

UNIVERSITE DE BLIDA 1
Faculté de Technologie
Département de Génie des Procédés

THESE DE DOCTORAT

En Génie Des Procédés
Spécialité : Génie Pharmaceutique

**ELABORATION ET CARACTERISATION DE COMPLEXES D'INCLUSION
D'ACIDE NIFLUMIQUE : APPLICATION PHARMACEUTIQUE**

Par

BOUCHEKHOU Zohra

HADJSADOK Abdelkader	Professeur	Université de Blida 1	Président
CHEMAT Zoubida	Professeur	Université de Blida 1	Examineur
ZOUAMBIA Yamina	Professeur	Université de Médéa	Examineur
MAACHOU Hamida	Professeur	Université de Médéa	Examineur
BOUZID Bachir	Professeur	Université de Blida 1	Directeur de thèse
HADJ-ZIANE Amel	Professeur	Université de Blida 1	Co-Directeur de thèse

Novembre 2025

REMERCIEMENTS

Avant toute chose, je rends grâce à Dieu, Le Tout-Puissant, pour m'avoir accordé la force, la patience et la persévérance nécessaires pour mener à bien ce travail.

Je souhaite également exprimer mes vifs remerciements à toutes les personnes qui ont contribué, de près ou de loin, à la réalisation de cette thèse.

En premier lieu, je tiens à adresser ma profonde gratitude à mon directeur de thèse, Professeur BOUZID Bachir, pour son soutien constant, sa disponibilité, ses conseils avisés et sa rigueur scientifique. Je le remercie particulièrement de ne jamais m'avoir laissée tomber face aux difficultés rencontrées tout au long de ce parcours. Sa confiance et ses encouragements ont été essentiels, notamment dans les moments de doute.

Je remercie également ma co-directrice de thèse, Professeure HADJ-ZIANE Amel.

Mes sincères remerciements vont aussi au Professeur HADJSADOK Abdelkader, qui m'a fait l'honneur de présider le jury et d'évaluer ce travail. J'exprime également toute ma gratitude aux membres du jury, Professeure CHEMAT Zoubida, Professeure ZOUAMBIA Yamina et Professeure MAACHOU Hamida, pour avoir accepté d'examiner cette thèse et pour l'intérêt qu'ils lui ont porté.

Je tiens à remercier Docteur BOUDJIT Djamila, ancienne responsable des laboratoires de la Faculté de Technologie, pour son aide précieuse et sa collaboration constante.

Ma reconnaissance s'étend à l'ensemble des enseignants, chercheurs et personnels du Département de Génie des Procédés, en particulier Professeur BOURAS Omar et Docteur BELHADJI Linda, pour leurs remarques constructives et leur soutien.

Je remercie également Madame Boulmine Zahira, Madame Karima Aït Ali Yahia, Monsieur Rachid Dehmouche, ainsi que tous les ingénieurs du laboratoire du Département de Génie des Procédés pour leur aide et pour m'avoir offert un environnement de travail favorable et stimulant.

Je remercie chaleureusement Professeure Lenuta Profire, de l'Université Grigore T. Popa de Iași en Roumanie, pour m'avoir accueillie durant cinq mois et pour son accompagnement scientifique qui a grandement contribué à l'avancement de mes travaux. J'exprime également ma reconnaissance à Dr. Florentina Lupașcu, Dr. Andreea-Teodora Iacob, Dr. Oana Maria Ionescu, ainsi qu'à l'ensemble des enseignants de cette université pour leur accueil chaleureux et leur soutien.

Enfin, je tiens à adresser une pensée particulière à ma famille. À la mémoire de mon père – que Dieu l'accueille dans Son vaste paradis –, à ma mère, à mon frère et à mes soeurs, ainsi qu'à mes tantes, oncles, cousins et cousines : je vous remercie pour votre amour inconditionnel, vos prières, votre patience et vos sacrifices. Merci de m'avoir toujours portée et encouragée, et d'avoir cru en moi.

RESUME

Bien que l'acide niflumique (NA) soit l'un des anti-inflammatoires non stéroïdiens les plus utilisés, il présente des limitations notables telles qu'une faible solubilité aqueuse, une biodisponibilité réduite et des effets indésirables significatifs. Pour surmonter ces obstacles, la complexation du NA avec des cyclodextrines (CDs) constitue une approche prometteuse. Cependant, la complexation des CDs avec des médicaments de faible poids moléculaire, comme le NA, peut entraîner une efficacité de complexation (EC) limitée. Cette étude s'est concentrée sur le développement de complexes d'inclusion de NA avec la 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrine (2HP- β -CD), en évaluant l'impact de la conversion du NA en son sel sodique (NAs) et l'ajout d'hydroxypropylméthylcellulose (HPMC) sur la formation des complexes. Les complexes d'inclusion ont été préparés, et leur EC ainsi que leur constante de stabilité (Ks) ont été déterminées par une étude de solubilité de phase. La caractérisation des complexes a été réalisée à l'aide de diverses techniques physico-chimiques, incluant la FTIR, la DSC, la MEB, la DRX, la DLS, la spectroscopie UV-Vis, ^1H -RMN et ^1H -ROESY. Les profils de dissolution des complexes ont également été étudiés. Les analyses ont confirmé la formation de complexes dans toutes les formulations. Le complexe 'NAs-2HP- β -CD-HPMC' a présenté les valeurs les plus élevées de l'EC et de Ks, un rapport molaire hôte-invité de 1:1, ainsi que le meilleur profil de dissolution (47,9 % pour le NA contre 84,75 % pour le complexe). Ce complexe a également démontré une activité anti-inflammatoire et antioxydante supérieure, une meilleure hémocompatibilité, ainsi qu'une stabilité sérique accrue par rapport au NA seul. L'hydrogel formulé à partir de ce complexe optimisé a révélé une teneur en principe actif plus élevée, une viscosité accrue, ainsi qu'un comportement rhéologique amélioré. La diffusion transdermique *in vitro* a montré une libération optimisée du principe actif, passant de 0,16 mg/cm² pour l'hydrogel de NA pur à 0,66 mg/cm² pour l'hydrogel du complexe d'inclusion.

Mots clés : Acide niflumique, Cyclodextrines, Efficacité de complexation, Solubilité, Profils de dissolution, Diffusion transdermique.

ABSTRACT

Although niflumic acid (NA) is one of the most widely used non-steroidal anti-inflammatory drugs, it presents notable limitations such as low aqueous solubility, reduced bioavailability, and significant adverse effects. To overcome these challenges, the complexation of NA with cyclodextrins (CDs) represents a promising approach. However, the complexation of CDs with low molecular weight drugs, such as NA, may result in limited complexation efficiency (CE). This study focused on developing inclusion complexes of NA with 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin (2HP- β -CD), evaluating the impact of converting NA to its sodium salt (NAs) and the addition of hydroxypropyl methylcellulose (HPMC) on complex formation. The inclusion complexes were prepared, and their CE and stability constant (Ks) were determined through a phase solubility study. The complexes were characterized using various physicochemical techniques, including FTIR, DSC, SEM, XRD, DLS, UV-Vis spectroscopy, ^1H -NMR, and ^1H -ROESY. The dissolution profiles of the complexes were also studied. The analyses confirmed complex formation in all formulations. The 'NAs-2HP- β -CD-HPMC' complex exhibited the highest CE and Ks values, a 1:1 host-guest molar ratio, and the best dissolution profile (47.9% for NA vs. 84.75% for the complex). This complex also demonstrated superior anti-inflammatory and antioxidant activity, improved hemocompatibility, and enhanced serum stability compared to NA alone. The hydrogel formulated from this optimized complex showed higher drug content, increased viscosity, and improved rheological behavior. *In vitro* transdermal diffusion demonstrated optimized drug release, increasing from 0.16 mg/cm² for the pure NA hydrogel to 0.66 mg/cm² for the inclusion complex hydrogel.

Keywords: Niflumic acid, Cyclodextrins, Complexation efficiency, Solubility, Dissolution profiles, Transdermal diffusion.

ملخص

على الرغم من أن حمض النيفلوميك (NA) يُعد من أكثر مضادات الالتهاب غير الستيرويدية استخدامًا، إلا أنه يعاني من بعض القيود الملحوظة مثل انخفاض ذوبانيته في الماء، وتراجع توافره الحيوي، بالإضافة إلى آثاره الجانبية الكبيرة. ولتجاوز هذه العقبات، تُعتبر تشكيل معقدات بين حمض النيفلوميك والسايكلوديكستريينات (CDs) نهجًا واعدًا. ومع ذلك، فإن تعقيد السايكلوديكستريينات مع الأدوية ذات الوزن الجزيئي المنخفض، مثل حمض النيفلوميك، قد يؤدي إلى انخفاض كفاءة التعقيد (EC). ركزت هذه الدراسة على تطوير معقدات إدراج لحمض النيفلوميك مع 2-هيدروكسي بروبيل- β -سايكلوديكسترين-2HP (2HP- β -CD)، مع تقييم تأثير تحويل حمض النيفلوميك إلى ملحه الصوديومي (NAS) وإضافة هيدروكسي بروبيل ميثيل سليولوز (HPMC) على تكوين المعقدات.

تم تحضير المعقدات، وتم تحديد كفاءة التعقيد (EC) وثابت الاستقرار (Ks) من خلال دراسة ذوبانية الطور. كما تم إجراء توصيف شامل للمعقدات باستخدام تقنيات فيزيائية وكيميائية متعددة، شملت التحليل الطيفي بالأشعة تحت الحمراء (FTIR)، والتحليل الحراري التفاضلي (DSC)، والمجهر الإلكتروني الماسح (MEB)، والأشعة السينية للأشعة المتفرقة (DRX)، وتشتت الضوء الديناميكي (DLS)، والتحليل الطيفي فوق البنفسجي-المرئي (UV-Vis)، والرنين المغناطيسي النووي (^1H -NMR) وتحليل ROESY ^1H . كما تم تقييم ملفات انحلال المعقدات. أكدت التحليلات تكوين المعقدات في جميع التركيبات.

أظهر معقد 'NAS-2HP- β -CD-HPMC' أعلى قيم في كفاءة التعقيد وثابت الاستقرار، ونسبة مولارية بين المستضيف والمستضاف بلغت 1:1، بالإضافة إلى أفضل ملف انحلال (47.9% لحمض النيفلوميك مقابل 84.75% للمعقد). كما أظهر هذا المعقد نشاطًا مضادًا للالتهابات ومضادًا للأكسدة بشكل فائق، مع توافق دموي أفضل، وزيادة في استقرار المصل مقارنة بحمض النيفلوميك وحده. أظهر الهيدروجيل المصنوع من هذا المعقد المحسن تجانسًا أفضل، وزيادة في محتوى المادة الفعالة، وزيادة في اللزوجة، إلى جانب تحسين في السلوك الريولوجي. كما أظهرت دراسة الانتشار عبر الجلد في المختبر إفراجًا محسنًا للمادة الفعالة، حيث ارتفع من 0.16 ملغ/سم² لهيدروجيل حمض النيفلوميك النقي إلى 0.66 ملغ/سم² لهيدروجيل معقد الإدراج.

الكلمات المفتاحية: حمض النيفلوميك، سايكلوديكستريينات، كفاءة التعقيد، الذوبانية، ملفات الانحلال، الانتشار عبر الجلد.

TABLE DES MATIERES

REMERCIEMENTS

RESUME

TABLE DES MATIERES

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES ABREVIATIONS

INTRODUCTION GENERALE1

CHAPITRE 1 : Etude bibliographique4

1.1. Généralités sur l'acide niflumique4

1.1.1. Définition et classification4

1.1.2. Structure et mécanisme d'action.....5

1.1.2.1. Inhibition de la COX-25

1.1.3. Synthèse de l'acide niflumique6

1.1.4. Propriétés physico-chimiques de l'acide niflumique8

1.1.5. Propriétés pharmacologiques de l'acide niflumique8

1.1.5.1. Propriétés anti-inflammatoires, analgésiques et antipyrétiques9

1.1.5.2. Action sur les canaux ioniques9

1.1.6. Propriétés pharmacocinétique de l'acide niflumique9

1.1.7. Effets indésirables de l'acide niflumique10

1.2. Généralités sur les cyclodextrines11

1.2.1. Définition et nomenclatures des cyclodextrines11

1.2.1.1. Définition11

1.2.1.2. Nomenclatures des cyclodextrines12

1.2.2. Histoire des cyclodextrines	13
1.2.2.1. La découverte et l'exploration	13
1.2.2.2. Exploitation	14
1.2.2.3. Production	14
1.2.3. Utilisations des cyclodextrines	15
1.2.4. Structure et propriétés physico-chimiques des cyclodextrines	17
1.2.4.1. Structure	17
1.2.4.2. Propriétés physico-chimiques des CDs	19
1.2.5. Cyclodextrines modifiées	20
1.2.5.1. Intérêt de la modification des cyclodextrines	22
1.2.5.2. Dérivés méthylés	22
1.2.5.3. Dérivés sulfobutylés	22
1.2.5.4. Dérivés hydroxypropylés : La 2-Hydroxypropyl- β -Cyclodextrine	23
1.2.6. Toxicité des cyclodextrines	24
1.3. Complexes d'inclusion à base de cyclodextrines	25
1.3.1. Phénomène d'inclusion	26
1.3.2. Stœchiométrie des Complexes d'Inclusion	27
1.3.2.1. Détermination de la Stœchiométrie par la méthode de Job	28
1.3.3. Forces impliquées dans la formation des complexes d'inclusion	29
1.3.4. Techniques de préparation des complexes d'inclusion	29
1.3.4.1. Mélange physique	30
1.3.4.2. Pétrissage (kneading)	30
1.3.4.3. Lyophilisation (freeze drying)	30
1.3.4.4. Co-évaporation	31
1.3.4.5. Pulvérisation (spray drying)	31

1.3.4.6. CO ₂ supercritique	31
1.3.4.7. Méthode de broyage mécano-chimique	31
1.3.5. Caractérisation des complexes d'inclusion en solution	32
1.3.5.1. Etude de la solubilité de phase	32
1.3.5.2. Spectroscopie UV-visible	34
1.3.5.3. Spectroscopie de résonance magnétique nucléaire (¹ H-RMN)	34
1.3.5.5.1. Spectroscopie 2D ROESY	35
1.3.6. Caractérisation des complexes d'inclusion à l'état solide	35
1.3.6.1. Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR)	35
1.3.6.2. Diffraction des rayons X (DRX)	36
1.3.6.3. Calorimétrie différentielle à balayage (DSC)	36
1.3.6.4. Microscopie Électronique à Balayage (SEM)	36
1.3.6.5. Etudes de Dissolution <i>In Vitro</i>	37
1.3.7. Complexes d'inclusion ternaires	37
1.3.8. Complexes d'inclusion des anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)	37
1.3.8.1. Complexes d'inclusion de l'acide niflumique	37
1.3.9. Formes galéniques à base de complexes d'inclusion de cyclodextrines	40
1.3.9.1. Formes galéniques Solides	40
1.3.9.2. Formes galéniques Liquides	41
1.3.9.3. Formulations Topiques et Transdermiques	41
1.3.9.4. Applications Émergentes	41
CHAPITRE 2 : MATERIEL ET METHODES	42
2.1. Introduction	42
2.2. Produits chimiques	42
2.3. Préparation des solutions tampons	44

2.3.1. Préparation de la solution tampon phosphate (0,1 M, pH 6,8).....	44
2.3.2. Préparation de la solution tampon phosphate salin (1X, pH 7.4)	44
2.4. Préparation des complexes d'inclusion	44
2.4.1. Etude préliminaire – Études de phase de solubilité	44
2.4.2. Préparation des complexes d'inclusion binaires et ternaires de l'acide niflumique	45
2.4.3. Préparation du complexe d'inclusion ternaire du sel sodique de l'acide niflumique.....	46
2.5. Caractérisation des complexes d'inclusion.....	Erreur ! Signet non défini.
2.5.1. Quantification du PA encapsulé dans les cyclodextrines	Erreur ! Signet non défini.
2.5.2. Caractérisation par spectroscopie Infrarouge (FTIR)	50
2.5.3. Caractérisation par calorimétrie différentielle à balayage (DSC)	50
2.5.4. Caractérisation par Microscopie Electronique à Balayage (MEB)	50
2.5.5. Caractérisation par diffraction des rayons X (DRX)	50
2.5.6. Caractérisation par diffusion dynamique de la lumière (DLS)	51
2.5.7. Caractérisation par Spectroscopie de résonance magnétique nucléaire (¹ H-RMN)	51
2.6. Etudes de dissolution <i>in vitro</i>	51
2.7. Tests biologiques <i>in vitro</i>	52
2.7.1. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire <i>in vitro</i>	52
2.7.2. Evaluation de l'activité anti-oxydante <i>in vitro</i>	53
2.7.2.1. Test de piégeage des radicaux libres (DPPH)	53
2.7.2.2. Test de de piégeage des radicaux libres ABTS ⁺	55
2.7.2.3. Test de piégeage des radicaux hydroxyles (HRS)	56
2.7.3. Essai d'hémocompatibilité <i>in vitro</i>	57
2.7.4. Etude de stabilité sérique	59
2.8. Formulation et caractérisation d'hydrogels	60
2.8.1. Préparation des hydrogels	60

2.8.2. Quantification du principe actif dans les hydrogels	62
2.8.3. Mesure du pH des hydrogels	62
2.8.4. Mesure de la viscosité des hydrogels	62
2.8.5. Test d'étalement des hydrogels	62
2.8.6. Mesure de la densité des hydrogels	63
2.8.7. Mesure de l'indice de réfraction des hydrogels	63
2.8.8. Analyse structurale des hydrogels	63
2.8.9. Etude rhéologique des hydrogels	64
2.8.10. Etude de la diffusion <i>in vitro</i> (cellule de Franz)	64
2.8.10.1. Mode opératoire	66
2.8.10.2. Paramètres de diffusion	67
2.8.11. Etude statistique	68
2.8.11.1. Modélisation mathématique des profils de dissolution	68
CHAPITRE 3 : Résultats et discussion	71
3.1. Introduction	71
3.2. Caractérisation des complexes d'inclusion en solution – Etudes de phase de solubilité ...	71
3.3. Aspect macroscopique des complexes d'inclusion lyophilisée	74
3.4. Caractérisation des complexes d'inclusion	75
3.4.1. Quantification du PA encapsulé dans les cyclodextrines	75
3.4.2. Caractérisation par spectroscopie Infrarouge (FTIR)	75
3.4.3. Caractérisation par calorimétrie différentielle à balayage (DSC)	77
3.4.4. Caractérisation par Microscopie Electronique à Balayage (MEB).....	79
3.4.5. Caractérisation par diffraction des rayons X (DRX)	81
3.4.6. Caractérisation par diffusion dynamique de la lumière (DLS)	82
3.4.7. Caractérisation par Spectroscopie de résonance magnétique nucléaire (¹ H-RMN)	85

3.5. Etudes de dissolution <i>in vitro</i>	89
3.5.1. Modélisation mathématique des profils de dissolution	91
3.6. Tests biologiques <i>in vitro</i>	94
3.6.1. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire <i>in vitro</i>	94
3.6.2. Evaluation de l'activité anti-oxydante <i>in vitro</i>	95
3.6.3. Essai d'hémocompatibilité <i>in vitro</i>	97
3.6.4. Etude de stabilité sérique	94
3.7. Formulation et caractérisation d'hydrogels	100
3.7.1. Aspect macroscopique des hydrogels	100
3.7.2. Quantification du principe actif dans les hydrogels	101
3.7.3. Mesure du pH des hydrogels	101
3.7.4. Mesure de la viscosité des hydrogels	101
3.7.5. Test d'étalement des hydrogels	102
3.7.6. Mesure de la densité des hydrogels	102
3.7.7. Mesure de l'indice de réfraction des hydrogels	103
3.7.8. Analyse structurale des hydrogels– Microscopie optique	103
3.7.9. Etude rhéologique des hydrogels	105
3.7.10. Etude de la diffusion <i>in vitro</i> (cellule de Franz)	108
CONCLUSION	114
REFERENCES	116

LISTE DES FIGURES

Figure 1.1 : Structure chimique de l'acide niflumique	5
Figure 1.2 : Mécanisme d'action de l'acide niflumique	6
Figure 1.3 : Schéma simplifié de la synthèse de l'acide niflumique.....	7
Figure 1.4 : Structure moléculaire toroïdale des cyclodextrines	12
Figure 1.5 : Conversion enzymatique de l'amidon en cyclodextrines naturelles	15
Figure 1.6 : Représentation schématique des α , β , γ -cyclodextrines	18
Figure 1.7 : Forme géométrique des cyclodextrines	19
Figure 1.8 : Schéma général des dérivés de la β -cyclodextrine.....	21
Figure 1.9 : Structure schématique et numérotation des atomes de la 2HP- β -CD	23
Figure 1.10 : Schéma de la complexation hôte-invité par les cyclodextrines	26
Figure 1.11 : Schéma représentant la stœchiométrie des complexes d'inclusion hôte-invité	27
Figure 1.12 : Graphiques de Job pour les stœchiométries 1:1 et 1:2.....	29
Figure 1.13. Profils de solubilité de phase et classification des complexes selon Higuchi et Connors.....	32
Figure 1.14. Inclusion entre l'acide niflumique et la β -cyclodextrine.....	39
Figure 2.1 : Schématisation du procédé de préparation des complexes d'inclusion.....	46
Figure 2.2 : Spectre UV-Vis de l'acide niflumique	47
Figure 2.3 : Courbe d'étalonnage de l'acide niflumique dans l'éthanol absolu à $\lambda = 289$ nm	48
Figure 2.4 : Courbe d'étalonnage de l'acide niflumique dans le tampon phosphate (0,1 M, pH 6,8) à $\lambda = 289$ nm	48
Figure 2.5 : Courbe d'étalonnage de l'acide niflumique dans le tampon phosphate salin (1X, pH 7,4) à $\lambda = 289$ nm	49
Figure 2.6 : Schéma montrant la capacité inhibitrice du radical libre DPPH	54
Figure 2.7 : Schématisation du protocole du test de piégeage des radicaux libres DPPH.....	54
Figure 2.8 : Capacité inhibitrice du radical libre ABTS ⁺	55
Figure 2.9 : Schématisation du protocole du test de piégeage des radicaux libres ABTS ⁺	56
Figure 2.10 : Reaction de Fenton.....	57
Figure 2.11 : Représentation schématique de l'hémolyse	58
Figure 2.12 : Représentation schématique du test d'hémocompatibilité <i>in vitro</i>	59

Figure 2.13 : Schématisation du procédé de préparation des hydrogels	61
Figure 2.14 : Schéma d'une cellule de diffusion de Franz	65
Figure 2.15 : Photographie de la cellule de Franz utilisée	66
Figure 2.16 : Photographie du dispositif de diffusion <i>in vitro</i> utilisé	67
Figure 3.1 : Diagrammes de solubilité de phase des systèmes binaires (NA/NAs-2HP- β -CD) et ternaires (NA/NAs-2HP- β -CD-HPMC)	72
Figure 3.2 : Photographie de la poudre du complexe d'inclusion et de celle de l'acide niflumique	74
Figure 3.3 : Spectres FTIR du NA, de la 2HP- β -CD, de l'HPMC, du système binaire (NA-2HP- β -CD) et ternaires (NA/NAs-2HP- β -CD-HPMC)	76
Figure 3.4 : Courbes DSC de : NA (a) ; NA-2HP- β -CD (b) ; HPMC (c) (première montée en température) ; 2HP- β -CD (d) ; NA-2HP- β -CD-HPMC (e) ; NAs-2HP- β -CD-HPMC (f) ; HPMC (g) (seconde montée en température) NA-2HP- β -CD-HPMC (h) (seconde montée en température) ; et NAs-2HP- β -CD-HPMC (i) (seconde montée en température).....	78
Figure 3.5 : Micrographies MEB du NA (a), de la 2HP- β -CD (b), de l'HPMC (c), du NA-2HP- β -CD (d), du NA-2HP- β -CD-HPMC (e) et du NAs-2HP- β -CD-HPMC (f)	81
Figure 3.6 : Diffractogrammes du NA, de la 2HP- β -CD, de l'HPMC, du complexe NA-2HP- β -CD, du complexe NA-2HP- β -CD-HPMC et du complexe NAs-2HP- β -CD-HPMC.....	83
Figure 3.7 : Histogrammes montrant le diamètre hydrodynamique (Dh) de : a) 2HP- β -CD, b) NA-2HP- β -CD-HPMC, c) NA-2HP- β -CD, d) NAs-2HP- β -CD-HPMC, e) NA, f) HPMC.....	84
Figure 3.8 : Spectres ^1H -RMN du NA	86
Figure 3.9 : Spectres ^1H -RMN de la 2HP- β -CD	86
Figure 3.10: Spectres ^1H -RMN du NA-2HP- β -CD	87
Figure 3.11 : Spectres ^1H -RMN du NA-2HP- β -CD-HPMC	87
Figure 3.12 : Spectres ^1H -RMN du NAs-2HP- β -CD-HPMC	87
Figure 3.13 : Spectres ROESY bidimensionnels du NA-2HP- β -CD	89
Figure 3.14 : Spectres ROESY bidimensionnels du NA-2HP- β -CD-HPMC	89
Figure 3.15 : Spectres ROESY bidimensionnels du NAs-2HP- β -CD-HPMC	90
Figure 3.16 : Profils de dissolution du NA, du NAs, du NA-2HP- β -CD, du NA-2HP- β -CD-HPMC et du NAs-2HP- β -CD-HPMC	91

Figure 3.17 : Application des modèles mathématiques : modèle d'ordre zéro (a), ordre un (b), Higuchi (c), Hixson–Crowell (d) et Korsmeyer–Peppas (e)	94
Figure 3.18 : Pourcentage d'inhibition de la dénaturation de l'albumine pour le NA, NAs-2HP- β -CD-HPMC et le Diclofénac	96
Figure 3.19 : Évaluation de l'activité antioxydante de l'AN et du complexe NAs-2HP- β -CD-HPMC par trois techniques (DPPH, ABTS+, HRS)	97
Figure 3.20 : Pourcentages d'hémolyse du NA et du complexe d'inclusion « NAs-2HP- β -CD-HPMC »	98
Figure 3.21 : Stabilité sérique de NA et du « NAs-2HP- β -CD-HPMC » au cours du temps	100
Figure 3.22 : Aspect macroscopique de l'hydrogel d'acide niflumique et de l'hydrogel du complexe NAs-2HP- β -CD-HPMC	101
Figure 3.23 : Images obtenues par microscopie optique de l'hydrogel de l'acide niflumique	105
Figure 3.24 : Observation microscopique de l'hydrogel complexe d'inclusion « NAs-2HP- β -CD-HPMC ».....	105
Figure 3.25 : Variation des deux modules de conservation (G') et de perte (G'') de l'hydrogel de NA	106
Figure 3.26 : Variation des deux modules de conservation (G') et de perte (G'') de l'hydrogel de « NAs-2HP- β -CD-HPMC »	107
Figure 3.27 : Variation des deux modules G' et G'' de l'hydrogel de NA en fonction de la variation de la fréquence	108
Figure 3.28 : Variation des deux modules G' et G'' de l'hydrogel de « NAs-2HP- β -CD-HPMC » en fonction de la variation de la fréquence	108
Figure 3.29 : Comparaison du module de conservation (G') des deux hydrogels	109
Figure 3.30 : Courbes cinétiques de diffusion du principe actif dans les hydrogels de NA et de « NAs-2HP- β -CD-HPMC »	111

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1.1 : Propriétés physico-chimiques de l'acide niflumique	8
Tableau 1.2 : Propriétés physico-chimiques des trois principales cyclodextrines.....	20
Tableau 1.3 : Caractérisations des cyclodextrines modifiés	21
Tableau 2.1 : Produits chimiques utilisés	43
Tableau 2.2 : Composition des formulations de l'hydrogel.....	61
Tableau 3.1 : . Données de solubilité de phase des systèmes binaires (NA/NAs 2HP- β -CD) et ternaires (NA/NAs-2HP- β -CD-HPMC).....	73
Tableau 3.2 : Teneur en principe actif dans les systèmes binaires (NA-2HP- β -CD) et ternaires (NA/NAs-2HP- β -CD-HPMC).....	75
Tableau 3.3 : Données des variations de déplacements chimiques ($\Delta\delta$, ppm) des protons du NA en état libre et dans les complexes d'inclusion	88
Tableau 3.4 : . Données issues de l'application de différents modèles mathématiques pour l'analyse des cinétiques de libération du principe actif.....	93
Tableau 3.5 : . Quantités et les teneurs en PA dans l'hydrogel de NA et l'hydrogel du complexe « NAs-2HP- β -CD-HPMC ».....	102
Tableau 3.6 : Les d et les Si de l'hydrogel de NA et de l'hydrogel du complexe « NAs-2HP- β -CD-HPMC ».....	103
Tableau 3.7 : Quantités diffusées et diffusion par unité de surface en fonction du temps de l'hydrogel de NA et de l'hydrogel du complexe d'inclusion.....	110

LISTE DES ABREVIATIONS

NA : Acide Niflumique

NAs : Sel sodique de l'acide niflumique

CD : Cyclodextrine

2HP- β -CD : 2-Hydroxypropyl- β -cyclodextrine

HPMC : Hydroxypropylméthylcellulose

EC : Efficacité de complexation

Ks : Constante de stabilité

FTIR : Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier

DSC : Calorimétrie Différentielle à Balayage

MEB : Microscopie Électronique à Balayage

DRX : Diffraction des Rayons X

DLS : Diffusion Dynamique de la Lumière

UV-Vis : Spectroscopie Ultraviolet-Visible

^1H -RMN : Résonance Magnétique Nucléaire du Proton

ROESY ^1H : Résonance Magnétique Nucléaire par Effet Overhauser Rotatif

PA : Principe Actif

LVE : Limite Viscoélastique Linéaire

G' : Module de conservation

G'' : Module de perte

FBS : Sérum Fœtal Bovin

DPPH : 2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyle

ABTS⁺ : Acide 2,2'-Azino-bis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)

HRS : Radicaux hydroxyles

F : Fréquence

Hz : Hertz

L : Temps de latence

J : Flux

Kp : Coefficient de perméabilité

D : Coefficient de diffusion

INTRODUCTION GENERALE

L'amélioration du profil pharmacocinétique des médicaments classiques à l'aide de nouvelles stratégies de formulation, telles que l'utilisation de systèmes innovants et de systèmes de libération contrôlée, constitue un domaine de recherche important, car elle est moins coûteuse que le développement de nouveaux médicaments. De plus, cette approche permet d'exploiter les caractéristiques de médicaments dont l'efficacité a été prouvée et qui ont fait l'objet de tests rigoureux concernant leur efficacité et leurs effets secondaires potentiels [1]. Cependant, plusieurs médicaments, en particulier les anti-inflammatoires non stéroïdiens, présentent divers inconvénients, notamment une faible solubilité, une biodisponibilité réduite et des effets secondaires [2].

La méthode efficace permettant de surmonter ces limitations consiste en la complexation avec les cyclodextrines (CDs). Les CDs sont des oligosaccharides cycliques de forme torique, capables de former des complexes d'inclusion avec divers médicaments par le biais d'interactions non covalentes, telles que les liaisons hydrogène et les forces de van der Waals [3, 4]. Les complexes d'inclusion à base de CDs améliorent la solubilité, la stabilité et la biodisponibilité des principes actifs, tout en offrant des procédés de formulation plus flexibles. En outre, les CDs protègent les médicaments contre la dégradation, permettent d'ajuster les profils de libération grâce à des modifications chimiques, et présentent généralement une faible toxicité [5]. Afin d'améliorer la solubilité et la stabilité de la β -CD pour des applications pharmaceutiques, des formes chimiquement modifiées de β -CD ont été synthétisées. Par exemple, la 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrine (2HP- β -CD) est un dérivé de la β -CD dans lequel les groupes hydroxyle de l'atome C6 des unités de glucose sont remplacés par des groupes 2-hydroxypropyle [6]. Elle est reconnue comme sûre et bien tolérée par la FDA américaine [7], étant largement utilisée pour améliorer la solubilité, la vitesse de dissolution et la stabilité chimique des médicaments, tout en réduisant leurs effets secondaires gastro-intestinaux [8-10].

Il est connu que les médicaments ayant des poids moléculaires compris entre 200 et 400 Da et les CDs ayant des poids moléculaires entre 1200 et 1500 Da présentent souvent une faible efficacité de complexation (EC) [11, 12]. En conséquence, de nombreuses études ont été menées pour améliorer l'EC des médicaments dans les CDs à travers différentes méthodes, telles que la

formation de sels, l'ajout de polymères hydrosolubles, les interactions électrostatiques, les complexations multiples et les complexes métalliques [13]. Dans ce contexte, l'ajout de petites quantités de polymères hydrophiles a démontré un potentiel significatif [14].

L'acide niflumarique (2-[[3-(trifluorométhyl)-phényl]-amino]-3-pyridine carboxylique) est un anti-inflammatoire non stéroïdien connu pour ses propriétés anti-inflammatoires, analgésiques et antipyrétiques [15]. Selon le Système de Classification Biopharmaceutique (BCS), le NA est classé comme un composé de classe II, caractérisé par sa faible solubilité dans l'eau (26 µg/mL à 25 °C), sa lipophilicité et sa haute perméabilité [16]. De plus, la concentration maximale de NA varie largement, allant de 188 à 4121 ng/mL, selon les méthodes analytiques utilisées [17, 18]. Ces propriétés contribuent à son faible taux de dissolution et à sa faible biodisponibilité orale, affectant ainsi son efficacité thérapeutique. Il provoque également plusieurs effets secondaires, ainsi qu'une faible sélectivité entre les tissus normaux et enflammés [19].

Afin d'améliorer le profil physico-chimique, pharmacocinétique et les effets pharmacologiques du NA, plusieurs études ont porté sur des complexes d'inclusion à base de NA-CD [20-22]. Étant donné que le poids moléculaire du NA est d'environ 282,22 Da, l'efficacité de complexation du NA avec des dérivés de CD comme la 2HP-β-CD pourrait être augmentée. Concernant le complexe NA-2HP-β-CD, les recherches sont limitées en ce qui concerne l'optimisation simultanée de la formation du complexe d'inclusion et le maintien de la stabilité. La combinaison de deux approches, comme la formation de sels et l'ajout de polymères hydrophiles, pourrait améliorer efficacement à la fois l'EC et la stabilité apparente [23, 24].

L'objectif principal de la présente étude était d'évaluer l'effet synergique de la 2HP-β-CD et de l'HPMC, ainsi que la formation de sels sur le profil pharmacocinétique du NA, en se concentrant sur des paramètres clés tels que l'efficacité de complexation et la constante de stabilité du complexe résultant. Plus précisément, des complexes d'inclusion binaires et ternaires à base de NA et de NAs ont été synthétisés et étudiés en termes de l'EC, de solubilité, de propriétés physico-chimiques et de taux de dissolution du médicament. Cet objectif a été atteint grâce à une étude comparative visant à identifier la formulation la plus efficace pour optimiser la délivrance du NA. Les propriétés physico-chimiques de ces complexes à l'état solide et liquide ont été évaluées à l'aide de la spectroscopie FTIR, DSC, XRD, MEB, DLS, UV-Vis et ¹H-RMN. De plus, les profils de solubilité de phase et de dissolution *in vitro* ont été

examinés, et les activités biologiques *in vitro* ont été évaluées afin de déterminer l'effet thérapeutique.

Après avoir atteint notre objectif principal, qui consistait à optimiser le complexe d'inclusion à travers les évaluations précédemment mentionnées, ce complexe a été utilisé pour formuler un hydrogel dans le but d'évaluer la délivrance transdermique du principe actif après complexation. Cette évaluation a été comparée à celle d'un hydrogel contenant le principe actif seul. Les hydrogels formulés ont été caractérisés à l'aide de plusieurs méthodes physico-chimiques et rhéologiques. Enfin, leur diffusion transdermique *in vitro* a été étudiée, afin de mieux comprendre leur potentiel pour des applications transdermiques.

Cette thèse est organisée en trois sections principales. La première partie constitue une étude bibliographique portant sur l'acide niflumique, en détaillant ses propriétés chimiques et pharmacologiques, ainsi que ses limitations. Elle examine également l'utilisation des cyclodextrines, connues pour former des complexes d'inclusion avec des molécules hydrophobes. Cette section traite en outre des différentes méthodes de préparation et de caractérisation de ces complexes, ainsi que de leurs applications.

La deuxième partie décrit l'ensemble des protocoles expérimentaux mis en œuvre, en précisant les nombreuses techniques de caractérisation utilisées pour cette étude.

La troisième partie est dédiée à la présentation des résultats obtenus, accompagnée d'analyses, d'interprétations et de discussions approfondies.

Enfin, cette thèse se conclut par une synthèse générale, où sont récapitulés les principaux résultats de ce travail, ainsi que les perspectives de recherche future, en mettant en avant les aspects nécessitant des investigations complémentaires.

CHAPITRE 1

Etude bibliographique

1.1. Généralités sur l'acide niflumique

➤ Introduction

L'acide niflumique (NA), un membre de la famille des fénamates, est bien connu pour son efficacité en tant qu'anti-inflammatoire non stéroïdien (AINS). Il est principalement utilisé dans le traitement des inflammations et des douleurs rhumatismales. Ce médicament agit en inhibant une enzyme appelée cyclooxygénase (COX), essentielle à la production des prostaglandines, des molécules impliquées dans les processus inflammatoires. Contrairement à certains autres AINS, il agit de manière réversible sur cette enzyme et montre une certaine spécificité pour la COX-2 [25].

Malgré ses bénéfices, l'acide niflumique n'est pas sans défauts. Sa faible solubilité dans l'eau, une biodisponibilité limitée et des effets secondaires, notamment au niveau gastro-intestinal, réduisent parfois son efficacité. Ces limitations en font une molécule intéressante pour la recherche et le développement de nouvelles formulations capables d'améliorer ses performances et de minimiser ses inconvénients [26].

Dans cette section, nous explorerons les caractéristiques principales de cette molécule, notamment son mécanisme d'action, ses propriétés chimiques et pharmacologiques, ainsi que les obstacles liés à son utilisation. Nous aborderons également les approches modernes visant à contourner ces limitations et à ouvrir de nouvelles perspectives d'application thérapeutique.

1.1.1. Définition et classification

L'acide niflumique (acide 2-[[3-(trifluorométhyl)phényl]amino]nicotinique), est un anti-inflammatoire non stéroïdien appartenant à la famille des fénamates [27]. Il est de couleur

jaune pâle, faiblement soluble dans l'eau et possède un goût désagréable. Il est également classé parmi les inhibiteurs de la cyclooxygénase 2 (COX-2) [28].

Selon la classification biopharmaceutique de Schème, cette molécule appartient à la classe II, caractérisée par des composés lipophiles, peu solubles dans l'eau, mais hautement perméables [16]. L'acide niflumique est utilisé principalement dans le traitement des maladies rhumatismales, notamment la polyarthrite, ainsi que pour le traitement symptomatique de la douleur lors de manifestations inflammatoires dans les domaines de l'oto-rhino-laryngologie (ORL) et de la stomatologie [29].

1.1.2. Structure et mécanisme d'action

La formule brute de l'acide niflumique est $C_{13}H_9F_3N_2O_2$, avec une structure présentée comme suit (Figure. 1.1) :

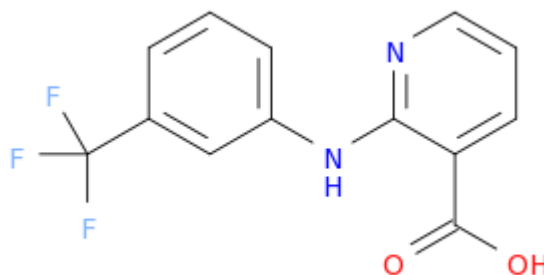


Figure 1.1 : Structure chimique de l'acide niflumique [30].

L'acide niflumique exerce son mécanisme d'action principalement à travers l'inhibition de COX-2, une enzyme clé dans la production des prostaglandines, molécules responsables de l'inflammation, de la douleur et de la fièvre [31]. Voici les principales étapes de son mécanisme d'action et les propriétés pharmacologiques qu'il présente :

1.1.2.1. Inhibition de la COX-2

L'acide niflumique inhibe de manière réversible la COX-2, une enzyme responsable de la conversion de l'acide arachidonique en prostaglandines pro-inflammatoires. Contrairement à certains anti-inflammatoires comme l'aspirine, qui forment une liaison covalente avec le site

actif de la COX, l'acide niflumique interagit de façon non covalente et réversible avec cette enzyme.

- Interactions ioniques : Le groupement carboxylate de l'acide niflumique forme une interaction électrostatique avec l'arginine 120 du site actif de la COX-2, bloquant ainsi l'accès de l'acide arachidonique, qui est le substrat naturel de l'enzyme.
- Interactions hydrophobes : Des interactions hydrophobes entre les noyaux aromatiques de l'acide niflumique et les résidus hydrophobes du site actif de la COX-2 renforcent cette inhibition [32].

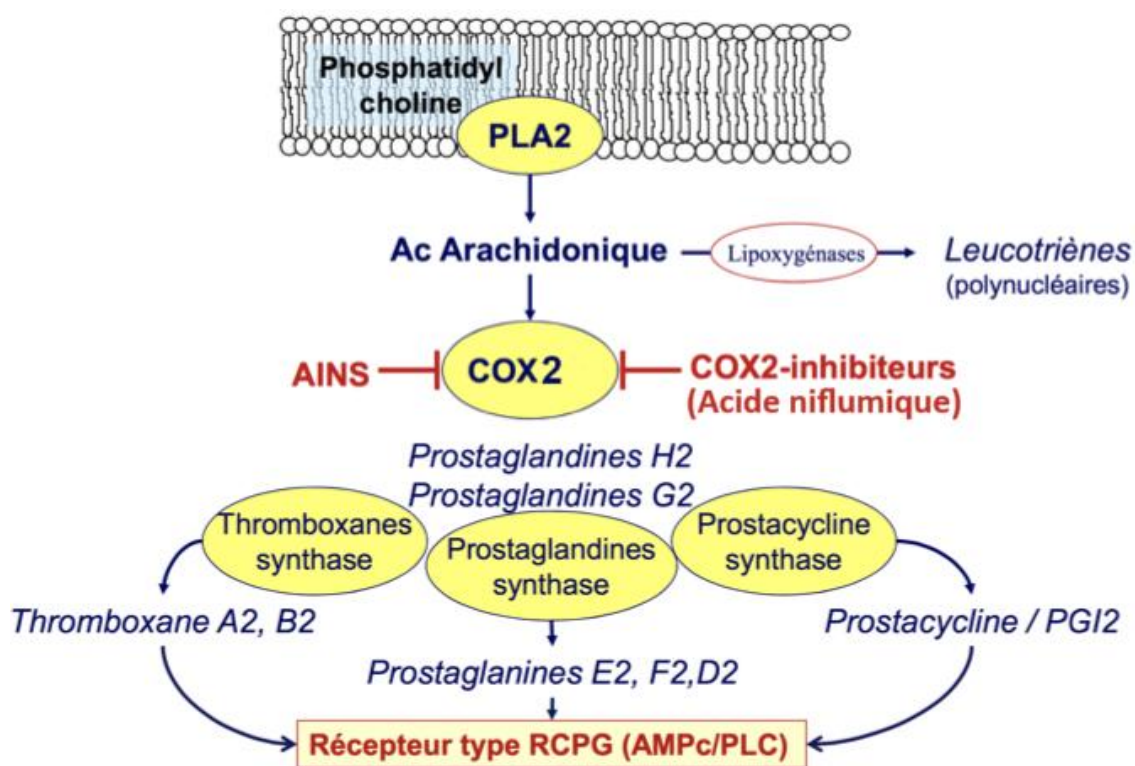


Figure 1.2 : Mécanisme d'action de l'acide niflumique [33].

1.1.3. Synthèse de l'acide niflumique

La synthèse de l'acide niflumique se réalise selon les étapes suivantes [34]:

a) Oxydation de l'acide pyridine-3-carboxylique

L'acide pyridine-3-carboxylique est oxydé à l'aide de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) pour former un intermédiaire oxygéné. Cette oxydation est une étape cruciale pour l'introduction du groupe trifluorométhyle ultérieurement.

b) Conversion en chlorure d'acide

L'intermédiaire oxygéné obtenu à l'étape précédente réagit avec du trichlorure de phosphore (PCl_3) pour former un chlorure d'acide. Le chlorure d'acide est un intermédiaire réactif qui sera utilisé pour la formation de la liaison amide.

c) Réaction avec la méta-trifluorométhylaniline

Le chlorure d'acide réagit avec la méta-trifluorométhylaniline dans une réaction d'amination pour former un amide. C'est à cette étape que le groupe trifluorométhyle caractéristique de l'acide niflumique est introduit dans la molécule.

d) Hydrolyse

L'amide obtenu à l'étape précédente est hydrolysé en présence d'eau pour former l'acide niflumique. Cette hydrolyse permet de libérer le groupe acide carboxylique final.

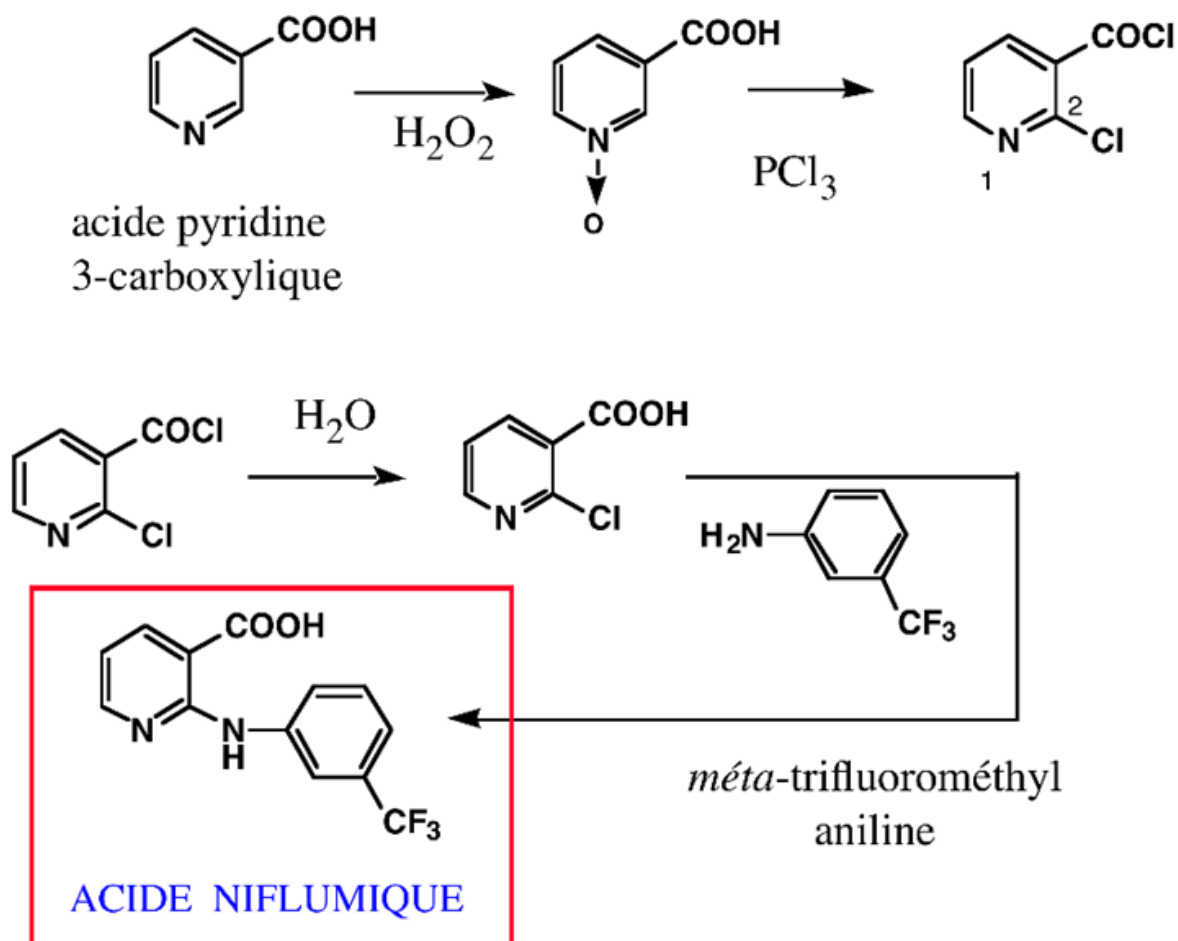


Figure 1.3 : Schéma simplifié de la synthèse de l'acide niflumique [34].

1.1.4. Propriétés physico-chimiques de l'acide niflumique

Les propriétés physico-chimiques de l'acide niflumique sont présentées dans le tableau ci-dessous [35] :

Tableau 1.1 : Propriétés physico-chimiques de l'acide niflumique [36].

Nom de la propriété	Valeur de la propriété
Poids moléculaire (g/mol)	282.22
XLogP3-AA	3.7
Nombre de donneurs de liaison hydrogène	2
Nombre d'accepteurs de liaison hydrogène	7
Point de fusion (°C)	203
Solubilité (mg/L à 25 °C)	19
LogP	4.43
Surface polaire topologique (Å ²)	62.2
Nombre d'atomes isotopiques	0

1.1.5. Propriétés pharmacologiques de l'acide niflumique

1.1.5.1. Propriétés anti-inflammatoires, analgésiques et antipyrétiques

En bloquant la formation des prostaglandines, l'acide niflumique réduit l'inflammation, la douleur et la fièvre :

- Propriété anti-inflammatoire : Diminution de la production des prostaglandines inflammatoires, ce qui réduit le gonflement et les signes de l'inflammation.
- Propriété analgésique : Réduction de la sensibilité des récepteurs de la douleur, limitant ainsi la perception douloureuse.
- Propriété antipyrétique : Interruption de la production de prostaglandines dans l'hypothalamus, régulant ainsi la température corporelle.

1.1.5.2. Action sur les canaux ioniques

L'acide niflumique est également utilisé en recherche biologique pour inhiber certains canaux ioniques, notamment les canaux à chlorure [37], et il agit sur les récepteurs GABA_A et NMDA [38, 39] ainsi que sur les canaux calciques de type T [40], bien que ces actions ne soient pas directement liées à son effet anti-inflammatoire classique.

1.1.6. Propriétés pharmacocinétique de l'acide niflumique

L'acide niflumique présente les aspects pharmacocinétiques suivants [41]:

a) Absorption

L'acide niflumique est rapidement absorbé, avec un pic plasmatique atteint en environ 2 heures. La biodisponibilité est légèrement diminuée lorsqu'il est administré pendant un repas. Bien que l'association avec un antiacide n'altère pas l'absorption, un retard d'absorption a été observé, accompagné d'une réduction significative du C_{max}.

b) Distribution

L'élimination de l'acide niflumique présente une demi-vie courte, estimée entre 4 et 6 heures. Le passage dans le lait maternel est faible, avec des concentrations d'acide niflumique représentant environ 1 % des concentrations plasmatiques. La liaison aux protéines plasmatiques dépasse 90 %.

c) Métabolisme

L'acide niflumique est principalement métabolisé en deux dérivés inactifs : l'acide 5-hydroxyniflumique et l'acide 4-hydroxyniflumique.

d) Élimination

L'acide niflumique et ses métabolites sont majoritairement excrétés par voie urinaire sous forme libre ou conjuguée (glucuroconjuguée et sulfoconjuguée). L'excrétion fécale représente environ 30 % de l'élimination totale. Il n'y a pas d'accumulation notable après des administrations répétées.

e) Variations physiopathologiques

L'insuffisance rénale n'affecte pas les paramètres pharmacocinétiques de l'acide niflumique. Les données concernant la cinétique chez les sujets âgés ou la variation des concentrations plasmatiques en fonction des doses administrées n'ont pas été étudiées.

1.1.7. Effets indésirables de l'acide niflumique

L'acide niflumique peut induire divers effets indésirables, dont la fréquence et l'intensité varient en fonction de la durée du traitement, de la posologie et des caractéristiques physiopathologiques individuelles du patient [18, 19].

a) Effets gastro-intestinaux

L'inhibition de la COX par l'acide niflumique peut altérer la production de prostaglandines protectrices de la muqueuse gastrique, entraînant ainsi des troubles tels que : douleurs abdominales, nausées et vomissements, dyspepsie (indigestion) et ulcères gastro-duodénaux.

b) Effets rénaux et hépatiques

L'acide niflumique peut provoquer des effets indésirables rénaux et hépatiques. Sur le plan rénal, il peut entraîner une insuffisance rénale aiguë en raison de l'inhibition de la COX, une enzyme essentielle à la régulation du flux sanguin rénal, ce qui peut altérer la fonction rénale. Par ailleurs, bien que rares, des anomalies hépatiques telles qu'une élévation des transaminases hépatiques peuvent survenir, suggérant une hépatotoxicité généralement réversible à l'arrêt du traitement.

c) Effets cardiovasculaires

Bien que moins fréquents, des effets cardiovasculaires peuvent survenir, tels que l'hypertension et la rétention hydrosodée. L'acide niflumique peut induire une rétention de sodium et d'eau, ce qui peut entraîner un œdème.

d) Effets dermatologiques

Des réactions cutanées, telles que des éruptions cutanées (rash) et des réactions allergiques sévères, peuvent être observées chez certains patients.

e) Effets hématologiques

Des perturbations du système sanguin peuvent être observées, notamment la leucopénie (diminution des globules blancs) et la thrombocytopénie (baisse du nombre de plaquettes), pouvant affecter la coagulation et augmenter le risque de saignements.

