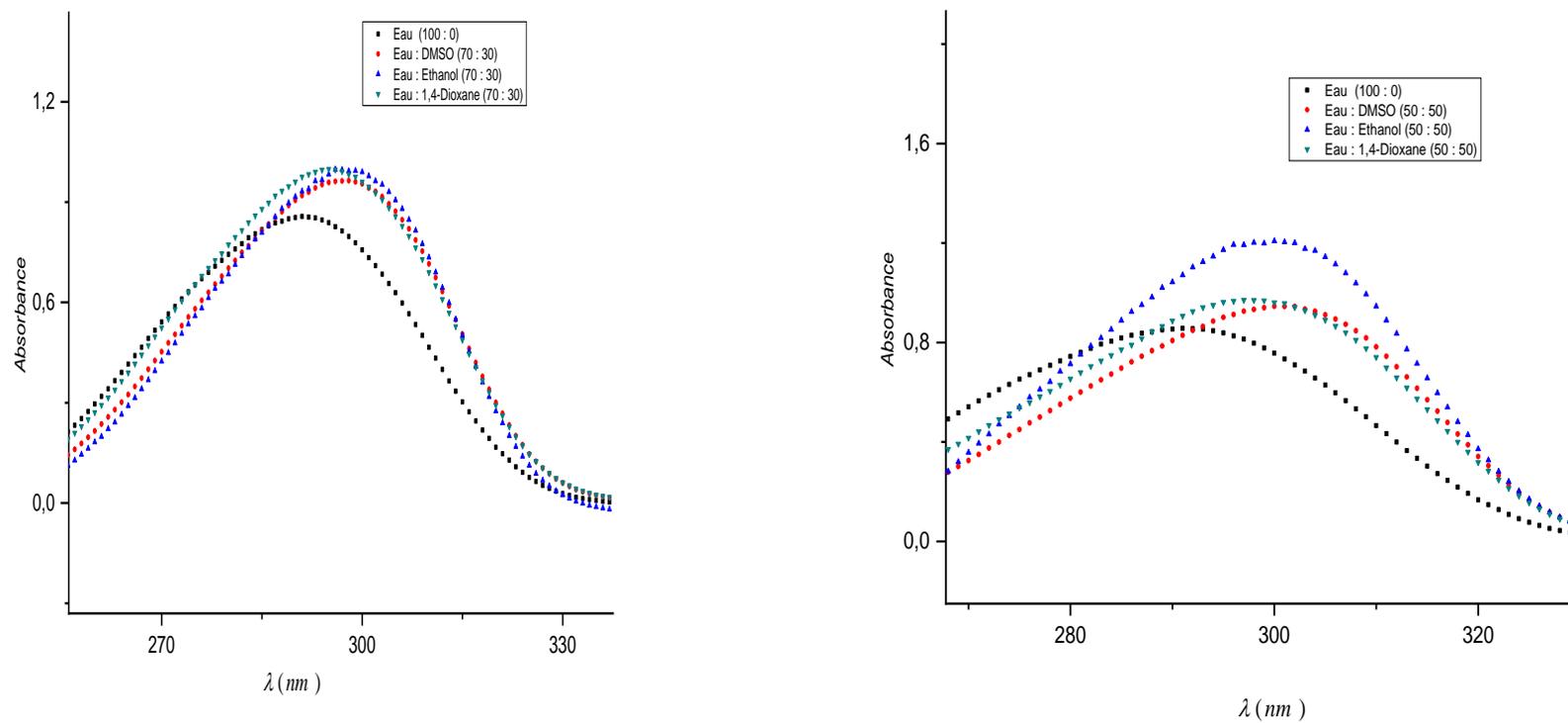
### Chapitre III Caractérisation expérimentale des complexes d'inclusion



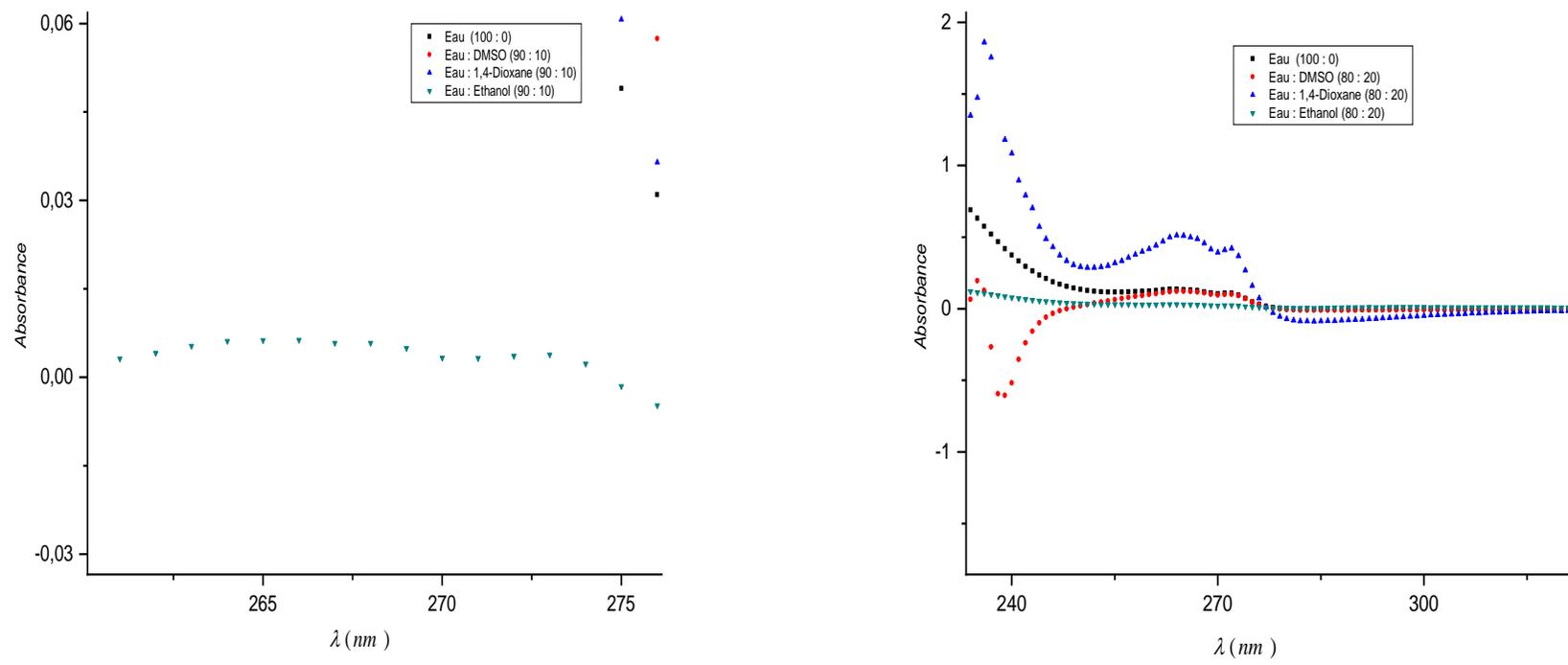
**Figure III.4.a.2:** Spectres UV-vis de solutions aqueuses de tetrac HCl à différents pourcentages de solvants, à 25 ° C: (70: 30), (50: 50).



**Figure III.4.b.1:** Spectres UV-vis de solutions aqueuses de procHCl à différents pourcentages de solvants, à 25°C : (90 : 10), (80 : 20)



**Figure III.4.b.2:** Spectres UV-vis de solutions aqueuses de procHCl à différents pourcentages de solvants, à 25°C : (70 : 30), (50 : 50)



**Figure III.4.c.1:** Spectres UV-vis de solutions aqueuses de lidoHCl à différents pourcentages de solvants, à 25°C : (90 : 10), (80 : 20)

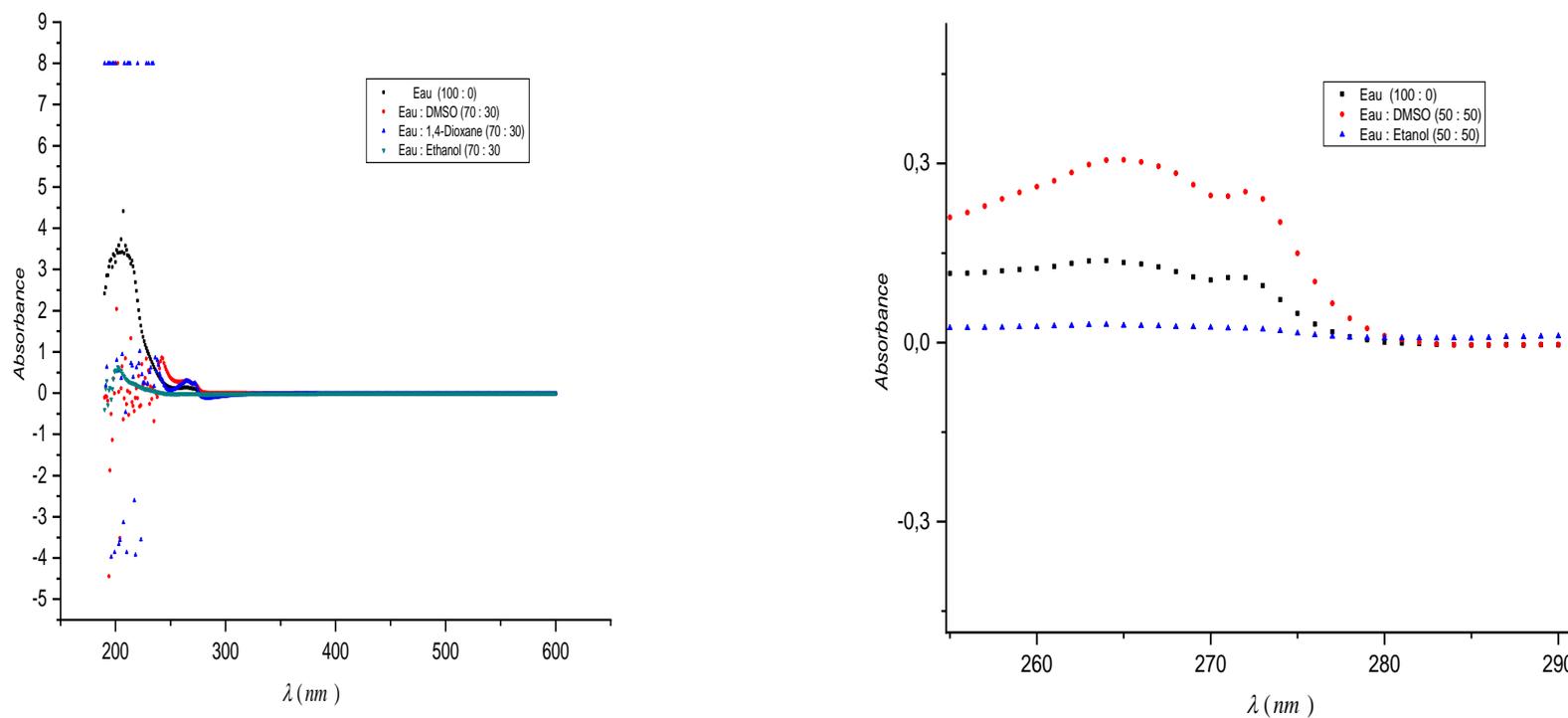


Figure III.4.c.2: Spectres UV-vis de solutions aqueuses de lidoHCl à différents pourcentages de solvants, à 25°C:(70 : 30),(50 : 50)

## Chapitre III      Caractérisation expérimentale des complexes d'inclusion

### ➤ *Spectres UV de la proc HCl, et effet de solvant*

Les spectres d'absorption de la procaine dans les milieux binaires de 1,4-dioxane:eau de fractions volumétriques variables (Vdiox:Veau) sont présentés sur la figure III.5 (a et b). En commençant avec de l'eau pure, puis en augmentant la teneur en 1,4-dioxane, comme on peut le voir, le pic d'absorption à la longueur d'onde maximale à 320 nm commence à s'estomper, avec un point isobestique à  $\lambda=290$  nm dans tous les mélanges binaires rapportés. Ces changements importants dans le comportement spectral de la procaine sont révélateurs de la dépendance de son comportement moléculaire non seulement sur le type de support, mais aussi sur les compositions de son microenvironnement moléculaire tout au long de l'interaction soluté-solvant. Il est important de mentionner que la non-linéarité des propriétés physicochimiques des mélanges binaires 1,4-dioxane : eau a été rapportée par Takamuku et al (Takamuku *et al.*, 2003). Ils ont signalé trois sous-systèmes microscopiques en ce qui concerne la fraction molaire du 1,4-dioxane ( $x_{diox}$ ). Pour les solutions de compositions de  $x_{diox} \leq 0,1$ ,  $x_{diox} \geq 0,3$  et  $0,1 \leq x_{diox} \leq 0,3$ , trois sous-systèmes ont été distingués à savoir, le réseau de liaisons hydrogène eau, le réseau de liaisons hydrogène 1,4-dioxane : eau dominé par le 1,4-dioxane et les groupes binaires 1,4-dioxane : eau, respectivement. Par conséquent, la corrélation non linéaire entre le comportement spectral de la procaine et la composition des mélanges binaires 1,4-dioxane : eau est en bonne correspondance avec ces microsystèmes et en bon accord avec des résultats précédemment rapportés concernant les propriétés des mélanges binaires 1,4-dioxane:eau. Le passage de l'eau à un rapport dioxane:eau de 50:50 devrait donc réduire les liaisons hydrogène et provoquer un déplacement bathochrome.

En plus du décalage bathochrome du pic de monomère de procaine, l'ajout d'une quantité élevée de 1,4-dioxane à l'eau a également conduit à la présence d'un pic de procaine, décalé vers l'avant par rapport au pic de procaine dans l'eau pure à 291 nm, indiquant le changement remarquable du spectre d'absorption, qui est considéré comme une empreinte importante pour la caractérisation spectrale. Plusieurs influences physico-chimiques ont contribué de manière significative à cette évolution, notamment les interactions apolaire-apolaire de type Van der Waals du 1,4-dioxane avec le noyau benzylique de la molécule de procaine, les liaisons intermoléculaires hydrogène-eau

### Chapitre III Caractérisation expérimentale des complexes d'inclusion

avec les deux groupes carbonyle et l'amine, et les interactions des 'n' électrons. Il n'est donc pas anodin d'évaluer la contribution individuelle de ces différentes interactions.

Concernant l'effet du mélange binaire DMSO + eau sur la procHCl, une augmentation de l'absorbance est observée mais elle n'est pas assez significative ; ceci est signalé lorsque la quantité de DMSO est appréciable; cela est dû à la forte liaison hydrogène qui se produit entre l'oxygène lié à l'atome d'azote de -NH<sub>2</sub>. Il semble que la force d'attraction de l'oxygène renforce la force de cette liaison hydrogène qui augmente l'absorbance. De plus, le décalage bathochromique est observé. En raison de la relocalisation accrue de la procaine, il réduit la déviation HOMO-LUMO et a également un décalage vers des valeurs de longueur d'onde plus élevées.

Concernant l'effet du mélange binaire DMSO + eau sur le tétra.HCl, un effet hypochrome est observé lorsque la quantité de solvant DMSO est augmentée; cela résulte du fait que le solvant est plus polaire que l'eau et que la tétraHCl possède un groupement hydrophobe (la chaîne et le cycle benzylique). Ainsi, le resserrement des interactions polaires non polaires est défavorable, ce qui diminue l'intensité des pics d'absorption. L'effet bathochrome résulte de la formation d'une liaison hydrogène entre le solvant DMSO et l'atome d'hydrogène de -NH<sub>2</sub>. Cet effet n'est pas significatif par rapport à celui de la procaine. Un point isobestique est observé qui signifie une auto-association de DMSO à partir de 50 :50.

#### ➤ *Spectre UV de lido HCl et effet solvant*

En solution aqueuse, le spectre d'absorption électronique de la lido HCl montre un maximum à environ 264 nm avec un coefficient d'extinction molaire log<sub>e</sub> d'environ 3,39. Une concentration constante de lidoHCl de 5.10<sup>-4</sup> M a été enregistrée pour les spectres UV-Vis de lidoHCl dans des solutions aqueuses de DMSO à différents rapports DMSO/eau. La figure 2c montre qu'une augmentation de la teneur en DMSO dans les mélanges DMSO/eau a entraîné une augmentation de l'absorption. Ce résultat peut être expliqué sur la base d'une interaction directe entre le groupe NH<sub>2</sub> de la lidoHCl et le groupe S=O du DMSO via une liaison hydrogène. Du fait de cette interaction, la conjugaison électronique sur l'HCl de la lidocaïne est favorisée et, par conséquent, une augmentation d'intensité a lieu. De plus, un petit décalage bathochrome dans la bande a

## Chapitre III      Caractérisation expérimentale des complexes d'inclusion

été observé. Par conséquent, la conjugaison augmente à mesure que la différence d'énergie entre HOMO et LUMO diminue.

### ➤ *Résultats de Fluorescence*

Une molécule excitée a une durée de vie d'environ  $10^{-9}$  secondes avant l'émission de fluorescence (Lippert, 1954). Une telle durée de vie est d'un ordre de grandeur plus longue que le temps de relaxation des liquides polaires. La polarisation d'orientation du solvant peut donc se manifester pleinement. Il résume de manière concrète les résultats obtenus pour les médicaments étudiés. Pour déterminer la polarité du microenvironnement autour de TetracHCl, ProcHCl et LidoHCl, les spectres de fluorescence des molécules médicamenteuses ci-dessus ont été étudiés dans différents solvants de différentes polarités et capacités de liaison hydrogène à température ambiante (298 K). Les spectres de fluorescence de TetracHCl, ProcHCl et LidoHCl dans divers solvants sont caractérisés par des bandes structurées. Les maxima spectraux de TetracHCl, ProcHCl et LidoHCl dans différents solvants sont compilés dans le tableau III.3.

Le tableau III.3 résume les résultats de l'effet du solvant de l'eau pure et d'un mélange binaire des solvants (eau/éthanol, eau/DMSO, eau/1,4-Dioxane), avec différentes proportions volumiques (90 : 10, 80 : 20, 70 : 30 et 50 : 50), sur les déplacements spectraux de fluorescence des anesthésiques locaux : ProcHCl, TetracHCl et LidoHCl. Les deux médicaments examinés (proc HCl et Tetrac HCl) de même nature chimique (ester aminé) présentent une fluorescence toujours au sommet. Le décalage de bande de fluorescence est un effet de l'orientation statistique et n'est pas dû à la formation d'un complexe entre une molécule de médicament et une molécule de solvant. Ceci est dû au comportement de la fluorescence dans les mélanges de solvants : dans tous les mélanges de solvants étudiés jusqu'à présent, la bande de fluorescence subit un déplacement continu en fonction du rapport de concentration des deux solvants.

Tableau III. 3 : Résultats des mesures de fluorescence

			Eau / 1,4Dioxane (v/v)	Eau/Ethanol (v/v)	Eau/DMSO (v/v)	
Tetrac HCl	(100 :00)	I	28975.5	28975.5	28975.5	
		λ(nm)	367.3	367.3	367.3	
	(90 :10)	I	54500	33900	41910.4	
		λ(nm)	366.6	367.8	368.4	
	(80 :20)	I	6120	6999	7100	
		λ(nm)	366	366	365	
	(70 :30)	I	64922	77370	82361	
		λ (nm)	365.7	365.2	263.1	
	(50 :50)	I	111143	179439	23460	
		λ(nm)	362.7	362.6	366	
	Proc HCl	(100 :00)	I	14103	14103	14103
			λ(nm)	353	353	353
(90 :10)		I	23000	31365	25000	
		λ(nm)	353	345	353	
(80 :20)		I	37100	33830	40000	
		λ(nm)	352	352	352	
(70 :30)		I	75850	14103	59900	
		λ (nm)	350	353	351	
(50 :50)		I	99560	99560	158901	
		λ(nm)	349	349	349	
Lido HCl		(100 :00)	I	1259	1259	1259
			λ(nm)	333.6	333.6	333.6
	(90 :10)	I	1626	2140	1802	
		λ(nm)	333	332	333	
	(80 :20)	I	2255	3467		
		λ(nm)	333	333		
	(70 :30)	I	3242	5272	5434	
		λ (nm)	333	332	333	
	(50 :50)	I	/	31310	8105	
		λ(nm)	/	330	333	

La bande reste fine. Il n'y a pas de bandes partielles dont l'intensité augmente et diminue, et il n'y a pas de point « isosbestique ». En partant d'une solution pure, et en ajoutant progressivement le solvant éthanol, à un rapport de concentration de 50:50, la bande de fluorescence de l'alcool pur est déjà pratiquement atteinte. Les molécules d'alcool ne

### Chapitre III      Caractérisation expérimentale des complexes d'inclusion

sont donc pas uniformément réparties dans le mélange. Ils se concentrent autour des molécules médicamenteuses et forment des « essais » ou « cages ».

Cela conduit à supposer que la chute brutale de l'état d'énergie excitée doit être attribuée principalement aux forces d'échange dipôle-dipôle, c'est-à-dire à la « polarisation d'orientation » du solvant. Le fort décalage vers le haut de la fluorescence dans les solvants polaires éthanol et DMSO n'est donc pas dû à la formation d'associations moléculaires entre le solvant et le médicament via des liaisons hydrogène ou similaires. Bien sûr, de telles liaisons peuvent exister, mais elles devraient plutôt se manifester par le déplacement normal vers le haut du maximum d'absorption.

L'abaissement du niveau d'excitation observé dans l'eau : le mélange 1,4-Dioxane résulte du couplage entre les niveaux électroniques et les vibrations de la molécule et correspond au décalage normal entre fluorescence et absorption UV, selon la règle de Stokes.

En passant aux mélanges de solvants polaires, la fréquence d'absorption est réduite, et cette diminution est le résultat d'un abaissement du niveau d'excitation, mais cet abaissement est plus important pour la fréquence de fluorescence du fait de l'intervention de la polarisation d'orientation. Pour le spectre d'émission de la fluorescence de la proc HCl, l'intensité maximale du spectre d'émission augmente avec la quantité croissante de DMSO, indiquant qu'une interaction s'est produite entre le solvant aprotique polaire DMSO et la molécule de procHCl. Un décalage hypsochromique est probablement dû à une interaction défavorable entre le solvant polaire et le cycle benzylique de la procHCl. Le spectre d'émission de fluorescence de la tetrac HCl en présence de solvant aprotique polaire DMSO augmente toujours l'intensité des pics d'émission, sauf dans les cas où il y a auto-association de l'espèce.

Le tableau III.3 indique qu'en augmentant la polarité du solvant, les spectres d'absorption de TetracHCl, ProcHCl ont montré un grand décalage vers le bleu, alors qu'aucun décalage significatif n'a été observé pour LidoHCl. De plus, dans les solvants polaires, les maxima spectraux (à la fois d'absorption et d'émission) du LidoHCl sont presque similaires à ceux du TetracHCl, ProcHCl ce qui suggère que l'ajout d'un substituant

## Chapitre III      Caractérisation expérimentale des complexes d'inclusion

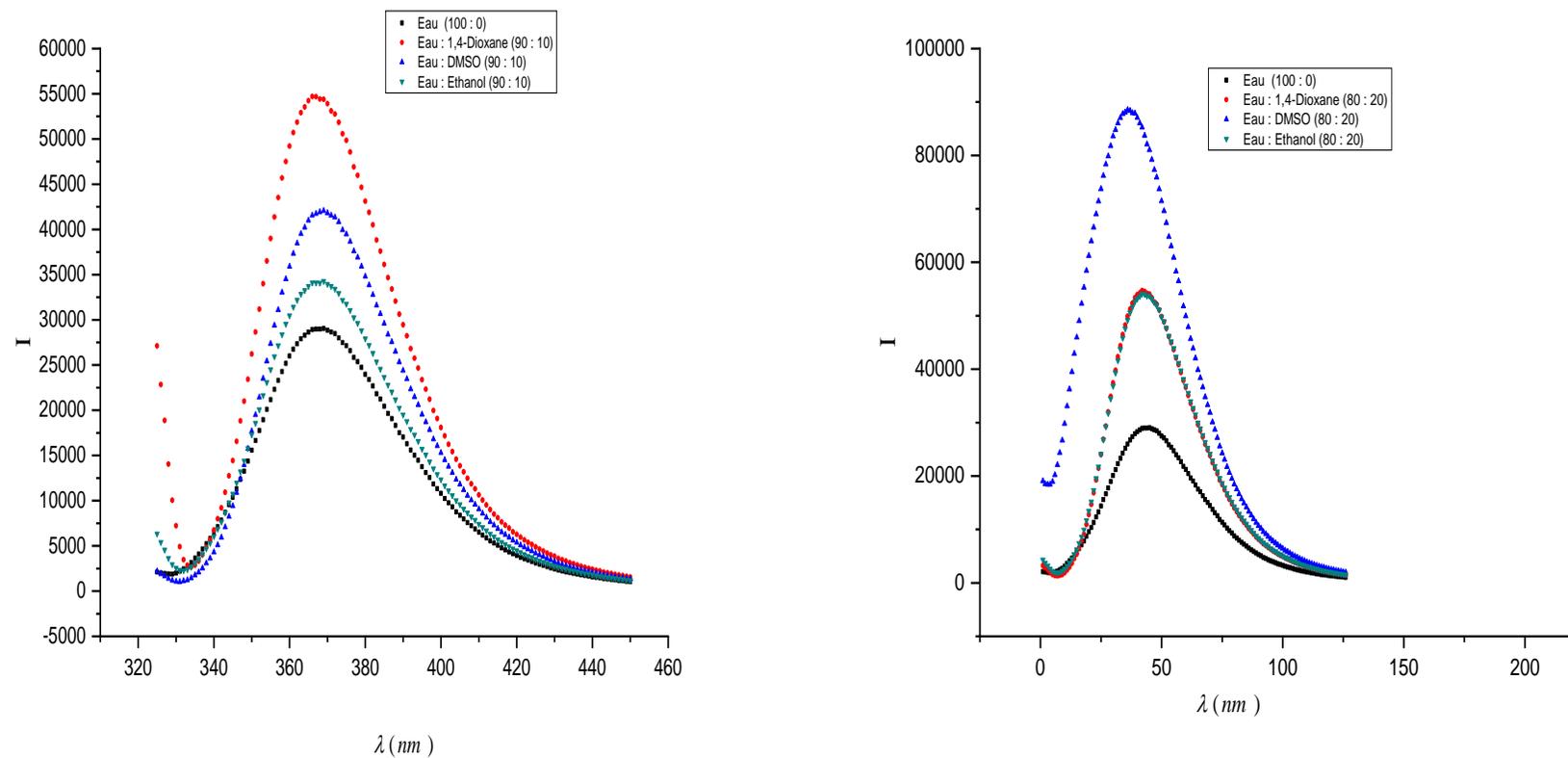
alkyle n'est pas le facteur clé dans la modification des comportements d'absorption et d'émission spectrale.

La figure III.5 (a, b et c) montre les spectres de fluorescence de TetrachCl, ProcHCl et LidoHCl dans divers mélanges de solvants. Contrairement aux spectres d'absorption, les spectres d'émission de fluorescence des médicaments sont très sensibles à la polarité du solvant, indiquant la possibilité de changements dans le caractère de l'état électronique. Une double fluorescence a été observée pour les médicaments ci-dessus dans tous les solvants étudiés à l'exception du 1,4-dioxane lorsqu'il est excité à 275 nm, indiquant l'évolution non linéaire de ce dernier. Le spectre de fluorescence dans le 1,4-dioxane ne montre qu'une seule bande sans structure dans la région de 310 nm. Des deux bandes, l'une est apparue dans une région de longueur d'onde plus courte (SW) autour de 300-315 nm et l'autre dans une région de longueur d'onde plus longue (LW). La bande SW est une émission normale et la bande LW est due à une émission tautomère.

