



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 PHARMACEUTIQUE**

Par :

**M<sup>lle</sup> ABOU SARRA**

Sur le thème

---

## **SYNTHESE DE NOUVEAUX AGONISTES GABA ET ETUDE DE LEUR CAPACITE A FORMER DES LIPOSOMES AVEC LA CYCLODEXTRINE**

---

Soutenu publiquement le 25 juin 2019 à Tlemcen devant le jury composé de :

Mr. CHAOUKI SELLES	Professeur	Université de Tlemcen	Président
Mr. JOSEPH KAJIMA MULENGI	Professeur	Université de Tlemcen	Examineur
Mr. OKACHA BENSAID	Professeur	Université de Tlemcen	Examineur
Mme. ASSIA KENICHE	Maître de conférences B	Centre Universitaire de Maghnia	Encadrante

*Laboratoire de Chimie Organique, Substances Naturelles et Analyses (COSNA)  
Tlemcen- Algérie*

**ANNEE 2018 – 2019**

اللَّهُمَّ لك الحمد حمداً كثيراً طيباً مباركاً فيه عدد خلقك ورضى نفسك وزنة عرشك ومداد كلماتك والصلاة والسلام على  
حبيبنا محمد وعلى آله وصحبه أجمعين.

أبدأ أولى كلماتي بالشكر والثناء لله عز وجل على توفيقى لانجاز هذا البحث راجية من الله أن يكون خالصاً لوجهه الكريم .

## DEDICACE

*Nous avons atteint le point final où les espoirs de l'enfance et le rêve que nous aspirions à atteindre qui est l'obtention de diplôme du master sont sur le point de voir le jour.*

*A l'occasion de la fin de ce travail, je vais le dédier :*

*A ma chère sœur Kawtar que Dieu t'accueille dans son vaste paradis et t'accorde la paix éternelle : “ Tu m'as accompagné jusqu'à la première année de master, tu as toujours été une autorité morale de soutien pour moi à tout moment avec ton sourire, j'aurais aimé que tu sois toujours parmi nous pour partager cette grande joie mais Dieu a décidé autrement. Ainsi je dédie ce travail à toi et je souhaite que tous ceux qui vont le lire prient pour toi, je ne t'oublierai jamais mon ange, je t'aime tellement.”*

*A mes chers parents Ammara et Yahia : “Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenties, pour mon instruction et mon bien être. Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours. Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos innombrables sacrifices, bien que je ne vous en acquitterai jamais assez. Puisse Dieu, le Très Haut, vous accorde santé, bonheur et longue vie et fait en sorte que jamais je ne vous déçoive.”*

*A mes frères et ma douce sœur : “ Nour El Houda, Abd El Nour, Diaa El Dine, Abd El Bar, en témoignage de mon affection fraternelle, de ma profonde tendresse et reconnaissance, je vous souhaite une vie pleine de bonheur et de succès. Je vous aime énormément.”*

*A ma famille paternelle et maternelle ABBOU : “ Mes grands pères et mères, mes oncles, mes cousins, je me sens très chanceuse d'avoir une telle famille, je vous aime tous.”*

*A tous ceux qui ont contribué à ce travail et à tous ceux qui me sont chers.....*

## REMERCIEMENTS

*Ce Travail a été réalisé au sein du Laboratoire de Chimie Organique ,Substances naturelles et Analyses (COSNA) de l'Université de Tlemcen dont on remercie le Directeur du laboratoire Pr.Z.ARRAR.*

*J'exprime mes profonds remerciements à monsieur le Professeur **JOSEPH KAJIMA MULENGI**, pour m'avoir accueillie et aidée à intégrer le master de Chimie Pharmaceutique et de m'avoir permis de profiter d'excellentes conditions de travail théoriques et pratiques.*

*J'adresse également mes remerciements les plus sincères à mon encadreur, Docteur **SLIMANI née KENICHE ASSIA**, pour son dynamisme pour la recherche scientifique, qui était pour moi une source de motivation.*

*Je la remercie pour ses conseils et ses commentaires qui ont enrichi mon travail expérimental et ma rédaction.*

*Je tiens à remercier très sincèrement Professeur **SELLES CHAOUKI**, pour l'honneur qu'il m'a fait en acceptant de présider le jury de ce mémoire. Je le remercie infiniment pour l'agréable sortie scientifique sous sa direction au centre universitaire de Maghnia pour participer à la journée mondiale de l'eau le 8 Mai 2019.  
Qu'il trouve ici le témoignage de ma profonde gratitude.*

*Mes plus vifs remerciements à monsieur le Professeur **OKACHA BENSAID**, d'avoir accepté de s'associer à ce jury et qui nous a fait l'honneur de bien vouloir examiner ce travail.*

*Je voudrais également remercier madame **DRICI WASSILA**, Maître de conférences à l'université de Tlemcen pour ses remarques et ses conseils et sa disponibilité.*

*J'associe à ces remerciements mesdemoiselles **MAMI IMANE** et **BENYAMINNA SAMIA**, Je les remercie pour leurs gentillesse, leurs conseils et leurs remarques qui ont enrichi mon travail expérimental.*

*Je remercie fortement Melle **LESHAF ANISSA** du laboratoire de recherche sur les macromolécules pour son aide pour les analyses.*

*J'exprime ma profonde reconnaissance à tous mes enseignants et à toute ma promotion.*

*C'est difficile de placer une limite à ces remerciements et de citer chaque personne .Je remercie tous ceux qui ont d'une façon ou d'une autre, participé au bon déroulement de ce mémoire, trouvent ici l'expression de notre profonde gratitude.....*

## LISTE DES ABREVIATIONS.

**A** : Absorbance UV

**A-SO1** : Analogue du GABA

**BHE** : Barrière hémato-encéphalique

**BPO** : Peroxyde de benzoyle

**CCM** : Chromatographie sur couche mince

**CD** : Cyclodextrine

**CHO** : Cholestérol

**$\alpha$ -CD** : alpha –cyclodextrine

**$\beta$ -CD** : béta -cyclodextrine

**$\gamma$ -CD** : gamma-cyclodextrine

**DPPA** : Azoture de diphénylphosphoryle

**ee** : Pureté énantiomérique

**FTIR** : Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier

**GABA** : Acide Gamma Amino –Butyrique

**GAT** : Transporteur de GABA

**HPF6** : Acide hexafluorophosphorique

**IPA** : Isopropanol

**IC 50** : Concentration Inhibitrice médiane

**LUV** : Grandes vésicules unilamellaires

**MLV** : Vésicules Multilamellaires

**MFSDA** : Fluorosulfonyldifluoroacétate de méthyle

**NaDCC** : Dichloroisocyanurate de sodium

**NFSI:** N-fluorobenzènesulfonimide

**PA:** Phosphatic Acid

**PC:** Phosphatidylcholine

**PE:** Phosphatidylethanolamine

**pH:** Potentiel Hydrogène

**PTSA :** Acide Para Toluène Sulfonique

**RMN :** Résonance Magnétique Nucléaire

**SNC :** Système Nerveux Centrale

**SUV :** Petites Vésicules Unilamellaires

**TA :** Température Ambiante

**TEA :** Triéthylamine

**TFA:** Acide trifluoroacétique

**THF :** Tétrahydrofurane

**UV:** Ultraviolet

## ABSTRACT:

In this work, we synthesized analogues of the GABA receptor, which is involved in several neurological diseases. Our analogues have cycles to increase rigidity compared to the neurotransmitter GABA. We also conducted a study of liposome formation based on cyclodextrin to help improve the pharmacokinetic parameters of our analogues.

**Keywords:** Synthesis, Agonist, GABA, Cyclodextrin, Liposome, Central nervous system.

## RESUME :

Dans ce travail, nous avons synthétisé des analogues du récepteur GABA, impliqués dans plusieurs maladies neurologiques. Nos analogues possèdent des cycles afin d'augmenter la rigidité par rapport au neurotransmetteur GABA. Nous avons aussi réalisé une étude de formation de liposome à base de cyclodextrine afin de contribuer à l'amélioration des paramètres pharmacocinétiques de nos analogues.

**Mots clés :** Synthèse, Agoniste, GABA, Cyclodextrine, Liposome, Système nerveux central.

## ملخص :

في هذا العمل ، قمنا بتركيب نظائر من مستقبلات *GABA* ، والتي تشارك في العديد من الأمراض العصبية. نظائرنا لها دورات لزيادة الصلابة مقارنة بالنواقل العصبية *GABA*. أجرينا أيضًا دراسة لتكوين الجسيمات الشحمية استنادًا إلى السكريات الحلقية للمساعدة في تحسين المعلمات الحركية الدوائية من نظائرنا. الكلمات المفتاحية: اصطناع ,مماثل ,الغابا ,السكريات الحلقية ,الجسيمات الشحمية, الجهاز العصبي المركزي .

## SOMMAIRE

<b>INTRODUCTION GENERALE.....</b>	<b>01</b>
<b>PARTIE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE .....</b>	<b>[06-17]</b>
<b>CHAPITRE 1 : Méthodes des synthèses des analogues du GABA.....</b>	<b>[06-13]</b>
INTRODUCTION .....	06
I. Synthèses des Fluoro-, Trifluorométhyl Muscimols.....	06
II. Synthèse des analogues cycliques phosphiniques du GABA.....	07
III. Synthèse des analogues du GABA à partir des alcènes.....	08
IV. Synthèse des analogues bicycliques du GABA.....	10
V. Synthèse des analogues Cyclobutanique du GABA.....	11
VI. Synthèse énantiosélective du Prégabaline.....	12
VII. Synthèse du (R) –Baclofène.....	13
Conclusion.....	13
<b>CHAPITRE 2:Etude des liposomes à base des cyclodextrines.....</b>	<b>[14-17]</b>
INTRODUCTION.....	14
I. Les cyclodextrines.....	14
A. Définition et propriétés.....	14
B. Méthodes de préparation des complexes d'inclusion.....	14
C. l'importance des CDs.....	14
D. Pourquoi nous avons pensé de coupler le complexe CD/ principe actif avec les liposomes?.....	14
II. Les liposomes.....	15
A. Définition et composition.....	15
B. Classification.....	15
C. Méthodes d'encapsulation d'un complexe d'inclusion CD / principe actif dans les liposomes .....	16
1. Hydratation en film mince.....	16
2. Evaporation en phase inverse .....	16
3. Congélation /décongélation .....	17
4. Injection d'éthanol .....	17

5. Déshydratation / réhydratation .....	17
CONCLUSION .....	17
<b>PARTIE II : RESULTATS ET DISCUSSION.....</b>	<b>[18-35]</b>
<b>CHAPITRE 3 : Travail effectué.....</b>	<b>[18-31]</b>
INTRODUCTION .....	
I. CHOIX DES ANALOGUES DU GABA ,TYPE DE CD ET LIPOSOME .....	18
II. PURIFICATION DES SOLVANTS .....	18
A. Purification du dichlorométhane .....	18
III. SYNTHÈSE DES ANALOGUES DU GABA.....	19
A. SYNTHÈSE AS-01.....	19
1. La première méthode .....	19
1. Purification de benzaldéhyde.....	20
2. Synthèse de N-benzylèneacrylamide.....	20
3. Synthèse de N-benzylacrylamide.....	20
2. La deuxième méthode .....	20
1. Synthèse de N-benzylacrylamide.....	20
2. Synthèse de N-allyl N-Benzylamide.....	21
3. Réaction de photocycloaddition .....	21
4. Réaction d'hydrolyse.....	24
IV. ETUDE DES COMPLEXES D'INCLUSION PAR SPECTROSCOPIE UV.....	24
1. Détermination de la complexation.....	24
2. Détermination de la stœchiométrie.....	26
3. Détermination de Ka.....	27
4. Proposition de la géométrie de la complexation .....	28
V. ETUDE DE CAPACITÉ D'ANALOGUE DU GABA DE FORMER DES LIPOSOMES A BASE DE CD.....	28
<b>CONCLUSION GÉNÉRALE.....</b>	<b>31</b>
<b>PERSPECTIVES.....</b>	<b>31</b>
<b>PARTIE EXPÉRIMENTALE.....</b>	<b>32</b>
<b>REFERENCES.....</b>	<b>36</b>
<b>SPECTRES IR.....</b>	<b>38</b>

## INTRODUCTION GENERALE

Le système nerveux central est l'ensemble d'une série d'événements commençant par l'induction neurale, et se terminent par la formation de synapse<sup>1</sup>. En 1950 Roberts et Frankel ont découvert la molécule la plus répandue dans ce système c'est l'acide  $\gamma$ -aminobutyrique, désigné : GABA<sup>2</sup>.

### 1. Définition du GABA :

Le GABA ou l'acide  $\gamma$ -aminobutyrique, est le principal neurotransmetteur inhibiteur du système nerveux central (CNS). Il existe trois classes de récepteurs de GABA nommées: GABA<sub>A</sub>, GABA<sub>B</sub> et GABA<sub>C</sub>, dont leur rôle primordial est l'implication dans différents processus du (CNS), comme la mémoire, l'apprentissage et dans la physiopathologie des maladies<sup>3</sup>. Les deux groupes amine et acide carboxylique sont impliqués dans les interactions avec le récepteur GABA.

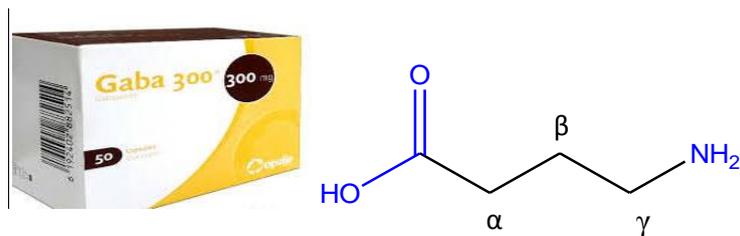


Figure 1 : La structure moléculaire du l'acide  $\gamma$ -aminobutyrique (GABA).

### 2. Importance Biologique du GABA :

Le GABA est présent dans 30 à 40 % des synapses du système nerveux central<sup>10</sup>. Il est essentiel à l'équilibre global entre l'excitation et l'inhibition neuronale<sup>4</sup> ; le manque de GABA est souvent lié à plusieurs maladies, tels que : l'épilepsie<sup>5</sup>.

### 3. La Biosynthèse du GABA :

Le GABA est le produit de décarboxylation oxydative de l'acide glutamique par l'enzyme glutamate décarboxylase<sup>6</sup>.

<sup>1</sup>K. Gajcy, S. Lochy, T. Librowski, A Role of GABA Analogues in the Treatment of Neurological Diseases, *Current Medicinal Chemistry*. **2010**, *17*, 2338-2347.

<sup>2</sup>E. Roberts, S. Frankel,  $\gamma$ -Aminobutyric acid in brain, *Journal of Biological Chemistry*. **1950**, *187*, 55-63.

<sup>3</sup>J. Hanrahan, K. Mewett, M. Chebib, Diastereoselective synthesis of ( $\pm$ )-(3- amino cyclopentane) alkyl phosphinic acids, conformationally restricted analogues of GABA, *Organic and Biomolecular Chemistry*. **2006**, *4*, 2642–2649.

