



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

## UNIVERSITE ABOU-BEKR BELKAID - TLEMCCEN

# MEMOIRE

Présenté à :

FACULTE DES SCIENCES – DEPARTEMENT DE CHIMIE

Pour l'obtention du diplôme de :

**MASTER EN CHIMIE**

Spécialité : Chimie organique

Par :

**M<sup>ELLE</sup> LAOUFI Lemya**

Sur le thème

---

## **Etude des complexes d'inclusion du resvératrol - cyclodextrine**

---

Soutenu publiquement le 20 juin 2022 à Tlemcen devant le jury composé de :

Mr Benabdallah Med	Maitre de Conférences	Université de Tlemcen	Président
Mme Keniche Assia	Maitre de Conférences	Université de Tlemcen	Encadrante
Mr Ziani-Cherif-Houcine	Professeur	Université de Tlemcen	Examinateur
Mme Kibou Zahira	Maitre de Conférences	Université de Ain Temouchent	Examinatrice

*Année Universitaire : 2021 ~ 2022*

## *DEDICACES*

*Il n'est jamais si beau que de dédie ce modeste travail à ceux qui, quels que soient les termes embrassés, je n'arriverais jamais à leur exprimer mon amour sincère.*

*A l'homme, mon précieux offre du dieu, qui doit ma vie, ma réussite et tout mon respect : mon cher père Mohamed.*

*A l'être le plus cher de ma vie, la femme qui a souffert sans me laisser souffrir, qui n'a épargné aucun effort pour me rendre heureuse : mon adorable mère.*

*A ma sœur Meriem, et mon fiancé Mohamed qui n'ont pas cessé de me conseiller, encourager et soutenir tout au long de mes études, que dieu les protège et leurs offre la chance et le bonheur.*

*A mon adorable petit frère Ibrahim El-Khalil qui sait toujours comment procurer la joie et le bonheur pour toute la famille.*

*Merci pour l'amour et l'encouragement.*

## **REMERCIEMENTS**

*Tout d'abord ce travail ne serait pas aussi riche et n'aurait pas pu avoir le jour sans l'aide et l'encadrement de Dr Keniche Assia, je la remercie pour la qualité de son encadrement exceptionnel, pour sa patience, sa rigueur et sa disponibilité.*

*Je remercie le directeur du laboratoire COSNA PrDjabou Nassim, de m'avoir accueilli dans le laboratoire*

*Je remercie Pr.C. Ziani Cherif du laboratoire LCSCO pour les analyses RMN et Pr.S.Ghanem du laboratoire LASNABIO pour les analyses IR..*

*Je tiens aussi à exprimer mes remerciements à monsieur Benabdallah Med qui me fait l'honneur de présider le jury de cette mémoire. Je la prie de croire à ma respectueuse reconnaissance.*

*J'adresse mes sincères remerciements à monsieur Ziani-Cherif Houcine et madame Kibou Zahira qui ont acceptés d'examiner ce travail.*

## **LISTE DES ABREVIATIONS**

**CD** : Cyclodextrine

**COSNA** : Laboratoire Chimie Organique, Substances Naturelles et Analyses

**DMSO -d6** : Diméthylsulfoxyde

**IR** : Infra-rouge

**LCSCO** : Laboratoire de catalyse et synthèse en chimie organique

**LASNABIO** : Laboratoire de Substances Naturelles et Bioactives

**NP CD-RES** : Nanoparticules polymères de complexe cyclodextrine-resvératrol .

**RES** : Resvératrol

**RHSD** : Resveratrol / hydroxypropylcyclodextrine

**RMN** : Résonance magnétique nucléaire.

**UV** : Ultraviolet

# Sommaire

I.	INTRODUCTION GENERALE .....	7
I.1	Généralité : .....	7
I.2	Problématique : .....	7
I.3	Objectif : .....	7
II.	Partie 1 : recherche bibliographique .....	8
II.1	Chapitre 1 : Le resvératrol.....	8
II.1.1	Origine : .....	8
II.1.2	Structure générale .....	8
II.1.3	Propriétés chimique et propriétés physique .....	8
II.1.3.1	Propriétés chimiques: .....	8
II.1.3.2	Propriétés physiques : .....	9
II.1.4	Propriétés thérapeutiques .....	9
II.1.5	Absorption, métabolisme et biodisponibilité .....	9
II.1.5.1	Absorption .....	9
II.1.5.2	Métabolisme .....	9
II.1.5.3	Biodisponibilité .....	10
II.2	Chapitre 2 : Les cyclodextrines et les complexes d'inclusions.....	11
II.2.1	Les cyclodextrines .....	11
II.2.1.1	Historique .....	11
II.2.1.2	Structure des cyclodextrines .....	11
II.2.1.3	Caractéristique physicochimique des cyclodextrines .....	12
II.2.2	Les complexes d'inclusions .....	12
II.2.2.1	La constante de stabilité et la stœchiométrie du CD .....	12
II.2.2.2	Etudes complexes d'inclusion .....	13
II.2.2.3	Impact de la cyclodextrine sur les propriétés du RES .....	13
III.	Partie résultats et discussion.....	15
III.1	Chapitre 1 : Travail effectué .....	15
III.1.1	Etude de la complexation de resvératrol avec les CD's .....	15
III.1.1.1	Etude de la complexation en solution par UV-Vis .....	15
III.1.1.2	Etude de la complexation en solution par RMN .....	20
III.1.1.3	Etude de la complexation en pâte par FT-IR .....	24
III.1.2	Evaluation de l'activité antioxydante de RES et leurs complexes par la méthode de DPPH .....	26
III.1.3	Conclusion et perspectives .....	28
III.2	Chapitre 2 : Partie expérimentale.....	29

III.2.1	Appareils et méthodes .....	29
III.2.1.1	Ultraviolet .....	29
III.2.1.2	Infrarouge.....	29
III.2.1.3	Résonance magnétique nucléaire .....	29
III.2.2	Tableaux .....	29
III.2.3	Protocoles .....	32
III.2.3.1	Protocole d'inclusion par IR .....	32
III.2.3.2	Test par radical libre DPPH.....	33
IV.	REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES .....	35
	ABSTRACT.....	42

# I. INTRODUCTION GENERALE

---

## I.1 Généralité :

Le resvératrol (RES) est une substance naturelle, qui fait parti des polyphénols. Il fait l'objet d'une attention considérable ces dernières années en raison de ses nombreux effets thérapeutiques, notamment ses effets anticancéreux, antioxydants et anti-inflammatoires. Cependant il présente de mauvaises propriétés pharmacocinétiques telles qu'une faible solubilité dans l'eau, une faible photostabilité et un métabolisme de premier passage élevé entraînent une faible biodisponibilité, ce qui entrave son grand potentiel.

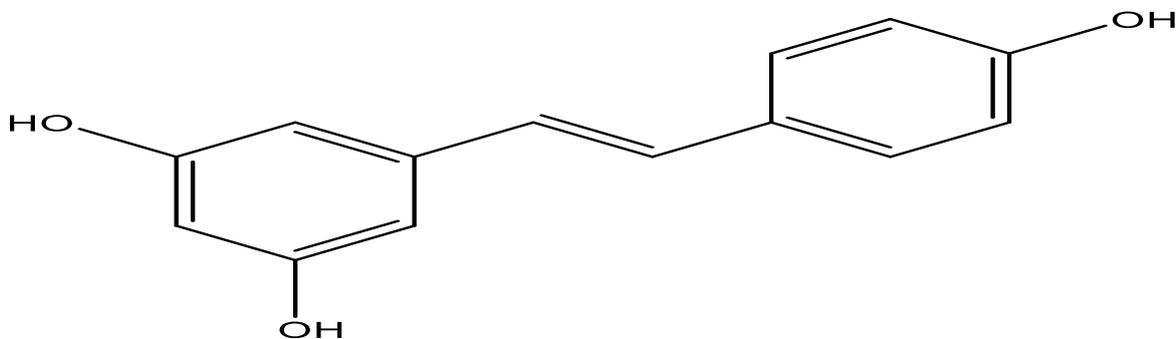


Figure 1 : Structure du resvératrol.

## I.2 Problématique :

Les Cyclodextrines (CD) peuvent ainsi inclure partiellement ou en totalité un composé invité, ce qui donne alors lieu à la formation de complexes comportant éventuellement plusieurs molécules de CDs ou demolécules invitées. Pour chaque molécule invitée, la stœchiométrie, la stabilité, et la structure du complexe peuvent dépendre du type de la CD [1]. L'activité biologique du complexe obtenu est nettement améliorée généralement.

La question qui se pose est quel est le complexe adéquat entre la  $\alpha$ -Cd et  $\beta$ -Cd pour l'encapsulation du resvératrol ?

Quelle est la CD qui améliorera l'activité antioxydante du resvératrol

## I.3 Objectif :

- Notre objectif est d'étudier les différentes propriétés d'un complexe d'inclusion (la stœchiométrie, la constante de stabilité) en solution et à l'état solide, par trois méthodes UV, RMN et IR.

- Evaluer l'activité antioxydante de resvératrol et leurs complexes d'inclusion.

## II. Partie 1 : recherche bibliographique

### II.1 Chapitre 1 : Le resvératrol

#### II.1.1 Origine :

En 1939, ce principe actif a été découvert par un japonais du nom de MICHIS TAKAOKA [2], qui a pu l'extraire du vétrate blanc (veratrum), il a été décrite avec précision à partir de la renouée du japon par NOMOMURA et all [3] en 1963, en 1976, il le découvrent dans la peau des raisins, et enfin dans le vin rouge en 1992.

Aujourd'hui, plusieurs sources de resvératrol ont été identifiées pour exploiter les bienfaits de ce puissant antioxydant naturel, il peut être extrait de certains fruits. [4].



Figure 2 : Plante de vétrate blanc (veratrum)

#### II.1.2 Structure générale :

Sa structure de base est constituée de deux anneaux phénoliques reliés par une double liaison styréne, cette double liaison est responsable des formes isomériques cis et trans [5].

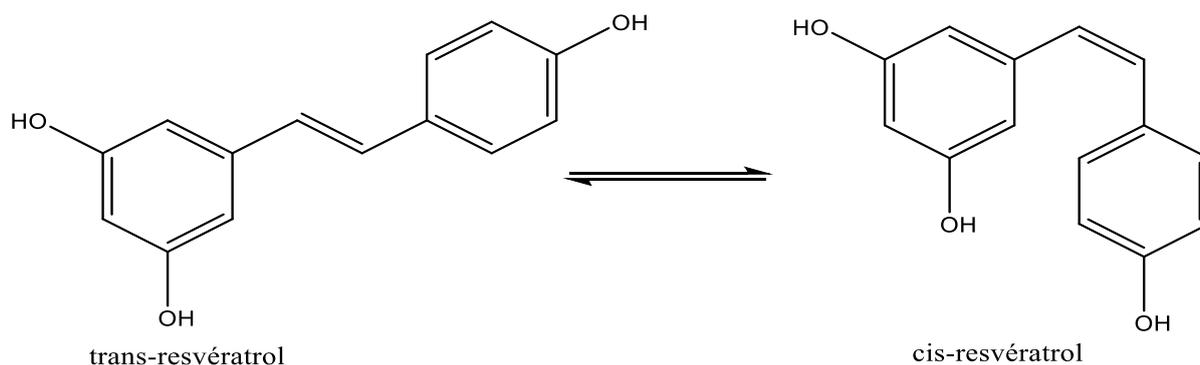


Figure 3 ; Isomérisation du Resveratrol.

#### II.1.3 Propriétés chimique et propriétés physique :

##### II.1.3.1 Propriétés chimiques :

Cette molécule est très hydrophobe, avec une solubilité dans l'eau de 0.03 g /L [6],

malgré sa faible solubilité, le composé doit présenter une forte perméabilité de la membrane en raison de sa lipophilie, le resvératrol présente une solubilité remarquablement élevée dans les solvants organiques tels que l'éthanol et DMSO (50 et 16 g/L) respectivement [7].

#### **II.1.3.2 Propriétés physiques :**

Le resvératrol existe sous forme de deux isomères géométriques, trans étant plus abondant et biologiquement actif que l'isomère cis [8]. Cependant, le trans-resvératrol est facilement isomérisé en l'isomère cis, lorsqu'il est exposé à la lumière du soleil, à une lumière ultraviolette (UV), à 360 et 254 nm [9]. Lorsque le trans-resvératrol pur est exposé à la lumière UV à 366 nm, pendant 120 minutes, 90,6 % ont été converti en cis-resvératrol [10]. Le trans est donc une molécule photosensible.

#### **II.1.4 Propriétés thérapeutiques :**

L'intérêt pour le potentiel thérapeutique du resvératrol s'est accru au cours de la dernière décennie en raison de ses propriétés antioxydantes, cardiovasculaires anti-inflammatoires et anticancéreuses [11] :

-C'est un antioxydant [12].

-Le resvératrol peut réduire les réponses inflammatoires en inhibant des médiateurs pro-inflammatoires, combattant ainsi l'inflammation chronique [13].

-Ce polyphénol est un protecteur naturel du système cardiovasculaire aujourd'hui réduisant de 40% le risque cardiovasculaire grâce à son effet antioxydant sur le cholestérol.

-Ce type de stilbène est le premier élément naturel capable de bloquer ou d'arrêter différentes étapes du développement du cancer.

-Il a été démontré que le resvératrol améliore le métabolisme énergétique et réduit la dégradation des protéines [14].

#### **II.1.5 Absorption, métabolisme et biodisponibilité :**

##### **II.1.5.1 Absorption :**

Le resvératrol a une faible solubilité dans l'eau (<0,05 mg/mL), ce qui affecte son absorption [15].

Le resvératrol a la capacité à former une large gamme de complexes moléculaires organiques, afin d'augmenter son absorption intestinale et sa perméabilité cellulaires sans perte d'activité [16].

##### **II.1.5.2 Métabolisme :**

Le resvératrol peut induire son propre métabolisme et augmente l'activité des

enzymes de détoxication hépatique de phase 2 [17]. Des métabolites cis ont été identifiés dans des échantillons d'urine humaine, principalement le cis-resvératrol-4'-sulfate, cis -resvératrol-3-O-glucuronide et cis -resvératrol-4'-O-glucuronide [18] [19].

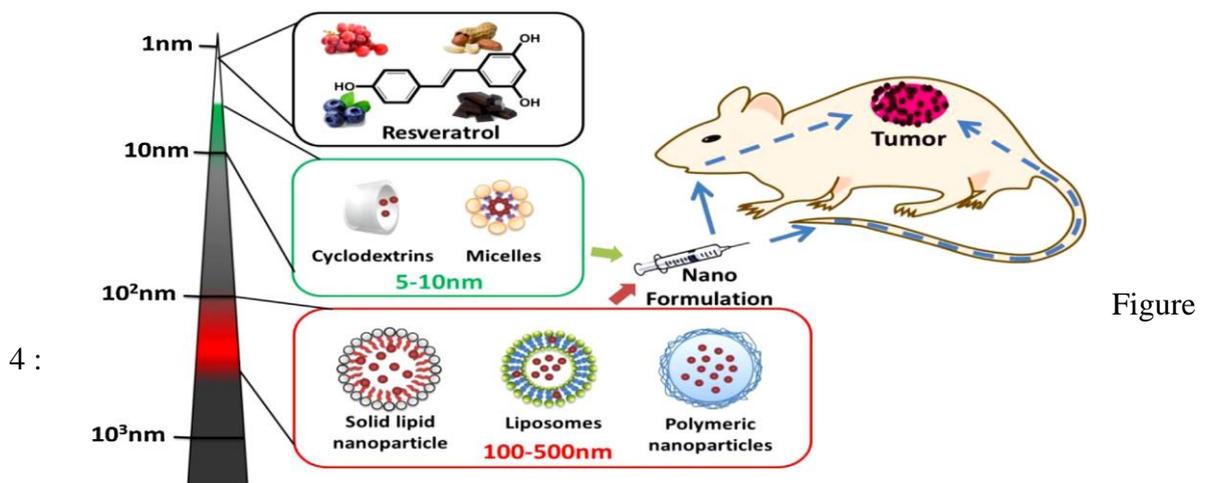
En raison de l'instabilité de l'isomère cis, la plupart des « études ont été réalisées avec l'isomère trans [20]. Cependant, les données suggèrent que les deux peuvent avoir des effets biologiques différents [21 ,22].