1.2. Généralités sur les cyclodextrines

➤ Introduction

Définie par Jean-Marie Lehn comme « la chimie des assemblages de molécules et des liaisons intermoléculaires », la chimie supramoléculaire explore des structures organisées où les composants interagissent harmonieusement par des forces non covalentes. Depuis ses débuts, cette discipline s'est étendue à des domaines variés, notamment la biomimétique, la science des matériaux et la physique. La reconnaissance mondiale de cette chimie a été consacrée en 1987 par l'attribution du prix Nobel à J. M. Lehn, D. J. Cram et C. J. Pedersen pour leurs travaux sur les cryptates, sphérants et éthers couronnes, des molécules illustrant la spécificité et la sélectivité des interactions supramoléculaires [42-44].

Les cyclodextrines occupent une place centrale en chimie supramoléculaire en raison de leur capacité unique à former des complexes d'inclusion grâce aux interactions hôte-invité. Ces interactions reposent sur des forces intermoléculaires non covalentes qui permettent à une molécule hôte, telle qu'une cyclodextrine, de piéger ou stabiliser une molécule invitée [45]. Ce phénomène, fondamental en chimie supramoléculaire, est à l'interface de plusieurs disciplines comme la chimie, la physique et la biologie. Cette section propose une vue d'ensemble des propriétés, mécanismes et applications des CDs en tant que molécules hôtes.

1.2.1. Définition et nomenclatures des cyclodextrines

1.2.1.1. Définition

Les cyclodextrines sont des oligosaccharides cycliques obtenus par dégradation enzymatique de l'amidon, et elles se caractérisent par une structure moléculaire en forme de tore (Figure 1.4). Elles sont constituées de six, sept, huit ou davantage d'unités de D-glucopyranose liées par des liaisons (α -1,4-), formant respectivement les α -, β - et γ -cyclodextrines. Ces molécules présentent une cavité interne relativement hydrophobe et une surface externe hydrophile [46, 47].

Cette configuration particulière confère aux cyclodextrines la capacité de former des complexes d'inclusion hôte-invité avec une grande variété de composés lipophiles. Les molécules invitées peuvent être partiellement ou totalement encapsulées dans la cavité

hydrophobe, tandis que la surface externe hydrophile interagit avec le solvant, offrant ainsi de nombreuses applications dans les industries pharmaceutique, agroalimentaire et cosmétique [48].

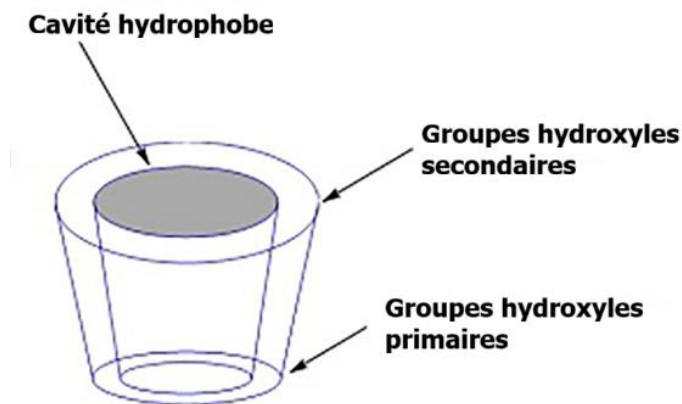


Figure 1.4 : Structure moléculaire toroïdale des cyclodextrines [13].

1.2.1.2. Nomenclatures des cyclodextrines

Au cours de leur histoire, les CDs ont été désignées sous différents noms. Leur nomenclature actuelle repose sur des règles bien établies, mais elle a connu plusieurs modifications avant de se stabiliser. Initialement, Villers les a nommées "cellulosines" [49]. Plus tard, à la suite des travaux de Schardinger, elles furent renommées "dextrines cristallisées α " et "dextrines cristallisées β " [50]. Lorsque Freudenberg découvrit la γ -CD, il l'appela " γ -dextrine" [51]. Par ailleurs, dans les premières publications, le terme "dextrines de Schardinger" fut utilisé pour rendre hommage aux contributions majeures de Schardinger à ce domaine [52].

Avec le temps, la désignation basée sur des lettres grecques, précédant le mot "dextrine", s'est imposée comme une convention : α -CD pour les cyclodextrines contenant six unités glucosidiques, β -CD pour sept unités, et ainsi de suite. Bien que largement acceptée, cette nomenclature présente des limitations. En effet, le terme "cyclodextrine" informe uniquement sur la nature du sucre, mais ne précise pas la nature des liaisons glycosidiques. Pour pallier cette ambiguïté, l'IUPAC propose une nomenclature officielle basée sur le préfixe "cyclomalto-", suivi du nombre d'unités glucosidiques et du suffixe "ose". Par exemple, la β -CD est désignée sous le nom de "cyclomaltoheptaose", où le terme "malto" indique une liaison glycosidique « α -1,4- ».

Cependant, cette terminologie officielle présente également des imperfections. Le suffixe "ose" implique généralement la présence d'un centre anomérique libre (C1), ce qui n'est pas le cas des cyclodextrines en raison de leur structure cyclique. De plus, le terme "maltose" peut induire une confusion avec un disaccharide. Malgré ces limites, l'appellation triviale "cyclodextrine", accompagnée d'une lettre grecque en préfixe, reste aujourd'hui la plus utilisée par la communauté scientifique [53]. Ce terme, bien que simplifié, est largement adopté comme nomenclature générale dans les travaux actuels.

1.2.2. Histoire des cyclodextrines

Les CDs ont une histoire riche et fascinante qui s'étend sur plus d'un siècle. De leur découverte initiale à leur production industrielle, elles ont marqué des avancées significatives dans le domaine de la chimie et des applications pharmaceutiques. Cette section retrace leur évolution en trois étapes clés : la découverte, l'exploration, l'exploration et la production.

1.2.2.1. La découverte et l'exploration

La découverte des cyclodextrines remonte à 1891 lorsque le scientifique français Villiers a isolé une substance cristalline, issue de la dégradation enzymatique de l'amidon par des bactéries du genre *Bacillus*. Il nomma cette substance « cellulosine » en raison de ses similitudes physico-chimiques avec la cellulose, notamment sa résistance à l'hydrolyse acide et l'absence de propriétés réductrices [49].

Entre 1903 et 1911, Franz Schardinger poursuivit les recherches sur ces substances, identifiant deux types distincts qu'il appela α -dextrine et β -dextrine, différenciés par leur capacité à former des complexes de couleurs spécifiques avec l'iode [54]. La découverte de la γ -cyclodextrine survint plus tard, en 1938, grâce aux travaux de Freudenberg, qui détermina également leur structure cyclique composée d'unités maltose reliées par des liaisons glycosidiques « α -1,4-» [55].

Les travaux de Freudenberg et Cramer dans les années 1940-1950 ont marqué un tournant majeur dans l'étude des cyclodextrines, en mettant en évidence leur capacité à former des complexes d'inclusion. Ces complexes ont montré leur efficacité pour protéger des substances sensibles à l'oxydation, augmenter la solubilité des composés peu solubles et réduire les pertes de substances volatiles [51].

Le premier brevet sur l'application des cyclodextrines, déposé en 1953 par Freudenberg, Cramer et Plieninger, portait sur l'utilisation des cyclodextrines pour la stabilisation et la solubilisation de composés organiques physiologiquement actifs [56]. Par la suite, les années 1950 et 1960 ont vu une augmentation significative des études sur leurs propriétés physico-chimiques et leur capacité de complexation [57]. Leur reconnaissance a été renforcée en 1981 avec l'organisation du premier symposium international sur les cyclodextrines, suivi de réunions biennales à partir de 1984 [58].

1.2.2.2. Exploitation

Le brevet déposé en 1953 par Freudenberg, Cramer et Plieninger a constitué une étape clé dans l'histoire des cyclodextrines, en ouvrant la voie à leur utilisation dans les formulations pharmaceutiques [59]. Durant les années 1970, bien que leur coût de production fût encore élevé et leur disponibilité limitée, les cyclodextrines ont commencé à susciter un intérêt croissant, notamment pour leur rôle en tant que vecteurs capables d'améliorer la biodisponibilité des principes actifs [60]. Cette progression a été marquée par une avancée notable en 1976 avec la commercialisation du Prostarmon ETM[®], le premier produit pharmaceutique intégrant des cyclodextrines, développé par Ono Pharmaceutical Co. au Japon. Cet événement a marqué le début de l'exploitation industrielle des cyclodextrines [61].

1.2.2.3. Production

Les cyclodextrines sont produites par dégradation enzymatique de l'amidon, impliquant la cyclodextrine glycosyltransférase (CGTase) produite par des microorganismes tels que *Bacillus macerans* [54]. La réaction enzymatique transforme la structure hélicoïdale de l'amylose en structures cycliques (Figure 1.5).

Initialement limitées à de petites quantités et à un coût élevé (jusqu'à 2000 \$/kg pour la β -CD dans les années 1970), les cyclodextrines sont aujourd'hui produites industriellement à hauteur de 10 000 tonnes par an, avec un coût nettement réduit (environ 5 \$/kg pour la β -CD) [62]. Les principales étapes de production incluent la purification par filtration, cristallisation, et élimination des solvants [63]. Des dérivés modifiés, comme la 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrine et la sulfobutyléther- β -cyclodextrine, sont également fabriqués pour des applications spécifiques, notamment pharmaceutiques [64].

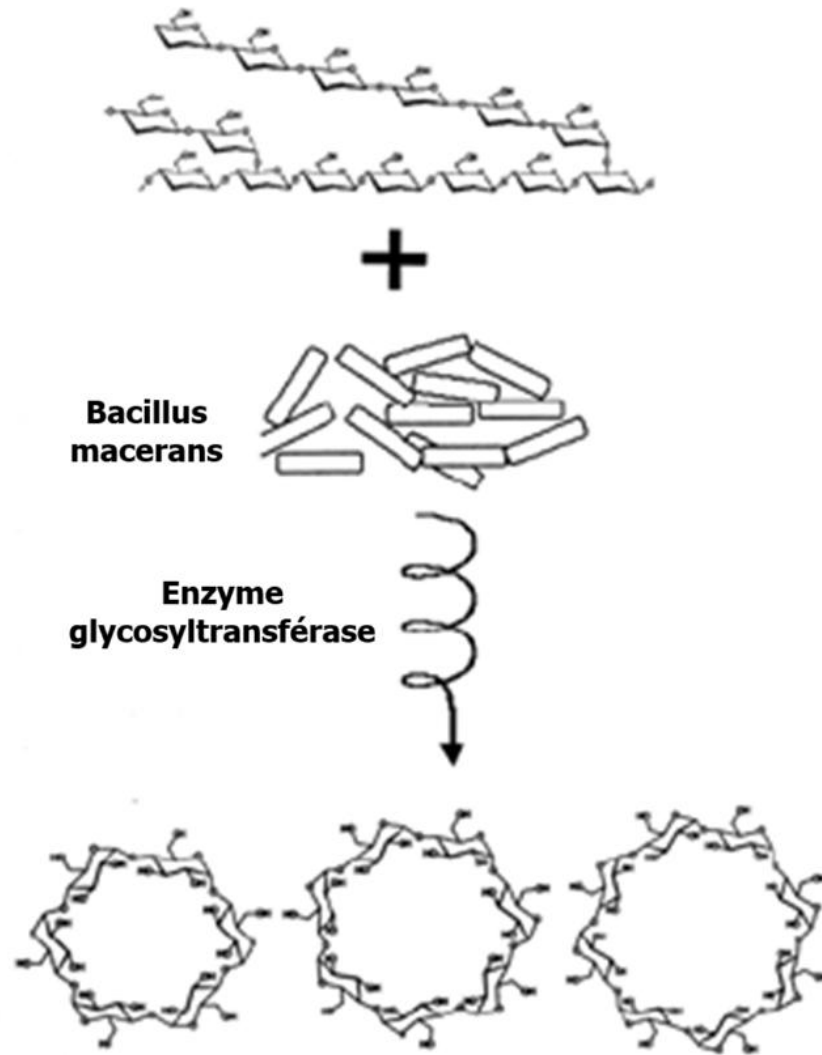


Figure 1.5 : Conversion enzymatique de l'amidon en cyclodextrines naturelles [65].

1.2.3. Utilisations des cyclodextrines

Les CDs ont trouvé des applications dans de nombreux secteurs grâce à leur capacité à former des complexes avec des molécules et à modifier leurs caractéristiques physico-chimiques. Lorsqu'une molécule est encapsulée dans une cyclodextrine, elle est isolée de son environnement, ce qui peut contribuer à stabiliser des composés autrement instables [66]. Ces propriétés ont des applications dans divers domaines tels que les produits pharmaceutiques, les agrochimiques, l'alimentation, ainsi que dans les colorants, les arômes et les parfums utilisés dans différentes industries. Les principales applications des cyclodextrines peuvent être résumées comme suit :

a) Stabilisation des composés sensibles à la lumière et à l'oxygène

La complexation avec les CDs permet de stabiliser des composés sensibles et de modifier leur réactivité chimique, facilitant ainsi leur formulation. Par exemple : les insecticides à base de pyréthrine, qui sont sensibles à la lumière [67], la vitamine D3 (cholécalférol) [68], certaines prostaglandines [69, 70], la nitroglycérine, qui, une fois complexée avec la β -cyclodextrine, voit ses propriétés explosives réduites, permettant son utilisation sous forme de comprimés [71].

b) Fixation des substances volatiles

Les CDs peuvent fixer des substances volatiles, notamment les huiles aromatiques utilisées dans les produits alimentaires et les produits de toilette, tout en conservant leurs propriétés essentielles, telles que le goût et l'odeur. Ces huiles, une fois complexées, sont plus faciles à manipuler sous forme de poudre ou d'émulsion, comme l'illustrent les huiles de camomille, d'ail et de romarin. Ces applications incluent les dentifrices, les chewing-gums et les additifs pour bains [66, 72]. Une fois le complexe en contact avec de l'eau ou de la salive, les arômes sont libérés par dissociation.

c) Modification des caractéristiques physico-chimiques

Les CDs augmentent la solubilité aqueuse des substances peu solubles ou insolubles, facilitant leur dissolution ou leur dispersion dans un milieu aqueux. Cela est particulièrement pertinent pour les applications biologiques, telles que la dispersion de comprimés dans l'estomac lors de l'administration orale et l'amélioration de la biodisponibilité des principes actifs [73, 74].

d) Masquage des pigments, odeurs et goûts désagréables

Les cyclodextrines permettent également de masquer les goûts amers ou astringents et les odeurs désagréables. Cela est particulièrement utile dans les formulations pédiatriques, car les CDs ont un goût relativement sucré et une perception gustative proche de celle du saccharose [75-77].

e) Amélioration de la compatibilité dans les systèmes multicomposants

En isolant des substances incompatibles les unes des autres, les CDs favorisent la compatibilité dans des formulations complexes [78]. Cependant, une attention particulière doit

être portée à l'exposition à l'humidité, qui pourrait déstabiliser partiellement le complexe et entraîner une interaction entre ces substances [79].

f) Applications catalytiques

Bien que principalement utilisées dans l'industrie pharmaceutique, les cyclodextrines trouvent également des applications comme catalyseurs dans d'autres domaines. Leur capacité à former des liaisons covalentes et non covalentes avec divers substrats leur permet d'accélérer certaines réactions chimiques sous des conditions spécifiques, comme l'hydrolyse des esters et des amides, la décarboxylation et l'oxydation [66].

g) Ciblage et Vectorisation des Principes Actifs

Les CDs sont des vecteurs polyvalents largement exploités en pharmacologie pour le ciblage moléculaire et la vectorisation des principes actifs. Dans le ciblage moléculaire, les CDs peuvent être greffées avec des molécules spécifiques, telles que des peptides comme l'enképhaline ou l'endorphine, pour diriger les médicaments vers des sites biologiques précis, notamment au niveau cérébral [80]. En tant qu'agents de vectorisation, les CDs permettent d'encapsuler des molécules hydrophobes, facilitant ainsi leur passage dans le circuit sanguin et leur diffusion contrôlée. Elles offrent également la possibilité de transformer des composés liquides en solides, tels que des poudres ou des comprimés, améliorant ainsi leur stabilité et leur biodisponibilité [81, 82].

1.2.4. Structure et propriétés physico-chimiques des cyclodextrines

1.2.4.1. Structure

Les CDs sont des oligosaccharides cycliques composés d'unités α -D-glucopyranose ($C_6H_{10}O_5$) reliées par des liaisons glycosidiques de type « α -1,4 » . Les principales formes naturelles comprennent l' α -CD (6 unités de glucopyranose), la β -CD (7 unités) et la γ -CD (8 unités). Ces unités, adoptant une conformation en chaise, confèrent aux CDs une structure caractéristique de cône tronqué ou d'abat-jour avec une cavité centrale bordée de groupes hydroxyle (Figure 1.6) [83]. Grâce à cette conformation spécifique, les groupes hydroxyles secondaires se situent autour de l'ouverture la plus large de la cavité, formant ce qu'on appelle la face secondaire, tandis que les groupes hydroxyles primaires, situés sur les carbones C6, sont regroupés autour de l'ouverture la plus étroite, appelée face primaire. Cette géométrie donne aux CDs une structure proche d'un cylindre conique. Les liaisons hydrogène

formées entre les groupes hydroxyles secondaires (C2 et C3) des unités adjacentes renforcent la rigidité structurale, en particulier pour la β -cyclodextrine, qui présente une solubilité plus faible par rapport aux autres formes. Les groupes hydroxyles externes procurent à l'extérieur des CDs un caractère hydrophile, tandis que la cavité interne, composée principalement d'atomes de carbone, d'hydrogène et de ponts éther, est relativement apolaire et hydrophobe [84].

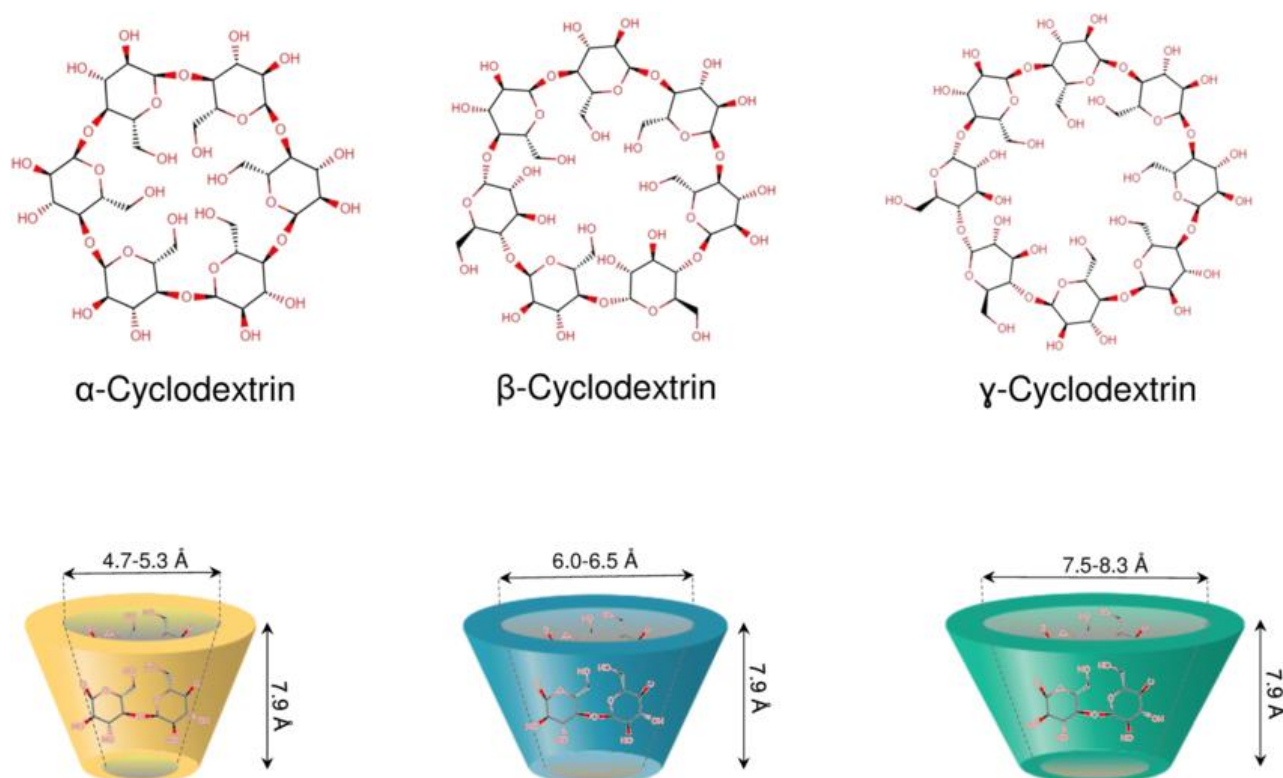


Figure 1.6 : Représentation schématique des α , β , γ -cyclodextrines [85].

Par ailleurs, la présence de paires d'électrons non liés sur les atomes d'oxygène des ponts glycosidiques oriente la densité électronique vers l'intérieur de la cavité, lui conférant des propriétés basiques selon Lewis. Les protons H3 et H5 sont localisés à l'intérieur de cette cavité hydrophobe, tandis que les protons H1, H2 et H4 sont orientés vers l'extérieur, conférant aux cyclodextrines une structure amphiphile (Figure 1.7). Cette amphiphile permet aux CDs d'être solubles dans l'eau tout en offrant une cavité interne hydrophobe idéale pour encapsuler des composés [86].

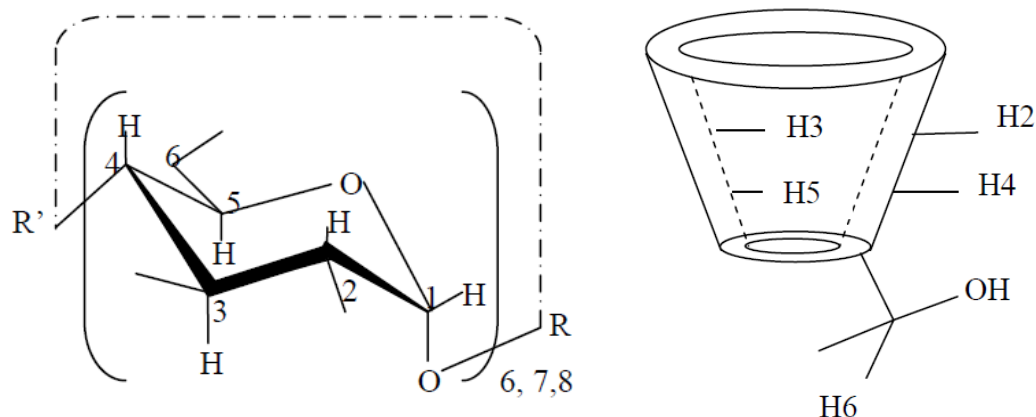


Figure 1.7 : Forme géométrique des cyclodextrines [87].

1.2.4.2. Propriétés physico-chimiques des CDs

Les groupes hydroxyles primaires et secondaires présents sur la surface externe des cyclodextrines leur confèrent une bonne solubilité dans l'eau, tandis que leur cavité interne, composée d'un anneau de groupes C-H, d'atomes d'oxygène glycosidique et d'un autre anneau de groupes C-H, est relativement apolaire, ce qui rend l'intérieur hydrophobe et moins polaire. Cependant, les cyclodextrines sont insolubles dans la plupart des solvants organiques [66, 88]. Les propriétés physico-chimiques et les dimensions moléculaires des trois cyclodextrines naturelles les plus courantes (α -CD, β -CD et γ -CD) sont résumées dans le tableau 1.2.

La solubilité des cyclodextrines varie selon leur structure. La β -CD est la moins soluble des cyclodextrines natives en raison de l'intensité et de l'orientation des liaisons hydrogène établies entre les groupes hydroxyles secondaires (C2-OH et C3-OH) des unités glucopyranose adjacentes, ces interactions étant peu accessibles à l'eau [79]. En revanche, l' α -CD possède des liaisons hydrogène incomplètes car une des unités glucopyranose est légèrement distordue, réduisant le nombre de liaisons hydrogène formées à seulement quatre au lieu de six. La γ -CD, avec une structure plus flexible et une configuration non-planaire, présente un faible degré d'interaction entre ses groupes hydroxyles, ce qui lui confère une solubilité dans l'eau supérieure à celle des α - et β -CD [89].

Les cyclodextrines sont stables en milieu alcalin mais subissent une hydrolyse acide, produisant du glucose comme produit final. Sur le plan toxicologique, elles sont considérées comme presque non toxique.

Tableau 1.2 : Propriétés physico-chimiques des trois principales cyclodextrines [90].

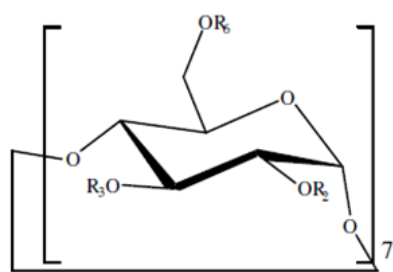
Propriétés	α -CD	β -CD	γ -CD
Unités de glucose	6	7	8
Formule brute	$C_{36}H_{60}O_{30}$	$C_{42}H_{70}O_{35}$	$C_{48}H_{80}O_{40}$
Masse molaire (g/mol)	972	1135	1297
Solubilité dans l'eau (g/100mL)	14,5	1,85	23,2
$[\alpha]_D$ 25 °C (H ₂ O, c 1)	+150° ± 0,5	+162,5° ± 0,5	+177,4° ± 0,5
Diamètre externe (nm)	1,46 ± 0,04	1,46 ± 0,04	1,46 ± 0,04
Diamètre de la cavité (Å)	4,3 – 5,3	6,0 – 6,5	7,5 – 8,3
Hauteur du tore (Å)	7,9 ± 0,1	7,9 ± 0,1	7,9 ± 0,1
Volume approximatif de la cavité (Å ³)	174	262	427
Molécules d'eau retenues dans la cavité	6 - 8	12	13
pKa à 25°C	12.332	12.202	12.081

Cependant, une toxicité rare, l'hémolyse, a été signalée. Celle-ci résulte d'interactions secondaires avec les composants des membranes cellulaires [91]. À faibles concentrations, les cyclodextrines protègent les érythrocytes humains contre l'hémolyse causée par des stress osmotiques ou thermiques. Toutefois, à des concentrations plus élevées (37 °C, pH 7,4, dans un tampon phosphate isotonique à 10 mmol·dm⁻¹), elles peuvent induire la libération de cholestérol et de phospholipides des membranes cellulaires, entraînant une perturbation structurale des cellules [92, 93].

1.2.5. Cyclodextrines modifiées

De nombreux dérivés de cyclodextrines ont été développés et décrits dans la littérature afin d'améliorer leur solubilité, leur capacité d'inclusion, leur stabilité chimique ainsi que leurs performances en tant qu'agents complexant [94]. Ces dérivés résultent de la modification chimique des fonctions alcooliques présentes sur les cyclodextrines naturelles, par l'ajout de différents groupements. Toutefois, la substitution sélective reste un défi majeur en raison du grand nombre de groupes hydroxyles disponibles (18, 21 et 24 pour les α -, β - et γ -CD respectivement) et de leur réactivité similaire. Les hydroxyles primaires, légèrement plus

réactifs que les secondaires, ne permettent pas toujours d'obtenir des produits homogènes, ce qui explique pourquoi les produits commercialisés sont souvent constitués de mélanges. Cette complexité s'accroît lorsque les groupes greffés possèdent eux-mêmes des fonctions chimiques réactives. Parmi les dérivés les plus utilisés dans le domaine pharmaceutique figurent les hydroxypropyl- β -cyclodextrines (HP β -CD), les sulfobutyléther- β -cyclodextrines (SBE β -CD) et les méthyl- β -cyclodextrines (M β -CD) [95]. Une représentation générale des dérivés de la β -CD est donnée dans la Figure 1.8.



Dérivés méthylés : Diméthylée (Dimeb) : R2 = R6 = -CH3 ; R3 = H, Triméthylée (Trimeb) : R2 = R3 = R6 = -CH3, Méthylée de façon aléatoire (Rameb) : R2 et/ou R3 et/ou R6 = H ou -CH3

O-2 méthylée (Crysmeb) : R2 = -CH3 ou H et R3 = R6 = H

Dérivés hydroxypropylés : HP- β -CD : R2 et/ou R3 et/ou R6 = -[CH2-CH(CH3)-O] $_n$ -H

Dérivés « sulfatés » : Sulfobutyléther- β -CD (SBE- β -CD) : R2

Figure 1.8: Schéma général des dérivés de la β -cyclodextrine [96].

Les propriétés des cyclodextrines modifiées sont souvent exprimées en termes de degré de substitution moyen (D.S.), qui correspond au nombre moyen de groupes hydroxyles remplacés par unité glucopyranose (variant de 0 à 3) [94]. Le D.S. peut fluctuer selon les lots, ce qui impacte également la masse moléculaire des dérivés (Tableau 1.3). Ces modifications permettent d'adapter les cyclodextrines à des besoins spécifiques, en influençant directement des paramètres tels que leur solubilité et leur capacité de complexation, rendant ces dérivés particulièrement utiles dans les formulations pharmaceutiques.

Tableau 1.3 : Caractéristiques de cyclodextrines modifiées [95, 97].

Cyclodextrine	D.S.	Masse moléculaire (g/mol)	Solubilité aqueuse à 25°C (g/100 mL)
Dime β	2	1331	57
Trime β	3	1429	31
Rame β	1.8	1312	>50
Crysme β	0.57	1191	22
HP- β -CD	0.65	1400	>60
SBE- β -CD	0.9	2163	>50
HP- γ -CD	0.6	1576	>50

1.2.5.1. Intérêt de la modification des cyclodextrines

La modification chimique des CDs vise à répondre à divers objectifs stratégiques, rendant ces molécules encore plus adaptées à des applications spécifiques. Ces modifications ont pour principaux buts [98]:

- Amélioration de la solubilité aqueuse pour faciliter leur utilisation dans des environnements biologiques ou aqueux.
- Augmentation de leur capacité de complexation, exprimée par une constante de stabilité accrue, et leur affinité pour des molécules spécifiques.
- Introduction de groupements fonctionnels spécifiques, tels que les groupes hydroxyles substitués, pour améliorer la complexation et permettre de nouvelles applications comme la catalyse.
- Synthèse de polymères dérivés des CDs, augmentant leur polyvalence.
- Réduction des effets cytotoxiques, notamment des dommages causés aux membranes cellulaires, pour les rendre plus compatibles avec des applications biologiques.

1.2.5.2. Dérivés méthylés

La méthylation des cyclodextrines permet d'augmenter significativement leur solubilité dans l'eau, atteignant des concentrations supérieures à 500 mg/mL [97]. Parmi les dérivés les plus utilisés, on trouve la RAME β (β -CD méthylée de manière aléatoire, avec substitution sur tous les hydroxyles primaires et sur 7 à 9 hydroxyles secondaires) et la CRYME β (β -CD méthylée spécifiquement en position 2). Ces dérivés méthylés se distinguent par une meilleure solubilité aqueuse par rapport à la β -CD native, tout en conservant une capacité d'inclusion efficace pour les composés faiblement solubles. Cependant, la RAME β est particulièrement prisée dans le domaine pharmaceutique, grâce à sa capacité de complexation élevée, qui en fait un choix privilégié pour l'élaboration de formulations améliorées [99].

1.2.5.3. Dérivés sulfobutylés

Les SBE- β -CD se distinguent par leur haute solubilité dans l'eau et leur capacité de solubilisation élevée. Ce dérivé est fabriqué industriellement sous le nom commercial Captisol® et possède un degré de substitution variant entre 6 et 7. Dans des conditions physiologiques, il

porte une charge négative, en raison des groupes acides sulfoniques présents, qui sont caractérisés par un faible pKa [97]. Les chaînes butyles, associées à la répulsion des charges négatives, permettent d'augmenter la taille et la flexibilité de la cavité interne de la cyclodextrine, améliorant ainsi son affinité pour encapsuler différentes molécules invitées. De plus, cette charge négative favorise la complexation des composés ayant une charge positive.

1.2.5.4. Dérivés hydroxypropylés : La 2-Hydroxypropyl- β -Cyclodextrine

a) Définition

La 2-Hydroxypropyl- β -cyclodextrine (2HP- β -CD) est un dérivé modifié de la β -cyclodextrine obtenu par substitution des groupes hydroxyles avec des groupes hydroxypropyles. Ce dérivé est largement utilisé dans l'industrie pharmaceutique en raison de sa capacité à améliorer la solubilité, la biodisponibilité et la stabilité des composés hydrophobes [100]. Initialement introduite comme excipient, la 2HP- β -CD a récemment été explorée comme ingrédient pharmaceutique actif potentiel pour diverses pathologies [101, 102].

b) Méthode de Synthèse et Structure

La 2HP- β -CD est synthétisée en réagissant la β -cyclodextrine native avec de l'oxyde de propylène en milieu basique aqueux. Ce processus d'alkylation affecte les groupes hydroxyles primaires (OH-6) et secondaires (OH-2 et OH-3) des unités de glucopyranose (figure 1.9), mais à des degrés variables en fonction des conditions de réaction, générant ainsi un mélange complexe d'isomères substitués de manière aléatoire. La distribution des substituants, appelée modèle de substitution (PS), ainsi que le degré de substitution (DS), défini comme le nombre moyen de groupes hydroxypropyles par unité glucopyranose, influencent directement les propriétés de la 2HP- β -CD [103-105].

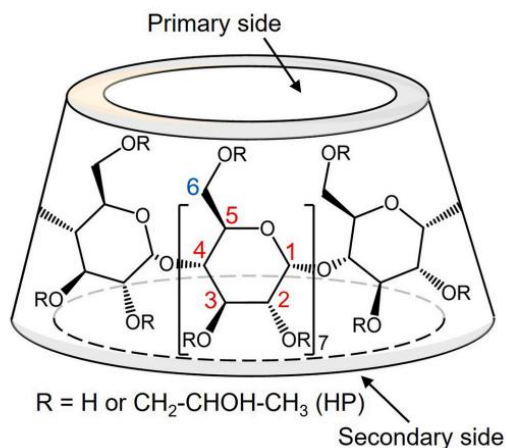


Figure 1.9. Structure schématique et numérotation des atomes de la 2HP- β -CD [106].

c) Propriétés Physico-Chimiques

La 2HP- β -CD possède une solubilité nettement supérieure à celle de la β -cyclodextrine native (> 500 mg/mL). Cette solubilité accrue est attribuée aux groupes hydroxypropyles qui perturbent les interactions hydrogène intermoléculaires, rendant la structure plus flexible et hydrophile. La capacité de la 2HP- β -CD à former des complexes d'inclusion est également influencée par les variations dans le DS et le PS, ce qui modifie ses propriétés physico-chimiques et son aptitude à interagir avec des molécules invitées [107, 108].

d) Applications Pharmaceutiques

La 2HP- β -CD est utilisée dans les formulations pharmaceutiques pour :

- Augmenter la solubilité et la biodisponibilité des composés hydrophobes.
- Stabiliser les molécules labiles, sensibles à l'oxygène ou à la lumière.
- Réduire la toxicité et les effets secondaires en encapsulant les composés actifs [97].

Elle est également incluse dans les pharmacopées européenne et américaine et a obtenu le statut de médicament orphelin pour le traitement de la maladie de Niemann-Pick type C, un trouble métabolique rare lié à la gestion du cholestérol [109].

1.2.6. Toxicité des cyclodextrines

En général, les cyclodextrines sont considérées comme relativement peu toxiques lorsqu'elles sont administrées par voie orale. Ces molécules traversent peu les membranes biologiques et ne sont pratiquement pas absorbées lors du transit intestinal. Elles sont majoritairement dégradées par la flore intestinale dans le côlon après dissociation du complexe et absorption du principe actif. La quantité de cyclodextrines non métabolisées absorbées reste très faible : moins de 2 % pour l' α -cyclodextrine, de 1 à 6 % pour la β -cyclodextrine et moins de 0,1 % pour la γ -cyclodextrine, cette dernière étant dégradée plus en amont dans le tractus gastro-intestinal [68, 110]. Les produits de dégradation, tels que le glucose et les oligosaccharides à chaîne courte, sont non toxiques et facilement assimilables. Cependant, les cyclodextrines se révèlent toxiques lorsqu'elles sont administrées par voie parentérale (intraveineuse ou intramusculaire). Cette toxicité est attribuée à leur interaction avec le cholestérol et les acides biliaires, entraînant des effets secondaires hémolytiques et une néphrotoxicité [111].

Par exemple, la β -CD, bien qu'économique et largement utilisée pour sa taille de cavité idéale, peut provoquer une cristallisation et une accumulation de complexes β -cyclodextrine-cholestérol dans les reins, exacerbant sa toxicité [112]. Les dérivés de cyclodextrines, tels que la HP- β -CD, présentent des avantages significatifs. Ces molécules modifiées sont plus résistantes à la dégradation enzymatique dans le tractus gastro-intestinal et présentent un effet hémolytique à des doses bien plus élevées que la β -CD native. La HP- β -CD, comparable à la γ -CD en termes de sécurité, est particulièrement adaptée à l'utilisation parentérale, bien que son application soit parfois limitée par son coût [113, 114].

1.3. Complexes d'inclusion à base de cyclodextrines

➤ Introduction

Le concept de complexe d'inclusion, introduit pour la première fois par Schlenk en 1950, décrit l'association entre deux ou plusieurs composés. L'un d'eux, appelé molécule invitée, est entièrement ou partiellement encapsulé dans la cavité d'une molécule hôte. Cette interaction repose principalement sur des forces non covalentes.

La taille de la cavité de la molécule hôte et celle de la molécule invitée jouent un rôle crucial dans la formation de ces complexes. En plus de la compatibilité dimensionnelle, d'autres facteurs comme l'encombrement stérique, la charge électrique et la polarité de la molécule invitée influencent le processus de complexation. Une forte hydrophobicité de la molécule ou de certains de ses segments contribue également à la stabilité du complexe formé [115].

D'un point de vue général, les petites molécules comprenant un noyau aromatique unique, comme les dérivés du benzène ou les chaînes aliphatiques courtes, s'adaptent bien à la cavité de l' α -CD. Les composés contenant deux noyaux aromatiques, tels que les dérivés du naphthalène ou du biphenyle, montrent une meilleure compatibilité avec la β -CD. Enfin, des molécules plus volumineuses, comme les pyrènes substitués, peuvent être encapsulées dans les cavités plus larges de la γ -CD. Dans certains cas, des molécules de grande taille forment des complexes partiels avec une seule cyclodextrine ou mobilisent deux molécules de cyclodextrines pour un encapsulage complet [89, 116].

Dans cette section, nous analyserons les caractéristiques fondamentales des complexes d'inclusion formés par les cyclodextrines, en mettant l'accent sur leur mécanisme de formation, les interactions stabilisatrices impliquées, ainsi que sur les techniques de préparation et de

caractérisation. Nous explorerons également les avancées récentes visant à optimiser ces complexes pour des applications variées.

1.3.1. Phénomène d'inclusion

La complexation par inclusion entre une molécule invitée et une molécule hôte (telles que les cyclodextrines ou les éthers couronnes) repose généralement sur des interactions non covalentes. Dans ces complexes (Figure 1.10), la molécule invitée est retenue à l'intérieur de la cavité creuse de la molécule hôte.

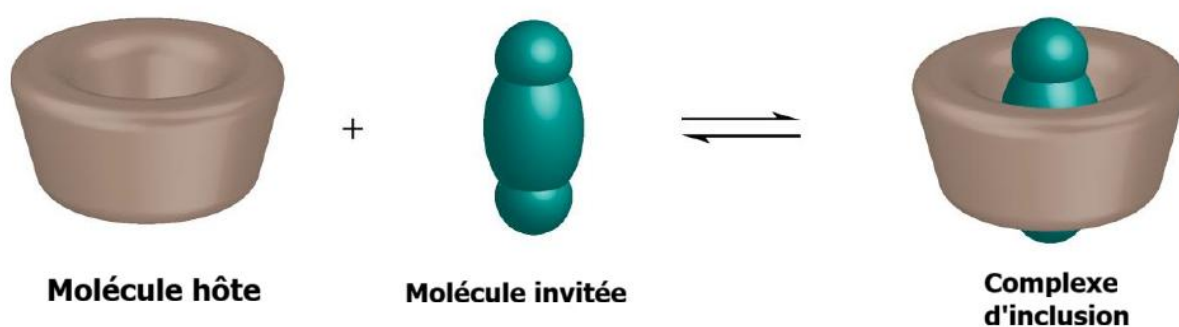


Figure 1.10. Schéma de la complexation hôte-invité par les cyclodextrines [117].

La cavité lipophile des cyclodextrines offre un microenvironnement idéal dans lequel des groupements non polaires de taille et de forme appropriées peuvent facilement s'insérer pour former des complexes d'inclusion [118]. Lors de la formation de ces complexes, aucun processus de création ou de rupture de liaison covalente n'a lieu [119]. La libération des molécules d'eau riches en enthalpie présentes dans la cavité constitue la principale force motrice de la complexation. Ces molécules d'eau sont remplacées par des molécules invitées plus hydrophobes, ce qui permet d'établir une association apolaire-apolaire et de réduire la contrainte exercée sur l'anneau de la cyclodextrine. Ce processus aboutit à un état plus stable et à une énergie plus faible [120].

Cette formation de complexe est souvent assimilée à une « encapsulation » de la molécule invitée, ou du moins de la partie labile de celle-ci. Une telle encapsulation protège la molécule active des dégradations environnementales, ce qui réduit les taux d'hydrolyse, d'oxydation, de racémisation et de dégradation enzymatique [121]. De plus, les cyclodextrines peuvent limiter la photodégradation de divers médicaments sensibles à la lumière.

Ce processus d'inclusion est dynamique, la molécule invitée s'associant et se dissociant continuellement de la cyclodextrine. La force de liaison dépend de l'ajustement précis entre la molécule hôte et l'invité, ainsi que de la nature des interactions locales spécifiques entre les atomes de surface [122]. Les complexes peuvent être formés en solution ou à l'état cristallin, l'eau étant le solvant privilégié dans la majorité des cas. La complexation peut également être réalisée dans des systèmes co-solvants ou en présence de solvants non aqueux.

1.3.2. Stœchiométrie des complexes d'inclusion

La stœchiométrie des complexes d'inclusion est déterminée par le nombre de molécules invitées (G) et hôtes (H) impliquées dans le complexe supramoléculaire, généralement représentée sous la forme G_nH_m . Le type de complexe le plus fréquent est le complexe 1:1 (GH), dans lequel une molécule de cyclodextrine encapsule totalement ou partiellement une molécule invitée [123].

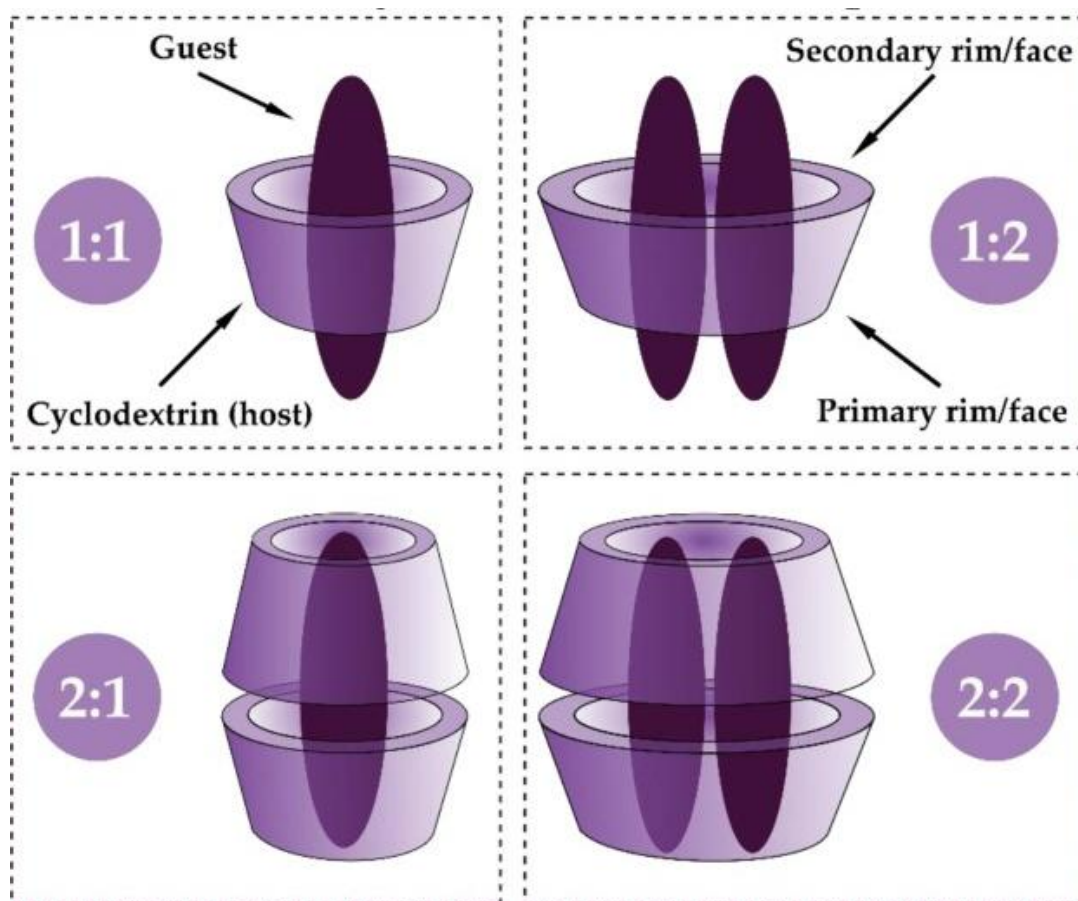


Figure 1.11. Schéma représentant la stœchiométrie des complexes d'inclusion hôte-invité [124].

Cependant, la littérature rapporte également d'autres arrangements structuraux, tels que les complexes 1:1:1, 1:1:2, 2:2, 3:1, 1:1:1, ou même 3:2, qui dépendent de la taille et de la forme de la molécule invitée ainsi que du type de cyclodextrine utilisé [125-129]. Lorsqu'une molécule invitée est trop volumineuse pour être entièrement encapsulée dans une seule cyclodextrine, une seconde molécule de CD peut interagir avec l'extrémité libre de l'invité, conduisant à la formation d'un complexe de type 2:1 [127]. De même, une seule molécule de CD peut s'associer avec plusieurs molécules invitées pour former des complexes 1:2 ou 1:3, bien que ces cas soient moins fréquents [130].

L'ajustement stérique entre l'invité et la cavité de la cyclodextrine joue un rôle crucial dans la formation du complexe. Par exemple, l' α -CD est plus adaptée aux petites molécules telles que les chaînes aliphatiques, la β -CD est idéale pour les composés aromatiques ou hétérocycliques, tandis que la γ -CD peut encapsuler des molécules plus volumineuses, comme les stéroïdes ou les macrocycles [131].

Pour les complexes 1:1, l'équilibre thermodynamique de complexation peut être exprimé par :



Où : H représente la cyclodextrine et G la molécule invitée [123].

1.3.2.1. Détermination de la Stœchiométrie par la méthode de Job

La méthode de Job, est l'une des méthodes les plus fiables pour déterminer la stœchiométrie des complexes d'inclusion, également connue sous le nom de « Méthode des Variations Continues » [132]. Les échantillons utilisés dans cette expérience sont préparés en mélangeant différents volumes des deux solutions (hôte et invité), de manière que la concentration totale $[H] + [G]$ reste constante, tandis que la fraction molaire de l'invité, X_G , varie dans l'intervalle 0–1.

La variation d'une propriété mesurable, telle que le changement d'absorbance (ΔA) de l'invité lors de l'ajout de l'hôte, est tracée en fonction de X_G ou de X_H . La valeur de X_G pour laquelle le graphique présente une déviation maximale correspond à la stœchiométrie du complexe d'inclusion. Si un graphique ΔA en fonction de X_H est tracé, alors la stœchiométrie du complexe peut être déterminée : ($R = 0,5$ pour des complexes de type 1:1 ou 2:2 (G:H), $R = 0,33$ pour un complexe de type 1:2 (G:H)) [133, 134].

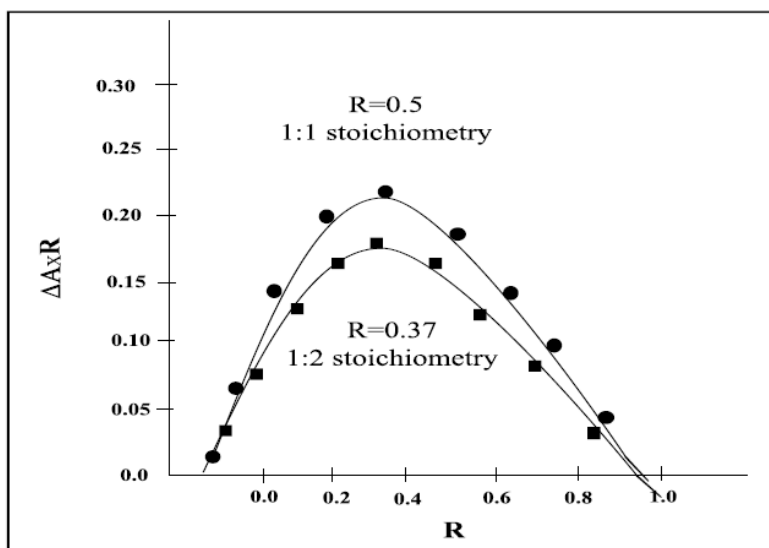


Figure 1.12. Graphiques de Job pour les stœchiométries 1:1 et 1:2 [135].

1.3.3. Forces impliquées dans la formation des complexes d'inclusion

Le phénomène de complexation résulte d'une combinaison d'interactions complexes impliquant la molécule hôte, la molécule invitée et le solvant. Ces interactions conduisent à un état thermodynamique stable. Cependant, la compréhension des mécanismes exacts et l'évaluation de l'importance relative des différents facteurs responsables de la formation des complexes cyclodextrine-soluté restent encore sujettes à débat. Les principales « forces motrices » (terme souvent traduit de manière approximative de l'anglais « driving forces ») fréquemment étudiées et discutées sont les suivantes : interactions électrostatiques, l'influence du moment dipolaire des CD, interactions de Van der Waals, interactions hydrophobes, liaisons hydrogène, relaxation de la contrainte conformationnelle, exclusion des molécules d'eau, interaction par transfert de charge [136].

1.3.4. Techniques de préparation des complexes d'inclusion

Diverses techniques sont disponibles pour la préparation des complexes d'inclusion, chacune étant adaptée aux applications spécifiques envisagées. Le choix de la méthode est crucial, car il impacte directement les propriétés physico-chimiques et le comportement en dissolution du complexe. Ces préparations peuvent être réalisées en phase liquide ou solide, couvrant un éventail allant des techniques de laboratoire simples aux procédés industriels. En

général, le processus consiste à dissoudre la cyclodextrine en présence de la molécule invitée, permettant ainsi l'établissement d'un équilibre entre les deux. Le complexe formé est ensuite récupéré sous forme solide. Parmi les méthodes couramment utilisées figurent les techniques suivantes [9, 98, 137, 138] :

1.3.4.1. Mélange physique

Un mélange physique ou une combinaison des formes solides de cyclodextrine et d'un principe actif peut être préparé par trituration mécanique ou mélange tumbling [139, 140]. À l'échelle de laboratoire, ces mélanges sont obtenus en triturant les composants purs ensemble dans un mortier, puis en passant le mélange à travers un tamis adapté.

1.3.4.2. Pétrissage (kneading)

Le principe actif est incorporé dans une pâte obtenue en mélangeant la cyclodextrine avec de l'eau, généralement à l'aide d'un mortier. À l'échelle industrielle, ce processus est réalisé à l'aide d'un pétrisseur. La durée nécessaire à la formation du complexe dépend des caractéristiques spécifiques de la molécule invitée. La texture de la pâte varie en fonction de la quantité d'eau ajoutée et des propriétés de l'invité. Une fois le complexe formé, il est récupéré, séché, puis soumis à une étape supplémentaire de broyage afin d'assurer une granulométrie uniforme [141].