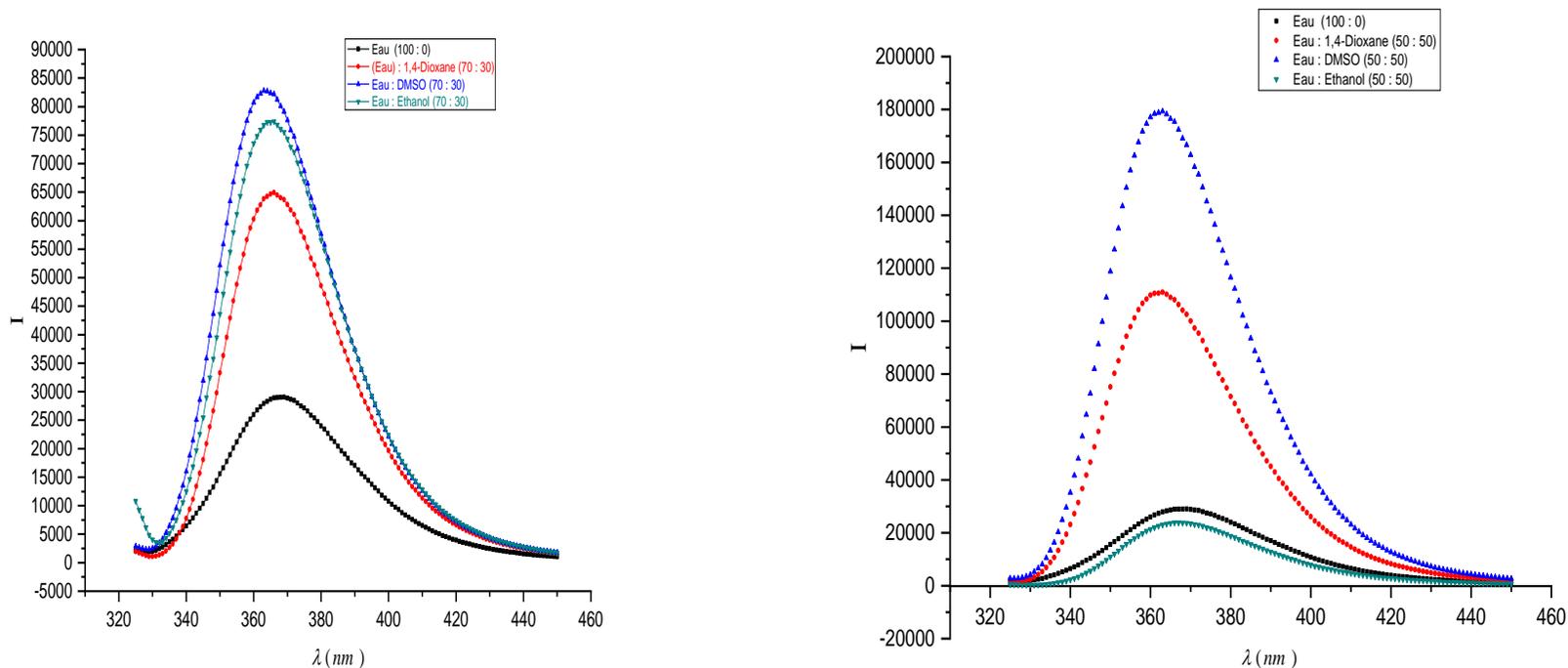
Les données spectrales de fluorescence pour les molécules médicamenteuses (tableau III. 3) démontrent clairement que l'augmentation de la polarité du solvant conduit à un déplacement bathochrome du maximum de fluorescence. Les changements spectraux ont indiqué que la fluorescence devrait être causée par deux espèces émettrices qui sont fortement influencées par la polarité du solvant et les capacités de liaison hydrogène. L'analyse de cette bande est basée sur la sensibilité du solvant rapportée en ce qui concerne la polarité et les capacités de liaison hydrogène.

Les résultats obtenus dans ce travail peuvent être expliqués comme suit :

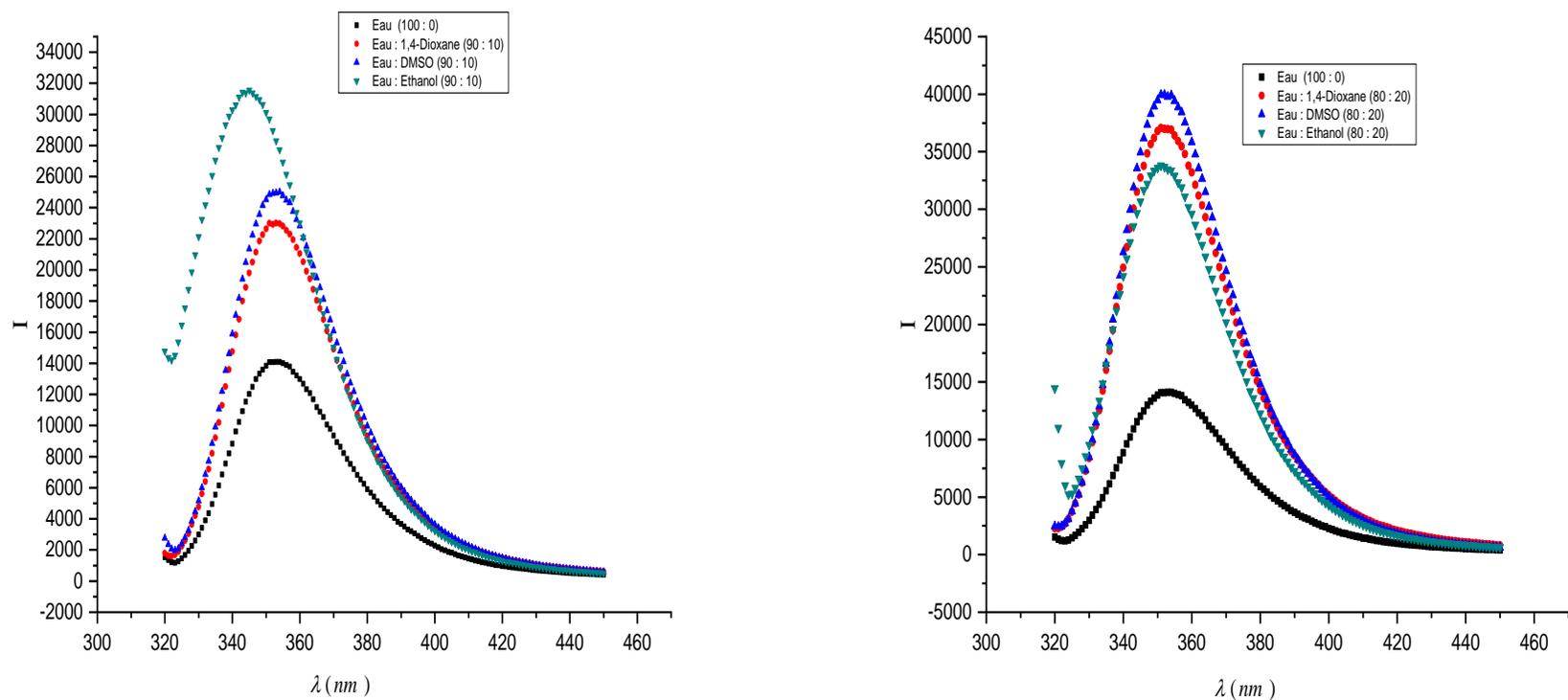
- La formation de liaisons hydrogène entre les solvants protiques et le groupe donneur d'électrons facilite la formation d'un transfert de charge intramoléculaire torsadé (TICT) à l'état S1 ;
- La formation de liaisons hydrogène entre le solvant protique et le groupe carbonyle électroattracteur fera que le groupe électroattracteur deviendra coplanaire avec le cycle benzénique ;
- La liaison hydrogène semble faciliter la migration de la densité électronique du cycle benzénique vers le groupe électroattracteur.



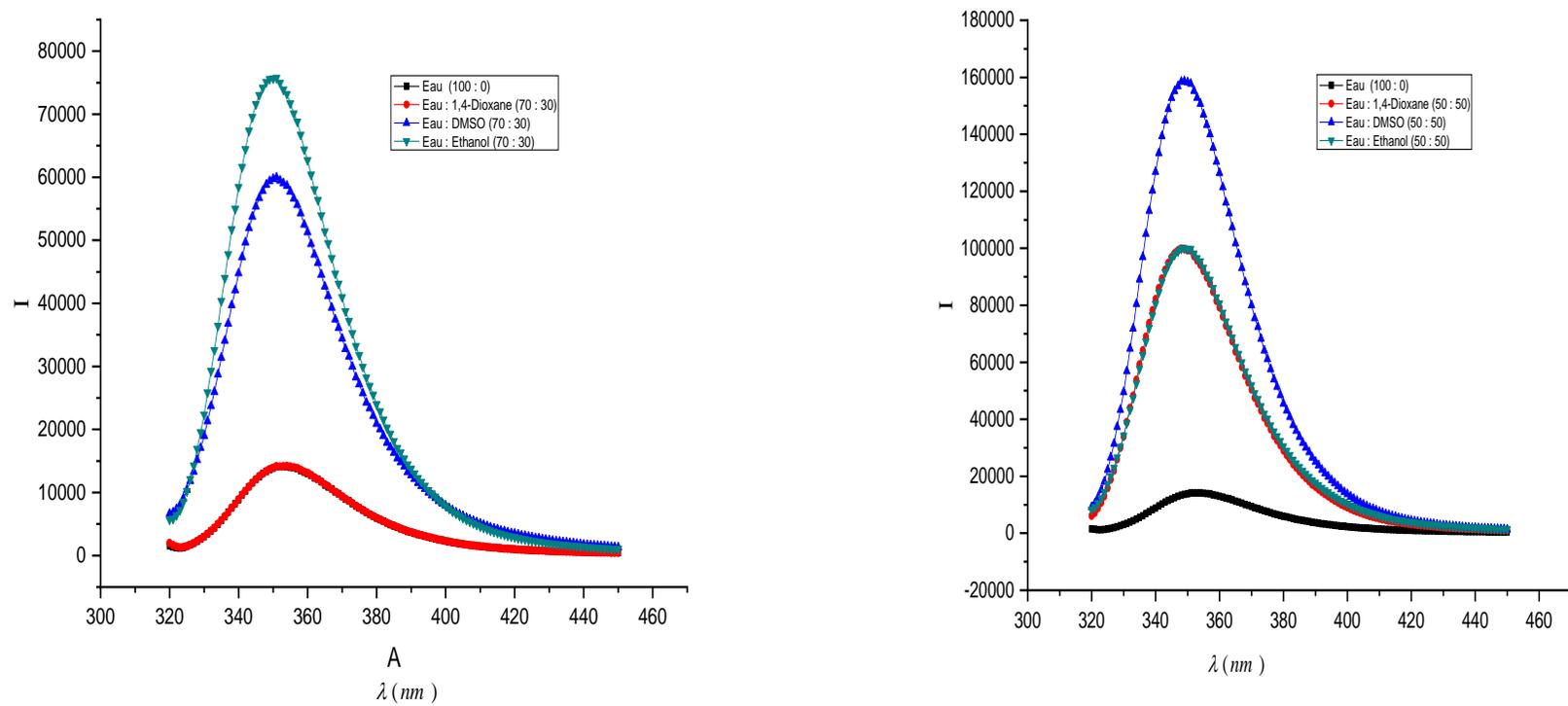
**Figure III.5.a.1** : Spectre de fluorescence d'émission d'une solution aqueuse de tétrachlorure à différents pourcentages de solvants, à 25°C : (90:10), (80:20)



**Figure III.5.a.2.** : Spectre de fluorescence d'émission d'une solution aqueuse de tetrachloride à différents pourcentages de solvants, à 25°C : (70:30), (50:50))



**Figure III.5.b.1 :** Spectre de fluorescence d'émission d'une solution aqueuse de procHCl à différents pourcentages de solvants, à 25°C : (90 : 10), (80 : 20)



**Figure III.5.b.2 :** Spectre de fluorescence d'émission d'une solution aqueuse de procHCl à différents pourcentages de solvants, à 25°C : (70 : 30), (50 : 50)

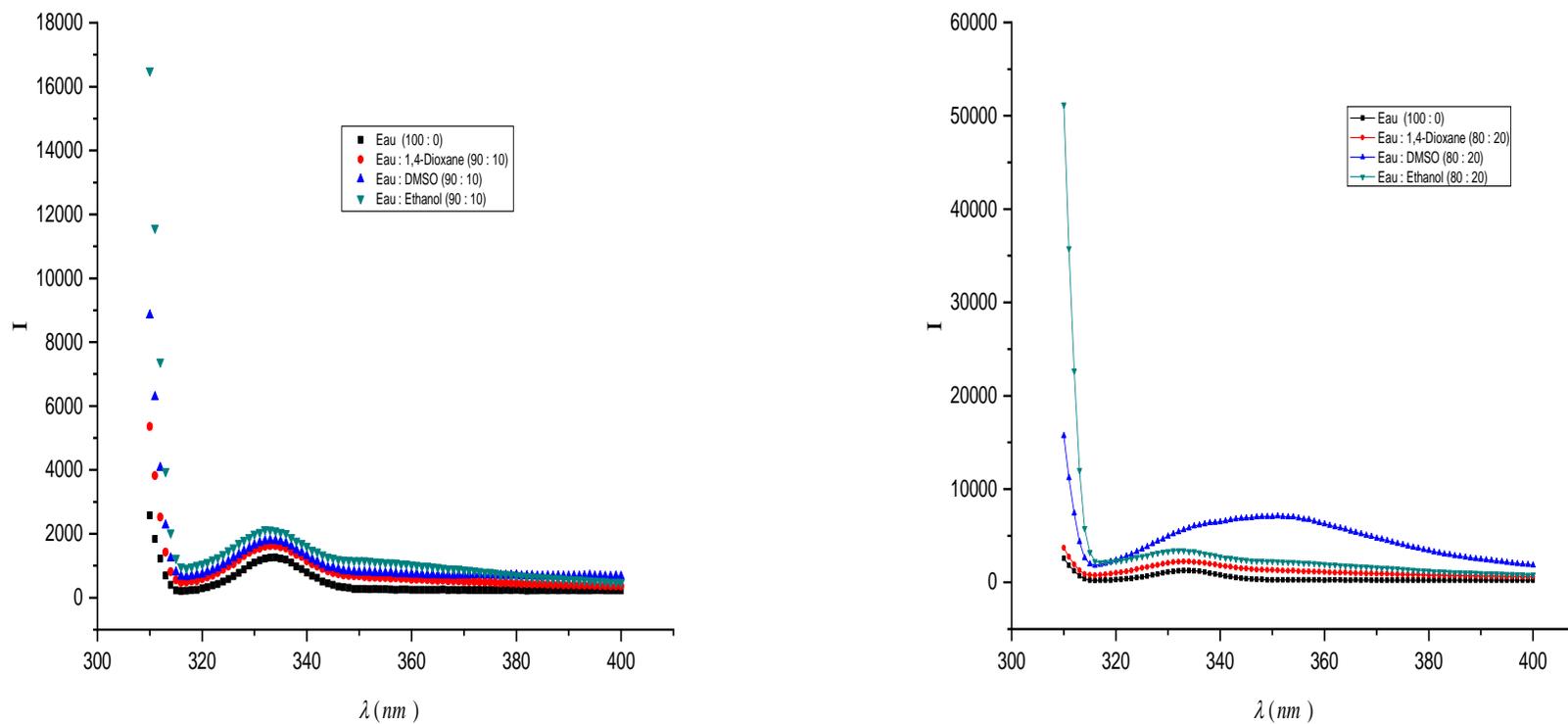
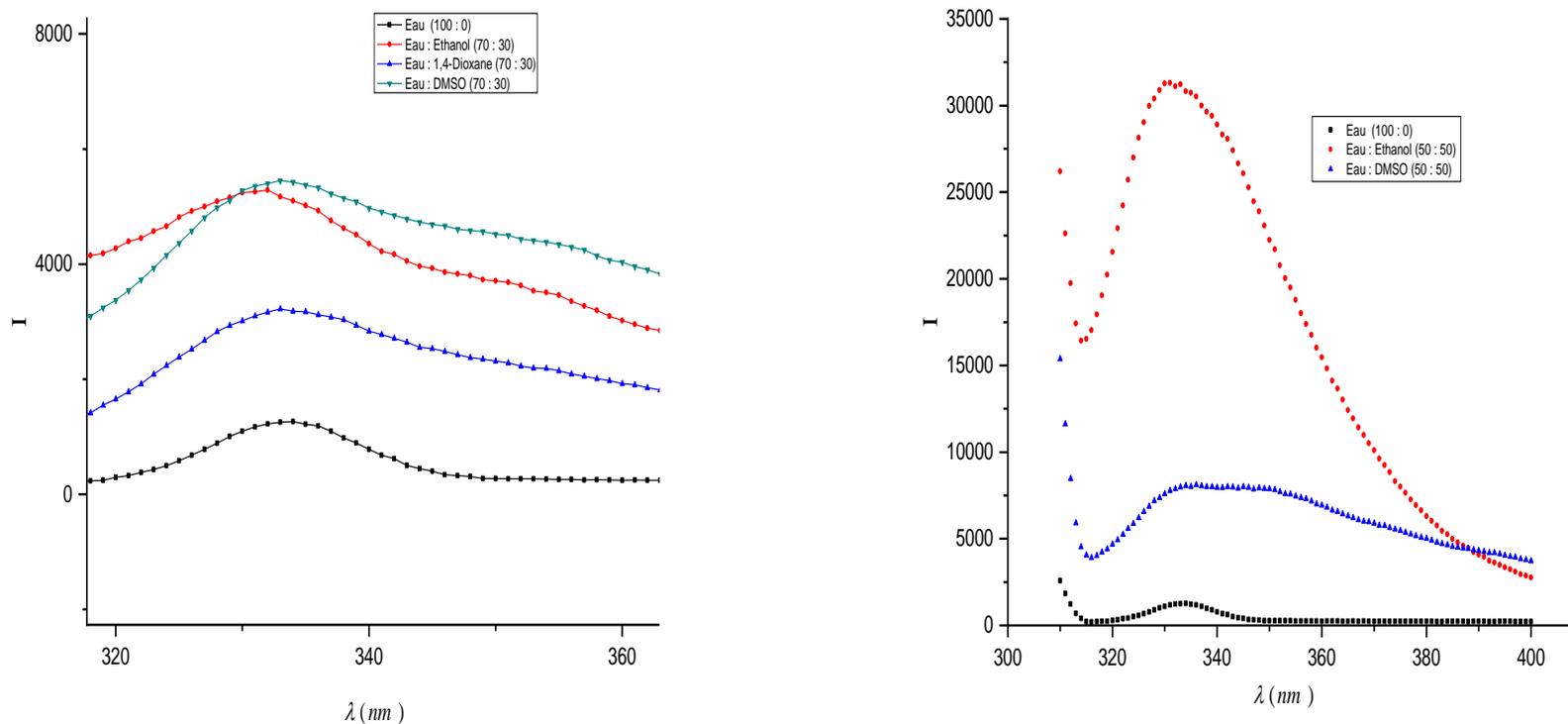


Figure III.5.c.1 : Spectre de fluorescence d'émission d'une solution aqueuse de LidoHCl à différents pourcentages de solvants, à 25°C : (90 : 10), (80 : 20)



**Figure III.5.c.2 :** Spectre de fluorescence d'émission d'une solution aqueuse de LidoHCl à différents pourcentages de solvants, à 25°C : (70 : 30), (50 : 50)

### Chapitre III      Caractérisation expérimentale des complexes d'inclusion

De plus, le mécanisme proposé par Grabowski et al ( Grabowski et al., 2003) est toujours considéré comme le meilleur et est connu sous le nom de TICT. Les présents résultats peuvent également être expliqués dans le même sens que l'émission dans la bande LW des impuretés peut être rejetée au motif que les deux émissions sont insensibles à l'excitation et qu'aucun changement n'a été observé au cours de l'expérience dans les caractéristiques spectrales ou dans les spectres de fluorescence. TetrachCl, ProcHCl et LidoHCl mesurés sur des solutions fraîchement préparées ou lorsque différentes longueurs d'onde d'excitation ont été utilisées.

Il a été observé que le rapport des intensités de fluorescence aux maxima respectifs de LW et SW n'a pas changé sur la plage de concentration de  $10^{-5}$ - $10^{-4}$  M et une structure vibrationnelle est apparue dans les solvants non polaires. Les spectres d'excitation de fluorescence de TetrachCl, ProcHCl et LidoHCl ont été enregistrés dans des solvants non polaires et polaires à différentes longueurs d'onde d'émission.

La figure III.5 montre les spectres d'excitation de fluorescence enregistrés aux longueurs d'onde d'émission appropriées dans du 1,4-dioxane et de l'eau. Il est clair à partir de ces spectres que l'excitation de fluorescence dans une région de longueur d'onde plus courte  $\sim 300$  nm diffère significativement de celle dans une région de longueur d'onde plus longue dans les deux solvants. Cette différence suggère que les émissions normales et tautomères proviennent de deux espèces distinctes présentes dans l'état fondamental ( $S_0$ ) ainsi que dans l'état singulet excité ( $S_1$ ).

Ainsi, une bande de fluorescence décalée vers le rouge a été obtenue lorsque la quantité d'eau a été augmentée dans le solvant non polaire, c'est-à-dire que le spectre de fluorescence dans la solution de 1,4-dioxane a été radicalement modifié par l'ajout d'eau/éthanol ayant une double émission. Il est à noter que contrairement à d'autres solvants polaires, la double émission dans l'eau subit un décalage vers le rouge supplémentaire bien que le maximum d'émission SW autour de 310 nm soit quasiment indépendant de la capacité de liaison hydrogène des solvants. Si le maximum de LW est dû au TICT, cette émission devrait être plus décalée vers le rouge dans les solvants protiques car le TICT est plus prononcé dans les solvants portails que dans les autres solvants.

## Chapitre III      Caractérisation expérimentale des complexes d'inclusion

Par conséquent, la LW dans les solvants non polaires et aprotiques est due à la formation de liaisons hydrogène d'un groupe amide. De plus, la structure du monoanion formé à partir d'un groupe amide ou iminol est la même. Le changement inattendu de la bande passante dans une région suggère que le tautomère est présent dans les solvants non polaires et aprotiques et dans les solvants portails, le tautomère est affecté en raison de la nature donneuse de protons des solvants.

Les résultats expérimentaux indiquent qu'avec une augmentation de la polarité du solvant, une grande fluorescence LW décalée vers le rouge est observée. Un tel décalage spectral peut correspondre à la stabilisation énergétique de l'état émetteur et est caractéristique de la fluorescence de l'état ICT ou TICT. Ces effets sont généralement causés par l'influence des propriétés typiques du groupe amide ( $O = C - N - H$ ). En raison de la résonance existant dans l'état fondamental, la liaison C - N dans le groupe amide a le caractère d'une double liaison partielle. La polarité accrue du solvant conduit à une préférence pour une forme plus polaire dans les trois molécules de médicament.

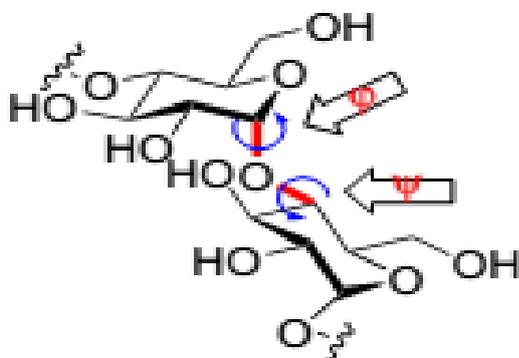
Ainsi, les changements géométriques tels que la rotation autour de la liaison C - N ou l'inversion de l'azote amido sont probablement fortement limités. Cela est dû à la nature découplée de l'état de transfert de charge et du TICT autour de la liaison amide C - N qui relie le donneur et l'accepteur d'électrons dans les dérivés de benzamide. En raison de la nature hautement découplée de l'état de transfert de charge, les résultats suggèrent une configuration TICT autour de la liaison amide C - N qui lie le donneur et l'accepteur d'électrons dans des composés similaires.

### III.2.2. Étude de Complexes d'inclusion par polarimétrie

Dans cette partie d'étude, Puisqu'il y a des atomes de carbone asymétriques dans la CD donc Il y a Chiralité alors la Polarimétrie constitue une bonne méthode de suivi de la complexation. Les mesures de l'angle de rotation des anesthésiques locaux en absence et en présence des CDs, ont été faites dans une gamme de rotation  $-180$  à  $+180$  degré à l'aide d'un polarimètre de type JASCO P-1010. Les échantillons sont placés dans des tubes es en verre, de longueur 10 cm. La concentration de la molécule invitée est choisie de telle sorte que la courbe de variation obéisse à la loi de Biot.

### III.2.3. Méthode de polarimétrie

Il est bien connu que les polysaccharides doivent leur activité optique à leur comportement conformationnel ainsi qu'à leur chiralité intrinsèque. En particulier, Rees (Rees, 1970) a étudié la contribution aux activités optiques des oligosaccharides dérivant de la « conformation de la liaison », liée à la rotation (virtuellement) libre autour du double rotor à liaison glycosidique C(1)–O–C(4'), et défini comme la paire de valeurs prises par les angles dièdres pertinents  $\phi$  et  $\psi$  (Figure. III.6).



**Figure III.6.** Le double rotor à liaison glycosidique

Notre approche de l'étude polarimétrique des interactions hôte-invité est basée sur l'idée simple que l'activité optique de la CD devrait changer de manière significative lors de l'inclusion de l'invité, en raison de son réarrangement conformationnel et de son comportement dynamique modifié, ainsi que de l'effet micro-environnemental de l'invité. Cette dernière contribution peut être considérée comme résultant à la fois de l'effet polaire de l'invité sur la distribution des électrons de la molécule hôte, et d'un effet sur n'importe quel chromophore invité.

Le sujet de l'Invité-CD dans les complexes de cyclodextrine a été discuté en profondeur d'un point de vue théorique, et certaines règles générales ont été évaluées lui-même (Kodaka, 1993 ; Kodaka, 1998 ; Park *et al*, 2005). Avant de procéder à l'examen de nos résultats, quelques des mots devraient être donnés sur certaines caractéristiques de notre procédure de mesure. Un ensemble d'échantillons est préparé en mélangeant des

### Chapitre III      Caractérisation expérimentale des complexes d'inclusion

quantités fixes d'une solution mère aqueuse unique avec des micro-quantités variables d'une solution mère concentrée de l'invité dissoute dans l'eau). Dans ces conditions, dans le cas le plus général de l'interaction du CD avec un invité chiral, on peut montrer algébriquement que la rotation optique observée  $\theta_i$  de chaque échantillon suit la relation (III.6) où  $\theta_0$  est la rotation optique de la solution mère de CD,  $G_0$  la concentration analytique de la solution mère de l'invité,  $[\theta_G]$  est l'optique molaire activité de l'invité et  $\Delta\theta$  est la différence entre l'activité optique molaire du complexe d'inclusion et la somme des activités optiques molaires de l'hôte libre et de l'invité.

De plus, la solubilité de l'invité dans le milieu solvant choisi doit être comparable ou supérieure à la valeur opérationnelle de  $[CD]$ . Ceci est nécessaire pour s'assurer qu'une fraction significative du CD est engagée dans la formation du complexe à l'équilibre, de préférence 75 % au moins pour l'échantillon à la plus forte concentration d'invités. Sous cette condition, au moyen de simples passages algébriques, nous pouvons facilement dériver la condition numérique suivante à la solubilité  $[G]_0$  de l'invité

$$[G]_0 \geq 3K^{-1} + 0.75[CD] \quad (\text{III.1})$$

D'où l'on peut également déduire que la solubilité de l'invité impose une limitation à la baisse aux valeurs  $K$  pouvant être estimées de manière fiable, selon la relation (III.2)

$$K \geq \left( \frac{[G]_0}{3} + \frac{[CD]}{4} \right)^{-1} \quad (\text{III.2})$$

À condition que la quantité de solution d'invité ajoutée à chaque échantillon soit faible par rapport au volume total, nous pouvons supposer que les volumes d'échantillons suivent la relation linéaire (III.3) :

$$V_i = V_0(1 + V_i) \quad (\text{III.3})$$

Où  $V_0$  est le volume fixe de la solution CD,

$V_i$  le volume variable de la solution invitée ajoutée à chaque échantillon,

## Chapitre III Caractérisation expérimentale des complexes d'inclusion

La rotation optique  $\theta_i$  pour chaque échantillon peut être exprimée par l'équation (III.4).

$$\theta_i = [\Theta_{CD}][CD] + [\Theta_{CDG}][CDG] \quad (\text{III.4})$$

$$\theta_i = \theta_0 + [\Delta\theta][CDG] \quad (\text{III.5})$$

Où  $[CD]$  et  $[CDG]$  sont les concentrations d'équilibre du CD et du complexe, respectivement  $[\Theta_{CD}]$ , et  $[\Theta_{CDG}]$  sont les activités optiques molaires pertinentes,  $\theta_0$  est la rotation optique de l'échantillon sans invité, et  $[\Delta\theta] = [\Theta_{CDG}] - [\Theta_{CD}]$ . Parce que l'hôte et l'invité sont présent dans les échantillons en quantités comparables, l'expression correcte (III.6) pour  $[CDG]$  doit être plutôt déduite analytiquement. Ce dernier peut être utilisé à son tour pour le traitement des données, pour obtenir les valeurs de  $[\Delta\theta]$  et  $K$ .