<sup>4</sup>M. Chebib, G. Johnston, GABA-Activated Ligand Gated Ion Channels: Medicinal Chemistry and Molecular Biology, *Journal of medicinal chemistry*. **2000**, *43*, 1427–1447.

<sup>5</sup>G. Kini, R. Robins, T. Avery, Synthesis and antitumor activity of ribavirin imidates New facile synthesis of ribavirin amidine (1-.beta.-D-ribofuranosyl-1,2,4-triazole-3-carboxamide hydrochloride), *Journal of medicinal chemistry*. **1989**, *32*, 1447-1449.

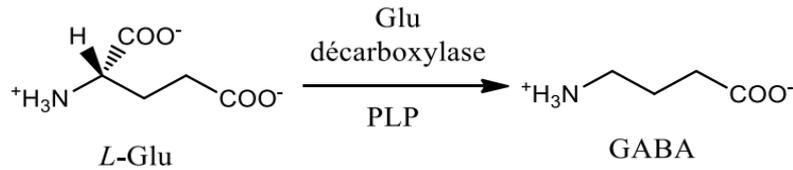


Schéma 1 : La biosynthèse du GABA dans le cerveau.

#### 4. Le Mode d'action du GABA :

Le GABA peut être fixé sur plusieurs récepteurs, en favorisant l'ouverture d'un canal ionique qui mène à une augmentation de l'effet inhibiteur de GABA.

- Les récepteurs canaux GABA<sub>A</sub>, se sont des récepteurs ionotropes, car ils sont directement liés à un canal ionique (réponse rapide), ce type de récepteur est de forme pentamère qui contient cinq sous unités comportant des sites de reconnaissance pour le GABA, benzodiazépine, barbiturique et les alcools (et autres agents convulsivants). Donc une fois le ligand ou le neurotransmetteur fixé sur cette molécule, ouvre le canal ionique chlorure.

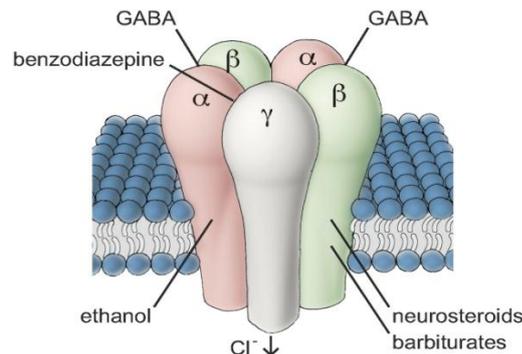


Figure 2 : la forme pentamère de récepteur GABA<sub>A</sub><sup>7</sup>.

- Les récepteurs GABA<sub>B</sub>, se sont des récepteurs métabotropes, parce qu'ils sont liés à distance à un canal cationique par l'intermédiaire d'une protéine G (réponse plus lente), ce qui provoque l'ouverture des canaux cationiques (Ca<sup>2+</sup>). Ces derniers sont impliqués dans l'anxiété, la dépression et l'addiction<sup>8,9</sup>.

<sup>6</sup>C. Moussard, Biologie moléculaire. Biochimie des communications cellulaires, De Boeck Supérieur Amazon France. **2005**, p 261.

<sup>7</sup>M. Uusi, E. Korpi, Regulation of GABA<sub>A</sub> receptor subunit expression by pharmacological agents, Pharmacological Reviews. **2010**, 62, 97-135.

<sup>8</sup>E. Marty Jean, Prise en charge thérapeutique de la dépendance à la cocaïne, place des antiépileptiques, Thèse de doctorat en pharmacie, France, Université de Poitiers. **1987**, p 30.

<sup>9</sup>E. Bacon, F. Viennot, Le système complexe des récepteurs GABA-benzodiazépine, Synthèse médecine sciences. **1990**, 6, 770-777.

- Le dernier type c'est le récepteur GABA<sub>C</sub> qui est aussi ionotrope comme le récepteur GABA<sub>A</sub> mais il est insensible aux benzodiazépines et barbiturique.

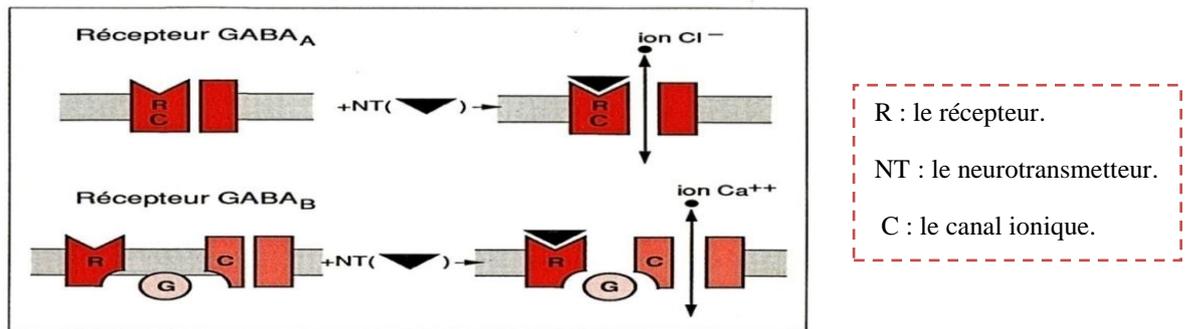
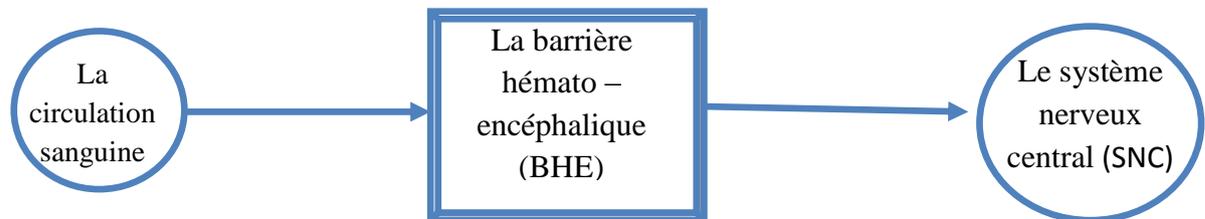


Figure 3 : La différence entre les récepteurs GABA<sub>A</sub> et GABA<sub>B</sub>.

## PROBLEMATIQUE



### Les critères de passage :

Les substances doivent être de petite taille, faiblement acides, solubles dans l'eau et dans les graisses, difficilement dégradables pour être potentiellement capables de traverser la BHE. Les grosses molécules ou celles chargées sont tout simplement incapables de traverser la BHE<sup>10</sup>.

A cause de cette barrière hémato-encéphalique (BHE) entre la circulation sanguine et le système nerveux central, il ne suffit pas de manger des aliments riches en GABA pour fournir leur existence au niveau du SNC. Même si on synthétise directement les analogues du GABA le problème reste toujours posé parce que la plupart des médicaments qui se trouvent

<sup>10</sup>M. Leteve, Synthèse de nouveaux inhibiteurs des histones désacétylases et leur intérêt dans un modèle préclinique d'addiction à l'alcool, *Thèse de doctorat en chimie*, Reims, Université de Champagne – Ardenne, 2016, p11.

actuellement sur le marché ne possèdent pas tous les critères de passage au SNC, notamment le caractère lipophile, ce qui défavorise son passage via la (BHE)<sup>11</sup>.

De plus le GABA est une molécule flexible qui est impliquée dans plusieurs maladies neurodégénératives, et présente différentes conformations vis-à-vis des trois types de récepteurs GABA<sub>A</sub>, GABA<sub>B</sub> et GABA<sub>C</sub><sup>12</sup>. Donc, notre challenge en tant que chimiste est d'améliorer leur sélectivité et leur vectorisation via cette barrière.

## OBJECTIFS

Face à ces deux problématiques, la conformation et la vectorisation des analogues du GABA, Notre objectif ultime dans ce mémoire est de synthétiser des analogues de GABA, en augmentant la rigidité du squelette en introduisant un cycle dans la structure du GABA. Tout en gardant les deux fonctions acide et amine. Donc afin de faciliter le passage des nouveaux analogues du GABA au (SNC), nous avons choisi d'étudier leurs complexes sous forme de liposomes avec la  $\beta$ -cyclodextrine ( $\beta$ -CD).

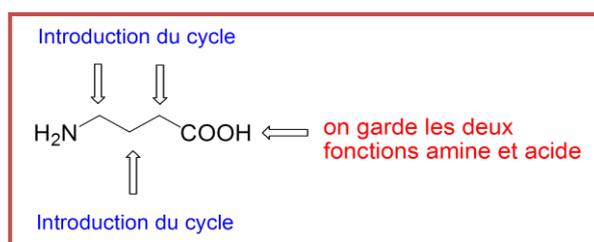
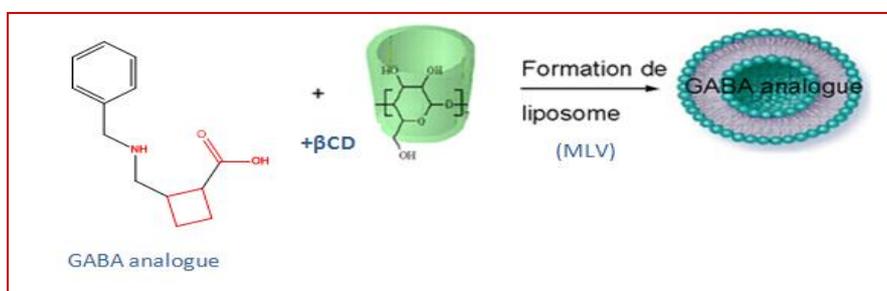


Schéma 2 : Cible de modification pour synthétiser l'analogue de GABA.

On cite comme exemple de structure d'analogue cible :



<sup>11</sup>W.M. Pardridge, Strategies for delivery of drugs through the blood-brain barrier, *Annual Rep Med Chem.* **1985**, 20, 305 – 313.

<sup>12</sup>M. Chebib, G. Johnston, The 'ABC' of GABA Receptors, *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology.* **1999**, 26, 937–940.

Ensuite la capacité à former des liposomes avec la cyclodextrine :

Le plan de ce mémoire s'articule autour de deux grandes parties, dont la première est une synthèse bibliographique, tandis que la deuxième nommée «Travail effectué » qui détaillera nos résultats obtenus au sein du laboratoire ainsi que les données expérimentales relatives à chaque synthèse.

Pour la première partie ; **La synthèse bibliographique** s'étendra sur deux chapitres :

Lors du premier chapitre, nous verrons en premier lieu la synthèse des recherches bibliographiques concernant les méthodes de synthèses des analogues du GABA.

Le second chapitre, quant à lui, dresse la synthèse des recherches bibliographiques concernant la formulation des CDs sous forme des liposomes.

La dernière section de chaque chapitre de ce manuscrit englobe les données expérimentales relatives aux différentes synthèses. Nous terminons ce manuscrit par une conclusion contenant les perspectives qui s'ouvrent pour la poursuite de notre recherche.

## PARTIE I : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

### Chapitre 1 : Méthodes des synthèses des analogues du GABA

#### INTRODUCTION

Il existe dans la littérature plusieurs méthodes de synthèse, qui englobent les analogues cyclique, acyclique et aliphatique ; on passe en revue dans ce chapitre, quelques synthèses des analogues cycliques et acycliques du GABA.

#### I. Synthèses des Fluoro-, Trifluorométhyl-Muscimols :

M. Abdul Fatah et col.,<sup>13</sup> se sont intéressés à la synthèse des analogues de GABA à partir du Muscimol, car ce dernier est un analogue naturel du GABA qui est présent dans les champignons de type « *Amanitamuscaria* » (figure1). Aussi il a une activité sélective vis-à-vis les récepteurs GABA<sub>A</sub>.

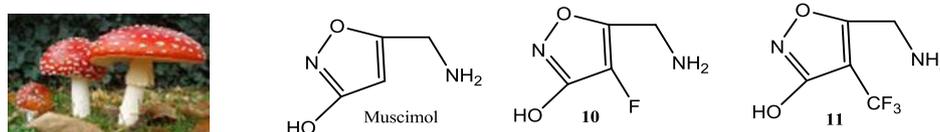


Figure 1 : Structure du Muscumol et des analogues (**10**, **11**).

L'étape clé est l'obtention du composé (**8**) fluoré, par une présence d'une base forte qui va arracher le proton acide d'isoxazole (**7**), après la charge négative attaque l'électrophile du fluor qui a été obtenu par N-fluorobenzènesulfonylimide (NFSI). Enfin c'est le clivage par l'éther pour générer le fluoromuscimol (**10**).

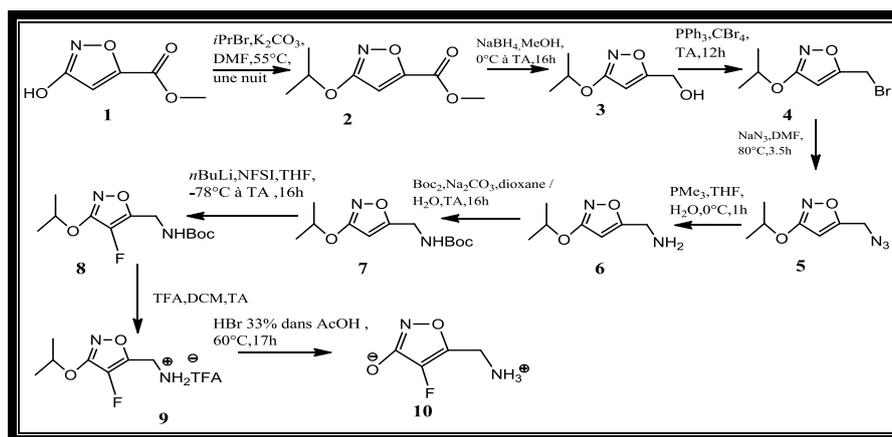


Schéma 1 : Synthèse d'analogue cyclique **10** du GABA.

<sup>13</sup>M. Abdul Fatah Abdul Manan, D. Cordes, M. Chebib, The Synthesis and Evaluation of Fluoro-, Trifluoromethyl-, and Iodomuscimols as GABA Agonists, *Chem. Eur. J.* **2017**, *23*, 10848–10852.

La synthèse du trifluorométhylmuscimol(**11**) implique un protocole en onze étapes à partir d'isoxazole(**1**). L'étape clé de cette synthèse c'est la trifluorométhylation de (**15**) qui a été atteint en utilisant le fluorosulfonyldifluoroacétate de méthyle (MFSDA) en tant que trifluorométhylnucléophile.

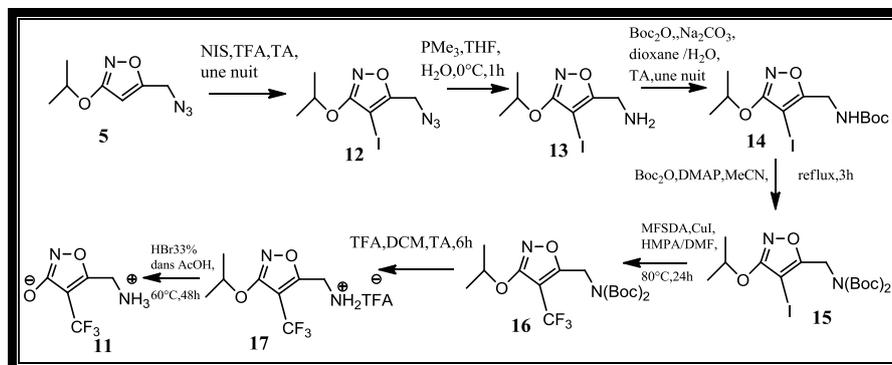


Schéma 2: Synthèse d'analogue cyclique **11** du GABA.