### II.1.5.3 Biodisponibilité :

La faible biodisponibilité du RES est un facteur qui réduit son efficacité !

Deux premières études chez l'homme sur l'absorption et la biodisponibilité du RES traitée avec une dose orale unique de 25 mg [23] ; ont montré que le RES non métabolisé était difficile à détecter dans le plasma circulant, indiquant que l'apport oral de RES libre et la biodisponibilité est très faible [24].

Différentes méthodes ont été utilisées pour améliorer les propriétés du RES telles que la solubilité, la biodisponibilité et la stabilité, en utilisant des méthodes telles que la complexation avec des cyclodextrine [25]. Il a été testé dans deux études à des doses allant de 25 à 1000 mg [26], au quel cas l'absorption atteint un maximum entre 0.3 et 204 nm [27].



Représentation schématique démontrant diverses nanoformulations encapsulées de resvératrol développées pour améliorer leur biodisponibilité et ses propriétés physicochimiques[27]

## II.2 Chapitre 2 : Les cyclodextrines et les complexes d'inclusions

### II.2.1 Les cyclodextrines :

#### II.2.1.1 Historique :

L'histoire de la CD a commencé, il y a près d'un siècle, lorsque la cellulose a été découverte en 1891 par VILLIERS [28], en 1911, SCHARDINGER rapporte l'obtention de deux formes produites différentes de CD «  $\alpha$ -dextrine » et «  $\beta$ -dextrine » [29] puis en 1930 PRINGSHEIM et son groupe ont découvert que la CD avait une forte tendance à former des complexes avec différents composés organiques [30-31].

En 1953, la CD commence à se développer, les chercheurs ont commencé à découvrir ses propriétés physicochimiques et sa capacité à former des complexes d'inclusions, elle est ensuite synthétisée et présentée, et depuis lors, le nombre de ses publications a connu une forte augmentation, devenant la CD parmi les composés intéressants dans le domaine pharmacologique [32].

#### II.2.1.2 Structure des cyclodextrines :

Les cyclodextrines sont des oligosaccharides cycliques, forment une famille de macromolécules 6 à 12 unités de D-glucose [33]. Sa structure en 3 dimensions apparaît sous la forme d'un cône tronqué possédant une cavité centrale, dont l'extérieur duquel se trouvent les groupements hydroxyles (OH). La partie extérieure est donc hautement hydrophile, et l'intérieur hydrophobe.

Les CDs naturelles sont obtenus par dégradation enzymatique suivie d'une Transglycosylation intramoléculaire de l'amidon sous l'action de la CGTase (cyclodextrine glycosyl transférase) [34].

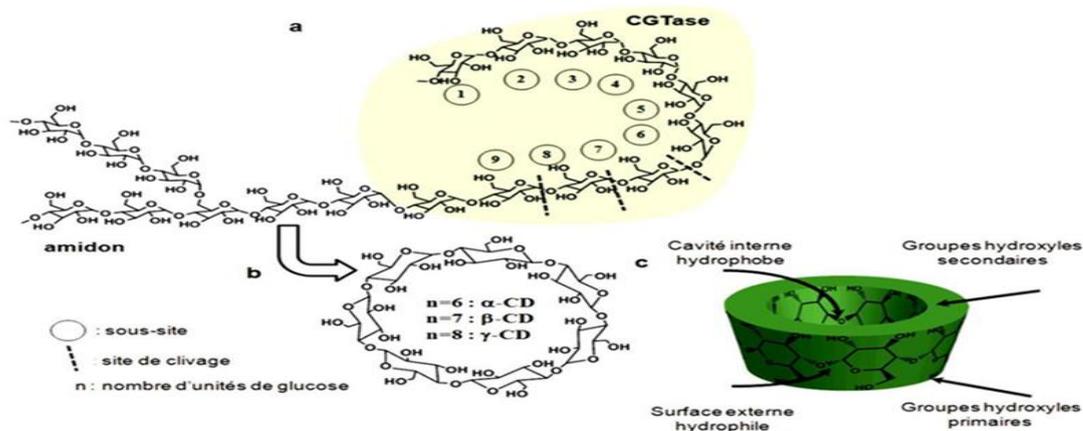


Figure 5 : a) Schéma général de la dégradation enzymatique de l'amidon b) structure chimique c) structure tridimensionnelle des cyclodextrines [35].

### II.2.1.3 Caractéristique physicochimique des cyclodextrines :

Les propriétés des cyclodextrines les plus courantes sont détaillées dans le tableau suivant [36] :

	$\alpha$ -CD	$\beta$ -CD	$\gamma$ -CD
Nombre d'unités glucoses	6	7	8
Formule brute	C36H60O30	C42H70O35	C48H80O40
M (g. mol <sup>-1</sup> )	972	1135	1297
Solubilité dans l'eau (g.L <sup>-1</sup> )	145	18.5	232
Ø cavité (Å) (petit côté – grand côté)	4,3 - 5,3	6,5 – 6,5	7,5 – 8,5
Hauteur du cône (Å)	7,9± 0,1	7,9 ± 0,1	7,9 ±0,1
Volume approx. Cavité (Å <sup>3</sup> )	174	262	427
Nombre moyen de molécules d'eau retenu dans la cavité	6 – 8	12	13
pKa,25°	12,332	12,202	12,081

Tableau 1: Caractéristiques physicochimiques des cyclodextrines natives [36].

### II.2.2 Les complexes d'inclusions :

La propriété la plus remarquable des cyclodextrines est leur capacité à former complexes d'inclusion en solution aqueuse avec différentes molécules de taille et hydrophobicité correspondant à leurs cavités [37].

Les complexes d'inclusion sont des associations entre deux ou plusieurs molécules ; L'un est l'hôte (récepteur) et l'autre est la molécule invitée (substrat), sous l'effet d'interaction faible [38]. Par conséquent, aucune liaison covalente n'est créée, ce qui permet d'obtenir des complexes facilement dissociables. Les tailles de la cyclodextrine et du substrat module souvent la stoechiométrie du complexe [39].

#### II.2.2.1 La constante de stabilité et la stoechiométrie du CD :

##### II.2.2.1.1 La constante de stabilité :

En solution, un équilibre s'établit entre la forme associée (M/CD) et la forme dissociée (M+CD) caractérisé par une constante d'équilibre  $K_s$  1 :1 [40] :



Soit la constante de stabilité :  $K_s 1 : 1 = [M+CD] / [CD]*[M]$

Où : CD : représente la molécule hôte (la cyclodextrine) / M : la molécule invitée.

$K_s 1 : 1$ , est la constante de stabilité du complexe.

#### **II.2.2.1.2 La stœchiométrie du complexe d'inclusion :**

Les complexes formés entre la (les) cyclodextrine(s) "hôte(s)" et la (les) molécule(s) "invitée(s)" peuvent être de plusieurs types.

#### **II.2.2.2 Etudes complexes d'inclusion :**

Toute méthode qui démontre des changements dans la solubilité, l'absorbance UV-Vis, IR, la fluorescence et les déplacements chimique en RMN peut être utilisée pour étudier les complexes.

##### **II.2.2.2.1 Observation du phénomène de complexation par RMN :**

La RMN semble être la méthode la plus efficace pour étudier et démontrer la formation de complexes d'inclusion en solution aqueuse. Des expériences classiques de type "NOESY", notamment des séquences ROESY, ont été utilisées pour mettre en évidence les interactions dans les domaines de la cyclodextrine.

##### **II.2.2.2.2 Observation de phénomène de complexation par UV :**

L'étude spectroscopique par ultraviolet se focalise sur la caractérisation du complexe d'inclusion avec les CDs. L'étude comparative par UV montre la différence entre la stœchiométrie des complexes (RES /  $\alpha$ -CD) et (RES/  $\beta$ -CD) ainsi que leurs constantes de formations.

##### **II.2.2.2.3 Observation du phénomène de complexation en pate par FT-IR :**

La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FT-IR) est une méthode d'analyse qui peut étudier l'arrangement atomique et les distances entre les atomes, ces mesures sont généralement effectuées sur des échantillons solides [41].

Dans ce cas, il a été utilisé pour estimer l'interaction entre la cyclodextrine et la molécule invitée (RES).

L'application de la spectroscopie infrarouge est limitée aux invités ayant quelques bandes caractéristiques.

#### **II.2.2.3 Impact de la cyclodextrine sur les propriétés du RES :**

##### **II.2.2.3.1 Impact sur la solubilisation et la dissolution :**

Un travail fait par le groupe de Xincan Hao, la courbe de dissolution de RHSD semble

être bien meilleur que RES. Sur 100% de la quantité complexée de RES en 10 à 20 minutes, alors que moins de 3% de RES libre se dissout en 120 minutes.[42].

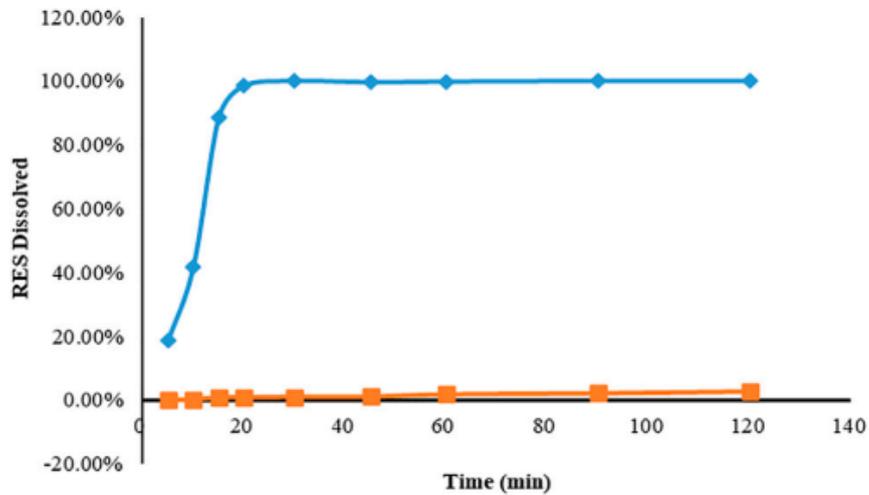


Figure 6 : Profils de dissolution du resvératrol et du complexe d'inclusion dans une solution saline normale après 120min. Les résultats ont été exprimés selon la moyenne et l'écart type (n=3) des analyses [42].

### II.2.2.3.2 Impact sur l'activité antioxydante de RES :

Evaluation de l'impact de la CD sur l'activité, un test de piégeage des radicaux DPPH de différentes concentrations de NP CD-RES, par rapport au RES libre mesuré et calculé à 0,5 h (A) et 24 h (B) par [43].

On peut voir clairement l'amélioration de l'activité antioxydante de RES encapsulé après 24hr

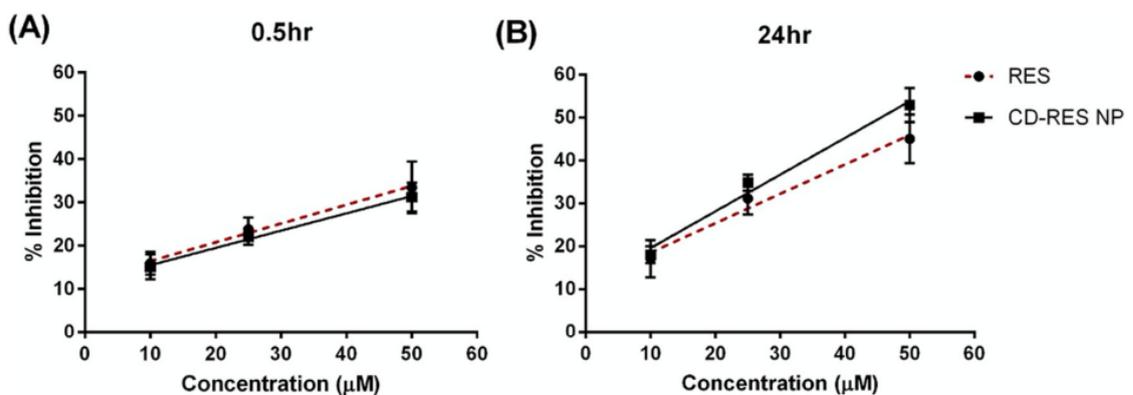


Figure 7 : L'impact de CD sur les propriétés antioxydantes de RES de 0.5hr à 24hr [43].

### III. Partie résultats et discussion

#### III.1 Chapitre 1 : Travail effectué :

Cet chapitre est divisée en deux sous chapitre: un pour l'étude de la complexation de RES avec les deux CD's avec trois méthodes spectroscopiques: UV, FT-IR et RMN, et l'autre pour l'évaluation de l'activité antioxydante de resvératrol et leurs complexes d'inclusion.

#### III.1.1 Etude de la complexation de resvératrol avec les CD's :

##### III.1.1.1 Etude de la complexation en solution par UV-Vis :

##### III.1.1.1.1. Détermination de la complexation :

Dans le cadre de notre travail, nous avons appliqué cette méthode pour caractériser les complexes d'inclusion du Res dans un l'intervalle allant de 190 nm à 400 nm. Afin d'entamer cette étude, nous avons préparé trois solutions mères pour les trois molécules, le RES,  $\alpha$ -CD et  $\beta$ -CD dans le méthanol à concentrations identiques de  $2 \times 10^{-4}$  M.

Chaque complexe est obtenu par un mélange équimolaire de deux solutions mères RES et  $\alpha$ -CD puis RES et  $\beta$ -CD. A noter que le  $\beta$ -CD est soluble dans méthanol avec un léger chauffage dans bain marie pendant environ 45 min.

##### III.1.1.1.1.1 Complexation avec $\alpha$ -CD :

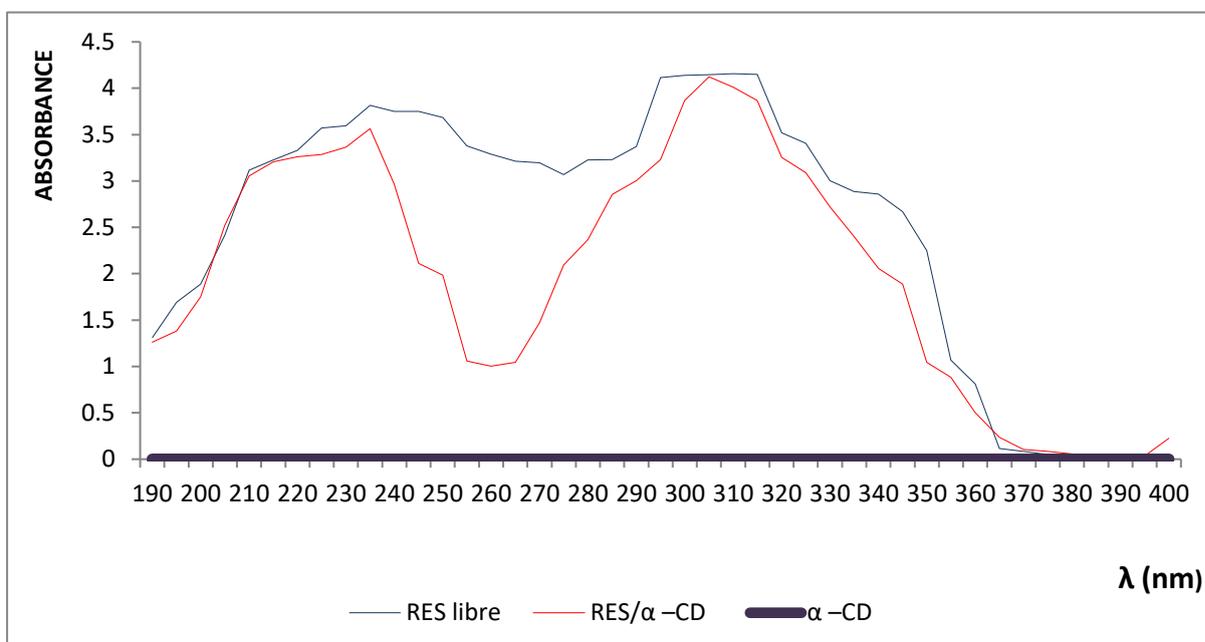


Figure 9 : Spectre UV complexe Res-  $\alpha$ -CD.