1.3.4.3. Lyophilisation (freeze drying)

La lyophilisation, également appelée cryodessiccation, est une technique adaptée pour obtenir des complexes médicamenteux poreux et amorphes présentant un haut degré d'interaction entre le principe actif et la cyclodextrine [142]. Le principe actif est ajouté à une solution aqueuse de cyclodextrine sous agitation. L'eau est ensuite éliminée par congélation primaire, suivie d'un séchage secondaire sous pression réduite d'une solution contenant à la fois le principe actif et la cyclodextrine. Les principes actifs thermolabiles peuvent être traités par lyophilisation afin d'éviter leur exposition à des températures élevées. Toutefois, les temps de traitement longs et les propriétés d'écoulement médiocres des complexes obtenus constituent des limites à cette méthode de préparation.

1.3.4.4. Co-évaporation

Ce procédé implique le mélange de la cyclodextrine et de la molécule invitée pendant une durée déterminée, nécessaire à la formation du complexe, en présence d'un solvant spécifique à température constante. Une fois la complexation réalisée, le complexe solide est obtenu par co-évaporation des solvants utilisés [143].

1.3.4.5. Pulvérisation (spray drying)

Pour la méthode de pulvérisation, les composants, notamment la cyclodextrine, la molécule invitée et le solvant, sont d'abord mélangés avant d'être pulvérisés. Une précipitation contrôlée peut être induite pour empêcher la formation de particules trop volumineuses susceptibles d'obstruer la buse du pulvérisateur. Cependant, cette technique est moins adaptée aux molécules volatiles et thermosensibles, car la température peut atteindre 50 à 70 °C pendant la phase de séchage [144].

1.3.4.6. CO₂ supercritique

La forme de CO₂ supercritique a été proposée dès 1990 pour la préparation de complexes d'inclusion entre les CDs et des molécules aromatiques [145]. Cet état, atteint au-delà de 31,4 °C et 73,8 bars, confère au CO₂ des propriétés spécifiques de solvant, favorables à la formation de complexes. Les complexes obtenus par cette méthode présentent une dissolution améliorée et une biodisponibilité supérieure par rapport aux mélanges physiques. Cependant, cette technique est moins adaptée aux composés volatils, tels que les huiles essentielles et leurs constituants. Elle se distingue par sa simplicité, sa reproductibilité et son caractère écologique, aucun solvant organique n'étant utilisé [146]. Malgré ces avantages, son application reste limitée au domaine expérimental, principalement en raison du coût élevé des équipements nécessaires.

1.3.4.7. Méthode de broyage mécano-chimique

Le broyage mécano-chimique est une méthode innovante qui favorise la formation de complexes d'inclusion médicament-cyclodextrine à l'état solide. Les impacts mécaniques génèrent une chaleur localisée, réduisent la taille des particules et peuvent induire une amorphisation, ce qui améliore les interactions médicament-CD à la surface des particules. La

complexation peut se poursuivre à travers des dispersions solides intermédiaires et évoluer progressivement vers de véritables complexes d'inclusion. Il existe deux approches : le broyage pur (sans solvant) et le broyage assisté par liquide (avec de petites quantités de solvant pour stimuler la réactivité). Cette technique produit souvent des systèmes amorphes ou à faible cristallinité avec une solubilité et une dissolution améliorée par rapport aux méthodes traditionnelles telles que le malaxage ou la co-évaporation [147].

1.3.5. Caractérisation des complexes d'inclusion en solution

1.3.5.1. Etude de la solubilité de phase

L'étude des complexes supramoléculaires pour déterminer la stœchiométrie des complexes PA-CD et leur constante de stabilité est couramment réalisée à l'aide de la méthode fiable d'analyse de solubilité de phase. Cette méthode permet également d'évaluer l'effet de la complexation avec les CDs sur la solubilité du principe actif. Les diagrammes de solubilité de phase développés par Higuchi et Connors [148] sont obtenus en traçant la concentration molaire totale du PA en fonction de la concentration molaire de la cyclodextrine (Figure 1.13).

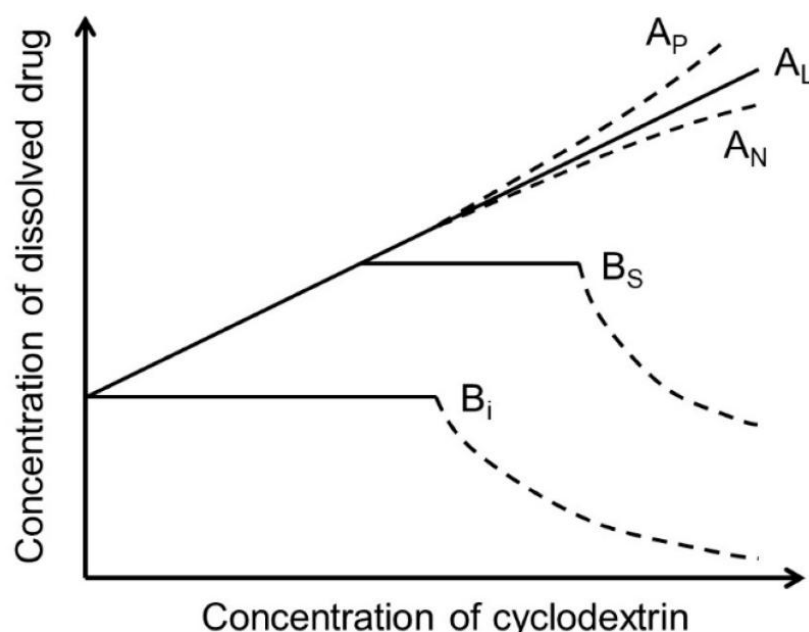


Figure 1.13. Profils de solubilité de phase et classification des complexes selon Higuchi et Connors [149].

Ces diagrammes sont particulièrement pertinents pour les conditions de formulation des médicaments, car ils sont réalisés en solutions saturées, contrairement aux systèmes très dilués

utilisés dans le protocole des diagrammes de Job. Les diagrammes de phase sont généralement classifiés en type A (formation d'un complexe soluble) ou type B (formation d'un complexe avec une solubilité définie). Le type A peut-être subdivisé en trois sous-types : A_L , A_P et A_N . Pour le type A_L , la solubilité de la molécule invitée augmente de manière linéaire avec la concentration en CD. En revanche, pour les types A_P et A_N , les courbes dévient positivement ou négativement, respectivement, de la linéarité.

La formation d'un complexe avec une stœchiométrie 1:1 produit un diagramme de type A_L . Les complexes de plus haut ordre, impliquant plusieurs molécules de CD dans la complexation, génèrent un diagramme de type A_P . Le mécanisme d'interaction dans le cas du type A_N est plus complexe et peut résulter d'une contribution significative des interactions soluté-solvant à la complexation ou d'une auto-association du ligand à des concentrations élevées.

Pour le type B_S , l'augmentation initiale de la solubilité est suivie d'une région plateau, puis d'une diminution de la solubilité à des concentrations élevées de CD, accompagnée d'une précipitation microcristalline du complexe. Le diagramme de type B_i , quant à lui, est indicatif de la formation de complexes insolubles dans l'eau. Le diagramme de solubilité de phase permet la détermination de la constante de stabilité (K_s). Celle-ci peut être calculée à partir de la pente et de la solubilité intrinsèque (S_0) du PA dans le milieu de complexation aqueux.

$$K_s = \frac{Pente}{S_0(1-Pente)} \quad (1.2)$$

La valeur K_s , déterminée par l'équation (1.2), est fortement influencée par la valeur de S_0 , qui est généralement très imprécise pour les composés avec $S_0 < 0,1$ mg/mL [150]. La valeur K_s , obtenue à partir des diagrammes de solubilité de phase, est fréquemment utilisée pour comparer l'effet solubilisant des différents CD sur un PA spécifique, effet qui dépend de la composition du milieu de complexation (par exemple, présence de co-solvants ou de polymères). Une méthode plus fiable pour évaluer les CD et leur potentiel solubilisant pour les composés peu solubles est de déterminer l'Efficacité de Complexation (EC), qui correspond au ratio des concentrations de complexe sur CD libre et peut être obtenue à partir de la pente de leur profil de solubilité de phase [151].

$$EC = S_0 \cdot K_s = \frac{[D/CD]}{[CD]} = \frac{Pente}{1-Pente} \quad (1.3)$$

L'EC peut rester relativement faible pour solubiliser la quantité de PA lipophile requise pour une administration *in vivo*. Plutôt que d'augmenter la quantité de CD, de nombreux additifs pharmaceutiques tels que des polymères, solvants organiques, sels tampons, surfactants ou conservateurs ont été étudiés pour améliorer S_0 et/ou K_s , et ainsi EC [151]. Il convient toutefois de noter que bien que les additifs (par exemple, surfactants, co-solvants) puissent être utilisés avec succès pour augmenter S_0 , ils peuvent également réduire K_s en entrant en compétition avec le PA pour le CD, entraînant une diminution de l'efficacité de complexation.

1.3.5.2. Spectroscopie UV-visible

La spectroscopie UV-Visible est une méthode essentielle pour la caractérisation des complexes d'inclusion entre CDs et molécules invitées, permettant notamment de déterminer les constantes de stabilité des complexes. Elle repose sur deux approches principales : la méthode directe, qui analyse les variations spectrales des invités possédant un chromophore en fonction de la concentration en CD, et la méthode indirecte par compétition, où un compétiteur, tel que l'orange de méthyle, est utilisé pour observer les perturbations spectrales induites par l'ajout d'un invité. Ces variations spectrales, comme le déplacement du maximum d'absorption (λ_{max}) ou la modification du coefficient d'extinction molaire, reflètent la formation du complexe d'inclusion et permettent de calculer ses paramètres de stabilité, notamment via la méthode de Benesi-Hildebrand [152-154].

1.3.5.3. Spectroscopie de résonance magnétique nucléaire (^1H -RMN)

La spectroscopie RMN du proton est utilisée pour déterminer la formation de complexes d'inclusion grâce à sa capacité à révéler la structure en identifiant les groupes fonctionnels de la molécule médicamenteuse incluse dans la cavité de la cyclodextrine. La spectroscopie par résonance magnétique nucléaire des protons constitue la preuve la plus directe de l'inclusion d'un principe actif dans la cavité de la cyclodextrine en solution [155-157]. La direction dans laquelle la molécule du PA pénètre dans la cavité de la cyclodextrine peut également être déterminée par cette technique [158, 159]. Une unité de glucopyranose de la cyclodextrine contient six protons : trois (H-1, H-2 et H-4) sont situés à la surface extérieure, tandis que deux (H-3 et H-5) sont orientés vers l'intérieur de la cavité, avec H-3 proche de l'ouverture large et H-5 proche de l'extrémité étroite.

Le dernier proton, H-6, est plus proche de l'extrémité étroite de la cavité. Ces six protons sont étudiés dans les analyses par spectroscopie RMN des protons. Des changements dans les signaux des protons apparaissent dans les spectres des complexes PA-cyclodextrine, indiquant la formation d'interactions lors de la complexation d'inclusion entre le médicament et la cyclodextrine.

1.3.5.5.1. Spectroscopie 2D ROESY

La méthode ROESY est utilisée pour étudier les interactions dipolaires entre des protons situés à proximité dans l'espace ($<4 \text{ \AA}$). Les interactions détectées entre les protons de la cavité de la CD (H-3 et H-5) et ceux de la molécule invitée permettent de confirmer la formation d'un complexe d'inclusion. En complément de la ^1H -RMN, cette technique valide que les variations des déplacements chimiques résultent bien d'une inclusion réelle et non de simples interactions superficielles. Ainsi, elle contribue à proposer une configuration géométrique précise du complexe [160]. Lorsqu'une molécule invitée asymétrique est insérée, différentes orientations d'inclusion au sein de la cavité de la CD peuvent être observées, menant à un phénomène de bi- ou multimodalité. Ce dernier est souvent associé à une interaction spécifique entre les groupes fonctionnels de l'invité et les groupements hydroxyles de la CD.

1.3.6. Caractérisation des complexes d'inclusion à l'état solide

1.3.6.1. Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR)

La spectrophotométrie FTIR est une méthode couramment utilisée pour identifier la formation de complexes d'inclusion entre les cyclodextrines et les molécules invitées. Elle permet de comparer le spectre du complexe à ceux de la CD et de l'invité, révélant ainsi les modifications spectrales associées à l'inclusion. Généralement, les bandes de la CD subissent de légers changements, tandis que celles de la molécule invitée incluse dans la cavité de la CD peuvent être masquées ou altérées [161]. Ces variations spectrales reflètent les interactions entre la CD et l'invité, dues aux modifications de l'environnement de ce dernier [162, 163]. En outre, la FTIR fournit des informations sur les interactions fonctionnelles, notamment l'implication des hydrogènes, et offre des données structurales détaillées.

1.3.6.2. Diffraction des rayons X (DRX)

La diffraction des rayons X sur poudre est une technique analytique couramment employée pour caractériser les composés à l'état solide. Des modifications de la cristallinité du principe actif ou de la cyclodextrine peuvent être détectées dans le profil de diffraction lorsqu'un complexe d'inclusion PA-CD se forme. Le diffractogramme d'un mélange physique correspond généralement à la somme des motifs des composants individuels, tandis que celui d'un complexe d'inclusion présente des caractéristiques nouvelles et distinctes de celles des composants individuels. Un pic large et homogène est fréquemment observé dans le motif de diffraction d'un complexe d'inclusion, indiquant la présence d'un composé amorphe dépourvu de cristallinité. En règle générale, cela est considéré comme une preuve de la formation d'un complexe véritable [164].

1.3.6.3. Calorimétrie différentielle à balayage (DSC)

Cette technique, particulièrement prisée pour la caractérisation des complexes d'inclusion à l'état solide, se distingue par sa simplicité d'utilisation et la faible quantité d'échantillons requis. Lors de l'encapsulation d'une molécule invitée dans la cavité d'une cyclodextrine, des modifications thermiques significatives peuvent être observées. Par exemple, si l'invité est initialement sous forme cristalline, la formation d'un complexe d'inclusion se traduit souvent par une réduction notable, voire la disparition, du pic de fusion de la molécule dans le thermogramme du complexe. Ces variations thermiques constituent un indicateur clé de la formation du complexe [163, 165].

1.3.6.4. Microscopie Électronique à Balayage (SEM)

La microscopie électronique à balayage est utilisée pour examiner les aspects microscopiques des composants et pour définir qualitativement la formation des complexes d'inclusion. Cette technique permet d'observer la morphologie, la taille, la forme et la porosité des matériaux. Les photomicrographies du complexe d'inclusion montrent généralement deux composants distincts (PA et CD), tandis que les complexes d'inclusion révèlent une nouvelle morphologie pouvant inclure la perte de la forme originale, de la cristallinité et/ou la formation d'une phase unique [166]. Cependant, cette technique ne permet pas de confirmer de manière définitive la formation des complexes d'inclusion [167, 168].

1.3.6.5. Etudes de Dissolution *In Vitro*

Les études de dissolution *in vitro* sont utilisées pour évaluer la formation de complexes d'inclusion entre un principe actif et une cyclodextrine, l'objectif étant d'améliorer la solubilité aqueuse des médicaments faiblement solubles. Dans certaines études, les profils de dissolution sont obtenus à partir de poudres du PA, du mélange physique ou du complexe [169]. Les complexes formés sont évalués en comparant la quantité de PA dissoute dans un intervalle de temps donné (10, 30 ou 45 minutes) ainsi que l'efficacité de dissolution. Un taux de dissolution plus élevé est attendu pour les complexes comparativement au médicament ou au mélange physique, en raison de l'amélioration de la solubilité apportée par la complexation du médicament [170].

1.3.7. Complexes d'inclusion ternaires

La formation de complexes ternaires est décrite comme une méthode efficace pour améliorer la complexation entre les principes actifs et les cyclodextrines. L'ajout de petites quantités d'un polymère au système, ou l'utilisation de la forme ionique du principe actif, a été étudié [171]. L'amélioration notable de l'efficacité de solubilisation, ainsi que l'augmentation du taux de dissolution du principe actif, sont attribuées à une stabilisation bénéfique de l'interaction primaire entre le médicament et la cyclodextrine. Par ailleurs, la formation de complexes ternaires offre des avantages cliniques et économiques en réduisant la quantité de cyclodextrine nécessaire à l'inclusion et, par conséquent, utilisée dans les formulations [171].

1.3.8. Complexes d'inclusion des anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)

Les AINS sont des composés de faible poids moléculaire possédant un groupe hydrophobe qui peut s'insérer facilement dans la cavité des CD. Plusieurs complexes ont été préparés et commercialisés, offrant des améliorations significatives dans le comportement des médicaments [68].

Les propriétés hydrophobes et acides des AINS leur confèrent une faible solubilité aqueuse, en particulier dans l'environnement acide de l'estomac où le médicament est principalement présent sous forme non ionisée. Cela contribue en partie à un effet irritant direct sur la muqueuse gastrique lors de l'administration orale, pouvant entraîner des nausées, des vomissements et un inconfort gastrique causé par une hyperacidité. Ces effets, combinés à

l'inhibition de la prostaglandine E2, peuvent finalement aboutir à la formation d'ulcères. L'encapsulation des AINS dans une molécule hôte soluble facilite leur dispersion dans un milieu aqueux et présente plusieurs avantages potentiels :

a) Amélioration de l'absorption intestinale

L'encapsulation permet de délivrer une plus grande quantité de médicament à la surface d'absorption. La muqueuse intestinale, qui absorbe préférentiellement les molécules hydrophobes, dissocie facilement le complexe cyclodextrine-médicament. Ce processus améliore à la fois la vitesse d'absorption et le délai d'action, tout en augmentant la quantité de médicament disponible pour un effet thérapeutique optimal [172-175]. Lors de la dissociation rapide du complexe dans le tractus gastro-intestinal, le médicament dissous en excès par rapport à sa concentration de saturation peut recristalliser et se dissoudre à nouveau à mesure que le médicament est absorbé. De plus, des études suggèrent que les cyclodextrines pourraient améliorer l'absorption en interagissant avec et en modifiant la membrane muqueuse [176, 177].

b) Réduction des effets secondaires gastriques

Les effets secondaires gastriques, principale limitation des AINS pour une utilisation à long terme, peuvent être réduits par l'encapsulation [178-181].

c) Optimisation des formes galéniques

L'inclusion en cyclodextrines permet également le développement de formulations adaptées, telles que des solutions parentérales, des préparations topiques (ophtalmiques) ou des gels à base d'eau [113, 182, 183].

1.3.8.1. Complexes d'inclusion de l'acide niflumique

L'acide niflumique, un anti-inflammatoire non stéroïdien largement utilisé, présente des limitations telles qu'une faible solubilité aqueuse et une gastro-toxicité. Ces inconvénients ont conduit à des recherches approfondies sur ses complexes d'inclusion avec les cyclodextrines afin d'améliorer ses propriétés physico-chimiques et pharmacologiques. Les CDs, grâce à leur extérieur hydrophile et leur cavité hydrophobe, forment des complexes d'inclusion non covalents avec l'acide niflumique, augmentant ainsi sa solubilité, sa stabilité et son efficacité thérapeutique.

Les interactions entre l'acide niflumique et diverses cyclodextrines, y compris la β -CD et la HP- β -CD, ont été largement étudiées. À l'aide de techniques telles que la spectroscopie ^1H -

RMN, l'UV-vis, la calorimétrie et les études de solubilité, il a été démontré que l'acide niflumique forme des complexes d'inclusion à stœchiométrie 1:1 avec les CDs [20, 184, 185].

Le résidu trifluorométhylphényle hydrophobe de l'acide niflumique s'insère préférentiellement dans la cavité de la β -CD (Figure 1.14), comme l'ont confirmé les analyses RMN et la cristallographie par rayons X. Un équilibre dynamique entre les formes complexées et non complexées a également été observé, indiquant un processus d'inclusion réversible [21].

L'ajout de groupes hydroxypropyles dans les molécules d'HP- β -CD a encore amélioré l'affinité de liaison en raison de l'augmentation de l'hydrophilie et de la compatibilité de la cavité [20, 184].

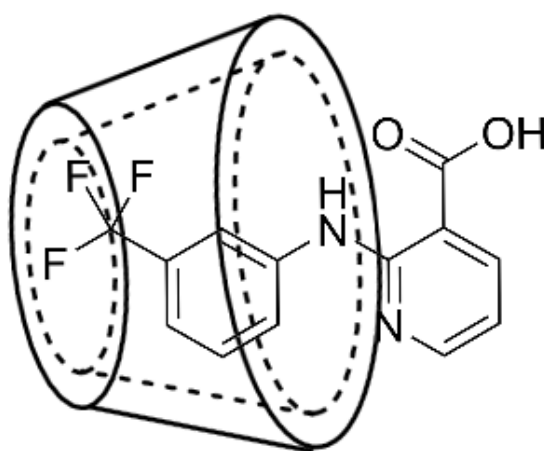


Figure 1.14. Inclusion entre l'acide niflumique et la β -cyclodextrine (Créé sur BioRender.com).

L'inclusion de l'acide niflumique dans la β -CD et ses dérivés augmente significativement sa solubilité aqueuse, comme le montrent les études de solubilité de phase. Cette amélioration a été observée à différents pH et températures, mettant en évidence le rôle des facteurs environnementaux dans le processus de complexation [20, 185]. Les paramètres thermodynamiques indiquent que le processus est dominé par l'enthalpie, avec une solubilité accrue attribuée aux effets de déshydratation lors de la formation des complexes [186].

Les complexes d'inclusion de l'acide niflumique ont été préparés par diverses méthodes, notamment le pétrissage, la lyophilisation et le séchage par pulvérisation. Les études sur l'état solide ont révélé que ces méthodes produisent des complexes amorphes avec une solubilité supérieure par rapport au médicament pur. Par exemple, les produits amorphes préparés par

lyophilisation ont montré une cristallinité réduite, ce qui améliore les taux de dissolution [19, 22].

Ces systèmes améliorent non seulement la solubilité de l'acide niflumique, mais réduisent également sa gastro-toxicité. Des études pharmacologiques menées chez le rat ont montré que les complexes lyophilisés réduisaient significativement l'irritation gastrique par rapport au médicament pur [19]. De plus, la photo-stabilité de l'acide niflumique dans les complexes d'inclusion liquides avec la β -CD a été améliorée, l'encapsulation réduisant le taux de photodégradation par rapport à la molécule libre [186].

La fonctionnalisation des cyclodextrines, notamment avec des groupes hydroxypropyles ou méthyles, permet des applications spécifiques des complexes d'inclusion de l'acide niflumique. Ces dérivés améliorent la stabilité et le profil de dissolution de l'acide niflumique, comme l'ont démontré les études combinant la HP- β -CD avec l'acide niflumique dans divers ratios moléculaires [20, 186]. En outre, le développement de complexes cristallins a révélé des modes d'inclusion uniques où les faces primaire et secondaire de la β -CD participent à l'encapsulation de l'invité [21].

1.3.9. Formes galéniques à base de complexes d'inclusion de cyclodextrines

Le développement de formulations pharmaceutiques utilisant des complexes d'inclusion à base de cyclodextrines suscite un intérêt considérable, principalement en raison de leur capacité à améliorer la solubilité, la stabilité et la biodisponibilité des médicaments faiblement solubles dans l'eau. Les CDs forment des complexes d'inclusion avec des molécules hydrophobes, ce qui en fait des excipients polyvalents et indispensables pour la conception de diverses formes galéniques [90].

1.3.9.1. Formes galéniques Solides

Les complexes d'inclusion des cyclodextrines sont largement utilisés dans les formes solides telles que les comprimés et les gélules. Leur capacité à encapsuler des médicaments peu solubles améliore considérablement les taux de dissolution et la biodisponibilité orale [12]. Par exemple, la β -cyclodextrine a été employée pour former des complexes avec des médicaments comme l'indométhacine, entraînant une activité anti-inflammatoire améliorée et une biodisponibilité accrue chez le rat [187]. Des méthodes avancées de caractérisation des solides,

comme la diffraction des rayons X et la résonance magnétique nucléaire, confirment la formation et la stabilité de ces complexes [188].

1.3.9.2. Formes galéniques Liquides

Dans les formulations liquides, les cyclodextrines améliorent la solubilité des médicaments hydrophobes, permettant leur utilisation dans des solutions, suspensions et sirops. L'hydroxypropyl- β -cyclodextrine est largement utilisée pour stabiliser des médicaments comme le naproxène, réduisant ainsi la toxicité gastro-intestinale et améliorant la biodisponibilité [189]. De plus, la sulfobutyl éther- β -cyclodextrine a démontré son efficacité dans la stabilisation des médicaments peu solubles, comme dans le cas du nitrate d'éconazole pour une administration oculaire [190].

1.3.9.3. Formulations Topiques et Transdermiques

Les CDs augmentent l'efficacité des formulations topiques et transdermiques en améliorant la solubilité des médicaments et leur pénétration cutanée. Par exemple, la HP- β -CD a amélioré l'absorption percutanée du méthyl paraben, soulignant son potentiel pour les applications dermatologiques [191]. Les hydrogels à base de cyclodextrines ont également été utilisés pour la libération prolongée d'agents anti-inflammatoires et antifongiques comme le naproxène et la terbinafine [192].

1.3.9.4. Applications Émergentes

La polyvalence des cyclodextrines s'étend aux plateformes émergentes de délivrance de médicaments, telles que les nanofibres et les nano éponges. Les nanofibres basées sur la HP- β -CD ont montré une biodisponibilité améliorée pour des médicaments antiviraux comme l'acyclovir [193]. De même, les nano éponges à base de β -cyclodextrine ont démontré une solubilité accrue et une libération contrôlée pour des médicaments anticancéreux comme la doxorubicine [194].

CHAPITRE 2

MATERIEL ET METHODES

2.1. Introduction

Dans ce chapitre, nous détaillons les travaux réalisés sur la préparation des complexes d'inclusion à base d'acide niflumique. L'objectif est de caractériser ces complexes de manière approfondie et d'évaluer leur efficacité thérapeutique à travers des tests *in vitro*. Ces recherches aboutissent également au développement d'une formulation transdermique exploitant ces complexes. Nous y présentons d'abord les matériaux et les réactifs utilisés, en précisant leurs propriétés et leurs origines. Ensuite, nous décrivons les différentes étapes expérimentales, qui se déclinent ainsi :

- **Préparation des complexes d'inclusion** : Élaboration de systèmes binaires et ternaires.
- **Caractérisation physico-chimique et spectroscopique** : Utilisation des techniques comme UV-Vis, FTIR, RMN, DRX, MEB et DSC pour examiner les propriétés structurelles et fonctionnelles des complexes.
- **Analyse des propriétés biologiques et fonctionnelles** : Évaluation *in vitro* des activités anti-inflammatoire et antioxydante, ainsi que de l'hémocompatibilité des formulations.
- **Formulation et étude des hydrogels** : Conception d'hydrogels transdermiques basés sur les complexes d'inclusion, suivie de leur caractérisation.

Cette démarche vise à fournir une vision claire des protocoles expérimentaux et des outils analytiques employés, tout en assurant la fiabilité et la reproductibilité des résultats obtenus.

2.2. Produits chimiques

Les réactifs et les solvants utilisés sont détaillés dans le Tableau 2.1.

Tableau 2.1. Produits chimiques utilisés.

Produit chimique	Caractéristiques	Fournisseur
Acide niflumique	$C_{13}H_9F_3N_2O_2$, M=282.22 g/mole	Groupe Saidal (Oued Smar, Alger, Algérie)
2-hydroxypropyl- β -cyclodextrine	Substitution molaire de 0,8 groupes hydroxypropyl par unité glucopyranose, PM $\sim$ 1460 Da	Sigma Aldrich (Steinheim, Allemagne)
Hydroxypropyl-méthylcellulose	PM= 86 kDa	Sigma Aldrich (Steinheim, Allemagne)
Chlorure de sodium	NaCl, M= 58,44 g/mol	Biochem Chemopharma
Chlorure de potassium	KCl, M= 74,55 g/mol	Sigma Aldrich
phosphate de sodium dibasique	Na_2HPO_4 , M= 141,96 g/mol	Fluka
Phosphate de potassium monobasique	KH_2PO_4 , M= 136,09 g/mol	Biochem Chemopharma
Sérum fœtal bovin	Protéines totales : 3,0 - 4,5 g%	Sigma Aldrich (USA)
Diclofénac sodique	M= 318,13 g/mol	Sigma Aldrich (Steinheim, Allemagne)
2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)	M= 394,32 g/mol	Sigma Aldrich
L'acide 2,2'-azino-bis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique) (ABTS)	M= 548,68 g/mol	Sigma Aldrich
Sulfate de potassium	K_2SO_4 , M= 174,26 g/mol	Fisher Scientific
Sulfate ferreux	$FeSO_4$, M= 151,91 g/mol	Fisher Scientific
Peroxyde d'hydrogène	H_2O_2 , M= 34,01 g/mol	Univar TM
Acide salicylique	M= 138,12 g/mol	Merk
Carbopol 940	$(C_3H_4O_2)_n$	Fisher Scientific
Glycérine	M= 92,09 g/mol	Interchimie
Triethanolamine	$C_6H_{15}NO_3$, M= 149.19 g/mol	PROLABO
Méthylparabène	M= 152,15 g	Sigma Aldrich
Propylparabène	M= 180,20 g	Sigma Aldrich
Ethanol absolu	$\geq 99,5 \%$, M= 46,07 g	Sigma Aldrich

2.3. Préparation des solutions tampons

2.3.1. Préparation de la solution tampon phosphate (0,1 M, pH 6,8) :

Le tampon phosphate utiliser a été préparé selon les instructions de la pharmacopée européenne, 10ème édition. À cette fin, 13,124 g de phosphate de sodium dibasique Heptahydrate et 7,043 g de phosphate de potassium monobasique Monohydrate ont été dissous dans de l'eau, puis le volume total a été ajusté à 1000,0 mL. Si nécessaire, le pH a été corrigé en ajoutant des solutions de NaOH ou de HCl.

2.3.2. Préparation de la solution tampon phosphate salin (1X, pH 7,4)

La préparation du tampon phosphate salin pour cette expérimentation a été réalisée conformément à la pharmacopée européenne, 10ème édition. Pour ce faire, 1,44 g de phosphate de sodium dibasique, 0,245 g de phosphate de potassium monobasique, 8 g de chlorure de sodium et 0,2 g de chlorure de potassium ont été dissous dans de l'eau. Le volume final a ensuite été ajusté à 1000,0 mL. Si nécessaire, le pH a été ajusté à l'aide de solutions de NaOH ou de HCl.

2.4. Préparation des complexes d'inclusion

2.4.1. Etude préliminaire – Études de phase de solubilité

Les études de solubilité de phase fournissent des informations sur l'effet des CDs sur la solubilité de l'acide niflumique, ainsi que sur les constantes de formation ou de stabilité (Ks) et sur l'efficacité de complexation (EC) ou de solubilisation des CDs.

- Méthode expérimentale

Les études de solubilité de phase ont été réalisées pour les complexes binaires et ternaires selon la méthode décrite par Higuchi et Connors [149]. Dans une série de fioles jaugées de 25 mL contenant différentes concentrations de 2HP- β -CD (allant de 0,003 à 0,015 M) en présence et en l'absence de 50 mg de HPMC (0,2 % p/v), 25 mL d'eau distillée (pH 7,4) ont été mélangés avec 200 mg d'acide niflumique (excès). De manière similaire, l'étude de solubilité de phase pour le sel de l'acide niflumique a été réalisée en ajoutant des quantités excessives de Nas (200 mg) à des solutions aqueuses contenant des concentrations croissantes de 2HP- β -CD (de 0,002 à 0,009 M), en présence ou en absence de 50 mg de HPMC (0,2 % p/v).

Les suspensions ont été agitées à l'aide d'un agitateur mécanique (Heidolph Titramax 100, Heidolph, Hambourg, Allemagne) à 300 tr/min pendant 72 heures à température ambiante (25 ± 0.5 °C) jusqu'à l'atteinte de l'équilibre. Après l'équilibrage, les solutions ont été filtrées (filtres seringues Cloup, PVDF, taille de pores de $0,22 \mu\text{m}$) puis diluées en conséquence (2 mL dans 25 mL d'eau distillée). La concentration en médicament dans chaque solution a été déterminée par spectrophotométrie UV-Visible à la longueur d'onde appropriée de 289 nm. Chaque expérience a été réalisée en triplicata. Les constantes de stabilité apparentes (K_s) et l'efficacité de complexation (EC) ont été calculées à partir de la pente des diagrammes de solubilité de phase en utilisant les équations (2.1) et (2.2) [150, 195], comme suit :

$$K_s = \text{Pente}/S_0(1 - \text{pente}) \quad (2.1)$$

$$\text{EC} = \text{Pente}/(1 - \text{pente}) \quad (2.2)$$

Où S_0 représente la solubilité du PA dans l'eau en l'absence de 2HP- β -CD (pour le système binaire) ou de 2HP- β -CD et HPMC (pour le système ternaire). La pente a été obtenue à partir du graphique représentant la concentration de NA et de NAs en fonction des concentrations de 2HP- β -CD et de 2HP- β -CD-HPMC, respectivement.

2.4.2. Préparation des complexes d'inclusion binaires et ternaires de l'acide niflumique

Les systèmes binaires (NA-2HP- β -CD) et ternaires (NA-2HP- β -CD-HPMC) ont été préparés en combinant deux méthodes : la co-évaporation par solvant et la lyophilisation [143, 196]. Pour obtenir un rapport molaire 1:1 entre le PA et la CD, une phase aqueuse contenant une solution de 2HP- β -CD ($0,012 \text{ mol/L}$) dans 15 mL d'eau distillée, avec ou sans une quantité optimisée de l'HPMC ($0,2 \%$, p/v), a été mélangée à une phase organique contenant une solution de NA ($0,088 \text{ mol/L}$) dans 2 mL d'éthanol. Ce rapport a été identifié comme optimal dans la littérature [21, 197]. Les phases aqueuse et organique ont été agitées et chauffées à 50 °C pendant 2 heures. Ensuite, l'éthanol a été éliminé sous vide à l'aide d'un évaporateur rotatif (Büchi, R-215, Flawil, Suisse). Les suspensions obtenues ont été filtrées à l'aide de filtres membranaires (Merck Millipore, Burlington, MA, USA) avec une taille de pores de $0,22 \mu\text{m}$. Le filtrat a été congelé à -20 °C, puis lyophilisé pendant 10 heures à l'aide d'un lyophilisateur (Christ Alpha 1-2LD Plus, Martin Christ, Osterode am Harz, Allemagne). Les complexes obtenus ont été conservés dans un dessiccateur pour des analyses ultérieure (Figure 2.1).

2.4.3. Préparation du complexe d'inclusion ternaire du sel sodique de l'acide niflumique

a) Préparation du sel sodique de NA : Le NA a été converti en son sel sodique en ajoutant 4,65 g (0,01 mol) de NA à une solution aqueuse contenant 0,02 mol de NaOH. La suspension obtenue a été chauffée jusqu'à ébullition, puis filtrée à chaud. Le filtrat a été réfrigéré jusqu'à précipitation, et la solution résultante a été évaporée pour obtenir le NAs sec [198].

b) Préparation du complexe d'inclusion : Le complexe NAs-2HP- β -CD-HPMC a été préparés en utilisant la même méthode que les complexes à base de NA (NA-2HP- β -CD et NA-2HP- β -CD-HPMC).

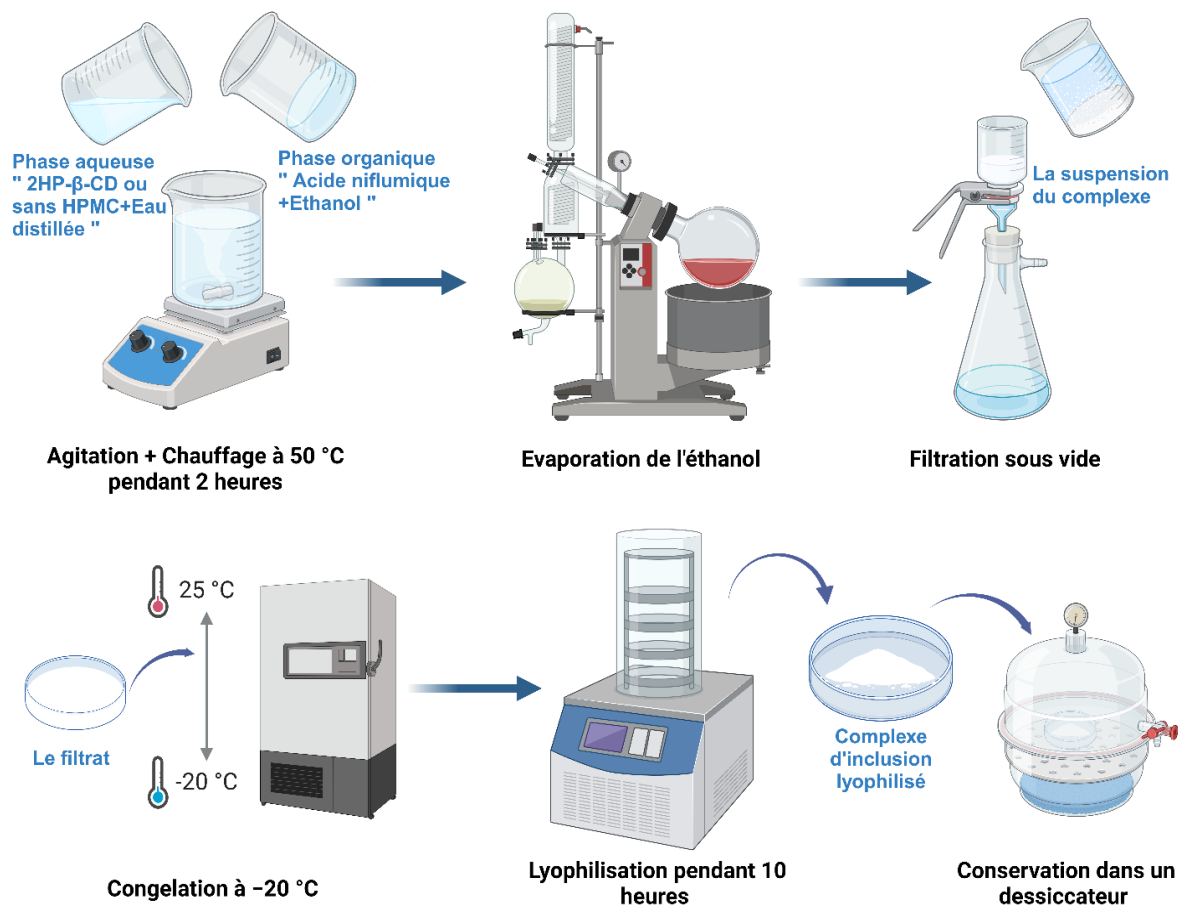


Figure 2.1. Schématisation du procédé de préparation des complexes d'inclusion (Créé sur BioRender.com).

2.5. Caractérisation des complexes d'inclusion

2.5.1. Quantification du PA encapsulé dans les cyclodextrines

Le principe actif libéré des complexes d'inclusion a été analysé quantitativement à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Vis (UV-Vis Cintra 2020, GBC Scientific Equipment, Keysborough, Australie) utilisant une cellule en quartz de 1,0 cm, en appliquant la loi de Beer-Lambert. La présence de 2HP- β -CD et de HPMC n'a pas interféré avec le dosage spectrophotométrique du PA. Le spectre d'absorption du principe actif a été étudié, et les courbes d'étalonnage dans trois milieux différents – éthanol absolu, tampon phosphate (pH 6,8) et tampon phosphate salin (pH 7,4) – ont été établies à la longueur d'onde correspondant au maximum d'absorption.

L'analyse de l'acide niflumique a été effectuée dans ces trois milieux afin de répondre à des objectifs spécifiques :

- Éthanol absolu : quantification du principe actif contenu dans les complexes d'inclusion.
- Tampon phosphate (0,1 M, pH 6,8) : évaluation de la dissolution *in vitro*.
- Tampon phosphate salin (1X, pH 7,4) : étude de la cinétique de diffusion et analyse de l'activité anti-inflammatoire.

Le spectre d'absorption UV de l'acide niflumique, illustré dans la Figure 2.2, montre un maximum d'absorption à 289 nm ainsi qu'une bande secondaire de faible absorption à 336 nm.

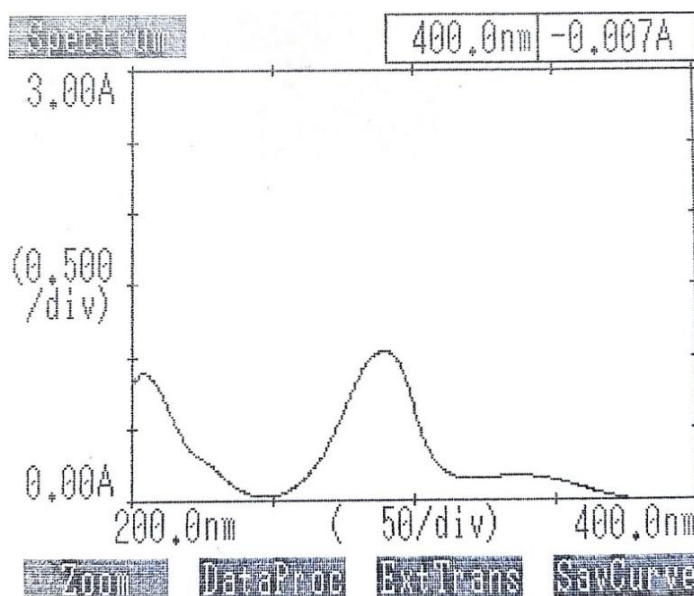


Figure 2.2. Spectre UV-Vis de l'acide niflumique.

Les courbes d'étalonnage de l'acide niflumique dans les trois milieux sont représentées dans les Figures 2.3, 2.4 et 2.5.

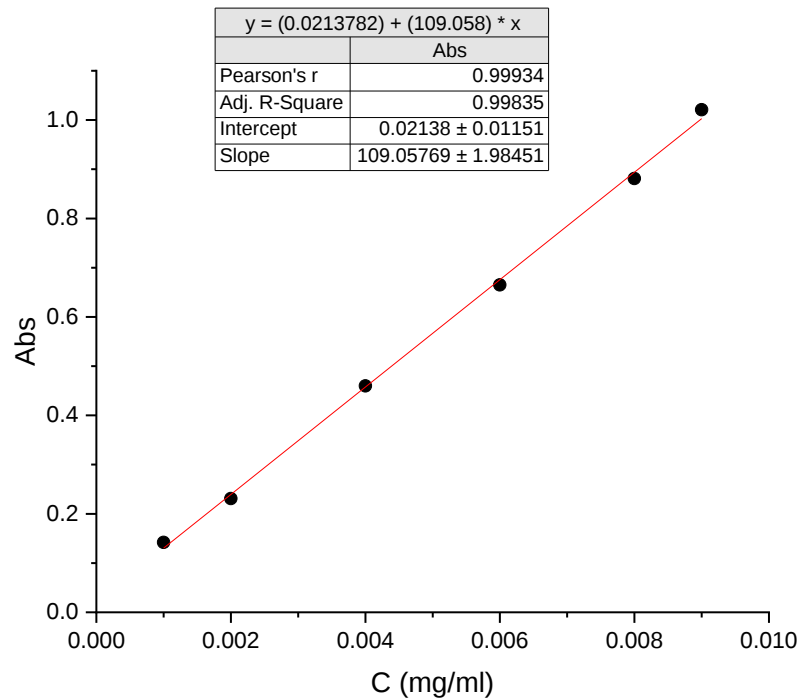


Figure 2.3. Courbe d'étalonnage de l'acide niflumique dans l'éthanol absolu à $\lambda=289$ nm

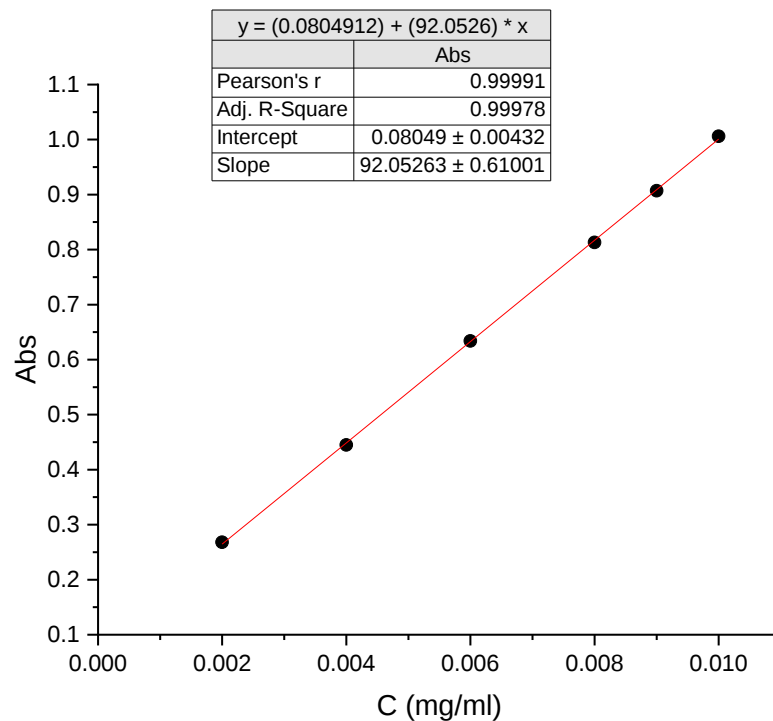


Figure 2.4. Courbe d'étalonnage de l'acide niflumique dans le tampon phosphate (0,1 M, pH 6,8) à $\lambda=289$ nm

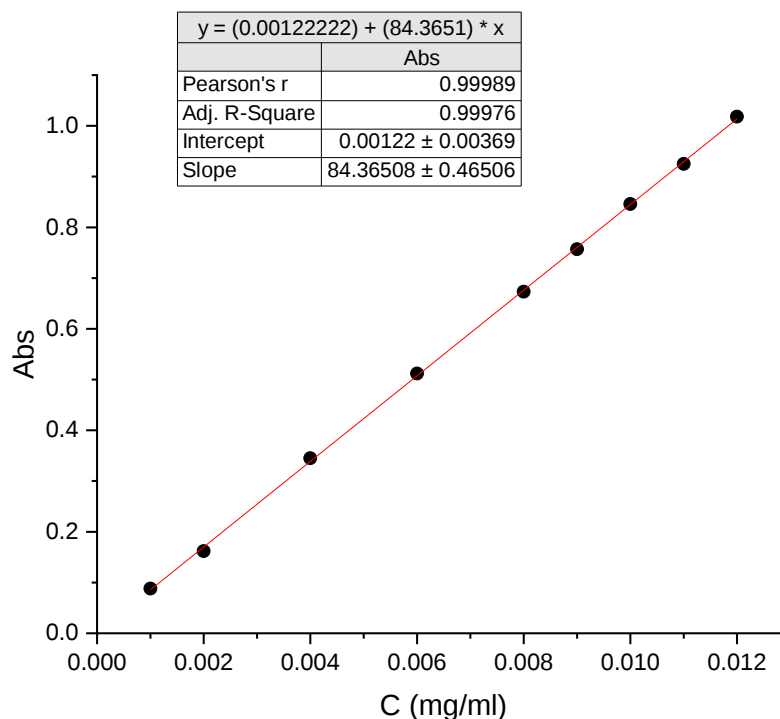


Figure 2.5. Courbe d'étalonnage de l'acide niflumique dans le tampon phosphate salin (1X, pH 7,4) à $\lambda=289$ nm

La teneur en principe actif dans les complexes a été déterminée par une méthode d'extraction utilisant un solvant adéquat. L'extraction a été réalisée en 3 fois. Chaque complexe (10 mg) a été dissous dans de l'éthanol absolu dans une fiole jaugée de 10 mL, agité pendant une nuit à l'aide d'un agitateur magnétique (AM4, CARL ROTH, Allemagne) puis soumis à une sonication de 15 minutes dans un bain ultrasonique à une fréquence de 40 kHz (Fungilab, Barcelone, Espagne). La solution a ensuite été ajustée au volume final (10 mL) avec de l'éthanol, filtrée à l'aide d'un filtre sur seringue Cloup de 0,22 μ m, puis diluée de manière appropriée (2 mL dans 10 mL d'éthanol pour les complexes binaires et ternaires de NA, et 0,5 mL dans 10 mL d'éthanol pour les complexes ternaires de NAs).

Les solutions obtenues ont été analysées par spectroscopie UV-Vis à une longueur d'onde de 289 nm. La masse d'acide niflumique contenue dans les complexes a été déterminée à partir de la courbe d'étalonnage. La teneur en principe actif de chaque échantillon a été calculée selon l'Équation (2.3) [199]:

$$\text{Teneur en principe actif (\%)} = \frac{\text{masse de principe actif extrait}}{\text{masse du complexe}} \times 100 \quad (2.3)$$

2.5.2. Caractérisation par spectroscopie Infrarouge (FTIR)

Les échantillons ont été analysés par spectroscopie Infrarouge en évaluant les modifications de la forme, de la position et de l'intensité des pics. Les spectres FTIR des échantillons ont été obtenus à l'aide d'un spectromètre de type ABB MB3000 FTIR (ABB, Québec, QC, Canada) dans une plage de nombres d'ondes comprise entre 4000 et 650 cm^{-1} , avec une résolution de 2 cm^{-1} en mode transmission à température ambiante.

2.5.3. Caractérisation par calorimétrie différentielle à balayage (DSC)

La calorimétrie différentielle à balayage est une méthode utilisée pour enregistrer le flux de chaleur en fonction de la température pour une large gamme de matériaux. Elle fournit des informations cruciales sur les interactions à l'état solide [200, 201]. Les courbes de DSC ont été enregistrées à l'aide d'un instrument DSC 200 F3 Maia (Netzsch, Waldkraiburg, Allemagne). Un total de 5,5 mg de chaque échantillon a été ajouté dans des creusets en aluminium, lesquels ont ensuite été scellés avec des couvercles perforés. Les échantillons ont été chauffés à un taux de 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ sous un débit de flux d'azote de 50 mL/min, servant d'atmosphère de travail inerte.

2.5.4. Caractérisation par Microscopie Electronique à Balayage (MEB)

La surface et la morphologie des complexes d'inclusion et de leurs composants (NA, 2HP- β -CD, HPMC) ont été étudiées à l'aide d'un microscope électronique à balayage Verios G4 UC (Thermo Fisher Scientific, Brno-Černovice, République tchèque). Les échantillons ont été fixés sur des supports en aluminium à l'aide de ruban adhésif double face au carbone et recouverts de 6 nm de platine à l'aide d'un dispositif de pulvérisation Leica EM ACE200 (Leica, Vienne, Autriche) afin d'assurer la conductivité électrique et de prévenir l'accumulation de charges lors de l'exposition au faisceau d'électrons. L'étude morphologique a été réalisée à l'aide d'un détecteur d'électrons secondaires (détecteur ETD—détecteur Everhart–Thornley) pour mettre en évidence la forme et la taille des particules. Les micrographies MEB ont été réalisées avec une tension d'accélération de 5 kV et une taille de spot de 0,4 nA.

2.5.5. Caractérisation par diffraction des rayons X (DRX)

La diffraction des rayons X permet de détecter les modifications du réseau cristallin des échantillons lors de la complexation. Cette analyse a été réalisée à l'aide d'un microscope

électronique à balayage Verios G4 UC (Thermo Fisher Scientific, Brno-Černovice, République tchèque) équipé d'un analyseur de spectroscopie de rayons X à dispersion d'énergie (détecteur Octane Elect Super SDD, Pleasanton, CA, USA). Les échantillons en poudre ont été analysés sur une plage d'angles 2θ de 2–50° avec une vitesse de balayage de 1°/min et une taille de pas de 0,01.

2.5.6. Caractérisation par diffusion dynamique de la lumière (DLS)

La distribution particulière des complexes lyophilisés et de leurs composants a été mesurée par diffusion dynamique de la lumière à l'aide d'un analyseur de taille de particules submicroniques Delsa Nano C (Beckman Coulter, Brea, CA, USA). Avant les mesures, les suspensions ont été préparées en resuspendant les complexes et leurs composants dans de l'eau déionisée. Chaque mesure a été effectuée trois fois dans une cuvette de 5 mL à une température de 25,0 °C.