## II. Synthèse des analogues cycliques phosphiniques du GABA:

L'importance des analogues du GABA phosphiniques (figure 2), réside dans leurs différences d'activités in vivo, car ils agissent comme des agonistes du récepteur GABA<sub>B</sub> et antagonistes compétitifs au GABA<sub>C</sub>.

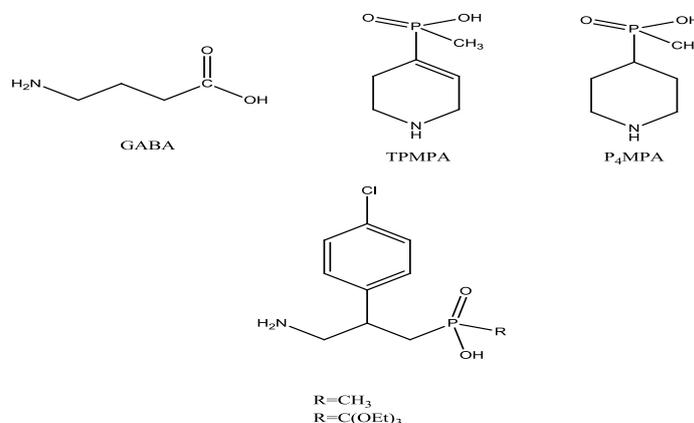


Figure 2 : Quelques exemples des analogues du GABA phosphiniques<sup>14</sup>.

L'une des plus grandes difficultés dans la synthèse des composés organophosphorés carbo-cycliques est la formation de la liaison carbone – phosphore. *Chebib et Col.*,<sup>14</sup> ont décrit la synthèse des deux diastéréoisomères de ( $\pm$ ) - (3-aminocyclopentane) acide alkylphosphiniques. Les deux diastéréoisomères sont obtenus en 5 étapes, l'étape clé c'est la

<sup>14</sup>J. Hanrahan, K. Mewett, M. Chebib, Diastereoselective synthesis of ( $\pm$ )-(3- amino cyclopentane) alkyl phosphinic acids, conformationally restricted analogues of GABA, *Organic and Biomolecular Chemistry*. **2006**, *4*, 2642–2649.

formation de (±) - (3-hydroxycyclopent-1-ène) alkylphosphinate (**20,21**) qui est préparé via une réaction catalysée par le palladium (0).

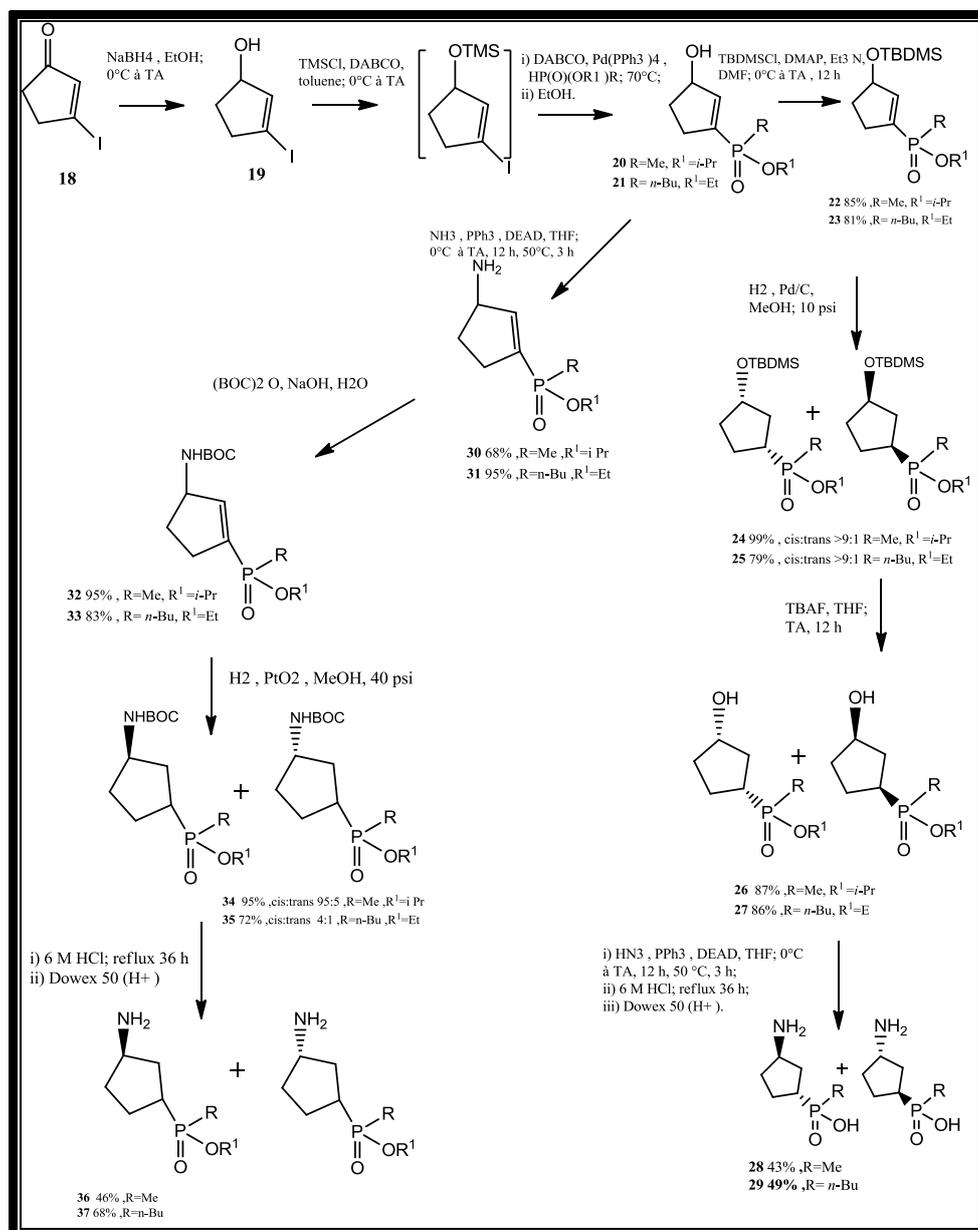


Schéma 3: Synthèse des analogues **28, 29, 36, 37** cycliques phosphiniques du GABA.

### III. Synthèse des analogues du GABA à partir des alcènes :

Les nitriles sont des produits chimiques peu coûteux, largement utilisés comme solvants dans les réactions inorganiques. Récemment, ils ont été utilisés par *Zhu, N et Col.*,<sup>15</sup> dans la carboamination des alcènes catalysée par le cuivre, pour former les analogues du GABA, des pyrrolidines et pyrrolidinones substituées (Figure 3).

<sup>15</sup> N. Zhu, T.Wang,  $\gamma$ -Amino Butyric Acid (GABA) Synthesis Enabled by Copper-Catalyzed carboamination of Alkenes , *Organic Letter*. **2017**, *19*, 4718–4721.

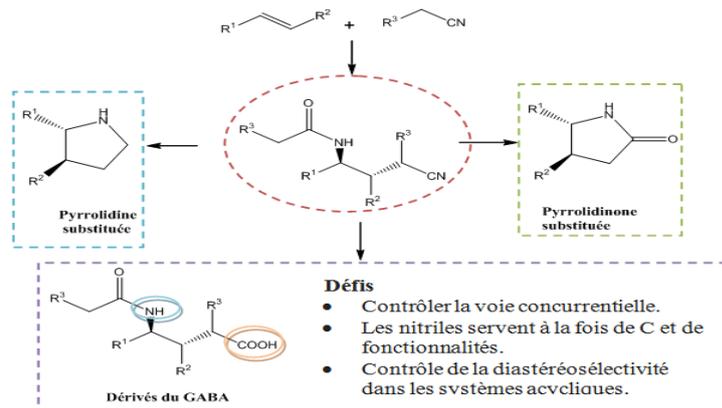


Figure 3 : Carboamination des alcènes en analogues de GABA.

La première étape effectuée c'est la carboamination de l'alcène catalysée par le cuivre en présence d'un groupe acétonitrile, suivi par la réaction de Ritter qui génère la formation de l'acétamide. Il en résulte le composé (40) clé pour synthétiser les analogues cyclique du GABA.

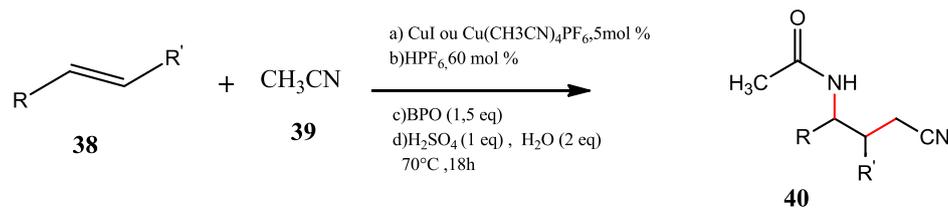


Schéma 4: Carboamination d'alcène catalysée par le cuivre.

Ensuite, les produits (40 a) et (40 b) ont été convertis par cyclisation en pyrrolidine(42) substituée en 2,3-trans et en pyrrolidine(41) substituée en 2. De plus, le  $\gamma$ -acide aminé protégé (43) a été synthétisé à partir de (40a) avec un rendement de 52 %.

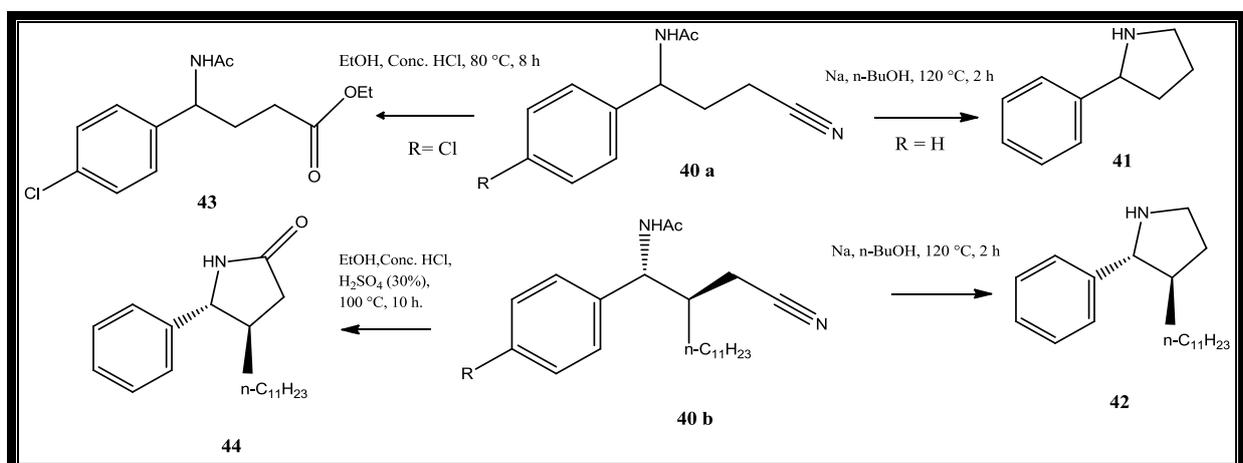


Schéma 5: Synthèse des analogues 41, 42, 43, 44 du GABA.

#### IV. Synthèse des analogues bicycliques du GABA:

*Kobayashi .T et col.*,<sup>16</sup> se sont intéressés à l'inhibition de la recapture du GABA par ses transporteurs (GAT-1,GAT-2,GAT-3, Betaine /Transporteur de GABA(BGT-1)). Ils ont réussi à développer le premier inhibiteur puissant du transporteur GABA hautement sélectif pour BGT-1 (Figure 4) avec ( $IC_{50}=0.59 \mu M$ ).

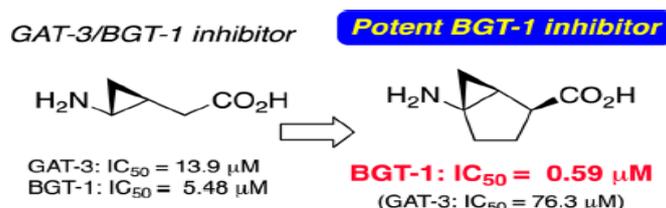


Figure 4 : Représentation de l'analogue bicyclique du GABA.

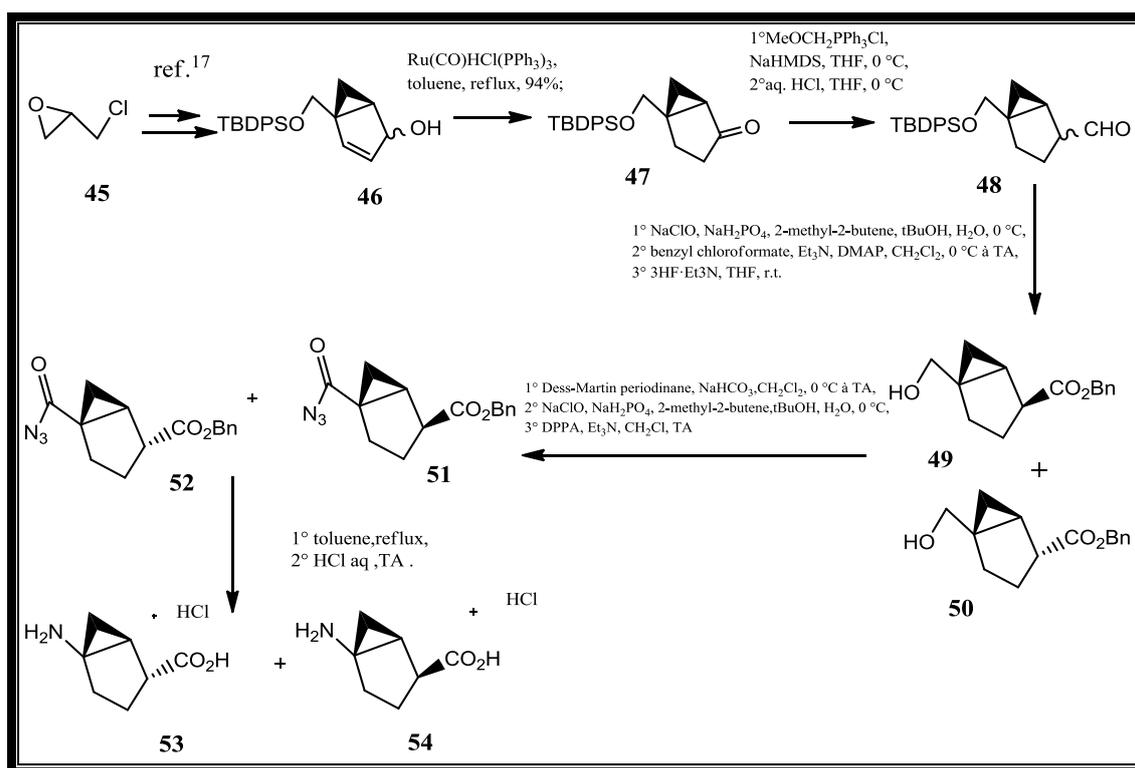


Schéma 6 : Synthèse des analogues 53, 54 du GABA.