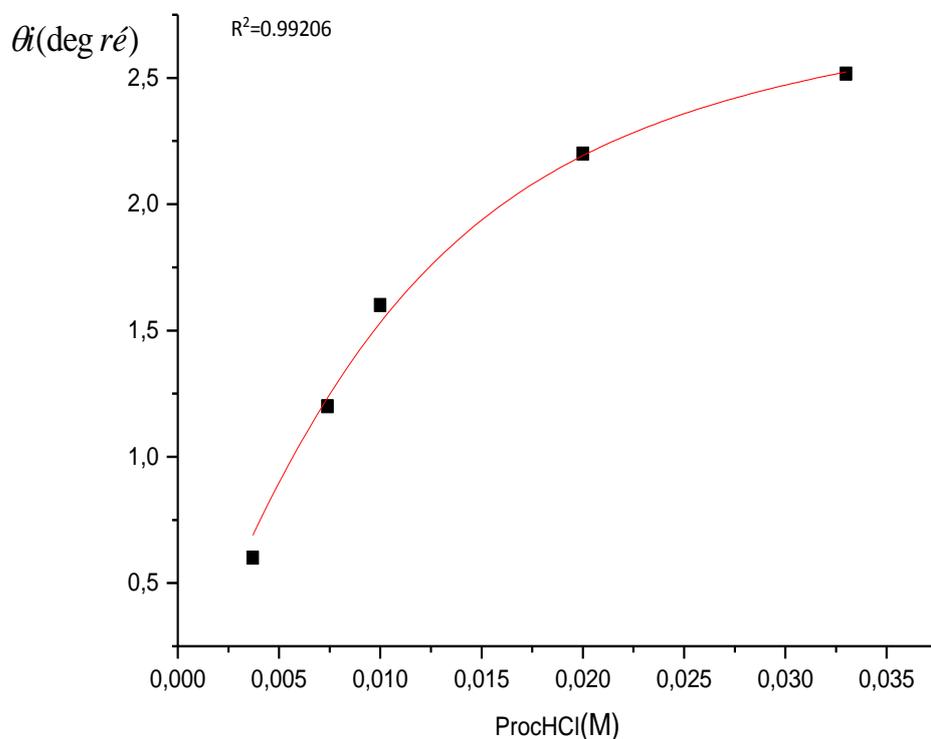
$$\theta_i = \frac{\theta_0 + \frac{[\Delta\theta]}{2}}{1 + \nu i} \left( CD_0^0 + G_0^0 \frac{\nu i}{V_0} + \frac{1 + \nu i}{K} - \sqrt{\left( CD_0^0 + G_0^0 \frac{\nu i}{V_0} + \frac{1 + \nu i}{K} \right)^2 - 4 CD_0^0 G_0^0 \nu i / V_0} \right) \quad (\text{III.6})$$

Où  $CD_0$  et  $G_0$  sont les concentrations pour les solutions mères du CD et de l'invité, respectivement.

### III.2.4. Discussion des résultats

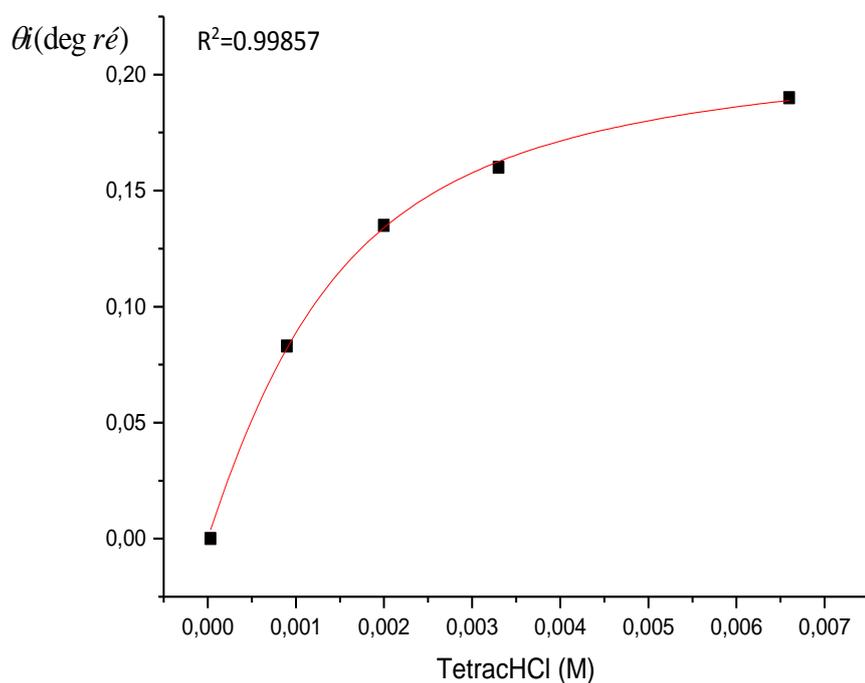
La forme non linéaire de la courbe de variation  $\theta_i$  du complexe d'inclusion  $\beta$ -CD-ProchCl en fonction de concentration de ProchCl est en accord avec un modèle de complexe de stœchiométrie 1 :1 comme le confirme le bon ajustement non linéaire utilisé. Cet ajustement non linéaire de la courbe nous donne la valeur de la constante de complexation

- $K = 210.8131 \text{ M}^{-1}$
- $\Delta[\theta] = [\Theta_{CDG}] - [\Theta_{CD}] = 297.9689 \text{ deg dm}^{-1} \text{ M}^{-1}$
- $[\Theta_{CDG}] = 84 \text{ deg dm}^{-1} \text{ M}^{-1}$



**Figure III.7.** Variation de l'angle  $\theta_i$  du complexe d'inclusion  $\beta$ -CD-ProcHCl en fonction de concentration de ProcHCl

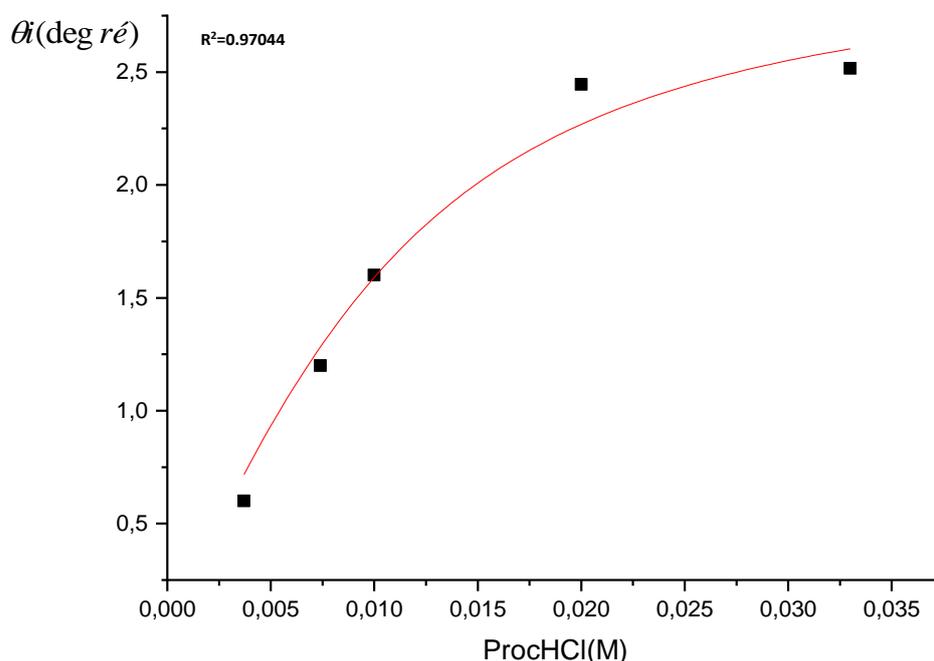
La forme non linéaire de la courbe de variation est en accord avec un modèle de complexe de stoechiométrie 1 :1 comme le confirme le bon ajustement non linéaire utilisé. Cet ajustement non linéaire de la courbe  $\theta_i$  du complexe d'inclusion  $\beta$ -CD-TetrachCl en fonction de concentration de TetrachCl au moyen de l'équation ((III.6) nous donne la valeur de la constante de complexation  $K=216.8860 \text{ M}^{-1}$  et la valeur de  $\Delta[\theta] = [\theta_{\text{CD-I}}] - [\theta_{\text{CD}}] = 261 \text{ degré}$  ce qui nous permet connaissant  $[\theta_{\text{CD}}]$  de déduire celle du complexe  $[\theta_{\text{CD-I}}] = 65 \text{ deg dm}^{-1} \text{ M}^{-1}$ . Cette valeur de la constante de complexation est en bon accord avec celle obtenue par une autre méthode la spectrophotométrie UV-Visible ou on obtient la valeur  $K=223.18 \text{ M}^{-1}$  accord avec un modèle de complexe de stoechiométrie 1 :1 comme le confirme le bon ajustement non linéaire utilisé.



**Figure III.8.** Variation de l'angle  $\theta_i$  du complexe d'inclusion  $\beta$ -CD-TetrachCl en fonction de concentration de TetrachCl

**Tableau III.4.** Résultats de polarimétrie

Hôte	Invité	$[\Delta\Theta] = [\theta_{CDG}] / [\theta_{CD}]$ (deg dm <sup>-1</sup> M <sup>-1</sup> )	k (M <sup>-1</sup> )	k (M <sup>-1</sup> ) literature
<b><math>\beta</math>-CD</b>	ProcHCl	297.9689	210.8131	200–350 (Merino <i>et al.</i> ,2000; .Iglesias,2006;Takisawa <i>et al.</i> ,1993)
	TetrachCl	165	216.8860	225 (fergoug,2003)
	LidoHCl	120.7585	13.55694	25.8± 0.6 (Dollo <i>et al.</i> 1996)
<b>HP<math>\beta</math>-CD</b>	TetrachCl	305.7470	119.0258	138 (fergoug,2003)



**Figure III.9.** Variation de l'angle  $\theta_i$  du complexe d'inclusion HP $\beta$ -CD-tetrachCl en fonction de concentration de tetrachCl

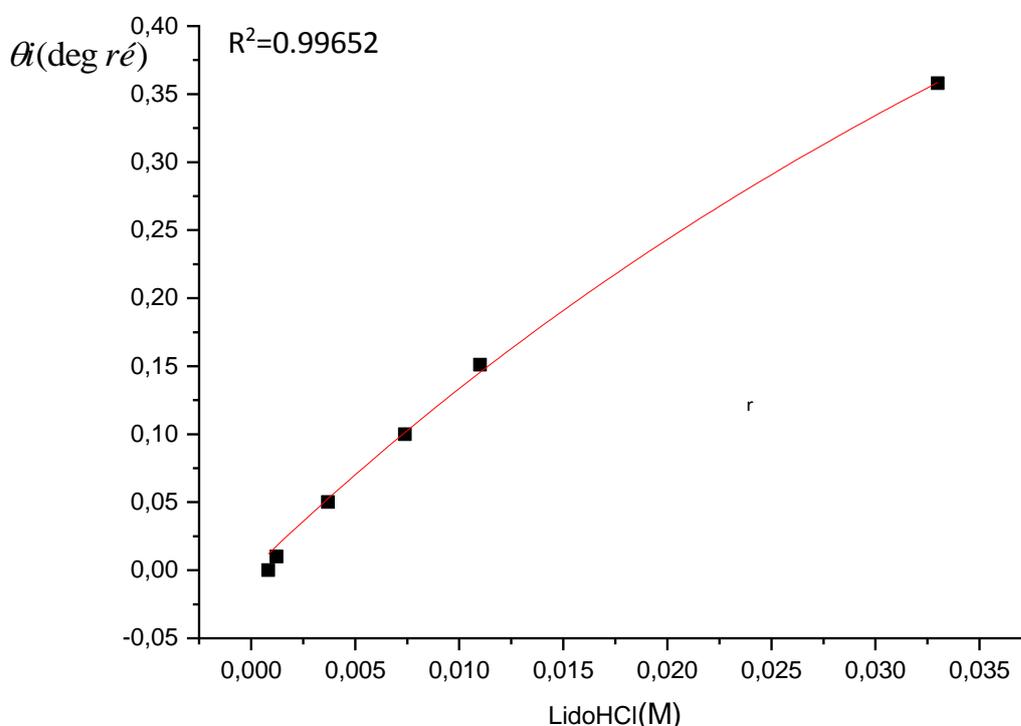
Il convient de mentionner que dans ce travail, l'interaction du HP $\beta$ -CD avec les amino-esters avait été étudiée par polarimétrie uniquement à pH neutre. Il faut d'abord remarquer que la rotation optique molaire ( $\theta_0$ ) de HP $\beta$ -CD libre  $+160 \text{ deg dm}^{-1} \text{ M}^{-1}$  est significativement différent de l'un des  $\beta$ -CD natifs ( $+180 \text{ deg dm}^{-1} \text{ M}^{-1}$ ). C'est clairement une conséquence de la modification chimique d'une unité glucose, ce qui pourrait affecter  $\theta_0$  en raison à la fois de l'activité optique différente du glucose modifié et l'effet possible d'une telle modification sur la dynamique conformationnelle globale de l'hôte.

Notre méthode de mesure a montré en général une reproductibilité des données satisfaisante. En particulier, avec l'invité ProcHCl, des résultats hautement reproductibles ont été obtenus, modifiant également de manière drastique les concentrations des solutions mères. Les valeurs K trouvées sont généralement de bonnes à excellent accord avec les rapports de la littérature, expliquant la fiabilité globale de la méthode. Les valeurs de K rapportées ici vont de  $13.55694$  jusqu'à  $216.8860 \text{ M}^{-1}$ .

### Chapitre III Caractérisation expérimentale des complexes d'inclusion

Cependant, notre expérience nous suggère que des estimations fiables pourraient être facilement réalisées hors de cette plage aussi. Notamment, nous avons pu effectuer la détermination par ailleurs difficile de  $K$  pour le couple  $\beta$ -CD et Lidocaïne hydrochlorate.

Le graphe  $\theta_i = f(\text{concentration LidoHCl})$ , donné par la figure III.10, L'allure de cette courbe présente une courbure vers le haut (non linéaire) par conséquent la possibilité de formation d'un complexe d'inclusion 1:1. L'ensemble des valeurs, regroupées dans le tableau (III.4), permet de remarquer le bon accord entre la constante de stabilité ( $K$ ) et LidoHCl. En effet, plus le substituant hydrophobe, plus la constante de stabilité est grande et plus le complexe est stable et l'inverse, les résultats trouvés montrent que le LidoHCl et la  $\beta$ -CD forment un complexe de stœchiométrie 1:1, le quel présentent une stabilité qui dépend de la nature du LidoHCl (aminoamide). Afin de lever l'ambiguïté sur la présence complexe de stœchiométrie 1:1 et car une faible constante d'association  $K = 13.55694 \text{ M}^{-1}$ . On a besoin de faire une étude théorique pour confirmer ce résultat.



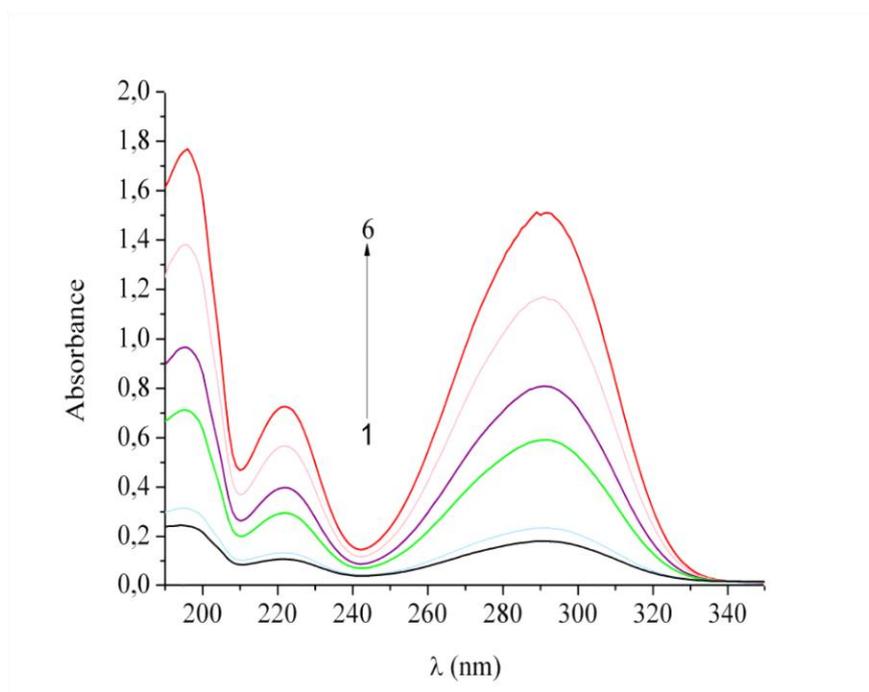
**Figure III.10.** Variation de l'angle  $\theta_i$  du complexe d'inclusion  $\beta$ -CD- LidoHCl en fonction de concentration de LidoHCl

### III.3. Discussion des résultats UV-Visible et fluorescence des complexes d'inclusion

Dans cette partie de ce manuscrit nous présentons et discutons les résultats obtenus de l'étude des réactions de complexation entre les molécules choisies TetracHCl, ProcHCl et LidoHCl par la  $\beta$ -CD. Les constantes d'association ont été déterminées en se basant sur une stœchiométrie de type 1:1 et en utilisant des modèles théoriques.

#### ➤ Détermination de la constante de complexation de ProcHCl,

Pour les systèmes binaires (CD-procaine hydrochloride), 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.11).



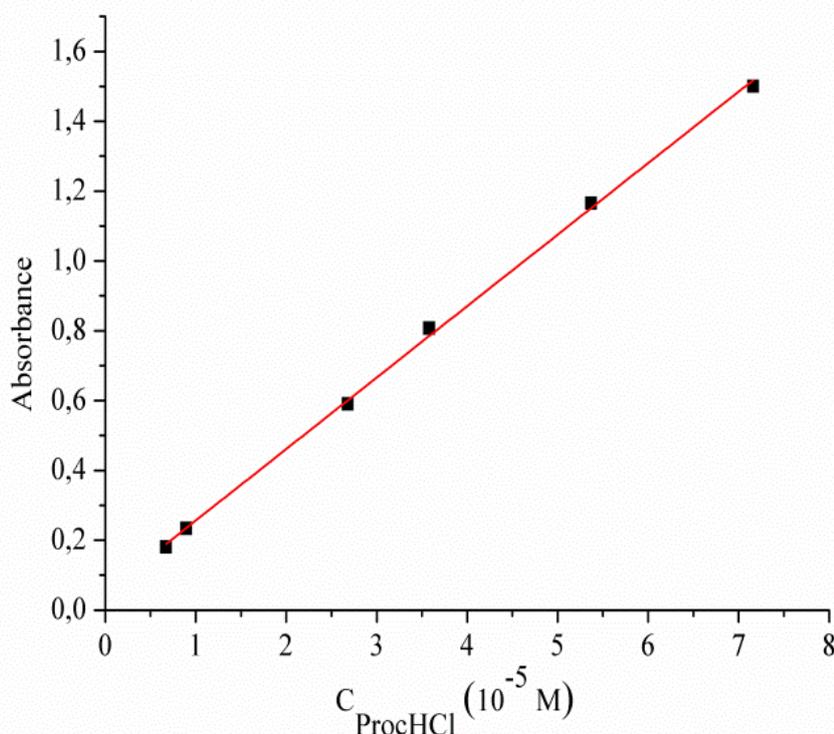
**Figure III.11.** Spectres UV-Vis des solutions aqueuses de la ProcHCl à différentes concentrations.

Trois pics centrés sur les longueurs d'onde d'absorption 196, 222 et 291 nm sont observés, attribués aux transitions électroniques liées aux fonctions  $\text{NH}_2$ ,  $\text{C}=\text{O}$  et le

### Chapitre III Caractérisation expérimentale des complexes d'inclusion

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.12, où l'absorbance varie linéairement avec la concentration pour  $\lambda_{\max} = 291$  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 molaire sont déduits et sont égaux à 23603, 9607 et 20597  $M^{-1} \text{ cm}^{-1}$  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).

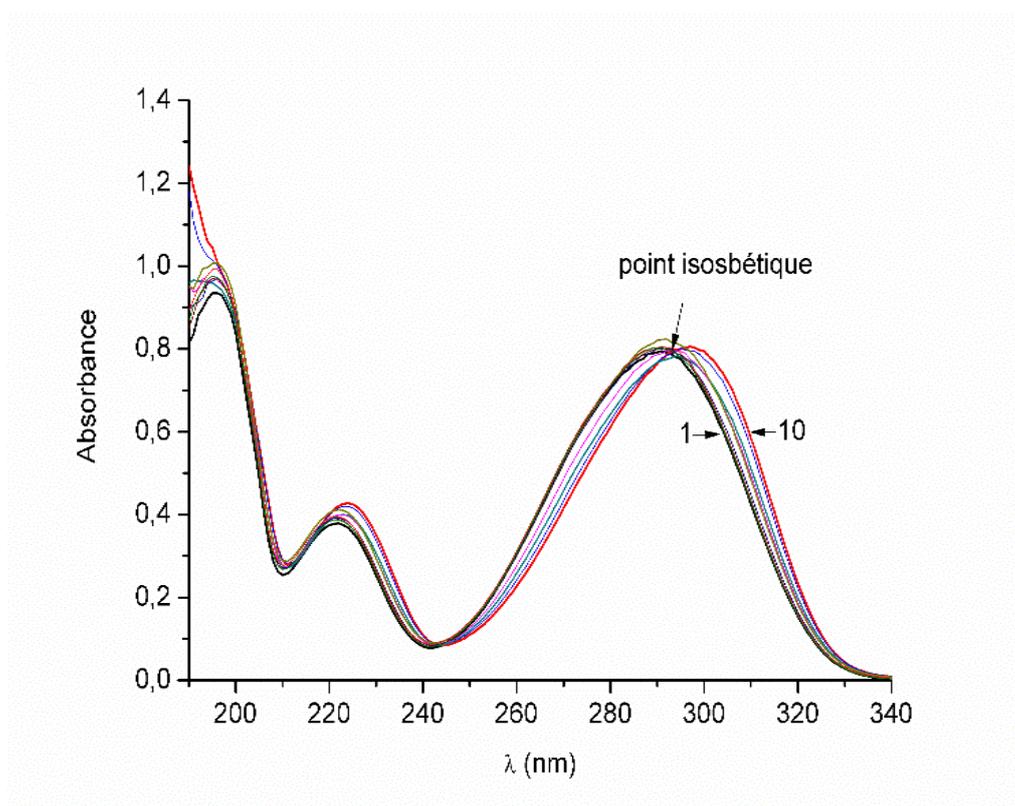


**Figure III.12.** Variation de l'absorbance en fonction de la concentration de ProcHCl à  $\lambda_{\max} = 291$  nm.

### Chapitre III Caractérisation expérimentale des complexes 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 la figure III. 13.

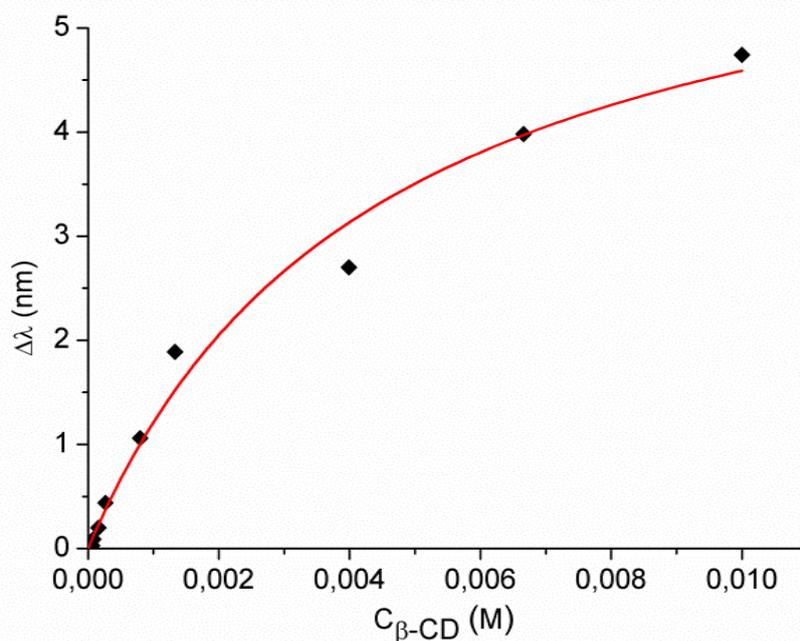
Il est facile d'identifier la présence de points isobestiques indiquant l'existence d'un équilibre chimique entre la molécule ProcHCl libre et complexée. Les spectres UV-Vis du système ProcHCl/ $\beta$ -CD montrent un décalage vers des longueurs d'onde plus élevées lorsque la concentration de  $\beta$ -CD augmente (effet bathochromique). Cependant, 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.13.** Spectres UV-vis de ProcHCl à la concentration  $4.37 \cdot 10^{-5}$  M en absence et en présence de  $\beta$ -CD

### Chapitre III Caractérisation expérimentale des complexes d'inclusion

Le tracé de  $\Delta\lambda$  en fonction des concentrations de  $\beta$ -CD (figure III.14) permet d'extraire les valeurs des paramètres de l'équation proposée par Merino (équation II.9), en utilisant la méthode de régression non linéaire et l'ajustement de chaque équation permet de calculer  $K$ ,  $\Delta\lambda_{max}$  et de déduire l'enthalpie libre de la réaction ( $\Delta G^\circ$ ) comme illustré sur le tableau III.5.



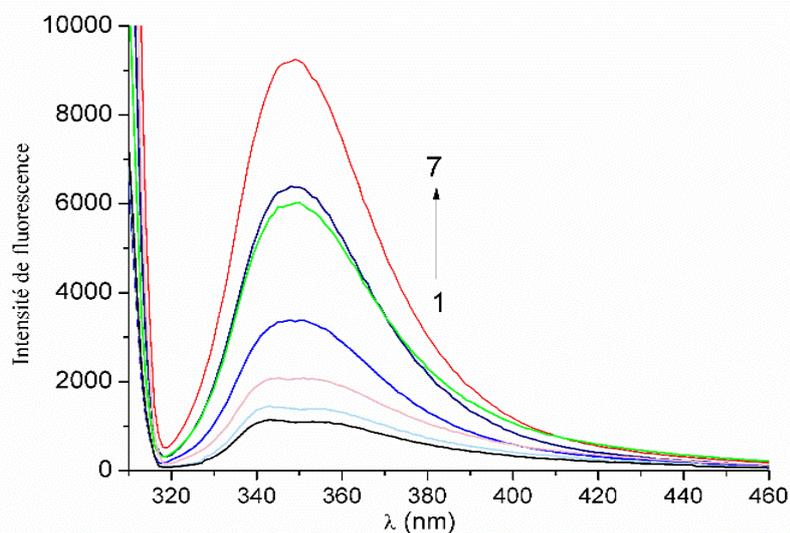
**Figure III.14.** Variation de la variation de la longueur d'onde  $\Delta\lambda$  en fonction de concentration de  $\beta$ -CD

**Tableau III.5.** 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  $C_{\text{ProcHCl}} = 4.37 \cdot 10^{-5}$  M.

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

### ➤ Résultats de la fluorescence

Les spectres d'émission de fluorescence des systèmes ProcHCl/eau/CD à différentes concentrations sont illustrés sur la figure III.15.

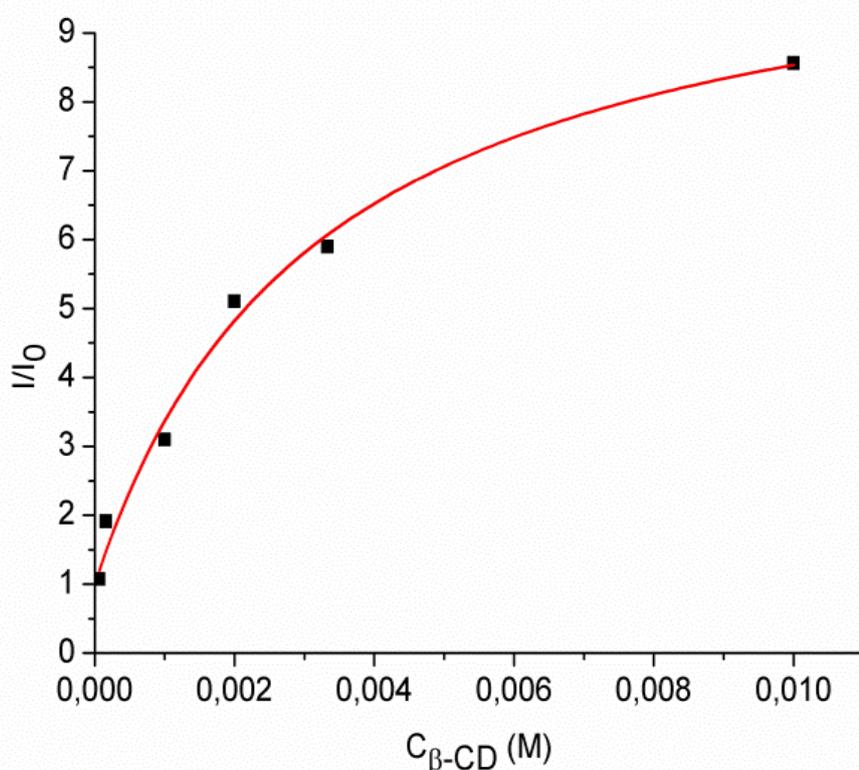


**Figure III.15.** Spectres d'émission de ProcHCl à  $5.2 \cdot 10^{-6}$  M en absence et en présence de  $\beta$ -CD

Lorsque la  $\beta$ -CD est ajoutée, un effet hyperchromique se produit en augmentant la concentration de cette CD (figure III.15). 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. 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 fondamental  $S_1$  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 données expérimentales avec le modèle approprié. Dans ce

### Chapitre III Caractérisation expérimentale des complexes d'inclusion

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.  $I$  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.16.