2.5.7. Caractérisation par Spectroscopie de résonance magnétique nucléaire (^1H -RMN)

La spectroscopie RMN est un outil crucial pour confirmer le phénomène d'inclusion d'un principe actif au sein d'une molécule hôte de cyclodextrine. Les spectres ^1H -RMN et les spectres 2D ROESY ont été enregistrés à l'aide d'un spectromètre Bruker Avance NEO de 600 MHz (Bruker Biospin, Ettlingen, Allemagne) équipé d'une sonde à détection inverse avec gradient z de 5 mm. Les spectres RMN ont été acquis à une température de 27 °C. Pour l'analyse RMN, les complexes d'inclusion et leurs composants ont été dissous dans du D_2O . Les valeurs de déplacement chimique (δ) ont été exprimées en ppm.

2.6. Études de dissolution *in vitro*

Le test de dissolution permet de fournir des informations essentielles sur la libération du médicament *in vitro*. La libération du principe actif a été réalisée en utilisant la méthode de la pharmacopée des États-Unis (méthode du paddle, appareil II) [47], avec quelques modifications, sur un système de dissolution Distek 2500 (Distek, Inc., North Brunswick, NJ, USA). Un total de 0,7 mg de (NA, Nas) et une quantité équivalente de chaque complexe, contenant 0,7 mg de (NA, Nas), ont été ajoutés à 75 mL de tampon phosphate à 0,1 M (pH 6,8) comme milieu de dissolution. Le milieu a été maintenu à $37 \pm 0,5$ °C et agité à 100 rpm. Un total de 5 mL de solution a été prélevé à l'aide d'une seringue à des intervalles de temps de 2, 5, 10, 15, 20, 30,

45 et 60 minutes. L'échantillon a ensuite été filtré à travers un filtre de seringue de 0,22 µm et analysé immédiatement à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Vis à 289 nm. Chaque expérience a été réalisée en 3 fois.

Les profils de dissolution ont été établis en traçant le pourcentage cumulé de médicament libéré en fonction du temps. Le pourcentage cumulé du médicament a été calculé en tenant compte des courbes d'étalonnage dans le tampon phosphate (0,1 M, pH 6,8) suivant l'équation suivante :

$$\text{Pourcentage cumulé (\%)} = C_t/C_0 \times 100 \quad (2.4)$$

Où C_t et C_0 représentent la quantité restante de PA au temps du prélèvement 't' et la quantité initiale du PA au temps 0, respectivement.

2.7. Tests biologiques *in vitro*

Des tests biologiques *in vitro* ont été réalisés sur l'acide niflumique et le complexe d'inclusion optimisé (NAs-2HP-β-CD-HPMC) afin d'évaluer leurs activités biologiques avant et après complexation avec les cyclodextrines (CD).

2.7.1. Évaluation de l'activité anti-inflammatoire *in vitro* (dénaturation de l'albumine d'œuf)

- Principe :

L'objectif principal du test de dénaturation de l'albumine d'œuf est de déterminer si des agents ou des composés peuvent empêcher ou réduire la dénaturation de l'albumine d'œuf dans des conditions spécifiques. La dénaturation désigne la modification de la structure d'une protéine, entraînant la perte de son activité biologique. Dans cette expérience, l'albumine d'œuf est utilisée comme modèle de protéine, et sa dénaturation est provoquée par l'exposition à des conditions extrêmes de température, de pH ou à des agents dénaturants. La dénaturation perturbe la conformation initiale de l'albumine, modifie ses caractéristiques physiques et lui fait perdre son activité fonctionnelle.

Le test de dénaturation de l'albumine d'œuf évalue la capacité d'un médicament ou d'un composé à prévenir ou réduire cette dénaturation, ce qui permet d'étudier ses effets anti-inflammatoires. Ce test repose sur l'idée que des substances dotées de propriétés anti-inflammatoires peuvent stabiliser les structures protéiques et empêcher leur dénaturation, souvent associée à l'inflammation et aux lésions tissulaires. Ainsi, les agents ou composés

capables de réduire significativement la dénaturation de l'albumine dans ce test pourraient présenter des propriétés anti-inflammatoires potentielles [202, 203].

- Méthode expérimentale

Une solution de 5 mL a été préparée pour l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire, comprenant 2,8 mL de tampon phosphate salin (pH 7,4) fraîchement préparé, 2 mL de solutions aqueuses à concentrations spécifiques d'acide niflumique, de diclofénac ou du complexe d'inclusion (utilisé en quantité équivalente à 2 mg/mL de l'acide niflumique), ainsi que 0,2 mL d'albumine d'œuf extraite d'œufs de poule. Un volume double d'eau distillée a servi de contrôle négatif, tandis que le diclofénac sodique a été utilisé comme contrôle positif. Les mélanges ont été chauffés dans un bain-marie à 37 °C pendant 15 minutes, suivis d'une montée en température à 70 °C pendant 5 minutes, avant d'être refroidis à température ambiante. L'absorbance des échantillons a été mesurée à 660 nm [204]. L'équation suivante a été utilisée pour déterminer le pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines (2.5) :

$$\text{Pourcentage d'inhibition (\%)} = \frac{\text{Absorbance du contrôle négatif} - \text{Absorbance de l'échantillon}}{\text{Absorbance du contrôle négatif}} \times 100 \quad (2.5)$$

2.7.2. Évaluation de l'activité anti-oxydante *in vitro*

2.7.2.1. Test de piégeage des radicaux libres (DPPH)

- Principe:

Le test DPPH (diphenylpicrylhydrazyl) est couramment utilisé pour évaluer l'activité antioxydante. Ce composé génère des radicaux libres stables grâce à la délocalisation des électrons libres dans sa structure, ce qui donne à la solution une coloration violet foncé. Lorsqu'un antioxydant est ajouté, il réduit les radicaux DPPH• en leur forme non radicalaire DPPH-H, provoquant ainsi une décoloration de la solution. Cette diminution de l'absorbance, mesurée à 517 nm par spectrophotométrie, permet de déterminer le potentiel antioxydant de la substance testée. L'efficacité antioxydante est donc proportionnelle à la réduction de l'absorbance de la solution méthanolique de DPPH, ce qui reflète la capacité de l'antioxydant à piéger les radicaux libres [205, 206].

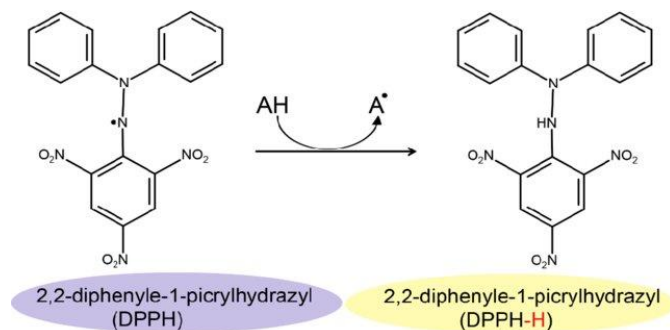


Figure 2.6. Schéma montrant la capacité inhibitrice du radical libre DPPH [207].

- Méthode expérimentale

1 mL de la solution éthanolique de l'acide niflumique ou du complexe d'inclusion « NAs-2HP-β-CD-HPMC » a été placé dans chaque tube, auquel 3 mL de la solution éthanolique de DPPH (0,1 mM) ont été ajoutés. Le mélange réactionnel a été incubé à l'abri de la lumière, à température ambiante, pendant 30 minutes. Après ce temps, l'absorbance du mélange a été mesurée à 517 nm. 3 mL de DPPH ont été utilisés comme contrôle [208]. L'activité de piégeage des radicaux libres du médicament pur et du complexe a été calculée à l'aide de la formule (2.5).

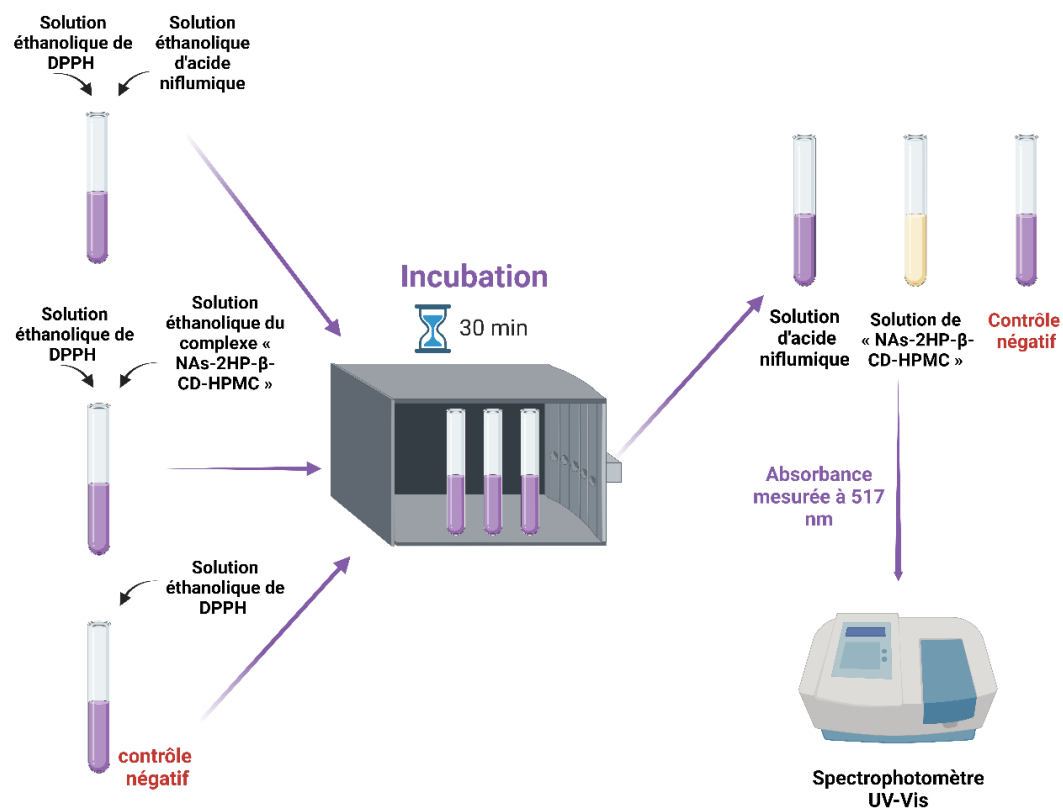


Figure 2.7. Schématisation du protocole du test de piégeage des radicaux libres DPPH (Créé sur BioRender.com).

2.7.2.2. Test de de piégeage des radicaux libres ABTS⁺

- Principe :

Cette méthode repose sur la capacité des composés à neutraliser le radical cationique ABTS⁺ (acide 2,2'-azino-bis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)), caractérisé par un pic d'absorption à 734 nm. En présence de Sulfate de potassium (K₂SO₄), l'ABTS réagit pour former un radical ABTS^{•+} de couleur bleue à verte. L'introduction d'un antioxydant dans le mélange réduit ce radical, entraînant une décoloration proportionnelle à l'efficacité antioxydante du composé.

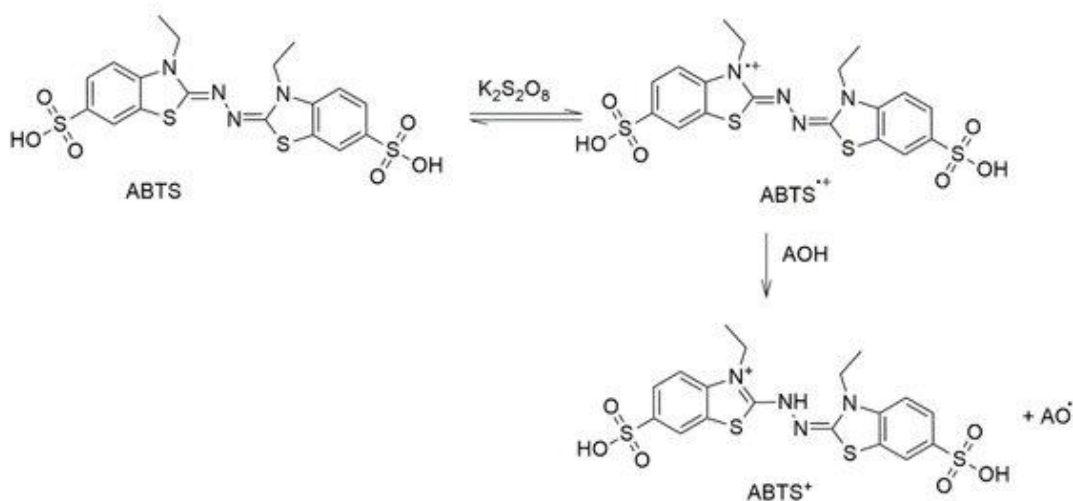


Figure 2.8. Capacité inhibitrice du radical libre ABTS⁺[209].

- Méthode expérimentale

Une solution aqueuse d'ABTS (7 mM) avec du Sulfate de potassium 'K₂SO₄' (2,45 mM) a été préparée. Cette solution a été laissée dans l'obscurité pendant 16 heures pour initier la formation du radical ABTS⁺. Elle a ensuite été diluée avec de l'éthanol pour obtenir une absorbance de 0,700 ± 0,02 à 734 nm.

Dans chaque tube, 3 mL de la solution éthanolique d'ABTS⁺ ont été ajoutés à 1 mL de solution éthanolique de l'acide niflumique ou du complexe d'inclusion « NAs-2HP-β-CD-HPMC ». Après 6 minutes, l'absorbance de chaque échantillon a été mesurée à une longueur d'onde λ = 734 nm, une solution témoin a été préparée en remplaçant le volume de l'échantillon par le même volume d'éthanol [210]. Le pourcentage d'activité de piégeage des radicaux libres a été calculé en appliquant la formule (2.6) :

$$\text{Pourcentage d'inhibition (\%)} = \frac{A_0 - A_s}{A_0} \quad (2.6)$$

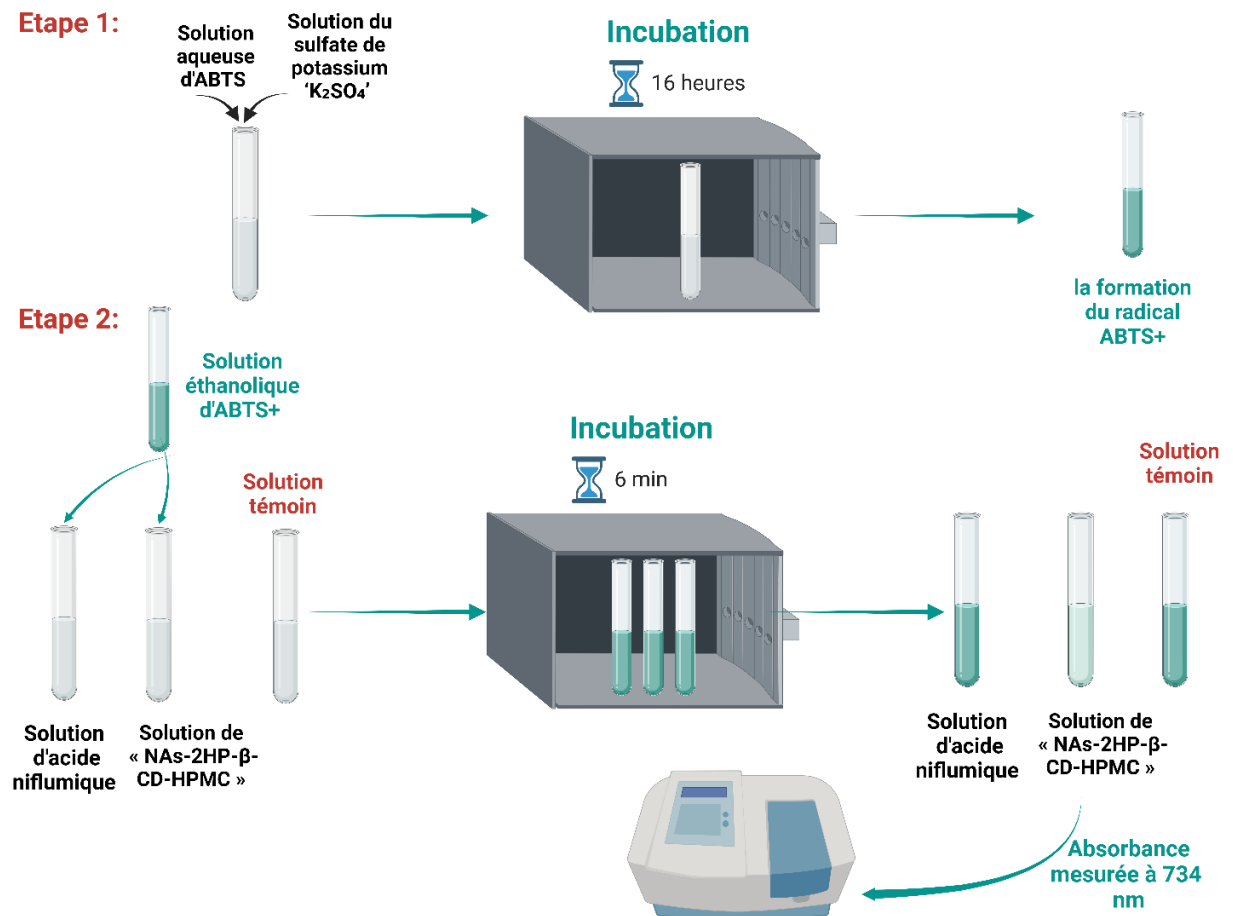


Figure 2.9. Schématisation du protocole du test de de piégeage des radicaux libres $ABTS^+$ (Créé sur BioRender.com).

2.7.2.3. Test de piégeage des radicaux hydroxyles (HRS)

- Principe :

Le test d'activité de piégeage des radicaux hydroxyles est utilisé pour déterminer la capacité des antioxydants, comme ceux présents dans des extraits de plantes, à neutraliser les radicaux hydroxyles libres (notamment produits par le peroxyde d'hydrogène), responsables de dommages cellulaires.

Le modèle utilisé est celui de génération de radicaux hydroxyles par le système acide ascorbique-fer-H₂O₂. Ce système totalement aqueux génère des radicaux hydroxyles à partir de la réaction synergique entre l'acide ascorbique, le fer et l'H₂O₂ [211].

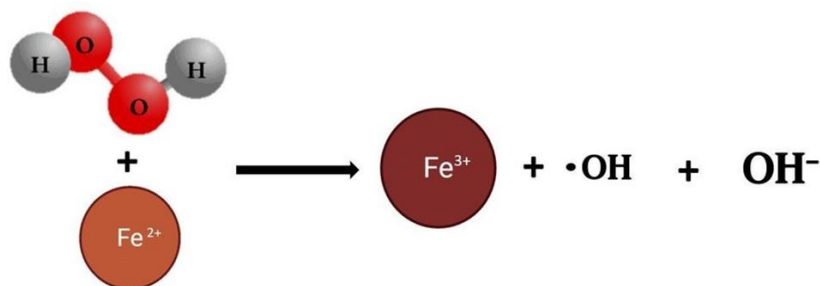


Figure 2.10. Réaction de Fenton [212].

- Méthode expérimentale

2 mL de la solution préparée de l'acide niflumique ou du complexe d'inclusion optimisé 'NAs-2HP-β-CD-HPMC' ont été prélevés et ajoutés dans chaque tube. 2 mL de solution de Sulfate ferreux 'FeSO₄' (4 mmol/L) et 2 mL de solution d'acide salicylique (3 mmol/L) ont été ajoutés successivement dans les tubes. Ensuite, 2 mL de solution de H₂O₂ (3 mmol/L) ont également été ajoutés dans les tubes. Les tubes ont été placés dans un bain-marie à 37 °C pendant 30 min, et la longueur d'onde du système a été mesurée à 510 nm (As). Le groupe témoin (système FeSO₄-acide salicylique-H₂O₂ sans échantillon) a été préparé selon les étapes ci-dessus et son absorbance à 510 nm (A0) a été mesurée [213].

Le pourcentage de piégeage des radicaux libres a également été calculé selon l'équation (2.6).

2.7.3. Essai d'hémocompatibilité *in vitro*

- Principe :

L'essai d'hémocompatibilité a pour objectif d'évaluer la capacité d'une substance à interagir de manière sécurisée avec le sang, sans provoquer d'hémolyse. Ce test consiste à analyser la lyse des globules rouges induite par la substance testée. L'hémoglobine libérée lors de cette lyse est quantifiée par spectrophotométrie, généralement à une longueur d'onde de 540 nm, afin de mesurer l'effet hémolytique et de calculer l'indice hémolytique. Conformément à la norme ISO 10993-4, les matériaux dont l'indice hémolytique est inférieur à 5 % sont considérés comme sûrs et compatibles avec le sang [214].

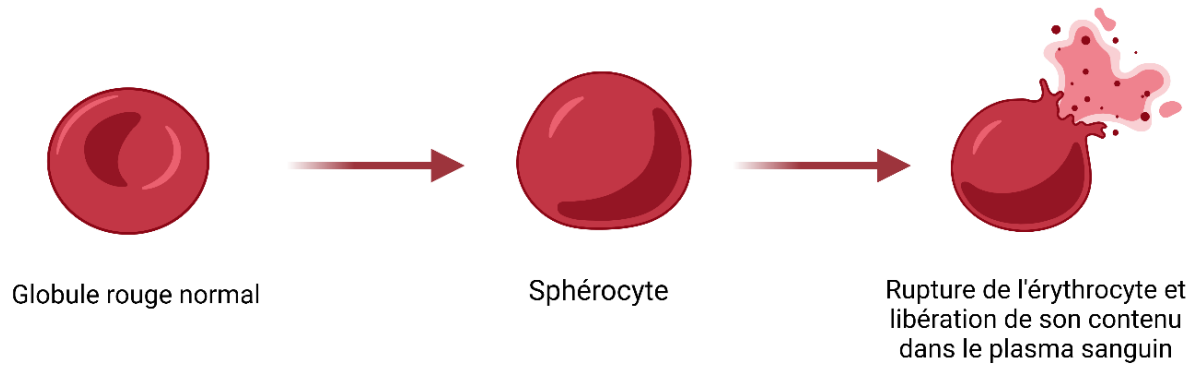


Figure 2.11. Représentation schématique de l'hémolyse (Créé sur BioRender.com).

- Méthode expérimentale

Un mélange comprenant du sang (200 μL), une solution saline normale (NaCl 0,9 %) (1600 μL) et des solutions de l'acide niflumique ou du complexe d'inclusion 'NAs-2HP- β -CD-HPMC' (200 μL , NaCl 0,9 %) à des concentrations de 20, 40, 60, 80 et 100 $\mu\text{g/mL}$ a été préparé. Des échantillons de contrôle positif (200 μL de sang dans 1600 μL de solution saline normale (NaCl 0,9 %) avec 200 μL d'eau distillée, représentant une hémolyse à 100 %) et de contrôle négatif (200 μL de sang dans 1600 μL de solution saline normale (NaCl 0,9 %) avec 200 μL de solution saline normale, représentant une hémolyse à 0 %) ont également été inclus dans l'étude.

Tous les échantillons ont été incubés pendant 2 heures à 37 °C, puis centrifugés à 1500 tours/min pendant 10 minutes. L'absorbance du surnageant de chaque échantillon a été mesurée par spectrophotométrie UV-Vis à 541 nm. Le pourcentage d'hémolyse a été calculé à l'aide de l'équation suivante :

$$\% \text{ Hémolyse} = \frac{A_s - A_n}{A_p - A_n} \times 100 \quad (2.7)$$

Où A_s représente l'absorbance de l'échantillon, A_n celle du contrôle négatif, et A_p celle du contrôle positif.

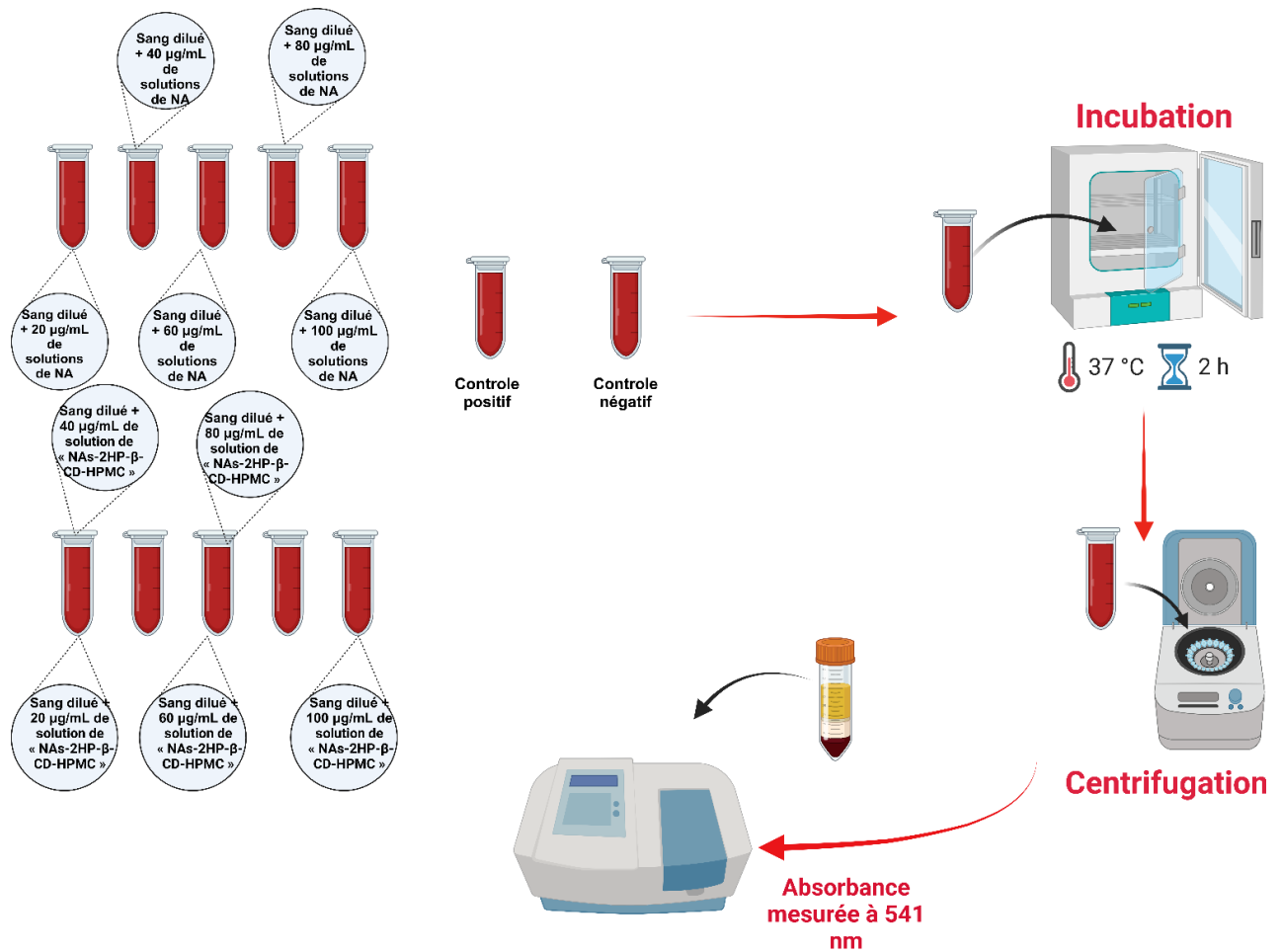


Figure 2.12. Représentation schématique du test d'hémocompatibilité *in vitro* (Créé sur BioRender.com).

2.7.4. Etude de stabilité sérique

- Principe :

Le test de stabilité sérique évalue la stabilité physique de particules telles que des nanoparticules ou des complexes d'inclusion dans un milieu biologiquement pertinent, comme le sérum fœtal bovin (FBS), qui simule les conditions de circulation sanguine. Il permet d'analyser les variations de la taille des particules en fonction du temps, des indicateurs clés de la stabilité des particules et des interactions avec les protéines [215].

- Méthode expérimentale

La stabilité sérique de l'acide niflumique et du complexe d'inclusion 'NAs-2HP-β-CD-HPMC' a été étudiée dans un milieu physiologiquement approprié de sérum fœtal bovin (FBS)

à 10 %, dans lequel un volume de 10 mL a été utilisé pour incuber une solution de NA ou du complexe « NAs-2HP- β -CD-HPMC » à une concentration de 2 mg/mL. Les mélanges ont été maintenus à 37°C et légèrement agités (200 rpm) pour simuler les conditions de circulation sanguine. Pour déterminer les valeurs de la taille des particules, des échantillons ont été prélevés au départ (au temps zéro) et après des intervalles de temps prédéterminés (2, 4, 6 h), puis dilués dans de l'eau distillée (1:50 v/v) pour évaluer leur taille des particules à l'aide de l'analyseur de particules Malvern panalytical (Zetasizer Pro) [216].

2.8. Formulation et caractérisation d'hydrogels

Des hydrogels à base d'acide niflumique et de complexe d'inclusion 'NAs-2HP- β -CD-HPMC' ont été développés et caractérisés afin d'évaluer la délivrance transdermique du principe actif, à la fois sous sa forme pure et sous forme de complexe avec des cyclodextrines.

2.8.1. Préparation des hydrogels

Deux formulations ont été élaborées : la première contenant 0,5 % d'acide niflumique sous forme pure, et la seconde incorporant le complexe d'inclusion optimisé avec une concentration équivalente à 0,5 % d'acide niflumique.

La sélection des concentrations des excipients a été réalisée en tenant compte de leurs influences sur l'aspect, la texture des gels, ainsi que sur les préférences sensorielles. Les quantités en grammes des différents composants des formulations sont présentées dans le Tableau 2.2. Pour la formulation de l'hydrogel, une quantité précise d'acide niflumique ou du complexe d'inclusion 'NAs-2HP- β -CD-HPMC' a été dissoute dans une quantité suffisante d'eau distillée. Le Carbopol 940, choisi pour sa sécurité d'utilisation et sa capacité à conférer une consistance optimale [217], a été dispersé dans le mélange et agité à l'aide d'un agitateur magnétique pendant 1 heure jusqu'à une hydratation complète.

Le méthylparabène, le propylparabène et la glycérine, préalablement dissous, ont été incorporés dans la dispersion de Carbopol 940. Le mélange obtenu a été neutralisé avec des gouttes de triéthanolamine et le pH a été ajusté entre 5,0 et 7,0. L'homogénéisation de la formulation a été poursuivie à l'aide d'un homogénéisateur à cisaillement élevé (Ultra-Turrax numérique IKA-T25) jusqu'à l'obtention d'un gel homogène. Les hydrogels ainsi préparés ont été conservés dans des pots stériles pour des analyses ultérieures de caractérisation [218].

Tableau 2.2. Composition des formulations de l'hydrogel.

Composants	Formulations (g)	
	Gel de NA	Gel de NAs-2HP- β -CD-HPMC
Acide niflumique	0.5	0.5
Complexe 'NAs-2HP- β -CD-HPMC'	-	3.72
Carbopol 940	0.5	0.5
Glycérine	5	5
Méthylparabène	0.2	0.2
Propylparabène	0.06	0.06
Triéthanolamine	Q.s	Q.s
Q.s d'eau distillée	100	100

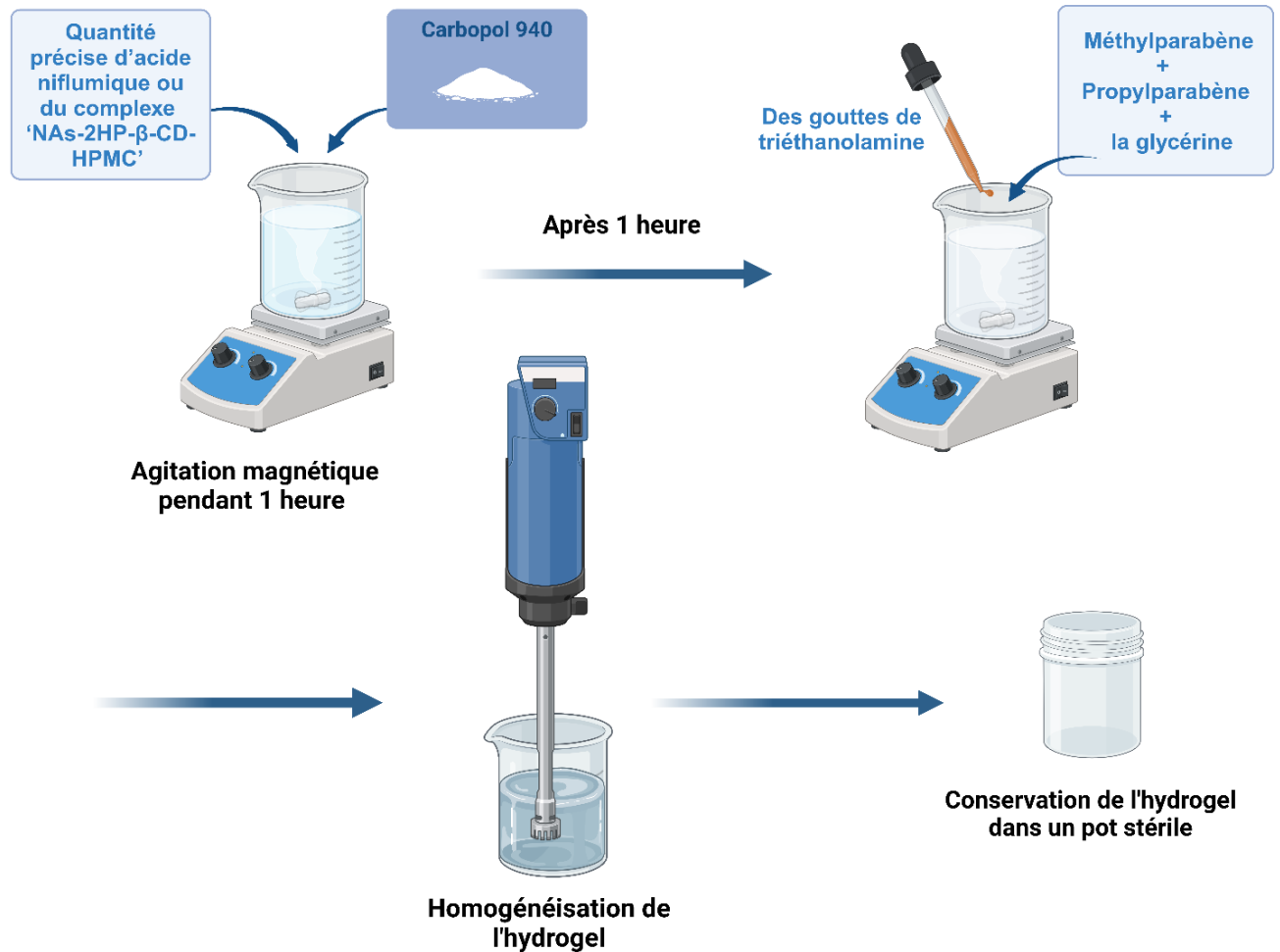


Figure 2.13. Schématisation du procédé de préparation des hydrogels (Créé sur BioRender.com).

2.8.2. Quantification du principe actif dans les hydrogels

Ce test a été réalisé afin de confirmer si la quantité initiale de principe actif utilisée est conservée et reste inchangée après le procédé de préparation des hydrogels. La détermination de la quantité de principe actif contenue dans les hydrogels a été effectuée par extraction dans un solvant approprié [219]. Chaque extraction a été réalisée trois fois. Une masse de 0,5 g de chaque hydrogel a été dispersée dans 50 mL d'éthanol absolu sous agitation continue pendant 4 à 5 heures pour assurer la solubilisation et le transfert du principe actif vers le solvant. La solution obtenue a ensuite été soniquée dans un bain ultrasonique pendant 15 minutes, filtrée à travers un filtre de 0,45 μm , puis analysée par spectrophotométrie UV-Vis à 289 nm après une dilution appropriée avec de l'éthanol absolu. La concentration de principe actif dans chaque hydrogel a été calculée à l'aide de l'équation (2.3).

2.8.3. Mesure du pH des hydrogels

Le pH des deux formulations a été mesuré à l'aide d'un pH-mètre numérique (HANNA HI 8424, HANNA Instruments, USA). Pour cela, 0,5 g de chaque hydrogel ont été dissous dans 50 mL d'eau distillée, puis homogénéisés pendant deux heures à température ambiante. La mesure du pH a été effectuée 3 fois pour chaque formulation, et les valeurs moyennes ont ensuite été calculées [220].

2.8.4. Mesure de la viscosité des hydrogels

La viscosité de chaque hydrogel a été mesurée à l'aide d'un rhéomètre MCR 302 Anton Paar Physica (Anton Paar GmbH, Allemagne). Les mesures ont été effectuées en conditions de cisaillement nul (Zero Shear), permettant de déterminer la viscosité intrinsèque des hydrogels dans leur état de repos.

2.8.5. Test d'étalement des hydrogels

L'étalement des hydrogels a été évalué à l'aide de la méthode des plaques parallèles, l'une des techniques les plus couramment utilisées pour mesurer l'étalement en raison de ses nombreuses variantes. Nous avons choisi cette méthode car elle est simple, économique et rapide [221].

0.5 g de chaque formulation est placé entre deux plaques de verre de 20 x 20 cm. Un poids de 500 g est déposé sur la plaque supérieure pendant une minute. Le diamètre de l'échantillon étalé entre les plaques est ensuite mesuré. L'étalement des hydrogels est calculé à l'aide de la formule suivante :

$$S_i = \pi d^2 / 4 \quad (2.8)$$

Où S_i représente la surface d'étalement (en mm^2) en fonction de la masse, et d est le diamètre de la zone d'étalement (en mm) [222].

2.8.6. Mesure de la densité des hydrogels

La densité relative des deux hydrogels (ρ_g) a été déterminée à l'aide de la méthode du pycnomètre en utilisant de l'eau distillée comme liquide polaire. Les mesures ont été réalisées à une température ambiante de 25 °C. Cette méthode permet de mesurer précisément la densité relative des hydrogels en tenant compte de leurs propriétés spécifiques et de leur interaction avec le liquide de référence [223].

La densité relative a été calculée à l'aide de l'équation suivante :

$$\rho_g = (m_g \times \rho_e) / (m_{pe} - m_{pge} + m_g) \quad (2.11)$$

Où : m_g représente la masse de l'hydrogel, ρ_e est la densité de l'eau distillée, m_{pe} correspond à la masse du pycnomètre rempli d'eau distillée, m_{pge} désigne la masse du pycnomètre contenant l'hydrogel et complété avec de l'eau distillée.

2.8.7. Mesure de l'indice de réfraction des hydrogels

L'indice de réfraction de chaque formulation a été mesuré à l'aide d'un réfractomètre ABBE à une température ambiante de 24 ± 0.6 °C. Pour l'eau distillée, l'indice de réfraction est de 1,343 à 24 ± 0.6 °C. Chaque mesure a été répétée trois fois.

2.8.8. Analyse structurale des hydrogels

- Microscopie optique :

La caractérisation morphologique des hydrogels a été réalisée à l'aide d'un microscope optique (Optika DM-25). Pour ce faire, Une goutte de formulation a été déposée sur une lame,

puis étalée uniformément à l'aide d'une lamelle superposée. Les observations ont été effectuées avec des grossissements de 4×100 , 10×100 et 40×100 .

Cette analyse microscopique visait à évaluer la structure des hydrogels, leur homogénéité, leur texture de surface, ainsi que la taille et la distribution des particules présentes dans les formulations. Ces paramètres sont essentiels pour comprendre la qualité et l'efficacité des hydrogels préparés.

2.8.9. Etude rhéologique des hydrogels

La caractérisation rhéologique des hydrogels a été réalisée par des tests de viscoélasticité utilisant la rhéologie. Cette méthode repose sur l'application d'une déformation contrôlée à l'échantillon. Le rhéomètre, généralement de faible dimension et doté d'une très faible inertie mécanique du rotor, permet d'étudier en profondeur les propriétés rhéologiques d'un liquide, d'une suspension ou d'une pâte en réponse à une force appliquée. Ces analyses fournissent également des informations précieuses sur la stabilité des échantillons [224].

Le comportement rhéologique des hydrogels a été déterminé à différentes vitesses de cisaillement à l'aide d'un rhéomètre à contrainte et déformation imposées, modèle MCR 302 Anton Paar Physica (Anton Paar, GmbH, Allemagne), à température ambiante (25 °C). Pour chaque mesure, 1 g d'hydrogel a été placé dans le système de mesure plan-plan du rhéomètre à 25 °C. Une rampe croissante de vitesse de cisaillement, allant de $0,001\text{ s}^{-1}$ à 1000 s^{-1} , a été appliquée. Le temps de mesure entre deux points successifs a varié selon une rampe logarithmique décroissante, de 80 s à 10 s, afin de prendre en compte les cinétiques de déstructuration des éléments figurés présents dans l'hydrogel. Ces cinétiques tendent vers des états d'équilibre dynamique partiel, associés à des viscosités stationnaires. Les données expérimentales ont été analysées à l'aide du logiciel Rheoplus US200.

2.8.10. Etude de la diffusion *in vitro* (cellule de Franz)

La cinétique de libération de l'acide niflumique à partir des deux hydrogels a été étudiée à l'aide d'une cellule de diffusion de Franz, un dispositif couramment utilisé pour évaluer la perméabilité transdermique des formulations pharmaceutiques [225].

La cellule utilisée a été conçue manuellement par des professionnels spécialisés en verrerie de laboratoire. Elle est constituée d'un compartiment donneur et d'un compartiment récepteur séparés par une membrane. Le volume du compartiment récepteur est de 15 mL, le diamètre interne du compartiment donneur est de 2,04 cm, et la surface d'échange est de 3,26 cm².

L'étanchéité est assurée par un joint, et les deux compartiments sont maintenus en place à l'aide d'une pince de fixation. Un barreau aimanté est introduit dans le compartiment récepteur, et la vitesse d'agitation est fixée à 50 rpm pour assurer une agitation continue du milieu récepteur, constitué d'un tampon phosphate salin (1X, pH 7,4), afin de simuler les conditions physiologiques de la peau humaine [226]. Les membranes utilisées dans ce test sont des membranes synthétiques d'esters de cellulose mixte avec une porosité de 0,45 µm, une épaisseur de 0,15 mm. Ce type de membrane a été choisi en raison de sa similitude avec la peau humaine, de sa grande perméabilité et de son taux de libération élevé par rapport à d'autres types de membranes [227].

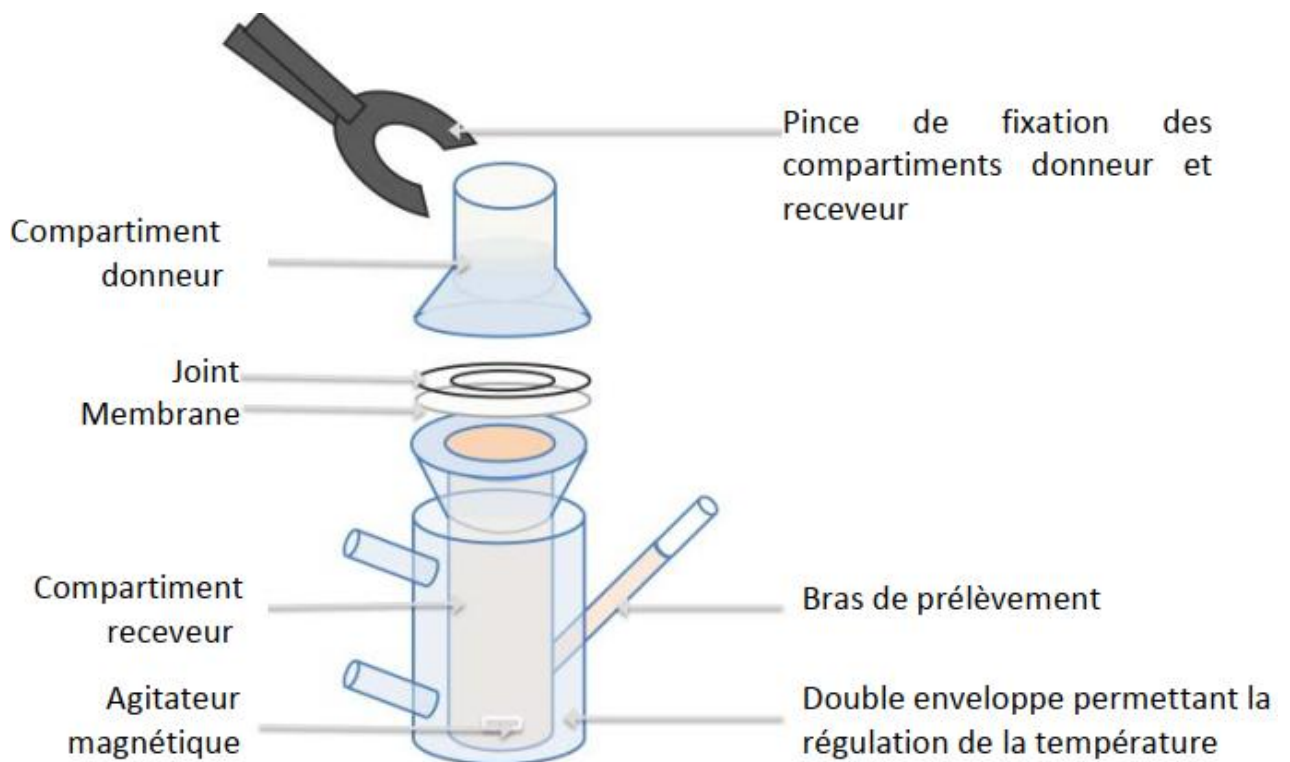


Figure 2.14. Schéma d'une cellule de diffusion de Franz [228].



Figure 2.15. Photographie de la cellule de Franz utilisée.

2.8.10.1. Méthode expérimentale

Le compartiment récepteur a été rempli avec une solution de tampon phosphate salin (1X, pH 7,4) maintenue à une température constante de 37 ± 1 °C. Une membrane en esters de cellulose mixte a été déposée sur le compartiment récepteur, sur laquelle 0,5 g d'hydrogel ont été appliqués.

Le tout a ensuite été recouvert par le compartiment donneur. Le volume du compartiment récepteur a été ajusté à l'aide du bras de prélèvement jusqu'à atteindre un volume final de 15 mL. Une attention particulière a été portée pour vérifier l'absence de bulles d'air sous la membrane. Afin d'assurer une étanchéité parfaite, un parafilm a été placé autour de la jonction des deux compartiments ainsi qu'à l'orifice du bras de prélèvement.

Le contenu du compartiment récepteur a été maintenu sous agitation constante à 50 rpm à l'aide d'un agitateur magnétique. A des intervalles de temps prédéfinis (15, 30, 45, 60, 90, 120, 180, 240, 300, 360 minutes), des aliquotes de 1 mL ont été prélevées à l'aide d'une seringue, puis remplacées par un volume équivalent de solution tampon fraîche. Les échantillons prélevés ont été dilués avec la solution tampon et analysés par spectrophotométrie à 289 nm afin de déterminer la quantité de principe actif, en se basant sur des courbes d'étalonnage établies

dans le tampon phosphate salin (1X, pH 7,4). La quantité cumulative transférée dans le compartiment récepteur a été calculée en tenant compte de la correction liée à la dilution [229]. Les profils de libération *in vitro* des systèmes transdermiques ont été présentés sous forme graphique



Figure 2.16. Photographie du dispositif de diffusion *in vitro* utilisée.

2.8.10.2. Paramètres de diffusion

Les paramètres cinétiques de diffusion, à savoir le coefficient de diffusion (D), le flux (J), le coefficient de perméabilité (Kp) et le temps de latence (L), ont été déterminés à partir des résultats expérimentaux obtenus.

a) Le coefficient de diffusion (D) :

Le coefficient de diffusion (D) (cm³/min), a été calculé à l'aide de l'équation suivante :

$$D = \frac{B \times l m}{c_0} \quad (2.14)$$

Où : 'B' représente la pente de la courbe de diffusion par unité de surface du PA, 'lm' correspond à l'épaisseur de la membrane (cm) et 'C₀' est la concentration initiale du principe actif dans le compartiment donneur (mg /cm³) [230].

b) Le flux (J):

Le flux (J) (mg/cm²/min) a été déterminé à partir de la pente de la droite de régression, divisée par la surface de la membrane [231].

c) Le coefficient de perméabilité (Kp) :

Le coefficient de perméabilité a été calculé à partir du flux (J) et la concentration initiale du principe actif dans le compartiment donneur 'C₀', selon la formule suivante [232]:

$$Kp = \frac{J}{C_0} \quad (2.15)$$

d) Le temps de latence (L):

L'extrapolation de la partie linéaire de la courbe de diffusion à l'axe du temps permet de déterminer le temps de latence, noté L. Ce temps de latence est lié au coefficient de diffusion (D) par la relation suivante [233]:

$$L = \frac{h^2}{6D} \quad (2.16)$$

Où 'h' représente l'épaisseur de la membrane.

2.8.11. Etude statistique

Une analyse statistique a été réalisée à l'aide du logiciel OriginPro 2024 (OriginLab, Northampton, MA, USA). Les données ont été exprimées sous forme de valeur moyenne ± écart-type (SD) de trois expériences indépendantes. Les résultats ont été comparés et évalués statistiquement à l'aide d'une analyse de variance unidirectionnelle (ANOVA) suivie du test de Tukey, en considérant une valeur de p < 0,05 comme statistiquement significative.

2.8.11.1. Modélisation mathématique des profils de dissolution

La cinétique de libération de la substance active repose sur un processus simple, supposant un passage exclusif du principe actif vers une solution aqueuse. Les profils de dissolution ont été étudiés à l'aide de plusieurs modèles mathématiques appliqués pour analyser les données expérimentales.

Parmi ces modèles figurent le modèle d'ordre zéro, de premier ordre, le modèle de Higuchi, de Hixson–Crowell et de Korsmeyer–Peppas, reconnus dans la littérature pour leur pertinence et leur efficacité dans l'interprétation et l'étude des profils cinétiques [234].

a) Modèle ordre zéro

Le modèle d'ordre zéro décrit une libération constante de la substance active au fil du temps, exprimée par le pourcentage cumulatif de la quantité libérée, indépendamment de la concentration résiduelle dans le système [235].

$$\text{Equation : } Q_{\text{cum}} = Q_0 + K_0 t \quad (2.17)$$

$$\text{Graphique : } Q_{\text{cum}} = f(t) \quad (2.18)$$

b) Modèle de premier ordre

Le modèle cinétique de premier ordre décrit une libération dépendant de la concentration résiduelle de la substance active, exprimée par le logarithme du pourcentage cumulatif de la quantité restante en fonction du temps [236].

$$\text{Equation : } \ln(Q_i - Q_{\text{cum}}) = \log Q_i - K_1 t \quad (2.19)$$

$$\text{Graphique : } \ln(Q_i - Q_{\text{cum}}) = f(t) \quad (2.20)$$

c) Modèle de Higuchi

Le modèle de Higuchi illustre une libération contrôlée par diffusion, représentée par le pourcentage cumulatif de la substance libérée en fonction de la racine carrée du temps [237].

$$\text{Equation : } Q_{\text{cum}} = K_H t^{1/2} \quad (2.21)$$

$$\text{Graphique : } Q_{\text{cum}} = f(t^{1/2}) \quad (2.22)$$

d) Modèle de Korsmeyer-Peppas

Le modèle de Korsmeyer-Peppas caractérise le mécanisme de libération en analysant la relation logarithmique entre le pourcentage cumulatif de libération et le temps, permettant d'identifier le type de diffusion (Fickienne ou non-Fickienne) [238].

$$\text{Equation : } Q_{\text{cum}} = \alpha Q_{\infty} t^n \quad (2.23)$$

$$\text{Graphique : } \log Q_{\text{cum}} = f(\log t) \quad (2.24)$$

e) Modèle de Hixson–Crowell

Le modèle de Hixson–Crowell est exprimé par la différence entre la racine cubique de la quantité initiale de substance et la racine cubique de la quantité libérée à un temps donné, qui est proportionnelle à la durée de libération [239].

$$\text{Equation : } (1 - Q_{\text{cum}} / Q_i)^{1/3} = 1 - K_{\beta} t \quad (2.25)$$

$$\text{Graphique : } (1 - Q_{\text{cum}} / Q_i)^{1/3} = f(t) \quad (2.26)$$

Où : Q_0 : quantité initiale de PA dans le compartiment receveur ; Q_t : quantité de PA dans le compartiment receveur à l'instant t ; K_0 : constante de perméation d'ordre 0 ; Q_{cum} : quantité cumulée de PA dans le milieu receveur à l'instant t ; K_1 : constante de perméation d'ordre 1 ; K_H : constante d'Higuchi ; Q_{∞} : quantité cumulée de PA dans le milieu receveur à l'équilibre ; n : exposant de diffusion ; T_i : temps initial avant le passage du PA dans le compartiment receveur ; α : paramètre d'échelle exprimé à partir de la valeur de $1/\alpha$ à $t = 1$; b : coefficient de la pente ; K_{β} : constante d'Hixson – Crowell ; Q_i : quantité de PA initiale dans la forme galénique.