<sup>16</sup>T. Kobayashi, A. Suemasa, A. Igawa, Conformationally restricted GABA with bicycle [3.1.0] hexane backbone as the first highly selective BGT1 Inhibitor, *ACS Med. Chem. Lett.* **2014**, 5, 889–893.

La synthèse de ces analogues (**53**), (**54**) a débutée par la sélection de mélange d'alcool (**46**) diastéréoisomère comme intermédiaire, qui a été obtenu à partir de (R) –épichlorhydrine par une procédure décrite par *Park et Col.*,<sup>17</sup>. Ce dernier subit une isomérisation catalysée pour donner la cétone (**47**), suivie d'une réaction de Wittig et un traitement acide, a donné l'aldéhyde (**48**) sous forme d'un mélange diastéréomérique. L'oxydation et la benzylation de (**48**) et l'élimination du groupe protecteur O-silyle ont donnés un mélange (**49**), (**50**) diastéréomérique pure (de > 99%).

## V. Synthèse des analogues Cyclobutanique du GABA :

Cette méthode a été apportée par *Gauzy. C et col.*,<sup>18</sup> ils ont réussi à synthétiser à la fois (+) -(1S, 2R) et (-) - (1R, 2S) acide -2-aminocyclobutane-1- carboxylique(**62**)avec des rendements globaux de 83 % et 85 % en cinq étapes à partir de (**R**) -**56**. Ce dernier subit une photocycloaddition [2 + 2] pour former le couple chiral du cycle à quatre chaînons (-)-**57** et (-)-**58**.

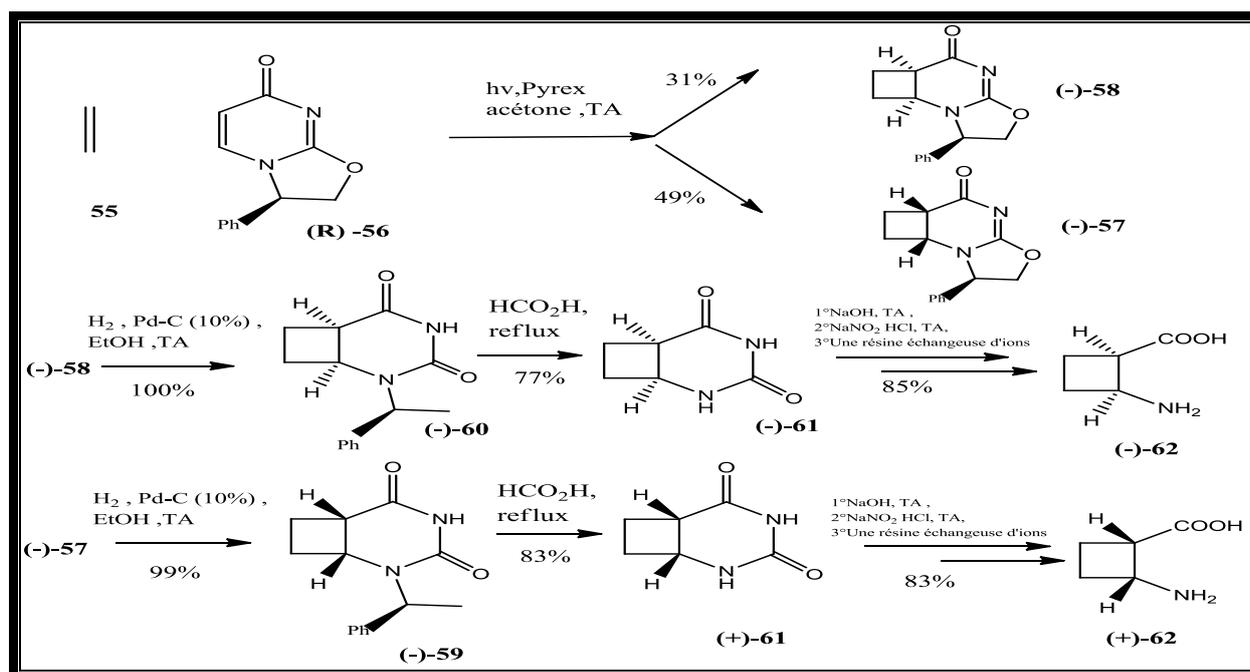


Schéma 7: Synthèse énantiosélective de l'analogue **62** du GABA.

<sup>17</sup>A.Y. Park, H. R Moon, K.R. Kim, M.W. Chun, L.S. Jeong, Synthesis of novel L-N-MCd4T as a potent anti-HIV agent, *Org BiomolChem.* **2006**, 4, 4065–4067.

<sup>18</sup>C. Gauzy, E. Pereira, S. Faure, D.J. Aitken, Synthesis of (+)-(1S,2R) and (-)-(1R,2S)-2-aminocyclobutane-1 carboxylic acids, *Tetrahedron Letters.* **2004**, 45, 7095–7097.

L'étape clé de cette synthèse, c'est l'ouverture sélective des cycles à cinq chaînons de (-)-**57** et (-)-**58** a été obtenu par hydrogénation catalytique en présence de palladium, pour fournir les diastéréoisomères uniques (-) **59** et (-)-**60**. Ensuite, le groupe  $\alpha$ -méthylbenzyle a été éliminé proprement et efficacement avec l'acide formique au reflux pour donner les énantiomères (-) - **61** et (+) -**61**.

## VI. Synthèse énantiosélective du Prégabaline :

*Bassas .O et col.*,<sup>19</sup> ont développé une synthèse énantiosélective simple et courte du médicament antiépileptique Prégabaline (**67**) ou l'acide (3S) -3- (aminométhyle) -5-méthylhexanoïque ,qui est commercialisé par Pfizer sous le nom de marque Lyrica®.

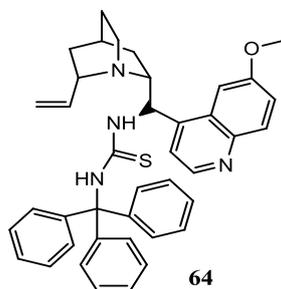


Figure 5 : Catalyseur utilisé dans la synthèse du Prégabaline.

Ce groupe, a testé une famille de nouveaux catalyseurs pour favoriser la réaction ci-dessous, a fin de trouver que la meilleure énantiosélectivité a été obtenue avec le catalyseur (**64**) (figure 5).L'addition de Michael de l'acide de Meldrum sur un nitroalcène(**63**) en présence d'un organocatalyseur(**64**) pendant 23h, fourni l'intermédiaire clé (**65**) avec un rendement de 84% et de pureté énantiomérique (ee =74,6%).

<sup>19</sup>O. Bassas, J. Huuskonen, K. Rissanen, A. M. P. Koskinen, A Simple Organocatalytic Enantioselective Synthesis of Pregabalin, *Eur. J. Org. Chem.* **2009**, 9 ,1340–1351.

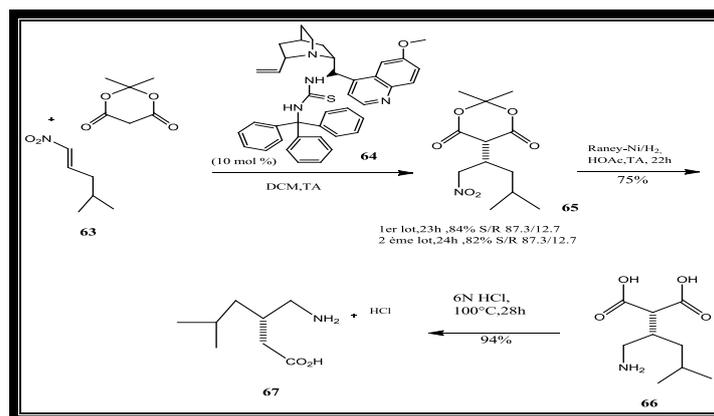


Schéma 8: Synthèse énantiosélective du Prégabaline.

## VII. Synthèse du (R) –Baclofène :

Shao, C et col.<sup>20</sup> ont développé une synthèse énantiosélective du (R) – Baclofène (72) avec un rendement élevé de 94%, comme agoniste sélectif du récepteur GABA<sub>B</sub>.

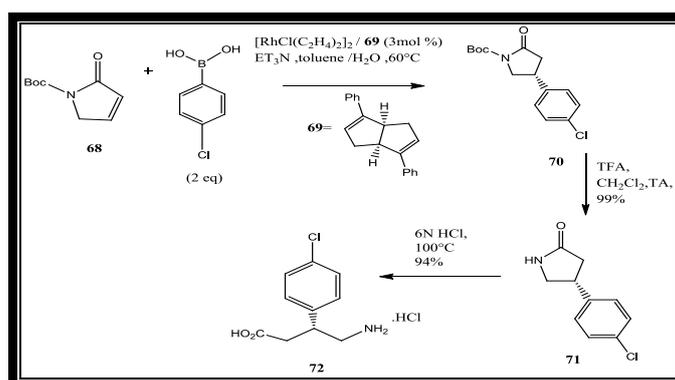


Schéma 9 : Synthèse énantiosélective du (R) –Baclofène.

## CONCLUSION

Nous ne pouvons recenser toutes les méthodes de synthèse des analogues du GABA, car la littérature est très riche dans le sujet. Néanmoins nous avons essayé de diversifier les exemples.

<sup>20</sup>C. Shao, H.J. Yu, N.Y. Wu, P. Tian, R. Wang, C.G. Feng, G.Q. Lin, Asymmetric Synthesis of  $\beta$ -Substituted  $\gamma$ -Lactams via Rhodium/Diene-Catalyzed 1,4-Additions, *ORGANIC LETTERS* .2011, 13,788–791.

## Chapitre 2: Etude des liposomes à base des cyclodextrines

### INTRODUCTION :

Pour faciliter le passage des analogues de GABA aux (SNC), on a choisi de coupler entre deux systèmes d'administration : complexe d'inclusion (CD / analogue du GABA) sous forme de liposome. Dans ce chapitre nous passons en revue la littérature concernant l'encapsulation d'un complexe d'inclusion CD / principe actif dans les liposomes.

#### I. Les cyclodextrines :

**A. Définition et propriétés :** Une cyclodextrine (CD) est un oligosaccharide cyclique de  $\alpha$ -D glucose formé par l'action de certaines enzymes sur l'amidon. Trois cyclodextrines sont facilement disponibles et sont communément appelés CD natifs :  $\alpha$ -CD,  $\beta$ -CD et  $\gamma$ -CD<sup>21</sup>.

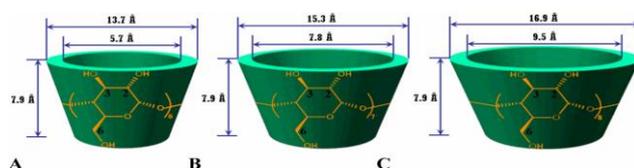


Figure 1 : Représentation structurale des  $\alpha$ -CD,  $\beta$ -CD et  $\gamma$ -CD de gauche à droite.

**B. Méthodes de préparation des complexes d'inclusion :** Les méthodes les plus connues pour former les complexes d'inclusions à base de CD sont : La co-évaporation<sup>22</sup> ; Préparation complexe en phase aqueuse<sup>23</sup> et le Malaxage<sup>24</sup>.

**C. l'importance des CDs :** On peut citer les avantages suivants<sup>25,26</sup> : a) augmenter la solubilité dans l'eau des molécules hydrophobes encapsulées ; b) Augmenter leurs activités biologiques ; c) Augmenter leur stabilité.

**D. Pourquoi nous avons pensé de coupler le complexe CD / principe actif sous forme de liposomes ?** Malgré tous les avantages de ce complexe d'inclusion CD / principe actif, le caractère hydrophile de la partie externe du CD réduit sa chance pour franchir la barrière hémato encéphalique. Pour cette raison plusieurs études ont montré

<sup>21</sup>K.A. Connors, The Stability of Cyclodextrin Complexes in Solution, *Chem. Rev.* **1997**, 97, 1325-1357.

<sup>22</sup>T. Guo, Q. Zhu, D. Xia, X. Li, J Zhang Pluronic, F127-modified liposome-containing tacrolimus-cyclodextrin inclusion complexes, *J Pharm Pharmacol.* **2013**, 65, 1107-1117.

<sup>23</sup>A.R. Hedges, Industrial applications of cyclodextrins, *Chem Rev.* **1998**, 98, 2035-2044.

<sup>24</sup>T. Loftsson, M.E. BREWSTER, Cyclodextrins as Functional Excipients: Methods to Enhance Complexation Efficiency, *Journal of Pharmaceutical Sciences.* **2012**, 101, 3019-3032.

<sup>25</sup>T. Loftsson, D. Duchene, Cyclodextrins and their pharmaceutical applications, *International Journal of Pharmaceutics*, **2007**, 2, 1-11.

<sup>26</sup>T. Loftsson, M.E. BREWSTER, Pharmaceutical Applications of Cyclodextrins, *Journal of Pharmaceutical Sciences.* **1996**, 85, 1017-1025.

que l'utilisation, des liposomes restait l'une des stratégies efficaces parce qu'ils ont une composition similaire avec les membranes biologiques en façon générale et la membrane de cette barrière en particulier<sup>27</sup>.

## II. Les liposomes :

**A. Définition et composition :** Le mot liposome se compose de deux parties d'origine grecque « lipos » et « Soma » qui signifient respectivement gras et corps. De plus les liposomes ont la capacité de piéger des agents lipophiles dans la membrane lipidique, hydrophiles dans le cœur aqueux et amphiphiles à l'interface eau-lipide. Leur taille peut aller de quelques nanomètres à plusieurs micromètres<sup>28,29</sup>.

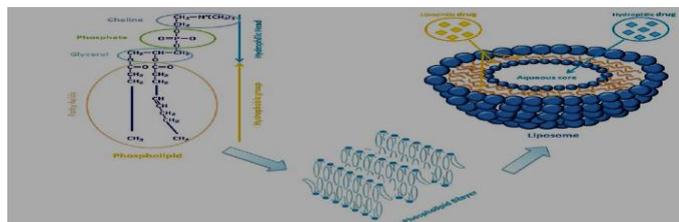


Figure 3 : Dessin schématique de la structure des liposomes et des modèles de piégeage de médicaments lipophiles ou hydrophiles<sup>29</sup>.

Ainsi, les phospholipides sont capables à s'auto-organiser en solution, de façon que les groupements polaires soient en contact avec des groupements polaires qui se trouvent dans le milieu environnant<sup>30</sup>. Les lipides les plus couramment utilisés pour préparer des liposomes à base de phospholipides sont PA, PC, PE et aussi peuvent contenir du cholestérol (CHO)<sup>31</sup>.

**B. Classification :** Les liposomes sont généralement classés en fonction de leur taille et du nombre de bicouches : 1-petites vésicules unilamellaires (**SUV**) comprises entre 20 et 100 nm ; 2-grandes vésicules unilamellaires (**LUV**) (> 100 nm) à une seule lamelle. Alors que les vésicules multilamellaires (**MLV**) sont de grandes vésicules ayant une taille supérieure à 500 nm ; la lamellarité varie entre 5 et 20 lamelles

<sup>27</sup>L. Collin, Opening the brain to new therapies, *Med Sci.* **2014**, *30*, 486–488.