### III.1.1.1.2 Complexation avec $\beta$ -CD:

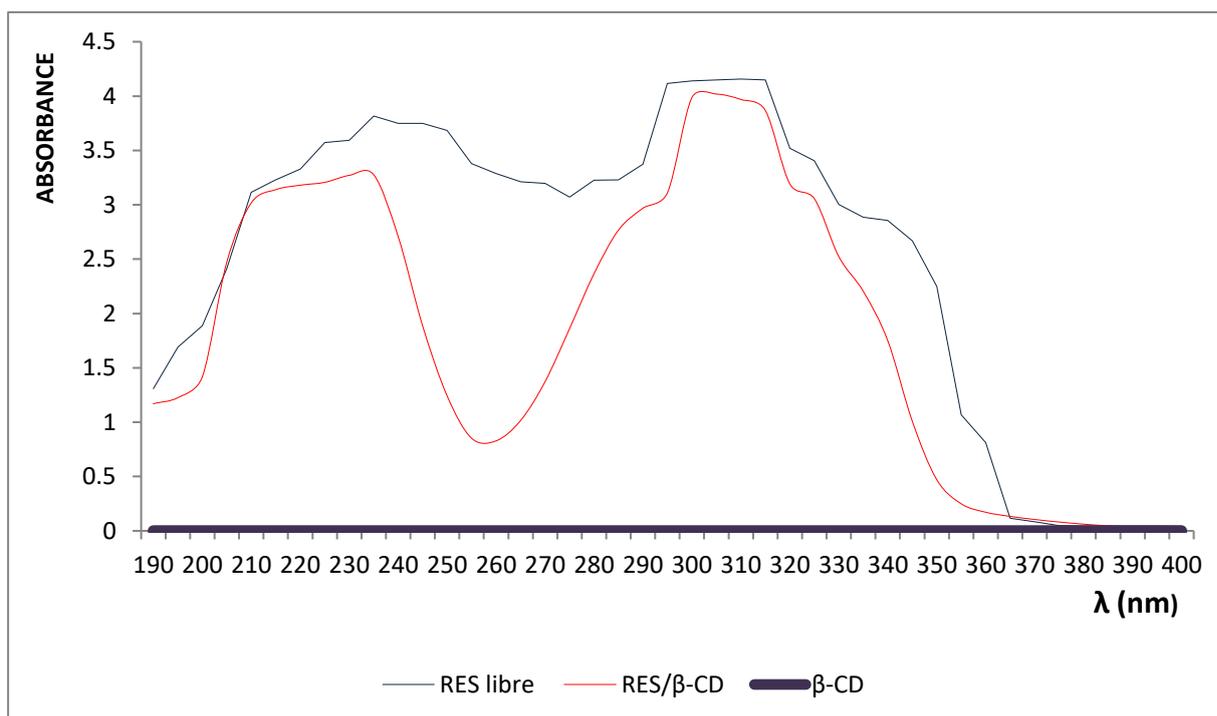


Figure 10 : Spectre UV du complexe Res-  $\beta$ -CD.

La transparence de la CD, fait qu'elle n'absorbe pas dans le domaine de l'UV, contrairement au RES qui a une absorption maximale à 310 nm .

Il y a eu plusieurs changements sur le spectre UV des complexes par rapport à celui de RES libre, ces changements principalement causés par l'interaction hôte-invité du complexe.

Cette diminution prouve la complexation et que les groupes chromophore qui absorbent le plus dans la molécule invitée (RES) sont bien encapsulés à l'intérieur de la cavité hydrophobe de CD .

### III.1.1.1.2. Détermination de la stoechiométrie du complexe (courbe de job) :

La méthode des variations continues (méthode de job) est utilisée pour déterminer la stoechiométrie des complexes d'inclusions, elle consiste à préparer une série de solutions contenant des rapports variables d'hôte et d'invité pour obtenir une gamme complète de rapports molaires. La principale condition requise par cette méthode est que la concentration totale (hôte + invité) soit la même dans chaque solution, et le paramètre déterminé

expérimentalement est l'absorbance de l'hôte ou de l'invité sensible à la formation de complexes. Une « carte de travail » représente, en termes de fraction molaire, l'évolution du paramètre considéré moins sa valeur multipliée par la concentration de l'espèce étudiée sous forme libre. La position du maximum indique la stoechiométrie du complexe. Si la courbe du job plot est la plus grande, le rapport stoechiométrique du complexe est de 1:1 pour une fraction molaire de 0,5.

Pour cela nous avons préparé dans des tubes secs et stériles pour chaque complexe 11 solutions filles ; à partir des solutions mères précédentes ; en différents volumes jusqu'à atteindre le volume final de 2 mL. Les résultats obtenus à  $\lambda = 305$  nm après 24h pour une complexation optimale.

#### III.1.1.1.2.1 Courbe de Job de la complexation avec $\alpha$ -CD :

A partir de la courbe on déduit un maximum de 0.5 ce qui correspond à une stoechiométrie 1 :1. Une seule molécule de Res est encapsulée à la fois.

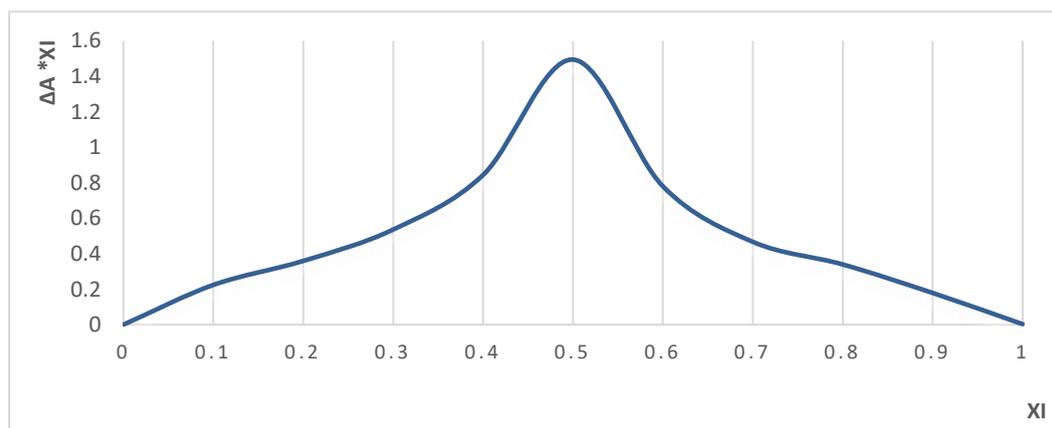


Figure 12 : courbe de job du complexe RES\_  $\alpha$ -CD avec r=0.5.

#### III.1.1.1.2.2 Courbe de Job de la Complexation avec $\beta$ -CD :

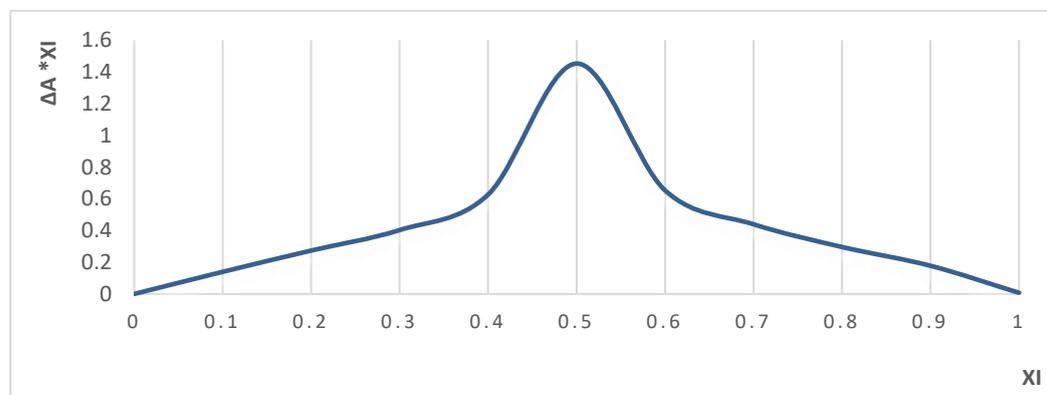


Figure 13 : courbe de job du complexe RES\_  $\beta$ -CD avec r=0.5.

Selon la courbe de Job tracée, on a un maximum de  $r = 0,5$ , ce qui implique la formation d'un complexe de stoechiométrie 1:1, cela veut dire qu'il a fallu une molécule de  $\beta$ -CD pour une molécule invitée (RES).

### III.1.1.1.3 Détermination de la constante de stabilité $K_s$ :

Après avoir déterminé la stoechiométrie des deux complexes, il faut évaluer la constante de stabilité, pour cela notre étude est basée sur la technique de Bees-Hildebrand en suivant l'absorbance du Res à différentes concentrations de CD par l'équation suivante :

$$\frac{1}{\Delta A} = \frac{1}{[PA] \times K \times \Delta \epsilon \times [CD]} + \frac{1}{[PA] \times \Delta \epsilon} \dots \dots (1)$$

Avec :  $\Delta A$  : différence d'absorption entre la molécule hôte et la molécule invitée.

$\Delta \epsilon$ : différence du coefficient d'extinction entre la molécule hôte et la molécule invitée

$[PA]$ : la concentration en principe actif,  $[CD]$  : concentration en CD.

La constante d'association peut alors être déterminée en traçant  $1/\Delta A$  en fonction de  $1/[PA]$ .  $\Delta \epsilon$  est alors donné par l'ordonnée à l'origine et la constante d'association  $K_a$  est calculée à partir de la pente de la droite.

#### III.1.1.1.3.1 Constante de stabilité du complexe (RES/ $\alpha$ -CD) :

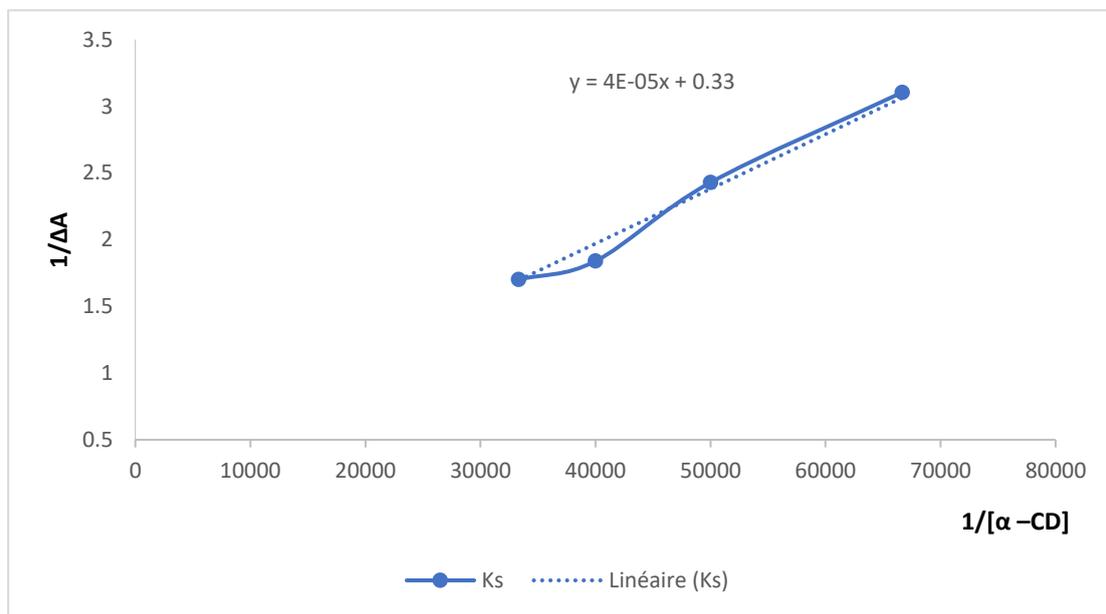


Figure 14 : Courbe  $K_s$  du complexe RES-CD.

D'après le graphe on a :  $y = 4 \cdot 10^{-5}x + 0.33 \dots \dots \dots (1)$

Par identification avec l'équation (2) :

$$\frac{1}{\Delta A} = \frac{1}{[PA] \times K_s \times \Delta \epsilon \times [CD]} + \frac{1}{[PA] \times \Delta \epsilon} \dots \dots \dots (2)$$

On a [RES]= 0.0001 (mol/L) .

On trouve :  $\frac{1}{[RES] \times \Delta \epsilon} = 0,33$

Et donc  $\Delta \epsilon = \frac{1}{[RES] \times 0,33}$

Alors  $\Delta \epsilon = \frac{1}{0,0001 \times 0,33}$

$\Delta \epsilon = 30303.03$

On a :  $\frac{1}{[RES] \times K_s \times \Delta \epsilon} = 4 \times 10^{-5}$

$$K_s = \frac{1}{[RES] \times \Delta \epsilon \times 4 \times 10^{-5}}$$

Donc  $K_s = 8250.001 \text{ M}^{-1}$

**III.1.1.1.3.2 Constante de stabilité du complexe (RES/ $\beta$ -CD) :**

Par identification avec l'équation (2), on trouve :

$\Delta \epsilon = 48216.01$

Alors  $K_s = 5185.00 \text{ M}^{-1}$

La constante de formation de complexe (RES/ $\beta$ CD) > à celle de (RES/  $\alpha$ CD).

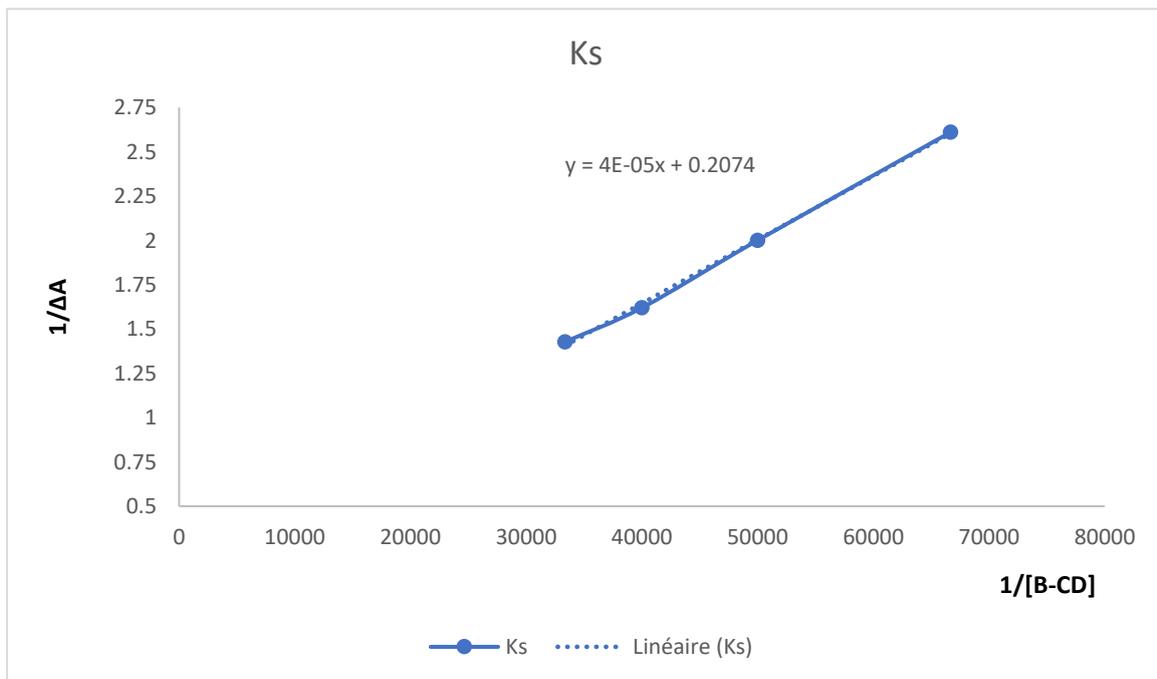


Figure 15 : Courbe Ks du complexe RES/  $\beta$ -CD)

### III.1.1.2 Etude de la complexation en solution par RMN :

Cette technique permet de confirmer la complexation RES-CD, pour cela un mélange équimolaire de 8.8 mmol des trois molécules RES,  $\alpha$ -CD et  $\beta$ -CD est préparé dans DMSO-d<sub>6</sub>. m (RES) = 0.02 g / m ( $\alpha$ -CD) = 0.01 g / m ( $\beta$ -CD) = 0.009 g .