CHAPITRE 3

Résultats et discussion

3.1. Introduction

Dans ce chapitre, nous analysons et discutons les résultats obtenus au cours de cette étude. Celle-ci porte sur l'exploration de la solubilité de phase des complexes d'inclusion, la création de complexes d'inclusion binaires et ternaires (NA-2HP- β -CD, NA-2HP- β -CD-HPMC, et NAs-2HP- β -CD-HPMC), ainsi que sur l'identification du complexe le plus performant en termes d'efficacité de complexation (EC) et de constante de stabilité (Ks). Nous avons également mené des analyses physico-chimiques approfondies pour caractériser ces complexes, étudié leur dissolution *in vitro* et évalué leurs propriétés biologiques. Par ailleurs, des hydrogels contenant soit le complexe optimisé, soit le principe actif pur, ont été formulés et analysés. Enfin, leur diffusion transdermique a été étudiée à l'aide d'une cellule de Franz, afin de mieux comprendre leur potentiel pour des applications transdermiques.

3.2. Caractérisation des complexes d'inclusion en solution – Études de phase de solubilité

Le diagramme de solubilité de phase pour les systèmes binaires (NA/NAs-2HP- β -CD) et ternaires (NA/NAs-2HP- β -CD-HPMC) montre une augmentation linéaire de la solubilité du médicament (Figure 1). Selon Higuchi et Connors [149], les systèmes NA/NAs-2HP- β -CD et NA-2HP- β -CD-HPMC correspondent à des complexes de type A_L , tandis que le système NAs-2HP- β -CD-HPMC peut être classé comme un complexe de type A_N . Il a été observé que la solubilité aqueuse des complexes augmentait de manière linéaire avec des concentrations croissantes de 2HP- β -CD, probablement en raison de la formation de complexes d'inclusion via des interactions hydrophobes entre le médicament et les parois de la cavité macrocyclique de la 2HP- β -CD [21].

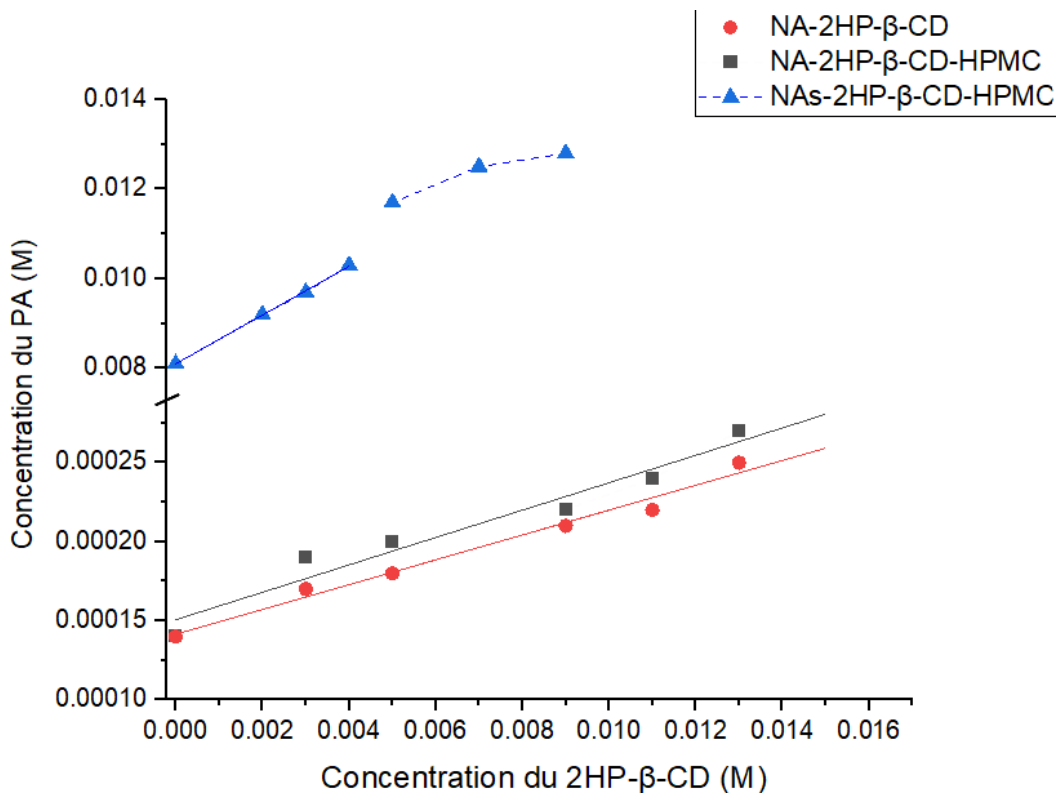


Figure 3.1. Diagrammes de solubilité de phase des systèmes binaires (NA/NAs-2HP-β-CD) et ternaires (NA/NAs-2HP-β-CD-HPMC).

Cependant, dans la plage de concentrations de 0,005 à 0,009 M de 2HP-β-CD, une déviation de la linéarité a été observée pour le complexe NAs-2HP-β-CD-HPMC. Cette déviation pourrait être associée à des modifications du diélectrique du solvant induites par le ligand, à des changements des propriétés physiques de la solution ou à l'auto-association des ligands à des concentrations élevées de cyclodextrine [15]. Cette observation indique qu'à des concentrations élevées, l'efficacité des cyclodextrines diminue [240, 241]. Par conséquent, une quantité réduite de cyclodextrine est nécessaire pour formuler le complexe NAs-2HP-β-CD-HPMC, ce qui présente des avantages économiques. Les données de solubilité de phase sont présentées dans le Tableau 3.1. Il a été rapporté que les polymères hydrophiles peuvent augmenter les constantes de stabilité (K_s) et l'efficacité de complexation (EC) du complexe, tout en améliorant la solubilité aqueuse du médicament lorsqu'ils sont utilisés à faibles concentrations [242].

Tableau 3.1. Données de solubilité de phase des systèmes binaires (NA/NAs 2HP- β -CD) et ternaires (NA/NAs-2HP- β -CD-HPMC).

Système	S ₀ (M)	Pente $\pm$ SD	K _s (M ⁻¹) $\pm$ SD	EC $\pm$ SD	R ²
NA-2HP- β -CD	0.00014	0.00786 $\pm$ 0.0004	55.29 $\pm$ 2.86	0.0079 $\pm$ 0.0004	0.98807
NA-2HP- β -CD-HPMC	0.00014	0.00868 $\pm$ 0.0007	62.54 $\pm$ 5.00	0.0087 $\pm$ 0.0007	0.96595
NAs-2HP- β -CD	0.00810	0.16155 $\pm$ 0.0209	23.79 $\pm$ 2.63	0.19 $\pm$ 0.021	0.92233
NAs-2HP- β -CD-HPMC	0.00810	0.54571 $\pm$ 0.0099	148.30 $\pm$ 1.23	1.2 $\pm$ 0.01	0.99934

Dans nos expériences, il a été observé que l'ajout d'HPMC augmentait les valeurs de K_s et d'EC pour les systèmes binaires et ternaires, avec une amélioration plus marquée pour le système NAs-2HP- β -CD-HPMC. Pour ce dernier, les valeurs de K_s et d'EC enregistrées étaient environ 6,3 fois supérieures à celles du système NAs-2HP- β -CD (Tableau 3.1).

La conversion du NA en NAs a également eu un impact significatif sur K_s et EC. L'EC a augmenté dans les systèmes binaires et ternaires, avec une amélioration de 24 fois dans le cas du système NAs-2HP- β -CD par rapport au NA-2HP- β -CD, et d'environ 140 fois pour le système NAs-2HP- β -CD-HPMC par rapport au NA-2HP- β -CD-HPMC. Cette amélioration est attribuée à la solubilité aqueuse accrue du NAs par rapport au NA, ce qui a favorisé son interaction avec la cyclodextrine et, par conséquent, amélioré l'efficacité de complexation.

Des données intéressantes ont également été obtenues concernant les valeurs de K_s. Pour le système NAs-2HP- β -CD, la valeur de K_s était 2,3 fois inférieure à celle du système NA-2HP- β -CD, indiquant que le NAs pourrait déstabiliser le complexe en solution aqueuse. Des résultats similaires ont été rapportés par Yesook et al., qui ont observé que le sel de ziprasidone réduisait la K_s apparente tout en augmentant l'EC [243]. Cependant, pour le système NAs-2HP- β -CD-HPMC, la valeur de K_s était environ trois fois supérieure à celle du système NAs-2HP- β -CD, ce qui met en évidence l'influence favorable de l'HPMC sur la stabilité des systèmes et l'efficacité de complexation du médicament. En comparant les profils de solubilité de phase, en termes de K_s et d'EC, du système NAs-2HP- β -CD-HPMC par rapport au système NA-2HP- β -CD, un effet synergique du NAs et de l'HPMC est observé. Les valeurs enregistrées pour le système NAs-2HP- β -CD-HPMC étaient environ 3 fois supérieures (K_s) et 150 fois supérieures

(EC) à celles du système NA-2HP- β -CD. Il a été rapporté que les complexes avec une K_s comprise entre 100 et 1000 M^{-1} sont plus stables et adaptés à des applications biologiques, tandis que ceux avec une K_s inférieure à 100 M^{-1} sont instables, et ceux avec une K_s supérieure à 1000 M^{-1} pourraient avoir un impact négatif sur l'absorption du médicament [244]. Sur la base de nos résultats, nous pouvons conclure que le complexe NAs-2HP- β -CD-HPMC est le plus stable, tandis que les systèmes NA/NAs-2HP- β -CD et NA-2HP- β -CD-HPMC sont instables (Tableau 3.1). Bien que ces résultats concernent l'état liquide, des études futures sont nécessaires pour évaluer la stabilité des complexes à l'état solide, ce qui constitue un facteur crucial pour évaluer leurs performances à long terme. Ces études permettront également de déterminer le comportement des complexes dans des conditions de stockage recommandées et d'établir leur durée de conservation.

3.3. Aspect macroscopique des complexes d'inclusion lyophilisée

Les complexes d'inclusion obtenus par lyophilisation se présentent sous la forme d'une poudre blanche homogène, indiquant une interaction efficace entre l'acide niflumique (ou son sel de sodium) et les excipients utilisés, notamment la 2HP- β -CD et la HPMC. Cette modification de couleur, passant du jaune caractéristique de l'acide niflumique ou de son sel à une teinte blanche, suggère une encapsulation du principe actif au sein des cavités de la cyclodextrine (Figure 3.2). Ces observations visuelles corroborent les résultats attendus pour des complexes d'inclusion correctement formés, tels que rapportés dans la littérature scientifique [245, 246].



Figure 3.2. Photographie de la poudre du complexe d'inclusion et de celle de l'acide niflumique.

3.4. Caractérisation des complexes d'inclusion

3.4.1. Quantification du PA encapsulé dans les cyclodextrines

La teneur en principe actif (%) a été calculée et donnée dans le Tableau 3.2.

Tableau 3.2. Teneur en principe actif dans les systèmes binaires (NA-2HP- β -CD) et ternaires (NA/NAs-2HP- β -CD-HPMC).

Complexe	Teneur en principe actif (%) $\pm$ SD
NA-2HP- β -CD	0.67 $\pm$ 0.03
NA-2HP- β -CD-HPMC	1.29 $\pm$ 0.04
NAs-2HP- β -CD-HPMC	12.40 $\pm$ 0.08

La valeur de la teneur en principe actif (%) des systèmes ternaires (NA/NAs-2HP- β -CD-HPMC) était supérieure à celle enregistrée pour le complexe NA-2HP- β -CD. La valeur la plus élevée a été obtenue pour le complexe NAs-2HP- β -CD-HPMC, qui était 18,5 fois supérieure à celle du complexe NA-2HP- β -CD et 9,6 fois supérieure à celle du complexe NA-2HP- β -CD-HPMC. Ces résultats confirment clairement l'efficacité du complexe ternaire à base de NAs.

3.4.2. Caractérisation par spectroscopie Infrarouge (FTIR)

La spectroscopie infrarouge est couramment utilisée pour caractériser les interactions moléculaires entre les molécules hôtes et invitées. Après la complexation, les bandes d'absorption ou les intensités de certains groupes fonctionnels peuvent changer lorsque les molécules du principe actif invité sont encapsulées dans la cavité de la cyclodextrine [54].

La Figure 3.3 présente les spectres FTIR de l'acide niflumique, de la 2HP- β -CD, de l'HPMC, et des complexes d'inclusion.

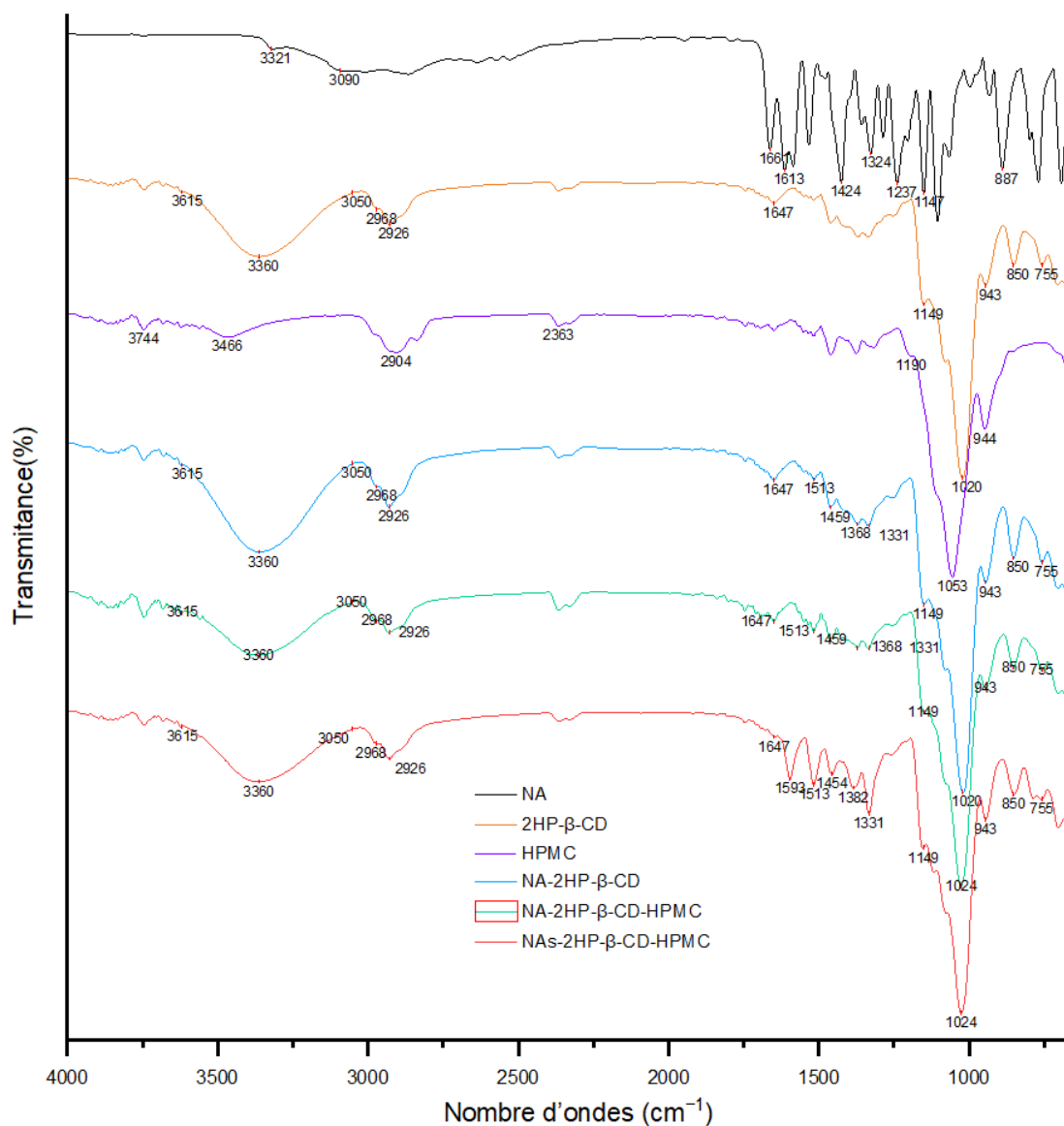


Figure 3.3. Spectres FTIR du NA, de la 2HP- β -CD, de l'HPMC, du système binaire (NA-2HP- β -CD) et ternaires (NA/NA-2HP- β -CD-HPMC).

Pour le NA, le spectre montre un pic d'absorption à 3321 cm^{-1} (vibration d'élongation N–H) et un signal large à 3090 cm^{-1} (vibration d'élongation C–H de l'anneau benzénique). Les principaux pics caractéristiques observés sont à 1661 cm^{-1} (vibration d'élongation C=O), 1613 cm^{-1} (amine primaire), 1424 cm^{-1} (vibration d'élongation O–H), 1326 cm^{-1} (signal du groupe

CF₃), 1237 cm⁻¹ et 1147 cm⁻¹ (bandes C–N aliphatiques et aromatiques), et 887 cm⁻¹ (bande C–H) [35].

L'HPMC est caractérisé par un pic principal à 1053 cm⁻¹ (vibration d'élongation C–O–C). Le spectre de la 2HP-β-CD montre une bande large entre 3050 cm⁻¹ et 3615 cm⁻¹ (vibration d'élongation O–H), des bandes à 2968 cm⁻¹ et 2926 cm⁻¹ (vibration d'élongation C–H), des pics à 1647 cm⁻¹ (déformation H–O–H) et 1149 cm⁻¹ (vibration d'élongation C–O), ainsi qu'un pic à 1020 cm⁻¹ (vibration d'élongation C–O–C). Des pics d'absorption à 943 cm⁻¹, 850 cm⁻¹ et 755 cm⁻¹ sont spécifiques aux cyclodextrines et attribués respectivement à la vibration de la chaîne principale due aux liaisons glycosidiques α-1,4, à la déformation anomérique CH et à la vibration de l'anneau pyranose [247].

Les spectres des complexes d'inclusion montrent une diminution notable de l'intensité des pics du NA, accompagnée de décalages, indiquant qu'une interaction hôte-invité a eu lieu, confirmant ainsi la formation du complexe d'inclusion à base de NA [248]. Dans les spectres des complexes à base de NA (NA-2HP-β-CD et NA-2HP-β-CD-HPMC), les pics caractéristiques du NA sont décalés à 1513 cm⁻¹, 1459 cm⁻¹, 1368 cm⁻¹, et 1331 cm⁻¹.

Le spectre du complexe NAs-2HP-β-CD-HPMC montre des changements plus significatifs, ce qui indique la formation d'un complexe plus efficace et de nature amorphe [249, 250]. Ainsi, dans le spectre du complexe NAs-2HP-β-CD-HPMC, les pics caractéristiques du NA situés à 1661, 1613, 1424, 1326 et 1237 cm⁻¹ sont décalés respectivement à 1593, 1513, 1454, 1382 et 1331 cm⁻¹.

3.4.3. Caractérisation par calorimétrie différentielle à balayage (DSC)

La calorimétrie différentielle à balayage est une méthode permettant d'enregistrer le flux de chaleur en fonction de la température pour une large gamme de matériaux, y compris, mais sans s'y limiter, les polymères. Elle fournit des informations cruciales sur les interactions à l'état solide [200, 201, 251]. Dans cette étude, la DSC a été utilisée pour examiner les interactions entre les molécules hôtes et invitées. Lorsque les molécules de médicament sont incluses dans la cavité de la cyclodextrine, leur point de fusion a tendance à se déplacer à d'autres températures ou à disparaître [252]. La Figure 3.4 présentent les courbes DSC des complexes d'inclusion étudiés ainsi que leurs composants.

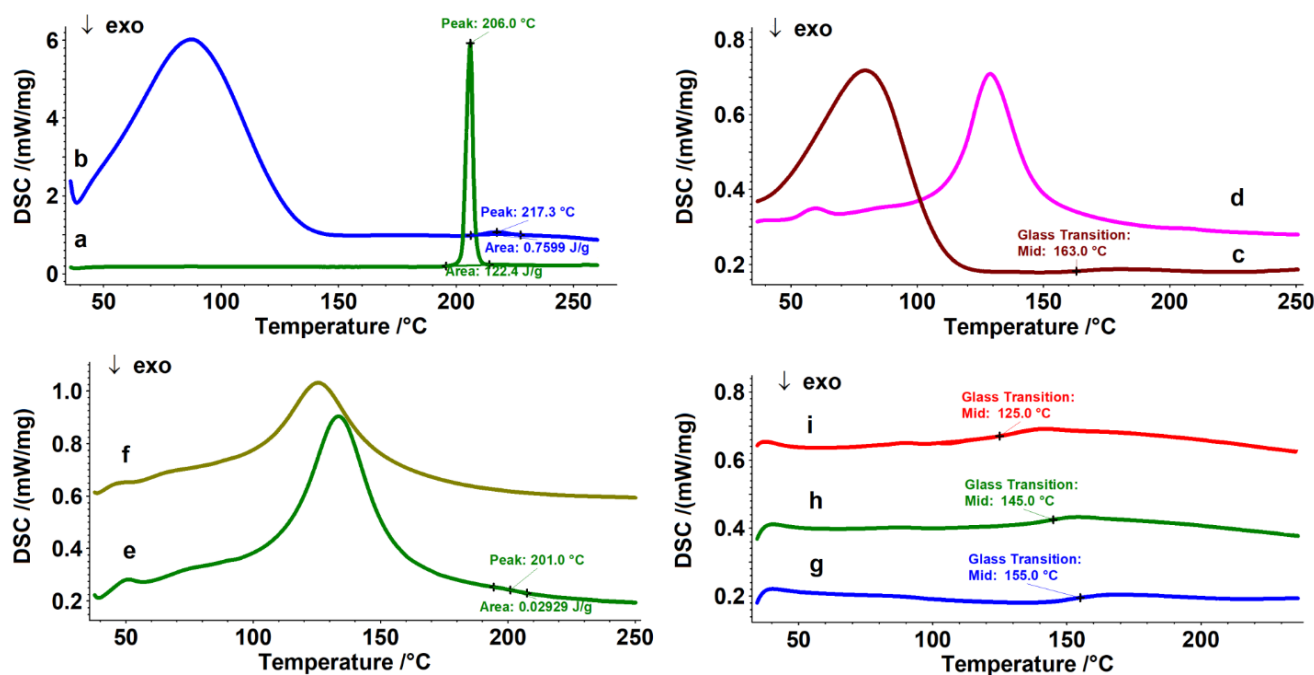


Figure 3.4. Courbes DSC de : NA (a) ; NA-2HP- β -CD (b) ; HPMC (c) (première montée en température) ; 2HP- β -CD (d) ; NA-2HP- β -CD-HPMC (e) ; NAs-2HP- β -CD-HPMC (f) ; HPMC (g) (seconde montée en température) NA-2HP- β -CD-HPMC (h) (seconde montée en température) ; et NAs-2HP- β -CD-HPMC (i) (seconde montée en température).

Les profils exothermiques larges, observés jusqu'à environ 180 °C (courbes b–f), représentent la perte d'eau physique et/ou d'eau cristallisée des molécules hôtes 2HP- β -CD et HPMC, respectivement. La molécule invitée, le NA pur, a montré un profil de fusion net et intense à 206 °C, conformément à la littérature [5], avec une valeur d'enthalpie (ΔH_{NA}) de 122,4 J g⁻¹ (courbe a).

En analysant la courbe DSC du complexe d'inclusion binaire NA-2HP- β -CD, il est évident que le profil de fusion du NA diminue significativement en intensité ($\Delta H_{\text{NA-2HP-}\beta\text{-CD}} = 0,7599 \text{ J g}^{-1}$) et se déplace vers une température plus élevée, supérieure de plus de 10 °C (217 °C) (courbe b). Cela suggère la formation d'une nouvelle phase solide amorphe par complexation [253].

Un phénomène similaire est observé pour les complexes d'inclusion ternaires NA/NAs-2HP- β -CD-HPMC, où le profil de fusion du NA disparaît presque complètement ($\Delta H_{\text{NA-2HP-}\beta\text{-CD-HPMC}}$

$CD-HPMC = 0,02929 \text{ J g}^{-1}$, $\Delta H_{NAs-2HP-\beta-CD-HPMC} = 0,02929 \text{ J g}^{-1}$), avec un déplacement à 201°C pour le complexe NA-2HP- β -CD-HPMC (courbe e), et une disparition complète pour le complexe NAs-2HP- β -CD-HPMC (courbe f). Ces observations constituent une preuve de la formation d'un complexe d'inclusion ternaire [254]. Des résultats similaires ont été rapportés par Grebogi et al. [255].

La diminution et la disparition du profil de fusion de la molécule invitée (NA, NAs) dans les complexes d'inclusion peuvent être attribuées à la protection thermique offerte par la cavité dans laquelle le PA est piégé [256-258].

La courbe c de la Figure 3.4 montre que l'HPMC pur présente une température de transition vitreuse (T_g) dans la zone des 163°C lors de la première montée en température [259]. Pour mieux mettre en évidence la T_g , une seconde montée en température a été effectuée sur toutes les structures contenant de l'HPMC afin d'éliminer tout historique thermique préalable (courbes g-i). L'HPMC pur présente une T_g à 155°C (courbe g). La T_g est une transition cohérente avec la phase amorphe, et son amplitude augmente avec une diminution de la T_g .

D'après la courbe « i », on observe que la T_g de l'HPMC dans le complexe NA-2HP- β -CD-HPMC (courbe h) a diminué de 10°C , passant de 155 à 145°C , et la courbe « i » montre une diminution significative de la T_g pour le complexe NAs-2HP- β -CD-HPMC, passant de 155 à 125°C .

3.4.4. Caractérisation par Microscopie Electronique à Balayage (MEB)

Dans cette étude, la microscopie électronique à balayage (MEB) a été utilisée pour caractériser la morphologie de surface des matériaux bruts (NA, 2HP- β -CD et HPMC) ainsi que des complexes d'inclusion basés sur NA/NAs (Figure 3.5). Bien que cette méthode seule ne permette pas de démontrer de manière concluante la formation de véritables complexes d'inclusion, les images obtenues permettent de vérifier les modifications structurelles survenues après la formation des complexes et constituent des indicateurs clés pour prédire leur formation [21]. Deux grossissements ont été utilisés pour capturer les micrographies : $250\times$, sauf pour le NA et l'HPMC, où un grossissement de $150\times$ a été utilisé pour mettre en évidence l'homogénéité des échantillons, et $5000\times$ pour souligner les détails morphologiques. Le NA pur s'est présenté sous forme de cristaux cylindriques longs et de tailles irrégulières, tandis que

les particules de 2HP- β -CD apparaissaient amorphes, sphériques et perforées. L'HPMC, quant à lui, s'est montré sous forme de fibres allongées, froissées et fines.

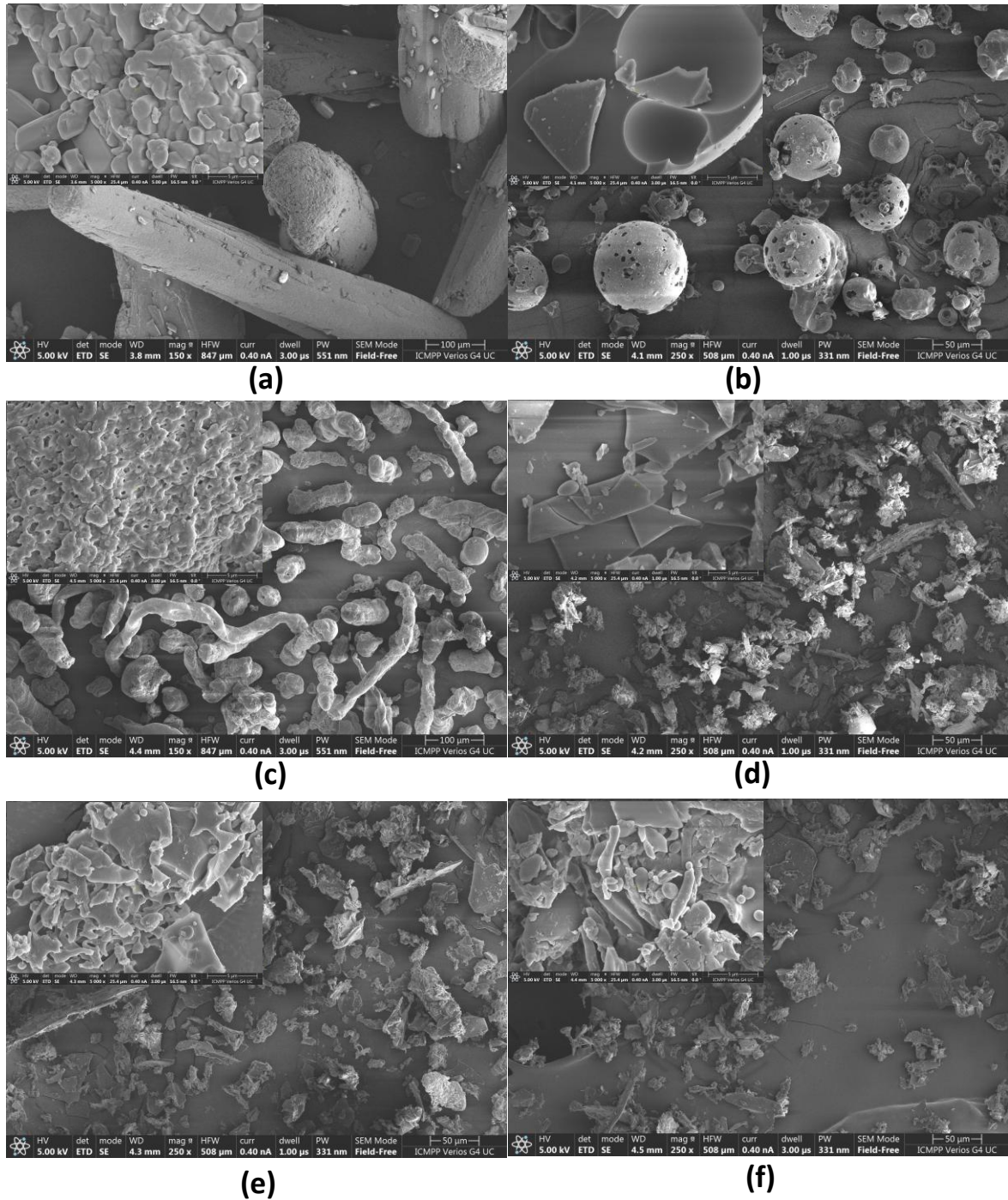


Figure 3.5. Micrographies MEB du NA (a), de la 2HP- β -CD (b), de l'HPMC (c), du NA-2HP- β -CD (d), du NA-2HP- β -CD-HPMC (e) et du NAs-2HP- β -CD-HPMC (f).

Tous les complexes d'inclusion ont révélé des changements morphologiques, présentant des structures distinctes, amorphes, irrégulières et des agglomérats massifs. Des similitudes morphologiques marquées ont été observées entre les systèmes binaires et ternaires, avec seulement des différences mineures dans les complexes ternaires. En particulier, l'HPMC a été observé comme étant adsorbé à la surface dans les micrographies à un grossissement de 5000 $\times$. Ces observations corroborent d'autres études suggérant que l'HPMC ne peut pas être inclus dans la cavité de la CD en raison d'un diamètre effectif supérieur à celui de la cavité [260]. Dans ce cas, des liaisons hydrogène intramoléculaires entre la CD et l'HPMC pourraient se former.

Ces résultats sont cohérents avec les données de diffraction des rayons X et apportent des preuves convaincantes de la formation des complexes d'inclusion.

3.4.5. Caractérisation par diffraction des rayons X (DRX)

L'analyse par diffraction des rayons X est essentielle pour confirmer la formation des complexes supramoléculaires. Elle permet de comparer les motifs de diffraction du médicament et de ses complexes ; si des complexes optimaux ont été obtenus, ces motifs doivent être clairement distincts [254].

Le NA a présenté des pics d'intensité élevée aux valeurs spécifiques de 2θ suivantes : 08.06, 12.79, 16.22, 20.72, 23.06, 25.7 et 29.26, indiquant la cristallinité du PA (Figure 3.6). Ces valeurs sont en accord avec celles rapportées par Radacsi et al. [261]. En revanche, les diffractogrammes de la 2HP- β -CD et de l'HPMC ont révélé deux halos larges, suggérant un état amorphe. Un motif similaire à celui de la 2HP- β -CD pure a également été enregistré pour les complexes d'inclusion (Figure 3.6), sans pics distincts, à l'exception du complexe binaire NA-2HP- β -CD qui montre un pic caractéristique du NA à une valeur de 2θ de 29,26°, indiquant une complexation incomplète entre le NA et la 2HP- β -CD.

Pour les complexes ternaires, l'absence de tout pic correspondant au NA a confirmé la formation d'un véritable complexe d'inclusion, ce résultat étant parfaitement cohérent avec l'analyse DSC.

Par ailleurs, une comparaison entre les motifs du NA pur et des complexes d'inclusion met en évidence l'état amorphe de ces derniers, suggérant une transformation de l'état cristallin vers l'état amorphe. Cette transformation est fortement associée à l'augmentation du taux de dissolution observée dans les complexes d'inclusion [262].

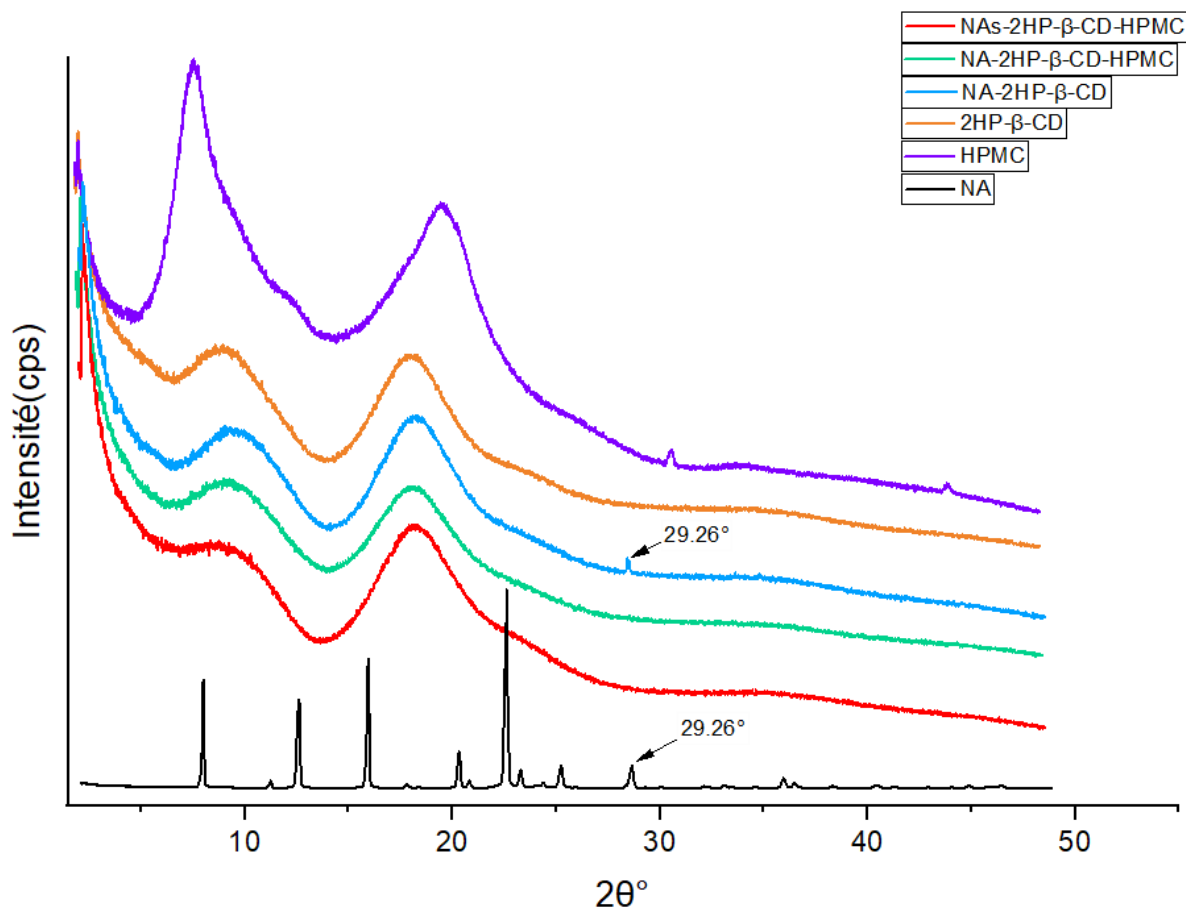


Figure 3.6. Diffractogrammes du NA, de la 2HP- β -CD, de l'HPMC, du complexe NA-2HP- β -CD, du complexe NA-2HP- β -CD-HPMC et du complexe NAs-2HP- β -CD-HPMC.

3.4.6. Caractérisation par diffusion dynamique de la lumière (DLS)

La Figure 3.7 présente les résultats de l'analyse DLS, utilisée pour déterminer la taille des complexes obtenus ainsi que celle de leurs composants, afin d'illustrer leur fonctionnalisation. Selon les histogrammes DLS, des assemblages homogènes en termes de dimensions ont été observés, accompagnés d'une augmentation notable du diamètre hydrodynamique en fonction des différentes fonctionnalisations.

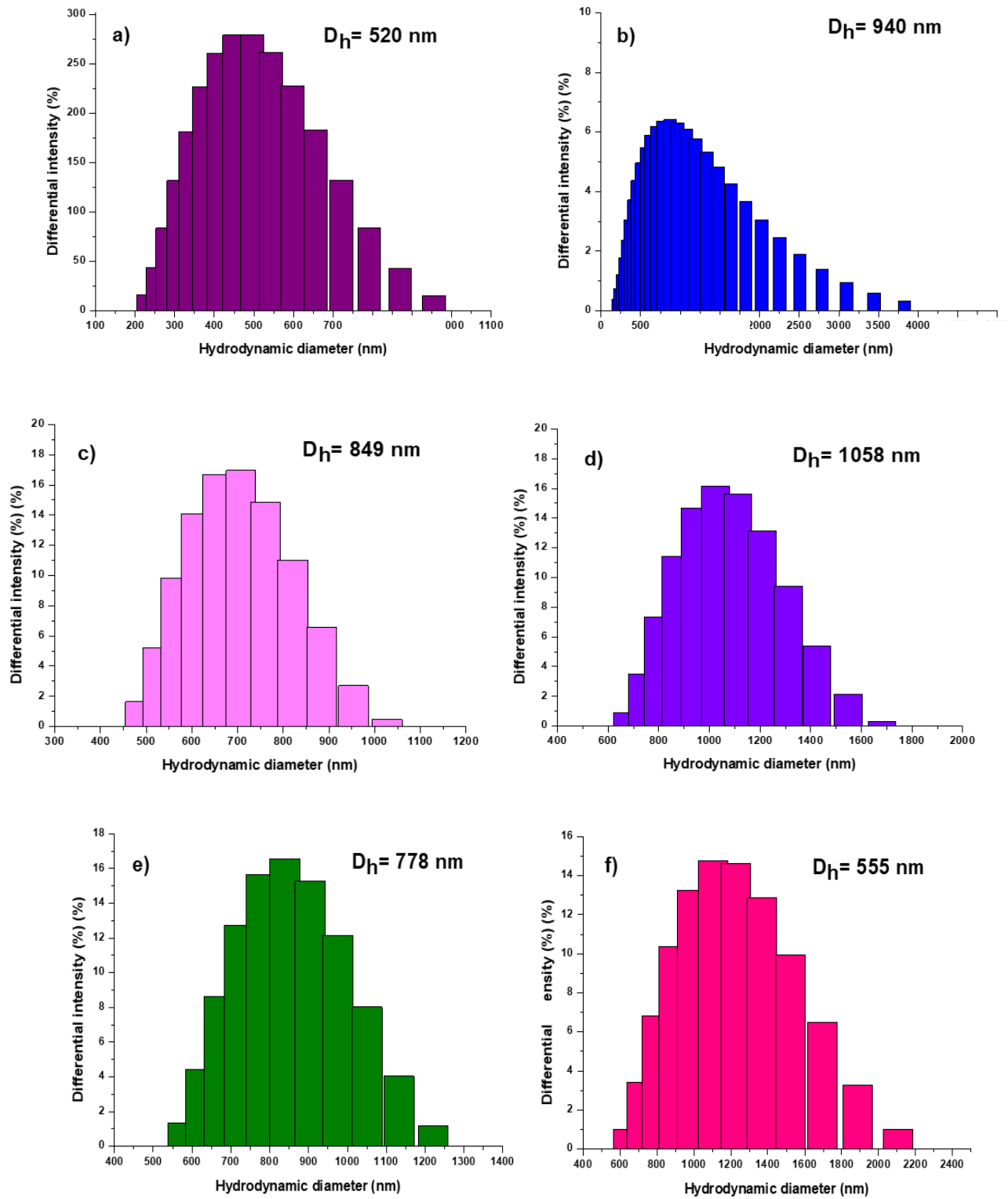


Figure 3.7. Histogrammes montrant le diamètre hydrodynamique (D_h) de : a) 2HP- β -CD, b) NA-2HP- β -CD-HPMC, c) NA-2HP- β -CD, d) NAs-2HP- β -CD-HPMC, e) NA, f) HPMC.

Le diamètre hydrodynamique de la 2HP- β -CD (Figure 3.7.a) a été initialement mesuré à 520 nm. Par la suite, le complexe NA-2HP- β -CD (Figure 3.7.c) a été synthétisé avec succès, et la fonctionnalisation a été confirmée par une augmentation significative du diamètre du complexe, qui a atteint 849 nm. Le processus de fonctionnalisation a conduit à la formation du complexe NA-2HP- β -CD-HPMC (Figure 3.7.b), avec une augmentation marquée du diamètre à 940 nm. De manière similaire, le complexe NAs-2HP- β -CD-HPMC (Figure 3.7.d) a montré une augmentation substantielle du diamètre hydrodynamique, atteignant 1058 nm. Cette augmentation indique que le PA a formé avec succès un complexe avec la structure de la 2HP- β -CD, aboutissant à un assemblage moléculaire plus grand et plus complexe.

Pour mieux contextualiser, il est important de noter que le NA pur (Figure 3.7.e) présente un diamètre de 778 nm, tandis que l'HPMC (Figure 3.7.f) a un diamètre de 555 nm. Ces données mettent en évidence le processus de fonctionnalisation par étapes, où chaque composant contribue à l'augmentation progressive du diamètre, menant finalement à la formation de complexes d'inclusion avec ces diamètres hydrodynamiques.

Une autre raison de l'augmentation du diamètre est la forte tendance à l'agglomération de la 2HP- β -CD, due à son auto-assemblage en solution aqueuse, formant des agrégats liés par des interactions intermoléculaires attribuées aux groupes OH situés sur les bords des molécules de 2HP- β -CD en forme d'anneau [263, 264].

Les complexes, classés par diamètre, sont les suivants : NAs-2HP- β -CD-HPMC > NA-2HP- β -CD-HPMC > NA-2HP- β -CD. Il est à noter que la taille des particules a augmenté de manière significative après la formation des complexes ternaires. Cette augmentation est due à la grande mobilité des complexes 2HP- β -CD en solution et à l'interaction possible des polymères non ioniques avec les surfaces externes des CD et des complexes d'inclusion, ce qui peut renforcer l'interaction entre le PA et la 2HP- β -CD en formant de grands agrégats complexes [265].

Ces résultats ont été confirmés par les micrographies MEB. Le diamètre du complexe NAs-2HP- β -CD-HPMC s'est avéré plus grand que celui des autres complexes, ce qui peut être attribué à des forces de van der Waals renforcées résultant de l'utilisation du sel de NA. Ces interactions intermoléculaires provoquent l'agrégation du complexe NAs-2HP- β -CD-HPMC en solution [263, 266].

3.4.7. Caractérisation par Spectroscopie de résonance magnétique nucléaire (^1H -RMN)

Comparées aux techniques précédemment décrites, qui ne permettent pas de distinguer de manière concluante entre la formation d'un complexe d'inclusion et les phénomènes d'adsorption, ni de déterminer la conformation structurale des molécules, la spectroscopie RMN est un outil puissant pour identifier la formation d'un complexe d'inclusion [267]. Elle fournit des preuves directes de l'inclusion d'une molécule invitée dans la cavité de la cyclodextrine. Si la molécule invitée est incluse dans la cavité, les protons H-3 et H-5 situés à l'intérieur de la cavité sont affectés par l'environnement modifié, entraînant des changements caractéristiques des déplacements chimiques observables dans le spectre ^1H -RMN [268].

Les Figures 3.8-3.12 présentent les spectres ^1H -RMN du NA, de la 2HP- β -CD et des complexes d'inclusion.

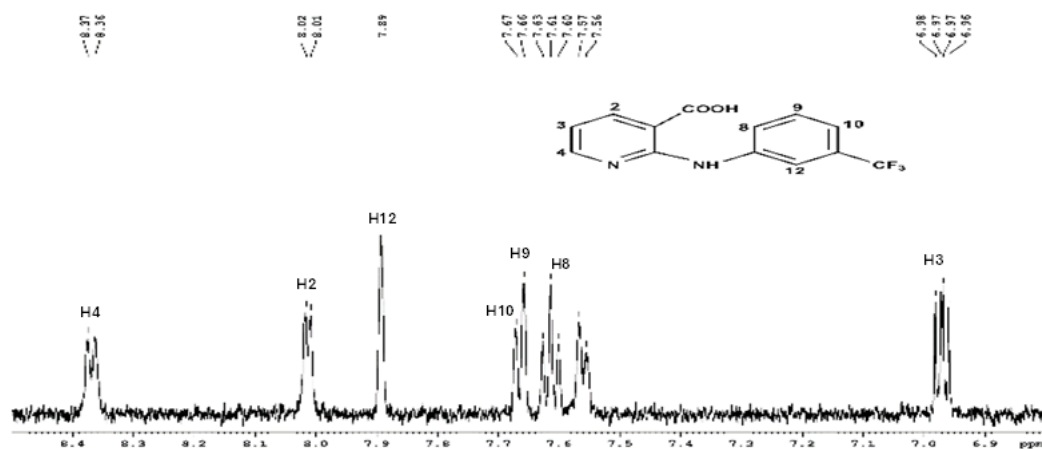


Figure 3.8. Spectres ^1H -RMN du NA.

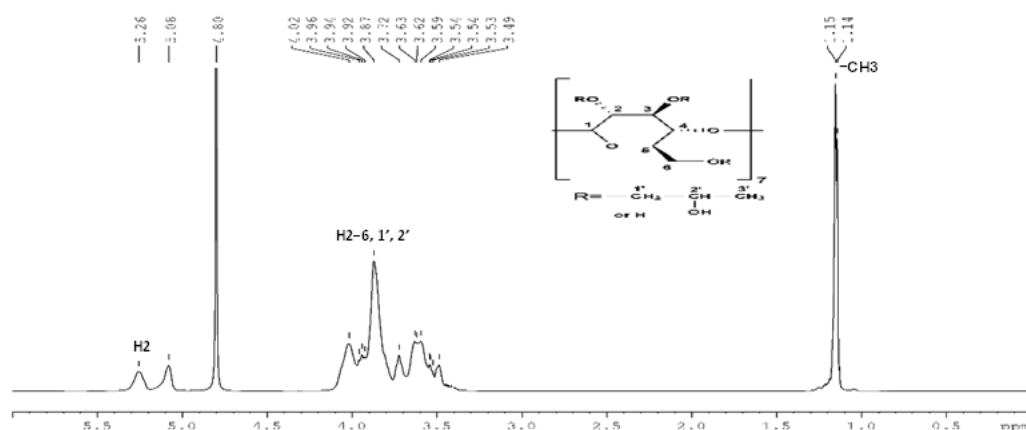
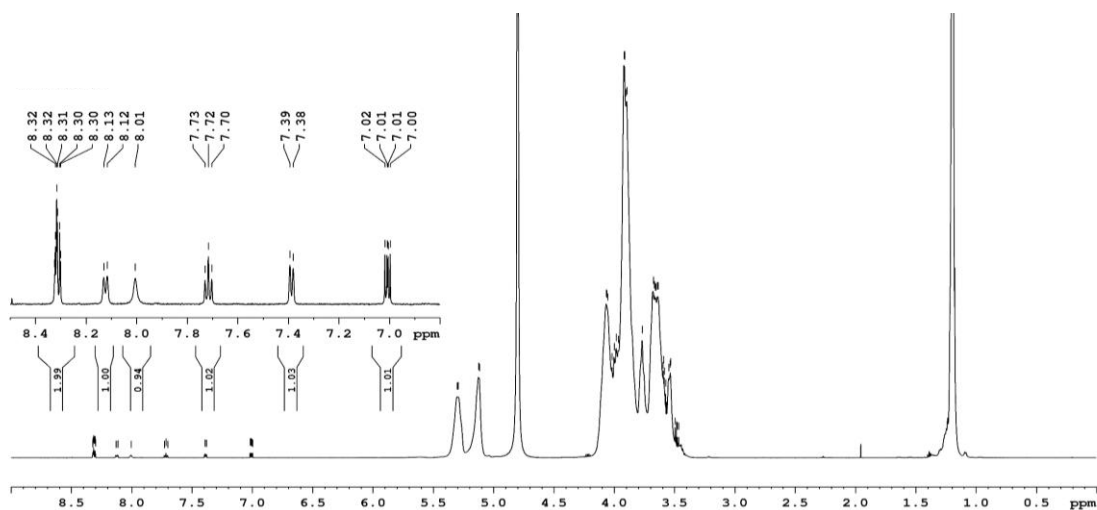
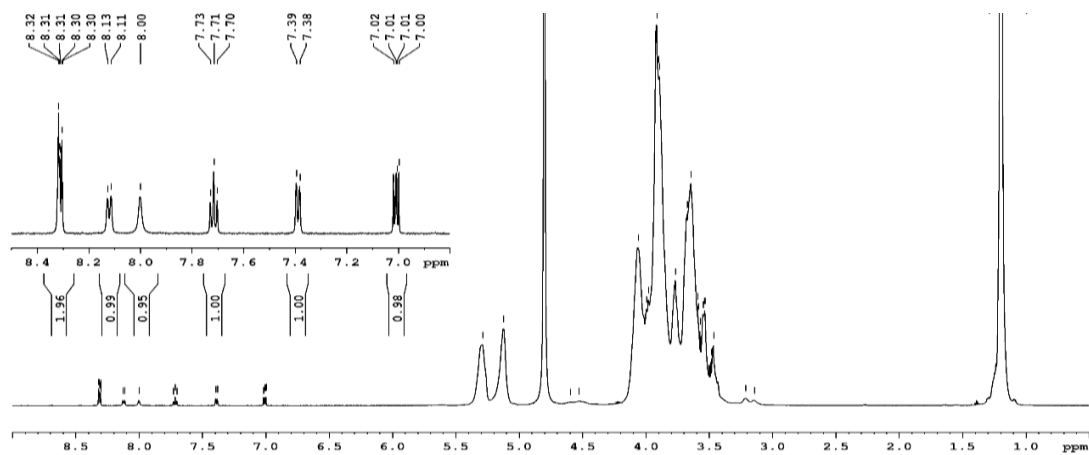
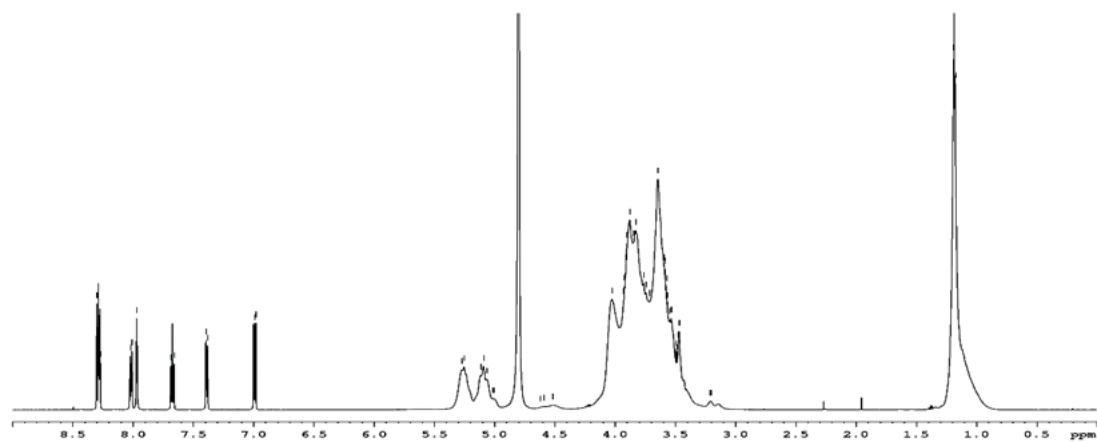


Figure 3.9. Spectres ^1H -RMN de la 2HP- β -CD.