<sup>28</sup>G. Bozzuto, A. Molinari, Liposomes as nanomedical devices, *International Journal of Nanomedicine.* **2015**, *10*, 976-999.

<sup>29</sup>A. Laouini, C. Jaafar-Maalej, I. Limayem-Blouza, S. Sfar, C. Charcosset, H. Fessi, Preparation, Characterization and Applications of Liposomes: State of the Art, *Journal of Colloid Science and Biotechnology.* **2012**, *1*, 147–168.

<sup>30</sup>H. Rongen, W.P. Bennekom, A. Bult, Liposomes and immunoassays, *Journal of Immunological Methods.* **1997**, *204*, 105-133.

<sup>31</sup>N.D. Weiner. Phospholipid Liposomes: Properties and Potential Use in Flavor Encapsulation, *ACS Symposium Series.* **1997**, *610*, 210–218.

concentriques et dépend de la concentration en lipides et du mode de préparation des liposomes<sup>32</sup>.

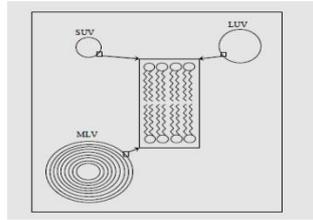


Figure 5 : Structures des liposomes<sup>32</sup>.

**C. Méthodes d'encapsulation d'un complexe d'inclusion CD / principe actif dans les liposomes :** Le caractère d'hydrophobicité des substances affecte sur l'encapsulation des liposomes, et les substances hydrophiles telles que la CD sont plus faciles à encapsuler<sup>33</sup>.

**1. Hydratation en film mince :** Les MLV sont obtenues en dissolvant le lipide avec le minimum de solvant organique (chloroforme), qui est ensuite éliminé sous pression réduite pour obtenir un film mince séché. Enfin, le film est hydraté par une solution aqueuse contenant CD /principe actif sous agitation<sup>34</sup>.

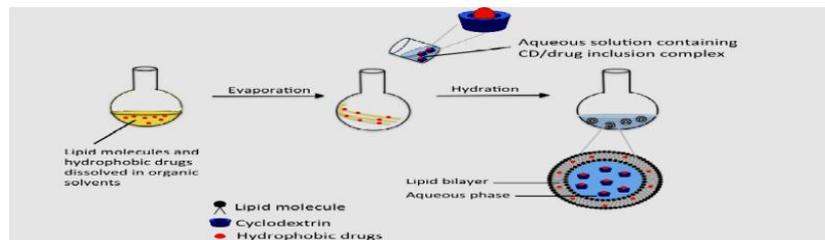


Figure 6: Préparation de liposomes à double chargement par une méthode d'hydratation en film mince<sup>34</sup>.

**2. Evaporation en phase inverse :** La phase lipidique est dissoute dans un solvant organique et mélangée à une solution aqueuse contenant le complexe d'inclusion CD / principe actif dans un bain à ultrasons à 0 ° C<sup>35</sup>.

<sup>32</sup>A. Gabizon, D. Tzemach, L. Mak, M. Bronstein, A.T. Horowitz, Dose dependency of pharmacokinetics and therapeutic efficacy of pegylated liposomal doxorubicin (DOXIL) in murine models, *J Drug Target*. **2002**, *10*, 539-587.

<sup>33</sup>M.M. Dergaef, « les liposomes : aspects technologiques et pharmaceutiques ».Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie, Université de Nantes, France. **2004**, p40..

<sup>34</sup>R. Gharib, H.Gerges, S. Fourmentin, C. Charcosset, L. Auezova, Liposomes incorporating cyclodextrin–drug inclusion complexes: Current state of knowledge, *Carbohydrate Polymers*. **2015**, *129*, 175-186.

<sup>35</sup>F. Maestrelli ,L. Gonzalez Rodriguez, A.M. Rabasco, P Mura, Effect of preparation 549 technical on the properties of liposomes encapsulating ketoprofen–cyclodextrin complexes aimed for transdermal delivery, *Int J Pharm*. **2006**, *312*, 53–60.

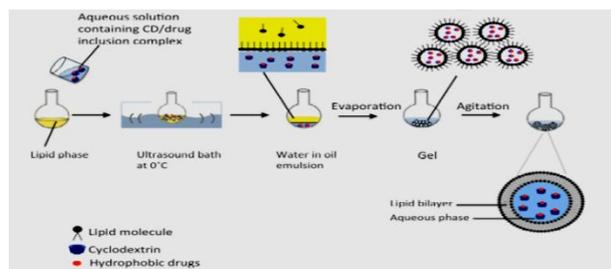


Figure 7 : Méthode d'évaporation en phase inverse <sup>34</sup>.

3. **Congélation / décongélation** : les SUV sont préparés en ajoutant des phospholipides en un agent adoucissant bicouche (par exemple Tween 80), suivi d'un tampon contenant un complexe d'inclusion CD / principe actif sous agitation<sup>36</sup>.
4. **Injection d'éthanol** : les phospholipides sont dissous dans de l'éthanol et la phase organique résultante est injectée dans une phase aqueuse sous agitation magnétique. Le complexe CD / principe actif est dissous dans une solution tampon ou dans une solution de phase organique<sup>37</sup>.
5. **Déshydratation-réhydratation** : Les phospholipides sont dissous dans un solvant organique, qui est ensuite complètement évaporé pour former un film lipidique mince, puis hydraté avec une phase aqueuse contenant des complexes CD / principe actif<sup>38</sup>.

## CONCLUSION

Donc on peut conclure dans ce chapitre que les différentes méthodes de préparation des liposomes gouvernent le type de liposome (MLV, SUV, LUV). C'est ce qui nous a motivé plus à synthétiser les analogues de GABA et à étudier leurs formations sous forme de liposomes à base de CD, car à notre connaissance peu de méthodes disponibles dans la littérature ont étudié ça, et c'est ça notre défi en tant que chimistes.

<sup>36</sup> A. Ascenso, M. Cruz, C. Euleterio, F.A.Carvalho, F.A. Santo, H.C. Marques, S. Simoes, Novel tretinoin formulations: a drug-in-cyclodextrin-in liposome approach, *J Liposome Res.* **2013**, 23, 211-219.

<sup>37</sup> N. Skalko, M. Brandl, M. Bedirevid, J. Filipovid, I. Jalsenjok, Liposomes with nifedipine and nifedipine cyclodextrin complex: calorimetric and plasma stability comparison, *Eur J Pharm Sci.* **1996**, 4, 359-366.

<sup>38</sup> D.G. Fatouros, K. Hatzidimitriou, S.G. Antimisiaris, Liposomes encapsulating prednisolone and prednisolone-cyclodextrin complexes: comparison of membrane integrity and drug release, *Eur J Pharm Sci.* **2001**, 13,287-296.

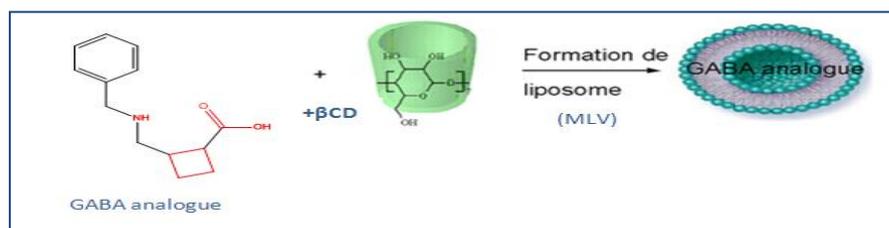
## PARTIE II : RESULTATS ET DISCUSSION

### Chapitre 3 : Travail effectué

**INTRODUCTION :** Dans cette partie, en premier nous allons présenter nos résultats de synthèse d'un nouveau analogue du GABA, ensuite on va étudier leur capacité à former des liposomes à base de CD.

#### I. Choix d'analogue du GABA, type de cyclodextrine et liposome :

Notre recherche bibliographique nous a permis de constater qu'il existe peu d'analogues de GABA avec un cycle à quatre et c'est la notre défi dans ce travail .On va essayer de synthétiser un analogue de GABA<sup>39</sup>. Pour la formulation de liposome, nous avons choisis la  $\beta$ CD pour former des complexes d'inclusion car elle possède un diamètre interne et un volume moyen de la cavité. Puis on essaye de faire l'encapsulation de ce complexe (GABA+ CD) dans les liposomes de types MLV, car ils sont plus résistives pour éviter ou viser certains sites thérapeutiques.



*Figure 1 :* Choix d'analogue de GABA, type de liposome dont on voudrait les synthétiser et le type de CD utilisée.

**II. Purification des solvants :** Il est important avant de commencer nos synthèses de purifier nos solvants dont on aura besoin par la suite, comme le dichlorométhane.

**A. Purification du dichlorométhane (DCM) :** On verse 600 ml de dichlorométhane ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) et le pentoxyde de phosphore ( $\text{P}_2\text{O}_5$ ), on place le réfrigérant à boules sur le ballon et on chauffe notre mélange jusqu'au le reflux ( $T=40^\circ\text{C}$ ).Après le reflux, on distille directement.

<sup>39</sup> Z. Chang, F. Boyaud, R. Guillot, T. Boddart, D.J. Aitken, A Photochemical Route to 3- and 4-Hydroxy Derivatives of 2-Aminocyclobutane-1-carboxylic Acid with an all-cis Geometry , J. Org. Chem. **2018**, 83, 527-534.

### III. Synthèse des analogues du GABA :

#### A. Synthèse AS -01 :

Pour cet analogue qu'on propose, on vise un cycle à quatre chaînons, afin d'augmenter la rigidité. De plus nous proposons deux méthodes de synthèses afin de choisir parmi eux ce qui donne des rendements élevés. Pour l'étape une de notre schéma réactionnel d'analogue AS \_01 selon les protocoles suivants :

##### a. La première méthode :

- 1. Purification de benzaldéhyde :** Avant de commencer notre synthèse, on doit purifier le benzaldéhyde qui contient un peu d'acide benzoïque .Et pour cela, on a effectué un lavage par une solution basique de NaOH (1N) pour donner le sel d'acide benzoïque qui sera éliminé lors du lavage.
- 2. Synthèse du N-benzylidèneacrylamide :** Cette méthode est débutée par la formation de l'imine (**3**) à partir d'une condensation de benzaldéhyde et l'acrylamide en présence de DCM anhydre et le sulfate de magnésium, on a réalisé la réaction dans l'obscurité pour éviter toute influence de la lumière, puisque nous visons des produits destinés à la photochimie. La réaction est suivie par CCM et s'est achevée au bout de 72h.

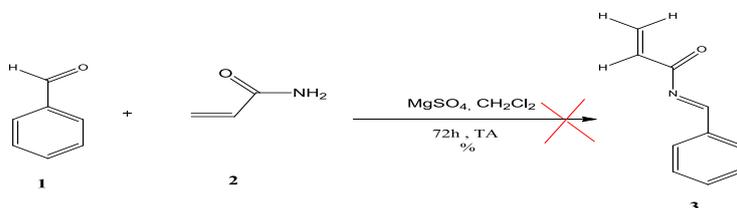


Schéma 1: Synthèse du N-benzylidèneacrylamide.

Mais au niveau de cet étape on a obtenue trois aspects différents dans trois essais de la même étape à savoir ; huile jaune, huile jaune avec un peu de solide blanc, et uniquement seulement un solide blanc avec une seule tâche de Rf . Donc on peut conclure que c'est un problème d'isomérisation d'imine et cette imine est instable et non isolable par rapport à son analogue (N-(4-méthoxybenzylidène) acrylamide) synthétisé par le groupe A. Penoni<sup>40</sup> . On a fait l'analyse IR des deux produits d'aspects solide et huileux séparément : **Produit de nature solide** : 3266 cm<sup>-1</sup>(la bande d'OH d'isomère), 1663 cm<sup>-1</sup> (la bande d'imine), 1225 cm<sup>-1</sup> (la bande de C-N aliphatique), 737 cm<sup>-1</sup> ( la bande d'un groupe aromatique monosubstitué ) .

<sup>40</sup> E. Benedetti, M Lomazzi, F Tibiletti, Synthesis of Nitrogen-Containing Heterocycles via Ring-Closing Ene-Ene and Ene-Yne Metathesis Reactions, *Synthesis*. **2012**, *44*, 3523-3533.

**Produit de nature huileux** :  $1695\text{ cm}^{-1}$  (la bande d'imine) ,  $1202\text{ cm}^{-1}$  (la bande de C-N aliphatique).

Selon les résultats d'infrarouge, on propose le mode d'isomérisation suivant :

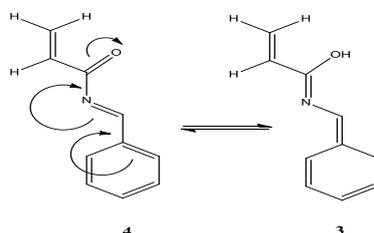


Schéma 2 : Proposition de la réaction d'isomérisation.

### 3. Synthèse du N-benzylacrylamide :

Par cette méthode le N-benzylacrylamide, a été formé à partir d'une réduction sélective d'imine du N-benzylideneacrylamide (produit de l'aspect huileux) par le cyanoborohydrure de sodium en présence de méthanol anhydre. La réaction se déroule à température ambiante pendant 3 heures premièrement et on l'a vérifiée par CCM mais nous n'avons pas observé le produit, aussi on l'a laissée pendant 24h de plus et cette réduction n'a pas eu lieu car le cyanoborohydrure sortie de son flacon été quasiment noir ce qui prouve son état impur.

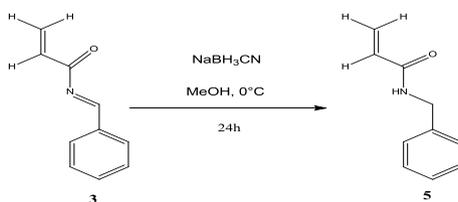


Schéma 3 : Synthèse du N-benzylacrylamide.

Vue, l'instabilité de cette imine, et la non disponibilité du  $\text{NaBH}_3\text{CN}$  on se dirige vers une deuxième méthode de synthèse.

#### b. La deuxième méthode :

##### 1. Synthèse du N-benzylacrylamide :

Dans cette méthode le N-benzylacrylamide été synthétisé directement à partir de chlorure de benzyle et l'acrylamide, en présence d'une base forte et dans le DCM anhydre comme solvant. La réaction est suivie par CCM. Le rendement de cette réaction est de 49,77%.

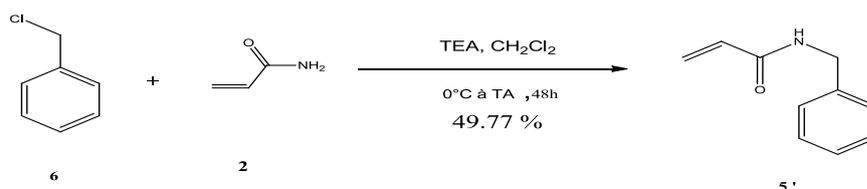


Schéma 4 : Synthèse du N-benzylacrylamide.