Figure 16 : Image de la paillasse de travail en unité RMN LCSCO.

#### Interprétation des spectres :

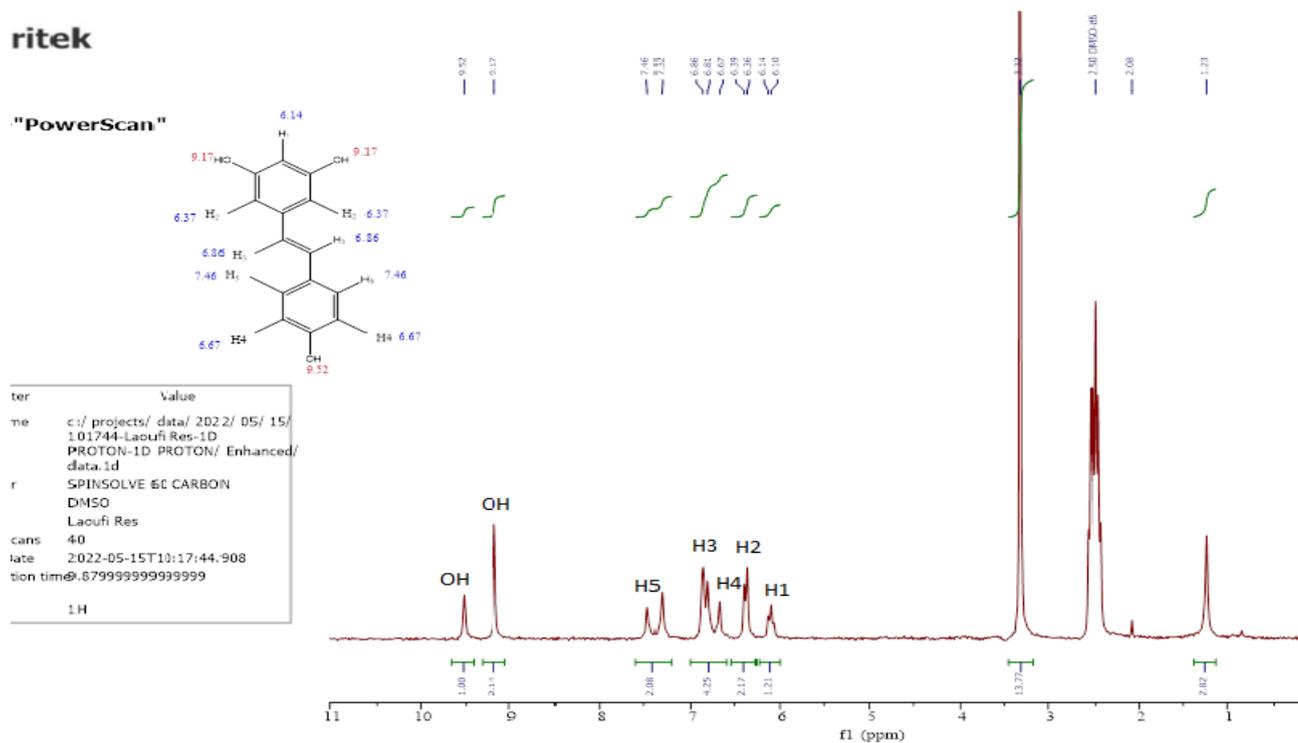


Figure 17 : Spectre H<sup>1</sup>RMN de RES libre

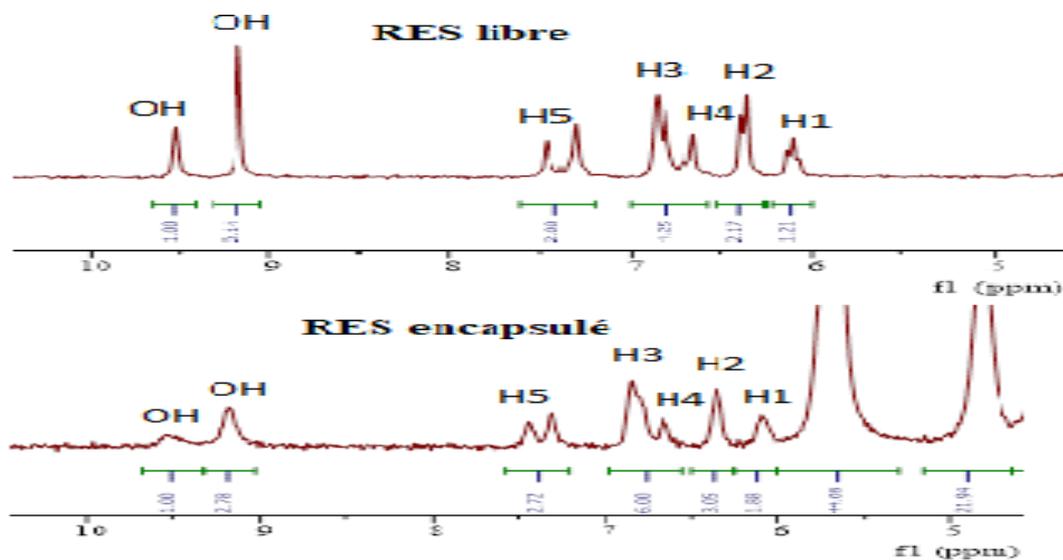


Figure 18 : Spectres H1RMN de RES libre et dans le complexe.

Tableau 2 : la variation des déplacements chimiques <sup>1</sup>HRMN du RES  $\Delta\delta = \delta_{\text{complexe}} - \delta_{\text{molecule}}$

Proton	Avec $\alpha$ -CD	Avec $\beta$ -CD
H1	-0.02	-0.03
H2	-0.001	-0.01
H3	-0.02	-0.02
H4	+0.03	-0.01
H5	-0.02	-0.02

libre

Calcul de la constant de couplage :

$$H_2 : (\delta_1 - \delta_2) \times 60 \text{ MHz} = (6.39 - 6.36) \times 60 = 7.8 \text{ Hz}$$

$$H_3 : (\delta_1 - \delta_2) \times 60 \text{ MHz} = (6.86 - 6.67) \times 60 = 11.4 \text{ Hz}$$

$$H_5 : (\delta_1 - \delta_2) \times 60 \text{ MHz} = (7.46 - 7.32) \times 60 = 8.4 \text{ Hz.}$$

D'après la table des constantes de couplages [44] :  $J = 11.4$  donc il s'agit de trans-resvératrol.

```

eter      Value
ame      c:/ projects/ data/ 2022/ 05/ 15/
          110146-Laoufi beta-CD-1D
          PROTON-1D PROTON/ Enhanced/
          data.1d
er       SPINSOLVE 60 CARBON
          DMSO
          Laoufi beta-CD
Scans    40
Date     2022-05-15T11:01:41.074
ition tim 0.8799999999999999
          1H
    
```

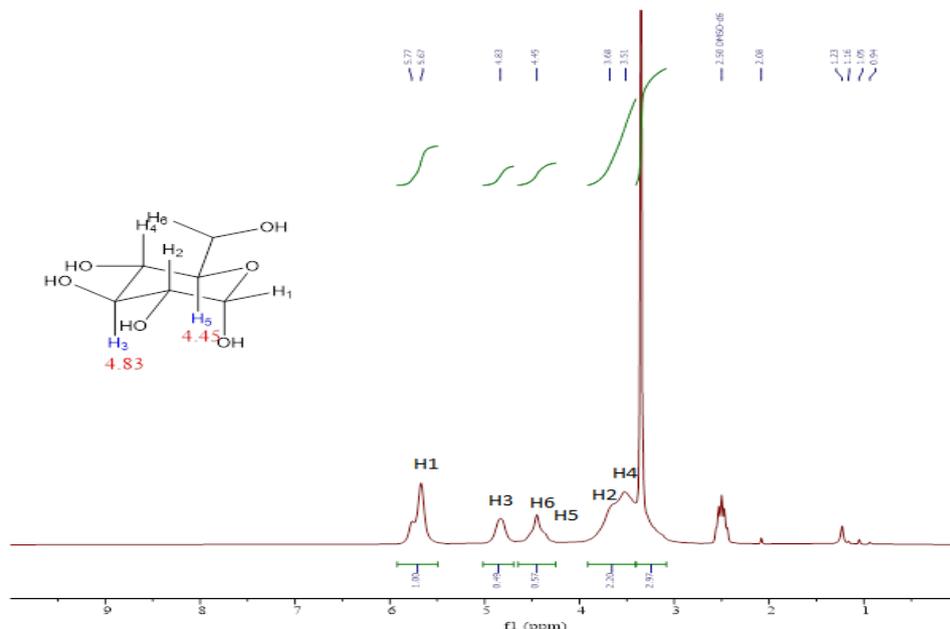


Figure 19 : Spectre H<sup>1</sup>RMN de β –CD

Proton	α –CD	β –CD
H1	+0.01	-0.06
H2	-0.02	-0.08
H3	-0.01	-0.01
H4	-0.01	+0.03
H5	00.00	-0.03
H6	-0.01	-0.01

Tableau 3 : Les variations de déplacements chimiques <sup>1</sup>HRMN du CD  $\Delta\delta = \delta_{\text{complexe}} - \delta_{\text{molecule libre}}$

Un faible changement de déplacement chimique ( $\Delta\delta$ ) du aux interactions intermoléculaire ,non covalente, est une preuve de complexation

Les atomes d’hydrogènes qui sont situés à l’intérieur da la cavité (H3 et H5) devraient être sensibles au changement de l’environnement chimique et c’est ce que l’on peut voir dans les tableaux précédents. Les changements de déplacement chimique lors de la complexation avec β –CD sont légèrement plus importants que celles avec α –CD, ce qui prouve que le RES est différemment complexé dans la cavité de la β –CD que dans la cavité de α –CD.

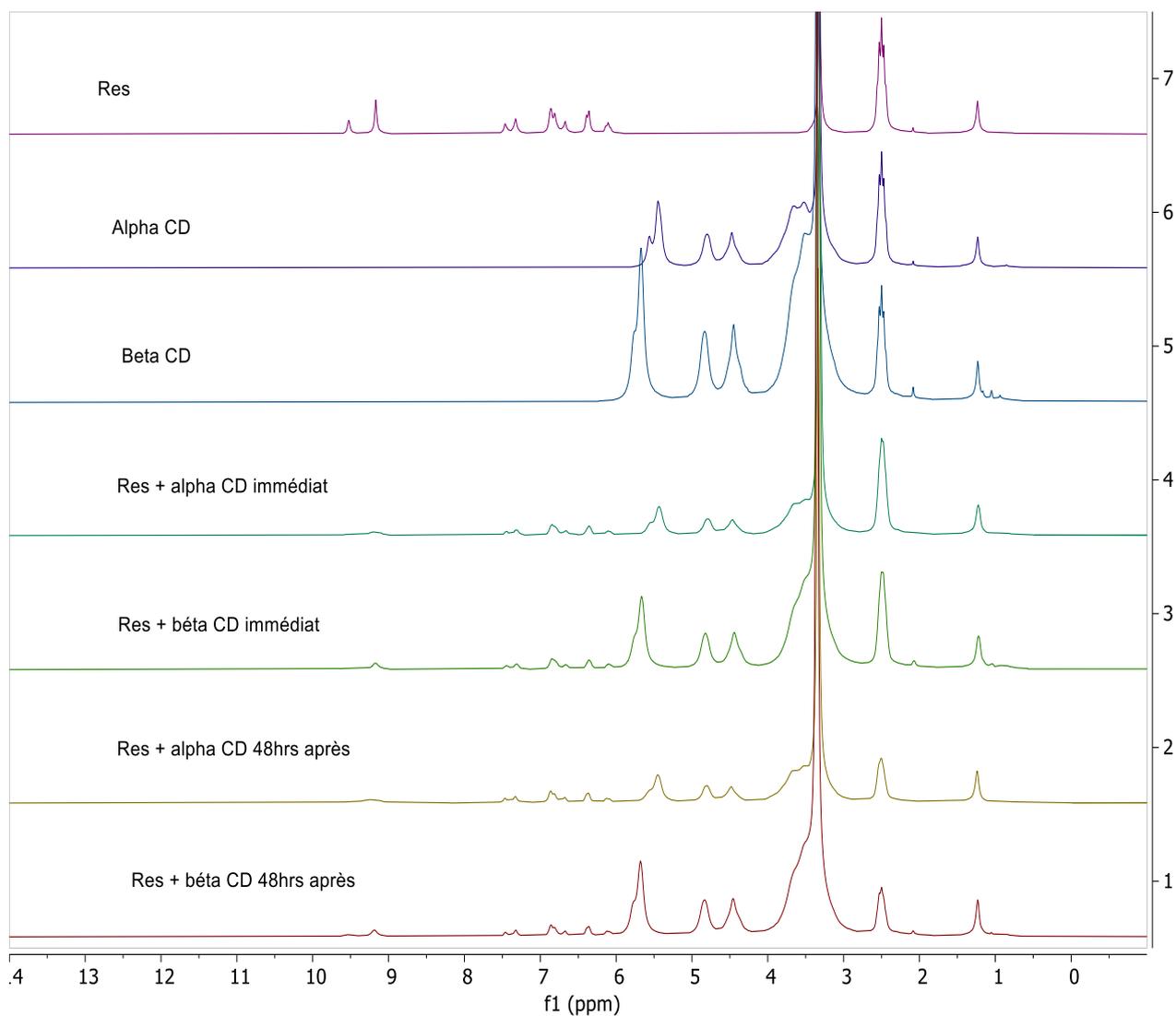


Figure 20 : Comparaison des spectres RMN du RES et ses complexes.

L'analyse RMN a été effectuée immédiatement après la complexation, puis enregistré 48h après. Afin de s'assurer que l'équilibre est atteint. Souvent dans les 48h un précipité du complexe est observé dans le fond de tube RMN, ce qui n'était pas le cas dans notre complexe.