Figure 3.10. Spectres ^1H -RMN du NA-2HP- β -CD.Figure 3.11. Spectres ^1H -RMN du NA-2HP- β -CD-HPMC.Figure 3.12. Spectres ^1H -RMN du NAs-2HP- β -CD-HPMC

L'attribution des signaux des protons pour le NA (Figure 3.8) et la 2HP- β -CD (Figure 3.9) a été réalisée sur la base de la littérature pertinente [21, 269, 270]. Ainsi, pour la 2HP- β -CD, la plupart des protons des résidus glucose et propyle résonnent dans l'intervalle de 3,48 à 4,01 ppm, avec les groupes méthyles résonnant à 1,14–1,15 ppm et les protons H1 du glucose résonnant à 5,08 et 5,26 ppm.

Le NA présente plusieurs ensembles de signaux associés à l'anneau pyridine à 6,97 ppm (H3), 8,01 ppm (H2) et 8,37 ppm (H4), ainsi qu'à l'anneau phényle à 7,56 ppm (H8), 7,61 ppm (H9), 7,66 ppm (H10) et 7,89 ppm (H12). Les spectres des complexes d'inclusion montrent les signaux des protons du NA et de la 2HP- β -CD, dont les valeurs des déplacements chimiques sont présentées dans le Tableau 3.3. Dans le cas des CD substituées, comme la 2HP- β -CD, les signaux des protons sont fortement superposés, rendant difficile l'attribution individuelle. Par conséquent, nous avons suivi les variations des déplacements chimiques des protons de la molécule invitée (Tableau 3.3).

Tableau 3.3. Données des variations de déplacements chimiques ($\Delta\delta$, ppm) des protons du NA en état libre et dans les complexes d'inclusion ($\Delta\delta = \delta_{\text{complexe}} - \delta_{\text{libre}}$).

Proton	δ (free)	δ (NA-2HP- β -CD)	$\Delta\delta$	δ (NA-2HP- β -CD-HPMC)	$\Delta\delta$	δ (NAs-2HP- β -CD-HPMC)	$\Delta\delta$
NA							
H-2	8.01	8.30–8.32	0.29–0.31	8.30–8.32	0.29–0.31	8.27–8.30	0.26–0.29
H-3	6.97	7.01	0.04	7.01	0.04	6.99	0.02
H-4	8.37	8.30–8.32	–0.07––0.05	8.30–8.32	–0.07––0.05	8.27–8.30	–0.1––0.07
H-8	7.56	7.39	–0.17	7.39	–0.17	7.39	–0.17
H-9	7.61	7.72	0.11	7.71	0.10	7.67	0.06
H-10	7.66	8.12	0.46	8.12	0.46	8.02	0.36
H-12	7.89	8.01	0.12	8.00	0.11	7.97	0.08

Pour les complexes binaires et ternaires, les protons situés sur les anneaux phényle et pyridine ont montré des variations significatives, indiquant que la molécule de NA interagit avec l'intérieur de la cavité de la 2HP- β -CD [21].

Compte tenu de la nature dynamique des interactions entre l'hôte et l'invité, ces variations suggèrent deux modes possibles d'inclusion : le premier implique l'incorporation du résidu trifluorométhylphényle dans la cavité de la 2HP- β -CD, et le second, l'inclusion de l'anneau pyridine. Ces deux modes d'inclusion sont soutenus par les pics croisés NOE visibles dans les spectres 2D ROESY (Figures 3.13-3.15).

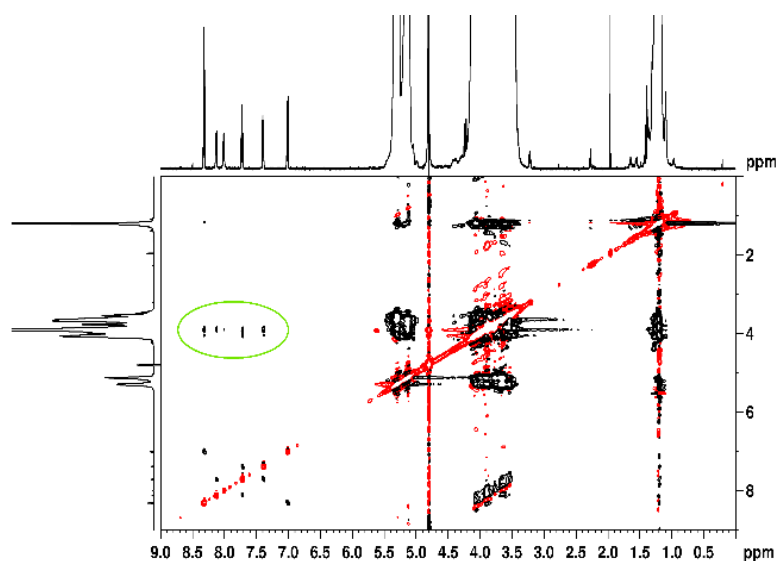


Figure 3.13. Spectres ROESY bidimensionnels du NA-2HP- β -CD.

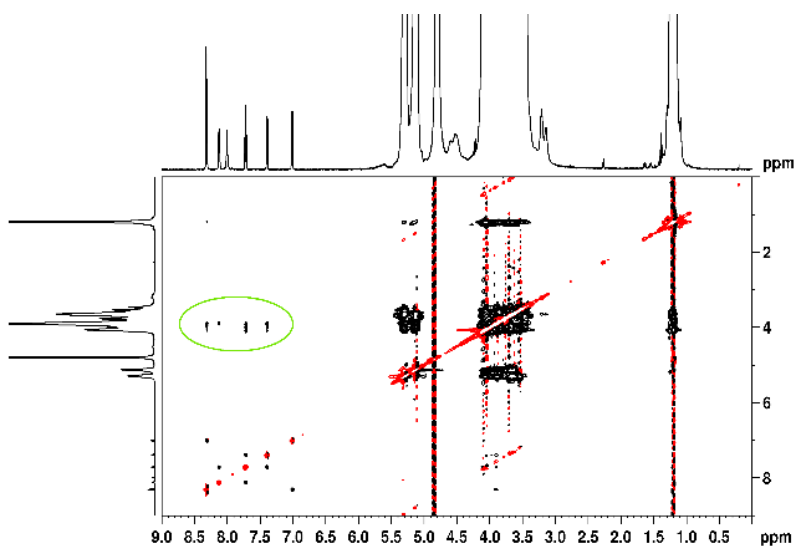


Figure 3.14. Spectres ROESY bidimensionnels du NA-2HP- β -CD-HPMC.

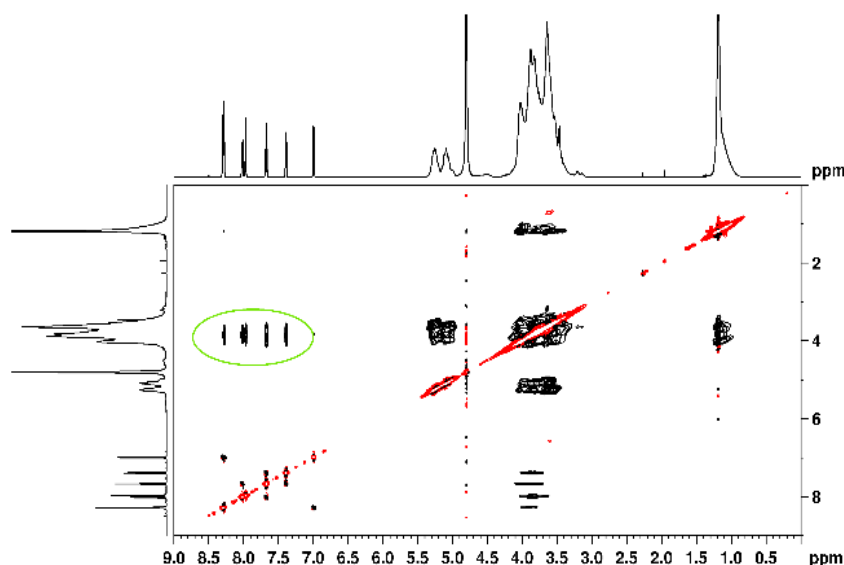


Figure 3.15. Spectres ROESY bidimensionnels du NAs-2HP- β -CD-HPMC.

Les figures mettent en évidence les interactions à travers l'espace (entourées en vert) entre les protons du NA et de la 2HP- β -CD, situés à moins de 5 Å, confirmant l'insertion de la molécule invitée dans la cavité de la 2HP- β -CD. Ces observations fournissent également des informations conformationnelles supplémentaires sur les complexes d'inclusion binaires et ternaires synthétisés [262].

Les rapports molaires des complexes d'inclusion formés ont été déterminés en analysant les intégrales relatives des protons H1 de la 2HP- β -CD et des protons H9 du NA [271]. L'analyse a révélé un rapport molaire de 1:24 entre le NA et la 2HP- β -CD pour le complexe NA-2HP- β -CD et de 1:12 pour le complexe NA-2HP- β -CD-HPMC, tandis que le complexe NAs-2HP- β -CD-HPMC a montré un rapport stœchiométrique de 1:1. Ainsi, seul le complexe NAs-2HP- β -CD-HPMC a atteint le rapport molaire hôte-invité théorique de 1:1 utilisé lors de la préparation initiale. Cela suggère que le complexe d'inclusion NAs-2HP- β -CD-HPMC est plus efficace ou plus stable [255].

Ces résultats sont cohérents avec les analyses FTIR, DSC, DRX et les valeurs de Ks et EC obtenues lors de l'étude de solubilité de phase.

3.5. Etudes de dissolution *in vitro*

Cette étude a évalué le taux de dissolution du médicament et de ses complexes dans un fluide intestinal simulé, considéré comme un paramètre clé pour comprendre sa biodisponibilité

potentielle et pour analyser l'influence des changements physico-chimiques induits par la complexation sur la dissolution [272].

La Figure 3.16 présente les profils de dissolution du NA, du NAs, des complexes d'inclusion binaires (NA-2HP- β -CD) et ternaires (NA/NAs-2HP- β -CD-HPMC).

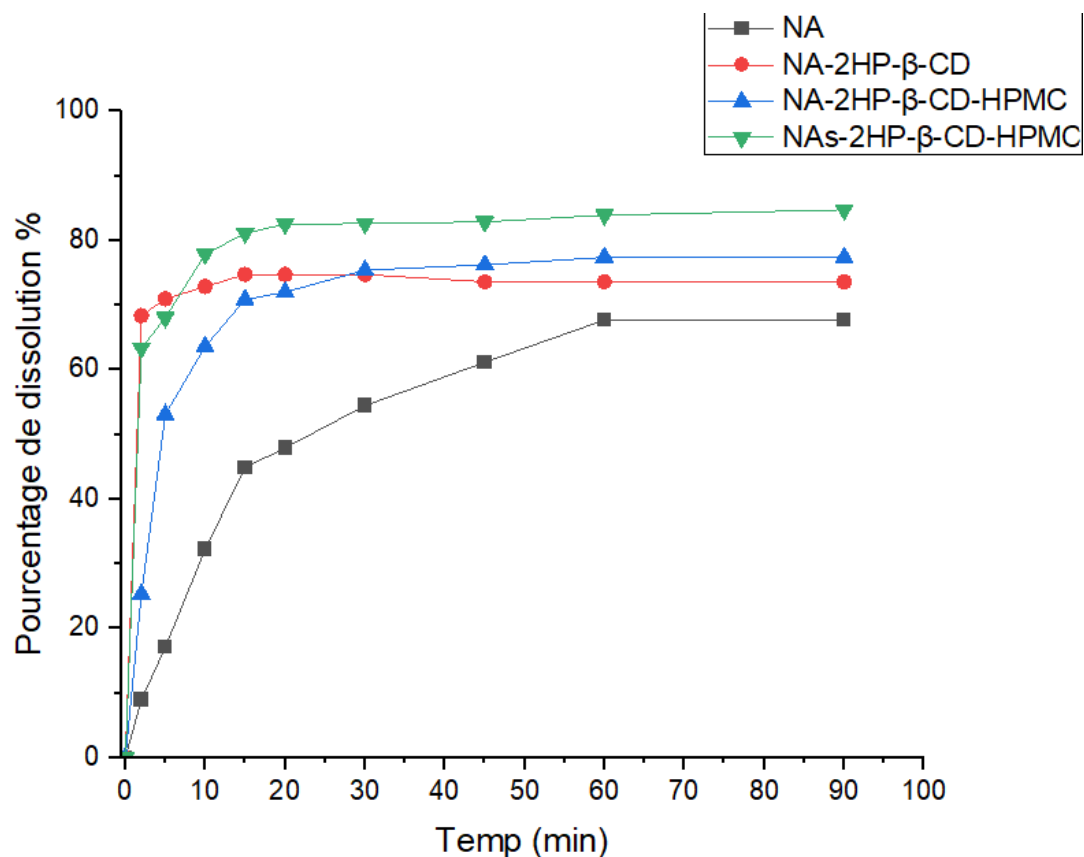


Figure 3.16. Profils de dissolution du NA, du NAs, du NA-2HP- β -CD, du NA-2HP- β -CD-HPMC et du NAs-2HP- β -CD-HPMC ($n = 3$, coefficient de variation $< 3 \%$, barres d'erreur non affichées pour plus de clarté).

Une analyse de ces profils a révélé que les complexes d'inclusion binaires et ternaires présentaient un taux de dissolution significativement plus élevé que le NA et le NAs purs. Cette augmentation du taux de dissolution est attribuée à la formation de complexes d'inclusion, confirmée par les analyses FTIR, DSC, DRX et ^1H -RMN. La complexation a induit plusieurs modifications physico-chimiques de la molécule de médicament, telles que l'amorphisation, l'amélioration des propriétés mouillantes et l'hydrophilie de la 2HP- β -CD [271, 273].

Pour les complexes d'inclusion, la libération cumulée du médicament (%) après 20 minutes était de 82,53 % pour le NAs-2HP- β -CD-HPMC, 72,02 % pour le NA-2HP- β -CD-HPMC et 74,74 % pour le NA-2HP- β -CD. Dans des conditions similaires, les taux de dissolution du NA et du NAs étaient respectivement de seulement 47,9 % et 59,14 %. Notamment, le complexe NAs-2HP- β -CD-HPMC a montré le profil de dissolution le plus élevé, probablement en raison de son efficacité de complexation élevée [274], comme en témoignent les études de solubilité de phase.

Cependant, il est important de noter que la présence d'HPMC peut introduire des facteurs supplémentaires influençant le profil de libération. Comparé au complexe binaire NA-2HP- β -CD, qui a atteint son pic de libération à 15 minutes (74,74 %), les complexes ternaires contenant de l'HPMC (NA-2HP- β -CD-HPMC et NAs-2HP- β -CD-HPMC) ont montré des taux de dissolution maximaux retardés, survenant respectivement à 60 minutes (77,39 %) et 90 minutes (84,75 %). Ce retard peut être attribué au gonflement de l'HPMC au contact du milieu de dissolution, formant une couche hydrophile qui ralentit le taux de diffusion du médicament. Cette observation est en accord avec les résultats rapportés par Soe et al. et Jug, M. et Becirevic-Lacan [275, 276].

3.5.1. Modélisation mathématique des profils de dissolution

Pour obtenir une compréhension plus complète du mécanisme de libération, plusieurs modèles mathématiques, notamment les modèles d'ordre zéro, d'ordre un, de Higuchi, de Hixson–Crowell et de Korsmeyer–Peppas, ont été ajustés aux données cinétiques. Cette étude s'est concentrée sur la première partie des courbes de libération (Figure 3.17). Les comportements différents entre les échantillons examinés ont été identifiés en analysant les coefficients de corrélation obtenus à partir des modèles mathématiques (Tableau 3.4).

Le modèle de libération le plus adapté pour ce type de système a été sélectionné parmi les modèles mathématiques présentant des coefficients de corrélation supérieurs à 0,8. En conséquence, tous les modèles mathématiques ont montré une adéquation acceptable avec les données de libération des systèmes étudiés, produisant des coefficients de corrélation compris entre 0,88 et 0,99, à l'exception du système NA-2HP- β -CD-HPMC, qui a présenté les coefficients de corrélation les plus faibles, compris entre 0,67 et 0,90 pour tous les modèles appliqués.

Parmi les modèles examinés, les modèles de Higuchi (Figure 3.17.c) et de Korsmeyer–Peppas (Figure 3.17.e) ont montré les meilleurs ajustements avec les coefficients de corrélation les plus élevés.

Tableau 3.4. Données issues de l'application de différents modèles mathématiques pour l'analyse des cinétiques de libération du principe actif.

Echantillon	Ordre-Zero		Ordre-1		Higuchi		Hixson–Crowell		Korsmeyer–Peppas		
	R^2	K_0	R^2	K_t	R^2	K_H	R^2	k	R^2	k	n
NA	0.96	2.28	0.88	-0.09	0.98	13.71	0.97	-0.045	0.98	0.06	0.705
NAs	0.94	0.27	0.93	-0.005	0.98	1.55	0.94	-0.007	0.99	0.52	0.041
NA-2HP- β -CD	0.89	0.35	0.88	-0.005	0.96	2.16	0.90	-0.013	0.99	0.66	0.041
NA-2HP- β -CD-HPMC	0.77	2.31	0.67	-0.05	0.87	14.64	0.83	-0.060	0.90	0.21	0.446
NAs-2HP- β -CD-HPMC	0.90	1.10	0.89	-0.01	0.96	6.74	0.93	-0.042	0.97	0.57	0.124

Où R^2 est le coefficient de corrélation, K est la constante de proportionnalité, et n est l'exposant de libération.

En traçant le logarithme du pourcentage cumulatif de médicament libéré en fonction du logarithme du temps, il a été possible de déterminer l'exposant de libération (n), utilisé pour étudier le mécanisme de libération. Les valeurs obtenues pour cet exposant, présentées dans le Tableau 3.4, montrent que les systèmes NA et NA-2HP- β -CD-HPMC présentent un mécanisme de diffusion non fickien, avec des valeurs d'exposant comprises entre 0,43 et 0,85. En revanche, les systèmes NAs, NA-2HP- β -CD et NAs-2HP- β -CD-HPMC suivent un mécanisme de diffusion fickien, avec des valeurs d'exposant inférieures à 0,43 [238].

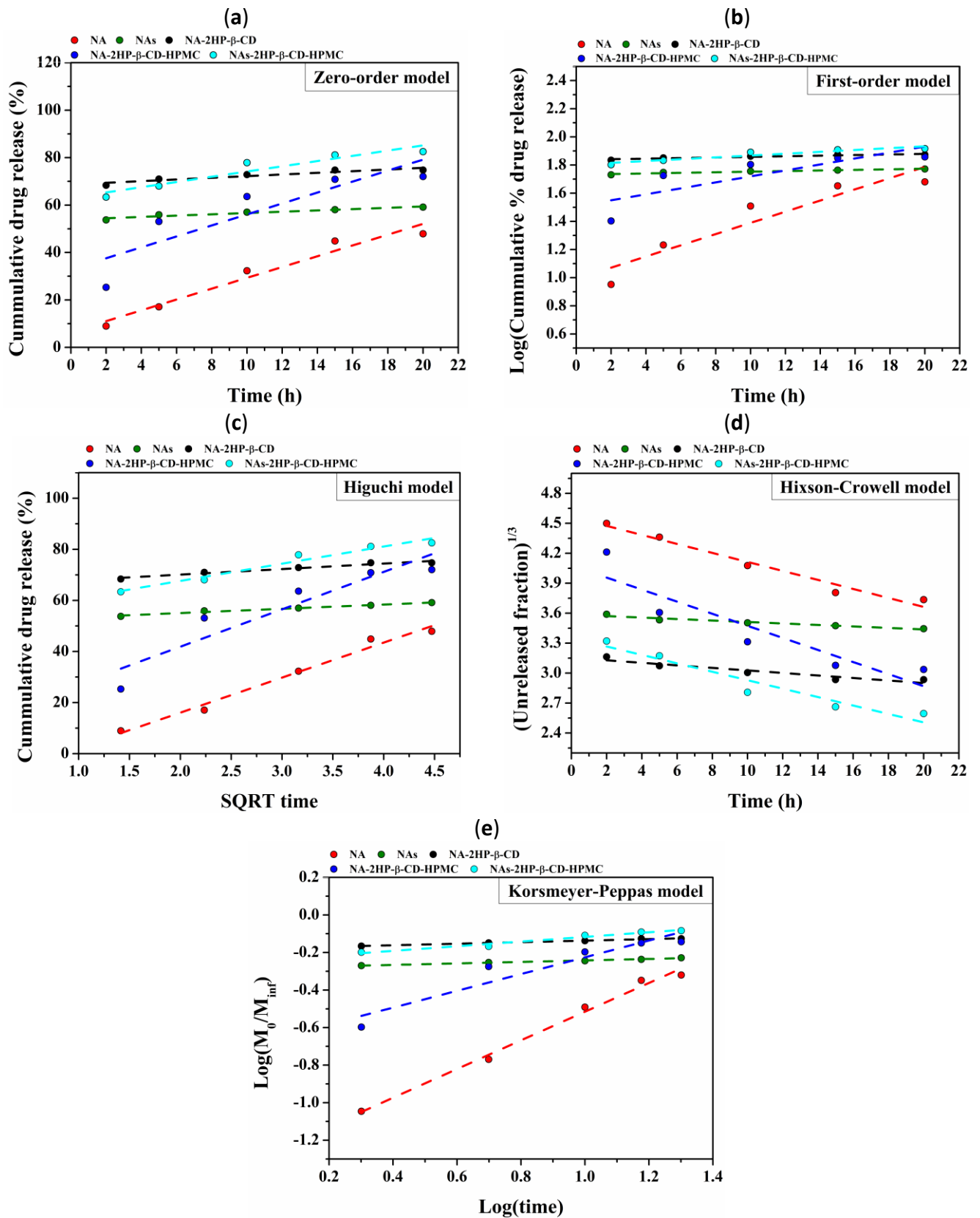


Figure 3.17. Application des modèles mathématiques : modèle d'ordre zéro (a), ordre un (b), Higuchi (c), Hixson–Crowell (d) et Korsmeyer–Peppas (e).

Par ailleurs, la constante de libération (k) permet d'évaluer le taux de libération du médicament. Sa valeur est directement proportionnelle à la constante de diffusion : des valeurs faibles suggèrent un taux de libération plus lent, tandis que des valeurs élevées indiquent un taux de libération plus rapide [277]. Dans cette étude, le taux de libération le plus lent a été observé pour le système NA, qui présentait la valeur la plus faible de constante de libération. Les autres systèmes ont montré des valeurs similaires, avec le taux de libération le plus rapide pour le système NA-2HP- β -CD, suivi de près par les systèmes NAs-2HP- β -CD-HPMC et NAs.

Les modèles de Higuchi et de Korsmeyer–Peppas se sont révélés être les plus appropriés pour ce type de système, sur la base de l'analyse des cinétiques de libération appliquées aux modèles mathématiques. Les résultats de cette étude confirment que le mécanisme de libération du médicament dépend à la fois de la nature du médicament encapsulé et des composants utilisés dans la composition finale du système.

3.6. Tests biologiques *in vitro*

3.6.1. Évaluation de l'activité anti-inflammatoire *in vitro* (dénaturation de l'albumine d'œuf)

Cette étude a évalué le potentiel anti-inflammatoire de l'acide niflumique et du complexe d'inclusion optimisée « NAs-2HP- β -CD-HPMC ». L'activité anti-inflammatoire a été testée *in vitro* à l'aide d'un test biologique basé sur la dénaturation thermique de l'albumine de blanc d'œuf. Ce test est largement utilisé, validé, sensible, rapide et constitue une méthode fiable pour l'évaluation *in vitro* de l'activité anti-inflammatoire des échantillons [278]. Les activités anti-inflammatoires *in vitro* de l'acide niflumique et du complexe d'inclusion « NAs-2HP- β -CD-HPMC » sont illustrées dans la Figure 3.18.

Lors de la comparaison de l'activité inhibitrice des deux échantillons, il apparaît que le complexe d'inclusion « NAs-2HP- β -CD-HPMC » présente une activité anti-inflammatoire supérieure à celle de l'acide niflumique pur, avec des taux d'inhibition de 44 et 22 %, respectivement. Ces résultats indiquent que la formation du complexe d'inclusion a permis de doubler l'effet anti-inflammatoire de l'acide niflumique, le rapprochant ainsi de celui du diclofénac, utilisé comme référence et présentant un pourcentage d'inhibition de 51,76 %.

Ces observations suggèrent que la complexation de l'acide niflumique avec les cyclodextrines a significativement renforcé son activité anti-inflammatoire, d'autant plus que

l'acide niflumique, sous sa forme libre et complexée, a été testé à une concentration identique de 2 mg/mL. Des résultats similaires ont été rapportés par da Silva Júnior et al.[279].

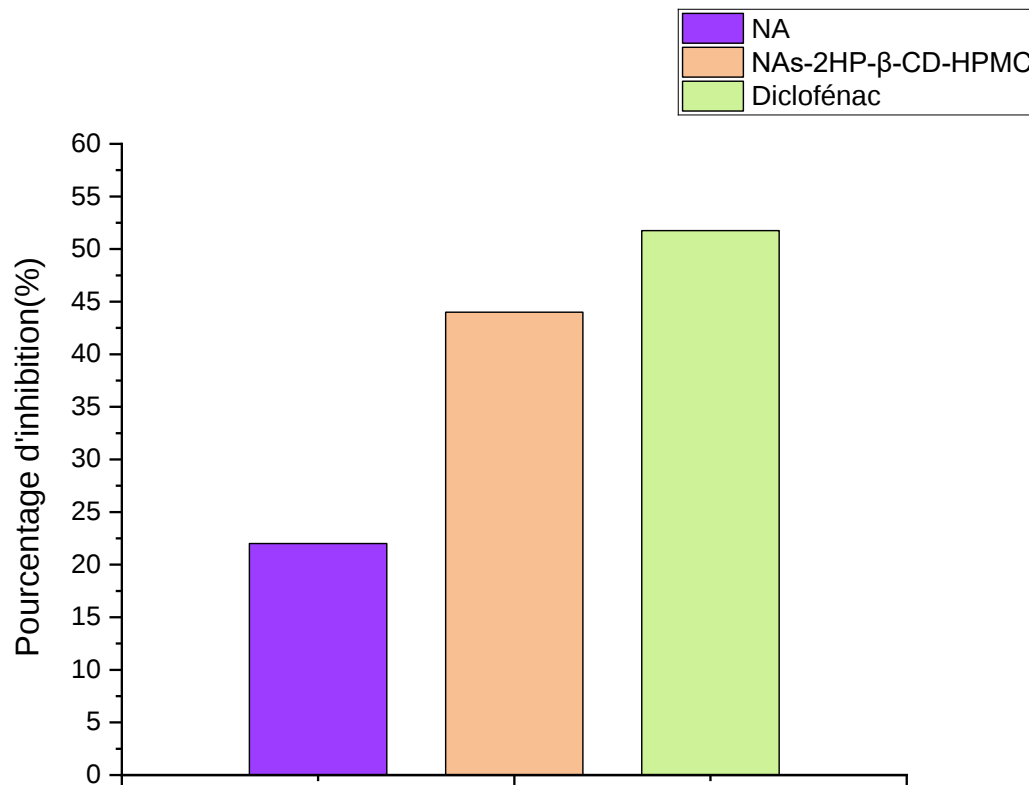


Figure 3.18. Pourcentage d'inhibition de la dénaturation de l'albumine pour le NA, NAs-2HP-β-CD-HPMC et le Diclofénac.

3.6.2. Évaluation de l'activité anti-oxydante *in vitro*

L'évaluation du potentiel antioxydant de l'acide niflumique et de son complexe d'inclusion « NAs-2HP-β-CD-HPMC » a été réalisée à l'aide de trois tests *in vitro* complémentaires (Test de piégeage des radicaux libres (DPPH), Test de de piégeage des radicaux libres (ABTS+), Test de piégeage des radicaux hydroxyles (HRS)). Ces tests permettent d'analyser la capacité des échantillons à neutraliser différentes espèces réactives de l'oxygène et à prévenir le stress oxydatif.

La Figure 3.19 illustre la comparaison des résultats obtenus pour ces trois tests, exprimés en pourcentage de piégeage, afin de déterminer l'impact de la complexation sur l'activité antioxydante de l'acide niflumique.

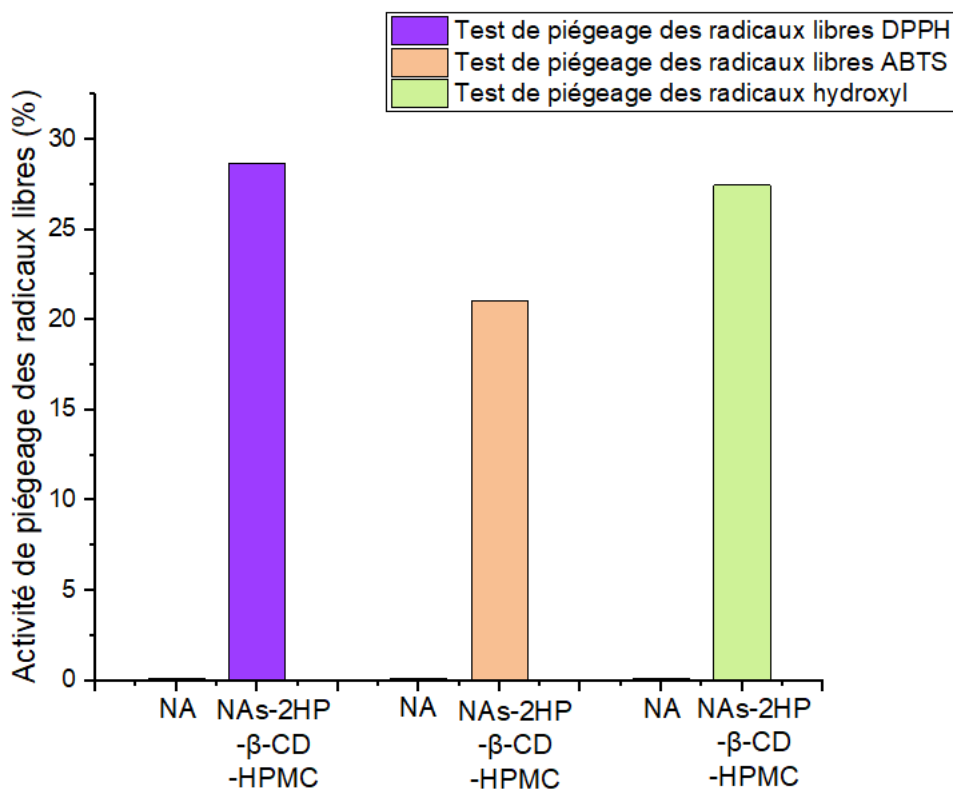


Figure 3.19. Evaluation de l'activité antioxydante de l'AN et du complexe NAs-2HP-β-CD-HPMC par trois techniques (DPPH, ABTS⁺, HRS).

Les valeurs moyennes des activités de piégeage des radicaux libres DPPH, ABTS⁺ et hydroxyles ont été respectivement de 28,69, 21,07 et 27,45 % pour le complexe d'inclusion « NAs-2HP-β-CD-HPMC », tandis que l'acide niflumique sous sa forme pure (NA) n'a montré aucune activité antioxydante (0 %). Ces résultats indiquent que l'acide niflumique seul ne possède pas d'activité antioxydante significative. Cependant, la formation du complexe d'inclusion ternaire a permis d'améliorer sa capacité antioxydante dans une certaine mesure. Il est bien établi que l'aptitude d'un composé à piéger les radicaux libres est étroitement liée à sa capacité à donner des atomes d'hydrogène. Ainsi, l'augmentation de l'activité antioxydante observée après complexation pourrait être attribuée à une modification de cette capacité de donation d'hydrogène induite par l'interaction avec les cyclodextrines [280]. De plus, l'amélioration de la solubilité de l'acide niflumique sous forme complexée pourrait également expliquer l'augmentation de son activité antioxydante. En effet, une meilleure solubilité favorise

une meilleure dispersion du principe actif, optimisant ainsi ses interactions avec les radicaux libres et renforçant son potentiel antioxydant.

Par ailleurs, il est important de noter que cette augmentation de l'activité antioxydante pourrait également influencer indirectement l'effet anti-inflammatoire du complexe. En neutralisant les radicaux libres impliqués dans l'activation des voies inflammatoires, le complexe pourrait prévenir et réduire l'inflammation par un mécanisme indirect, bien que son action ne repose pas nécessairement sur l'inhibition directe des enzymes pro-inflammatoires comme les AINS classiques [281].

3.6.3. Essai d'hémocompatibilité *in vitro*

L'évaluation de l'hémocompatibilité de l'acide niflumique et de son complexe d'inclusion « NAs-2HP- β -CD-HPMC » a été réalisée à différentes concentrations, ce paramètre étant essentiel pour une potentielle application *in vivo* [282]. L'activité hémolytique a été analysée afin d'anticiper les risques d'hémolyse, de thrombose et d'embolie [283]. La Figure ci-dessous présente les résultats de ce test :

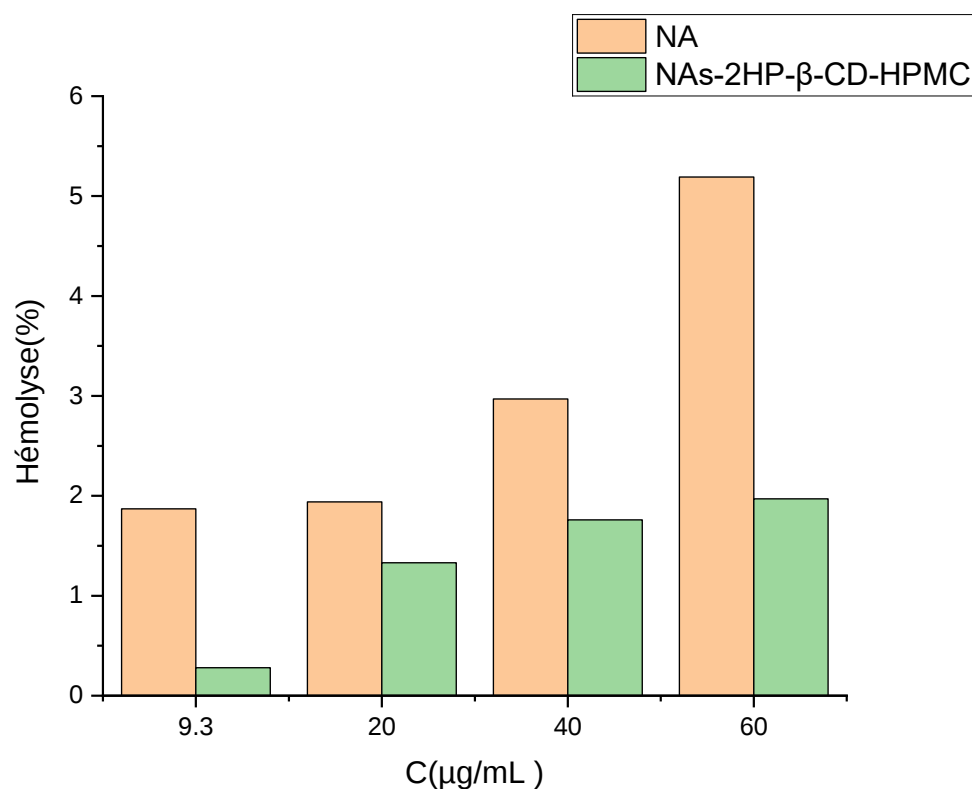


Figure 3.20. Pourcentages d'hémolyse du NA et du complexe d'inclusion « NAs-2HP- β -CD-HPMC ».

La Figure 3.20, montrent un taux d'hémolyse inférieur à 2 % pour le complexe d'inclusion à toutes les concentrations testées, confirmant ainsi son excellente compatibilité sanguine. Concernant l'acide niflumique pur, les taux d'hémolyse enregistrés sont inférieurs à 3 % pour les concentrations de 9.2, 20 et 40 $\mu\text{g/mL}$, indiquant une bonne hémocompatibilité. Toutefois, à 60 $\mu\text{g/mL}$, le taux d'hémolyse dépasse le seuil critique de 5 %, rendant le NA à cette concentration non hémocompatible selon la norme ISO 10993 (<5 %) [284].

Par ailleurs, il est notable que le complexe d'inclusion présente des taux d'hémolyse systématiquement plus faibles que ceux de l'acide niflumique seul, suggérant que la formation du complexe ternaire avec la cyclodextrine et l'HPMC a permis d'améliorer l'hémocompatibilité du principe actif. Cette réduction de l'hémolyse peut être attribuée à une meilleure solubilisation du NA et à une diminution de son interaction directe avec les membranes érythrocytaires, réduisant ainsi sa toxicité potentielle pour les globules rouges.

3.6.4. Etude de stabilité sérique

La stabilité sérique constitue un paramètre fondamental pour l'évaluation des dispositifs de délivrance médicamenteuse, notamment dans le cadre des recherches précliniques visant à étudier les interactions protéiques des complexes d'inclusion [215]. Pour cette étude, la diffusion dynamique de la lumière a été utilisée afin de mesurer les variations temporelles de la taille des particules de l'acide niflumique et du complexe d'inclusion « NAs-2HP- β -CD-HPMC » après incubation avec 10 % de sérum fœtal bovin.

Les résultats, présentés dans la Figure 3.21, montrent que la taille des particules du complexe d'inclusion « NAs-2HP- β -CD-HPMC » est restée stable au cours des 6 heures d'incubation, sans variations significatives des valeurs de la taille. En revanche, l'acide niflumique pur a montré une augmentation progressive de la taille des particules au fil du temps, suggérant une interaction plus importante avec les protéines sériques et une moindre stabilité. Cette différence de comportement peut être attribuée à la formation de couches de polyelectrolytes induites par la 2HP- β -CD dans le complexe d'inclusion. Ces couches polyelectrolytiques génèrent des forces de répulsion qui limitent les interactions avec les protéines présentes dans le sérum, empêchant ainsi l'opsonisation et l'élimination rapide du complexe par le système du réticulum endoplasmique rugueux [285].

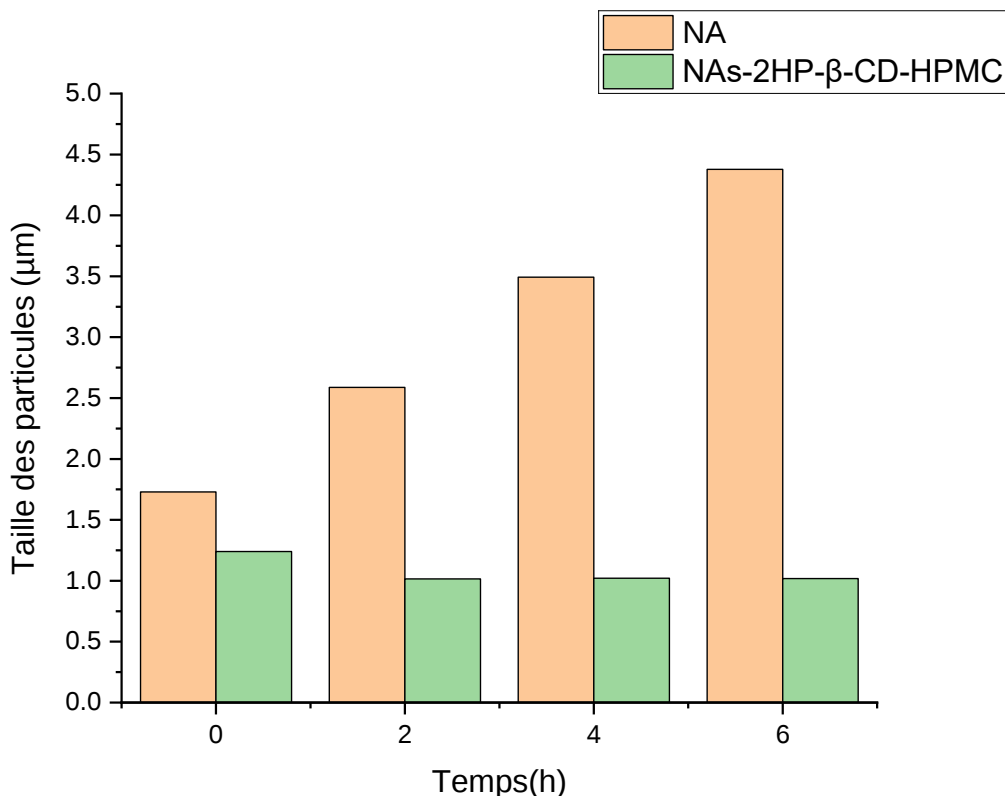


Figure 3.21. Stabilité sérique de NA et du « NAs-2HP-β-CD-HPMC » au cours du temps.

3.7. Formulation et caractérisation d'hydrogels

3.7.1. Aspect macroscopique des hydrogels

L'aspect macroscopique des hydrogels formulés à base d'acide niflumique et de son complexe d'inclusion « NAs-2HP-β-CD-HPMC » est présenté dans la Figure 3.22. L'observation visuelle révèle une différence notable entre les deux formulations. L'hydrogel contenant l'acide niflumique pur apparaît plus translucide, tandis que celui du complexe d'inclusion présente une coloration blanche, attribuée à la présence de 2HP-β-CD et de HPMC.

Concernant la texture, l'hydrogel du complexe d'inclusion se distingue par une consistance plus dense et une viscosité accrue par rapport à l'hydrogel de l'acide niflumique seul. Cette augmentation de la viscosité est directement liée à la présence des excipients 2HP-β-CD et HPMC, qui influencent la structure du réseau polymérique de l'hydrogel. Ces résultats seront corroborés par des analyses de densité et de viscosité, présentées dans les sections suivantes.

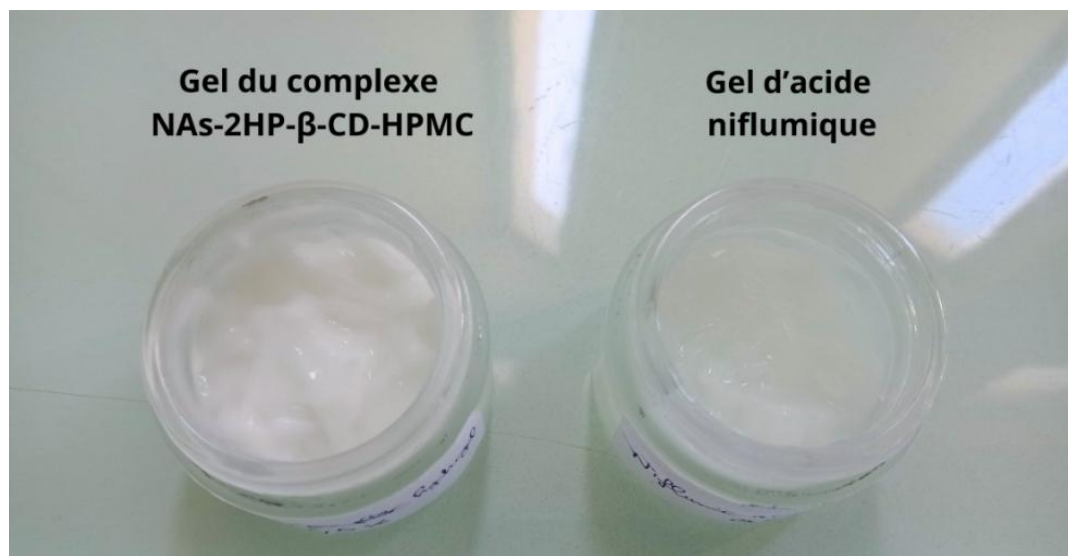


Figure 3.22. Aspect macroscopique de l'hydrogel d'acide niflumique et de l'hydrogel du complexe NAs-2HP- β -CD-HPMC.

3.7.2. Quantification du principe actif dans les hydrogels

La quantification du PA dans les formulations transdermiques est un paramètre clé pour garantir une libération efficace du médicament à travers la peau [286]. Dans cette étude, la teneur en PA des hydrogels formulés à base d'acide niflumique et du complexe d'inclusion « NAs-2HP- β -CD-HPMC » a été respectivement de 88,84 et 99,84 % (Tableau 3.5).

L'hydrogel du complexe d'inclusion a présenté une teneur en PA nettement supérieure à celle de l'hydrogel d'acide niflumique, qui a subi une perte de 11,16 %.

En revanche, l'hydrogel de « NAs-2HP- β -CD-HPMC » n'a montré qu'une perte négligeable du PA (0,16 %), indiquant une répartition homogène du médicament au sein de la matrice de l'hydrogel. Cette uniformité est un critère essentiel pour assurer une efficacité thérapeutique optimale et réduire la variabilité dans l'administration du médicament. Cette amélioration est directement liée à la formation du complexe d'inclusion ternaire, qui a permis d'augmenter la solubilité de l'acide niflumique et d'améliorer son intégration dans le réseau polymérique de l'hydrogel.

Tableau 3.5. Quantités et les teneurs en PA dans l'hydrogel de NA et l'hydrogel du complexe « NAs-2HP- β -CD-HPMC ».

Hydrogel	Quantité initiale de PA (mg)	Quantité de PA dans l'hydrogel (mg)	Teneur en principe actif (%)
Hydrogel de NA	2.5	2.221	88.84
Hydrogel de « NAs-2HP- β -CD-HPMC »	2.5	2.496	99.84

3.7.3. Mesure du pH des hydrogels

Dans cette étude, les valeurs de pH des hydrogels formulés à base d'acide niflumique et du complexe d'inclusion « NAs-2HP- β -CD-HPMC » ont été respectivement de 5,08 et 5,86. Etant donné que le pH physiologique de la peau est d'environ 5,6 [287], les deux hydrogels présentent un pH compatible avec une application cutanée, celui du complexe d'inclusion se rapproche davantage du pH physiologique de la peau. Ainsi, l'hydrogel "NAs-2HP- β -CD-HPMC" apparaît comme le plus approprié, tout en maintenant les deux formulations adaptées à un usage cutané et en minimisant le risque potentiel d'irritation.

3.7.4. Mesure de la viscosité des hydrogels

La viscosité est un paramètre physique fondamental qui reflète la consistance des préparations topiques et influence directement le taux de libération du principe actif. Une viscosité élevée résulte d'un enchevêtrement important des polymères, augmentant ainsi la résistance à la déformation et conduisant à une structure plus rigide [288].

Dans cette étude, l'hydrogel du complexe « NAs-2HP- β -CD-HPMC » a présenté la viscosité la plus élevée, avec une valeur de 7800 Pa.s, attribuable à la présence de 2HP- β -CD et HPMC, qui renforcent la réticulation et la cohésion du réseau polymérique. En comparaison, l'hydrogel de l'acide niflumique pur a montré une viscosité plus faible de 6580 Pa.s, suggérant une structure moins dense et un réseau polymérique moins structuré. Ces valeurs sont cohérentes avec celles rapportées pour les hydrogels à base de carbopol [229], confirmant ainsi leur comportement rhéologique typique et leur aptitude à être utilisés comme systèmes d'administration topique optimisés.

3.7.5. Test d'étalement des hydrogels

L'étalement est une propriété essentielle des formulations topiques, influençant directement l'adhésion du patient au traitement. En effet, un gel est d'autant plus confortable à appliquer sur la peau qu'il s'étale facilement. Pour cette étude, la méthode des plaques parallèles a été utilisée en raison de sa simplicité, de son coût abordable et de la rapidité des résultats obtenus [222]. L'étalement a été évalué à partir du diamètre de la zone d'étalement (d) de chaque hydrogel, permettant ainsi le calcul des surfaces d'étalement (S_i) (Tableau 3.6).

Les résultats montrent que la S_i de l'hydrogel de l'acide niflumique est de 1808,64 mm², tandis que celle de l'hydrogel du complexe d'inclusion « NAs-2HP- β -CD-HPMC » est de 1384,74 mm². Cette différence indique que l'hydrogel de NA pur possède une meilleure capacité d'étalement comparé au gel du complexe d'inclusion. La diminution de l'étalement observée dans l'hydrogel « NAs-2HP- β -CD-HPMC » pourrait être attribuée à la présence de 2HP- β -CD et d'HPMC, qui modifient les propriétés rhéologiques du gel en augmentant sa viscosité. Des résultats similaires ont été rapportés par Abou-Okeil et al., qui ont observé que l'hydrogel de lidocaïne complexé avec la β -CD présente une capacité d'étalement inférieure à celle du gel de lidocaïne pure [289].

Tableau 3.6. Les d et les S_i de l'hydrogel de NA et de l'hydrogel du complexe « NAs-2HP- β -CD-HPMC ».

Hydrogel	Diamètre de la zone d'étalement (mm)	Surface d'étalement (mm ²)
Hydrogel de NA	48	1808,64
Hydrogel de « NAs-2HP- β -CD-HPMC »	42	1384,74

3.7.6. Mesure de la densité des hydrogels

Les résultats montrent que l'hydrogel du complexe d'inclusion « NAs-2HP- β -CD-HPMC » (1.035 g/cm³) présente une densité légèrement plus élevée que celui de l'acide niflumique pur (1.025 g/cm³), ces deux valeurs restant supérieures à celle de l'eau distillée (0.997 g/cm³). Cette proximité avec la densité de l'eau s'explique par la forte teneur en eau de

ces hydrogels, bien que leur densité puisse varier en fonction des polymères utilisés dans leur formulation. Cependant, elle peut légèrement varier en fonction des polymères utilisés, qui influencent la structuration du réseau hydrogel.

Cette augmentation de densité peut être attribuée à la présence de 2HP- β -CD et d'HPMC, qui renforcent la structuration du réseau polymérique et favorisent une meilleure rétention d'eau. Une densité plus élevée suggère également une viscosité accrue, comme confirmé dans la section (2.7.4), ce qui pourrait influencer la consistance et l'adhérence du gel sur la peau. Ces résultats confirment que la complexation avec les cyclodextrines modifie les propriétés physiques de l'hydrogel.

3.7.7. Mesure de l'indice de réfraction des hydrogels

L'indice de réfraction est un paramètre optique qui reflète la capacité d'un matériau à dévier la lumière lorsqu'elle le traverse. Il est étroitement lié à la densité optique, à la transparence et aux propriétés physico-chimiques du gel, telles que la densité et la viscosité. Les valeurs mesurées à $24^{\circ}\text{C} \pm 0.6$ montrent un indice de 1.343 pour l'eau distillée, 1.354 pour l'hydrogel de l'acide niflumique, et 1.360 pour l'hydrogel du complexe d'inclusion « NAs-2HP- β -CD-HPMC ».

L'augmentation de l'indice de réfraction dans les hydrogels, comparée à l'eau distillée, indique la présence de solutés et de macromolécules modifiant la densité optique du système. Le gel de l'acide niflumique affiche un indice légèrement plus élevé que l'eau, suggérant une interaction modérée entre les molécules d'eau et le principe actif, avec une certaine opacité due à la dispersion limitée du NA. Le gel du complexe d'inclusion présente l'indice de réfraction le plus élevé (1.360), ce qui traduit une densité optique plus importante et une modification de la transparence du gel. En effet, l'incorporation de cyclodextrines et d'HPMC entraîne une légère turbidité visible sur le plan macroscopique, réduisant la translucidité du gel.

3.7.8. Analyse structurale des hydrogels– Microscopie optique

Les images obtenues par microscopie optique de l'hydrogel de l'acide niflumique (Figure 3.23) montrent une structure hétérogène avec la présence de cristaux distincts de formes allongées et aciculaires. Cette observation indique que le principe actif est partiellement cristallisé dans la matrice polymérique de l'hydrogel, suggérant une solubilité limitée et une

dispersion non homogène du NA. De plus, l'agrégation de certaines particules pourrait être due à une interaction insuffisante entre l'acide niflumique et la matrice gélifiante, entraînant une faible incorporation du principe actif dans le réseau polymérique.



Figure 3.23. Observation microscopique de l'hydrogel d'acide niflumique.

En comparaison, les images microscopiques de l'hydrogel du complexe d'inclusion (Figure 3.24) révèlent une structure globalement plus homogène et amorphe, avec une nette diminution des cristaux visibles. Cela suggère une meilleure solubilisation du NA grâce à la complexation avec la cyclodextrine et à l'effet stabilisant de l'HPMC. Cependant, certaines agrégations de particules sont observées, ce qui pourrait être attribué à la forte tendance de la 2HP- β -CD à s'auto-assembler en solution aqueuse. En effet, cette cyclodextrine modifiée présente une affinité particulière pour former des agrégats stabilisés par des interactions intermoléculaires entre les groupes hydroxyles situés en périphérie des molécules de 2HP- β -CD, qui adoptent une configuration en anneau [263]. Cet auto-assemblage pourrait expliquer la formation de clusters observés dans l'hydrogel.