## 2. Synthèse du N-allyl-N-benzylacrylamide :

La deuxième étape c'est la synthèse de N-benzyle doublement arylé, par une réaction de substitution nucléophile à l'aide du bromure d'allyle dont le but de réaliser la réaction du cycloaddition après. Cette méthode donne le produit cible (7) avec 45.13% de rendement. On a confirmé l'obtention du produit par la disparition de la bande NH dans IR, voilà les résultats : **I.R (cm<sup>-1</sup>)** : 3030,60 CH (aromatique), 1718,349 C=O (amide), 1451,325 C=C (aromatique), 1262,25 C-N aliphatique (N allyl).

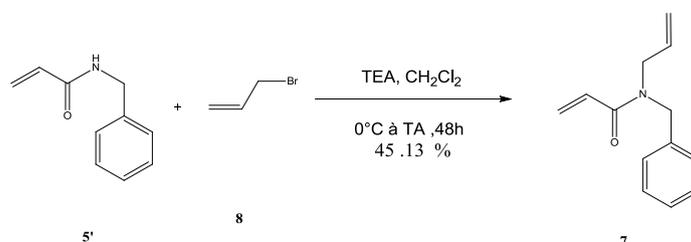


Schéma 5: Synthèse du N-allyl-N-benzylacrylamide.

## 3. Réaction de photocycloaddition :

Celle-ci est l'étape clé de notre synthèse vu la création de cyclobutane dans le composé (9), c'est une réaction de photocycloaddition [2+2]<sup>41</sup> intramoléculaire qui nécessite une énergie sous forme d'ondes électromagnétiques dans le domaine visible (400 nm <math>\lambda</math> < 800 nm) ou UV proche (190 nm <math>\lambda</math> < 400 nm), c'est pour ça avant de réaliser une réaction photochimique, il est indispensable de connaître le spectre d'absorption des substances qui contiennent des groupes chromophores, afin de sélectionner le domaine d'UV avec une longueur d'onde précise. A l'aide d'un spectrophotomètre UV visible, on prépare la solution à analyser de faible concentration ( $1,64 \times 10^{-6}$  mol/L) du N-allyl-N-benzylacrylamide (7).

<sup>41</sup> A.T. Mansour, J. Buendia, J. Xie, F. Brisset, S. Robin, D. Naoufal, D.J. Aitken,  $\beta$ -Cyclodextrin-Mediated Enantioselective Photochemical Electrocyclization of 1,3-Dihydro-2H-azepin-2-one, *J. Org. Chem.* **2017**,82, 9832-9836.

Tableau 2 : Les longueurs d'onde du N-aryle.

$\lambda$ (nm)	190	200	210	220	230	240	250	260	270	280	290
A	1,203	1,127	0.957	0.831	2.117	3.280	3.489	3.412	3.326	3.277	3.182

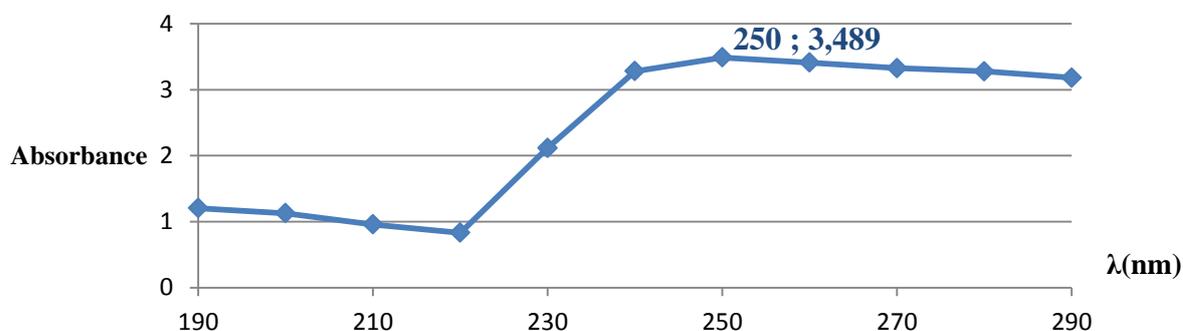


Figure 2 : Spectre d'absorbance du N-allyl-N-benzylacrylamide (7).

Sur la courbe d'absorbance du N-allyl-N-benzylacrylamide (7) on peut remarquer une absorption maximale à 250 nm et qui appartient au domaine d'UV. Donc on pourra réaliser une réaction photochimique dans cette zone d'absorbance du chromophore de la molécule cible en utilisant une lampe UV monochromatique qui peuvent émettre une lumière de longueur d'onde ciblé. Puisque la longueur d'onde d'irradiation du N-allyl-N-benzylacrylamide (7) est à 250 nm et nous avons qu'une lampe UV monochromatique de 300 nm. Donc pour résoudre ce problème, on a choisi l'acétone afin de l'utiliser à la fois comme photosensibilisateur et solvant de réaction. De plus, on utilise en parallèle la même réaction dans l'acétonitrile comme solvant seulement pour prouver l'effet photosensibilisateur de l'acétone. Le N-allyl-N-benzylacrylamide (7) est dilué dans l'acétone, qui est un solvant et en même temps un photosensibilisateur puis irradié par une lampe UV monochromatique de 300 nm pendant 14 h.



Figure3 : Montage de la photochimie.

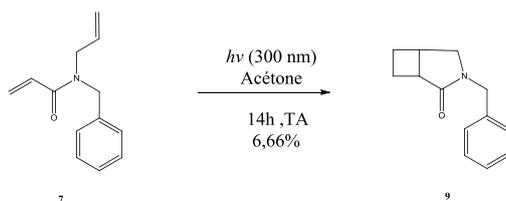


Schéma 6: Synthèse du 3-benzyl-3-azabicyclo[3.2.0]heptan-2-one (9).

On regroupe dans le tableau suivant, les conditions opératoires utilisées :

Tableau 3 : Différence entre l'utilisation d'un photosensibilisateur et d'un solvant dans la réaction photochimique.

<b>Quantité de composé (5) qui se révèle dans l'UV avec un Rf de 0.54 (Éluant : CH<sub>2</sub>CL<sub>2</sub>/MeOH (9 :1))</b>	0.60 g	0.33g
<b>Solvant</b>	Acétone (70 ml)	Acétonitrile (30 ml)
<b>Caractère du solvant</b>	photosensibilisateur	solvant
<b>La longueur d'onde (nm)</b>	300	300
<b>Temps de la réaction</b>	14h	9h
<b>Observations des plaques CCM (éluant : CH<sub>2</sub>CL<sub>2</sub>/MeOH (9 :1))</b>	Nouvelle tache qui se révèle par une solution de phosphomolybdate avec un Rf de <b>0.60</b> et se révèle pas par l'UV.	Aucune tache se révélée soit par UV soit par la solution de phosphomolybdate.
<b>Rendement de la réaction</b>	Rendement faible de 6,66 %	Pas de réaction
<b>Aspect de produit</b>	Est devenu une pate marron	Est resté un huileux jaune

Donc seulement par CCM on a confirmé que N-allyl-N-benzylacrylamide (7) a disparu et la photocycloaddition a été réussite. Car on a observé la nouvelle tache par l'UV mais elle se révèle par la solution de phosphomolybdate avec un Rf différent que le produit départ.

#### 4. Réaction d'hydrolyse :

L'analogue rigide du GABA (**10**) a été obtenue par une hydrolyse basique, qui s'effectue sur le bicyclic (**9**) dans un mélange de THF / H<sub>2</sub>O, la réaction se déroule à température ambiante et sous agitation pendant 24 h. La réaction est suivie par CCM.

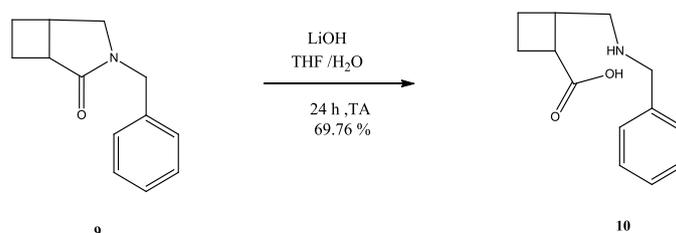


Schéma 7 : Synthèse de l'acide 2-((benzylamino) méthyle) cyclobutane carboxylique (**10**).

#### IV. Etude des complexes d'inclusion par spectroscopie UV : Analogues AS $\beta$ -CD :

Au cours de cette deuxième partie, nous allons traiter par spectroscopie UV-Visible les complexes d'inclusions de l'analogue du GABA synthétisés avec la  $\beta$ -CD native dans l'eau et à température ambiante.

##### 1. Détermination de la complexation :

Nos références pour cette étude, sont des solutions mères de concentration  $3,42 \times 10^{-4}$  M identique d'une part d'AS\_01 dans l'acétonitrile et d'autre part de  $\beta$ -CD dans l'eau. Puis, pour chacune des solutions mères préparées, on enregistre ses spectres UV dans l'intervalle [190- 350 nm] et après pour le complexe obtenu par un mélange équimolaire des deux solutions mères (Figure 4).

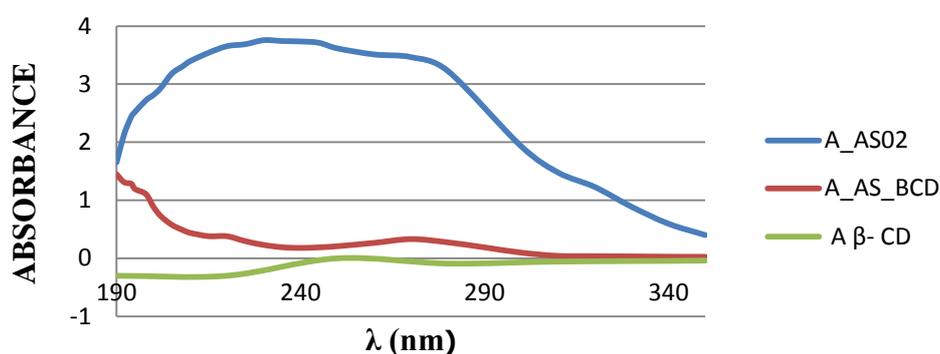


Figure 4 : Spectre d'absorbance d'AS02, AS $\beta$  CD et de la  $\beta$ -CD.

D'après cette courbe on observe que la  $\beta$ -CD n'absorbe pas dans le domaine de l'UV, par contre l'analogue AS\_01 absorbe bien dans cet intervalle, ce qui s'explique par la présence des groupes chromophores dans sa structure comme la fonction carbonyle de l'acide

carboxylique et la présence de l'aromatique. Mais dans le cas du complexe, le composé subit une diminution de l'intensité d'absorption (effet hypochrome), ce qui montre clairement qu'il y a eu complexation, et que la  $\beta$ -CD encapsule les groupes chromophores à l'intérieur de la cavité hydrophobe, ce qui diminue clairement l'absorption.

Tableau 4 : Absorbance de la  $\beta$ -CD dans le domaine 190-350 nm.

$\lambda$ (nm)	A $\beta$ - CD
190	-0,3
220	-0,3
250	-0,104
280	-0,09

$\lambda$ (nm)	A $\beta$ - CD
310	-0,056
340	-0,045
350	-0,038

Tableau 5 : Absorbance UV de AS02 et du complexe AS $\beta$ CD.

$\lambda$ (nm)	A_AS02	A Complexe
190	1,654	1,448
192	2,128	1,312
194	2,441	1,284
195	2,522	1,193
198	2,723	1,104
200	2,813	0,888
202	2,933	0,727
205	3,181	0,577
208	3,309	0,486
210	3,396	0,438
215	3,541	0,381
220	3,654	0,38
225	3,688	0,295
230	3,757	0,23
235	3,742	0,19

$\lambda$ (nm)	A_AS02	A Complexe
240	3,735	0,179
245	3,712	0,189
250	3,616	0,208
260	3,511	0,266
270	3,465	0,331
280	3,228	0,275
290	3,524	0,188
300	1,927	0,097
310	1,477	0,042
320	1,227	0,036
330	0,886	0,033
340	0,595	0,028
350	0,4	0,026

## 2. Détermination de la stœchiométrie (courbe de job) :

La méthode de job ou (méthode des variations continues)<sup>42</sup> est utilisée pour déterminer la stœchiométrie des complexes d'inclusions avec les CDs. Le paramètre expérimental observé dans notre cas pour les molécules hôte et invitée est l'absorbance A en UV, qui est sensible à la formation du complexe. Les valeurs tracées sont sous la forme  $A_{\text{complexe}}$  par rapport au  $\text{ratio}_{\beta\text{CD}}$ . Donc on a préparé 11 solutions filles à partir des deux solutions mères d'AS02 et de  $\beta$ -CD préalablement préparées, en différentes proportions pour obtenir le volume de 2 ml constant. On a laissé les solutions pendant 17 heures pour une meilleure complexation, et les résultats de l'analyse UV de ces différentes solutions qui sont effectués à  $\lambda_{\text{max de complexe}} = 270 \text{ nm}$ , nous ont permis de tracer la courbe suivante :

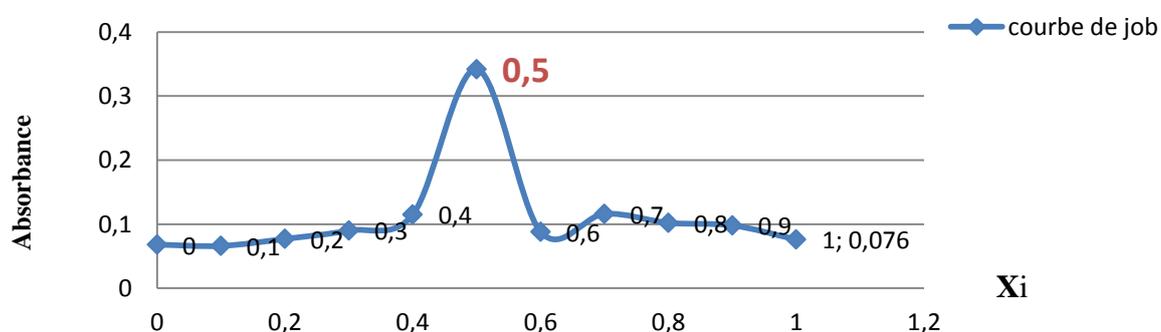


Figure 5 : Courbe de job du complexe AS $\beta$ -CD.

Le ratio maximal selon la courbe de job c'est  $r=0.5$ , ce qui prouve que le complexe est formé selon une stœchiométrie 1 : 1 .

Tableau 6 : Absorbances UV du complexe à différentes proportions.