### III.1.1.3 Etude de la complexation en pâte par FT-IR :

Les résultats de complexation de RES avec  $\beta$ -CD obtenus par le groupe [46] pour comparaison avec nos résultats :

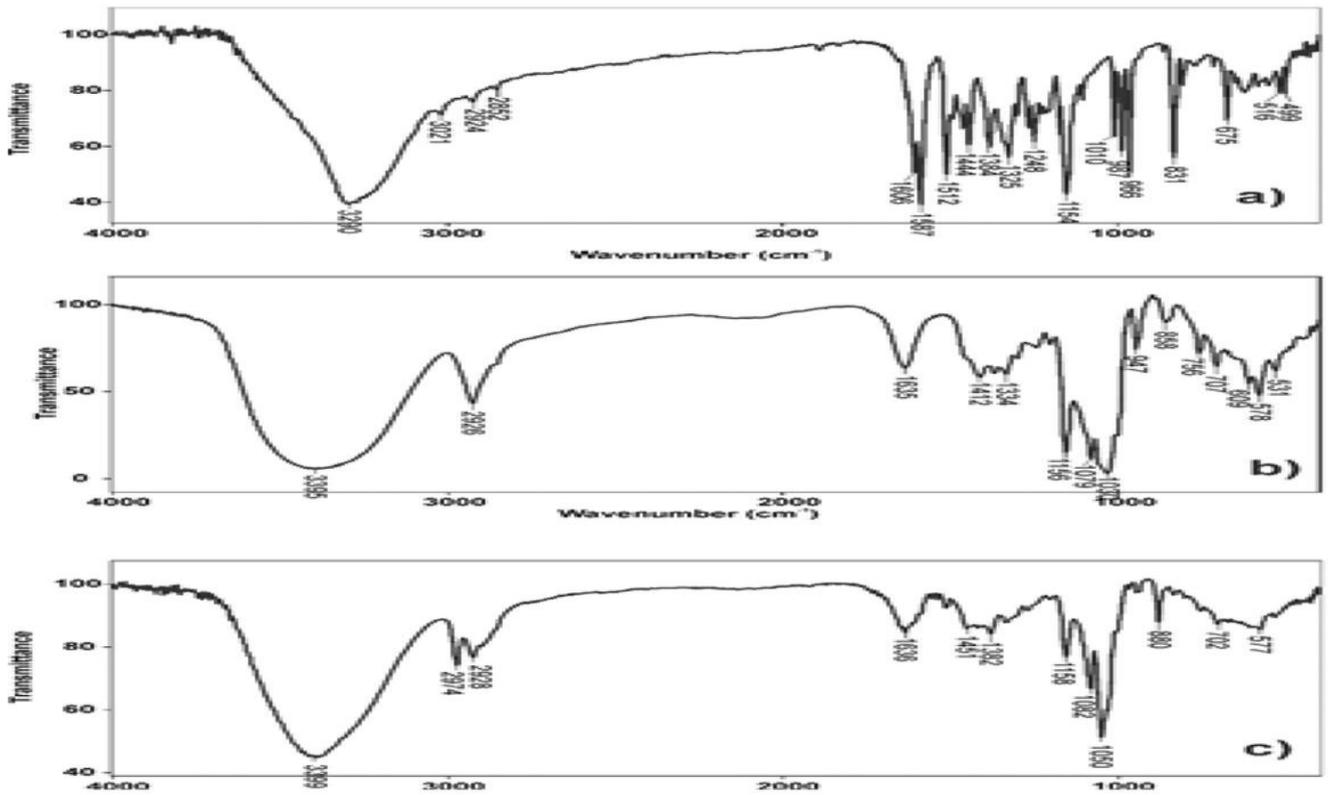


Figure 21 : a) trans-resvératrol ; b)  $\beta$ -CD, c) le complexe d'inclusion (trans-resvératrol/ $\beta$ -CD).

La figure (21) et la figure (22) montrent clairement les spectres IR digital de RES et de CDs .

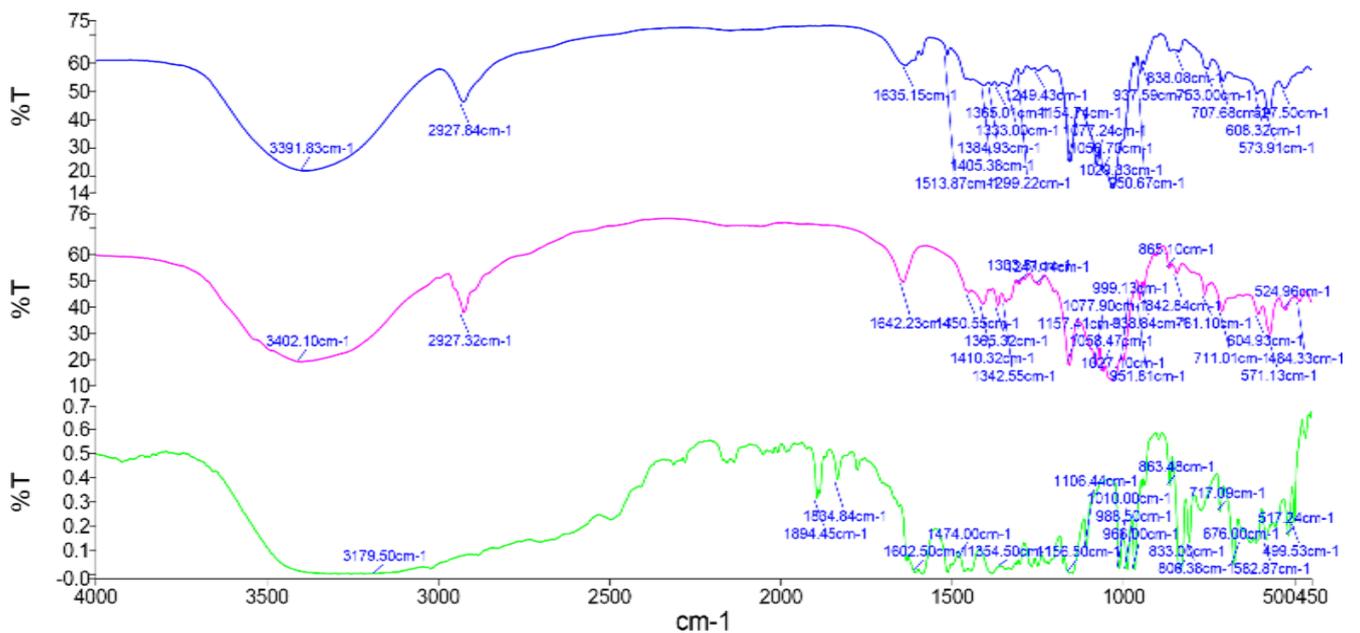


Figure 22 : Spectre FT-IR de  $\alpha$ -RES,  $\alpha$ -CD et (RES/ $\alpha$ -CD)

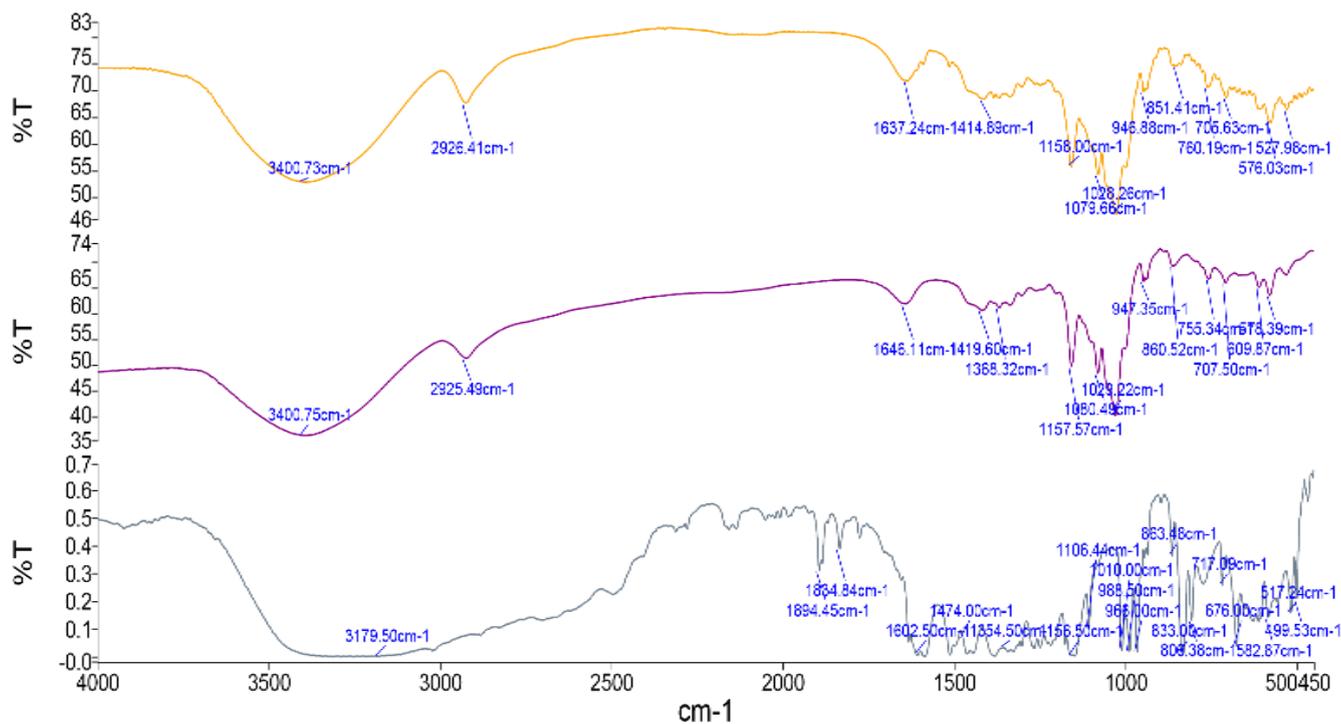


Figure 23 : spectre FT-IR de -RES , - β -CD et (RES/βCD)

### III.1.1.3.1 Interprétation des spectres :

Tableau 4 : Comparaison entre l'intensité des bandes d RES et le complexe d'inclusion :

Groupe fonctionnels	RES (cm <sup>1</sup> ) / Intensité	Complexe d'inclusion (RES/α -CD) (cm <sup>1</sup> )	Changement Δν	Complexe d'inclusion (RES/ β CD) (cm <sup>1</sup> )	Changement Δν
v [C=C] aromatique	1602.00 / F	1635.33 / f	+33.33	1637.30 / f	+35.3
v [C=C] Oléfinique	1529.50 / F	1513.88 / f	-15.62	/	/
v [C-O]	1354.00 / F	1365.04 / m	+11.04	1415.18 / f	+61.18
v [OH] déformation	1010.50 / F	1077.24 / F	+66.74	1079.68 / m	+69.18
v [C=C] Oléfinique trans	966.00 / F	950.68 / m	-15.32	946.89 / f	-19.11
v [C-H] aromatique	863.48 / f	862.90 / f	-0.58	862.98 / f	-0.5

Tableau 5 : Comparaison entre l'intensité des bandes de la  $\beta$ -CD,  $\alpha$ -CD et les complexes d'inclusion.

Groupe fonctionnels	$\alpha$ -CD  (cm <sup>-1</sup> )/Intensité	Complexe d'inclusion (RES/ $\alpha$ -CD)  (cm <sup>-1</sup> )	Changement  $\Delta v$	$\beta$ CD cm. <sup>-1</sup>	Complexe d'inclusion (RES/ $\beta$ CD)  (cm <sup>-1</sup> )	Changement  $\Delta v$
v [OH]	3401.91 / L	3391.67 / L	-10.24	3391.94 / L	3392.04 / L	+0.1
v [CH <sub>2</sub> ] du carbone 6	2927.28 / m	2927.71 / m	+0.43	2924.80 / m	2928.17 / m	+3.37
v [C-O]	1247.25 / f	1249.49 / f	+2.24	1368.16 / f	1415.18 / f	+47.02
v [C-C]	1157.42 / m	1154.75 / m	-2.67	1157.55 / m	1158.02 / m	+0.47
v [OH] déformation	1027.12 / F	1029.34 / F	+2.22	1029.19 / F	1028.28 / F	-0.91

Remarque : f (faible) / m (moyenne) / F (forte)/ L ( large ).

Ces changements dans l'allure des bandes et la valeur d'absorption indiquent de manière significative la formation du complexe d'inclusion, il y a aussi des augmentations et des diminutions de la variation d'intensité maximale.

L'augmentation est due à l'insertion de molécules invitées dans la cavité de la  $\beta$ -CD car le nuage d'électrons ne cesse de s'étendre. La diminution est due à la formation de liens L'hydrogène et les forces de van der Waals se forment lors de leur interaction Complexe d'inclusion.

Les résultats obtenus sont conformes à celles rapportées dans la littérature [45] avec seulement une petite différence.

### III.1.2 Evaluation de l'activitéantioxydante de RES et leurs complexes par la méthode de DPPH :

Le pouvoir antioxydant de nos RES et leurs complexes a été testé par la méthode de radical libre DPPH " la méthode de piégeage du radical libre 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl.

L'acide ascorbique est utilisé comme antioxydant de référence ou l'absorption a été mesuré avec les mêmes conditions, ces résultats ont été exprimés en pourcentage d'inhibition (I %).

On peut observer que l'absorbance du radical DPPH est diminué après l'addition de RES encapsulé dans les deux types de CDs. En tenant compte de ses résultats, les capacités antioxydantes sont classés dans l'ordre suivant : acide ascorbique > RES-  $\beta$  -CD > RES/ $\alpha$  -CD > RES, avec une IC50 calculé de 0.47 mg /mL (RES) , 0.35 mg/mL (RES/ $\alpha$  -CD ), 0.21mg/mL (RES-  $\beta$  -CD) et 0.19 mg/mL ( acide ascorbique ).

L'activité antioxydante après encapsulat avec CD, a été amélioré due à l'augmentation de la stabilité du RES. Résultat similaires obtenu par le groupe [46].

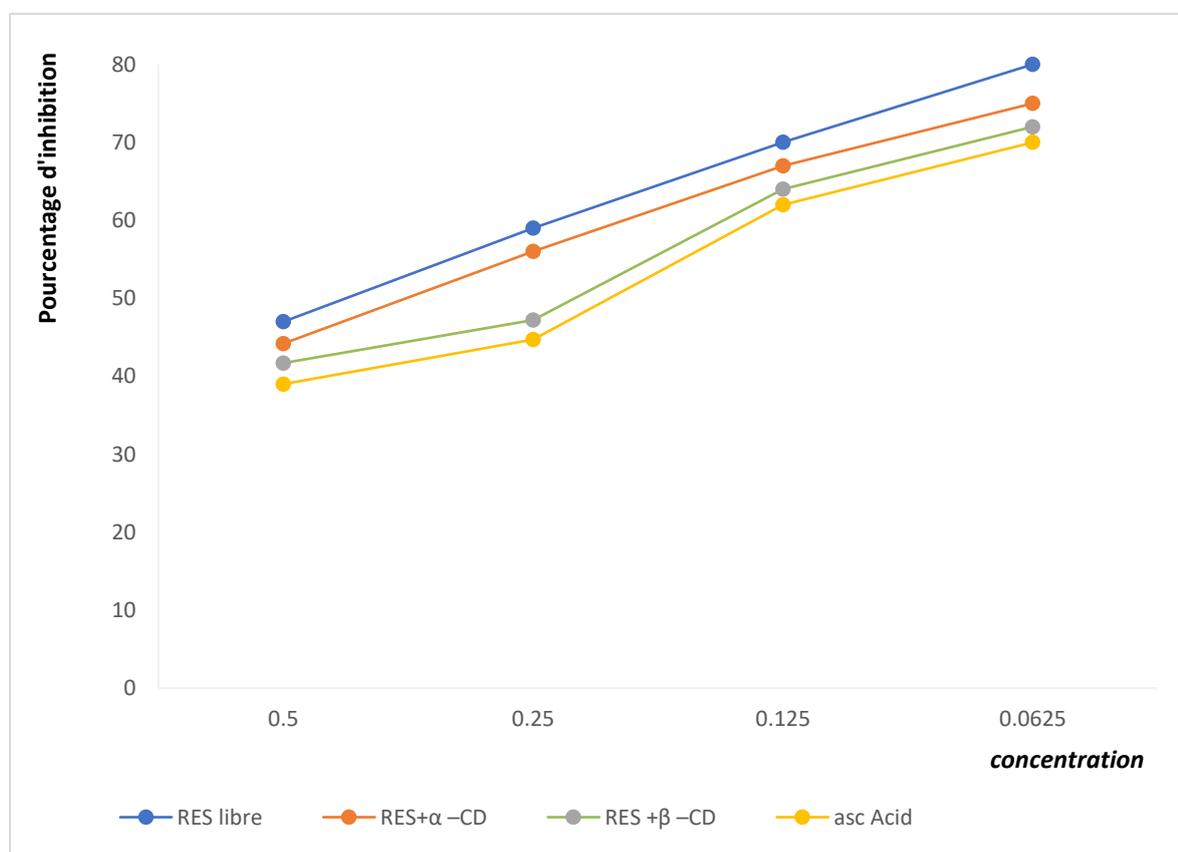


Figure 24 : Impact de la cyclodextrine sur l'activité antioxydante de RES.