**Figure III.16.** Variation de  $I/I_0$  en fonction de la concentration de  $C_{\beta\text{-CD}}$

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  $\Delta G^\circ$  comme il est illustré sur le tableau III.6.

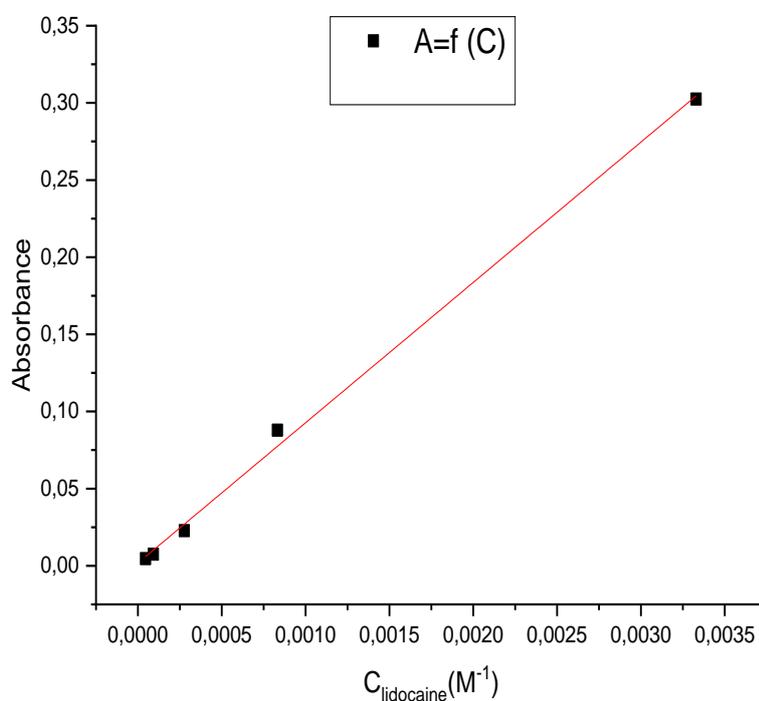
### Chapitre III Caractérisation expérimentale des complexes d'inclusion

**Tableau III.6.** Paramètres d'ajustement  $K$  et  $k_{CD-G}/k_G$  et l'enthalpie libre ( $\Delta G^\circ$ ) de la réaction.

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

#### ➤ Détermination de la constante de complexation pour la LidoHCl,

Des mesures de l'absorbance de la lidocaïne ont été effectuées en absence et en présence des CDs, en choisissant une concentration de  $3.10^{-4}$  pour la lidocaïne. Ce choix est le résultat d'une série de mesures de l'absorbance à différentes concentrations comme le montre la figure III.17.

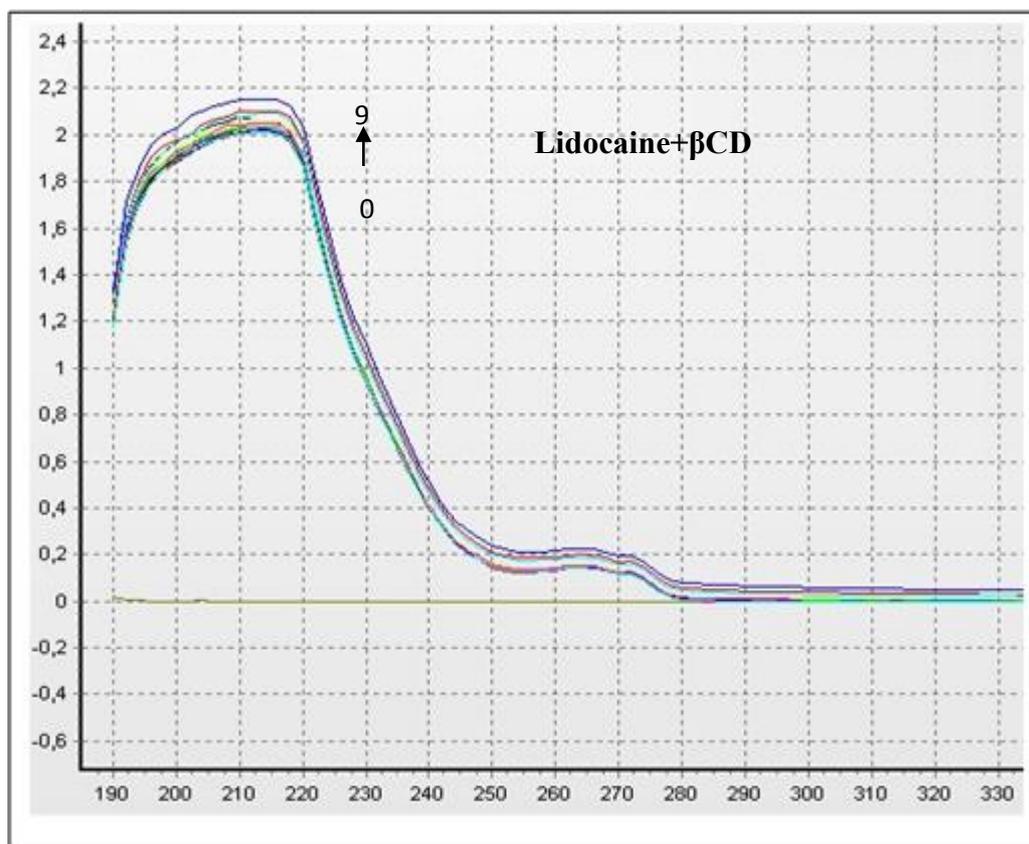


**Figure III.17.** Absorbance de lidocaïne à différentes concentrations

Une droite est obtenue indiquant que ces concentrations obéissent à la loi de Beer Lambert. La concentration sélectionnée se trouve au milieu de cette gamme des concentrations.

### Chapitre III Caractérisation expérimentale des complexes d'inclusion

L'étude de la complexation de la lidocaine par les CDs s'effectuée en mesurant l'absorbance dans une gamme de longueur d'onde allant de 190 à 500 nm avec un pas de 2nm. Ces mesures sont représentées dans les figures III.18 et III.19. Une augmentation de l'absorbance est signalée indique qu'il y a des interactions sont établies entre la  $\beta$ CD et la lidocaine. Signalons ici que la  $\beta$ CD ne donne pas un signal dans la gamme de longueur d'onde choisie.

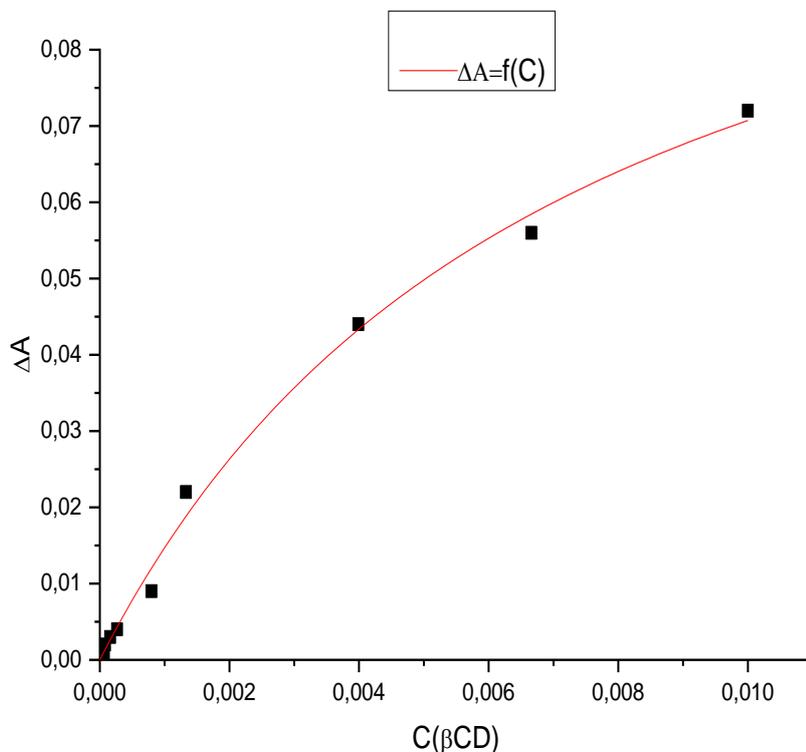


**Figure III.18 :** absorbance de la lidocaine en présence de  $\beta$ CD.

Ce résultat indique que la  $\beta$ CD forme avec la lidocaine un complexe d'inclusion. Autrement dit, la cavité de la  $\beta$ CD présente un environnement favorable pour inclure la lidocaine. Ces types de complexes sont le plus souvent stabilisés par des forces de Van der Waals. Tandis que, l'absorbance de la lidocaine en absence et présence de la HP- $\beta$ CD ne présente pas de différence remarquable ce qui rend la possibilité de la formation d'un complexe assez faible. La constante de la complexation et  $\Delta\epsilon$  la lidocaine a été évaluée en utilisant l'équation II.8. En traçant la variation de l'absorbance en fonction

### Chapitre III Caractérisation expérimentale des complexes d'inclusion

de la concentration de la  $\beta$ CD. Les valeurs des paramètres d'ajustement de l'équation II.8 ainsi que l'enthalpie libre de la réaction sont données dans le tableau III.7.



**Figure III.19.** L'absorbance de la lidocaine en présence et en absence de la  $\beta$ CD.

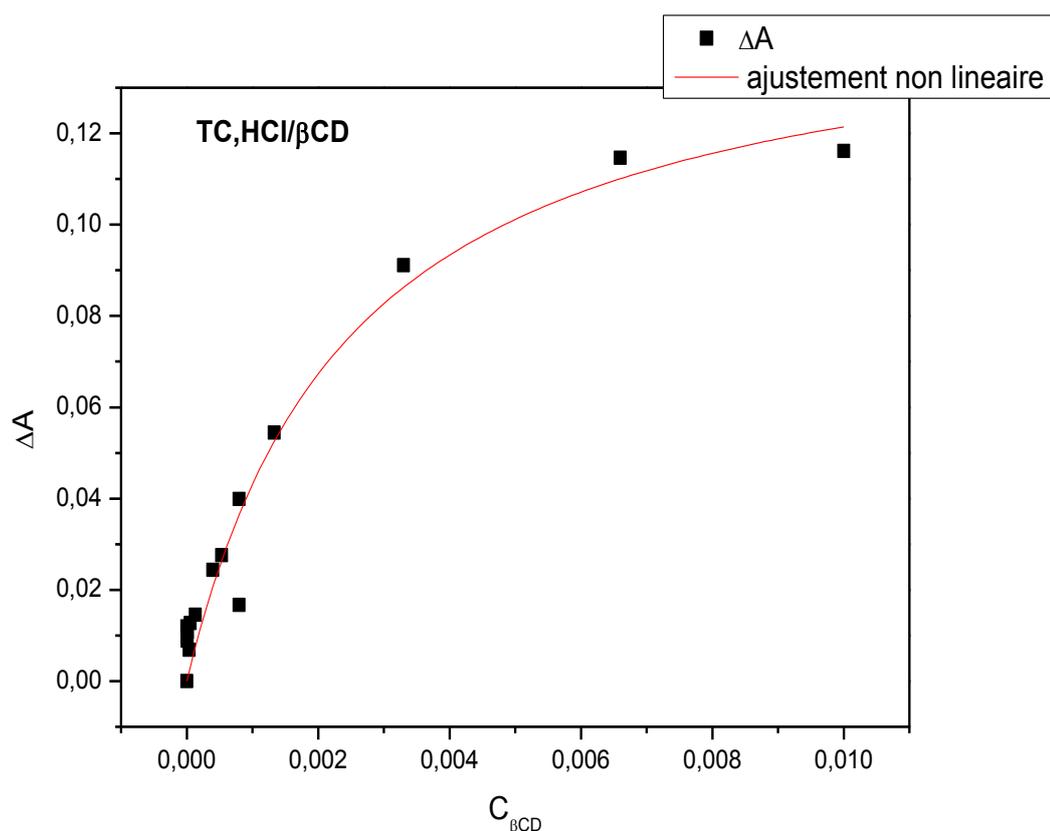
**Tableau III.7 :** paramètres d'ajustement de l'équation II.8 ainsi que l'enthalpie libre de la réaction

	Lidocaine+ $\beta$ CD
$K (M^{-1})$	144.18
$\Delta \epsilon (l.mole^{-1}.cm^{-1})$	402.22
$\Delta G^\circ (K Cal)$	-2.962

La constante de complexation est légèrement faible en raison de la taille assez grande de la lidocaine.

➤ Détermination de la constante de complexation de TetracHCl

Du fait que la tetracaine hydrochloride est une molécule qui possède une structure chimique proche de la procaine hydrochloride. Les courbes UV-visible et de fluorescence de la tetracaine hydrochloride et la procaine hydrochloride sont proches. Pour ne pas répéter presque les mêmes observations et les mêmes interprétations déjà mentionnés avec la procaine hydrochloride, nous jugeons qu'il est plus utile de passer directement au traçage de la courbe donnant la Variation de  $\Delta A$  pour des solutions à une concentration de TetracHCl. En effet, cette dernière qui a été déduite avec le même protocole détaillé pour la procaine hydrochloride, nous permet de déduire la constante de complexation pour le système TetracaineHCl et CD. L'ajustement non linéaire des données de la figure III.20 selon la méthode des variations continues, permet de déduire la valeur de  $K$  comme illustré sur le tableau III.8.



**Figure III.20.** Variation de  $\Delta A$  pour des solutions à une concentration de TetracHCl constante d'environ  $5 \cdot 10^{-5} M$ , en fonction de la concentration en  $\beta CD$ , à  $20^{\circ}C$

## Chapitre III Caractérisation expérimentale des complexes d'inclusion

**Tableau III.8.** Constante d'association  $K$  (TetracHCl / $\beta$ CD)

complexe	<b>K</b>
TetracHCl / $\beta$ CD	403,27

### ➤ *Résultats RMN*

Les analyses  $^1\text{H}$  RMN renseignent sur l'orientation de la molécule invitée et sa conformation au sein de l'hôte.  $^1\text{H}$  RMN prouve de la formation d'un complexe d'inclusion entre un CD et une molécule invitée sont fournis par des changements dans les déplacements chimiques des protons des deux partenaires, basés sur le blindage du CD et des protons du médicament (Thakkar et Demarco, 1971), tandis que les emplacements de ces changements identifient les régions des molécules. Impliqué dans l'association. 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).

### III.4. Discussion des résultats RMN

- **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. Toutes les solutions ont été préparées et laissées 24 h à l'équilibre.

- **Résultats de la RMN du proton à une dimension ( $^1\text{H}$  RMN)**

Le tableau III.19 rassemble les déplacements chimiques des protons de LidoHCl, et  $\beta$ -CD, tirés des spectres des espèces libres illustrés sur les figures III.21, III.22 et III.23.

**Tableau III.9.** Déplacements chimiques, en ppm, des protons de lidoHCl et  $\beta$ -CD.

lidoHCl		$\beta$ -CD	
H <sub>a</sub>	9.0	H <sub>1</sub>	4.952
H <sub>b</sub>	7.00, 7.050, 7.08	H <sub>2</sub>	3.546
H <sub>c</sub>	4.160, 4.155	H <sub>3</sub>	3.843
H <sub>d</sub>	3.150- 3.224	H <sub>4</sub>	3.46
H <sub>e</sub>	2.032-2.096	H <sub>5</sub>	3.727
H <sub>f</sub>	1.174-1.222	H <sub>6</sub>	3.756

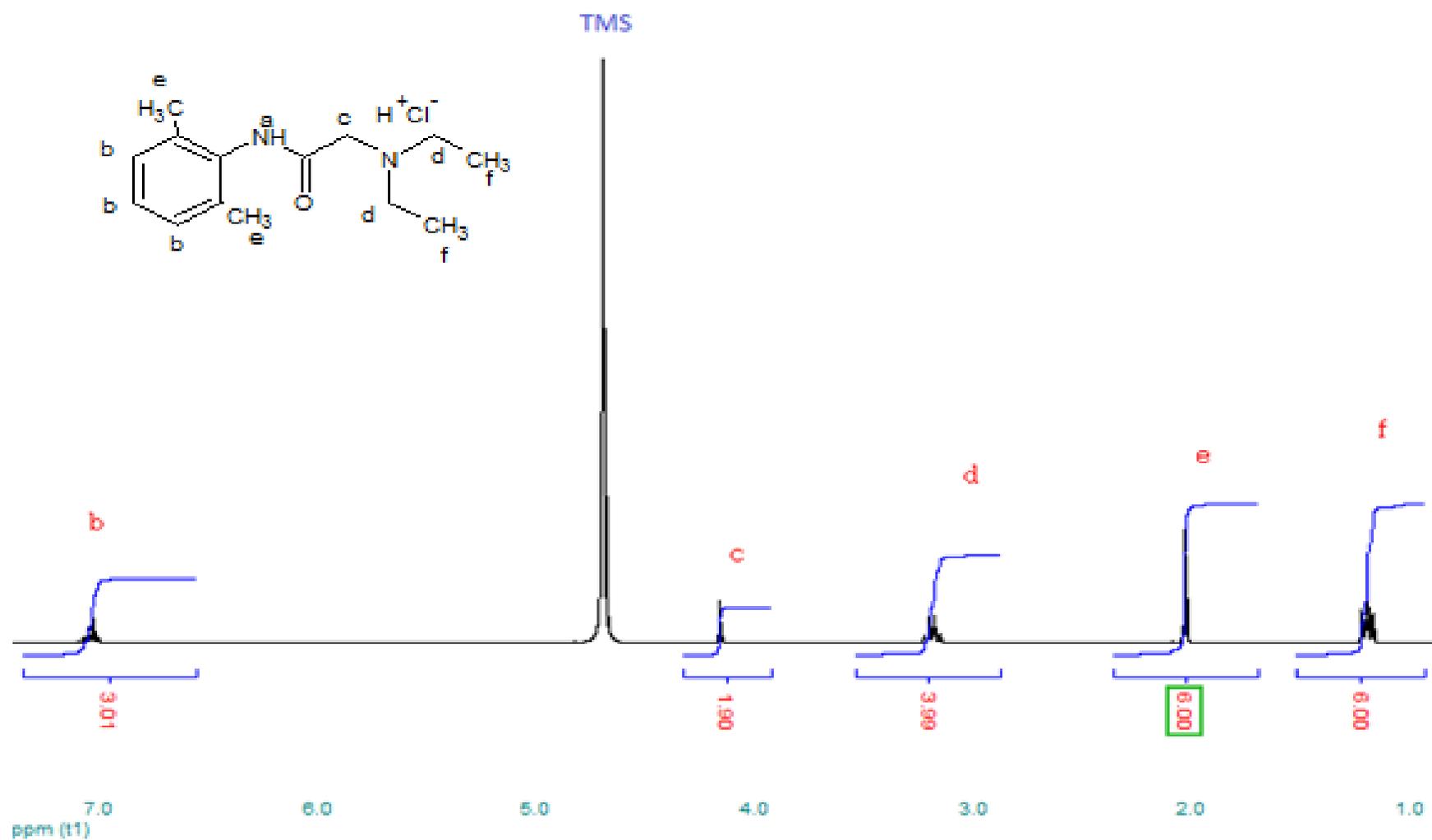


Figure III. 21. Spectre RMN du proton de la molécule hydrochlorate de Lidocaïne

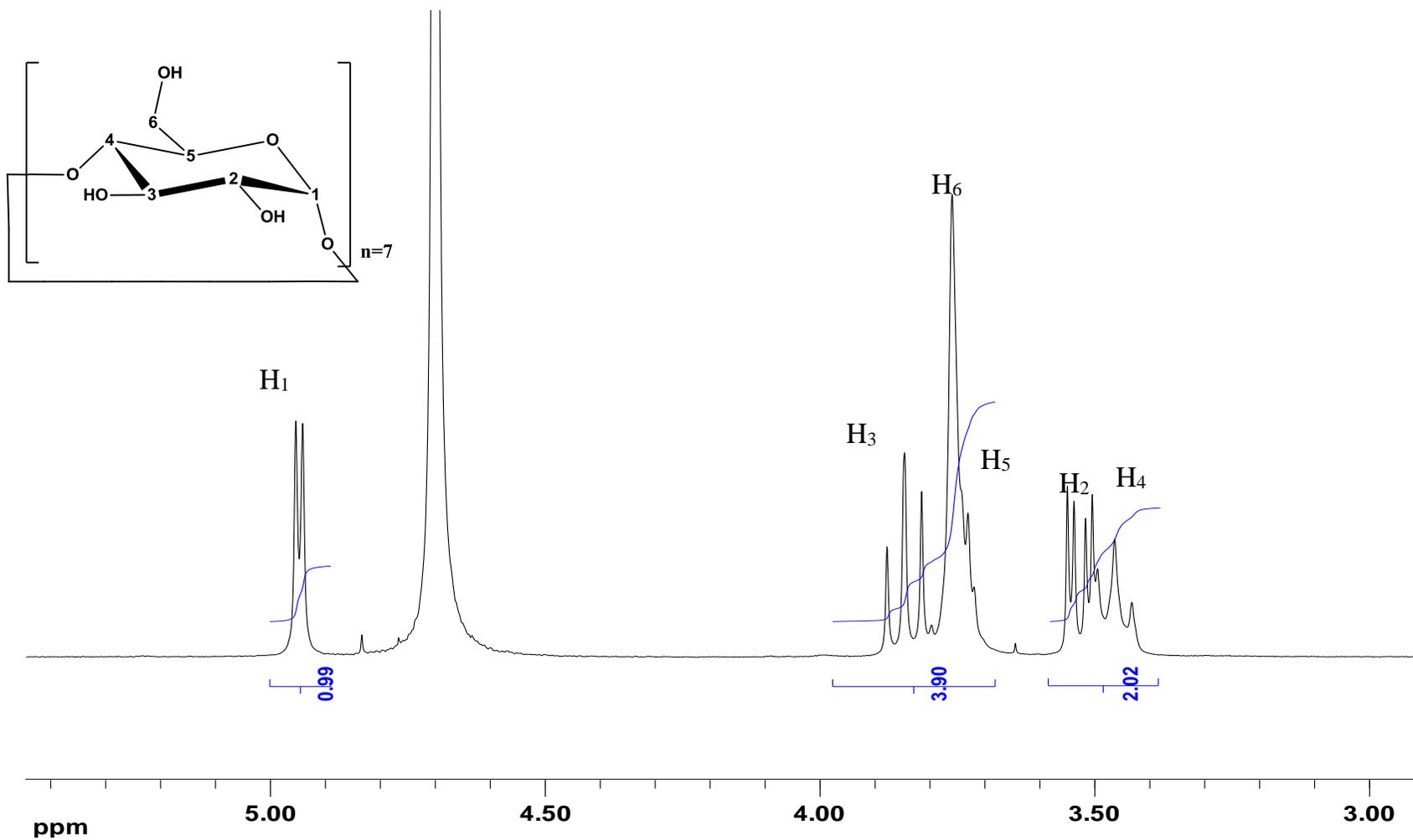


Figure III.22. Spectre RMN du proton de la molécule de β-CD

### Chapitre III      Caractérisation expérimentale des complexes d'inclusion

la  $\beta$ -CD est composé de sept 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>).

Il est évident que lors de la formation des complexes d'inclusions Lidoocaïne :cyclodextrine, un changement de l'environnement se produit pour les protons de la partie pénétrée de LidoHCl 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 lidoHCl avec  $\beta$ -CD comme le montre les données du tableau III.10.

**Tableau III.10.** Changements des déplacements chimiques des protons des espèces complexées lidoHCl/ $\beta$ -CD.

lidoHCl/ $\beta$ -CD	
proton	$\Delta\delta$
H <sub>a</sub>	-0.031
H <sub>b</sub>	-0.022
H <sub>c</sub>	0.040
H <sub>d</sub>	0.020
H <sub>e</sub>	-0.054
H <sub>f</sub>	0.008
H <sub>3</sub>	0.1
H <sub>5</sub>	0.2
H <sub>6</sub>	0.04

Les valeurs de décalage des protons invités ont tendance à présenter des changements appréciables lorsque la molécule invitée est incluse dans la cavité du  $\beta$ -CD. On peut voir à partir des données de <sup>1</sup>H RMN dans le tableau III.10, les valeurs de déplacements chimiques des protons phényle (H<sub>a</sub> et H<sub>b</sub>) et des protons méthyle (H<sub>c</sub> et H<sub>e</sub>) du lidoHCl décalés vers le bas jusqu'à 0,05 ppm dans le complexe LidoHCl/ $\beta$ -CD par rapport à la molécule de médicament libre correspondante. Ces résultats ont indiqué que la partie

### Chapitre III      Caractérisation expérimentale des complexes d'inclusion

phényle de la molécule lidoHCl interagit fortement avec la nanocavité CD et que les médicaments se sont insérés dans la cavité CD à partir de son bord le plus large. Au contraire, les protons aliphatiques de lidoHCl ( $H_d$  et  $H_f$ ) n'ont été que légèrement affectés après la complexation avec les CD, indiquant que ces protons de médicaments ne sont pas entrés dans la cavité hydrophobe du CD. Cependant, les valeurs de changement de déplacement chimique dans le complexe médicament/ $\beta$ -CD étaient supérieures, comme si la molécule de médicament interagissait étroitement avec la cavité  $\beta$ -CD qui a en fait le plus grand diamètre de la cavité. De plus, la valeur des changements de déplacement chimique était un peu plus grande dans la  $\beta$ -CD, peut-être en raison d'une inclusion étroite de médicament dans la cavité de la  $\beta$ -CD.

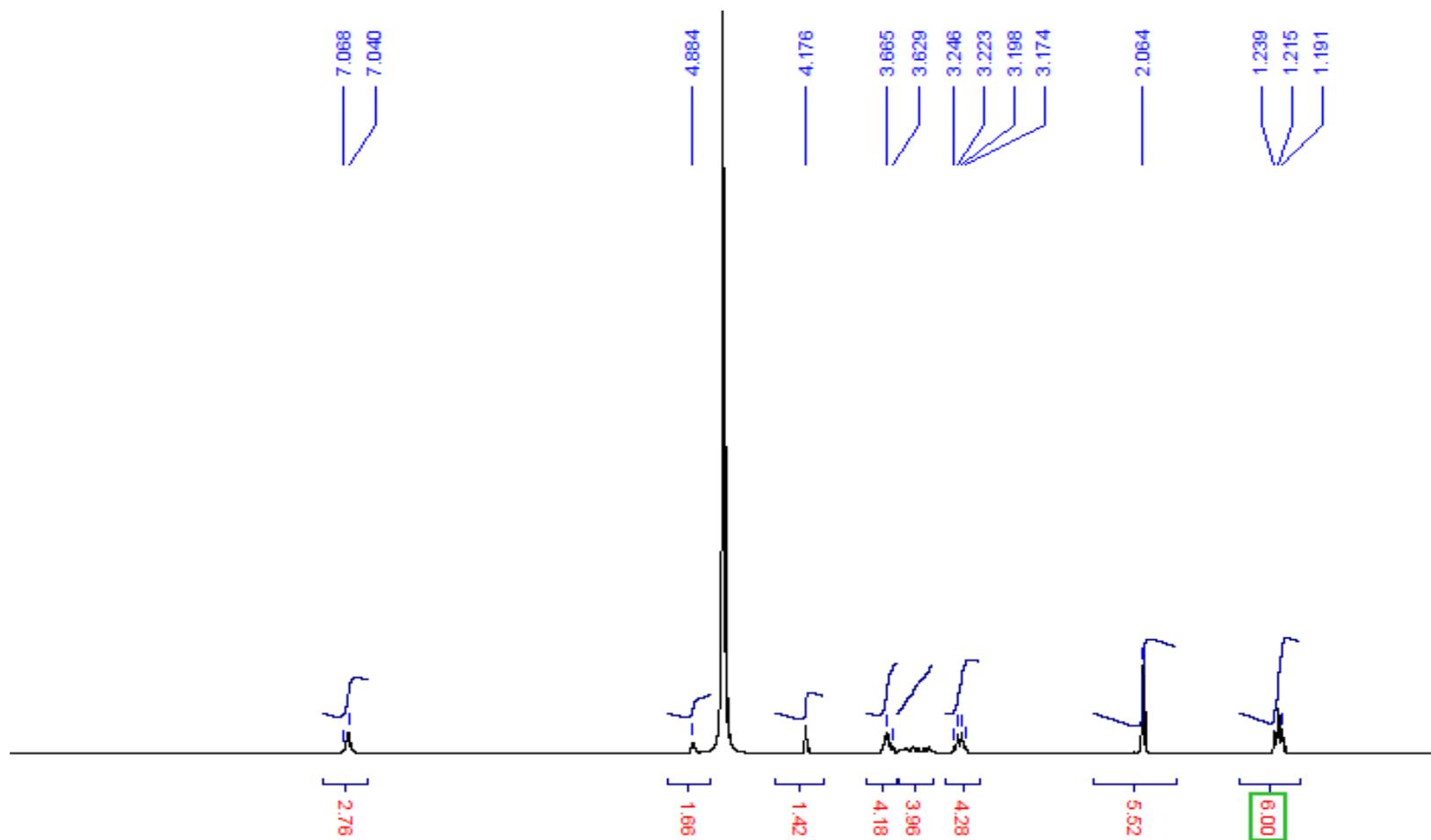


Figure III.23. Spectre RMN du proton du complexe LidoHCl/β-CD

## Chapitre III      Caractérisation expérimentale des complexes d'inclusion

### ➤ *Conclusion*

Dans cette partie d'étude, nous avons rapporté l'effet de solvant par examen des moments dipolaires de trois anesthésiques locaux à savoir dans divers mélanges de solvants. Les maxima d'absorption de ces anesthésiques locaux dépendent de la polarité du solvant. Les deux transitions  $\pi-\pi^*$  et  $n-\pi^*$  qui indiquent respectivement un déplacement bathochrome et hypsochrome sont observées lors de l'augmentation de la polarité des solvants pour les anesthésiques locaux étudiés. Nous avons constaté que les moments dipolaires à l'état excité des ALs, sont supérieurs à leurs homologues à l'état fondamental dans tous les solvants utilisés. Cela signifie clairement que les états excités de TetracHCl, ProcHCl et LidoHCl sont plus polaires que l'état fondamental. Ce changement de moment dipolaire lors de l'excitation peut s'expliquer en termes de nature de l'état d'émission ou de transfert de charge intramoléculaire. Aussi un grand changement du moment dipolaire à l'excitation suggère que l'état excité est un transfert de charge intramoléculaire torsadé (TICT) par nature. Ainsi, la présence d'un TICT important et l'augmentation de la planéité lors de l'excitation rendent la molécule plus polaire (par rapport à l'état fondamental), ce qui entraîne une modification importante du moment dipolaire lors de l'excitation.