N°flacon	V AS02 ( $\mu\text{L}$ )	V $\beta$ -CD ( $\mu\text{L}$ )	[AS02] (M)	[ $\beta$ -CD] (M)	Xi	A à $\lambda=270 \text{ nm}$
1	0	2000	0	$3,42 \times 10^{-4}$	0	0,068
2	200	1800	$3,42 \times 10^{-5}$	$3,10 \times 10^{-4}$	0,1	0,066
3	400	1600	$6,84 \times 10^{-5}$	$2,74 \times 10^{-4}$	0,2	0,077
4	600	1400	$1,02 \times 10^{-4}$	$2,39 \times 10^{-4}$	0,3	0,090
5	800	1200	$1,36 \times 10^{-4}$	$2,05 \times 10^{-4}$	0,4	0,115
6	1000	1000	$1,71 \times 10^{-4}$	$1,71 \times 10^{-4}$	0,5	0,342
7	1200	800	$2,05 \times 10^{-4}$	$1,36 \times 10^{-4}$	0,6	0,088
8	1400	600	$2,39 \times 10^{-4}$	$1,02 \times 10^{-4}$	0,7	0,116
9	1600	400	$2,74 \times 10^{-4}$	$6,84 \times 10^{-5}$	0,8	0,102
10	1800	200	$3,10 \times 10^{-4}$	$3,42 \times 10^{-5}$	0,9	0,098
11	2000	0	$3,42 \times 10^{-4}$	0	1	0,076

<sup>42</sup> P. Job, Comptes rendus de l'Académie des sciences, *Sci. Paris*. **1925**, 180, 928.

### 3. Détermination de Ka :

Pour le calcul de Ka ici, on voit bien que les points ne sont pas linéaires (figure 6), ce qui nous mène à dire que la molécule invitée est en échange rapide entre les deux formes libres et encapsulées. Ceci ne nous empêche pas d'apprécier la valeur de cet échange.

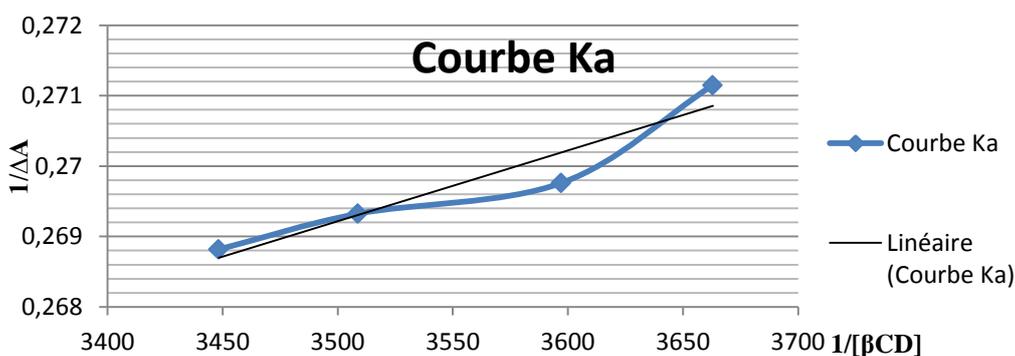


Figure 6 : Courbe Ka du complexe AS\_β-CD.

Afin d'estimer la valeur de cet échange, nous avons utilisé la méthode de Benesi-Hildebrand<sup>43</sup>, qui détermine la constante d'association Ka à travers la différence d'absorption entre la molécule complexée et la molécule libre, en suivant l'absorbance d'un principe actif (qui est la molécule invitée) lorsque la CD à différentes concentrations est ajoutée, selon la formule suivante :

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

Avec : ΔA: Différence d'absorption entre la molécule complexée et la molécule libre, Δε :  
Différence du coefficient d'extinction entre la molécule complexée et la molécule libre,  
[PA] : Concentration en principe actif, [CD]: Concentration en CD .

En traçant 1/ΔA en fonction de 1/[PA], la constante d'association peut alors être déterminée. Δε est donné par identification de l'équation (1) et l'ordonnée à l'origine de l'équation (2), la constante Ka est alors calculée aussi par identification des deux équations mais à partir de la pente de la droite. On a d'après le graphe l'équation suivante :

$$y = (1^E - 0,5) x + 0,234 \dots \dots \dots (2)$$

$$\Delta \varepsilon = 62480,47$$

$$K_a = 7,215044 * 10^{-6} M^{-1}$$

<sup>43</sup> H.A. Benesi, J.H. Hildebr, J. Am, Chem.Soc. **1949**, 71, 2703-2707.

Tableau 7 : Absorbance UV du complexe à différentes concentrations de la  $\beta$ -CD.

V AS_02 (mL)	V $\beta$ CD (mL)	[AS_02] (mol/L)	[ $\beta$ CD] (mol/L)	1/[ $\beta$ CD] (L/mol)	A	$\Delta A$	1/ $\Delta A$
0,5	2	$6,84 \times 10^{-5}$	$2,73 \times 10^{-4}$	<b>3663,0036</b>	0,069	3,688	<b>0,27114</b>
0,5	2,2	$6,33 \times 10^{-5}$	$2,78 \times 10^{-4}$	<b>3597,1223</b>	0,050	3,707	<b>0,26975</b>
0,5	2,5	$5,7 \times 10^{-5}$	$2,85 \times 10^{-4}$	<b>3508,7719</b>	0,044	3,713	<b>0,26932</b>
0,5	2,8	$5,18 \times 10^{-5}$	$2,91 \times 10^{-4}$	<b>3448,2758</b>	0,037	3,720	<b>0,26881</b>

Il est bien clair, que l'échange dynamique entre la CD et la molécule invitée.

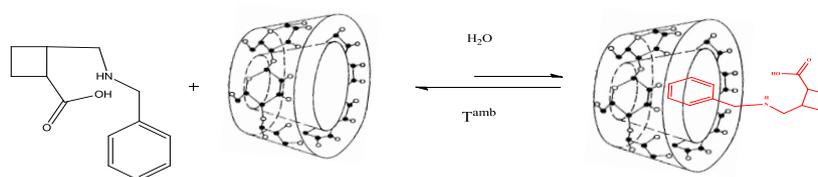


Schéma 8 : Complexation d'A\_S02 avec la  $\beta$ -CD dans l'eau.

#### 4. Proposition de la géométrie de la complexation :

Afin de proposer une géométrie au complexe formé, on doit faire une analyse par ROESY, qui donnera avec exactitude les groupes encapsulés dans la cavité. En se basant sur les résultats de UV visible, l'encapsulation du groupe aromatique est la plus probable. Car la diminution de l'absorbance dans le complexe par rapport à l'analogue seule prouve la complexation du groupe chromophore les plus absorbants dotés des conjugaisons.

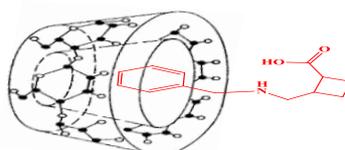


Figure 7 : Complexe d'inclusion AS\_ $\beta$ -CD.

#### V. Etude de capacité d'analogue du GABA de former des liposomes à base de CD :

Après la formation du complexe CD\_analogue de GABA, nous allons étudier ici leurs capacités à former des liposomes, on suivra la méthode classique<sup>44</sup> c'est l'hydratation en film mince, après on fera l'analyse de Zetasizer pour assurer est ce qu'il y a l'existence des

<sup>44</sup> F. Maestrelli, M.L. Gonzalez-Rodriguez, A.M. Rabasco, P. Muraa, Preparation and characterisation of liposomes encapsulating ketoprofen-cyclodextrin complexes for transdermal drug delivery , *International Journal of Pharmaceutics*. **2005**, 298, 55–67.

liposomes, aussi pour définir la taille des vésicules formés (entre 20 et 100 nm sont des SUV, supérieur à 100 nm avec une seule lamelle sont des LUV et ceux qui comportent une taille supérieur à 500 nm sont des MLV). Tout d'abord et pour la préparation du film mince sec, on a utilisé à des proportions différentes un mélange de Tween 80 et de cholestérol, la formation de ce film mince sec. Après, c'est l'étape de l'hydratation qui a été faite par l'ajout de solution du complexe ( $\beta$ -CD/analogue de GABA), l'apparition des vésicules a été observée après deux heures d'agitation et dernièrement les liposomes formés sont stuqués à 4°C pour la maturation des vésicules. Voilà les images des liposomes au cours de la préparation :

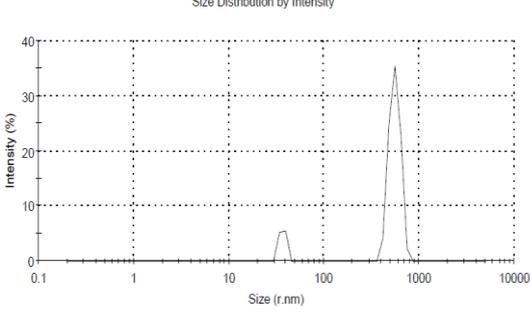
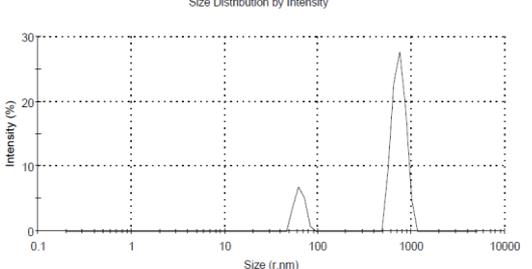


Figure 8 : Les étapes de préparation des liposomes.

Comme étape d'analyse finale, on a choisi l'analyse de ZETASIZER pour s'assurer que les nanoparticules se forment et déterminent leur type. Ce tableau résume tous les résultats :

Tableau 8 : les résultats de l'analyse ZETASIZER des liposomes :

Nombre et temps d'analyse	Résultats de l'analyse ZETASIZER : rapport de distribution de taille par intensité	Taille (nm) / potentiel (%) des pics obtenus	Observations
La 1ère Prise après 5jours		<b>Pic 1: 360,8 / 100,0</b>	Grandes vésicules unilamellaires (LUV)

<p>La 2<sup>ème</sup> Prise après 5 jours</p>		<p>Pic 1: 36,78 / 10,7</p> <p><b>Pic 2 :552,8 / 89,3</b></p>	<p>Petites vésicules unilamellaires (SUV)</p> <p>Les vésicules multilamellaires (MLV)</p>
<p>La 3<sup>ème</sup> prise après 5 jours</p>		<p>Pic 1: 63,39 / 16,6</p> <p><b>Pic 2 : 735,0 / 83,4</b></p>	<p>Petites vésicules unilamellaires (SUV)</p> <p>Les vésicules multilamellaires (MLV)</p>

D'après la première analyse de ZETASIZER qui a été faite, on a obtenu un seul pic de taille 360 nm, c'est à dire l'existence des vésicules nanométrique et ça confirme encore une fois la réussite de formation des liposomes qui ont incorporés le complexe CD/Analogue de GABA. Aussi cette taille supérieure à 100 nm prouve la formation des grandes vésicules unilamellaires (LUV).

L'analyse a été répétée deux fois, et on a observé deux nouveaux pics de taille et d'intensité différentes, cela se traduit par l'agrégation des premières vésicules LUV qui ont formés les MLV de taille 552 nm avec une faible intensité que le premier ; le deuxième pic c'est de taille 360 nm avec une très faible intensité, cela veut dire de nouvelles petites vésicules unilamellaires (SUV) sont formées. La dernière analyse montre que les mêmes types de liposomes sont formés mais de taille plus élevée et avec une intensité différente aussi.

On peut conclure que la composition (tween 80 /cholestérol) a bien marché pour former des liposomes incorporés le complexe d'inclusion  $\beta$ -CD /analogue de GABA, d'autre part l'étape de la maturation des vésicules formés joue un rôle très important sur le type de liposomes. Dans notre cas, il a y a un équilibre entre les différentes formes de liposomes formées suites à la dynamique de ces liposomes en solutions.

## CONCLUSION GENERALE

Au long de ce travail, nous avons élaboré pour la première fois des liposomes à base des complexes d'inclusion ( $\beta$ -CD /analogue GABA en milieu aqueux). Pour cela nous avons suivi une stratégie qui consiste à synthétiser un analogue de GABA par deux méthodes simples, afin de choisir laquelle est de bon rendement et à étudier leurs capacités à former des liposomes à base de CD.

Puisque le GABA est une molécule flexible, donc notre étude on a visé d'abord à améliorer leur sélectivité à travers la synthèse d'un nouvel analogue rigide en introduisant le cycle à quatre dans la squelette tout en gardant les deux fonctions acide et amine .Dans un second temps et pour améliorer la biodisponibilité de cet analogue, nous avons étudié leur capacité à former des complexes d'inclusion avec la  $\beta$ -CD naturelle. Nous terminons notre projet, afin de pallier au problème du vectorisation de notre principe actif via la BHE nous avons proposé d'incorporer ce système d'inclusion ( $\beta$ -CD /analogue GABA) dans des liposomes.

## PERSPECTIVES

Ceci n'est qu'un début ou une partie d'un travail considérable qui reste à faire, d'autres études seront utiles pour confirmer nos résultats : Tout d'abord, nous effectuons des analyses RMN à 1D, 2D pour nos produits synthétisés ; aussi nous illustrons la géométrie du complexes par NOE et ROESY.

Dans le cadre de développement les méthodes pour franchir la BHE, nous suggérons de garder les deux systèmes d'administration complexe CD\_analogue de GABA incorporé dans les liposomes mais nous changerons le type de ce dernier en liposomes furtifs , Ce genre de vésicules est aussi dit « de longue durée de circulation » ou « liposomes pégylés » du nom du polymère qui leur a été fixé c'est le polyéthylène glycol car grâce au polymère qui leur empêche l'absorption et donc ces liposomes ne sont pas reconnus comme corps étranger .

Et pour garantir l'arrivée d'analogue de GABA au SNC, nous proposons d'attacher ces analogues à l'atome de fluor qui est un substituant particulièrement attirant dans le domaine des radiotraceurs d'imagerie cérébrale.

## PARTIE EXPERIMENTALE

### Indications générales :

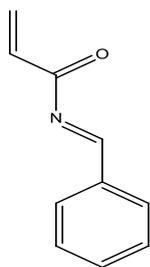
Pendant notre travail, les manipulations et les analyses IR ont été effectuées dans le laboratoire de Chimie Organique, Substances Naturelles et Analyses (COSNA), et les analyses ZETASIZER au laboratoire de recherche sur les macromolécules, de l'Université Aboubakr Belkaid-Tlemcen.

### Matériel et méthodes :

- A. Produits chimiques et solvants :** Les solvants ou réactifs nécessitant une utilisation dans des conditions anhydres sont distillés et séchés au besoin.
- B. UV-Visible :** Les analyses UV, réalisées dans cette étude ont été effectuées sur un spectrophotomètre Thermo-Scientific Helios  $\gamma$  au laboratoire (COSNA).
- C. Chromatographie :** Chromatographie sur Couche Mince (CCM), réalisée sur des plaques d'Aluminium recouvertes de gel de silice 60 F<sub>254</sub>. Les éluants utilisés sont des mélanges CH<sub>2</sub>CL<sub>2</sub>/MeOH (pour chaque cas les proportions seront précisées dans la partie synthèse).
- D. Infra rouge :** Les spectres infra rouges (IR) ont été effectuées dans le laboratoire de recherche de Chimie Organique Substance Naturelles et Analyses COSNA
- I. Acide 2-((benzylamino) méthyle) cyclobutanecarboxylique :**

✓ **La première méthode :**

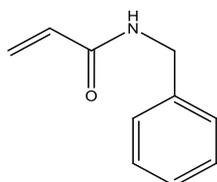
**A. N-benzylideneacrylamide (3) :**



Dans un ballon sec et sous courant d'azote, on ajoute le benzaldéhyde purifié (5g, 4.80 ml, 47.11 mmol) dans une solution de dichlorométhane anhydre (60 ml) à température ambiante, après du MgSO<sub>4</sub> (5.72g, 47.58 mmol) et de l'acrylamide (3.68 g, 51.82 mmol) ont été ajoutés et la solution a été agitée à température ambiante pendant 72 heures dans l'obscurité. A la fin de la réaction, le mélange a été filtré et le solvant a été éliminé sous pression réduite ; on a récupéré un mélange d'un solide blanc.