### **III.1.3 Conclusion et perspectives**

Dans ce travail, nous avons étudié les complexes d'inclusion à base de resveratrol et les deux types de cyclodextrine par différentes méthodes et par différentes analyses spectroscopiques, ce qui nous a permis d'identifier les différentes propriétés d'un complexe d'inclusion.

À fin d'étudier l'effet de la cyclodextrine sur les propriétés antioxydantes du resvératrol, nous avons effectués un test de DPPH.

Cela a été démontré par plusieurs méthodes qui ont montré l'efficacité de la cyclodextrine qui a amélioré le pouvoir antioxydant du RES, et surtout la  $\beta$ -CD, qui a augmenté ce pouvoir. Nous expliquons cela par élévation de stabilité du resveratrol vue que c'est le complexe le plus stable obtenu.

Nous projetons dans le futur d'étendre le spectre d'évaluation de l'activité biologique du RES notamment antiinflammatoire et antibactérienne sous sa forme libre et complexé.

### **III.2 Chapitre 2 : Partie expérimentale:**

Notre travail a été réalisé dans le laboratoire (COSNA), les analyses IR ont été effectuées au laboratoire (LASNABIO), et les analyses RMN au laboratoire (LCSCO) de l'Université Aboubakr Belkaid-Tlemcen.

#### **III.2.1 Appareils et méthodes:**

##### **III.2.1.1 Ultraviolet:**

Les spectres UV sont réalisés à l'aide d'une Spectrophotométrie UV-visible de marque "SPECORD 200 plus", à la faculté des sciences la rocade.

##### **III.2.1.2 Infrarouge:**

Les spectres IR des complexes sont réalisés à l'aide d'un appareil de marque PerkinElmer "spectrum Two" au centre de mesure du laboratoire (LASNABIO), ils étaient traités sous forme de pastilles de KBr avec des fréquences d'absorption en nombres d'onde ( $\text{cm}^{-1}$ ), dans l'intervalle 450-4000  $\text{cm}^{-1}$ .

##### **III.2.1.3 Résonance magnétique nucléaire:**

Les analyses RMN, réalisées dans cette étude ont été effectuées au centre des analyses du laboratoire (LCSCO), les spectres RMN ont été enregistrés à 60 MHz, sur l'appareil spinolve 60 magritek.

#### **III.2.2 Tableaux :**

Tableau 6 : Détermination de la complexation par UV :

$\lambda$ (nm)	RES libre	RES_ $\alpha$ - CD	RES_ $\beta$ - CD
190	1.3097	1.2603	1.1703
195	1.6916	1.3822	1.2259
200	1.8876	1.7502	1.4172
205	2.4135	2.5203	2.4742
210	3.1151	3.0563	3.0177
215	3.2281	3.2053	3.1396
220	3.33	3.261	3.1802
225	3.5723	3.2869	3.2064
230	3.594	3.365	3.2707
235	3.8166	3.5631	3.2767
240	3.749	2.9649	2.7072
245	3.7486	2.1123	1.8852
250	3.6843	1.0566	1.2416
255	3.3798	1.0023	0.8524
260	3.2878	1.0453	0.8283
265	3.2127	1.4706	1.015
270	3.1961	2.095	1.372
275	3.0698	2.3674	1.8596

<b>280</b>	3.2261	2.8546	2.3654
<b>285</b>	3.2299	3.0023	2.7675
<b>290</b>	3.3727	3.231	2.969
<b>295</b>	4.1158	1.0566	3.1109

<b>λ (nm)</b>	<b>RES libre</b>	<b>RES_α – CD</b>	<b>RES_β – CD</b>
<b>300</b>	4.1388	3.231	3.9865
<b>305</b>	4.1489	3.8656	4.0186
<b>310</b>	4.1569	4.1232	3.9689
<b>315</b>	4.1496	4.0125	3.8675
<b>320</b>	3.5204	3.8656	3.1922
<b>325</b>	3.4059	3.2556	3.0569
<b>330</b>	3.0028	3.0882	2.5236
<b>335</b>	2.8869	2.7206	2.204
<b>340</b>	2.8577	2.3991	1.7499
<b>345</b>	2.668	2.0553	1.0107
<b>350</b>	2.2482	1.8864	0.472
<b>355</b>	1.0685	1.045	0.2493
<b>360</b>	0.812	0.883	0.1715
<b>365</b>	0.1147	0.5012	0.1331
<b>370</b>	0.0843	0.234	0.105
<b>375</b>	0.0493	0.1052	0.0813
<b>380</b>	0.0466	0.0845	0.0618
<b>385</b>	0.0457	0.0566	0.0466
<b>390</b>	0.0448	0.0506	0.0355
<b>395</b>	0.0443	0.0445	0.028
<b>400</b>	0.0432	0.0356	0.0227

Tableau 7 : Détermination de la stoechiométrie du complexe (RES/ α –CD):

L'enregistrement de la courbe de job se fait dans les différentes solutions à une longueur d'onde (310 nm) choisie en fonction de l'absorption maximale de la molécule invitée (RES) .

<b>N° de flacon</b>	<b>V (RES) (μL)</b>	<b>V (α –CD) (μL)</b>	<b>[ RES] M</b>	<b>[α –CD] M</b>	<b>Xi</b>	<b>A à λ=310 nm</b>
1	0	2000	0	2×10 <sup>-4</sup>	0	0.3522
2	200	1800	2×10 <sup>-5</sup>	1.8×10 <sup>-4</sup>	0.1	1.8841
3	400	1600	4×10 <sup>-5</sup>	1.6×10 <sup>-4</sup>	0.2	1.6673
4	600	1400	6×10 <sup>-5</sup>	1.4×10 <sup>-4</sup>	0.3	2.586
5	800	1200	8×10 <sup>-5</sup>	1.2×10 <sup>-4</sup>	0.4	3.8119
6	1000	1000	1×10 <sup>-4</sup>	1×10 <sup>-4</sup>	0.5	4.4042
7	1200	800	1.2×10 <sup>-4</sup>	8×10 <sup>-5</sup>	0.6	3.6308
8	1400	600	1.4×10 <sup>-4</sup>	6×10 <sup>-5</sup>	0.7	2.1203
9	1600	400	1.6×10 <sup>-4</sup>	4×10 <sup>-5</sup>	0.8	2.1156
10	1800	200	1.8×10 <sup>-4</sup>	2×10 <sup>-5</sup>	0.9	2.0283
11	2000	0	2×10 <sup>-4</sup>	0	1	2.4521

Tableau 8 : Détermination de la stoechiométrie du complexe (RES/ $\beta$ -CD)

N° de flacon	V (RES)	V ( $\beta$ -CD)	[RES]	[ $\beta$ -CD]	$X_i$	A à $\lambda=305$ nm	$\Delta A * X_i$
1	0	2000	0	$2 \times 10^{-4}$	0	1.1245	0
2	200	1800	$2 \times 10^{-5}$	$1.8 \times 10^{-4}$	0.1	2.6227	0.13959
3	400	1600	$4 \times 10^{-5}$	$1.6 \times 10^{-4}$	0.2	2.6511	0.2735
4	600	1400	$6 \times 10^{-5}$	$1.4 \times 10^{-4}$	0.3	2.6759	0.40281
5	800	1200	$8 \times 10^{-5}$	$1.2 \times 10^{-4}$	0.4	2.4523	0.62652
6	1000	1000	$1 \times 10^{-4}$	$1 \times 10^{-4}$	0.5	1.1145	1.45205
7	1200	800	$1.2 \times 10^{-4}$	$8 \times 10^{-5}$	0.6	2.9302	0.65304
8	1400	600	$1.4 \times 10^{-4}$	$6 \times 10^{-5}$	0.7	3.3912	0.43918
9	1600	400	$1.6 \times 10^{-4}$	$4 \times 10^{-5}$	0.8	3.6486	0.296
10	1800	200	$1.8 \times 10^{-4}$	$2 \times 10^{-5}$	0.9	3.8212	0.17766
11	2000	0	$2 \times 10^{-4}$	0	1	4.0112	0.0074

Tableau 9 : Détermination de la constante de stabilité du complexe (RES/ $\alpha$ -CD) :

Pour déterminer la constante de stabilité pour ces deux complexes d'inclusion, nous suivons la méthode de Scott, qui est basée sur la préparation d'une solution de RES avec une concentration constante à  $2 \times 10^{-4}$  M. Pendant ce temps les concentrations de la  $\beta$ -CD ont été modifiées à chaque fois, allant de 0 M,  $3 \times 10^{-5}$  M,  $4 \times 10^{-5}$  M,  $5 \times 10^{-5}$  M et  $6 \times 10^{-5}$  M. L'absorbance des solutions a été mesurée à 305 nm .

V RES (mL)	V $\alpha$ -CD (mL)	[RES] (mol/L)	[ $\alpha$ -CD] (mol/L)	1/[ $\alpha$ -CD] (L/mol)	A à $\lambda=310$ nm	$\Delta A$	1/ $\Delta A$
4	0	0.0002	0	$\infty$	3.8568	0	0
2	2	0.0001	0.000015	66666.67	3.5347	0.3221	3.1037635
2	2	0.0001	0.00002	50000	3.445	0.4118	2.42839757
2	2	0.0001	0.000025	40000	3.3131	0.5437	1.83911189
2	2	0.0001	0.00003	33333.33	3.2691	0.5877	1.70148985

Tableau 10 : Détermination de la constante de formation du complexe (RES/ $\beta$ -CD) :

V RES (mL)	V $\beta$ -CD (mL)	[RES] (mol/L)	[ $\beta$ -CD] (mol/L)	1/[ $\beta$ -CD] (L/mol)	A à $\lambda=305$ nm	$\Delta A$	1/ $\Delta A$
4	0	0.0002	0	$\infty$	3.917	0	$\infty$
2	2	0.00001	0.000015	66666.67	3.5339	0.3831	2.61028452
2	2	0.00001	0.00002	50000	3.4172	0.4998	2.00080032
2	2	0.00001	0.000025	40000	3.2998	0.6172	1.62022035
2	2	0.00001	0.00003	33333.33	3.2162	0.70078	1.42698136

### III.2.3 Protocoles:

#### III.2.3.1 Protocole d'inclusion par IR:

On a préparé les complexes d'inclusion de RES et deux cyclodextrines  $\alpha$ -CD et  $\beta$ -CD en mélangeant les poudres avec un rapport molaire de 1 :1 dont  $m(\text{RES}) = 0.05 \text{ g} / m(\alpha - \text{CD}) = 0.194 \text{ g} / m = 0.227 \text{ g}$ , les deux ingrédients ont été mélangés dans un mortier et à l'aide d'un pilon.



L'éthanol absolu a été ajouté (quelque gouttes) afin d'obtenir un mélange pâteux homogène. Après 45 min de temps de réaction, on a séché le mélange à l'air libre pendant 3 jours, les mélanges physiques ont été broyés et tamisés pour obtenir des poudres fines de RES/ $\alpha$ -CD=0.2g et RES/ $\beta$ -CD=0.3g. Lors de la caractérisation à l'état solide par FT-IR, on a utilisé une presse magnétique de marque « Specac », avant chaque mesure le mortier a été nettoyé soigneusement avec de l'éthanol, pour chaque échantillon le spectre représente une moyenne de 3 balayage enregistré dans la gamme [4000 -450  $\text{cm}^{-1}$ ].



### III.2.3.2 Test par radicale libre DPPH:

Le pouvoir antiradicalaire de RES a été mesuré avec le test DPPH (Le 2,2-diphényl 1-picrylhydrazyle) qu'il mesure la capacité d'un antioxydant à céder un proton et donc réduire le radical chimique DPPH, ce paramètre est mesuré par spectrophotométrie UV à  $\lambda_{\max}=517$  nm.

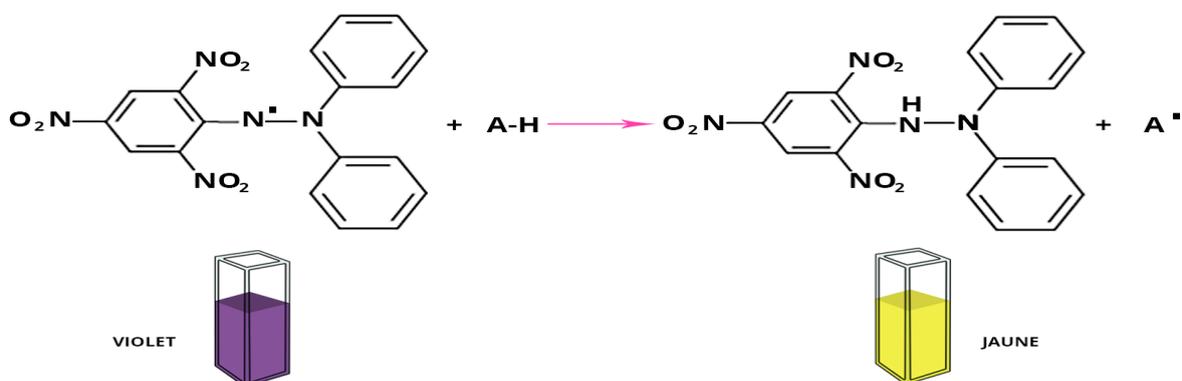


Figure : La réaction chimique entre DPPH et un antioxydant A-H

#### III.2.3.2.1. Protocole :

- Une solution de DPPH a été préparée (394.3 g/mol), en mélangeant 0.02g de DPPH ( $5 \times 10^{-5}$  mol) dans 50mL de méthanol, après cette solution a été conservée dans un réfrigérateur et à l'abri de la lumière pendant 30min.

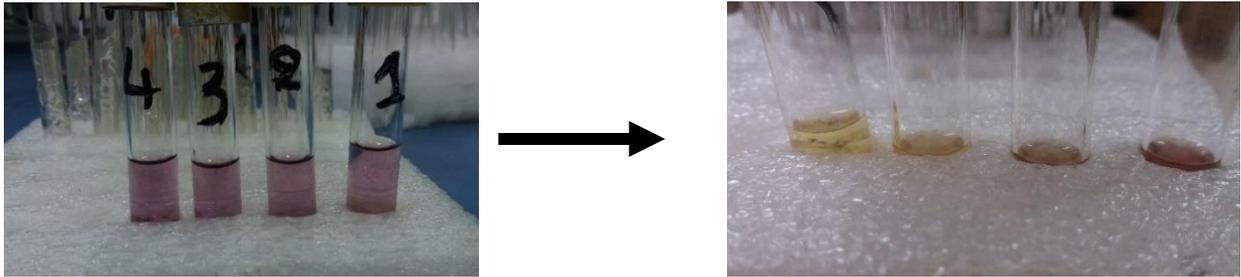
(vérifier que l'absorbance de la solution DPPH après 30min est entre 0.6 et 0.7).

- Des solutions mères de RES,  $\alpha$ -CD et  $\beta$ -CD ont été préparés à une concentration de 1 mg/mL.