# **Chapitre IV**

## **Résultats des méthodes de modélisation moléculaires**

#### IV. Résultats des méthodes de modélisation moléculaire

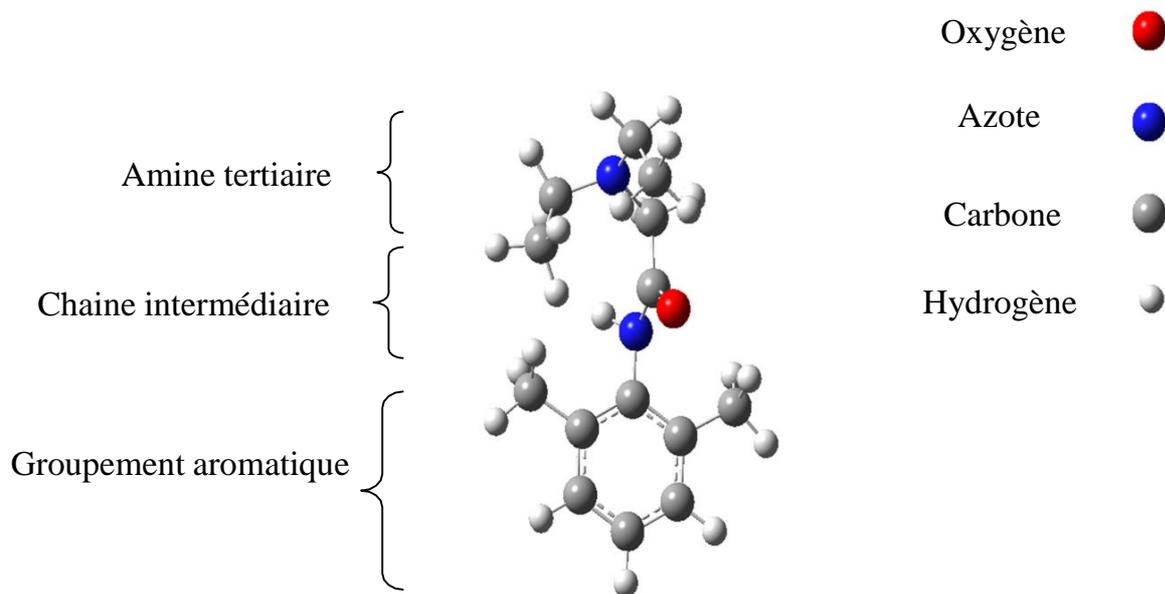
##### IV. 1. Introduction

Dans cette partie d'étude, seul le complexe d'inclusion de stœchiométrie 1:1 est tenu en considération (une molécule de CD encapsule une seule molécule de lidocaïne). Deux méthodes de modélisation moléculaire ont été utilisées pour étudier cette réaction de complexation :

- L'amarrage « docking » moléculaire pour examiner la capacité de  $\alpha$ -CD et de  $\beta$ -CD d'encapsuler la lidocaïne au sein de leurs cavités.
- Les méthodes de chimie quantiques pour étudier les réactions de complexation de la lidocaïne par les deux CDs citées auparavant en phase gazeuse et en présence de solvant. Une analyse de la surface de l'énergie potentielle « PES » est effectuée pour examiner les voies d'insertion et pour déterminer la configuration d'éventuels complexes d'inclusion résultants de la réaction entre la molécule de CD et la molécule invitée.

Ces méthodes permettent une description parfaite du phénomène d'inclusion de la lidocaïne dans les cavités de ces deux CDs en raison de leur qualité de résultats acceptables ainsi que la disponibilité des outils informatiques.

La molécule invitée (figure IV.1) est un anesthésique local de type amino-amide, connue sous le nom commercial par xylocaïne, largement utilisée en chirurgie mineure et qui bloque de manière réversible la conduction neuronale sensorielle (Becker et Reed, 2012 ; Dale *et al.*, 2016). Les effets indésirables pouvant survenir lors de l'utilisation de cette drogue peuvent être contournés par son encapsulation dans des excipients. Le choix de ces excipients est primordial et se fait de telle sorte que la drogue ne perde pas son activité biologique et puisse atteindre facilement l'organisme. Les CDs restent un des meilleurs excipients en raison de leur toxicité nulle et leur faible cout de production.



**Figure IV.1.** Structure moléculaire de la lidocaïne

Comme le montre cette représentation graphique, la structure de la lidocaïne est constituée de trois éléments : un groupement aromatique, une chaîne intermédiaire de type amide et une amine tertiaire. Le choix de cette espèce est basé sur le fait que cet anesthésique local trouve une application vaste dans la vie quotidienne et que les informations de sa complexation par les cyclodextrines restent insuffisantes malgré que des études ont été réalisées dans ce sens mais restent incomplètes, notamment celles qui décrivent sa complexation avec la  $\alpha$ -CD (Vasim *et al.*, 2014 ; Rajendiran, *et al.*, 2014 ; Surbhi *et al.*, 2016; Luciana *et al.*, 2004 ; Isabel *et al.*, 2011).

Les molécules hôtes ( $\alpha$ -CD et  $\beta$ -CD) qui font objet de cette étude sont des excipients de forme conique, appartiennent à la famille des oligosaccharides, elles sont largement utilisées pour encapsuler une grande variété de molécules car leurs cavités présentent un environnement favorable et une taille capable de recevoir de nombreux groupement fonctionnels (figure IV.2) (Wüpper *et al.*, 2021).

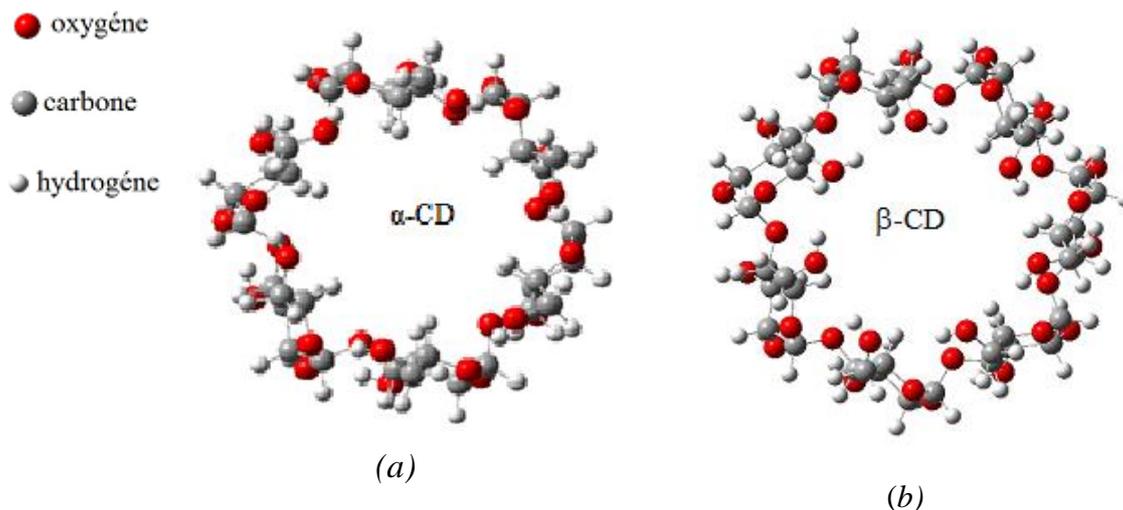


Figure IV.2. Structure moléculaire de (a)  $\alpha$ -CD et (b)  $\beta$ -CD

## IV.2. Méthodes de calcul

### a) Docking moléculaire

Le docking moléculaire est une technique intéressante qui permet d'examiner les interactions ligands-récepteurs. Cette technique nous amène alors à prédire les énergies de liaison entre la lidocaïne et deux CDs, 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). La structure de la lidocaïne est construite à l'aide du logiciel GaussView 3.0. Toutes les structures des composés sous investigation sont optimisées en utilisant la méthode PM3 implémentée dans Gaussian 09 (Frisch *et al.*, 2009). Dans la simulation de docking, la méthode de l'algorithme génétique Lamarkian est utilisée pour générer les interactions possibles entre les récepteurs rigides (CDs) et le ligand flexible (lidocaïne). Afin de rechercher les énergies d'interactions favorables entre les CDs et la lidocaïne, une grille a été choisie où la molécule de CD occupe le centre du box de dimensions  $60\text{\AA} \times 60\text{\AA} \times 60\text{\AA}$ . Le procédé de docking est effectué 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) Calcul de chimie quantique***

Le processus d'inclusion des principes actifs par les CDs constitue l'un des axes d'études où les méthodes de chimie quantique trouvent une application comme le montre les travaux de (Nassima *et al.*, 2012 ; Zaboub *et al.*, 2016 ; Yang *et al.*, 2019). Dans cette section d'étude, les calculs ont été effectués à l'état gaz et en présence de solvant (eau) en utilisant le programme Gaussian 09. La structure initiale de la lidocaïne a été construite à l'aide du logiciel GaussView 3.0 et celles de  $\alpha$ -CD et  $\beta$ -CD ont été prise de Chem-Office 3D (version 6.0 logiciel Cambridge). Les structures de la lidocaïne,  $\alpha$ -CD et  $\beta$ -CD, ont d'abord été optimisées séparément par la méthode PM3 pour obtenir les géométries optimisées requises pour faire l'approche entre elles (calcul de balayage 'SCAN'). Cette méthode semi-empirique est choisie car elle semble adéquate pour prévoir les propriétés énergétiques et spectroscopiques des systèmes moléculaires de grandes tailles comme les complexes d'inclusion car ses résultats ne présentent pas de défauts majeurs (Rafati *et al.*, 2007 ; Yang *et al.*, 2004). Après avoir optimisé les structures de départ, des calculs de fréquence ont été effectués pour confirmer que les géométries optimisées correspondent bien à des états stationnaires. Pour le processus d'insertion de la lidocaïne dans les cavités des CDs, deux voies possibles d'insertion seront prises en considération (figure IV.3):

- L'inclusion de l'anneau aromatique de la lidocaïne par la face secondaire des CDs,
- L'inclusion de l'amine tertiaire de la lidocaïne par la face secondaire des CDs.

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 0,25 Å. Pendant le processus d'insertion, les atomes de la CD sont tenus figés.

Après avoir le minimum d'énergie, une réoptimisation de la géométrie du complexe formé est effectuée en ne mettant aucune contrainte sur les coordonnées atomiques, suivi d'un calcul des fréquences des vibrations pour vérifier que la structure du complexe correspond à un état stationnaire (un minimum sans aucune fréquence imaginaire).

Le minimum d'énergie est estimé en termes de l'énergie de complexation et est définie par la relation suivante (eq. IV.1):

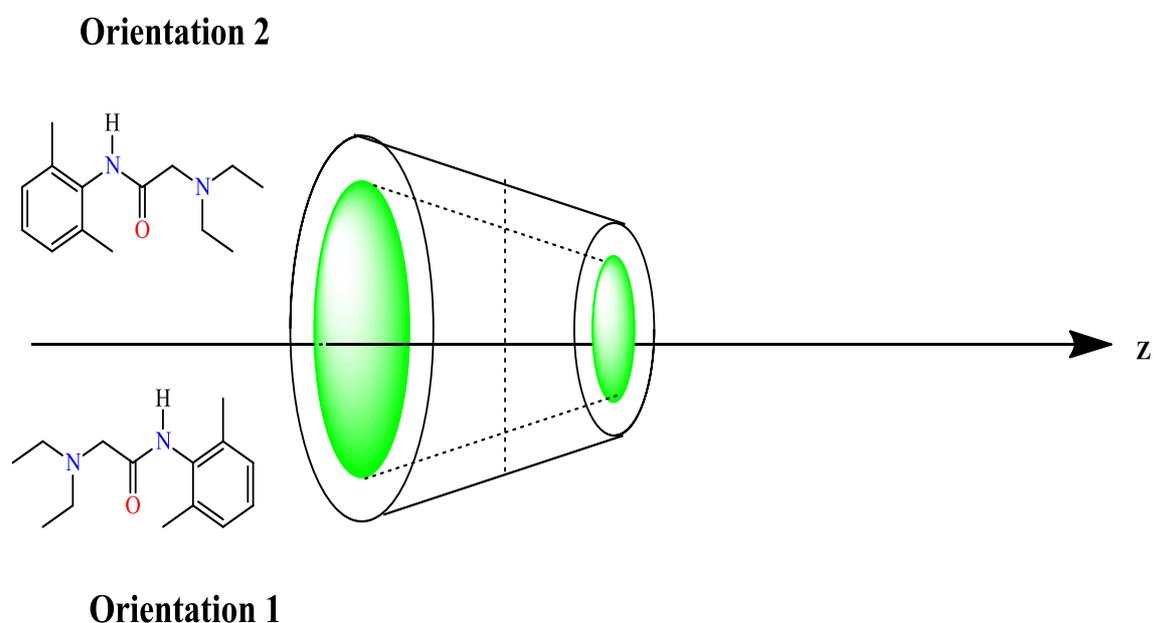
$$E(\text{complexation}) = E(\text{complex}1:1) - (E_{\text{opt}}(\beta\text{-CD}) + E_{\text{opt}}(\text{lidocaïne})) \quad (\text{IV.1})$$

où  $E(\text{complex})$ ,  $E_{\text{opt}}(\beta\text{-CD})$  et  $E_{\text{opt}}(\text{lidocaïne})$  dans l'équation IV.1 désignent respectivement, l'énergie du complexe 1:1, l'énergie optimisée de la CD libre et l'énergie optimisée de la molécule invitée libre (lidocaïne).

Lors du processus d'inclusion, la molécule invitée va subir une déformation qui résulte de son interaction avec la molécule de CD. Cette énergie de déformation est définie par:

$$E_{\text{déformation}} = E(G)_{\text{opt}}^{\text{sp}} - E(G)_{\text{opt}} \quad (\text{IV.2})$$

où  $E(G)_{\text{opt}}^{\text{sp}}$  est l'énergie de la structure de la lidocaïne tirée du complexe d'inclusion et  $E(G)_{\text{opt}}$  représente l'énergie de la géométrie de la lidocaïne optimisée au départ.



**Figure IV.3.** Processus d'insertion de la lidocaïne dans la cavité de la CD

Après avoir défini les complexes d'inclusion qui correspondent aux minima d'énergie sur la courbe d'énergie potentielle, un calcul plus précis est effectué sur sa structure par la méthode ONIOM dans le but d'obtenir la meilleure architecture du complexe formé en permettant par la suite une bonne description des interactions mises en jeu et donner ainsi une affinité de nos résultats. Dans cette approximation, deux méthodes de modélisation quantique sont combinées ; une méthode semi-empirique (PM3) et la

théorie de la fonctionnelle de la densité (DFT). L'ensemble du système (complexe) est divisé en systèmes à deux niveaux, le modèle (lidocaïne) et le système réel (complexe). Un calcul de haut niveau (DFT) est effectué pour le système modèle, tandis qu'un calcul de bas niveau (PM3) est effectué pour le modèle et le système réel. L'énergie ONIOM est définie par :

$$E_{\text{ONIOM}} = E_{\text{bas (Réel)}} + E_{\text{haut (Modèle)}} - E_{\text{bas (Modèle)}} \quad (\text{IV.3})$$

L'examen de l'effet du solvant sur la stabilité des complexes d'inclusion est un procédé qui simule le comportement de ses édifices moléculaires dans différents milieux environnementaux. L'introduction du solvant est basée sur le fait de représenter le solvant de manière implicite et cela pour modéliser les interactions électrostatiques dues au solvant, en plaçant le complexe dans une cavité entourée de molécules de solvant considérées comme un continuum. Le modèle de solvation utilisé 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 qui permet une solution analytique pour le calcul de l'énergie d'interaction entre le multipôle du soluté et celui du continuum.

Les forces intermoléculaires responsables de la stabilité des complexes d'inclusion sont des forces de faibles énergies car aucune liaison covalente n'est établie ou rompue. La détermination des interactions mises en jeu est effectuée en analysant les orbitales naturelles de liaisons NBO, pour (natural bond orbital). L'idée de cette théorie consiste à proposer un découpage de la densité électronique d'un système moléculaire pour décrire la structure électronique de la molécule selon un schéma de type Lewis. Ce découpage se fait comme suit :

- doublets non liant dans la couche de valence (LP)
- doublets de liaison résultant de la mise en commun par deux atomes de deux électrons situés dans des orbitales hybrides (BD).

La méthode NBO est implémentée dans le programme Gaussian et permet alors de mieux décrire les interactions intra et intermoléculaires en choisissant la DFT comme méthode de calcul. Le transfert de charge résulte des NBO occupées (donneurs) de type Lewis et les NBO innocupées (accepteurs) est estimé par la

## Chapitre IV Résultats des méthodes de modélisation moléculaire

théorie des perturbations du second ordre. Pour chaque NBO donneur (i) et accepteur (j), l'énergie de stabilisation est donnée par (Kavitha , 2010) .

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

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

Trois fonctionnelles d'échange et de corrélation sont choisies pour les calculs ONIOM et NBO :

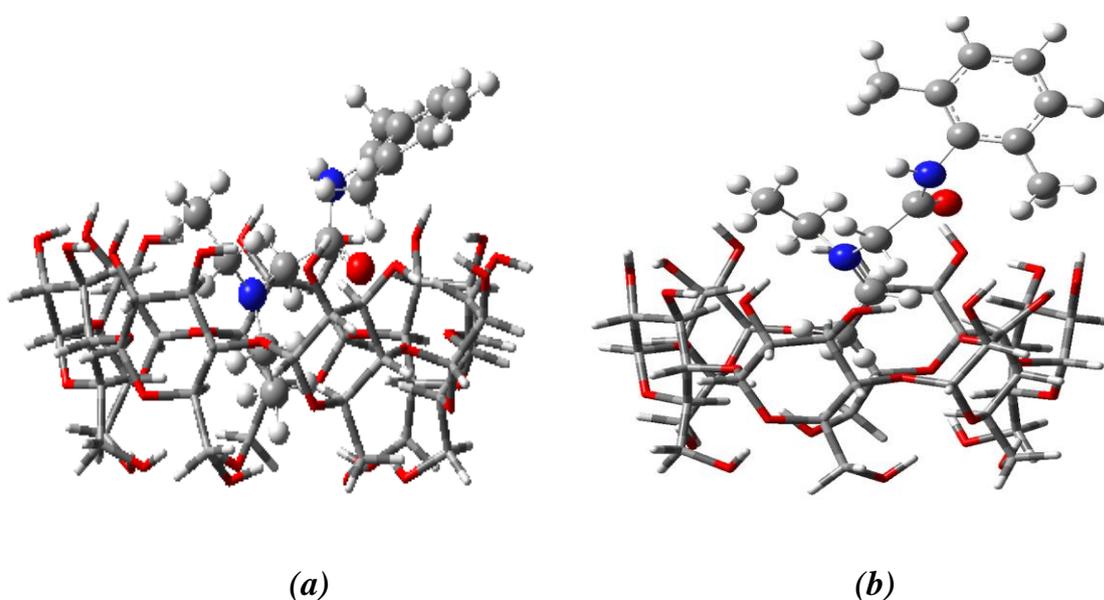
- B3LYP : la fonctionnelle la plus utilisée dans les calculs de chimie quantique en raison de son efficacité en qualité des résultats,
- wB97XD : la fonctionnelle de dispersion, utilisée pour étudier les interactions à longues distances.
- M06HF : fonctionnelle contenant 100% de l'échange de Hartree-Fock, elle est utilisée pour étudier le transfert de charge.

La base d'orbitales atomiques utilisée est 6-311g (d,p) ; une base étendue afin de mieux décrire les zones éloignées des noyaux.

## IV.3. Discussion des résultats

*Résultats du docking moléculaire*

Les structures des complexes d'inclusion obtenues lors des processus de docking moléculaire montrent que la lidocaïne pénètre partiellement par son groupement amine tertiaire ( $-N(C_2H_5)_2$ ) dans la cavité de  $\beta$ -CD (figures IV.4a). Ce résultat montre l'existence d'une adéquation entre la forme de la cavité de  $\beta$ -CD et la taille de cette drogue, tandis que l'inclusion de la lidocaïne 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 IV.4b). Ce résultat est en accord avec les résultats expérimentaux obtenus par (Shaikh *et al.* , 2014). La conformation du complexe formé est soumise à une optimisation par la méthode semi-empirique PM3 pour calculer les énergies de complexation et qui vaut -28.55 Kcal/mole.



**Figure IV.4.** (a) Structures des complexes lidocaïne:β-CD et (b) l'association lidocaïne:α-CD.

*Résultats des calculs de chimie quantique*

L'optimisation des géométries des réactifs et les calculs de fréquences de vibration ont été faits par la méthode PM3. La bonne géométrie correspond alors au minimum que l'on considère global. Les grandeurs énergétiques sont rassemblées

dans le tableau IV.1.

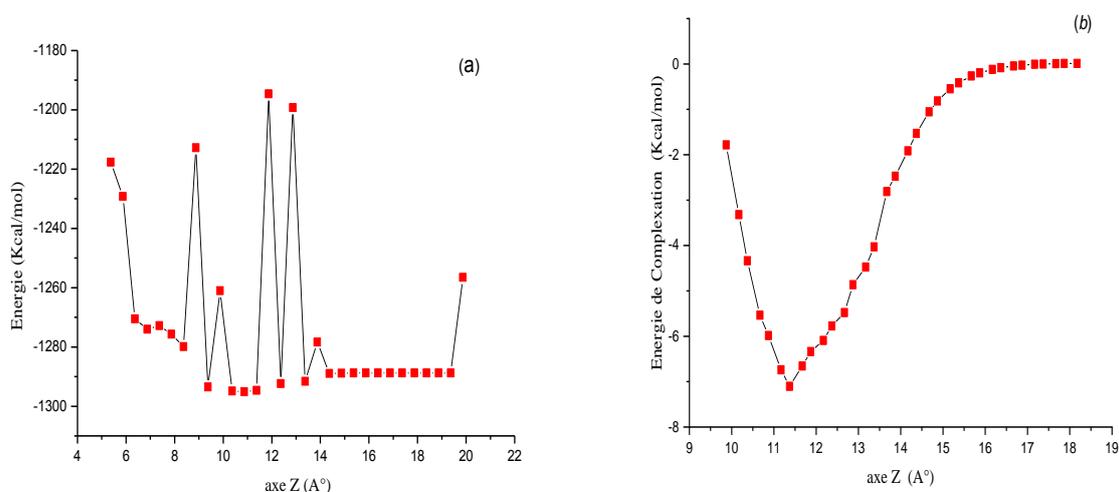
**Tableau IV.1 :** Grandeurs énergétiques de la lidocaïne,  $\alpha$ -CD et  $\beta$ -CD.

(T= 25 °C)	Lidocaïne	$\alpha$ -CD	$\beta$ -CD
Energie (kcal /mole)	-42.962	-1247	-1454.272
Ecart HOMO/LUMO (eV)	9.225	12.278	11.685
Moment dipolaire (D)	3.607	9.173	11.725

Les énergies des structures optimisées des trois espèces moléculaires sont de signes négatifs, cela signifie que les interactions intramoléculaires mises en jeu sont stabilisantes. Les écarts HOMO/LUMO sont significatifs favorisant ainsi une stabilité des structures de ces molécules. D'un autre côté, les trois molécules présentent des moments dipolaires non nuls, cette grandeur offre la possibilité de présence des interactions de faible énergies de type Keesom entre la lidocaïne et les CDs. Notons que les trois structures correspondent à des états stationnaires ce qui est justifié par l'absence d'aucune fréquence imaginaire. Les chemins réactionnels (calcul balayage « SCAN ») entre la lidocaïne et la molécule de CD sont étudiés par la méthode semi empirique PM3.

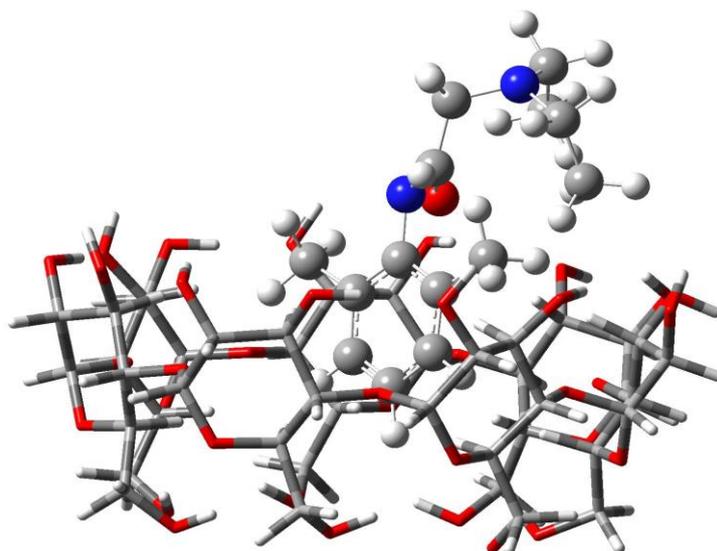
#### **Inclusion de l'anneau benzylique par la face secondaire.**

La surface d'énergie potentielle montre qu'aucun minimum n'est établi lors de l'interaction entre la lidocaïne et la  $\alpha$ -CD. Ce résultat est en accord avec celui obtenu par le docking moléculaire, tandis qu'un complexe d'inclusion de stœchiométrie 1:1 est obtenu lors de l'approche entre la lidocaïne et la  $\beta$ -CD (voir figure IV.5). Cette représentation graphique montre que le complexe à base de  $\beta$ -CD est plus stable par rapport aux structures de départ et cela se traduit par les valeurs négatives des énergies de complexation pour toutes les positions.



**Figure IV.5.** SCAN de l'inclusion de la lidocaïne dans la cavité de la  $\alpha$ -CD (a) et de l'énergie de complexation lors de l'inclusion de la lidocaïne avec son groupe aromatique dans la cavité de  $\beta$ -CD (b).

L'architecture du complexe formé est illustrée dans la figure IV.6. Il apparaît clairement que le complexe formé est de type hôte-invité. La pénétration de l'anneau benzylique n'est pas entière en raison de la présence de deux groupements méthyles en position ortho empêchant l'inclusion complète de cet anneau. Ce résultat donne l'impression que la réaction de dissociation peut avoir lieu. La partie de la molécule invitée restant 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 contient de l'amine tertiaire qui représente un pôle hydrophile. Il est important de noter ici que la pénétration intégrale de l'anneau benzénique de cette drogue est probablement possible dans une cavité de diamètre plus grand comme celle de la  $\gamma$ -CD.



**Figure IV.6.** Structure du complexe (1) 1:1

Les résultats tirés de calcul SCAN ainsi ceux obtenus par la méthode ONIOM sont rassemblés dans le tableau IV.2.