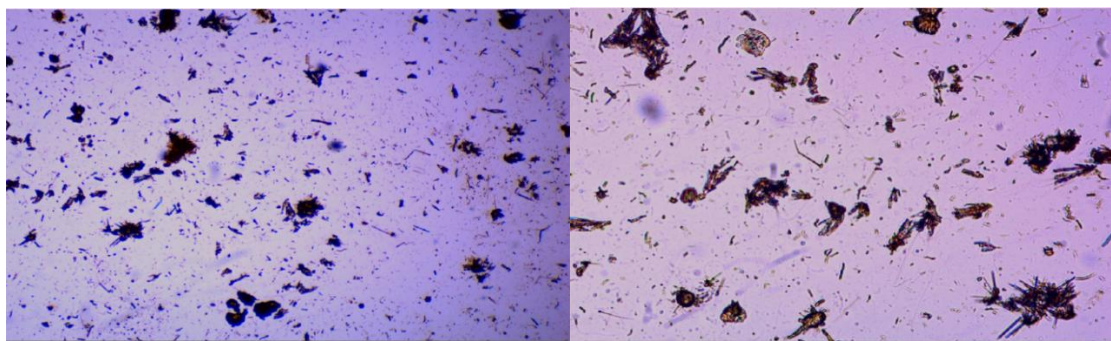


Figure 3.24. Observation microscopique de l'hydrogel complexe d'inclusion.

3.7.9. Etude rhéologique des hydrogels

Les Figures 3.25 et 3.26 présentent l'évolution des modules de conservation (G') et de perte (G'') pour l'hydrogel de NA et pour celui du complexe NAs-2HP- β -CD-HPMC, respectivement, en fonction de la déformation appliquée. Dans le domaine de la Limite Viscoélastique Linéaire (LVE), on constate que G' est supérieur à G'' , ce qui témoigne du comportement viscoélastique solide des deux hydrogels [290].

Lorsque la déformation dépasse cette limite, le module G' commence à décroître et finit par rejoindre G'' au point de gel ($G' = G''$) [291]. Au-delà de ce point critique, G'' devient prédominant, indiquant une transition vers un comportement de liquide à déformation plastique, où la restitution complète des propriétés mécaniques initiales n'est plus garantie.

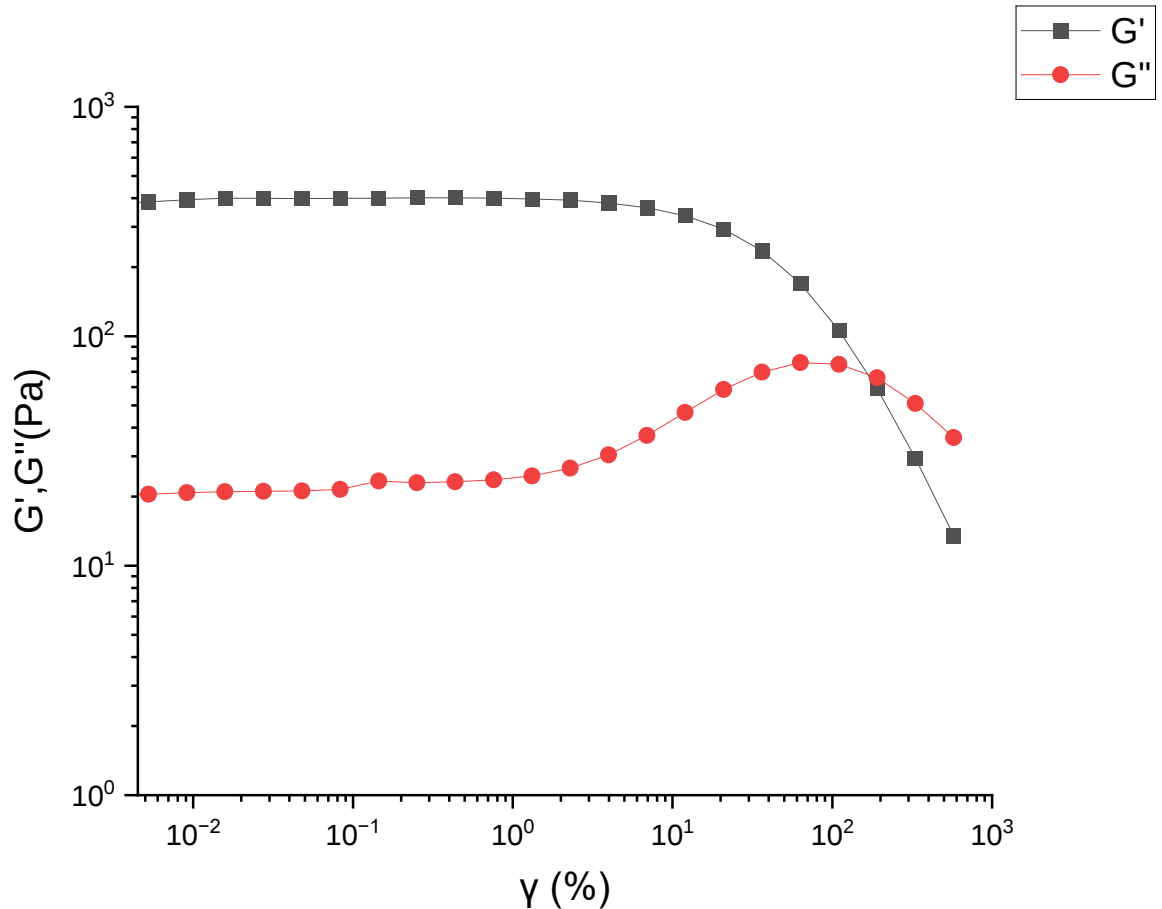


Figure 3.25. Variation des deux modules de conservation (G') et de perte (G'') de l'hydrogel de NA.

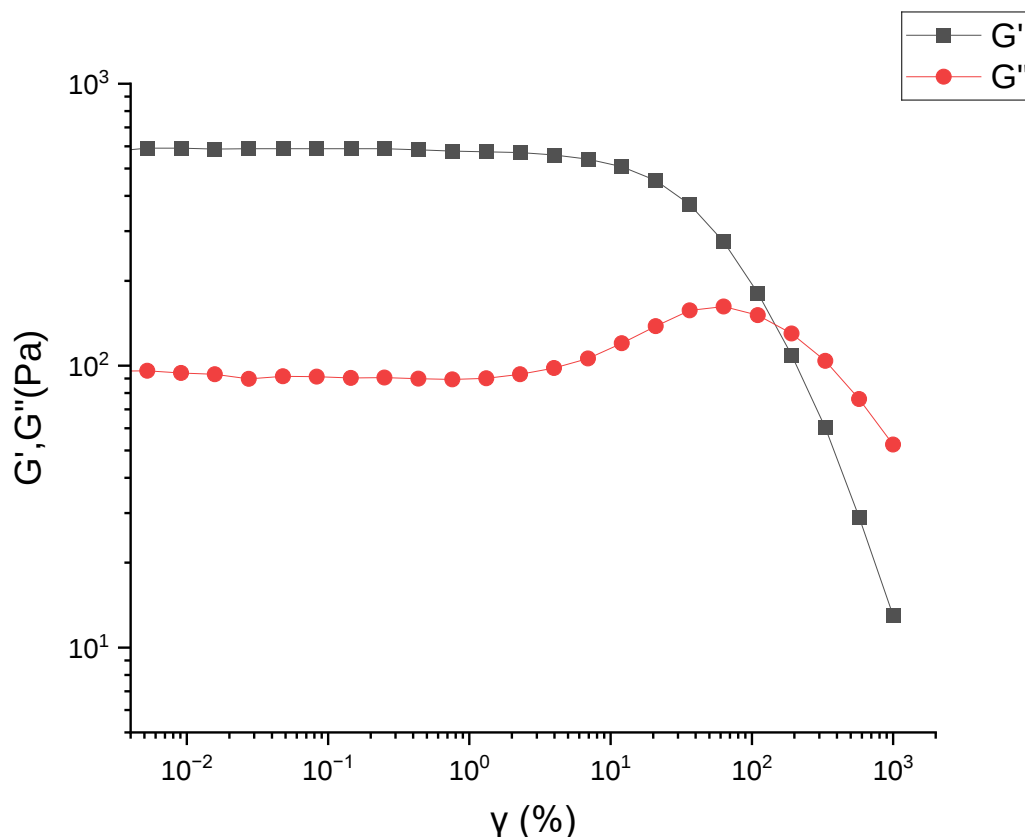


Figure 3.26. Variation des deux modules de conservation (G') et de perte (G'') de l'hydrogel de « NAs-2HP- β -CD-HPMC ».

Par ailleurs, afin d'appréhender la stabilité physique des deux hydrogels à 25°C, nous avons réalisé des analyses en régime dynamique dans le domaine de la viscoélasticité linéaire, associées à une déformation fixe de 1 % et à une rampe décroissante en fréquence de 100 à 0,01 Hz. L'objectif est d'évaluer le comportement asymptotique du module de conservation G' à très faibles fréquences, ce qui, en l'inversant, correspond à un temps. Les résultats typiques sont présentés dans les Figures 3.27 et 3.28, illustrant la variation de ces deux caractéristiques en fonction de la fréquence pour l'hydrogel de NA et l'hydrogel du complexe d'inclusion. On observe que les deux modules sont sensibles à la fréquence lorsque celle-ci est élevée. Toutefois, en-deçà d'une certaine fréquence ($\sim 0,5$ Hz (s^{-1})), le module G' devient stable, ne dépendant plus de la fréquence. Dans ce domaine, la valeur de G' est supérieure à celle de G'' , ce qui indique la nature élastique des échantillons étudiés. De plus, l'extrapolation de ces deux plateaux à très faibles fréquences, correspondant à des temps très longs, permet de conclure à une préservation des propriétés viscoélastiques des deux hydrogels. Ainsi, on peut en déduire une stabilité potentielle des hydrogels formulés, en raison de la conservation de leur rigidité dans le temps.

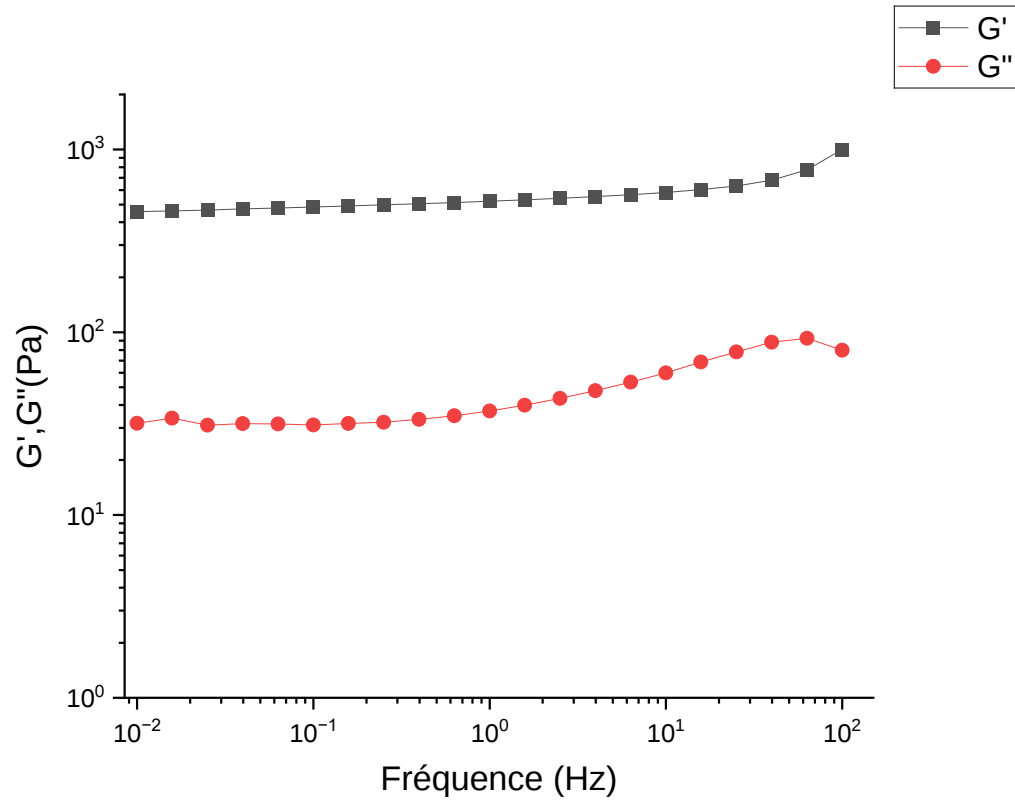


Figure 3.27. Variation des deux modules G' et G'' de l'hydrogel de NA en fonction de la variation de la fréquence.

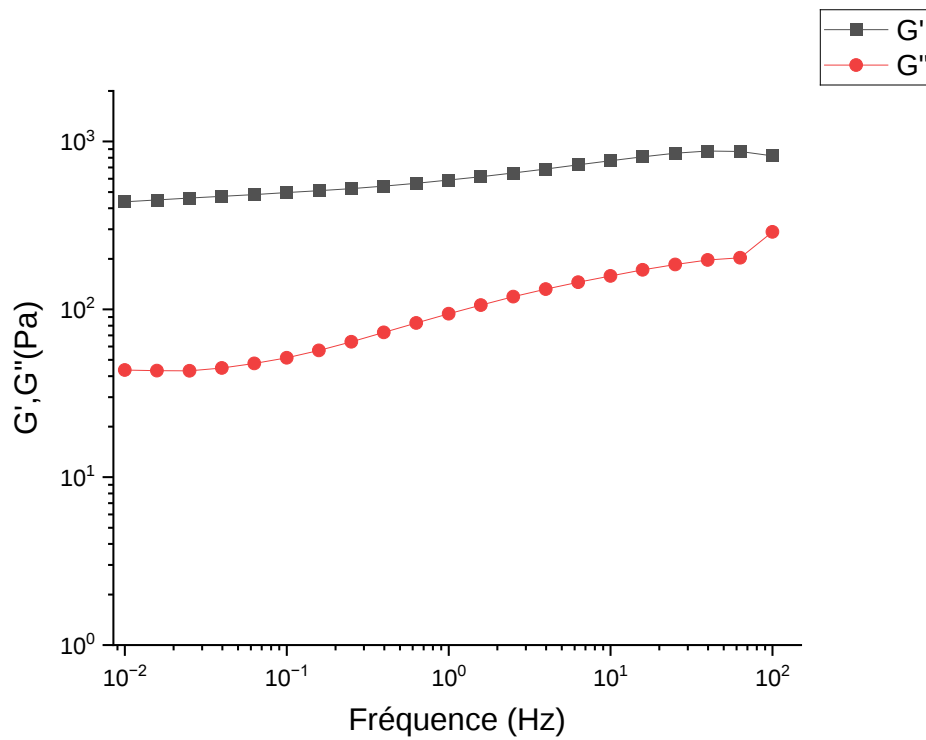


Figure 3.28. Variation des deux modules G' et G'' de l'hydrogel de « NAS-2HP- β -CD-HPMC » en fonction de la variation de la fréquence.

La Figure 3.29 présente la comparaison du module de conservation (G') des deux hydrogels. Il est clairement observable que l'hydrogel du complexe d'inclusion présente un module G' supérieur à celui de l'hydrogel de NA. Cette amélioration résulte de la complexation du PA avec les cyclodextrines, ce qui a conduit à un renforcement des propriétés mécaniques de l'hydrogel.

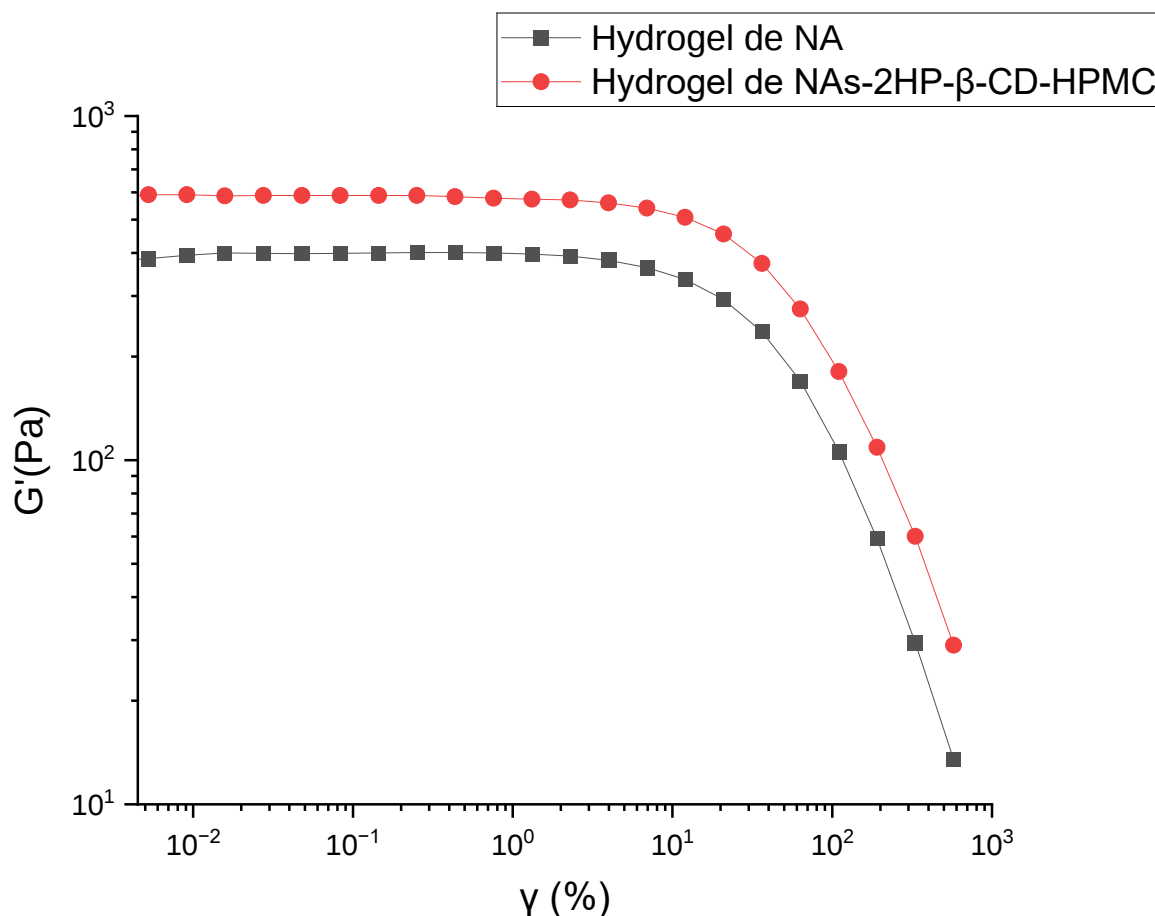


Figure 3.29 : Comparaison du module de conservation (G') des deux hydrogels.

3.7.10. Étude de la diffusion *in vitro* (cellule de Franz)

L'évaluation de la capacité des hydrogels formulés à base d'acide niflumique et du complexe d'inclusion « NAs-2HP- β -CD-HPMC » à libérer le PA a été réalisée à l'aide d'une cellule de diffusion de Franz. Cette méthode permet d'étudier la cinétique de diffusion du principe actif en utilisant des membranes synthétiques en esters de cellulose mixte comme barrière de séparation entre les compartiments de la cellule.

La procédure expérimentale a été détaillée dans la section Matériels et Méthodes. Les résultats obtenus sont présentés dans le Tableau 3.7, tandis que La figures 3.30 illustre les courbes cinétiques de diffusion du principe actif par unité de surface dans une solution tampon phosphate salin (1X, pH 7,4) pour les deux formulations étudiées.

Tableau 3.7 : Quantités diffusées et diffusion par unité de surface en fonction du temps de l'hydrogel de NA et de l'hydrogel du complexe d'inclusion.

Temps (min)	Q (mg)		Diffusion par unité de surface (mg/ cm ²)	
	Hydrogel de NA	Hydrogel du « NAs-2HP-β-CD-HPMC »	Hydrogel de NA	Hydrogel du « NAs-2HP-β-CD-HPMC »
0	0	0	0	0
15	0.083	0.403	0.025	0.124
30	0.097	0.723	0.03	0.222
45	0.106	0.941	0.033	0.289
60	0.119	1.31	0.037	0.4
90	0.128	1.444	0.039	0.44
120	0.163	1.572	0.05	0.48
180	0.208	1.879	0.064	0.58
240	0.239	1.981	0.073	0.6
300	0.359	2.137	0.11	0.65
360	0.523	2.146	0.160	0.66

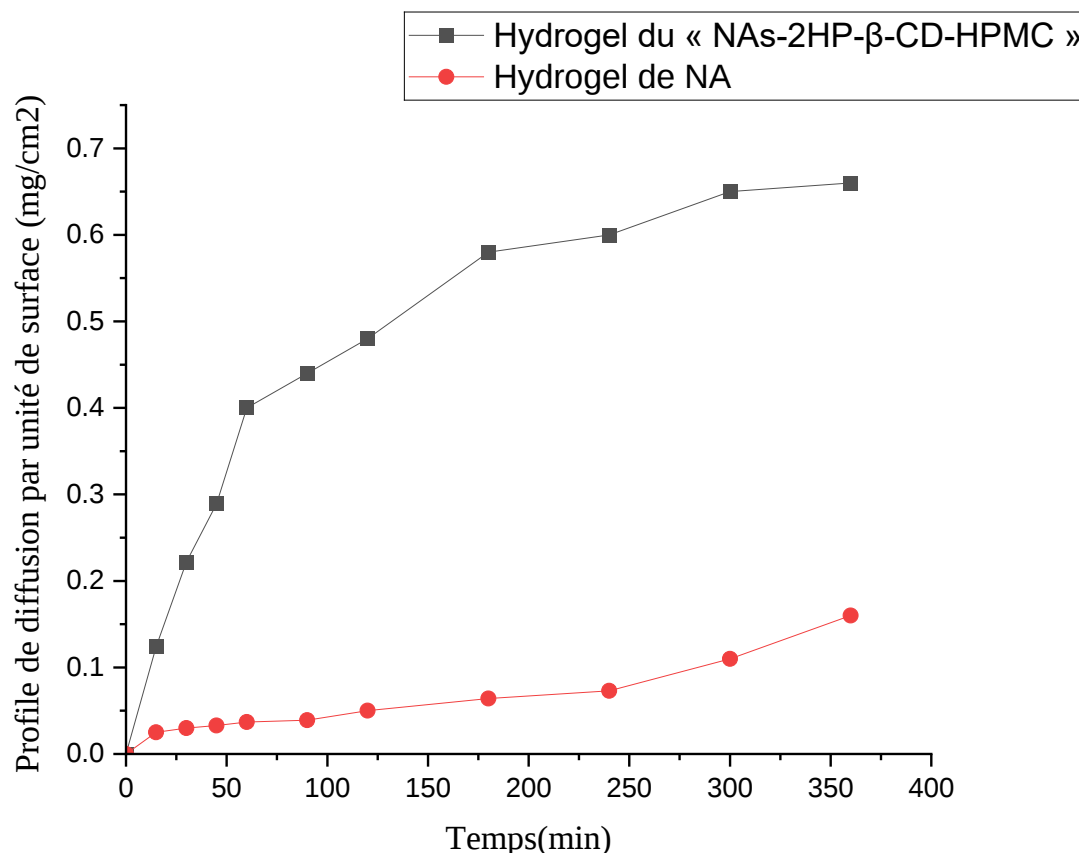


Figure 3.30 : Courbes cinétiques de diffusion par unité de surface du PA à partir de l'hydrogel de NA et de l'hydrogel du complexe « NAs-2HP-β-CD-HPMC ».

L'examen des profils de diffusion révèle que l'hydrogel contenant le complexe d'inclusion permet une libération nettement plus importante du principe actif en comparaison avec l'hydrogel de NA seul. Dès les premières minutes, la diffusion par unité de surface atteint 0.124 mg/cm² pour l'hydrogel du complexe après 15 minutes, tandis que celle de l'hydrogel de NA reste plus faible à 0.025 mg/cm². Après 360 minutes, la quantité cumulée diffusée s'élève à 0.66 mg/cm² pour le complexe, contre seulement 0.16 mg/cm² pour l'hydrogel de NA, soulignant ainsi l'impact positif de la complexation avec les cyclodextrines sur la libération du principe actif.

Afin de quantifier cette différence, les paramètres de diffusion ont été déterminés à partir des courbes obtenues. Le Tableau 3.8 synthétise ces valeurs pour les deux hydrogels, mettant en évidence des variations significatives entre les formulations analysées.

Tableau 3.8 : Paramètres de diffusion de l'hydrogel de NA et de l'hydrogel du « NAs-2HP- β -CD-HPMC »

Paramètres de diffusion	Formulation	
	Hydrogel de NA	Hydrogel du « NAs-2HP- β -CD-HPMC »
Coefficient de diffusion « D » (cm^2/min)	0.000032	0.000145
Le flux « J » ($\text{mg}/\text{cm}^2/\text{min}$)	0.00011	0.00049
Le coefficient de perméabilité « K_p » (cm/min)	0.00066	0.0029
Temps de latence « L » (min)	0.17	0.26

L'hydrogel du complexe d'inclusion « NAs-2HP- β -CD-HPMC » présente un coefficient de diffusion (D) plus élevé ($0.000145 \text{ cm}^2/\text{min}$) par rapport à l'hydrogel de NA seul ($0.000032 \text{ cm}^2/\text{min}$). Cette différence traduit une meilleure mobilité du principe actif à travers le réseau polymérique de l'hydrogel du complexe, probablement favorisée par la formation du complexe d'inclusion qui améliore la solubilité et la disponibilité du médicament.

Concernant le flux de diffusion (J), qui représente la quantité de principe actif traversant la membrane par unité de temps et de surface, l'hydrogel du complexe d'inclusion présente une valeur plus élevée ($0.00049 \text{ mg}/\text{cm}^2/\text{min}$) comparée à celle de l'hydrogel de NA ($0.00011 \text{ mg}/\text{cm}^2/\text{min}$). Cette variation, suggère une meilleure libération du principe actif à partir de l'hydrogel du complexe. Cette amélioration pourrait être liée à une réduction des interactions intermoléculaires qui, dans l'hydrogel de NA pur, entravent la diffusion du PA.

De même, le coefficient de perméabilité (K_p), indicateur de la facilité avec laquelle le principe actif traverse la membrane, présente une valeur significativement plus élevée pour l'hydrogel du complexe d'inclusion ($0.0029 \text{ cm}/\text{min}$) par rapport à celui de NA ($0.00066 \text{ cm}/\text{min}$), traduisant ainsi une diffusion optimisée dans cette formulation. Ce résultat suggère que la complexation de l'acide niflumique avec la 2HP- β -CD et l'HPMC a facilité son passage à travers la membrane, probablement en modifiant son hydrophilie et sa solubilité.

Enfin, le temps de latence (L), qui correspond au délai nécessaire avant l'initiation de la diffusion observable du PA, est nettement plus court pour l'hydrogel du complexe d'inclusion

(0.26 min) que pour l'hydrogel de NA (0.17 min). Cette différence suggère que la complexation avec les cyclodextrines facilite le début de la diffusion, probablement en améliorant la solubilité du principe actif.

En conclusion, les résultats obtenus indiquent que l'hydrogel du complexe d'inclusion présente une diffusion améliorée par rapport à l'hydrogel de NA pur, ce qui suggère un potentiel accru pour une application transdermique optimisée.

CONCLUSION GENERALE

Cette étude a permis de développer et de caractériser avec succès des complexes d'inclusion binaires et ternaires de l'acide niflumique. Les complexes ont été obtenus par une combinaison de deux méthodes (Co-évaporation de solvants et lyophilisation). Une caractérisation approfondie a été réalisée, incluant une étude de solubilité de phase avec un groupe témoin supplémentaire (NAs-2HP- β -CD) pour évaluer l'impact de l'utilisation du sel sodique seul. Cette analyse a permis de déterminer l'efficacité de complexation et la constante de stabilité, considérées comme des paramètres clés de l'efficacité de formation des complexes. Par ailleurs, le pourcentage d'encapsulation du médicament a été mesuré, et diverses techniques physico-chimiques (FTIR, DSC, DLS, MEB, DRX, ^1H -RMN et 2D-ROESY) ont été utilisées en parallèle des études de dissolution.

Les analyses physico-chimiques ont confirmé la formation de complexes dans toutes les formulations, les profils de dissolution des complexes surpassant largement ceux du NA et de son sel sodique purs. Notamment, bien que l'étude de solubilité de phase ait révélé que l'ajout individuel de HPMC ou de NAs améliore modérément l'efficacité de complexation ou la stabilité en phase liquide, leur utilisation combinée dans le complexe NAs-2HP- β -CD-HPMC a démontré un effet synergique.

Parmi les complexes étudiés, la formulation NAs-2HP- β -CD-HPMC a présenté les résultats les plus prometteurs. Elle a affiché les valeurs les plus élevées de l'EC et K_s , le taux de chargement en médicament le plus important, un rapport molaire expérimental 1:1 correspondant à la valeur théorique, une amorphisation substantielle du médicament et le profil de dissolution le plus favorable. Ces résultats suggèrent que le complexe NAs-2HP- β -CD-HPMC possède un potentiel significatif pour améliorer la délivrance de l'acide niflumique, pouvant ainsi accroître sa biodisponibilité et son efficacité thérapeutique.

D'autre part, cette étude a démontré que la formation du complexe ternaire NAs-2HP- β -CD-HPMC améliore significativement les propriétés biologiques du principe actif. Le complexe a montré une activité anti-inflammatoire doublée par rapport au NA pur, une capacité antioxydante notable et une excellente hémocompatibilité avec des taux d'hémolyse inférieurs à 2 %, contrairement au NA seul. Il a également présenté une stabilité sérique accrue. Ces

résultats suggèrent que le complexe d'inclusion formulé améliore l'efficacité thérapeutique et réduit la toxicité de l'acide niflumique.

En outre, les travaux menés sur les hydrogels à base de complexe d'inclusion optimisé ont démontré des avantages significatifs par rapport à ceux formulés à partir de NA pur. La formulation du complexe d'inclusion a permis d'obtenir des hydrogels plus homogènes, avec une teneur en principe actif optimisée (99,84 contre 88,84 %), une viscosité et un comportement rhéologique améliorés et un pH (5,86) proche de celui de la peau, réduisant ainsi les risques d'irritation cutanée.

Les études de diffusion *in vitro* ont confirmé la supériorité du complexe d'inclusion, avec une libération accrue du principe actif, soutenue par des valeurs élevées de coefficient de diffusion, de flux et de perméabilité. Ces résultats suggèrent que la complexation favorise une diffusion transdermique plus efficace, ouvrant des perspectives prometteuses pour l'administration cutanée de l'acide niflumique. En synthèse, l'utilisation du complexe d'inclusion améliore à la fois les propriétés physico-chimiques des hydrogels et leur performance de libération, en faisant un candidat idéal pour des applications dermatologiques et transdermiques optimisées.

Ce travail, bien qu'il ait apporté des résultats significatifs, reste inachevé et ouvre de nombreuses perspectives de recherche, notamment sur le plan clinique. Des études *in vivo* sont indispensables pour valider le potentiel thérapeutique et l'efficacité clinique de ces formulations. Ces investigations permettront d'évaluer non seulement la biodisponibilité et la tolérance, mais aussi l'impact à long terme de ces complexes sur des modèles biologiques plus représentatifs des conditions physiopathologiques humaines.

REFERENCES

- [1] S. Venkatesh and R. A. Lipper, "Role of the development scientist in compound lead selection and optimization," *Journal of pharmaceutical sciences*, vol. 89, pp. 145-154, 2000.
- [2] Y. Pirson and C. v. Y. de Strihou, "Renal side effects of nonsteroidal antiinflammatory drugs: clinical relevance," *American Journal of Kidney Diseases*, vol. 8, pp. 338-344, 1986.
- [3] E. Subramanian, G. Anitha, M. K. Selvam, and M. I. Ali Badusha, "Influence of β -cyclodextrin as an encapsule and as an inclusion complex dopant on conducting polyaniline," *Bulletin of Materials Science*, vol. 28, pp. 55-61, 2005.
- [4] N. Sharma and A. Baldi, "Exploring versatile applications of cyclodextrins: an overview," *Drug delivery*, vol. 23, pp. 729-747, 2016.
- [5] Y. K. Sung and S. W. Kim, "Recent advances in polymeric drug delivery systems," *Biomaterials Research*, vol. 24, p. 12, 2020.
- [6] S. Gould and R. C. Scott, "2-Hydroxypropyl- β -cyclodextrin (HP- β -CD): A toxicology review," *Food and Chemical Toxicology*, vol. 43, pp. 1451-1459, 2005.
- [7] C. Nie, Q. Liang, and Q. Gao, "Preparation of Eudragit S100-pullulan/hydroxypropyl- β -cyclodextrin complex-Eudragit S100 multilayer nanofiber film for resveratrol colon delivery," *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 270, p. 132388, 2024.
- [8] S. Jambhekar, R. Casella, and T. Maher, "The physicochemical characteristics and bioavailability of indomethacin from β -cyclodextrin, hydroxyethyl- β -cyclodextrin, and hydroxypropyl- β -cyclodextrin complexes," *International journal of pharmaceutics*, vol. 270, pp. 149-166, 2004.
- [9] E. M. Del Valle, "Cyclodextrins and their uses: a review," *Process biochemistry*, vol. 39, pp. 1033-1046, 2004.
- [10] M. Spulber, M. Pinteala, A. Fifere, V. Harabagiu, and B. C. Simionescu, "Inclusion complexes of 5-flucytosine with β -cyclodextrin and hydroxypropyl- β -cyclodextrin: Characterization in aqueous solution and in solid state," *Journal of inclusion phenomena and macrocyclic chemistry*, vol. 62, pp. 117-125, 2008.

- [11] T. Loftsson, H. Sigurdsson, M. Másson, and N. Schipper, "Preparation of solid drug/cyclodextrin complexes of acidic and basic drugs," *Die Pharmazie-An International Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 59, pp. 25-29, 2004.
- [12] T. Loftsson, D. Hreinsdóttir, and M. Másson, "The complexation efficiency," *Journal of inclusion phenomena and macrocyclic chemistry*, vol. 57, pp. 545-552, 2007.
- [13] S. Jacob and A. B. Nair, "Cyclodextrin complexes: Perspective from drug delivery and formulation," *Drug development research*, vol. 79, pp. 201-217, 2018.
- [14] G. O. K. Loh, Y. T. F. Tan, and K. K. Peh, "Effect of HPMC concentration on β -cyclodextrin solubilization of norfloxacin," *Carbohydrate polymers*, vol. 101, pp. 505-510, 2014.
- [15] T. Szunyogh, R. Ambrus, and P. Szabó-Révész, "Nanonization of niflumic acid by co-grinding," *Advances in Nanoparticles*, vol. 2, pp. 329-335, 2013.
- [16] Y. Kawabata, K. Wada, M. Nakatani, S. Yamada, and S. Onoue, "Formulation design for poorly water-soluble drugs based on biopharmaceutics classification system: basic approaches and practical applications," *International journal of pharmaceutics*, vol. 420, pp. 1-10, 2011.
- [17] D. J. Jang, J. S. Park, H. R. Ko, J. P. Jee, J. K. Kim, S. T. Kim, and C. K. Kim, "Simultaneous determination of niflumic acid and its prodrug, talniflumate in human plasma by high performance liquid chromatography," *Biomedical Chromatography*, vol. 19, pp. 32-35, 2005.
- [18] W. Kang and K. Kim, "Determination of talniflumate and niflumic acid in human plasma by liquid chromatography-tandem mass spectrometry," *Analytical Sciences*, vol. 25, pp. 571-574, 2009.
- [19] M. Lervolino, F. Quaglia, A. Miro, A. Calignano, and B. Cappello, "Reduced gastric toxicity of niflumic acid/cyclodextrin systems," *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, vol. 14, pp. 93-96, 2004.
- [20] I. V. Terekhova, T. V. Volkova, and G. L. Perlovich, "Experimental analysis of complex formation of niflumic acid with β -Cyclodextrins," *Journal of inclusion phenomena and macrocyclic chemistry*, vol. 55, pp. 335-340, 2006.

- [21] M. Bogdan, M. R. Caira, and S. I. Farcas, "Inclusion of the niflumic acid anion in β -cyclodextrin: A solution NMR and X-ray structural investigation," *Supramolecular Chemistry*, vol. 14, pp. 427-436, 2002.
- [22] M. Kata, R. Ambrus, and Z. Aigner, "Preparation and investigation of inclusion complexes containing nifluminic acid and cyclodextrins," *Journal of inclusion phenomena and macrocyclic chemistry*, vol. 44, pp. 123-126, 2002.
- [23] E. Redenti, L. Szente, and J. Szejtli, "Cyclodextrin complexes of salts of acidic drugs. Thermodynamic properties, structural features, and pharmaceutical applications," *Journal of pharmaceutical sciences*, vol. 90, pp. 979-986, 2001.
- [24] T. Loftsson and M. Brewster, "Cyclodextrins as pharmaceutical excipients," *Pharmaceutical Technology Europe*, vol. 9, pp. 26-35, 1997.
- [25] S. Caglar, A. Altay, M. Kuzucu, and B. Caglar, "In vitro anticancer activity of novel Co (II) and Ni (II) complexes of non-steroidal anti-inflammatory drug niflumic acid against human breast adenocarcinoma MCF-7 Cells," *Cell Biochemistry and Biophysics*, vol. 79, pp. 729-746, 2021.
- [26] K. Takács-Novák, V. Szőke, G. Völgyi, P. Horváth, R. Ambrus, and P. Szabó-Révész, "Biorelevant solubility of poorly soluble drugs: rivaroxaban, furosemide, papaverine and niflumic acid," *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, vol. 83, pp. 279-285, 2013.
- [27] A. Picollo, A. Liantonio, E. Babini, D. C. Camerino, and M. Pusch, "Mechanism of interaction of niflumic acid with heterologously expressed kidney CLC-K chloride channels," *Journal of Membrane Biology*, vol. 216, pp. 73-82, 2007.
- [28] I. Tegeder, J. Pfeilschifter, and G. Geisslinger, "Cyclooxygenase-independent actions of cyclooxygenase inhibitors," *The FASEB Journal*, vol. 15, pp. 2057-2072, 2001.
- [29] C. S. Blahaa, K. Diaf, Z. Elbahri, and N. Besbes, "IMPROVEMENT OF THE THERAPEUTIC EFFECTS OF NIFLUMIC ACID BY DIFFERENT FORMULATION TECHNIQUES: A REVIEW," *Moroccan Journal of Heterocyclic Chemistry*, vol. 20, pp. Mar. Chim. Heterocycl. 20 N 2 (2021) 68-79, 2021.
- [30] Y. Zhu, Q. Lin, H. Fan, L. Zhang, S. Yang, D. Yang, Y. Lu, and Z. Zhou, "Novel Spherical Trimethoprim–Niflumic Acid Drug–Drug Salt Demonstrates Simultaneous

- Enhancement of Powder Property and Antibacterial Activity," *Crystal Growth & Design*, 2024.
- [31] B. Kaur and P. Singh, "Inflammation: Biochemistry, cellular targets, anti-inflammatory agents and challenges with special emphasis on cyclooxygenase-2," *Bioorganic Chemistry*, vol. 121, p. 105663, 2022.
- [32] A. Nuhrich, "Mécanismes d'action des anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)," UFR des Sciences Pharmaceutiques, Université de Bordeaux, 2015.
- [33] E. R. Escudero, I. Velázquez, and L. M. T. Morera, "Actualización en farmacología de los antiinflamatorios no esteroideos: actualización," *MPJ Multidisciplinary Pain Journal*, p. 2, 2024.
- [34] A. Nuhrich, "Antiinflammatoires non stéroïdiens (AINS)," ed. UFR des Sciences Pharmaceutiques, Université Victor-Segalen Bordeaux 2., 2009.
- [35] K. Balci, Y. Akkaya, and S. Akyuz, "An experimental and theoretical vibrational spectroscopic study on niflumic acid, a non-steroidal anti-inflammatory drug," *Vibrational Spectroscopy*, vol. 53, pp. 239-247, 2010.
- [36] N. a. National Center for Biotechnology Information (2024). PubChem Compound Summary for CID 4488. (2024). *Niflumic acid*. Available: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Niflumic-acid>.
- [37] P. A. Knauf and N. A. Mann, "Use of niflumic acid to determine the nature of the asymmetry of the human erythrocyte anion exchange system," *The Journal of general physiology*, vol. 83, pp. 703-725, 1984.
- [38] S. T. Sinkkonen, S. Mansikkamäki, T. Möykkynen, H. Lüddens, M. Uusi-Oukari, and E. R. Korpi, "Receptor subtype-dependent positive and negative modulation of GABAA receptor function by niflumic acid, a nonsteroidal anti-inflammatory drug," *Molecular pharmacology*, vol. 64, pp. 753-763, 2003.
- [39] J. Lerma and R. M. Del Rio, "Chloride transport blockers prevent N-methyl-D-aspartate receptor-channel complex activation," *Molecular pharmacology*, vol. 41, pp. 217-222, 1992.
- [40] E. Balderas, R. Ateaga-Tlecuitl, M. Rivera, J. C. Gomora, and A. Darszon, "Niflumic acid blocks native and recombinant T-type channels," *Journal of cellular physiology*, vol. 227, pp. 2542-2555, 2012.

- [41] M. Grandin, "Les anti-inflammatoires non stéroïdiens, utilisation et conseils dans la pratique officinale quotidienne. Document étayé par une analyse d'ordonnances d'une pharmacie rurale," 2013.
- [42] J.-M. Lehn, "Supramolecular chemistry: receptors, catalysts, and carriers," *Science*, vol. 227, pp. 849-856, 1985.
- [43] D. J. Cram, S. P. Ho, C. B. Knobler, E. Maverick, and K. N. Trueblood, "Host-guest complexation. 38. Cryptahemispherands and their complexes," *Journal of the American Chemical Society*, vol. 108, pp. 2989-2998, 1986.
- [44] C. J. Pedersen, "The discovery of crown ethers," *Science*, vol. 241, pp. 536-540, 1988.
- [45] J. M. Lehn, "Supramolecular chemistry—scope and perspectives molecules, supermolecules, and molecular devices (Nobel Lecture)," *Angewandte Chemie International Edition in English*, vol. 27, pp. 89-112, 1988.
- [46] C. Garnero, A. Zoppi, C. Aloisio, and M. R. Longhi, "Technological delivery systems to improve biopharmaceutical properties," in *Nanoscale Fabrication, Optimization, Scale-Up and Biological Aspects of Pharmaceutical Nanotechnology*, ed: Elsevier, 2018, pp. 253-299.
- [47] M. A. Crumling, K. A. King, and R. K. Duncan, "Cyclodextrins and iatrogenic hearing loss: new drugs with significant risk," *Frontiers in cellular neuroscience*, vol. 11, p. 355, 2017.
- [48] J. Conceicao, O. Adeoye, H. M. Cabral-Marques, and J. Lobo, "Cyclodextrins as drug carriers in pharmaceutical technology: the state of the art," *Current pharmaceutical design*, vol. 24, pp. 1405-1433, 2018.
- [49] A. Villiers, "Sur la fermentation de la fécule par l'action du ferment butyrique," *Compt. Rend. Acad. Sci*, vol. 112, pp. 536-538, 1891.
- [50] F. Schardinger, "Bildung kristallisierter polysaccharide (dextrine) aus stärkekleister durch microben," *Zentralbl. Bakteriol. Parasitenk. Abt. II*, vol. 29, pp. 188-197, 1911.
- [51] K. Freudenberg and F. Cramer, "Die Konstitution der Schardinger-Dextrine α , β und γ ," *Zeitschrift für Naturforschung B*, vol. 3, pp. 464-466, 1948.
- [52] F. Schardinger, "Zeitschr. fd Untersuch, d," *Nahrungs-u. Genussmittel*, vol. 6, p. 874, 1903.

- [53] J. Szjetli, "Cyclodextrins in drug formulations. I," *Pharm. Technol. Int.*, vol. 3, pp. 15-22, 1991.
- [54] F. Schardinger, "Über thermophile Bakterien aus verschiedenen Speisen und Milch: sowie über einige Umsetzungsprodukte derselben in kohlenhydrathaltigen Nährlösungen, darunter krystallisierte Polysaccharide (Dextrine) aus Stärke," *Zeitschrift für Untersuchung der Nahrungs-und Genussmittel, sowie der Gebrauchsgegenstände*, vol. 6, pp. 865-880, 1903.
- [55] K. Freudenberg and M. Meyer-Delius, "Über die Schardinger-dextrine aus Stärke," *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft (A and B Series)*, vol. 71, pp. 1596-1600, 1938.
- [56] K. Freudenberg, F. Cramer, and H. Plieninger, "Verfahren zur Herstellung von Einschlussverbindungen physiologisch wirksamer organischer Verbindungen," *German Pat*, vol. 895, p. 769, 1953.
- [57] D. French, "The schardinger dextrins," in *Advances in carbohydrate chemistry*. vol. 12, ed: Elsevier, 1957, pp. 189-260.
- [58] J. SZEJTLI, "I. Int. Symp. on Cyclodextrins Budapest, 1981 THE CHEMISTRY OF CYCLODEXTRIN DERIVATIVES 1 A. LIPTÁK, P. FÜGEDI, Z. SZURMAI, J. IMRE, J. SZEJTLI2," in *Proceedings of the First International Symposium on Cyclodextrins: Budapest, Hungary, 30 September–2 October, 1981*, 1982, p. 275.
- [59] P. Papakyriakopoulou, K. Manta, and E. Christodoulou, "Cyclodextrins in Drug Development: Challenging Multifunctional Excipients," in *Functional Materials in Biomedical Applications*, ed: Jenny Stanford Publishing, 2023, pp. 51-90.
- [60] J. Rincón-López, Y. C. Almanza-Arjona, A. P. Riascos, and Y. Rojas-Aguirre, "Technological evolution of cyclodextrins in the pharmaceutical field," *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, vol. 61, p. 102156, 2021.
- [61] R. Kaushik, R. Verma, V. Budhwar, and D. Kaushik, "An Overview of Recent Patents and Future Perspective Based on Cyclodextrin Complexation," *Recent Advances in Drug Delivery and Formulation: Formerly Recent Patents on Drug Delivery & Formulation*, vol. 17, pp. 31-46, 2023.
- [62] G. Crini, "A history of cyclodextrins," *Chemical reviews*, vol. 114, pp. 10940-10975, 2014.

- [63] W.-F. Lai, A. L. Rogach, and W.-T. Wong, "Chemistry and engineering of cyclodextrins for molecular imaging," *Chemical Society Reviews*, vol. 46, pp. 6379-6419, 2017.
- [64] V. J. Stella and R. A. Rajewski, "Cyclodextrins: their future in drug formulation and delivery," *Pharmaceutical research*, vol. 14, pp. 556-567, 1997.
- [65] M. Welliver and J. P. McDonough, "Anesthetic related advances with cyclodextrins," *The Scientific World Journal*, vol. 7, pp. 364-371, 2007.
- [66] W. Saenger, "Cyclodextrin inclusion compounds in research and industry," *Angewandte Chemie International Edition in English*, vol. 19, pp. 344-362, 1980.
- [67] J. Casida, *Pyrethrum: the natural insecticide*: Elsevier, 2012.
- [68] G. R. Brown, "The physicochemical characterisation of cyclodextrin inclusion compounds with non-steroidal anti-inflammatory drugs," 1997.
- [69] J. Szejtli, L. Szente, and E. Banky-Elod, "Molecular encapsulation of volatile., easily oxidizable labile flavoljr substances by cyclodextrins," *Acta Chim. Acad. Sci. Hung.*, vol. 101, pp. 27-46, 1979.
- [70] K. Uekama and F. Hirayama, "Inclusion complexation of prostaglandin F2 α with α - and β -cyclodextrins in aqueous solution," *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, vol. 26, pp. 1195-1200, 1978.
- [71] J. Pitha, L. Szente, and J. Szejtli, "Molecular encapsulation of drugs by cyclodextrins and congeners," in *Controlled drug delivery*, ed: CRC Press, 2019, pp. 125-148.
- [72] Z. Xiao, Y. Zhang, Y. Niu, Q. Ke, and X. Kou, "Cyclodextrins as carriers for volatile aroma compounds: A review," *Carbohydrate polymers*, vol. 269, p. 118292, 2021.
- [73] J. Szejtli, "Enhancement of drug bioavailability by cyclodextrins," *Starch-Stärke*, vol. 33, pp. 387-390, 1981.
- [74] H. Seo, M. TSURUOKA, T. HASHIMOTO, T. FUJINAGA, M. OTAGIRI, and K. UEKAMA, "Enhancement of oral bioavailability of spironolactone by β - and γ -cyclodextrin complexations," *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, vol. 31, pp. 286-291, 1983.
- [75] N. Nambu, M. Shimoda, Y. Takahashi, H. Ueda, and T. Nagai, "PHARMACEUTICAL INTERACTIONS IN DOSAGE FORMS AND PROCESSING. 9. BIOAVAILABILITY OF POWDERED INCLUSION COMPOUNDS OF NON-STEROIDAL ANTI-INFLAMMATORY DRUGS WITH BETA-CYCLODEXTRIN

- IN RABBITS AND DOGS," *CHEMICAL & PHARMACEUTICAL BULLETIN*, vol. 26, pp. 2952-2956, 1978.
- [76] M. KUROZUMI, N. NAMBU, and T. NAGAI, "Inclusion compounds of non-steroidal antiinflammatory and other slightly water soluble drugs with α - and β -cyclodextrins in powdered form," *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, vol. 23, pp. 3062-3068, 1975.
- [77] F. M. Andersen, H. Bundgaard, and H. B. Mengel, "Formation, bioavailability and organoleptic properties of an inclusion complex of femoxetine with β -cyclodextrin," *International journal of pharmaceutics*, vol. 21, pp. 51-60, 1984.
- [78] J. Szejtli and M. KAJTAR, "The beta-cyclodextrin inclusion complex of menadione (vitamin K3)," 1982.
- [79] K.-H. Frömming and J. Szejtli, *Cyclodextrins in pharmacy* vol. 5: Springer Science & Business Media, 1993.
- [80] B. Perly and F. Pilard, "Cyclodextrines and their Uses," *CLEFS CEA*, vol. 35, pp. 32-43, 1997.
- [81] R. Bordes, "Synthèse, physicochimie et polymérisation de tensioactifs paires d'ions dérivés du norbornène," Toulouse 3, 2007.
- [82] M. J. Jozwiakowski and K. A. Connors, "Aqueous solubility behavior of three cyclodextrins," *Carbohydrate Research*, vol. 143, pp. 51-59, 1985.
- [83] J. Szejtli, "Past, present and future of cyclodextrin research," *Pure and Applied Chemistry*, vol. 76, pp. 1825-1845, 2004.
- [84] S. M. Hecht, "Bioorganic chemistry: carbohydrates," (*No Title*), 1999.
- [85] G. Crini, S. Fourmentin, É. Fenyvesi, G. Torri, M. Fourmentin, and N. Morin-Crini, "Cyclodextrins, from molecules to applications," *Environmental chemistry letters*, vol. 16, pp. 1361-1375, 2018.
- [86] J. Szejtli, "Comprehensive supramolecular chemistry, cyclodextrins," *Pergamon*, vol. 3, 1996.
- [87] S. Saha, A. Roy, K. Roy, and M. N. Roy, "Study to explore the mechanism to form inclusion complexes of β -cyclodextrin with vitamin molecules," *Scientific reports*, vol. 6, pp. 1-12, 2016.
- [88] E. Van Dienst, "Water-soluble cyclodextrin-based host molecules," 1996.

- [89] K. B. Lipkowitz, "Applications of computational chemistry to the study of cyclodextrins," *Chemical reviews*, vol. 98, pp. 1829-1874, 1998.
- [90] R. Challa, A. Ahuja, J. Ali, and R. Khar, "Cyclodextrins in drug delivery: an updated review," *AAPS PharmSciTech*, vol. 6, pp. E329-E357, 2005.
- [91] J. Szejtli, *Cyclodextrin Technology*: Kluwer, 1988.
- [92] K. Uekama, T. Irie, M. Sunada, M. Otagiri, K. Iwasaki, Y. Okano, T. Miyata, and Y. Kase, "Effects of cyclodextrins on chlorpromazine-induced haemolysis and central nervous system responses," *Journal of pharmacy and pharmacology*, vol. 33, pp. 707-710, 1981.
- [93] K. Miyajima, K. Tomita, and M. Nakagaki, "Complex formation between di-and monophosphatidylcholines and cyclodextrins in water," *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, vol. 33, pp. 2587-2590, 1985.
- [94] L. Szente and J. Szejtli, "Highly soluble cyclodextrin derivatives: chemistry, properties, and trends in development," *Advanced drug delivery reviews*, vol. 36, pp. 17-28, 1999.
- [95] G. Mosher and D. O. Thompson, "Complexation and cyclodextrins," *Encyclopedia of pharmaceutical technology*, vol. 19, pp. 49-88, 2002.
- [96] M. Kfoury, "Préparation, caractérisation physicochimique et évaluation des propriétés biologiques de complexes d'inclusion à base de cyclodextrines: applications à des principes actifs de type phénylpropanoïdes," Université du Littoral Côte d'Opale; Université Libanaise. Faculté des ..., 2015.
- [97] T. Loftsson and D. Duchene, "Cyclodextrins and their pharmaceutical applications," *International journal of pharmaceutics*, vol. 329, pp. 1-11, 2007.
- [98] H. M. C. Marques, "A review on cyclodextrin encapsulation of essential oils and volatiles," *Flavour and fragrance journal*, vol. 25, pp. 313-326, 2010.
- [99] M. E. Davis and M. E. Brewster, "Cyclodextrin-based pharmaceuticals: past, present and future," *Nature reviews Drug discovery*, vol. 3, pp. 1023-1035, 2004.
- [100] E. M. Agency, "Background review for cyclodextrins used as excipients," ed: EMA London, UK, 2014.
- [101] T. O. Carpenter, J. M. Pettifor, R. M. Russell, J. Pitha, S. Mobarhan, M. S. Ossip, S. Wainer, and C. S. Anast, "Severe hypervitaminosis A in siblings: evidence of variable tolerance to retinol intake," *The Journal of pediatrics*, vol. 111, pp. 507-512, 1987.