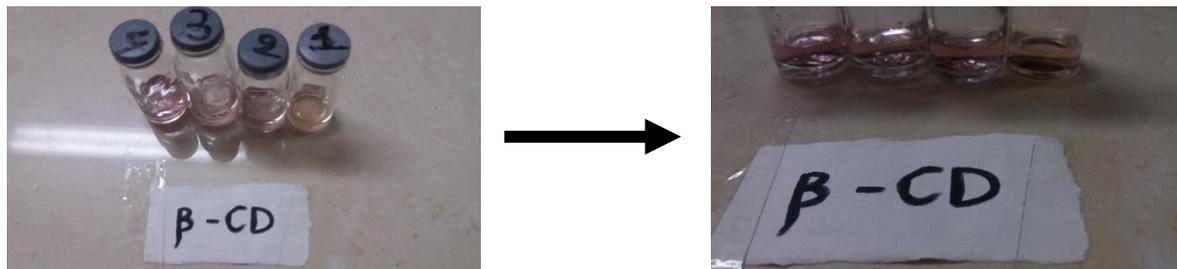
- Puis, on a préparé des solutions filles de chaque solution mère préalablement préparées, à différentes concentrations avec addition de 1 mL de DPPH dans chaque solution fille.

Une incubation a été effectuée pendant 30min.

### Solutions filles de RES avant et après l'incubation :



### Solution filles de $\beta$ -CD avant et après incubation de 48H :



### Mesure d'absorbances :

- Calibrer la spectrophotométrie UV à 0 (en mettant 2 mL de méthanol dans la cuve et faire le balayage).
- Fixer  $\lambda_{\max}$  à 517 nm.
- Pour le témoin (-) : dans une cuve en quartz introduit 1 ml de méthanol et 1 ml de DPPH ensuite lire l'absorbance.
- Mesuré ensuite l'absorbance des solutions filles diluées.
- Tracer la courbe de la concentration en fonction de pourcentage d'inhibition (I%).



$$I\% = \frac{A(T^-) - A(S)n}{A(T^-)}$$

Avec :

$A(T^-)$  : l'absorbance de Témoin négative /  $A(S)n$  : l'absorbance des solutions filles.

#### IV. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

- [1] Gehan F. Balata, Resveratrol  $\beta$ -cyclodextrin/lecithin complexes: A new approach for treatment of hepatic dysfunction, *Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, **2017**, 6,1-15.
- [2] Xingrong Ma, Zhikun Sun, YanruLiu,Yanjie Jia, Boai Zhang, MD, and Jiewen Zhang, Resveratrolimproves cognition and reducesoxidative stress in rats withvascular dementia, *J.NeuralRegenerationResearch.* **Aug 2013**.8.2050–2059.
- [3]Nonomura S, Kanagawa, H,Makimoto.Chemical constituent of polygonaceousplants.Studies on the components of Ko-jo-kon.YakugakuZasshi.*J-STAGE* .**1963**.83.988-990.
- [4] E. H. Siemann, L. L. Creasy.Concentration of the PhytoalexinResveratrol in Wine, *Am J Enol Vitic.* January**1992**.43. 49-52.
- [5]Trela BC, Waterhouse AL Resvératrol: absorptions molaires isomériques et stabilité. *Journal de chimie agricole et alimentaire.* **1996**.44.1253–1257.
- [6] Mattarei, A., Azzolini, M., Carraro, M., Sassi, N., Zoratti, M., Paradisi, C., Biasutto, L. Acetalderivatives as prodrugs of resveratrol. *J.Mol. Pharm.***2013**. 10.2781–2792.
- [7] NCBI, **2014**. *PubChem Substance Database*; SID 6374.
- [8] Augustin, M.A., Sanguansri, L., Lockett, T,Nano- and micro-encapsulatedsystems for enhancing the delivery of resveratrol. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **2013**. 12, 107–112.
- [9] Lopez-Hernandez, J., Paseiro-Losado, P., Sanches-Silva, A.T., Lage-Yusty, M.A,Study of the changes of trans-resveratrolcaused by ultraviolet light and the determination of trans- and cis-resveratrol in Spanish white wines. *Eur. J. Food Res. Technol.***2007**. 225.789–796.
- [10] Trela, B.C., Waterhouse, A.L. Resveratrol:isomeric molar absorptivities and stabilities. *J. Agric. Food Chem.***1996**. 44.1253–1257.
- [11] Aluyen, J.K, Ton, Q.N, Tran. T, Yang, A.E., Gottlieb, H.B., Bellanger,RA.Resveratrolpotential as anticancer agent. *J. Diet. Suppl.***2012**. 9, 45–56.
- [12] Pacifici RE, Davies KJA,Systèmes de réparation des protéines, des lipides et de l'ADN dans le stress oxydatif: la théorie des radicaux libres du vieillissement revisitée.*J.Gérontologie* . **1991**. 37.166–180.
- [13] SamarjitDas ,Dipak K Das, Anti-inflammatoryresponses of resveratrolR ,*inflammatoryAllergy Drug Target* , **sep 2007**.6.168-73.
- [14] Chen KH, Cheng ML, Jing YH, Chiu DT, Shiao MS, Chen JK Le resvératrol améliore les troubles métaboliques et la fonte musculaire chez les rats diabétiques induits par la

streptozotocine. *Le tourillon américain de la physiologie : Endocrinologie et métabolisme* . **2011**,301 (5).853–863.

[15] Laza-Knoerr AL, Gref R., Couvreur P. Cyclodextrines pour l'administration de médicaments. *Journal du ciblage des médicaments*. **2010**.18.645–656.

[16] Marel A.-K., Lizard G., Izard J.-C., Latruffe N., Delmas D. *Effets inhibiteurs des molécules analogues du trans -resvératrol sur la prolifération et la progression du cycle cellulaire des cellules tumorales du côlon humain*. *J.Nutrition moléculaire et recherche alimentaire* .**2008**.52 .538–548.

[17] Lançon A., Delma D., Osman H., Thénot J.-P., Jannin B., Latruffe N. Human hepaticcelluptake of resveratrol:involvement of both passive diffusion and carrier-mediated process , *J. Biochemical and BiophysicalResearch Communications*. **2004**.316.1132–1137.

[18] Urpi-Sarda M., Zamora-Ros R., Lamuela-Raventos R., et al. HPLC-tandem mass spectrometricmethod to characterizeresveratrolmetabolism in humans, *J. Clinical Chemistry*. **2007**.53.292–299.

[19] Zamora-Ros R., Urpí-Sardà M., Lamuela-Raventós R. M., et al. Diagnostic performance of urinaryresveratrolmetabolites as a biomarker of moderatewineconsumption.*J.Clinical Chemistry*. **2006**.52.1373–1380.

[20] Chen X., He H., Wang G., et al. Stereospecificdetermination of cis- and trans-resveratrol in rat plasma by HPLC: application to pharmacokineticstudies. *J..Biomedical Chromatography*.**2007**.21(3).257–265.

[21] Orallo F. Comparative studies of the antioxidanteffects of Cis- and trans-resveratrol, *J.CurrentMedicinal Chemistry*. **2006**.13.87–98.

[22] Yáñez M., Fraiz N., Cano E., Orallo F. Inhibitoryeffects of *cis*- and *trans*-resveratrol on noradrenaline and 5-hydroxytryptamine uptake and on monoamine oxidaseactivity,*J. Biochemical and BiophysicalResearch Communications*.**2006**.344.688–695.

[23] Walle T., Hsieh F., DeLegge MH, Oatis JE, Jr., Walle UK Absorption élevée mais très faible biodisponibilité du resvératrol oral chez l'homme. *J. Métabolisme et disposition des médicaments* . **2004** .32.1377–1382.

[24] Goldberg DM, Yan J., SoleasGJ ,Absorption de trois polyphénols liés au vin dans trois matrices différentes par des sujets sains, *J. Biochimie clinique* . **2003**.36.79–87.

[25] Marier JF, Vachon P, Gritsas A, et al. Metabolism and disposition of resveratrol in rats:extent of absorption, glucuronidation, and enterohepatic recirculation evidenced by a linked-rat model. *J PharmacolExpTher*.**2002**.73.302-369.

[26] Boocock D. J., Patel K. R., Faust G. E. S., et al. Quantitation of trans-resveratrol and

detection of its metabolites in human plasma and urine by high performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography and Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*. **2007**.848.182–187.

[27] Almeida L, Vaz-da-Silva M, Falcão A, Pharmacokinetic and safety profile of trans-resveratrol in a rising multiple-dose study in healthy volunteers. *Molecular Nutrition and Food Research*. **2009**.53.7–15.

[28] T. Higuchi, K. Connors, “Phase Solubility Techniques,” *J. Advanced Analytical Chemistry of Instrumentation*. **1965**.4. 117-212.

[29] K. Larsen, W. Zimmermann, *J. Chromatogr. A*. **1999**.836. 3-14.

[30] Yannis Dotsikas, Yannis L Loukas, Efficient determination and evaluation of model cyclodextrin complex binding constants by electrospray mass spectrometry *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **2003**.14.1123-1129.

[31] J. Cunnif, P. Vouros, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, False positives and the detection of cyclodextrin inclusion complexes by electrospray mass spectrometry, *American Society for Mass Spectrometry*. **1995**.6. 437-447.

[32] V. Gabelica, N. Galic, E. De Pauw, , On the specificity of cyclodextrin complexes detected by electrospray mass spectrometry. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **2002**.13.946-953.

[33] . M. Svensson, S. Humbel, R. D. J. Froese, T. Matsubara, S. Sieber, and K. Morokuma,, A Multilayered Integrated MO + MM Method for Geometry Optimizations and Single Point Energy Predictions, *J. Phys , Chem.*, **1996**. 100. 19357

[34] V. Gabelica, N. Galic, E. De Pauw, On the specificity of cyclodextrin complexes detected by electrospray mass spectrometry. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **2002**. 13. 946-953.

[35] Miriana 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, *thèse de doctorat*, **2005**, page 34.

[36] Y. Al-nouti, M. Bartlett, Comparison of local anesthetic-cyclodextrin non-covalent complexes using capillary electrophoresis and electrospray ionization mass spectrometry *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **2002**.13. 928-935.

[37] Zheng Shi, Russell J Boyd , The shell structure of atoms and the Laplacian of the charge density , *J.chemical physics* **1988**. 88.4375–4377.

[38][Koch U, Popelier PLA. Characterization of C-H-O hydrogen bonds on the basis of the charge density. *J Phys Chem.*, **1995**. 99. 9747–9754.

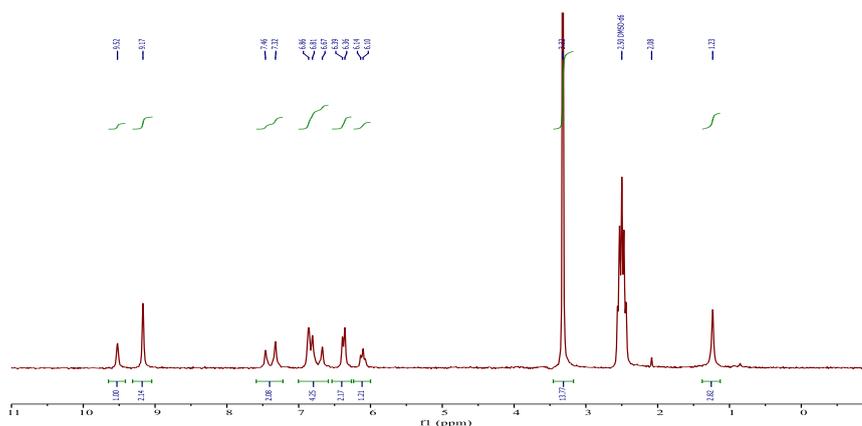
- [39] S.J. Grabowski, An estimation of strength of intramolecular hydrogen bonds—ab initio and AIM studies, *J. Mol. Struct.*, **2001**. 562 .137–143.
- [40] R. Rosset, M. Caude, A. Jardy, *Chromatographies en phases liquide et supercritique*, Ed. Masson, Paris, **1991**.
- [41] S.charumane and S.OKONOKI « improvement of the dissolution rate of piroxicam by surface solid dispersion , C ,*J researchGate* .February **2004**.3.77-84.
- [42] : Xincal Hao, Xiaodong Sun<sup>1</sup>, Haizhen Zhu, Lixia Xie, Xuanbin Wang, Nan Jiang, Pan Fu and Ming Sang, Hydroxypropyl- $\beta$ -Cyclodextrin-Complexed Resveratrol Enhanced Antitumor Activity in a Cervical Cancer Model: In Vivo Analysis, *Frontiers in Pharmacology*, **2021**, 12, 573-909.
- [43] Xuechun Wang, Vineela Parvathaneni, Snehal K. Shukla, Nishant S. Kulkarni, Aaron Muth, Nitesh K. Kunda, Vivek Gupta, Inhalable resveratrol-cyclodextrin complex loaded biodegradable nanoparticles for enhanced efficacy against non-small cell lung cancer, *International Journal of Biological Macromolecules*. **2020**.164.638–650.
- [44] Robert M Silverstein ,Spectrometric identification of organic compound ,*edition JOHN WILEY SON*, chapitre 3 , page 198 .
- [45] VITTORIO BERTACCHE<sup>1</sup> , NATASCIA LORENZII<sup>1</sup> , DONATELLA NAVA<sup>1</sup> , ELENA PINI<sup>1,\*</sup> and CHIARA SINICO<sup>2</sup>, Host–Guest Interaction Study of ResveratrolWith Natural and ModifiedCyclodextrins, *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*.**2006**.55.279–287.
- [46] Ivana Savić-Gajić, Ivan M. Savić, Vesna D. Nikolić, Ljubiša B. Nikolić, Mirjana M. Popsavin, Srđan J. Rakić, THE IMPROVEMENT OF PHOTOSTABILITY AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF trans-RESVERATROL BY CYCLODEXTRINS, *J.Advanced technologies* .**2007**. 6(2) 18-25.