Le signe négatif de l'énergie du complexe formé, qui est de -1504.368 Kcal/mole, signifie que les interactions intra-moléculaires sont stabilisantes. Les énergies de complexation et d'interaction que ce soit à l'état gazeux ou en présence de solvant, sont négatives, ce qui indique que le résultat de complexation de la lidocaïne par  $\beta$ -CD est un produit stable. Ce résultat est confirmé par l'écart énergétique qui est plus ou moins significatif. D'un autre côté, l'énergie de déformation qui est de signe positif, montre qu'il existe des forces d'interaction exercées par la  $\beta$ -CD sur la lidocaïne et qui conduisent à une légère déformation de sa structure. Une énergie plus basse du complexe est obtenue (-1510.929 Kcal/mole) en n'imposant aucune restriction structurelle, c'est-à-dire les atomes de la  $\beta$ -CD ne soient pas figés.

De point de vue thermodynamiques, il apparaît que la réaction de complexation est

exothermique et qu'elle est favorisée thermodynamiquement en raison de la valeur négative de l'enthalpie libre de la réaction. Par ailleurs, la valeur négative de la variation de l'entropie montre que le processus de complexation donne un système structuré.

Les grandeurs énergétiques obtenues lors des calculs ONIOM indiquent que le bon minimum est obtenu en utilisant la fonctionnelle B3LYP, ce qui montre que la combinaison B3LYP/6-311G(d,p) : PM3 peut être sélectionnée comme le bon choix pour optimiser la structure du complexe d'inclusion. Les énergies électroniques obtenues par les deux autres fonctionnelles sont presque du même ordre de grandeur.

**Tableau IV.2.** Grandeurs énergétiques du complexe (1), obtenues à l'état gazeux et en présence de solvant.

Complexe (1)	Etat gazeux	En présence de solvant (eau)
Energie du complexe PM3 (Kcal/mole)	-1504.368	-1524.21
Energie de complexation (Kcal/mole)	-7.112	-7.128
Ecart HOMO/LUMO (eV)	9.215	9.43
Energie de d'interaction (Kcal/mole)	-16.164	-16.66
$\Delta rS^\circ$ (cal. K <sup>-1</sup> )	-64.653	-64.99
$\Delta rH^\circ$ (kcal/mole)	-349.477	-22.7
$\Delta rG^\circ$ (kcal/mole)	-285.253	-3.33
Energie de déformation (Kcal/mole)	1.123	-
E complexe PM3 (Kcal/mol) « sans aucune contrainte »	-1510.929	-1529.251
E ONIOM [B3LYP/6-311G(d,p): PM3] (Kcal/mole)	-466239.344	-
E ONIOM [M06HF/6-311G(d,p): PM3] (Kcal/mole)	-460449.539	-
E ONIOM [wB97XD/6-311G(d,p): PM3] (Kcal/mole)	-460445,554	-

### Analyse NBO du complexe (1)

Les résultats obtenus par les calculs NBO, en utilisant la méthode DFT et les fonctionnelles citées précédemment, permettent d'investiguer le type de forces

stabilisantes du complexe lidocaïne/ $\beta$ -CD (voir tableau IV.3).

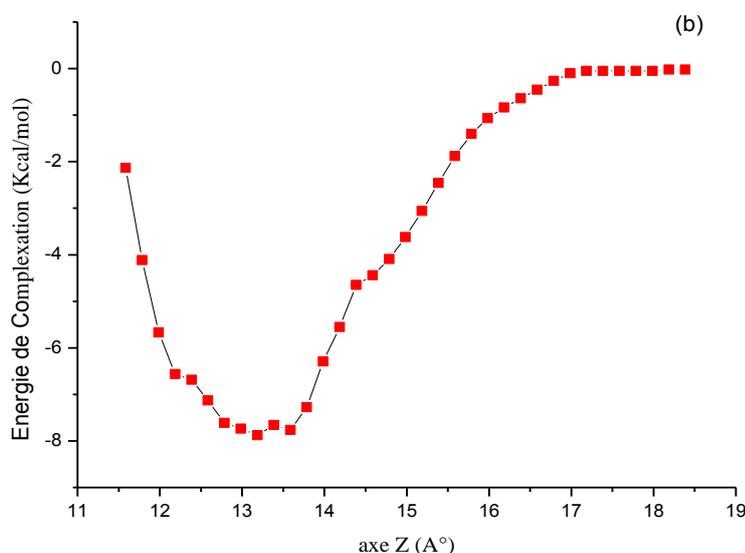
**Tableau IV.3.** Energies d'interaction  $E^{(2)}$  entre la lidocaïne et  $\beta$ -CD.

NBO donneur	NBO accepteur	
Lidocaïne donneur et $\beta$ -CD accepteur		M06HF /6.311G (d,p) (Kcal/mole)
$\sigma$ C157 - H162	$\sigma^*$ C9 – H87	2.17
Lidocaïne donneur et $\beta$ -CD accepteur		B3LYP/6-311(d,p) (Kcal/mole)
$\sigma$ C157 - H162	$\sigma^*$ C9 – H87	2.19
$\sigma$ C158 - H165	$\sigma^*$ C27- H107	2.08
Lidocaïne donneur et $\beta$ -CD accepteur		wB97XD/6-311(d,p) (Kcal/mole)
$\sigma$ C157 - H162	$\sigma^*$ C9 – H87	2.65
$\sigma$ C158 - H165	$\sigma^*$ C27- H107	2.29

L'analyse de ces résultats permet de conclure qu'aucune liaison hydrogène n'est établie entre ces deux espèces. Ce résultat est justifié par le fait que l'anneau benzylique ne comporte pas d'hétéroatomes électronégatifs liés à un atome d'hydrogène ce qui élimine la présence de ce type de force d'interaction. De ce fait, seules les forces de Van der Waals sont responsables de la stabilité du complexe formé comme le montre les résultats des calculs NBO dressés sur le tableau II.3. Le transfert de charge le plus important se fait entre les NBO occupées (donneurs)  $\sigma$  (C-H) de l'anneau benzylique et les NBO inoccupées (accepteurs)  $\sigma^*$  (C-H) de la cavité de  $\beta$ -CD. Les liaisons qui assurent ce transfert de charge sont les liaisons C-H des méthyles liés à l'anneau benzylique et les liaisons C-H de la  $\beta$ -CD orientées vers l'intérieur du cône (H-3 et H-5). Les valeurs énergétiques  $E^{(2)}$  les plus significatives sont de l'ordre de 2.17 - 2.65 Kcal/mole, ce qui suggère que les forces stabilisantes n'arrivent pas d'être très grandes, laissant ainsi une possibilité à la lidocaïne de se libérer facilement lors de son arrivée à l'organisme, une propriété importante dans la formulation des médicaments. La valeur de l'énergie  $E^{(2)}$  la plus importante est fournie par la fonctionnelle wB97XD, ce qui indique que cette dernière donne la bonne description des interactions à longue portée (phénomènes de dispersion).

**II.4. Inclusion du pôle « amine tertiaire (-N(C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)<sub>2</sub>) » par la face secondaire.**

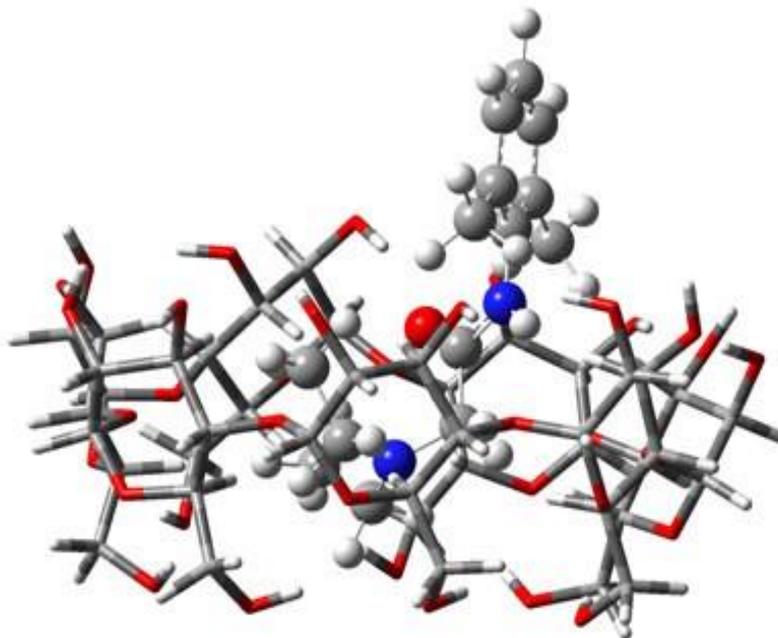
Dans cette partie, nous investiguons la possibilité d'encapsuler la partie iso (-N(C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)<sub>2</sub>) qui constitue le pôle hydrophile de la lidocaïne. Il est important de signaler que la lidocaïne est administrée sous sa forme protonée (lidocaïne,HCl) et que seule la forme non protonée traverse la membrane. La courbe d'énergie potentielle obtenue lors de l'approche et l'inclusion de cette partie dans la cavité de β-CD par la face secondaire est illustrée dans la figure IV.7.



**Figure IV.7.** Energie de complexation lors de l'inclusion de la lidocaïne par son groupement (-N(C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)<sub>2</sub>) dans la cavité de β-CD.

L'analyse de cette représentation graphique indique la présence d'un minimum d'énergie, donnant lieu à la formation d'un produit de complexation. Le complexe formé est énergétiquement stable car l'énergie de complexation est négative au minimum observé (-7.733 kcal/mole). Ce résultat indique que malgré de la taille assez importante de ce pôle, il y a possibilité de la formation d'un complexe de type hôte-invité, cependant le taux de pénétration de ce groupement dans la cavité de β-CD n'est pas assez important en raison de la l'effet stérique. Comme le montre la figure IV.8, aucune liaison covalente n'est formée entre la lidocaïne et la β-CD. La partie de la molécule hôte restant à l'extérieur de la cavité est probablement entourée

par d'autres molécules de  $\beta$ -CD et non pas par des molécules de solvant car cette partie représente un pôle hydrophobe.



**Figure IV.8.** Structure du complexe (2)

Les données tirées du calcul SCAN ainsi celles obtenues par la méthode ONIOM sont données dans le tableau IV.4.

L'image globale des résultats obtenus indique :

- Les énergies de complexation et d'interaction sont de signes négatifs, ce qui signifie que la lidocaïne forme un complexe stable avec la  $\beta$ -CD.
- L'optimisation de la géométrie du complexe, en utilisant la méthode PM3, sans aucune contrainte conduit à un minimum plus bas. ( $E = -1505.0658$ ).
- Le complexe formé est bien structuré, ce qui est justifié par la valeur négative de la variation de l'entropie  $\Delta S$ .
- L'énergie de déformation de la structure de lidocaïne est un signe de la présence d'un jeu d'interactions exercées sur lui par la  $\beta$ -CD.
- La variation de l'énergie libre standard  $\Delta rG^\circ$  est de signe négatif, cela est expliqué par le fait que la réaction de complexation est favorisée thermodynamiquement.

- Le processus de complexation est exothermique car la variation de l'enthalpie standard  $\Delta rH_f^\circ$  est de signe négatif.
- Encore une fois, la combinaison B3LYP /6-311G (d,p) : PM3 a conduit au bon minimum d'énergie.

**Tableau IV.4.** Grandeurs énergétique et thermodynamiques du complexe (2)

Complexe (2)	Etat gazeux	En présence de solvant (eau)
Energie du complexe (Kcal/mole)	-1504.98	-1524.3
Ecart HOMO/LUMO	11.68	11.9
Energie de complexation (Kcal/mole)	-7.733	-7.739
Energie de d'interaction (Kcal/mole)	-15.979	-16.01
$\Delta S$ (cal.k <sup>-1</sup> )	-68.026	-68.43
$\Delta H$ (kcal/mole)	-23.27	-23.48
$\Delta G^\circ$ (kcal/mole)	-3.00	-3.09
Energie de déformation	2.506	-
Energie du complexe PM3 (Kcal/mole) « sans aucune contrainte »	-1505.066	-1525.13
ONIOM [B3LYP/6-311G(d,p): PM3] (Kcal/mole)	-460599.809	-
ONIOM [M06HF/6-311G(d,p): PM3] (Kcal/mole)	-460449.343	-
ONIOM [wB97XD/6-311G(d,p):PM3] (Kcal/mole)	-460452.378	-

Nous notons que lorsque l'effet de solvation est pris en compte, l'énergie de complexation devient plus faible et la différence HOMO/LUMO devient plus importante pour les deux orientations. Le solvant est alors un facteur favorisant la réaction de complexation et peut affecter positivement la stabilité du complexe d'inclusion.

#### Analyse NBO du complexe (2)

A partir des résultats des calculs NBO du tableau IV.5, obtenus par l'utilisation des trois fonctionnelles B3LYP, wB97XD et M06HF, nous pouvons tirer les conclusions suivantes :

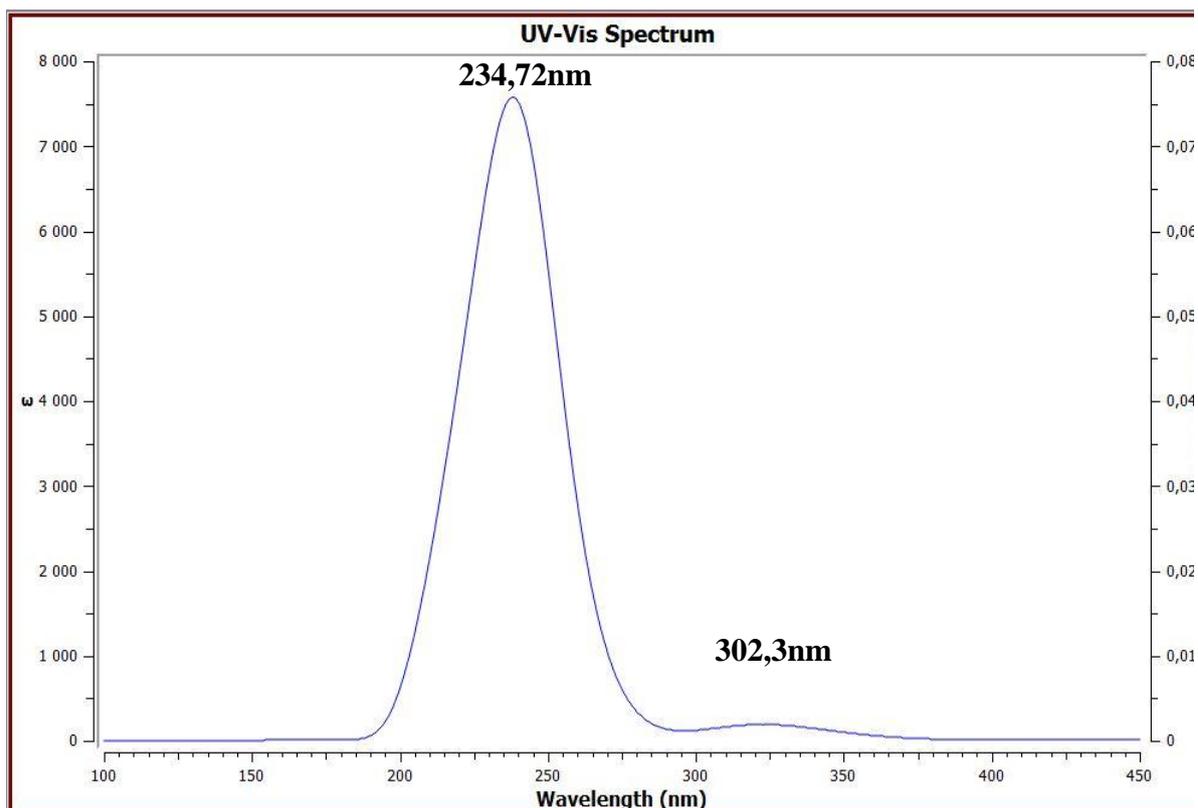
- Plusieurs sites d'interactions intermoléculaires ont été signalés par rapport au nombre des interactions mises en jeu dans le complexe (1). Cela donne l'impression que le mécanisme d'insertion qui conduit au complexe (2) est relativement plus favorisé,
- Aucune liaison hydrogène n'est établie entre la lidocaïne et la  $\beta$ -CD. Ce résultat est justifié par le fait que les doublets non liants de l'atome d'azote du groupement amine tertiaire n'entre pas en interaction avec les atomes de la molécule hôte, il en est de même pour l'azote et l'oxygène de la chaîne intermédiaire.
- Toutes les interactions stabilisantes sont de type de Van der Waals. Le complexe (2) est stabilisé par le transfert de charge mutuel entre les NBO occupées (donneurs)  $\sigma(\text{C-H})$  et les NBO inoccupées (accepteurs)  $\sigma^*(\text{C-H})$  et également entre une NBO donneur  $\sigma(\text{C-H})$  et les NBO accepteur  $\sigma^*(\text{N-H})$ ,
- Les valeurs des énergies d'interaction  $E^{(2)}$  sont de l'ordre de 2 à 2.61 Kcal/mol. Cet ordre de grandeur est à peu près considéré comme une énergie moyenne d'une interaction de Van der Waals et loin d'être classé comme une énergie de liaison forte (covalente),
- Les valeurs énergétiques les plus significatives sont fournies par le calcul NBO dont la fonctionnalité wB97XD est choisie comme méthode de calcul. Les résultats obtenus en utilisant la fonctionnelle M06HF et B3LYP sont moins descriptifs des interactions intermoléculaires par rapport aux résultats fournis par la fonctionnelle de dispersion wb97XD.

**Tableau IV.5.** Energie d'interaction  $E^{(2)}$  de type donneur-accepteur

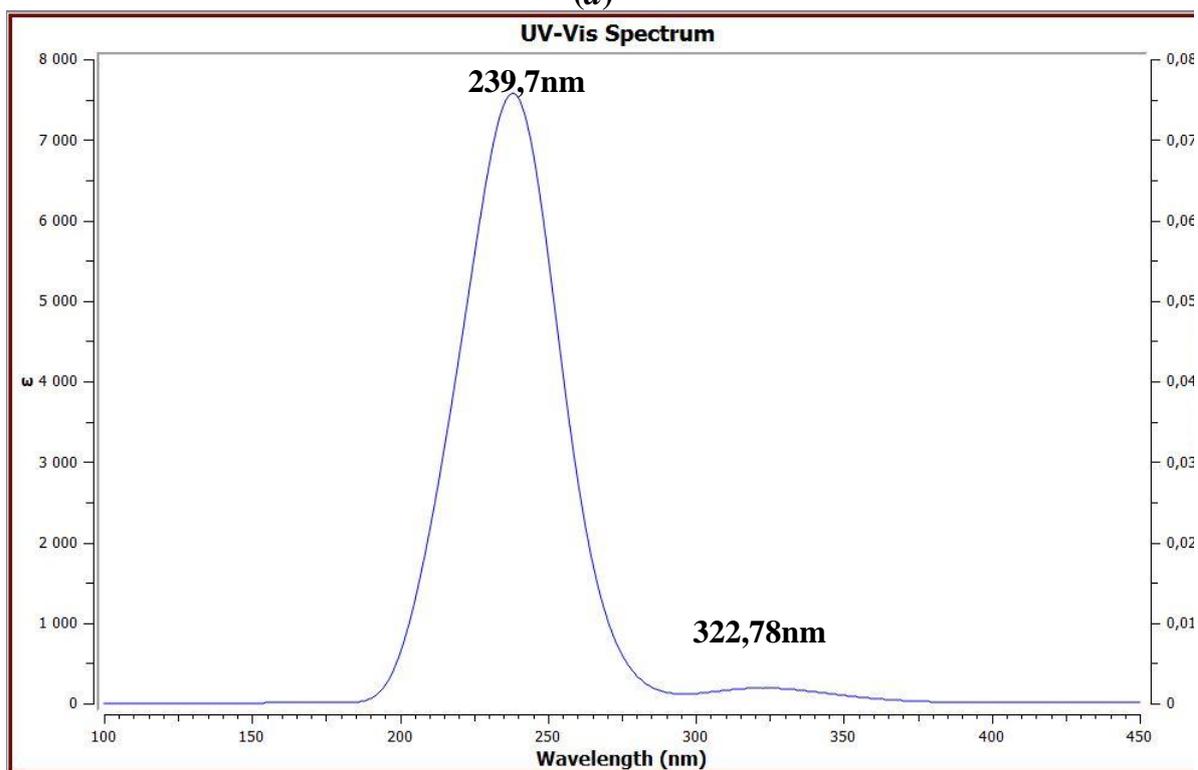
NBO donneur	NBO accepteur	
lidocaïne donneur et $\beta$ -CD accepteur		<b>M06HF/6.311G(d,p) (Kcal/mol)</b>
$\sigma$ C149 - H159	$\sigma^*$ C23 – H102	2.14
lidocaïne donneur et $\beta$ -CD accepteur		<b>B3LYP/6-311(d,p) (Kcal/mol)</b>
$\sigma$ C155 - H157	$\sigma^*$ C35 – H116	2.0
$\beta$ -CD donneur et lidocaïne accepteur		
$\sigma$ C15 – H93	$\sigma^*$ N168- H169	1.96
lidocaïne donneur et $\beta$ -CD accepteur		<b>wB97XD/6-311(d,p) (Kcal/mol)</b>
$\sigma$ C149 - H159	$\sigma^*$ C23 – H102	2.61
$\sigma$ C149 - H160	$\sigma^*$ C29- H109	2.12
$\sigma$ C151 - H153	$\sigma^*$ C27- H107	2.01
$\sigma$ C163 - H164	$\sigma^*$ C17- H95	2.0
$\sigma$ C163 - H165	$\sigma^*$ C11- H89	2.04
$\sigma$ C177 - H182	$\sigma^*$ C3- H80	2.17
$\beta$ -CD donneur et lidocaïne accepteur		
$\sigma$ C15 – H93	$\sigma^*$ N168- H169	2.07

### Analyse des transitions électroniques

Les calculs TD-DFT permettent de prévoir l'effet de changement de l'environnement sur les variations des longueurs d'ondes de transition. Comme le montre le spectre théorique UV-Vis de la lidocaïne présenté sur la figure IV.9a, deux pics centrés sur les longueurs d'ondes de transition 234.72 et 302.3 nm sont observés, attribués aux transitions électroniques liées aux chromophores C=O, C=C et au doublet non liant de l'atome d'azote. En présence de la  $\beta$ -CD et lorsque le complexe est formé, Un effet bathochromique est observé, correspondant à un déplacement de longueur d'onde maximale de 20.48, (figure IV.9). Ce résultat s'explique par la diminution de la délocalisation électronique au sein de la molécule invitée à l'état complexée conduisant ainsi à un déplacement des transitions électroniques vers des longueurs d'onde plus grandes. Ces nouvelles transitions résultent principalement du changement de polarité autour de la lidocaïne.



(a)



(b)

**Figure IV.9.** (a) Spectres théoriques d'absorption de la lidocaïne libre et (b) la lidocaïne complexée par  $\beta$ -CD.

Les énergies calculées des états excités, la force de l'oscillateur, les transitions électroniques et leurs contributions en pourcentage à la fonction d'onde de l'état excité, obtenues par le niveau de calcul B3LYP/6-31G (d, p), sont rassemblés dans le tableau IV.6.

**Tableau IV.6 :** Transitions électroniques de groupements chromophores de la lidocaïne obtenues en présence de la  $\beta$ -CD.

	$\lambda$ (nm)	E (eV)	Configuration
Complexe (1) (Lidocaïne/ $\beta$ -CD)	239.7	5.1723	H-15 $\longrightarrow$ L (21.78) H-2 $\longrightarrow$ L (33.53) H-1 $\longrightarrow$ L (20.62) H-1 $\longrightarrow$ L+1 (13.68)
	322.78	3.8411	H $\longrightarrow$ L (92.88%) H $\longrightarrow$ L+3 (5.44)

Les transitions électroniques H  $\longrightarrow$  L et H-2  $\longrightarrow$  L sont celles qui ont des contributions plus élevées dans les bandes 322.78 et 239.7nm respectivement. Il est clair que l'énergie de transition électronique de la bande qui correspond à la longueur d'onde maximale est faible, donc cette transition est plus permise.

### Analyse des fréquences de vibration

La spectroscopie infra-rouge (IR) est l'une des techniques utilisées pour caractériser les complexes d'inclusion car elle peut mettre en évidence les sites d'interactions mis en jeu. Les spectres théoriques IR, obtenus par la méthode PM3, sont illustrés sur les figures IV.10 et IV.11.

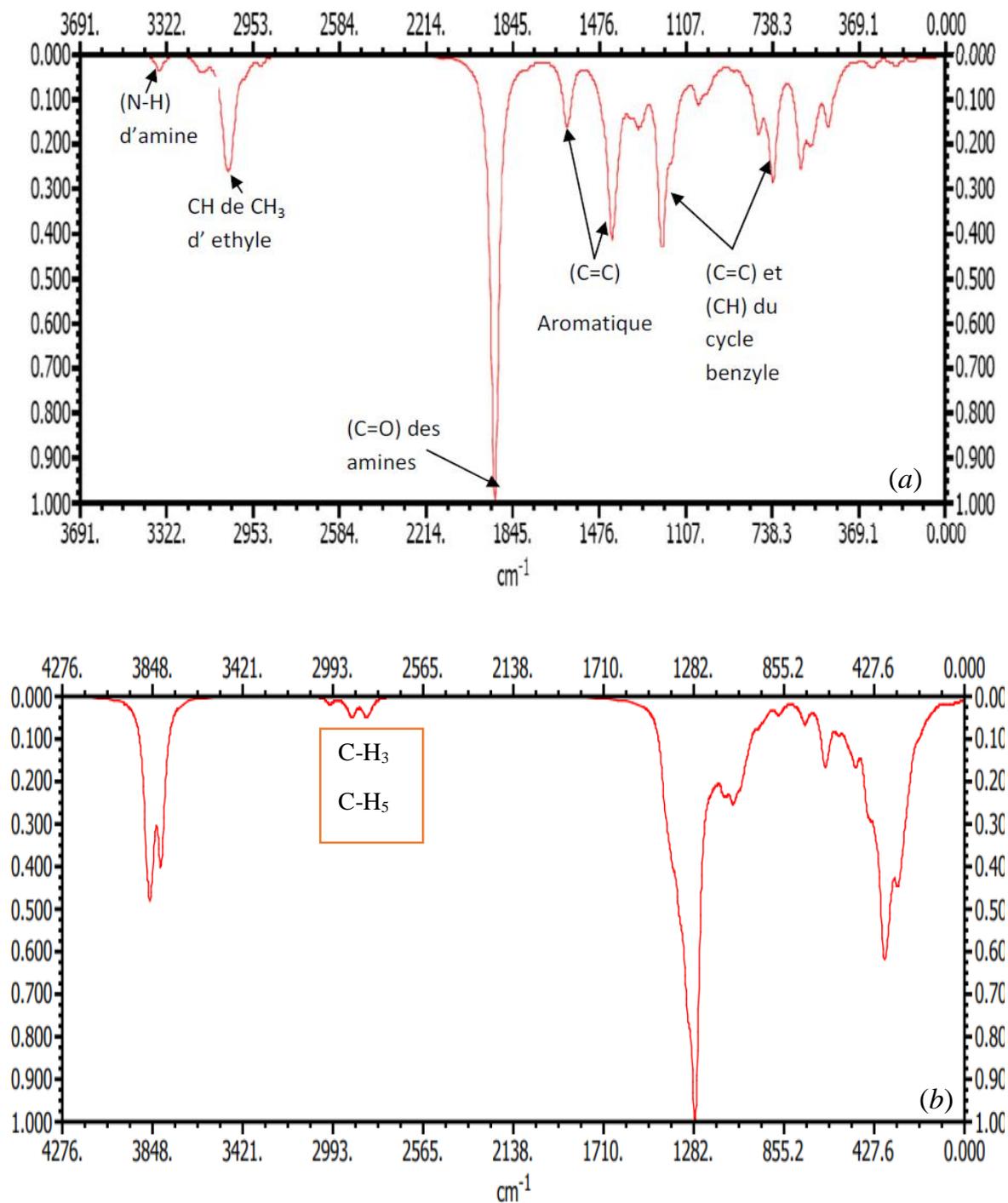
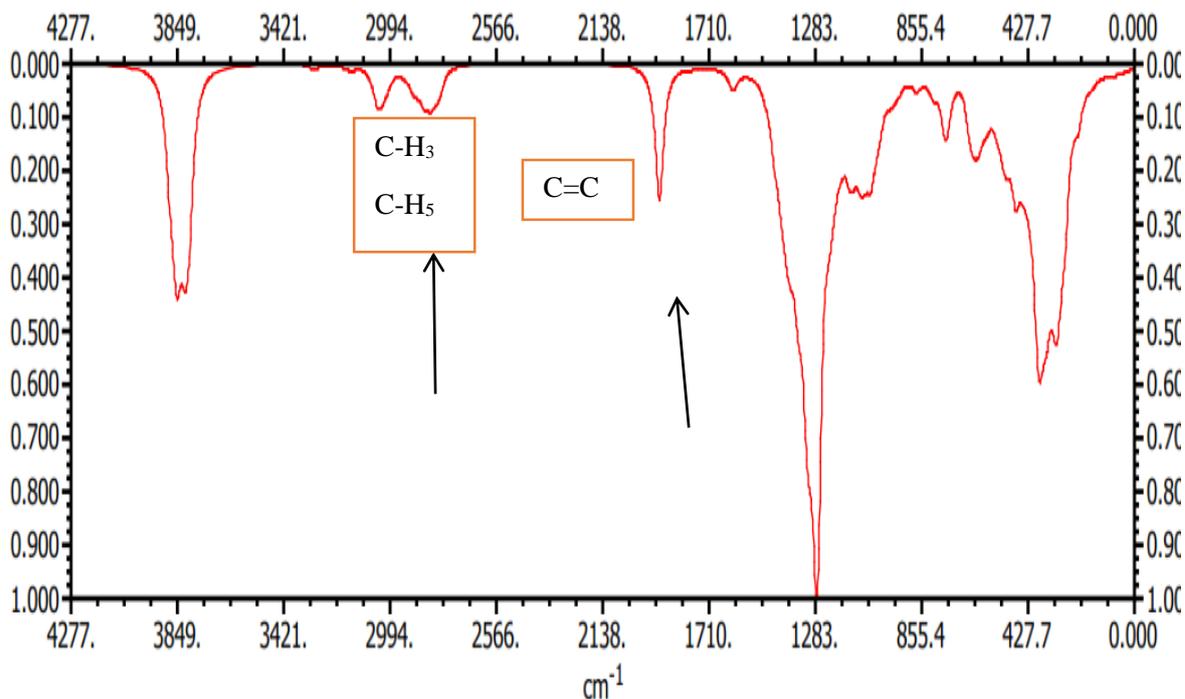