- [102] T. Kovacs, P. Nagy, G. Panyi, L. Szente, Z. Varga, and F. Zakany, "Cyclodextrins: Only pharmaceutical excipients or full-fledged drug candidates?," *Pharmaceutics*, vol. 14, p. 2559, 2022.
- [103] J. Pitha, J. Milecki, H. Fales, L. Pannell, and K. Uekama, "Hydroxypropyl- β -cyclodextrin: preparation and characterization; effects on solubility of drugs," *International journal of pharmaceutics*, vol. 29, pp. 73-82, 1986.
- [104] J. Pitha, C. T. Rao, B. Lindberg, and P. Seffers, "Distribution of substituents in 2-hydroxypropyl ethers of cyclomaltoheptaose," *Carbohydrate Research*, vol. 200, pp. 429-435, 1990.
- [105] C. T. Rao, J. Pitha, B. Lindberg, and J. Lindberg, "Distribution of substituents in O-(2-hydroxypropyl) derivatives of cyclomalto-oligosaccharides (cyclodextrins): influence of increasing substitution, of the base used in the preparation, and of macrocyclic size," *Carbohydrate Research*, vol. 223, pp. 99-107, 1992.
- [106] E. Kalydi, M. Malanga, T. T. Nielsen, R. Wimmer, and S. Béni, "Solving the puzzle of 2-hydroxypropyl β -cyclodextrin: Detailed assignment of the substituent distribution by NMR spectroscopy," *Carbohydrate polymers*, vol. 338, p. 122167, 2024.
- [107] Á. Buvári-Barcza and L. Barcza, "Influence of the guests, the type and degree of substitution on inclusion complex formation of substituted β -cyclodextrins," *Talanta*, vol. 49, pp. 577-585, 1999.
- [108] C. Schönbeck, P. Westh, J. C. Madsen, K. L. Larsen, L. W. Städe, and R. Holm, "Hydroxypropyl-substituted β -cyclodextrins: influence of degree of substitution on the thermodynamics of complexation with tauroconjugated and glycoconjugated bile salts," *Langmuir*, vol. 26, pp. 17949-17957, 2010.
- [109] T.-Y. Chang, P. C. Reid, S. Sugii, N. Ohgami, J. C. Cruz, and C. C. Chang, "Niemann-Pick type C disease and intracellular cholesterol trafficking," *Journal of Biological Chemistry*, vol. 280, pp. 20917-20920, 2005.
- [110] S. Fava, D. Di Gioia, L. Marchetti, and E. Fenyvesi, "Randomly methylated β -cyclodextrins (RAMEB) enhance the aerobic biodegradation of polychlorinated biphenyl in aged-contaminated soils," *Journal of inclusion phenomena and macrocyclic chemistry*, vol. 44, pp. 417-421, 2002.

- [111] M.-Q. Zhang and D. C. Rees, "A review of recent applications of cyclodextrins for drug discovery," *Expert Opinion on Therapeutic Patents*, vol. 9, pp. 1697-1717, 1999.
- [112] S. Verstichel, B. De Wilde, E. Fenyvesi, and J. Szejtli, "Investigation of the aerobic biodegradability of several types of cyclodextrins in a laboratory-controlled composting test," *Journal of Polymers and the Environment*, vol. 12, pp. 47-55, 2004.
- [113] H. W. Frijlink, E. J. Franssen, A. C. Eissens, R. Oosting, C. F. Lerk, and D. K. Meijer, "The effects of cyclodextrins on the disposition of intravenously injected drugs in the rat," *Pharmaceutical research*, vol. 8, pp. 380-384, 1991.
- [114] B. ME, "Development of aqueous parenteral formulations for carbamazepine through the use of modified cyclodextrins," *J Pharm Sci*, vol. 80, pp. 380-383, 1991.
- [115] J. Szejtli, "Introduction and general overview of cyclodextrin chemistry," *Chemical reviews*, vol. 98, pp. 1743-1754, 1998.
- [116] P. Mura, "Analytical techniques for characterization of cyclodextrin complexes in aqueous solution: A review," *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, vol. 101, pp. 238-250, 2014.
- [117] M. Kfoury, D. Landy, and S. Fourmentin, "Characterization of cyclodextrin/volatile inclusion complexes: a review," *Molecules*, vol. 23, p. 1204, 2018.
- [118] S. Yamabe and K. Morokuma, "Molecular orbital studies of hydrogen bonds. IX. Electron distribution analysis," *Journal of the American Chemical Society*, vol. 97, pp. 4458-4465, 1975.
- [119] C. Coulson, "THE HYDROGEN BOND: A review of the present interpretations and an introduction to the theoretical papers presented at the Congress," *Hydrogen bonding*, pp. 339-360, 1959.
- [120] D. Greatbanks and R. Pickford, "Cyclodextrins as chiral complexing agents in water, and their application to optical purity measurements," *Magnetic resonance in chemistry*, vol. 25, pp. 208-215, 1987.
- [121] J. O. Hirschfelder, C. F. Curtiss, and R. B. Bird, *The molecular theory of gases and liquids*: John Wiley & Sons, 1964.
- [122] F. Herbststein, "Comprehensive supramolecular chemistry," *Solid-state Supramolecular Chemistry, Crystal Engineering*, vol. 6, p. 61, 1996.

- [123] D. Ekka and M. N. Roy, "Molecular interactions of α -amino acids insight into aqueous β -cyclodextrin systems," *Amino Acids*, vol. 45, pp. 755-777, 2013.
- [124] A. Cid-Samamed, J. Rakmai, J. C. Mejuto, J. Simal-Gandara, and G. Astray, "Cyclodextrins inclusion complex: Preparation methods, analytical techniques and food industry applications," *Food Chemistry*, vol. 384, p. 132467, 2022.
- [125] A. Douhal, *Cyclodextrin materials photochemistry, photophysics and photobiology*: Elsevier, 2006.
- [126] K. Kano, H. Matsumoto, S. Hashimoto, M. Sisido, and Y. Imanishi, "A chiral pyrene excimer in. gamma.-cyclodextrin cavity," *Journal of the American Chemical Society*, vol. 107, pp. 6117-6118, 1985.
- [127] M. Kikuchi, Y. Uemura, F. Hirayama, M. Otagiri, and K. Uekama, "Improvement of some pharmaceutical properties of carmoful by cycrodextrin complexation," in *Clathrate Compounds, Molecular Inclusion Phenomena, and Cyclodextrins: Proceedings of the Third International Symposium on Clathrate Compounds and Molecular Inclusion Phenomena and the Second International Symposium on Cyclodextrins, Tokyo, Japan, July 23–27, 1984*, 1984, pp. 623-630.
- [128] G. Pistolis and A. Malliaris, "Evidence for highly selective supramolecular formation between perylene/ γ -CD and pyrene/ γ -CD complexes in water," *The Journal of Physical Chemistry B*, vol. 108, pp. 2846-2850, 2004.
- [129] R. L. Schiller, S. F. Lincoln, and J. H. Coates, "The inclusion of pyronine Y by β - and γ -cyclodextrin. A Kinetic and equilibrium study," *Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions 1: Physical Chemistry in Condensed Phases*, vol. 83, pp. 3237-3248, 1987.
- [130] J. Szejtli, *Cyclodextrin technology* vol. 1: Springer Science & Business Media, 1988.
- [131] M. Kodaka, "Application of a general rule to induced circular dichroism of naphthalene derivatives complexed with cyclodextrins," *The Journal of Physical Chemistry A*, vol. 102, pp. 8101-8103, 1998.
- [132] P. Job, "Formation and stability of inorganic complexes in solution," *Ann. chim*, vol. 9, pp. 113-134, 1928.

- [133] J. Kim, "Preferential solvation of single ions. A critical study of the Ph₄AsPh₄B assumption for single ion thermodynamics in amphiprotic and dipolar-aprotic solvents," *The Journal of Physical Chemistry*, vol. 82, pp. 191-199, 1978.
- [134] R. M. Fuoss and L. Onsager, "Conductance of Unassociated Electrolytes," *The Journal of Physical Chemistry*, vol. 61, pp. 668-682, 1957.
- [135] A. Yasmin, "Investigation of Host Guest Inclusion Complexations and Diverse Interactions of Some Industrially and Biologically Potent Molecules in Assorted Phases by Physicochemical Methodologies," University of North Bengal, 2019.
- [136] L. Liu and Q.-X. Guo, "The driving forces in the inclusion complexation of cyclodextrins," *Journal of inclusion phenomena and macrocyclic chemistry*, vol. 42, pp. 1-14, 2002.
- [137] C. Cavallari, B. Abertini, M. L. González-Rodríguez, and L. Rodriguez, "Improved dissolution behaviour of steam-granulated piroxicam," *European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics*, vol. 54, pp. 65-73, 2002.
- [138] A. R. Hedges, "Industrial applications of cyclodextrins," *Chemical reviews*, vol. 98, pp. 2035-2044, 1998.
- [139] P. Mura, M. Faucci, P. Parrini, S. Furlanetto, and S. Pinzauti, "Influence of the preparation method on the physicochemical properties of ketoprofen–cyclodextrin binary systems," *International journal of pharmaceutics*, vol. 179, pp. 117-128, 1999.
- [140] M. N. Reddy, T. Rehana, S. Ramakrishna, K. Chowdary, and P. V. Diwan, "β-Cyclodextrin complexes of celecoxib: molecular-modeling, characterization, and dissolution studies," *Aaps Pharmsci*, vol. 6, pp. 68-76, 2004.
- [141] M. Cirri, C. Rangoni, F. Maestrelli, G. Corti, and P. Mura, "Development of fast-dissolving tablets of flurbiprofen-cyclodextrin complexes," *Drug development and industrial pharmacy*, vol. 31, pp. 697-707, 2005.
- [142] F. Cao, J. Guo, and Q. Ping, "The physicochemical characteristics of freeze-dried scutellarin-cyclodextrin tetracomponent complexes," *Drug development and industrial pharmacy*, vol. 31, pp. 747-756, 2005.
- [143] G. Yurtdaş, M. Demirel, and L. Genç, "Inclusion complexes of fluconazole with β-cyclodextrin: physicochemical characterization and in vitro evaluation of its

- formulation," *Journal of inclusion phenomena and macrocyclic chemistry*, vol. 70, pp. 429-435, 2011.
- [144] L. Shan-Yang and K. Yuh-Horng, "Solid particulates of drug- β -cyclodextrin inclusion complexes directly prepared by a spray-drying technique," *International journal of pharmaceutics*, vol. 56, pp. 249-259, 1989.
- [145] M. Kamihira, T. Asai, Y. Yamagata, M. Taniguchi, and T. Kobayashi, "Formation of inclusion complexes between cyclodextrins and aromatic compounds under pressurized carbon dioxide," *Journal of Fermentation and Bioengineering*, vol. 69, pp. 350-353, 1990.
- [146] E. Locci, S. Lai, A. Piras, B. Marongiu, and A. Lai, " ^{13}C -CPMAS and ^1H -NMR study of the inclusion complexes of β -cyclodextrin with carvacrol, thymol, and eugenol prepared in supercritical carbon dioxide," *Chemistry & biodiversity*, vol. 1, pp. 1354-1366, 2004.
- [147] M. Jug and P. A. Mura, "Grinding as solvent-free green chemistry approach for cyclodextrin inclusion complex preparation in the solid state," *Pharmaceutics*, vol. 10, p. 189, 2018.
- [148] T. Higuchi and K. A. Connors, "Advances in analytical chemistry and instrumentation," *Phase Solubility Studies*, pp. 117-212, 1965.
- [149] T. Higuchi and K. Connors, "Phase Solubility Techniques: Advances in Analytical Chemistry and Instrumentation," *Adv. Anal. Chem. Instrum*, vol. 4, pp. 117-212, 1965.
- [150] T. Loftsson, D. Hreinsdóttir, and M. Masson, "Evaluation of cyclodextrin solubilization of drugs," *International journal of pharmaceutics*, vol. 302, pp. 18-28, 2005.
- [151] T. Loftsson, M. Másson, and J. F. Sigurjónsdóttir, "Methods to enhance the complexation efficiency of cyclodextrins," *STP pharma sciences*, vol. 9, pp. 237-242, 1999.
- [152] D. Landy, S. Fourmentin, M. Salome, and G. Surpateanu, "Analytical improvement in measuring formation constants of inclusion complexes between β -cyclodextrin and phenolic compounds," *Journal of inclusion phenomena and macrocyclic chemistry*, vol. 38, pp. 187-198, 2000.
- [153] D. Landy, F. Tetart, E. Truant, P. Blach, S. Fourmentin, and G. Surpateanu, "Development of a competitive continuous variation plot for the determination of

- inclusion compounds stoichiometry," *Journal of inclusion phenomena and macrocyclic chemistry*, vol. 57, pp. 409-413, 2007.
- [154] G. Decock, S. Fourmentin, G. Surpateanu, D. Landy, P. Decock, and G. Surpateanu, "Experimental and theoretical study on the inclusion compounds of aroma components with β -cyclodextrins," *Supramolecular Chemistry*, vol. 18, pp. 477-482, 2006.
- [155] V. Sinha, R. Anitha, S. Ghosh, A. Nanda, and R. Kumria, "Complexation of celecoxib with β -cyclodextrin: Characterization of the interaction in solution and in solid state," *Journal of pharmaceutical sciences*, vol. 94, pp. 676-687, 2005.
- [156] G. Jadhav and P. Vavia, "Physicochemical, in silico and in vivo evaluation of a danazol- β -cyclodextrin complex," *International journal of pharmaceutics*, vol. 352, pp. 5-16, 2008.
- [157] C. Franco, L. Schwingel, I. Lula, R. D. Sinisterra, L. S. Koester, and V. L. Bassani, "Studies on coumestrol/ β -cyclodextrin association: Inclusion complex characterization," *International journal of pharmaceutics*, vol. 369, pp. 5-11, 2009.
- [158] K. Uekama, T. Fujinaga, F. Hirayama, M. Otagiri, M. Yamasaki, H. Seo, T. Hashimoto, and M. Tsuruoka, "Improvement of the oral bioavailability of digitalis glycosides by cyclodextrin complexation," *Journal of pharmaceutical sciences*, vol. 72, pp. 1338-1341, 1983.
- [159] B. Rao, S. Sarasija, and C. Narendra, "Physicochemical Characterization of Hydroxypropyl-beta-Cyclodextrin Complexes of Rifampicin for Improved Anti-Tubercular Activity and Stability," *INDIAN DRUGS-BOMBAY*-, vol. 43, p. 679, 2006.
- [160] A. Pirnau, C. Floare, and M. Bogdan, "The complexation of flurbiprofen with β -cyclodextrin: a NMR study in aqueous solution," *Journal of inclusion phenomena and macrocyclic chemistry*, vol. 78, pp. 113-120, 2014.
- [161] C. Nicolescu, C. Arama, and C.-M. Monciu, "Preparation and characterization of inclusion complexes between repaglinide and β -cyclodextrin, 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin and randomly methylated β -cyclodextrin," *Farmacia*, vol. 58, pp. 78-88, 2010.
- [162] J. F. Ayala-Zavala, H. Soto-Valdez, A. González-León, E. Alvarez-Parrilla, O. Martin-Belloso, and G. A. González-Aguilar, "Microencapsulation of cinnamon leaf

- (*Cinnamomum zeylanicum*) and garlic (*Allium sativum*) oils in β -cyclodextrin," *Journal of inclusion phenomena and macrocyclic chemistry*, vol. 60, pp. 359-368, 2008.
- [163] A. Takahashi, F. Veiga, and H. Ferraz, "A literature review of cyclodextrin inclusion complexes characterization—Part III: Differential scanning calorimetry and thermogravimetry," *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res.*, vol. 12, pp. 16-20, 2012.
- [164] A. Astakhova and N. Demina, "Modern Drug Technologies: Synthesis, Characterization, and Use of Inclusion Complexes Between Drugs and Cyclodextrins (A Review)," *Pharmaceutical Chemistry Journal*, vol. 38, 2004.
- [165] F. Giordano, C. Novak, and J. R. Moyano, "Thermal analysis of cyclodextrins and their inclusion compounds," *Thermochimica Acta*, vol. 380, pp. 123-151, 2001.
- [166] X. Zhang, D. Wu, J. Lai, Y. Lu, Z. Yin, and W. Wu, "Piroxicam/2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin inclusion complex prepared by a new fluid-bed coating technique," *Journal of pharmaceutical sciences*, vol. 98, pp. 665-675, 2009.
- [167] A. Didja, H. Darrouzet, D. Duchêne, and M.-C. Poelman, "Inclusion of retinoic acid in β -cyclodextrin," *International journal of pharmaceutics*, vol. 54, pp. 175-179, 1989.
- [168] A. H. Al-Marzouqi, I. Shehatta, B. Jobe, and A. Dowaidar, "Phase solubility and inclusion complex of itraconazole with β -cyclodextrin using supercritical carbon dioxide," *Journal of pharmaceutical sciences*, vol. 95, pp. 292-304, 2006.
- [169] K. Hussein, M. Türk, and M. A. Wahl, "Comparative evaluation of ibuprofen/ β -cyclodextrin complexes obtained by supercritical carbon dioxide and other conventional methods," *Pharmaceutical research*, vol. 24, pp. 585-592, 2007.
- [170] S. W. Jun, M.-S. Kim, J.-S. Kim, H. J. Park, S. Lee, J.-S. Woo, and S.-J. Hwang, "Preparation and characterization of simvastatin/hydroxypropyl- β -cyclodextrin inclusion complex using supercritical antisolvent (SAS) process," *European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics*, vol. 66, pp. 413-421, 2007.
- [171] T. Loftsson, H. Frikdriksdóttir, A. M. Sigurkdardóttir, and H. Ueda, "The effect of water-soluble polymers on drug-cyclodextrin complexation," *International journal of pharmaceutics*, vol. 110, pp. 169-177, 1994.
- [172] M. OTAGIRI, T. IMAI, and K. UEKAMA, "Enhanced oral bioavailability of antiinflammatory drug flurbiprofen in rabbits by tri-o-methyl- β -cyclodextrin complexation," *Journal of Pharmacobio-Dynamics*, vol. 5, pp. 1027-1029, 1982.

- [173] T. Imai, M. Otagiri, H. Saito, and K. Uekama, "Inclusion mode of flurbiprofen with β -cyclodextrin and heptakis (2, 3, 6-tri-O-methyl)- β -cyclodextrin, and improvements of some pharmaceutical properties of flurbiprofen by complexation," *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, vol. 36, pp. 354-359, 1988.
- [174] D. D. Chow and A. H. Karara, "Characterization, dissolution and bioavailability in rats of ibuprofen- β -cyclodextrin complex system," *International journal of pharmaceutics*, vol. 28, pp. 95-101, 1986.
- [175] V. F. Smolen, *Controlled drug bioavailability*: J. Wiley & Sons, 1984.
- [176] K. UEKAMA, "Application of cyclodextrins," *Drug Absorption Enhancement: Concepts, Possibilities, Limitations and Trends.*, pp. 411-456, 1994.
- [177] I. Tetsumi, T. Yoshinobu, U. Kaneto, and J. Pitha, "Effect of bile on the intestinal absorption of α -cyclodextrin in rats," *International journal of pharmaceutics*, vol. 43, pp. 41-44, 1988.
- [178] N. NAMBU, K. KIKUCHI, T. KIKUCHI, Y. TAKAHASHI, H. UEDA, and T. NAGAI, "Influence of inclusion of nonsteroidal antiinflammatory drugs with β -cyclodextrin on the irritation to stomach of rats upon oral administration," *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, vol. 26, pp. 3609-3612, 1978.
- [179] L. Patoia, G. Clausi, F. Farroni, P. Alberti, P. Fugiani, and L. Bufalino, "Comparison of faecal blood loss, upper gastrointestinal mucosal integrity and symptoms after piroxicam beta-cyclodextrin, piroxicam and placebo administration," *European journal of clinical pharmacology*, vol. 36, pp. 599-604, 1989.
- [180] L. Santucci, S. Fiorucci, S. Chiucchiù, A. Sicilia, L. Bufalino, and A. Morelli, "Placebo-controlled comparison of piroxicam- β -cyclodextrin, piroxicam, and indomethacin on gastric potential difference and mucosal injury in humans," *Digestive diseases and sciences*, vol. 37, pp. 1825-1832, 1992.
- [181] F. O. Espinar, S. A. Igea, J. B. Mendez, and J. V. Jato, "Reduction in the ulcerogenicity of naproxen by complexation with β -cyclodextrin," *International journal of pharmaceutics*, vol. 70, pp. 35-41, 1991.
- [182] S.-Z. Lin, D. Wouessidjewe, M.-C. Poelman, and D. Duchene, "In vivo evaluation of indomethacin/cyclodextrin complexes gastrointestinal tolerance and dermal anti-

- inflammatory activity," *International journal of pharmaceutics*, vol. 106, pp. 63-67, 1994.
- [183] K. Masuda, A. Ito, T. Ikari, A. Terashima, and T. Matsuyama, "Protective effects of cyclodextrin on the local irritation induced by aqueous preparations of flurbiprofen," *Yakugaku Zasshi: Journal of the Pharmaceutical Society of Japan*, vol. 104, pp. 1075-1082, 1984.
- [184] W. Zielenkiewicz, I. V. Terekhova, M. Koźbiał, M. Wszelaka-Rylik, and R. S. Kumeev, "Complexation of niflumic acid with native and hydroxypropylated α - and β -cyclodextrins in aqueous solution," *Journal of Physical Organic Chemistry*, vol. 21, pp. 859-866, 2008.
- [185] U. Domańska, A. Pelczarska, and A. Pobudkowska, "Effect of 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin on solubility of sparingly soluble drug derivatives of anthranilic acid," *International journal of molecular sciences*, vol. 12, pp. 2383-2394, 2011.
- [186] M. Bogdan, C. Floare, D. Bogdan, and S. Farcas, "Photo degradation of inclusion complexes of naproxen and niflumic acid with β -cyclodextrin," *National Institute for Research and Development of Isotopic and Molecular Technologies. Cluj-Napoca, Romania*.
- [187] J. Szejtli, L. Szente, A. David, S. Virag, G. Sebestyen, and A. Mandi, "Inclusion complex of cyclodextrin and indomethacin and a process for the preparation thereof, method of use and pharmaceutical composition," ed: Google Patents, 1980.
- [188] M. Otagiri, K. Uekama, and K. Ikeda, "Inclusion complexes of β -cyclodextrin with tranquilizing drugs phenothiazines in aqueous solution," *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, vol. 23, pp. 188-195, 1975.
- [189] B.-J. Lee and J.-R. Lee, "Enhancement of solubility and dissolution rate of poorly water-soluble naproxen by complexation with 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin," *Archives of pharmacal research*, vol. 18, pp. 22-26, 1995.
- [190] A. A. Mahmoud, G. S. El-Feky, R. Kamel, and G. E. Awad, "Chitosan/sulfobutylether- β -cyclodextrin nanoparticles as a potential approach for ocular drug delivery," *International journal of pharmaceutics*, vol. 413, pp. 229-236, 2011.

- [191] M. Tanaka, Y. Iwata, Y. Kouzuki, K. Taniguchi, H. Matsuda, H. Arima, and S. Tsuchiya, "Effect of 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin on percutaneous absorption of methyl paraben," *Journal of pharmacy and pharmacology*, vol. 47, pp. 897-900, 1995.
- [192] R. Machín, J. R. Isasi, and I. Vélaz, " β -Cyclodextrin hydrogels as potential drug delivery systems," *Carbohydrate polymers*, vol. 87, pp. 2024-2030, 2012.
- [193] A. Celebioglu and T. Uyar, "Electrospun formulation of acyclovir/cyclodextrin nanofibers for fast-dissolving antiviral drug delivery," *Materials Science and Engineering: C*, vol. 118, p. 111514, 2021.
- [194] J. Deng, Q. J. Chen, W. Li, Z. Zuberi, J. X. Feng, Q. L. Lin, J. L. Ren, F. J. Luo, Q. M. Ding, and X. X. Zeng, "Toward improvements for carrying capacity of the cyclodextrin-based nanosponges: recent progress from a material and drug delivery," *Journal of Materials Science*, vol. 56, pp. 5995-6015, 2021.
- [195] P. Jansook and T. Loftsson, "CDs as solubilizers: Effects of excipients and competing drugs," *International journal of pharmaceutics*, vol. 379, pp. 32-40, 2009.
- [196] M. Agüeros, L. Ruiz-Gatón, C. Vauthier, K. Bouchemal, S. Espuelas, G. Ponchel, and J. Irache, "Combined hydroxypropyl- β -cyclodextrin and poly (anhydride) nanoparticles improve the oral permeability of paclitaxel," *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 38, pp. 405-413, 2009.
- [197] T. Loftsson and M. E. Brewster, "Pharmaceutical applications of cyclodextrins. 1. Drug solubilization and stabilization," *Journal of pharmaceutical sciences*, vol. 85, pp. 1017-1025, 1996.
- [198] M. Melnik, L. Maca'skova, and C. E. Holloway, "Spectroscopic and magnetic properties of copper (II) niflumates," *Journal of coordination chemistry*, vol. 30, pp. 145-150, 1993.
- [199] E. Gholibegloo, T. Mortezaadeh, F. Salehian, A. Ramazani, M. Amanlou, and M. Khoobi, "Improved curcumin loading, release, solubility and toxicity by tuning the molar ratio of cross-linker to β -cyclodextrin," *Carbohydrate polymers*, vol. 213, pp. 70-78, 2019.
- [200] V. Cozma, I. Rosca, L. Radulescu, C. Martu, V. Nastasa, C.-D. Varganici, E.-L. Ursu, F. Doroftei, M. Pinteala, and C. Racles, "Antibacterial polysiloxane polymers and coatings for cochlear implants," *Molecules*, vol. 26, p. 4892, 2021.

- [201] C. M. Uritu, C. D. Varganici, L. Ursu, A. Coroaba, A. Nicolescu, A. I. Dascalu, D. Peptanariu, D. Stan, C. A. Constantinescu, and V. Simion, "Hybrid fullerene conjugates as vectors for DNA cell-delivery," *Journal of Materials Chemistry B*, vol. 3, pp. 2433-2446, 2015.
- [202] I. Goryanin, L. Ovchinnikov, S. Vesnin, and Y. Ivanov, "Monitoring protein denaturation of egg white using passive microwave radiometry (mwr)," *Diagnostics*, vol. 12, p. 1498, 2022.
- [203] S. Dharmadeva, L. S. Galgamuwa, C. Prasadinie, and N. Kumarasinghe, "In vitro anti-inflammatory activity of Ficus racemosa L. bark using albumin denaturation method," *AYU (An international quarterly journal of research in Ayurveda)*, vol. 39, pp. 239-242, 2018.
- [204] H. Madhuranga and D. Samarakoon, "In vitro Anti-Inflammatory Egg Albumin Denaturation Assay: An Enhanced Approach," *Nat Ayurvedic Med*, vol. 7, p. 000411, 2023.
- [205] P. Molyneux, "The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity," *Songklanakarin J. sci. technol*, vol. 26, pp. 211-219, 2004.
- [206] D. Prakash, G. Upadhyay, C. Gupta, P. Pushpangadan, and K. Singh, "Antioxidant and free radical scavenging activities of some promising wild edible fruits," *International Food Research Journal*, vol. 19, 2012.
- [207] R. Massoud, R. Jafari-Dastjerdeh, N. Naghavi, and K. Khosravi-Darani, "All aspects of antioxidant properties of kombucha drink," *Biointerface Res. Appl. Chem*, vol. 12, pp. 4018-4027, 2022.
- [208] N. H. Nguyen, M. T. Nguyen, H. D. Nguyen, P. D. Pham, U. D. Thach, B. T. Trinh, L. T. Nguyen, S. V. Dang, A. T. Do, and B. H. Do, "Antioxidant and antimicrobial activities of the extracts from different Garcinia Species," *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, vol. 2021, p. 5542938, 2021.
- [209] Z. Bedlovičová, I. Strapáč, M. Baláž, and A. Salayová, "A brief overview on antioxidant activity determination of silver nanoparticles," *Molecules*, vol. 25, p. 3191, 2020.
- [210] A. Sadiq, F. Mahmood, F. Ullah, M. Ayaz, S. Ahmad, F. U. Haq, G. Khan, and M. S. Jan, "Synthesis, anticholinesterase and antioxidant potentials of ketoesters derivatives of

- succinimides: a possible role in the management of Alzheimer's," *Chemistry Central Journal*, vol. 9, pp. 1-9, 2015.
- [211] B. Halliwell and J. M. Gutteridge, "Formation of a thiobarbituric-acid-reactive substance from deoxyribose in the presence of iron salts: the role of superoxide and hydroxyl radicals," *FEBS letters*, vol. 128, pp. 347-352, 1981.
- [212] I. Boncheva, "The Role of Iron in Epidermal Healing and Infection," *McGill Science Undergraduate Research Journal*, vol. 18, pp. B6-B9, 2023.
- [213] W. Liu, N. Pan, Y. Han, D. Li, and J. Chai, "Solubilization, stability and antioxidant activity of curcumin in a novel surfactant-free microemulsion system," *LWT*, vol. 147, p. 111583, 2021.
- [214] M. Weber, H. Steinle, S. Golombek, L. Hann, C. Schlensak, H. P. Wendel, and M. Avci-Adali, "Blood-contacting biomaterials: in vitro evaluation of the hemocompatibility," *Frontiers in bioengineering and biotechnology*, vol. 6, p. 99, 2018.
- [215] Z. S. Abbas, G. M. Sulaiman, M. S. Jabir, S. A. Mohammed, R. A. Khan, H. A. Mohammed, and A. Al-Subaiyel, "Galangin/ β -cyclodextrin inclusion complex as a drug-delivery system for improved solubility and biocompatibility in breast cancer treatment," *Molecules*, vol. 27, p. 4521, 2022.
- [216] M. S. Freag, Y. S. Elnaggar, D. A. Abdelmonsif, and O. Y. Abdallah, "Layer-by-layer-coated lyotropic liquid crystalline nanoparticles for active tumor targeting of rapamycin," *Nanomedicine*, vol. 11, pp. 2975-2996, 2016.
- [217] H. Chaudhary, A. Rohilla, P. Rathee, and V. Kumar, "Optimization and formulation design of carbopol loaded Piroxicam gel using novel penetration enhancers," *International journal of biological macromolecules*, vol. 55, pp. 246-253, 2013.
- [218] A. Garg, J. Ahmad, and M. Z. Hassan, "Inclusion complex of thymol and hydroxypropyl- β -cyclodextrin (HP- β -CD) in polymeric hydrogel for topical application: physicochemical characterization, molecular docking, and stability evaluation," *Journal of drug delivery science and technology*, vol. 64, p. 102609, 2021.
- [219] J. Sheorain, M. Mehra, R. Thakur, S. Grewal, and S. Kumari, "In vitro anti-inflammatory and antioxidant potential of thymol loaded bipolymeric (tragacanth gum/chitosan) nanocarrier," *International journal of biological macromolecules*, vol. 125, pp. 1069-1074, 2019.

- [220] A. Lopedota, A. Cutrignelli, N. Denora, V. Laquintana, A. Lopalco, S. Selva, L. Ragni, S. Tongiani, and M. Franco, "New ethanol and propylene glycol free gel formulations containing a minoxidil-methyl- β -cyclodextrin complex as promising tools for alopecia treatment," *Drug development and industrial pharmacy*, vol. 41, pp. 728-736, 2015.
- [221] T. Keller, H. Zulliger, and R. Niederer, "Simple model for measuring spreadability of suppository bases," *Acta Pharm Technol*, vol. 28, pp. 277-286, 1982.
- [222] I. Alexander and I. I. KRASNYUK, "Dermatologic gels spreadability measuring methods comparative study," *Int J Appl Pharm*, vol. 14, pp. 164-168, 2022.
- [223] M. Teodorescu, S. Morariu, M. Bercea, and L. Săcărescu, "Viscoelastic and structural properties of poly (vinyl alcohol)/poly (vinylpyrrolidone) hydrogels," *RSC advances*, vol. 6, pp. 39718-39727, 2016.
- [224] K. Ghosh, X. Z. Shu, R. Mou, J. Lombardi, G. D. Prestwich, M. H. Rafailovich, and R. A. Clark, "Rheological characterization of in situ cross-linkable hyaluronan hydrogels," *Biomacromolecules*, vol. 6, pp. 2857-2865, 2005.
- [225] Y. Levintova, F. M. Plakogiannis, and R. A. Bellantone, "An improved in vitro method for measuring skin permeability that controls excess hydration of skin using modified Franz diffusion cells," *International journal of pharmaceutics*, vol. 419, pp. 96-106, 2011.
- [226] A. Simon, M. I. Amaro, A. M. Healy, L. M. Cabral, and V. P. de Sousa, "Comparative evaluation of rivastigmine permeation from a transdermal system in the Franz cell using synthetic membranes and pig ear skin with in vivo-in vitro correlation," *International journal of pharmaceutics*, vol. 512, pp. 234-241, 2016.
- [227] N. Ö. Kocabaş, E. Kahraman, and S. Güngör, "Assessment of membrane type effects on in vitro performance of topical semi-solid products," *Journal of drug delivery science and technology*, vol. 64, p. 102646, 2021.
- [228] F. Bourdon, "Développement de formes transdermiques à usage hospitalier, à partir de véhicules prêts à l'emploi, pour le traitement des nausées et vomissements chimio-induits," Université du Droit et de la Santé-Lille II, 2015.
- [229] S. Rawat, "Release enhancement of meloxicam from transdermal gel through cyclodextrin complexation," *International journal of pharmaceutical sciences and research*, vol. 2, p. 357, 2011.

- [230] M. Jug, M. BECIREVIC-LACAN, A. Kwokal, and B. Cetina-Cizmek, "Influence of cyclodextrin complexation on piroxicam gel formulations," *Acta pharmaceutica*, vol. 55, pp. 223-236, 2005.
- [231] A. Arellano, S. Santoyo, C. Martín, and P. Ygartua, "Influence of propylene glycol and isopropyl myristate on the in vitro percutaneous penetration of diclofenac sodium from carbopol gels," *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 7, pp. 129-135, 1999.
- [232] A. Klaewklod, V. Tantishaiyakul, N. Hirun, T. Sangfai, and L. Li, "Characterization of supramolecular gels based on β -cyclodextrin and polyethyleneglycol and their potential use for topical drug delivery," *Materials Science and Engineering: C*, vol. 50, pp. 242-250, 2015.
- [233] K. Kierstan, A. Beezer, J. Mitchell, J. Hadgraft, S. Raghavan, and A. Davis, "UV-spectrophotometry study of membrane transport processes with a novel diffusion cell," *International journal of pharmaceutics*, vol. 229, pp. 87-94, 2001.
- [234] B.-F. Craciun, I.-A. Sandu, D. Peptanariu, and M. Pinteala, "Novel Nanotherapeutic Systems Based on PEGylated Squalene Micelles for Enhanced In Vitro Activity of Methotrexate and Cytarabine," *Polymers*, vol. 15, p. 4225, 2023.
- [235] H. R. Aucoin, A. N. Wilson, A. M. Wilson, K. Ishihara, and A. Guiseppi-Elie, "Release of potassium ion and calcium ion from phosphorylcholine group bearing hydrogels," *Polymers*, vol. 5, pp. 1241-1257, 2013.
- [236] P. Costa and J. M. S. Lobo, "Modeling and comparison of dissolution profiles," *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 13, pp. 123-133, 2001.
- [237] T. Higuchi, "Mechanism of sustained-action medication. Theoretical analysis of rate of release of solid drugs dispersed in solid matrices," *Journal of pharmaceutical sciences*, vol. 52, pp. 1145-1149, 1963.
- [238] R. W. Korsmeyer, R. Gurny, E. Doelker, P. Buri, and N. A. Peppas, "Mechanisms of solute release from porous hydrophilic polymers," *International journal of pharmaceutics*, vol. 15, pp. 25-35, 1983.
- [239] A. Hixson and J. Crowell, "Dependence of reaction velocity upon surface and agitation," *Industrial & engineering chemistry*, vol. 23, pp. 923-931, 1931.

- [240] D. Sid, M. Baitiche, Z. Elbahri, F. Djerboua, M. Boutahala, Z. Bouaziz, and M. Le Borgne, "Solubility enhancement of mefenamic acid by inclusion complex with β -cyclodextrin: in silico modelling, formulation, characterisation, and in vitro studies," *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, vol. 36, pp. 605-617, 2021.
- [241] S. R. S. Rudrangi, R. Bhomia, V. Trivedi, G. J. Vine, J. C. Mitchell, B. D. Alexander, and S. R. Wicks, "Influence of the preparation method on the physicochemical properties of indomethacin and methyl- β -cyclodextrin complexes," *International journal of pharmaceutics*, vol. 479, pp. 381-390, 2015.
- [242] R. S. Hirlekar, S. N. Sonawane, and V. J. Kadam, "Studies on the effect of water-soluble polymers on drug-cyclodextrin complex solubility," *AAPS PharmSciTech*, vol. 10, pp. 858-863, 2009.
- [243] Y. Kim, D. A. Oksanen, J. W. Massefski, J. F. Blake, E. M. Duffy, and B. Chrunk, "Inclusion complexation of ziprasidone mesylate with β -cyclodextrin sulfobutyl ether," *Journal of pharmaceutical sciences*, vol. 87, pp. 1560-1567, 1998.
- [244] A. C. R. Rama, F. Veiga, I. V. Figueiredo, A. Sousa, and M. Caramona, "Aspectos biofarmacêuticos da formulação de medicamentos para neonatos: fundamentos da complexação de indometacina com hidroxipropil-beta-ciclodextrina para tratamento oral do fechamento do canal arterial," *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, vol. 41, pp. 281-299, 2005.
- [245] J. Li, L. Han, and J. Chao, "Preparation and characterization of the inclusion complex of baicalein with γ -cyclodextrin: an antioxidant ability study," *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, vol. 73, pp. 247-254, 2012.
- [246] G. M. Khan, F. Wazir, and J.-b. Zhu, "Ibuprofen-cyclodextrin inclusion complexes: evaluation of different complexation methods," *J. Med. Sci*, vol. 1, pp. 193-199, 2001.
- [247] O. M. Păduraru, A. Bosînceanu, G. Țântaru, and C. Vasile, "Effect of Hydroxypropyl- β -Cyclodextrin on the Solubility of an Antiarrhythmic Agent," *Industrial & Engineering Chemistry Research*, vol. 52, pp. 2174-2181, 2013.
- [248] A. Ahad, Y. A. B. Jordan, M. Raish, A. M. Al-Mohizea, and F. I. Al-Jenoobi, "Ternary inclusion complex of sinapic acid with hydroxypropyl- β -cyclodextrin and hydrophilic polymer prepared by microwave technology," *Processes*, vol. 10, p. 2637, 2022.

- [249] A. P. Sherje, F. Patel, M. Murahari, V. Suvarna, and K. Patel, "Study on effect of L-arginine on solubility and dissolution of Zaltoprofen: Preparation and characterization of binary and ternary cyclodextrin inclusion complexes," *Chemical physics letters*, vol. 694, pp. 120-128, 2018.
- [250] L. C. da Silva Mourao, D. R. M. Ribeiro Batista, S. B. Honorato, A. P. Ayala, W. de Alencar Moraes, E. G. Barbosa, F. N. Raffin, and T. F. A. de Lima e Moura, "Effect of hydroxypropyl methylcellulose on beta cyclodextrin complexation of praziquantel in solution and in solid state," *Journal of inclusion phenomena and macrocyclic chemistry*, vol. 85, pp. 151-160, 2016.
- [251] C.-D. Varganici, O. Ursache, C. Gaina, V. Gaina, and B. C. Simionescu, "Studies on new hybrid materials prepared by both Diels–Alder and Michael addition reactions," *Journal of thermal analysis and calorimetry*, vol. 111, pp. 1561-1570, 2013.
- [252] P. Jadhav and Y. Pore, "Physicochemical, thermodynamic and analytical studies on binary and ternary inclusion complexes of bosentan with hydroxypropyl- β -cyclodextrin," *Bulletin of Faculty of Pharmacy, Cairo University*, vol. 55, pp. 147-154, 2017.
- [253] B. Minea, N. Marangoci, D. Peptanariu, I. Rosca, V. Nastasa, A. Corciova, C. Varganici, A. Nicolescu, A. Fifere, and A. Neamtu, "Inclusion complexes of propiconazole nitrate with substituted β -cyclodextrins: The synthesis and in silico and in vitro assessment of their antifungal properties," *New Journal of Chemistry*, vol. 40, pp. 1765-1776, 2016.
- [254] P. Mura, "Analytical techniques for characterization of cyclodextrin complexes in the solid state: A review," *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, vol. 113, pp. 226-238, 2015.
- [255] I. H. Grebogi, A. P. O. Tibola, A. Barison, C. W. Grandizoli, H. G. Ferraz, and L. N. Rodrigues, "Binary and ternary inclusion complexes of dapsone in cyclodextrins and polymers: preparation, characterization and evaluation," *Journal of inclusion phenomena and macrocyclic chemistry*, vol. 73, pp. 467-474, 2012.
- [256] A. Corciova, C. Ciobanu, A. Poiata, A. Nicolescu, M. Droboata, C. Varganici, T. Pinteala, A. Fifere, N. Marangoci, and C. Mircea, "Inclusion complexes of hesperidin with hydroxypropyl- β -cyclodextrin. Physico-chemical characterization and biological assessment," *Dig. J. Nanomater. Biostruct*, vol. 9, pp. 1623-1637, 2014.

- [257] I. M. Vasincu, M. Apotrosoaei, F. Lupascu, A.-T. Iacob, S.-E. Giusca, I.-D. Caruntu, N.-L. Marangoci, A. R. Petrovici, G. D. Stanciu, and B.-I. Tamba, "Complexes of Ibuprofen Thiazolidin-4-One Derivatives with β -Cyclodextrin: Characterization and In Vivo Release Profile and Biological Evaluation," *Pharmaceutics*, vol. 15, p. 2492, 2023.
- [258] C.-D. Varganici, N. Marangoci, L. Rosu, C. Barbu-Mic, D. Rosu, M. Pinteala, and B. C. Simionescu, "TGA/DTA–FTIR–MS coupling as analytical tool for confirming inclusion complexes occurrence in supramolecular host–guest architectures," *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, vol. 115, pp. 132-142, 2015.
- [259] L. Tundisi, G. Mostaçõ, P. C. Carricondo, and D. Petri, "Hydroxypropyl methylcellulose: Physicochemical properties and ocular drug delivery formulations," *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 159, p. 105736, 2021.
- [260] T. HŁADON and B. Cwiertnia, "Physical and chemical interactions between cellulose ethers and β -cyclodextrins," *Pharmazie*, vol. 49, pp. 497-500, 1994.
- [261] N. Radacsi, K. P. Giapis, G. Ovari, P. Szabó-Révész, and R. Ambrus, "Electrospun nanofiber-based niflumic acid capsules with superior physicochemical properties," *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, vol. 166, pp. 371-378, 2019.
- [262] S. Q. Goh, R. Adnan, and N. Y. Rahim, "Mini review on synthesis and characterization methods for ternary inclusion complexes of cyclodextrins with drugs," *Malaysian Journal of Chemistry*, vol. 24, pp. 54-72, 2022.
- [263] A. Ryzhakov, T. Do Thi, J. Stappaerts, L. Bertoletti, K. Kimpe, A. R. S. Couto, P. Saokham, G. Van den Mooter, P. Augustijns, and G. W. Somsen, "Self-assembly of cyclodextrins and their complexes in aqueous solutions," *Journal of pharmaceutical sciences*, vol. 105, pp. 2556-2569, 2016.
- [264] M. Messner, S. V. Kurkov, M. M. Palazón, B. Á. Fernández, M. E. Brewster, and T. Loftsson, "Self-assembly of cyclodextrin complexes: Effect of temperature, agitation and media composition on aggregation," *International journal of pharmaceutics*, vol. 419, pp. 322-328, 2011.
- [265] J. He, H.-Y. Chen, H. Chen, B. Wang, F. Guo, and Z.-P. Zheng, "Characterization, Stability, and Antibrowning Effects of Oxyresveratrol Cyclodextrin Complexes Combined Use of Hydroxypropyl Methylcellulose," *Foods*, vol. 11, p. 2471, 2022.

- [266] M. Kotronia, E. Kavetsou, S. Loupassaki, S. Kikionis, S. Vouyiouka, and A. Detsi, "Encapsulation of oregano (*Origanum onites* L.) essential oil in β -cyclodextrin (β -CD): Synthesis and characterization of the inclusion complexes," *Bioengineering*, vol. 4, p. 74, 2017.
- [267] F. Djedaïni and B. Perly, "Nuclear magnetic resonance investigation of the stoichiometries in β -cyclodextrin: steroid inclusion complexes," *Journal of pharmaceutical sciences*, vol. 80, pp. 1157-1161, 1991.
- [268] Y. Inoue, "NMR studies of the structure and properties of cyclodextrins and their inclusion complexes," in *Annual reports on NMR spectroscopy*. vol. 27, ed: Elsevier, 1993, pp. 59-101.
- [269] L. A. Soares, A. F. V. B. Leal, L. F. Fraceto, E. R. Maia, I. S. Resck, M. J. Kato, E. de Sousa Gil, A. R. de Sousa, L. C. da Cunha, and K. R. Rezende, "Host–guest system of 4-nerolidylcatechol in 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin: preparation, characterization and molecular modeling," *Journal of inclusion phenomena and macrocyclic chemistry*, vol. 64, pp. 23-35, 2009.
- [270] V. Van Axel Castelli, G. Trivieri, I. Zucchelli, L. Brambilla, T. Barbuzzi, C. Castiglioni, M. Paci, G. Zerbi, and M. Zanol, "Characterisation of an inclusion complex between cladribine and 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin," *Journal of pharmaceutical sciences*, vol. 97, pp. 3897-3906, 2008.
- [271] C.-Y. Chen, F.-A. Chen, A.-B. Wu, H.-C. Hsu, J.-J. Kang, and H.-W. Cheng, "Effect of hydroxypropyl- β -cyclodextrin on the solubility, photostability and in-vitro permeability of alkannin/shikonin enantiomers," *International journal of pharmaceuticals*, vol. 141, pp. 171-178, 1996.
- [272] J. Herman, J. P. Remon, R. Lefebvre, M. Bogaert, G. Klinger, and J. Schwartz, "The dissolution rate and bioavailability of hydrochlorothiazide in pellet formulations," *Journal of pharmacy and pharmacology*, vol. 40, pp. 157-160, 1988.
- [273] M. Shah, Y. Pore, S. Dhawale, K. Burade, and B. Kuchekar, "Physicochemical characterization of spray dried ternary micro-complexes of cefuroxime axetil with hydroxypropyl- β -cyclodextrin," *Journal of inclusion phenomena and macrocyclic chemistry*, vol. 76, pp. 391-401, 2013.

- [274] Z. Li, L. M. Johnson, R. G. Ricarte, L. J. Yao, M. A. Hillmyer, F. S. Bates, and T. P. Lodge, "Enhanced performance of blended polymer excipients in delivering a hydrophobic drug through the synergistic action of micelles and HPMCAS," *Langmuir*, vol. 33, pp. 2837-2848, 2017.
- [275] H. M. H. Soe, S. Chamni, P. Mahalapbutr, N. Kongtaworn, T. Rungrotmongkol, and P. Jansook, "The investigation of binary and ternary sulfobutylether- β -cyclodextrin inclusion complexes with asiaticoside in solution and in solid state," *Carbohydrate Research*, vol. 498, p. 108190, 2020.
- [276] M. Jug and M. Bećirević-Laćan, "Multicomponent complexes of piroxicam with cyclodextrins and hydroxypropyl methylcellulose," *Drug development and industrial pharmacy*, vol. 30, pp. 1051-1060, 2004.
- [277] J. M. Unagolla and A. C. Jayasuriya, "Drug transport mechanisms and in vitro release kinetics of vancomycin encapsulated chitosan-alginate polyelectrolyte microparticles as a controlled drug delivery system," *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 114, pp. 199-209, 2018.
- [278] S. Chandra, P. Chatterjee, P. Dey, and S. Bhattacharya, "Evaluation of in vitro anti-inflammatory activity of coffee against the denaturation of protein," *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, vol. 2, pp. S178-S180, 2012.
- [279] W. F. da Silva Júnior, D. L. Bezerra de Menezes, L. C. de Oliveira, L. S. Koester, P. D. Oliveira de Almeida, E. S. Lima, E. P. de Azevedo, V. F. da Veiga Júnior, and Á. A. Neves de Lima, "Inclusion complexes of β and HP β -cyclodextrin with α , β amyrin and in vitro anti-inflammatory activity," *Biomolecules*, vol. 9, p. 241, 2019.
- [280] C. Yuan, Z. Jin, X. Xu, H. Zhuang, and W. Shen, "Preparation and stability of the inclusion complex of astaxanthin with hydroxypropyl- β -cyclodextrin," *Food Chemistry*, vol. 109, pp. 264-268, 2008.
- [281] S. Achat, "Polyphénols de l'alimentation: extraction, pouvoir antioxydant et interactions avec des ions métalliques," Université d'Avignon; Université Abderrahmane Mira-Bejaïa (Bejaïa, Algérie), 2013.
- [282] S. V. Kurkov and T. Loftsson, "Cyclodextrins," *International journal of pharmaceutics*, vol. 453, pp. 167-180, 2013.

- [283] A. Matencio, F. Caldera, A. R. Pedrazzo, Y. K. Monfared, N. K. Dhakar, and F. Trotta, "A physicochemical, thermodynamical, structural and computational evaluation of kynurenic acid/cyclodextrin complexes," *Food Chemistry*, vol. 356, p. 129639, 2021.
- [284] J. M. López-Nicolás and F. García-Carmona, "Effect of hydroxypropyl- β -cyclodextrin on the aggregation of (E)-resveratrol in different protonation states of the guest molecule," *Food Chemistry*, vol. 118, pp. 648-655, 2010.
- [285] J. Junthip, N. Tabary, L. Leclercq, and B. Martel, "Cationic β -cyclodextrin polymer applied to a dual cyclodextrin polyelectrolyte multilayer system," *Carbohydrate polymers*, vol. 126, pp. 156-167, 2015.
- [286] H. Ammar, M. Ghorab, S. El-Nahhas, and R. Kamel, "Polymeric matrix system for prolonged delivery of tramadol hydrochloride, part I: physicochemical evaluation," *AAPS PharmSciTech*, vol. 10, pp. 7-20, 2009.
- [287] H. Lambers, S. Piessens, A. Bloem, H. Pronk, and P. Finkel, "Natural skin surface pH is on average below 5, which is beneficial for its resident flora," *International journal of cosmetic science*, vol. 28, pp. 359-370, 2006.
- [288] D. Vandana and S. Pawar, "Formulation and evaluation of topical herbal gel containing inclusion complex of curcumin," *Asian J Pharm Clin Res*, vol. 12, pp. 196-201, 2019.
- [289] A. Abou-Okeil, M. Rehan, S. El-Sawy, M. El-Bisi, O. Ahmed-Farid, and F. Abdel-Mohdy, "Lidocaine/ β -cyclodextrin inclusion complex as drug delivery system," *European Polymer Journal*, vol. 108, pp. 304-310, 2018.
- [290] J. van Otterloo and A. R. Cruden, "Rheology of pig skin gelatine: Defining the elastic domain and its thermal and mechanical properties for geological analogue experiment applications," *Tectonophysics*, vol. 683, pp. 86-97, 2016.
- [291] H. A. Barnes, *A handbook of elementary rheology*: University of Wales, Institute of Non-Newtonian Fluid Mechanics, 2000.