# Annexe



1D-1H-"PowerScan"

Parameter	Value
1 Data File Name	c:/ projects/ data/ 2022/ 05/ 15/ 101744-Laoufi Res-1D PROTON-1D PROTON/ Enhanced/ data.1d
2 Spectrometer	SPINSOLVE 60 CARBON
3 Solvent	DMSO
4 Sample	Laoufi Res
5 Number of Scans	40
6 Acquisition Date	2022-05-15T10:17:44.908 (min)
7 Total acquisition time	8.799999999999999 (min)
8 Nucleus	1H

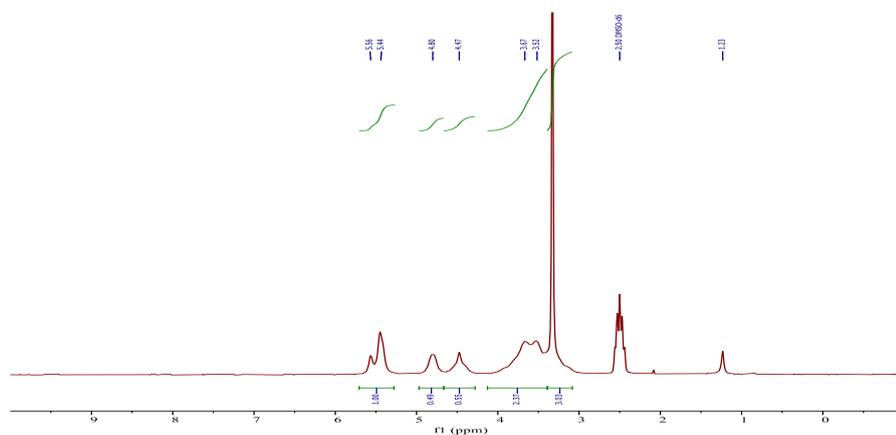


## Annexe 1 : H<sup>1</sup>RMN de RES libre



1D-1H-"PowerScan"

Parameter	Value
1 Data File Name	c:/ projects/ data/ 2022/ 05/ 15/ 104325-Laoufi alpha-CD-1D PROTON-1D PROTON/ Enhanced/ data.1d
2 Spectrometer	SPINSOLVE 60 CARBON
3 Solvent	DMSO
4 Sample	Laoufi alpha-CD
5 Number of Scans	40
6 Acquisition Date	2022-05-15T10:43:29.527 (min)
7 Total acquisition time	8.799999999999999 (min)
8 Nucleus	1H

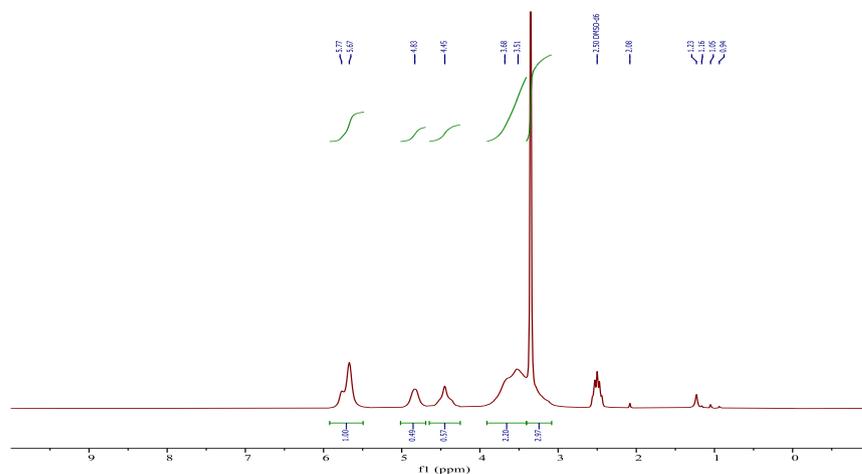


## Annexe 2 : H<sup>1</sup>RMN DE α-CD



1D-1H-"PowerScan"

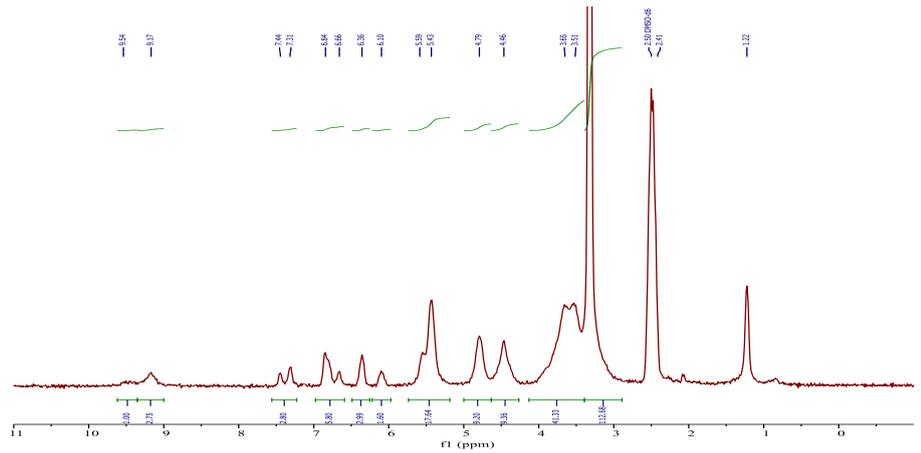
Parameter	Value
1 Data File Name	c:/ projects/ data/ 2022/ 05/ 15/ 110140-Laoufi beta-CD-1D PROTON-1D PROTON/ Enhanced/ data.1d
2 Spectrometer	SPINSOLVE 60 CARBON
3 Solvent	DMSO
4 Sample	Laoufi beta-CD
5 Number of Scans	40
6 Acquisition Date	2022-05-15T11:01:41.074 (min)
7 Total acquisition time	8.799999999999999 (min)
8 Nucleus	1H



## Annexe3 : H<sup>1</sup>RMN de β-CD

1D-1H-"PowerScan"

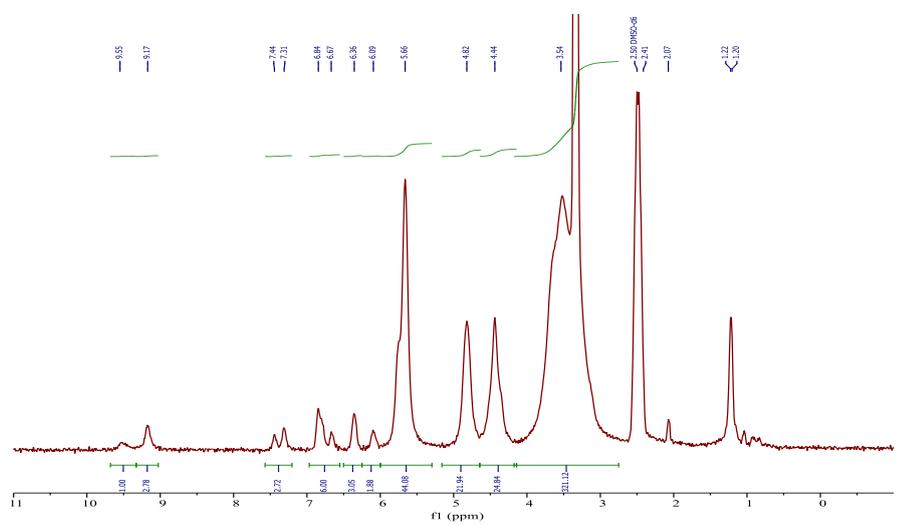
Parameter	Value
1 Data File Name	c:/ projects/ data/ 2022/ 05/ 15/ 111918-Laoufi Res+alpha_CD immédiat-1D PROTON-1D PROTON/ Enhanced/ data.1d
2 Spectrometer	SPINSOLVE 60 CARBON
3 Solvent	DMSO
4 Sample	Laoufi Res+alpha_CD immédiat
5 Number of Scans	40
6 Acquisition Date	2022-05-15T11:19:18.971
7 Total acquisition time (min)	8.879999999999999
8 Nucleus	1H



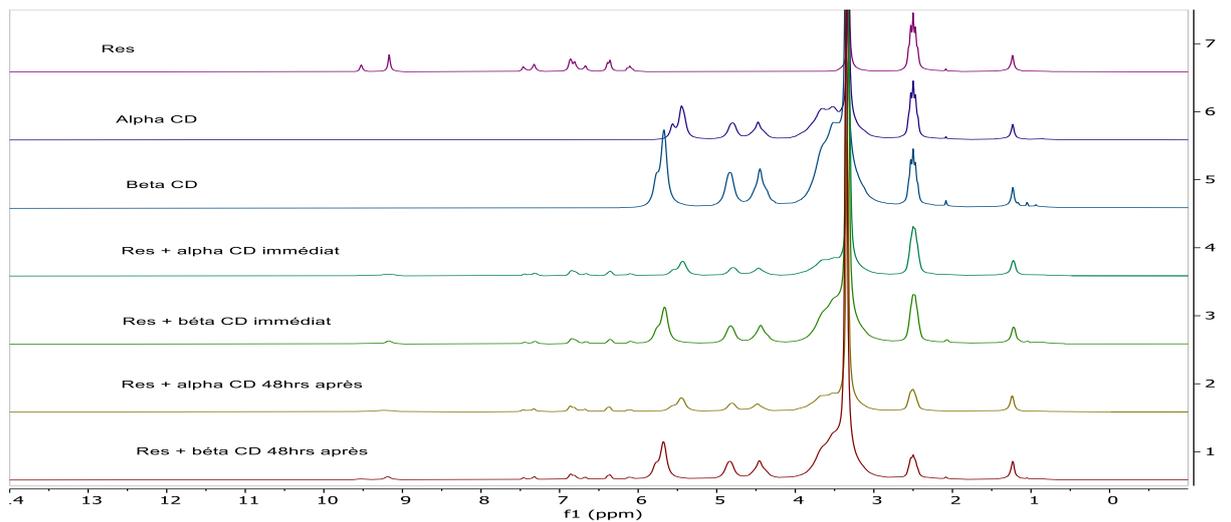
Annexe 4 : <sup>1</sup>H RMN de (RES/ α-CD)

1D-1H-"PowerScan"

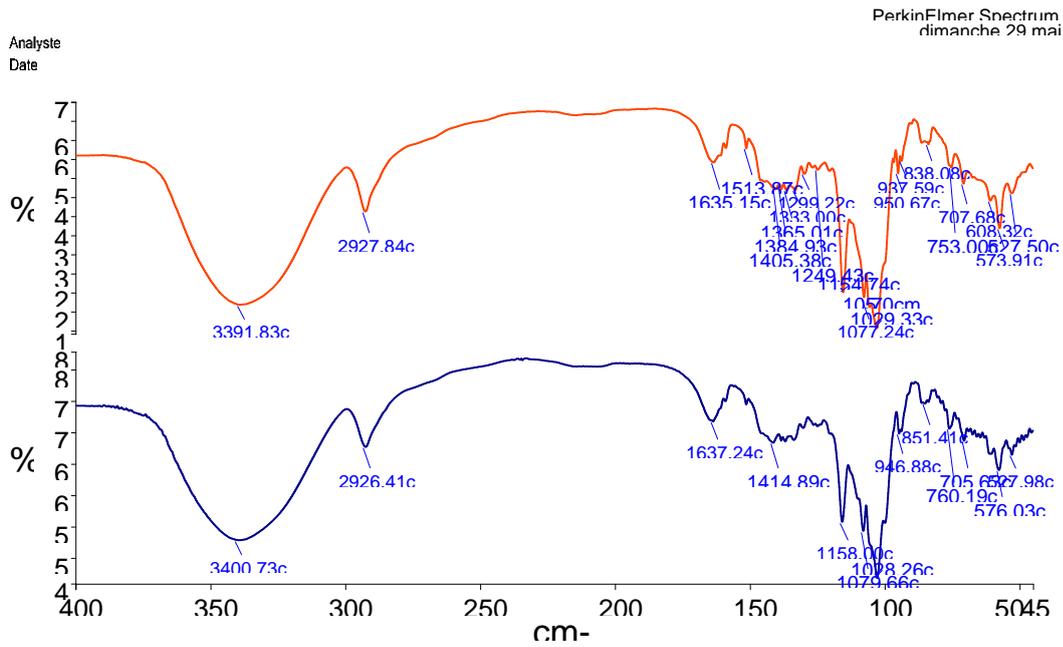
Parameter	Value
1 Data File Name	c:/ projects/ data/ 2022/ 05/ 15/ 113627-Laoufi Res+beta_CD immédiat-1D PROTON-1D PROTON/ Enhanced/ data.1d
2 Spectrometer	SPINSOLVE 60 CARBON
3 Solvent	DMSO
4 Sample	Laoufi Res+beta_CD immédiat
5 Number of Scans	40
6 Acquisition Date	2022-05-15T11:36:28.270
7 Total acquisition time (min)	8.879999999999999
8 Nucleus	1H



Annexe 5 : <sup>1</sup>H RMN de (RES/ β-CD)



Annexe 6 : spectre RMN 1H superposé

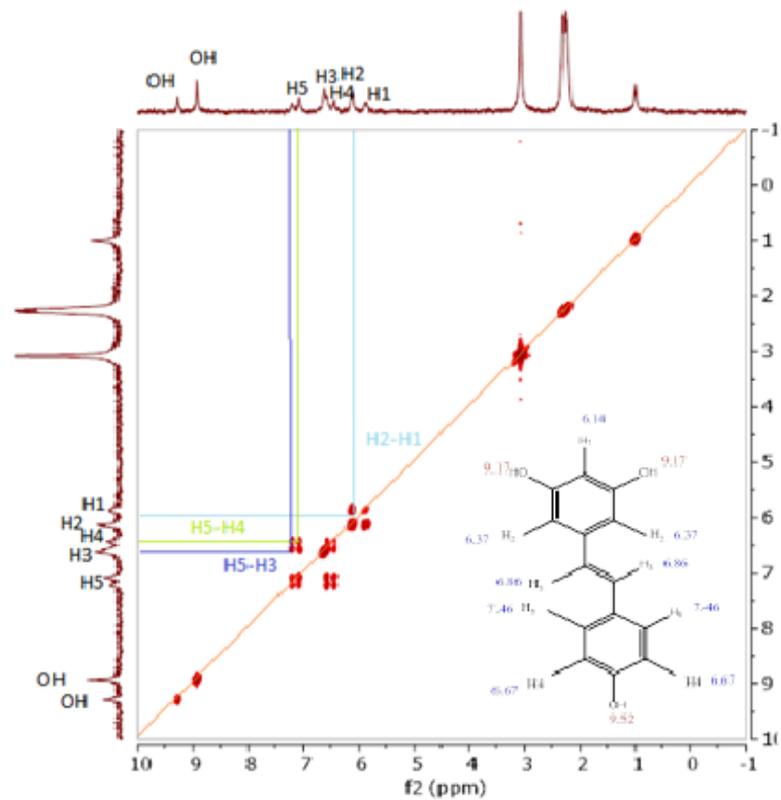


Annexe 7 : spectre FT-IR de (RES/ $\alpha$ -CD) et (RES/ $\beta$ -CD)

magritek

COSY-1H1H-"Cosy5min"

Parameter	Value
File Name	c:/ projects/ data/ 2022/ 05/ 15/ 103033-Lacouf Res-COSY 2D-COSY 2D/ data 2d
Instrument	SPIN SOLVE 60 CARBON
Vendor	ID450
Sample	Lacouf Res
Number of Scans	1
Acquisition Date	2022-05-15T10:30:49.004
Time of Acquisition	4:55
Time (min)	
Instrument	(61.82, 61.82)
Frequency	
Spectral Width	(2000.0, 1000.0)
Offset	(-628.6, -129.8)
Frequency	
Phase	(1H, 1H)
Number of Data Points	(256, 1024)
Number of Data Points	(1024, 1024)



Annexe 8 : Carte COSY du trans resveratrol.

## RESUME

---

Le but de ce travail est d'étudier la formation du complexe d'inclusion du resvératrol à base de deux CDs dans le méthanol, de plus les propriétés antioxydantes de chaque complexe ont été étudiées par la méthode de DPPH, l'étude en solution a été réalisée par spectrophotométrie UV-visible montrant la stœchiométrie du complexe 1 :1 et  $^1\text{H}$  RMN, alors que l'étude à l'état solide a été réalisée en utilisant la spectroscopie infrarouge (FT-IR).

**Mots clés :** Resvératrol,  $\alpha$ -Cyclodextrine,  $\beta$ -Cyclodextrine, complexe d'inclusion.

## ABSTRACT

---

The purpose of this work is to study the formation of the inclusion complex based on two CDs in methanol, moreover the antioxidant properties of each compound were studied by the DPPH method, the study in solution was carried out by UV-visible spectrophotometry showing the stoichiometry of the 1:1 complex and the formation constant Kf, and  $^1\text{H}$ RMN spectroscopy, whereas the solid-state study was carried out using infrared spectroscopy (FTIR).

**Keyword:** Resveratrol,  $\alpha$ -Cyclodextrin,  $\beta$ -Cyclodextrin, inclusion complex.

## ملخص

---

الهدف من هذا العمل هو دراسة تكوين مركب التضمين ريسفيراترول على أساس اثنين من الدكسترين الحلقي في الميثانول ، علاوة على ذلك تمت دراسة الخواص المضادة للأكسدة لكل مركب بطريقة 2،2-ثنائي فينيل 1-بيكريل هيدرازيل ، الدراسة في المحلول كانت تم إجراؤه بواسطة القياس الطيفي المرئي للأشعة فوق البنفسجية والذي يظهر قياس العناصر المتكافئة للمركب 1:1 والرنين المغناطيسي النووي ، بينما أجريت الدراسة في الحالة الصلبة باستخدام التحليل الطيفي بالأشعة تحت الحمراء.

**الكلمات المفتاحية:** ريسفيراترول ، ألفا سيكلودكسترين ، بيتا سيكلودكسترين ، مركبات الادراج .