Figure IV.10 : Spectre IR de (a) Lidocaine et (b)  $\beta$ -CD



**Figure IV.11** : Spectre IR du complexe (1)

L'examen des fréquences de vibration des fragments impliqués directement dans le processus d'association entre lidocaïne et la  $\beta$ -CD montre que :

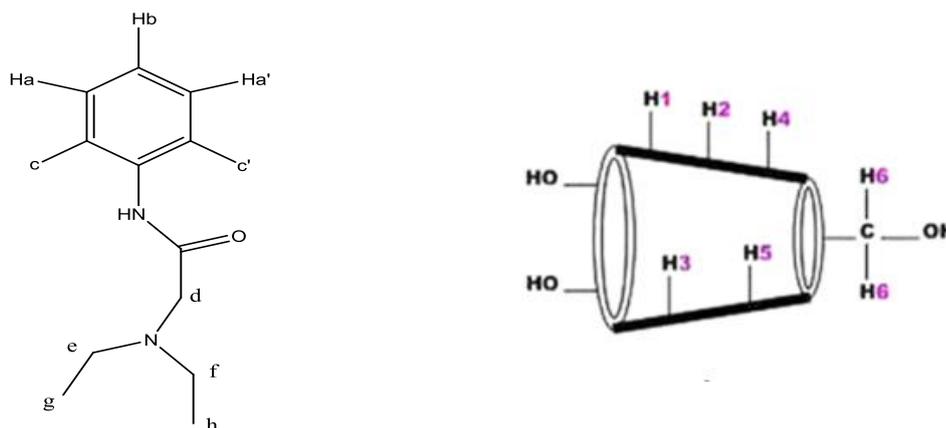
**Complexe (1)** : La partie de la lidocaïne incluse dans la cavité de cette CD comporte les groupements : C=C et C-H du cycle aromatique et C-H des groupements méthyles. Les pics correspondants ont pour fréquences de vibration 1789.21, 3050.67 et 3166.47  $\text{cm}^{-1}$  respectivement. Les pics légèrement affectés lors de processus d'inclusion sont attribués aux élongations des groupements C-H du cycle aromatique et C-H du groupement méthyle. Tandis qu'aucun déplacement n'est enregistré pour le pic qui correspond à l'élongation C=C (voir tableau IV.7). D'un autre côté, les modes d'élongation des deux groupements (C-H<sub>5</sub> et C-H<sub>3</sub>) de la cavité de la  $\beta$ -CD sont également affectées lors du phénomène d'inclusion avec une déviation maximale observée égale à 16.61  $\text{cm}^{-1}$ . La réduction des fréquences de vibration des groupements mis en jeu dans le processus d'inclusion est expliquée par les forces d'interaction exercées réciproquement par  $\beta$ -CD et de la lidocaïne et qui stabilisent les complexes formés.

**Tableau IV.7 :** Fréquences de vibration affectées par le processus d'association entre lidocaïne et la  $\beta$ -CD.

	Groupement	Fréquence à l'état libre ( $\text{cm}^{-1}$ )	Fréquence à l'état complexé ( $\text{cm}^{-1}$ )	Déviations des fréquences de vibration $\Delta\nu$ ( $\text{cm}^{-1}$ )
<b>Complexe (1)</b>				
Lidocaïne	C-H <sub>aromatique</sub>	3050.67	3032.12	18.55
	C-H <sub>méthyle</sub>	3166.47	3153.38	13.09
	C=C <sub>aromatique</sub>	1789.21	1788.05	Pas de déviation
$\beta$ -CD	C-H <sub>5</sub> et C-H <sub>3</sub>	[2803.9 - 2912.21]	[2795.16 - 2895.6]	[8.74 – 16.61]

### Analyse des déplacements chimiques

Dans une réaction de complexation par les CDs, la  $^1\text{H}$  RMN permet d'examiner les variations des déplacements chimiques lors de ce processus. La molécule de lidocaïne comporte 22 protons et la  $\beta$ -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>. Il est évident que lors de la formation des complexes d'inclusions lidocaïne/cyclodextrine, un changement de l'environnement se produit pour les protons de la partie incluse de la lidocaïne dans la cavité de la  $\beta$ -CD et pour les protons H<sub>3</sub> et H<sub>5</sub> de cette CD. Les calculs des déplacements chimiques des protons sont effectués par la méthode B3LYP/6-311G(d,p) en utilisant le modèle GIAO. Les signaux des déplacements chimiques des protons H<sub>3</sub> et H<sub>5</sub> de la CD sont décalés vers les champs forts avec des maximums de déplacements  $\Delta\delta_{\text{max}}$  vaut respectivement 1.049 et 0.436 ppm. Le déplacement vers les champs faibles des signaux des protons de la molécule invitée impliqués dans la complexation est souvent dû au changement de la polarité de son environnement (Ribeiro *et al.*, 2005). En fait, des déviations des déplacements chimiques des protons (H<sub>a</sub>, H<sub>a'</sub>), H<sub>b</sub> et (H<sub>c</sub>, H<sub>c'</sub>) lors de la complexation de l'anneau aromatique de la lidocaïne dans la cavité de la cyclodextrine (voir figure IV.12 et tableau IV.8).



**Figure IV.12.** Désignation des protons de la lidocaïne et de la  $\beta$ -CD

**Tableau IV.8.** Changements des déplacements chimiques des protons de la lidocaïne et de la  $\beta$ -CD.

Lidocaïne libre		Dans le complexe	$\Delta\delta_{\max}$ (ppm)
proton	$\delta$ (ppm)	$\delta$ (ppm)	
H <sub>a</sub> , H <sub>a'</sub>	7.24, 7.329	7.696, 8.13	0.801
H <sub>b</sub>	7.17	7.63	0.46
H <sub>c</sub> , H <sub>c'</sub>	1.954-3.485	3.915- 2.5	0.546
	$\beta$ -CD libre	Dans le complexe	
H <sub>3</sub>	4.03-4.44	3.163-3.391	1.049
H <sub>5</sub>	4.08-4.44	3.644-4.66	0.436

### Analyse de l'effet de solvant sur les propriétés spectrales de la lidocaïne

Le changement de l'environnement chimique peut affecter légèrement ou modérément les informations spectrales comme l'absorbance. Dans cette partie d'étude, nous discutons le changement de la polarité du milieu environnant de la lidocaïne sur la variation de son absorbance et sur le déplacement des transitions électronique de ses chromophores. Quatre solvants ont été choisis : l'eau, éthanol, dioxane et DMSO. Les résultats des calculs effectués par la méthode B3LYP/6-311G(d,p) sont donnés dans le tableau IV.9.

**Tableau IV.9.** Longueurs d'ondes des transitions électroniques de la lidocaïne en présence de différents solvants.

	eau	éthanol	DMSO	1,4-dioxane
Longueur d'onde de transition $\lambda_{\max}$ (nm)	234.72	237.21	237.26	237.97
Forces d'oscillation	0.1508	0.1475	0.1527	0.1249

Les résultats obtenus montrent que l'augmentation de la polarité du milieu environnant de la lidocaïne conduit à un effet bathochrome. La même constatation a été notée lorsque cette molécule est entourée par un milieu apolaire (1,4-dioxane). Ce résultat peut être justifié par le fait que la lidocaïne est une espèce amphiphile ; c'est-à-dire que cette espèce interagit physiquement avec des solvants polaires ou apolaires. Ces interactions vont modifier légèrement la différence d'énergie entre état fondamental et état excité. En effet, lorsque la partie hydrophobe ou hydrophile de la molécule invitée pénètre dans la cavité de la cyclodextrine, un décalage des longueurs d'ondes  $\lambda_{\max}$  vers des valeurs légèrement plus grandes est envisagé (effet bathochromique). Ce résultat reflète ce qui est trouvé dans les mesures UV-Vis.

L'ensemble des résultats trouvés dans ce travail indiquent que la lidocaïne pénètre partiellement par ses deux pôles dans la cavité de la  $\beta$ -CD formant des complexes d'inclusion, cependant l'inclusion de cette drogue dans la cavité de cette CD est partielle en raison de l'effet de taille. Les complexes formés soit par l'insertion de l'anneau benzylique ou le groupement iso ( $-\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_2$ ) sont stabilisés par des interactions de faibles énergies (forces de Van der Waals) comme le montrent les résultats des calculs NBO. Il est probable que la conjugaison des électrons  $\pi$  au sein de la lidocaïne favorise le transfert de charge intramoléculaire ce qui rendra assez faible les énergies d'interaction.

# Conclusion

## Conclusion générale

Cette étude s'intègre dans le contexte global de l'étude des réactions de complexation de certains anesthésiques locaux par des cyclodextrines. Les travaux réalisés dans cette thèse ont apporté des résultats encourageants sur l'intérêt des CDs pour encapsuler les produits pharmaceutiques. La présente étude confirme également que des méthodes de caractérisation expérimentales ainsi que des méthodes de modélisation moléculaires peuvent fournir assez d'informations sur le processus d'inclusion.

Dans la première phase de cette étude, la caractérisation physico-chimique des complexes d'inclusion permettent de tirer les informations suivantes : constante d'association, spectres UV-Vis, spectres de fluorescence, spectres RMN, les données planimétriques (rotation molaire optique) et l'effet de l'environnement chimique sur la longueur d'onde de transition électronique. Il s'est avéré que la capacité des CDs d'encapsuler les anesthésiques locaux est liée principalement aux paramètres géométriques de la CD et de la molécule invitée. Il apparaît également que les résultats des mesures polarimétriques montrent des variations assez notables de l'angle de rotation molaire optique, justifiant ainsi un changement de l'environnement des atomes de carbone asymétriques lors de la réaction de complexation. Les meilleurs résultats sont obtenus pour les couples CD :AL (amino-ester). Les valeurs des constantes d'association obtenues par cette technique et par les méthodes spectroscopiques (UV-Vis et fluorescence) sont de même ordre de grandeur.

Le changement de la polarité de l'environnement autour des molécules sous investigation indique qu'un déplacement assez remarquable des transitions électroniques vers des longueurs d'ondes de plus grandes valeurs en diminuant la polarité du milieu notamment pour les AL de type amino-ester.

Les calculs de chimie quantique et le docking moléculaire, qui constituent la deuxième phase de ce travail, nous a permis de rationaliser la structure électronique et la géométrie des complexes lidocaïne/CD aussi bien dans le vide que dans l'eau. Les résultats de ces calculs montrent que la  $\beta$ -CD a la capacité de complexer la lidocaïne, tandis que l'effet stérique n'était pas en faveur de l'inclusion de cette espèce dans la cavité de  $\alpha$ -CD. Cette étude computationnelle a permis de tirer les informations suivantes :

- la pénétration des deux groupements de la lidocaïne dans la cavité de  $\beta$ -CD n'est

## Conclusion générale

- pas entière ce qui est justifié par les énergies de complexation qui sont assez faible,
- les données thermodynamiques montrent que la réaction de complexation est favorisée thermodynamiquement et que les complexes formés sont structurés,
  - La réaction de complexation dans l'eau est nettement plus favorable que celle dans le vide, mettant en évidence ainsi l'effet du solvant.
  - la méthode ONIOM permet d'affiner les résultats obtenus par la méthode PM3 et la combinaison B3LYP/6-311G (d,p) : PM3 a fourni de bons résultats pour l'optimisation des géométries des complexes d'inclusion,
  - l'analyse des orbitales naturelles de liaisons (NBO) montre que les interactions de Van der Waals entre la lidocaïne et le  $\beta$ -CD sont des interactions déterminantes et contribuent à la stabilité globale des complexes formés.

Dans l'ensemble, les résultats de cette étude approfondissent nos connaissances sur les systèmes d'encapsulation moléculaires utilisant les CDs, en contribuant à élargir l'utilisation des anesthésiques locaux sous forme complexés dans des formulations pharmaceutiques.

# Références bibliographiques

## Références bibliographiques

- Ahad, A.;** Bin Jordan, Y.A.; Hassan, M.Z.; Raish, M.; Ahmad, A.; Al-Mohizea, A.M.; Al-Jenoobi, F.I. **2022**. Formulation and characterization of eprosartan mesylate and  $\beta$ -cyclodextrin inclusion complex prepared by microwave technology. *Drug Deliv.*, 29, 1512–1522.
- Ammavappan, L.;**Jeyakodi Moses, J. **2009**. An overview on application of cyclodextrins in textile product enhancement. *J. Textile Assoc.*70., 9–18.
- Ansllyn, E. V.;**Dougherty, D. A. **2006**. Modern Physical Organic Chemistry, Books, U.S.A.
- Arima, H.;** Hagiwara, Y.; Hirayama, F.; Uekama, K. **2006**. Enhancement of antitumor effect of doxorubicin by its complexation with  $\gamma$ -cyclodextrin in pegylated liposomes. *J Drug Target* .14.,225–232.
- Arima, H.;** Motoyama, K.; Higashi, T. **2017**. Potential use of cyclodextrins as drug carriers and active pharmaceutical ingredients. *Chem Pharm Bull* .65.,341–348.
- Attoui-yahia, H.;** Attoui Yahia, O.; Khatmi, D.; Belghiche, R; Bouzitouna,A. **2017**.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.
- Auroy, Y.;** Benhamou, D.; Bargues, L.; Ecoffey, C.; Falissard, B.; Mercier, F.; Bouaziz, H.; Samii, K. **2002**. Major Complications of Regional Anesthesia in France. *Anesthesiology* .97., 1274–1280.
- Ayala-Zavala, J.F.;** Soto-Valdez, H.; Gonzalez-Leon, A.; Alvarez-Parrilla, E.; Martin-Belloso, O.; Gonzalez-Aguilar, G.A. **2008**. Microencapsulation of cinnamon leaf (*Cinnamomum zeylanicum*) and garlic (*Allium sativum*) oils in  $\beta$ -cyclodextrin. *J. Incl. Phenom. Macro.*, 60, 359–368.
- Azavez, M.;** Fergoug, T.; Meddah-Araibi, N.; Zelmat C.; Bouhadda, Y. **2020**. Theoretical Investigation of the Complexation Reaction of Procaine-hydrochloride by  $\beta$ -cyclodextrin. *Phys. Chem. Res* .,8, 155-165.
- Bakirci, H.;** W. M. Nau, W. M. **2005**. Chiral discrimination in the complexation of heptakis-(2,6-di-O-methyl)- $\beta$ -cyclodextrin with 2,3-diazabicyclo[2.2.2]oct-2-ene derivatives.*J. Photochem. Photobiol A*. 173., 340–348.

## Références bibliographiques

- Becke, A.D. 1996.** Density-functional thermochemistry. A new dynamical correlation functional and implications for exact-exchange mixing , *J. Chem. Phys.*, 104, 1040–1046.
- Becker, D. E.;**Reed, K. L. **2012.** Local Anesthetics: Review of Pharmacological Considerations, *Anesth Prog.*, **59**, 2.
- Benesi, H. A.;** Hildebrand, J. H. **1949** . A Spectrophotometric Investigation of the Interaction of Iodine with Aromatic Hydrocarbons. *J. Am. Chem.Soc.*, 71, 2703–2707.
- Benkovics, G.;** Afonso, D.; Darcsi, A.; Béni, S.; Conoci, S.; Fenyvesi, T.; Szente, L.; Malanga, M.;Sortino. S. **2017.** Novel  $\beta$ -cyclodextrin-eosin conjugates. *Beilstein J Org Chem* .13.,543–551.
- Bergeron, R. J. ;** Channing, M. A. ; Gibeily, G. J. ;Pillor, D. M. **1977.** Disposition requirements for binding in aqueous solution of polar substrates in the cyclohexaamylose cavity. *J. Am. Chem. Soc.*, 99, 5146–5151.
- Bernal-Uruchurtu, M. I.;** Ruiz-López, M. F. **2000.** Basic Ideas for the Correction of Semiempirical Methods Describing H-Bonded Systems. *Chem. Phys. Lett.*, 330,118–124.
- Blanco, M. D.;**Bernardo, M. V.; Gómez, C.; Muñoz, E.;Teijón, J. M. **1999.** Bupivacaine-loaded comatrix formed by albumin microspheres included in a poly(lactide-co-glycolide) film: in vivo biocompatibility and drug release studies. *Biomaterials.*, 20, 1919–1924.
- Blyshak, L. A.;** Rossi, T. M.; Patonay, G.; Warner, I. M. **1988.** *Cyclodextrin-modified solvent extraction for polynuclear aromatic hydrocarbons.* *J. Anal. Chem.*, 60, 2127–2131.
- Boogaerts, J.G.;**Lafont,N.D.;Carlino,S.;Noel,E.;Raynal,P.;Goffinet,G.;F. J. Legros, F. J. **1995.** Biodistribution of liposome-associated bupivacaine after extradural administration to rabbits. *Br. J. Anaesth.*, 75, 319–325.
- Bouchemal, K.;**Mazzaferro, S. **2012.** How to conduct and interpret ITC experiments accurately for cyclodextrin-guest interactions. *Drug Discov. Today.*, 17, 623–629.
- 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., 875-80.

## Références bibliographiques

**Burke, D.;** Henderson, D.J. **2002.**Chirality: A blueprint for the future. *Br. J. Anaesth.*88., 563-576.

**Braun, H. 1905.** Ubre einiger neue ortliche anaesthetica (Stovain, Alypin, Novocain). *Dtsch KimWochenschr.* 31.,1667-1671.

**Brewster, M. E.;** Loftsson, T. **2007.** Cyclodextrins as pharmaceutical solubilizers. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 59., 645–666.

**Brusseau, M. L.;** Wang, X.; Hu, Q. **1994.** Enhanced Transport of Lowpolarity Organic Compounds through Soil by Cyclodextrin,”*Environ. Sci. Technol.*,28, 952.

**Cai, W.S.;** Wang, T.;Liu, Y.Z.; Liu, P.; Chipot, C.; Shao, X.G. **2011.** Free energy calculations for cyclodextrin inclusion complexes. *Curr. Org. Chem.* 15., 839–847.

**Carneiro, S.B.;** Duarte, F.Í.C.; Heimfarth, L.; Quintans, J.D.S.S.; Quintans-Júnior, L.J.; Júnior, V.F.D.V.; De Lima, Á.A.N. **2019.**Cyclodextrin-drug inclusion complexes: In vivo and in vitro approaches. *Int. J. Mol. Sci.*, 20, 642.

**Carrier, R. L.;** Miller, L. A.; and Ahmed, I. **2007.** The utility of cyclodextrins for enhancing oral bioavailability. *J. Contr. Release* .123., 78–99.

**Ceborska, M.;** Asztemborska, M.; Lipkowski, J. **2012.** Rare ‘head-to-tail’ arrangement of guest molecules in the inclusion complexes of (+)- and (-)-menthol with  $\beta$ -cyclodextrin. *Chem. Phys. Lett.* 553., 64–67.

**Chen, G.;**Jiang,M. **2011.** Cyclodextrin-based inclusion complexation bridging supramolecular chemistry and macromolecular self-assembly. *Chem. Soc. Rev.* 40., 2254–2266.

**Cid-Samamed,A.;** Rakmai,J.; Mejuto,J.C.; Simal-Gandara,J.; Astray,G. **2022.**

Cyclodextrins inclusion complex: Preparation methods, analytical techniques and food industry applications, *Food Chem.*, **384**, 132467.

**Cížek, J. 1966.**On the correlation problem in atomic and molecular systems. Calculation of wavefunction components in Ursell-type expansion using quantum-field theoretical methods. *J. Chem. Phys.*, 45, 4256–4266.

**Conceição, J.;** Adeoye, O.; Cabral-Marques, H.M.; Sousa Lobo, J.M. **2018.** Cyclodextrins as excipients in tablet formulations. *Drug Discov Today* .23.,1274–1284.

**Cramer, F. 1956.** Einschlußverbindungen. *Angew Chem.*, 68,115–120.

**Crini, G. 2014.** A History of Cyclodextrins *J. Chem. Rev.*114., 10940–10975.

**Crini,G.;**Fourmentin,S;Lichtfouse,E.**2020.** The History of

Cyclodextrins ‘Environmental Chemistry for a Sustainable World’. Vol. 54, 401p. France.

**Dale,G.J.;** Phillips, S.;Falk, G. L. **2016** .The Analgesic Efficacy of Intravenous

## Références bibliographiques

lidocaine Infusion After Laparoscopic Fundoplication: Aprospective, Randomized, Double-Blind, Placebo- Controlled Trial. *Local .Reg. Anesth.*, 9, 87.

**Dapprich, S.**; Komáromi, I.; Byun, K. S. ; Morokuma, K. ;Frisch, M. J. **1999**. A New ONIOM Implementation in Gaussian 98. 1. The Calculation of Energies, Gradients and Vibrational Frequencies and Electric Field Derivatives,” *J. Mol. Struct. (Theochem)*., 462,1-21

**Davis, M. E.**; Brewster, M. E. **2004**. Cyclodextrin-based pharmaceuticals: past, present and future. *Nat. Rev. Drug Discov.*, 3, 1023–1035.

**De Paula, E.**; Cereda, C. M.; Fraceto, L. F.; de Araújo, D. R.; Franz-Montan, M.;Tofoli, G. R.; Groppo, F. C. **2012**. Micro and nanosystems for delivering local anesthetics. *Expert Opin. Drug Deliv.*, 9, 1505–1524.

**Dewar, M. J. S.** ; Zoebisch, E. G. ; Healy, E. F. ;Stewart, J. J. P. **1985**. Development and use of quantum mechanical molecular models. 76. AM1: a new general purpose quantum mechanical molecular model. *J. Am. Chem. Soc.*, 107, 3902–3909.

**Dhule, S.S.**; Penfornis, P.; Frazier, T.; Walker, R.; Feldman, J.; Tan, G.,; He, J.; Alb, A.; John, V.; Pochampally, R. **2012**. Curcumin-loaded  $\gamma$ -cyclodextrin liposomal nanoparticles as delivery vehicles for osteosarcoma. *Nanomedicine* .8.,440–451.

**Dollo, G.**; Le Corre,P; Chevanne,F; Le Verge,R. **1996**. Inclusion complexation of amide-typed local anaesthetics with  $\beta$ -cyclodextrin and its derivatives. I. Physicochemical characterization. *Int. J. Pharm* .,131, 219–228.

**Dollo, G.**;Thompson, D. O.; P. Le Corre, P.;Chevanne, F.; R. Le Verge, R. **1998**. Inclusion complexation of amide-typed local anesthetics with  $\beta$ -cyclodextrin and its derivatives. III. Biopharmaceutics of bupivacaine-SBE7- $\beta$ CD complex following percutaneous sciatic nerve administration in rabbits *.Int. J. Pharm.*,164, 11–19.

**Fenyvesi, E.**; M.A. Vikmon, M.A.; L. Szente, L. **2016**. Cyclodextrins in Food Technology and Human Nutrition Benefits and Limitations.*J. Crit Rev Food Sci Nutr*.56., 1981–2004.

**Fergoug,T** ; Junquera,E; Aicart,E.**2003**. Effect of Temperature on the Encapsulation of the Drug Tetracaine Hydrochloride by $\beta$ -Cyclodextrin and Hydroxypropyl- $\beta$ -Cyclodextrin in Aqueous Medium. *J. Incl. Phenom. Macrocycl* ., 47, 65–70.

## Références bibliographiques

**Fock, V. 1930.** Näherungsmethode zur Lösung des quantenmechanischen Mehrkörperproblems. *Zeitschrift für Physik.*, 61, 126-148.

**Franco, P.;** De Marco, I. **2021.** Preparation of non-steroidal anti-inflammatory drug/ $\beta$ -cyclodextrin inclusion complexes by supercritical antisolvent process. *J. CO<sub>2</sub> Util.*, 44, 101397.

**Frank, D.W.;** Gray, J.E.; Weaver, R.N. **1976.** Cyclodextrin nephrosis in the rat. *Am. J. Pathol.* 83., 367–382.

**Gaussian 09, Revision C.01.2009.** 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, N.J.; 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, Inc., Wallingford CT.

**Grygorova, G.V.;** Yefimova, S.L.; Klochkov, V.K.; Budyanska, L.V.; Sofronov, D.S.; Kolesnikova, O.V.; Malyukin, Y.V. **2019.** Inclusion complexes of melatonin and randomly methylated  $\beta$ -cyclodextrin: Spectroscopic study. *Funct. Mater.*, 21, 664–672.

**Gould, S.;** Scott, R.C. **2005.** 2-Hydroxypropyl-beta-cyclodextrin (HP-Beta-CD): a toxicology review. *Food Chem. Toxicol.* 43., 1451–1459.

**Guo, X. ;** Wei, X.; Chen, Z.; Zhang, X.; Yang, G.; and Zhou, S. **2020.** Multifunctional nanoplatfoms for subcellular delivery of drugs in cancer therapy. *Prog. Mater. Sci.* 107., 100599.

**Hartree, D. R. 1928.** The Wave Mechanics of an Atom with a Non-Coulomb Central Field. Part I. Theory and Methods. *J. Proc. Cambridge Phil. Soc.*, 24, 89.

## Références bibliographiques

- He, Y.;** Hou, X.; Liu, Y.;Feng, N. **2019**. Recent progress in the synthesis, structural diversity and emerging applications of cyclodextrin-based metalorganic frameworks. *J. Mater. Chem. B.* 7., 5602–5619.
- Hill, L.E.;** Gomes, C.; Taylor, T.M. **2013**. Characterization of beta-cyclodextrin inclusion complexes containing essential oils (transcinnamaldehyde, eugenol, cinnamon bark, and clove bud extracts) for antimicrobial delivery applications. *LWT Food Sci. Technol.*, 51, 86–93.
- Hohenberg, P. ;** Kohn, W. **1964**. Inhomogeneous Electron Gas. *J. Phys. Rev. B.*, 136, 864–871.
- Horlocker, T.T.;** Neal, J.M. **2001**. One hundred years later, I can still make your hear stop and your legs weak: the relationship between regional anesthesia and local anesthetic toxicity (Editorial). *Reg Anesth Pain Med* . 27., 543–4.
- Hu, Q. D.;** Tang, G. P.; Chu, P. K. **2014**.Cyclodextrin-based host-guest supramolecular nanoparticles for delivery: from design to applications. *Acc. Chem. Res.* 47., 2017–2025.
- Huang, S.Y.;** Zou, X. **2010**. Advances and challenges in protein-ligand docking. *Int. J. Mol. Sci.*, 11, 3016–3034.
- 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 SN2 reaction: RCl+Cl<sup>-</sup>. *J. Chem. Phys.*, 105, 1959–1967.
- Iglesias, E. 2006**. Inclusion Complexation of Novocaine by β-Cyclodextrin in Aqueous Solutions. *J. Org. Chem.* 2006, 71, 4383–4392.
- Imtiaz,S.;** Banoo,S.; Muzaffar, S.; Syed Mashhood Ali, S. **2021**. Structural determination of midazolam/beta-cyclodextrin inclusion complex by an already proposed protocol and molecular docking studies by quantitative analysis, *Struct. Chem.*,32, 1505–1516.
- Irie, T.;** Uekama, K. **1997**. Pharmaceutical applications of cyclodextrins. III. Toxicological issues and safety evaluation. *J. Pharm. Sci.* 86., 147–162.
- Irwin, W.;** Fontaine, E.; Agnolucci, L.; Penzo, D.;Betto, R.; Bortolotto, S.; Reggiani,C.; Salviati .; Bernardi, P. **2002**. Bupivacaine myotoxicity is mediated by mitochondria. *J. Biol. Chem.* 277.,12221-12227.
- Jambhekar, S.S.;** Breen, P. **2016**. Cyclodextrins in pharmaceutical formulations I: Structure and physicochemical properties, formation of complexes, and types of complex. *Drug Discov. Today.*, 21, 356–362.

## Références bibliographiques

- Kano, K.** ; & Hasegawa, H. **2001**. Chiral Recognition of Helical Metal Complexes by Modified Cyclodextrins. *J. Am. Chem. Soc.*, 123, 10616–10627.
- Kavitha, E.** ; Sundaraganesan, N. ; Sebastian, S. ; Kurt, M. **2010**. Molecular structure, Anharmonic vibrational frequencies and NBO analysis of naphthalene acetic acid by density functional theory calculations. *Spectrochim. Acta Part A*, 77, 612–619.
- Khan, N. A.**; Johnson, M. D.; Carroll, K. C. **2018**. Spectroscopic methods for aqueous cyclodextrin inclusion complex binding measurement for 1,4-dioxane, chlorinated co-contaminants, and ozone. *J. Contam. Hydrol.*, 210, 31-41.
- Kitchen, D.B.**; Decornez, H; Furr, J.R; Bajorath, J. **2004**. "Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: methods and applications". *Nat. Rev. Drug Discov.*, 3, 935–49.
- Kodaka, M. J.** **1993**. general rule for circular dichroism induced by a chiral macrocycle. *Am. Chem. Soc.*, 115, 3702–3705.
- Kodaka, M. J.** **1998**. Application of a General Rule to Induced Circular Dichroism of Naphthalene Derivatives Complexed with Cyclodextrins. *Phys. Chem. A.*, 102, 8101–8103.
- Kohn, W.** ; Sham, L. J. **1965**. Self-Consistent Equations Including Exchange and Correlation Effects. *J. Phys. Rev.*, 140, 1133–1138.
- Kurkov, S.V.**; Loftsson, T. **2013**. Cyclodextrins. *Int. J. Pharm.* 453., 167–180.
- Kristyán, S.** ; Pulay, P. **1994**. Can (semi)local density functional theory account for the London dispersion forces ? . *Chem. Phys. Lett.* , 229, 175–180.
- Lagadinou, M.**; Onisor, M. O.; Rigas, A.; Musetescu, D.-V.; Gkentzi, D.; Assimakopoulos, S. F.; Panos, G.; Marangos, M. **2020**. Antimicrobial Properties on Non-Antibiotic Drugs in the Era of Increased Bacterial Resistance. *Antibiotics*. 9., 107.
- Lechat, P.**; Lagier, G.G. ; Rouveix, B.M. **1982**. Vincens Weber, Pharmacologie medicale, Masson, Paris, France
- Lecron, L.** **1990**. Choix d'un anesthésique local dans l'anesthésie locoregionale, Arnette, Paris. France.
- 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.
- Lina, B.A.R.**; Bar, A. **2004**. Subchronic oral toxicity studies with  $\alpha$ -cyclodextrin in rats. *Regul. Toxicol. Pharm.* 39., S14–S26.
- Lipkowitz, K. B.** **1998**. Applications of Computational Chemistry to the Study of Cyclodextrins. *Chem. Rev.*, 98, 1829–1874.

## Références bibliographiques

- 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. **2004**. Use of Quantum Chemical Methods to Study Cyclodextrin Chemistry. *J. Incl. Phenom.*, 50, 95–103.
- Liu, Y.**;Chen, Y.**2006**. Cooperative binding and multiple recognition by bridged bis ( $\beta$ -cyclodextrin)s with functional linkers. *Acc. Chem. Res.* 39., 681–691.
- Liu, L.**; Guo, Q.X. **2002**. The driving forces in the inclusion complexation of cyclodextrins. *J. Inclusion Phenom. Macrocycl. Chem.* 42., 1–14.
- 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.
- Loftsson, T. N.**; M.E. Brewster, M.E. **2010**. Pharmaceutical applications of cyclodextrins: basic science and product development. *J. Pharm. Pharmacol.*62., 607–1621.
- Loftsson, T.**; Duchene, D. **2007**. Cyclodextrins and their pharmaceutical applications. *Int. J. Pharm.*329., 01–11.
- LoMeo,P.**;D’Anna,F.;Gruttadauria,M.;Riela,S.;Gruttadauria,M.;Noto,R.**2006**. Polarimetry as a useful tool for the determination of binding constants between cyclodextrins and organic guest molecules. *Tetrahedron Lett.* 47.,9099–9102.
- Maazaoui, R.**; Abderrahim,R.**2015**. Applications of cyclodextrins: formation of inclusion complexes and their characterization . *Int. j. adv. Res .*, 3, 1030-1030.
- Maestrelli, F.**; Gonzalez-Rodriguez, M.L.; Rabasco, A.M.; Mura, P. **2005**.Preparation and characterization of liposomes encapsulating ketoprofen-cyclodextrin complexes for transdermal drug delivery. *Int J Pharm* .298.,55–67.
- Maskevich, A.A.**;Kurhuzenkau, S.A.; Lickevich, A.Y. **2013**. Fluorescence spectral analysis of thioflavinT- $\gamma$ -cyclodextrin interaction. *J Appl Spectrosc.*, 80,36–42.
- 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.

## Références bibliographiques

- Miller, R.J.;** Cameron, A.J.; Dimech, J.; Orec, R.J.;Lightfoot, N.J. **2018**. Plasma ropivacaine concentrations following local infiltration analgesia in total knee arthroplasty: A pharmacokinetic study to determine safety following fixed-dose administration. *Reg Anesth Pain Med.*43.,347-351.
- Mojumdar, E. H.;** A. P. Lyubartsev, A. P. **2010**. Molecular dynamics simulations of local anesthetic articaine in a lipid bilayer. *Biophysical Chemistry.*153., 27–35.
- Møller, C. ;**Plesset, M. S. **1934**. Note on an Approximation Treatment for Many-Electron Systems. *J. Phys. Rev.*, 46, 618–622.
- Moraes, C.M.;** Araújo, D.R.; Issa, M.G.; Ferraz, H.G.; Yokaichiya, F.; Franco, M.K.K.D.; Mazzaro, I.;Lopes, P.S.1; Gonçalves, M.M.1; de Paula, E., Fraceto, L.F..**2006**. Inclusion complex of S(-) bupivacaine and2-hydroxypropyl- -cyclodextrin: study of morphology and cytotoxicity. *J. Appl. Pharm. Sci.*, 27, 207-212.
- Moraes, C. M.;** Abrami, P.; Araujo, D. R.; Braga, A. F. A.; Issa, M. G.; Ferraz, H. G.;Fraceto, L. F. **2007**. Characterization of lidocaine:hydroxypropyl-β-cyclodextrin inclusion complex. *J Incl Phenom Macrocycl Chem.*, 57, 313–316.
- Mostashari-Rad, T;** Arian, R; Mehridehnavi, A; Fassihi, A; Ghasemi, F **2019**. "Study of CXCR4 chemokine receptor inhibitors using QSPR andmolecular docking methodologies". *J. Theor. Comput. Chem.*, 18, 1950018-18.
- Murcko, M.A.** **1995**. "Computational Methods to Predict Binding Free Energy in Ligand-Receptor Complexes". *J. Med. Chem.*, 38, 4953–67.
- Mrozek, J.;**Guzov, K.; Szabelsky, M.; Karolkzac, J.; Wicz, W. **2002**. Influence of methanol and cyclodextrin cavity size on stoichiometry and binding constant of 3-[2-(9-anthryl)benzoxazol-5-yl]-alanine. *J. Photochem. Photobiol.*, 153, 121–128.
- Myoshi, M.;** Imoto, T.; and Hiji, Y. **1998**. Alkalinizing water-soluble local anesthetic solutions by addition of cyclodextrin. *Reg. Anesth. Pain Med.*, 23, 176-181.
- Nihei, N.;** Okamoto, H.;Furune, T.; Ikuta, N.; Sasaki, K.; Rimbach, G.; Yoshikawa, Y.; Terao, K. **2018**. Dietary A-Cyclodextrin Modifies Gut Microbiota And Reduces Fat Accumulation In High-Fat-Diet-Fed Obese Mice. *Biofactors.* 44., 336–347.

## Références bibliographiques

- Niu, G.**; Yousefi, B.; Qujeq, D.; Marjani, A.; Asadi, J.; Wang, Z.; Mir, S.M. **2021**. Melatonin and doxorubicin co-delivered via a functionalized graphene-dendrimeric system enhances apoptosis of osteosarcoma cells. *Mater. Sci. Eng. C.*, 119, 111554.
- Norris M.C.**; Honet J.E.; Leighton B.L.; Arkoosh V.A. **1996**. A comparison of meperidine and lidocaine for spinal anesthesia for postpartum tubal ligation. *Reg. Anesth.* 21., 84-88.
- Nurhidayah, E.S.**; Martoprawiro, M.A.; Zulfikar, M.A. **2019**. pm3 and oniom2 modelling of inclusion complex of ibuprofen enantiomers with dimethyl- $\beta$ -Cyclodextrin. *J. Chem. Technol. Metall.*, 54, 673-678.
- Park, J. W.**; Lee, S. Y.; Song, H. J.; Park, K. K. **2005**. Self-Inclusion Behavior and Circular Dichroism of Aliphatic Chain-Linked  $\beta$ -Cyclodextrin-Viologen Compounds and Their Reduced Forms Depending on the Side of Modification. *J. Org. Chem.*, 70, 9505-9513.
- Patel, D.**; Janardhan, Y.; Merai, B.; Robalino, J.; Shevde K. **1990**. Comparison of intrathecal meperidine and lidocaine in endoscopic urological procedures. *Can J Anaesth.* 37., 567-670.
- Pauchet, V.**; Sourdat, P.; Labat, G.; de Butler d'Ormont, R. **1927**. L'anesthésie régionale, 4e ed. Paris.
- Peng, Y.**; Bariwal, J.; Kumar, V.; Tan, C.; Mahato, R. I. **2020**. Organic nanocarriers for delivery and targeting of therapeutic agents for cancer treatment. *Advanced Therapeutics.* 3., 1900136.
- Penn, S. G.**; Bergstrom, E. T.; Goodall, D. M. **1994**. Capillary Electrophoresis with Chiral Selectors: Optimization of Separation and Determination of Thermodynamic Parameters for Binding of Tioconazole Enantiomers to Cyclodextrins. *Anal. Chem.*, 66, 2866-2873.
- Peeverati, R.**; Truhlar, D.G. **2012**. A Local Density Functional That Provides Improved Accuracy for Electronic Structure Calculations in Chemistry and Physics. *Phys. Chem. Lett.*, 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. Technol.*, 14, 87-91.
- Pinho, E.**; Grootveld, M.; Soares, G.; Henriques, M. **2014**. Cyclodextrins as encapsulation agents for plant bioactive compounds. *Carbohydr. Polym.* 101., 121-135.

## Références bibliographiques

- Pinto, L. M. A.**; Franceto, L. F.; Santana, M. H. A.; Pertinhez, T. A.; Junior, S. O.; de Paula, E. **2005**. Physio-chemical characterization of benzocaine- $\beta$ -cyclodextrin inclusion complexes. *J. Pharm. Biomed. Anal.*,39, 956-963.
- Pirnaeu, A.**; Floare, C.G.; Bogdan, M. **2014**. The complexation of flurbiprofen with  $\beta$ -cyclodextrin: a NMR study in aqueous solution. *J. Incl. Phenom. Macro.*, 78, 113–120.
- Priyono, S. R.**; Sutriyo, S.; Rahmasari, R. **2022** . Preparation, Cellular Uptake, and Cytotoxic Evaluation of Remdesivir-Hydroxypropyl- $\beta$ -Cyclodextrin Inclusion Complex. *Biomed. Pharmacol .J.*,15, 717-727.
- Oi, Q.S.**;; She, X.Y.; Endo, T.; Zimmermann, W.**2004**.Effect of the reaction temperature on the transglycosylation reactions catalyzed by the cyclodextrin glucanotransférase from *Bacillus macerans* for the synthesis of large-ring cyclodextrins. *Tetrahedron*. 60.,799–806.
- Rafati, A.A. S.M.**; 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.**; Elleas, N.A.E. **2020**. characterization of inclusion complex of  $\beta$ -Cyclodextrin/Isoniazid using spectroscopic method. *Malays. J. Anal. Sci.*, 24, 862 – 872.
- Rajendiran, N.** ; Mohandoss, T. ; & Saravanan, J. **2014**. Guest : host interactions of lidocaine and prilocaine with natural cyclodextrins: Spectral and molecular modeling studies. *Spectrochim Acta.*, 132, 387–396.
- Razavi, B.M.**; Fazly Bazzaz, B.S.**2019**. A review and new insights to antimicrobial action of local anesthetics. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*38.,991-1002.
- Rees, D. A.** **1970**. Conformational analysis of polysaccharides. Part IV. Long-range contacts in some  $\beta$ -glucans by model building in the computer and the influence of oligosaccharide conformation on optical rotation. *J. Chem. Soc. B.*, 877–884.
- Rigamonti, A.** ; Carretta, P. **2009**. Structure of Matter” (2nd Edition), Springer – Vergal.Italia.
- 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.

## Références bibliographiques

- Ritchie, J.;**Ritchie, B.B.;Greengard, P. **1965**. The effect of the nerve sheath on the action of local anesthetics. *J. Pharma. Exp. Therap.*150.,160-4.
- RivMail, J.L.** **1998**. Eléments de chimie quantique à l'usage des chimistes», 2<sup>ème</sup> édition . CNRS EDITIONS, Paris.
- Roothaan, C. C. J.** **1951**. New Developments in Molecular Orbital Theory. *J. Rev. Mod. Phys.*, 23, 69–89.
- Saenger, W.** **1980**. Cyclodextrin inclusion compounds in research and industry. *Angew Chem. Int. Ed. Engl.* 19., 344–362.
- Sakurai, T.;** Sakurai, A.; Chen, Ye.; Vaisman, B. L.; Amar, M. J.; Pryor, M.; Thacker, S.G.; Zhang, X.; Wang, X.; Zhang, Y.; Zhu, J.; Yang, Z.H.; Freeman, L. A.; Remaley, A. T. **2017**. Dietary  $\alpha$ -Cyclodextrin Reduces Atherosclerosis And Modifies Gut Flora In Apolipoprotein E-Deficient Mice. *Mol Nutr Food Res.*8., 1600804.
- Saokham, P.;** & Loftsson, T. **2017**.  $\gamma$ -Cyclodextrin. *Int .J. Pharm.* 516., 278–292.
- Savin,A.;** Flad , H.J. **1995**. Density functionals for the Yukawa electron-electron interaction. *Int. J. Quantum Chem.*, 56, 327–332.
- Scholz, A.** **2002**. Mechanisms of local anaesthetics on voltaged-gated sodium and others ion channels. *Br. J. Anaesth.*89.,52-61.
- Seridi, L.;** Boufelfel, A. **2018**. Naringenin encapsulation in  $\beta$ -CD and in heptakis(2,6-di-*O*-methyl)- $\beta$ -CD:NMR, NBO and QTAIM analysis, *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.*., 90, 287–304.
- Shaikh, V. R.;** Terdale, S. S.; Hundiwale, D. G.;Patil, K. J. **2014**. Thermodynamic studies of drug- $\alpha$ -cyclodextrin interactions in water at 298.15K: Procaine hydrochloride/lidocaine hydrochloride/tetracaine hydrochloride/ranitidine hydrochloride +  $\alpha$ -cyclodextrin + H<sub>2</sub>O systems. *J. Chem. Thermodynamics.*, 68, 161–168.
- Shikanov, A.;**Domb, A. J.; C. F. Weiniger, C. F. **2007**. Long acting local anesthetic-polymer formulation to prolong the effect of analgesia .*J Control Release.*117.,97–103.
- Simer, E.;** Kurvits, C. **1998**. Calorimetric studies of benzoic acid-cyclodextrin inclusion complexes. *Thermochim. Acta.*,140, 161-168.
- Singh, M.;** Sharma, R.; Banerjee, U.C. **2002**. Biotechnological applications of cyclodextrins. *Biotechnol Adv.*20.,341–59.
- Sivi, Y.;** Bin, W.; Jiqin Z.; Kaiyun, F. **2019**. The development of local anesthetics and their applications beyond anesthesia .*Int .J. Clin. Exp. Med.*,12,13203-13220.
- Soni, S. ;**Pal, A. **2016**. Spectroscopic Studies on Host–Guest Interactions of  $\alpha$ - and  $\beta$ -Cyclodextrin with Lidocaine Hydrochloride and Procaine Hydrochloride. *J Solution*

## Références bibliographiques

*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. *Anesth Analg.* 97.,91-5.

**Stachowicz, A.**; Styrzcz, 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.J.**; Rao, V.M.; Zannou, E.A.; Zia, V. 1999. Mechanisms of drug release from cyclodextrin complexes. *Adv. Drug Deliv. Rev.*; 36, 3–16.

**Stewart, J.J.P.** 1990. in *Reviews in Computational Chemistry*, 1, Chap. 2, K.B. Lipkowitz and D.B. Boyd eds., VCH, New York.

**Stewart, J. J. P.** 1989. Optimization of parameters for semiempirical methods I. Method. *J. Comput. Chem.*, 10, 209–220.

**Strichartz G.R.** 1998. Neural physiology and local anesthetic action. In: Cousins MJ, Bridenbaugh PO (Editors). *Neural Blockade in Clinical Anesthesia and Management of Pain*. Philadelphia, Lippincott-Raven. p. 42

**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)(3))(2)+H-2 oxidative addition *Phys. Chem.*, 100, 19357-19363 .

**Szejtli, J.** 1998. Introduction and general overview of cyclodextrin chemistry. *Chem. Rev.* 98., 1743–1754.

**Szökő, E.**; Gyimesi, J.; Barcza, L.; Magyar, K. 1996. Determination of drug-cyclodextrin binding constants by capillary zone electrophoresis *J. Chromatogr.*, 754, 181–187.

**Szejtli, J.** 2004 . Past, Present, and Future of Cyclodextrin Research *J. Pure Appl. Chem.* 76., 1825–1845.

**Tabushi, I.** 1982. Cyclodextrin catalysis as a model for enzyme action. *Acc. Chem. Res.*, 15, 66-72.

**Takahashi, A.I.**; Veiga, F.J.B.; Ferraz, H.G. 2012. A literature review of cyclodextrin inclusion complexes characterization - Part III: differential scanning calorimetry and thermogravimetry. *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res.*, 12, 16–20.

**Takisawa, N.** ; Shirahama, K. ; Tanaka, I. 1993. Interactions of amphiphilic drugs with  $\alpha$ - ,  $\beta$ - , and  $\gamma$ - cyclodextrins. *Colloid. Polym. Sci.*, 271, 499-506 .

## Références bibliographiques

- 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, 146-401.
- Terauchi, M.;** Tamura, A.; Yamaguchi, S.; Yui, N. **2018.** Enhanced cellular uptake and osteogenic differentiation efficiency of melatonin by inclusion complexation with 2-hydroxypropyl  $\beta$ -cyclodextrin. *Int. J. Pharm.*, 547, 53–60.
- Thakkar, A.L. ;** Demarco, P.V. **1971.** Cycloheptaamylose inclusion complexes of barbiturates: Correlation between proton magnetic resonance and solubility studies, *J. Pharm. Sei.*, 60, 652- 653.
- Tian, B.;** Hua, S.; Liu, J. **2020.** Cyclodextrin-based delivery systems for chemotherapeutic anticancer drugs: A review. *Carbohydr. Polym.*, 232, 115805.
- Tokumura, T. ;** Tsushima, Y. ; Kayano, M. ; Machida, Y. ; Nagai, T. **1985.** Enhancement of bioavailability of cinnarizine from its  $\beta$ -cyclodextrin complex on oral administration with DL-phenylalanine as a competing agent. *J. Pharm. Sci.*, 74, 496–497.
- Torras, H. 1996.** Retinoids in aging. *J. Clin. Dermatol.*, 14, 207–215.
- 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.
- Tutunchi, P.;** Roufegarinejad, L.; Hamishehkar, H.; Alizadeh, A. **2019.** Extraction of red beet extract with  $\beta$ -cyclodextrin-enhanced ultrasound assisted extraction: A strategy for enhancing the extraction efficacy of bioactive compounds and their stability in food models. *Food Chem.*, 297, 124994.
- Uekama, K. 2004.** Design and evaluation of cyclodextrin-based drug formulation. *J. Chem. Pharm. Bull.* 52., 900-915.
- Uekaji, Y.;** Terao, K. **2019.** Bioavailability Enhancement Of Hydrophobic Nutraceuticals Using  $\Gamma$ -Cyclodextrin. *J Incl Phenom Macrocycl Chem.* 93., 3–15.
- Valeur, B. 2001.** Molecular Fluorescence: Principles and Applications, Wiley-VCH Verlag GmbH. France.
- Valsaraj, K.T. 1995.** Elements of Environmental Engineering: Thermodynamics and Kinetics, CRC Press,. Boca Raton, FL, pp 649.
- Voncina, B.;** Vivod , V. **2013.** Cyclodextrins in textile finishing. In: Gunay M (ed) Textiledyeing. *InTech. Rijeka.* Chapter 3., 53–75.

## Références bibliographiques

- Vosko, S. H.**; 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.
- Welliver, M.**; J.P. McDonough, J.P. **2007**. Anesthetic related advances with cyclodextrins. *Sci. World J.*, 7, 364–371.
- Westman, L.**, Valentin, A., Eriksson, E., Ekblom, A. **1998**. Intrathecal administration of sameridine to patients subjected to arthroscopic joint surgery. *Acta Anaesthesiol. Scand.* 42., 691-697.
- Whizar-Lugo, V.M.** ; Ontiveros- Morales, P. ; Garfias-Flores, M. **2004**. Alergia a ropivacaína peridural. *Anestesia en Mexico.*,16,180-183.
- Wiberg, K. B.** **1986**. Ab Initio Molecular Orbital Theory by W. J. Hehre, L. Radom, P. v. R. Schleyer, and J. A. Pople, John Wiley, New York, 548pp. *J. Comput. Chem.*, 7, 379–379.
- Winau, F.** ; Westphal, O. ; Winau, R. **2004**. Paul Ehrlich - In search of the magic bullet. *Microbes Infect.*,6, 786–789.
- Wolf, A.**; Thakral, S.; Mulier, K.E.; Suryanarayanan, R.; Beilman G.J. **2018**. Evaluation of novel formulations of D-β-hydroxybutyrate and melatonin in a rat model of hemorrhagic shock. *Int. J. Pharm.*, 548,104–112.
- Wüpper, S.** ; Lüersen, K. ; Rimbach, G. **2021**. Cyclodextrins, Natural Compounds, and Plant Bioactives—A Nutritional Perspective. *Biomolecules.*, 11.401.
- Wypych,G.** **2001**. Handbook of Solvents ,Université du Michigan.,1675 p
- Yang, L.**; Li, D.; Guo, B.; Wei, D. **2019**. Theoretical study on the inclusion interaction of β-cyclodextrin with gabapentin and its stability. *J. Struct. Chem.*, 60, 564-574
- Yang, E. C.**; Zhao, X. J.; Hua, F.; Hao, J. K. **2004**. Semi-empirical PM3 study upon the complexation of β-cyclodextrin with 4,4'-benzidine and o-tolidine. *J. Mol. Struct.: THEOCHEM.* , 712, 75–79.
- 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-β-cyclodextrin acts as a novel anticancer agent. *PlosOne* .10., e0141946.
- Zaboub, A.** ; Madi, F. ;Merdes, R. ; Mohamedi, M. ;Nouar, L. **2016**. A combined DFT and experimental study of proline/β-cyclodextrin inclusion complex. *J. Mol. Liq.*, 216, 716–723.

## Références bibliographiques

**Zhang, Y. M.;** Liu, Y. H.;Liu, Y.**2020.** Cyclodextrin-based multistimuliresponsive supramolecular assemblies and their biological functions. *Adv. Mater.* 32., e1806158.

**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. **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, 6908-691.

**Zhao, Y., &** Truhlar, D. G. **2008.** 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. Account.*, 120, 215–241.

**Zhou, J.;** Tang, J.; and Tang, W. **2015.** Recent development of cationic cyclodextrins for chiral separation. *Trac. Trends Anal. Chem.* 65., 22–29.

**Zhu,F.D.;** Zhang,Z.H.; Chi,S.M.; Chen,S.L.**2021.** Experimental and molecular docking investigation of the inclusion complexes between 20(S)-protopanaxatriol and four modified  $\beta$ -cyclodextrins. *Carbohydr. Res.*,500, 108256.

**Zia, V. ;** Rajewski, R.A. ; Stella, V.J. **2001.** Effect of cyclodextrin charge on complexation of neutral and charged substrates: comparison of (SBE)7m- $\beta$ -CD to HP- $\beta$ -CD. *Pharm. Res.* 18., 667–673.

**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.

المخدرات الموضعية (ALS) عبارة عن عوامل تمنع التوصيل العصبي بشكل عكسي وهي aminoamides أو Amino esters. يشير هذا العمل إلى دراسة تجريبية ونظرية مشتركة حول تفاعل معقدات التخدير الموضعي الثلاثة، Proc Cl و TetrachCl و LidoHCl بواسطة عامل مركب  $\beta$ -CD. يظهر التوصيف بالأشعة فوق البنفسجية المرئية UV-Vis، التحليل الطيفي للانبعاثات، التحليل الطيفي بالرنين المغناطيسي النووي أن  $\beta$ -CD لديه القدرة على تغليف المخدرات الموضعية الثلاثة.

لقد أبلغنا عن تأثير المذيب للمركبات الثلاثة بالتحديد في مخاليط مختلفة من المذيبات تعتمد أقصى امتصاص لهذه المركبات على قطبية المذيب لوحظ  $\pi$ - $\pi^*$  و  $n$ - $\pi^*$  اللذان. يشيران على التوالي إلى تحول باتوكروم و هيبسوكروم أثناء الزيادة في قطبية المذيب تتوضح فحص ثوابت الارتباط بواسطة تقنية البولاريمترية أن المعقدات المتشكلة متباينة في استقرارها على النحو التالي  $\beta$ -CD / Proc HCl و  $\beta$ -CD / TetrachCl و  $\beta$ -CD / LidoHCl. أجريت حسابات كيميائية كمية لدراسة معقد هيدروكلوريد الليدوكائين مع سيكلودكسترين لتبرير تكوين المركب في الطور الغازي

يوضح تحليل الكميات الديناميكية الحرارية أن تكوين هذا المركب هو المفضل من الناحية الديناميكية الحرارية وأن هندسته منتظمة، من ناحية أخرى، يوضح تحليل المدارات ان قوى فان دير فالس هي المسؤولة عن استقرار هذا المعقد.

بشكل عام، تعمق نتائج هذه الدراسة معرفتنا بأنظمة التغليف الجزيئي CDs مما يساعد على توسيع استخدام المخدرات الموضعية في شكل معقد في التركيبات الصيدلانية.

## Summary

Local anesthetics (LAs) are agents that reversibly block nerve conduction. These are aminoamides or aminoesters. This work reports a combined experimental and theoretical study on the complexation reaction of the three local anesthetics, ProcHCl, TetrachCl and LidoHCl by a  $\beta$ -CD complexing agent.

Characterization by UV-Vis, fluorescence (emission spectroscopy) and ( $^1\text{H}$ ) NMR spectroscopy shows that  $\beta$ -CD has the ability to encapsulate tois (ALs).

We have reported the solvent effect by examining three dipole moments (ALs) namely in various mixtures of solvents. The absorption maxima of these (ALs) depend on the polarity of the solvent. The two transitions  $\pi$ - $\pi^*$  and  $n$ - $\pi^*$  which respectively indicate a bathochromic and hypsochromic shift are observed during the increase in the polarity of the solvents for the local anesites studied.

Examination of the association constants by the polaremitric technique shows that the  $\beta$ -CD/ProcHCl and  $\beta$ -CD/TetrachCl complexes are more stable than  $\beta$ CD/LidoHCl.

Quantum chemical calculations were carried out to study the complexation of Lidocaine hydrochloride with beta cyclodextrin ( $\beta$ -CD) in the gas phase to justify the formation of the complex.

The analysis of the thermodynamic quantities shows that the formation of this complex is thermodynamically preferable and that its geometry is regular, on the other hand the analysis of the orbits (NBO) shows that the Van der Waals forces are responsible for the stability of this complex. Overall, the results of this study deepen our knowledge of molecular encapsulation systems using DCs, helping to expand the use of local anesthetics in complexed form in pharmaceutical formulations.

**Keywords:** Inclusion complex, Lidocaine, Cyclodextrins, Molecular docking, PM3, NBO.