**Formule brute :** C<sub>10</sub>H<sub>9</sub>NO ; **MM** = 159.18 g/mol ; **Rendement** : 25,6 % ; **I.R** (cm<sup>-1</sup>) : 3266 cm<sup>-1</sup> (la bande d'OH d'isomère), 1663 cm<sup>-1</sup> (la bande d'imine), 1225 cm<sup>-1</sup> (la bande de C-N aliphatique), 737 cm<sup>-1</sup> (la bande d'un groupe aromatique monosubstitué).

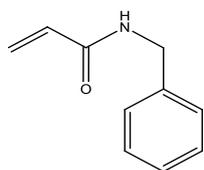
### B. N-benzylacrylamide (5) :



Dans un ballon, on dissout le N-benzylideneacrylamide (0.86 g , 5.40 mmol) dans le DCM anhydre (20 ml) à 0°C, après du NaBH<sub>3</sub>CN (3.22 g, 1.2 eq) à été ajouté à la solution .On laisse la réaction a température ambiante ,on a observé que le NaBH<sub>3</sub>CN ne se dissout pas dans le milieu réactionnel , c'est pour ça nous avons ajouté 5ml de méthanol .La réaction restée sous agitation pendant 3h. A la fin de la réaction 4 ml d'eau à été ajouté pour détruire l'excès de NaBH<sub>3</sub>CN . Cette réduction n'a pas eu lieu car le cyanoborohydrure sortie de son flacon été quasiment noir ce qui prouve son état impur.

### ✓ La deuxième méthode :

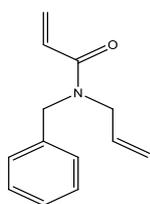
### A. N-benzylacrylamide (5') :



Dans un ballon sec et en milieu anhydre, on dissout l'acrylamide( 2 g , 28.1 mmol) dans le dichlorométhane anhydre (60ml ) à 0°C ,après la dissolution complète de l'acrylamide ,on ajoute goutte à goutte la triéthylamine (3.83ml , 1 eq ) ,après 30 mn on ajoute le chlorure de benzyle (3.22 ml ) goutte à goutte

au mélange réactionnel .On laisse la réaction pendant 48h ,le premier jour la réaction se déroule à 0°C et le deuxième jour à température ambiante .Le mélange est lavé deux fois avec (20ml ) de l'eau distillé et les couches organiques combinés sont séchés par MgSO<sub>4</sub>,puis filtrés et évaporés sous vide pour obtenir (2.24 g , 49.77 %) d' un huile jaune claire . **Formule brute :** C<sub>10</sub>H<sub>11</sub>NO ; **MM** = 161.204 g/mol ; **Rendement** : 49.77 % ; **CCM** : R<sub>f</sub> = 0.50 (éluant : CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH (9 :1) ; **I.R** (cm<sup>-1</sup>) : 3394,89 NH (amide), 1623,02 C=C (acrylamide), 728 ,40 CH (aromatique monosubstitué).

### B. N-allyl-N-benzylacrylamide (7) :



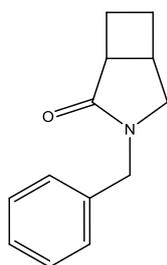
Dans un ballon sec et en milieu anhydre, on dissout le N-benzylacrylamide (1.83g, 11.3 mmol) dans (30 ml) de dichlorométhane anhydre à 0°C , puis on ajoute goutte à goutte la triéthylamine (1.54 ml , 1eq ) , après 30 mn on ajoute (1 ml ,1eq) de bromure d'allyl aussi goutte à goutte . On laisse la réaction sous agitation et à température ambiante pendant 72 h, dans l'obscurité. Le mélange est lavé deux fois avec (20 ml) de l'eau distillé et la phase aqueuse a été extraite avec CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2\*10 ml). Les couches organiques

combinés sont séchés par MgSO<sub>4</sub>, puis filtrés et évaporés sous vide pour obtenir (1.02 g , 45.13 %) d'un huile jaune . **Formule brute** : C<sub>13</sub>H<sub>15</sub>NO ; **MM** = 201.269 g/mol ;

**Rendement** : 45.13 % ; **CCM** : R<sub>f</sub><sup>=</sup> 0.54 (éluant : CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH (9 :1) ;

**I.R (cm<sup>-1</sup>)** : 3030,60 CH (aromatique), 1718,349 C=O (amide) , 1451,325 C=C (aromatique) ,1262,25 C-N aliphatique (N allyl) .

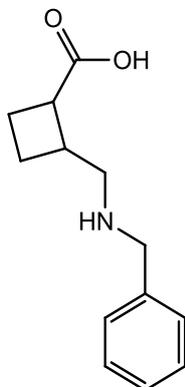
### C. 3-benzyl-3-azabicyclo[3.2.0]heptan-2-one (9) :



On introduit le N-allyl-N-benzylacrylamide (0.60 g , 5.06 mmol) avec un volume de ( 70 ml) d'acétone , dans un b cher muni sur un agitateur magnétique et qui est placé sous une lampe UV monochromatique de 300nm ,cette solution a été irradiée pendant ( 14h) ,puis le solvant a été éliminé pour donner (40 mg ; 6,66 % ) ,

**Formule brute** : C<sub>13</sub>H<sub>15</sub>NO ; **MM** = 201.269 g/mol , **Rendement** : 6,66 % , **CCM** : R<sub>f</sub><sup>=</sup> 0.60 ( luant : CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH (9 :1) .

### D. Acide 2-((benzylamino) méthyle) cyclobutanecarboxylique (10) :



On introduit dans un ballon le bicyclic (9) (40 mg, 1,98 \*10<sup>-4</sup> mol) dans un mélange THF/Eau (8 / 2), puis on ajoute goutte à goutte la solution de LiOH .Le mélange réactionnel est laissé sous agitation et à température ambiante pendant 24 heures. On acidifié par HCl la solution basique qui contient notre produit jusqu'à ph = 2 ,après est extraite (3\*10 ml) avec l'acétate d'éthyl et les phases organiques combinées sont séchées par MgSO<sub>4</sub> puis filtrées et évaporées pour obtient ( 30 mg , 69.76 % ) d' un huile marron d'analogue du GABA .

**Formule brute**: C<sub>13</sub>H<sub>17</sub>NO<sub>2</sub>; **MM** = 219.282 g/mol ; **rendement** : 69.76 %.

## II. Complexation d'analogue du GABA –cyclodextrines

### A. Protocole générale pour la détermination de la complexation :

La complexation d'analogue du GABA avec la à-CD se produit dans l'eau à température ambiante (25 à C). On prépare deux solutions mères de même concentrations d'analogue du GABA et de à-CD, et pour les homogénéiser et solubiliser la totalité des deux produits seront agitées. Après cela on prépare une solution contenant un mélange équimolaire des deux solutions mères, ces trois solutions éventuellement soumises à des analyses UV.

Une fois la complexation désignée, à partir des deux solutions mères des molécules hôtes et invitées, on prépare onze solutions filles à des ratios allant de 0 à 1, en laissant le volume total constant (2000  $\mu\text{L}$ ). Ces solutions seront ensuite analysées par spectroscopie UV à la longueur d'onde d'absorption maximale de la molécule invitée.

### **C. Protocole général pour la détermination de la constante de stabilité du complexe (Ka) :**

Le calcul de  $K_a$ , à partir de la solution mère de B-CD on prépare quatre solutions, diluées chacune par rapport à l'autre, auxquels un même volume d'une solution mère de la molécule invitée été ajouté. Ces quatre solutions seront analysées à la même longueur d'onde ou la courbe de job a été tirée par spectroscopie UV.

### **III. L'incorporation de complexe (analogue du GABA- $\beta$ CD) dans les liposomes :**

La phase lipidique constituée d'un mélange de 60 mg de Tween 80 et de 40 mg de cholestérol a été dissous dans la quantité minimale de solvant organique (2 ml chloroforme) ; ensuite il est éliminé sous pression réduite à l'aide d'un évaporateur rotatif à 55°C. On obtenant ainsi un mince film lipidique sec sur les parois du l'erlenmeyer, l'évaporation a été poursuivi pendant 1h après l'apparition du résidu sec pour éliminer les traces du solvant organiques. Avant de faire l'hydratation du mince film lipidique sec on a évaporé le solvant organique (l'acétonitrile) de la solution équimolaire de 2 ml de complexe CD/analogue (1000/1000  $\mu\text{L}$ ), qui a été déjà formé pour tracer la courbe de job. Après c'est l'étape de l'hydratation du film mince, on a ajouté cette solution du complexe (CD/analogue) sous agitation vigoureuse pendant 30 mn et avec un chauffage, on a remarqué que le mélange est devenue sec, donc ce volume ne suffit pas pour l'hydratation. On a ajouté encore une fois une solution du 2ml complexe de proportions différent (1800  $\mu\text{L}$  analogue /200  $\mu\text{L}$  CD) et l'apparition des vésicules ont été observées après 1h et 30mn sous forte agitation.

Les liposomes formés ont été stockés à 4°C pendant une nuit dans un premier tems pour la maturation des vésicules.

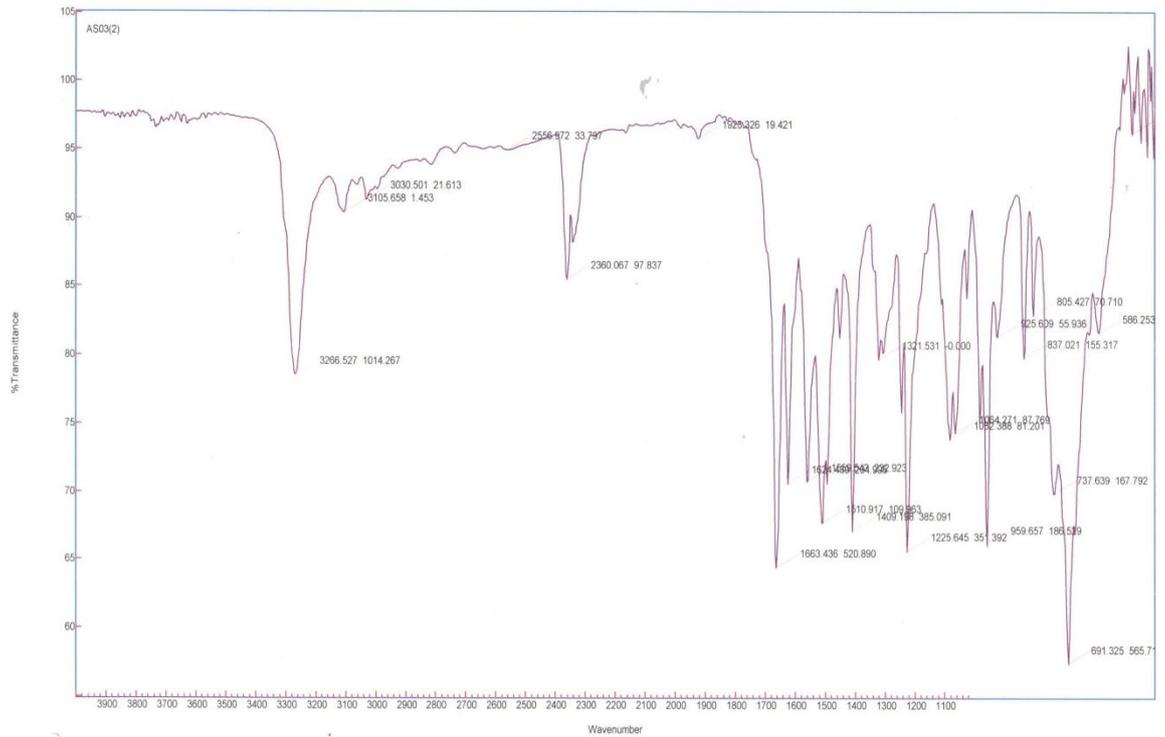
## REFERENCES

- 1) K. Gajcy, S. Lochy, T. Librowski, A Role of GABA Analogues in the Treatment of Neurological Diseases, *Current Medicinal Chemistry*. **2010**, *17*, 2338-2347.
- 2) E. Roberts, S. Frankel,  $\gamma$ -Aminobutyric acid in brain, *Journal of Biological Chemistry*. **1950**, *187*, 55-63.
- 3) J. Hanrahan, K. Mewett, M. Chebib, Diastereoselective synthesis of ( $\pm$ )-(3- amino cyclopentane) alkyl phosphinic acids, conformationally restricted analogues of GABA, *Organic and Biomolecular Chemistry*. **2006**, *4*, 2642–2649.
- 4) M. Chebib, G. Johnston, GABA-Activated Ligand Gated Ion Channels: Medicinal Chemistry and Molecular Biology, *Journal of medicinal chemistry*. **2000**, *43*, 1427–1447.
- 5) G. Kini, R. Robins, T. Avery, Synthesis and antitumor activity of ribavirin imidates New facile synthesis of ribavirin amidine (1- $\beta$ -D-ribofuranosyl-1,2,4-triazole-3-carboxamide hydrochloride), *Journal of medicinal chemistry*. **1989**, *32*, 1447-1449.
- 6) C. Moussard, Biologie moléculaire. Biochimie des communications cellulaires, De Boeck Supérieur Amazon France. **2005**, p 261.
- 7) M. Uusi, E. Korpi, Regulation of GABAA receptor subunit expression by pharmacological agents, *Pharmacological Reviews*. **2010**, *62*, 97-135.
- 8) E. J. Marty, « Prise en charge thérapeutique de la dépendance à la cocaïne, place des antiépileptiques ». Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie, Université de Poitiers Faculté de Médecine et de Pharmacie. **2015**, p 30.
- 9) E. Bacon, F. Viennot, Le système complexe des récepteurs GABA-benzodiazépine, *Synthèse médecine sciences*. **1990**, *6*, 770-777.
- 10) M. Leteve, Synthèse de nouveaux inhibiteur des histones désacétylases et leur intérêt dans un modèle préclinique d'addiction à l'alcool, *Thèse de doctorat en chimie*, Reims, Université de Champagne –Ardenne, **2016**, p11.
- 11) W.M. Pardridge, Strategies for delivery of drugs through the blood-brain barrier, *Annual Rep Med Chem*. **1985**, *20*, 305 –313.
- 12) M. Chebib, G. Johnston, The 'ABC' of GABA Receptors, *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*. **1999**, *26*, 937–940.
- 13) M. Abdul Fatah Abdul Manan, D. Cordes, M. Chebib, The Synthesis and Evaluation of Fluoro-, Trifluoromethyl-,and Iodomuscimols as GABA Agonists, *Chem. Eur. J.* **2017**, *23*, 10848 – 10852 .
- 14) J. Hanrahan, K. Mewett, M. Chebib, Diastereoselective synthesis of ( $\pm$ )-(3- amino cyclopentane) alkyl phosphinic acids, conformationally restricted analogues of GABA, *Organic and Biomolecular Chemistry*. **2006**, *4*, 2642–2649.

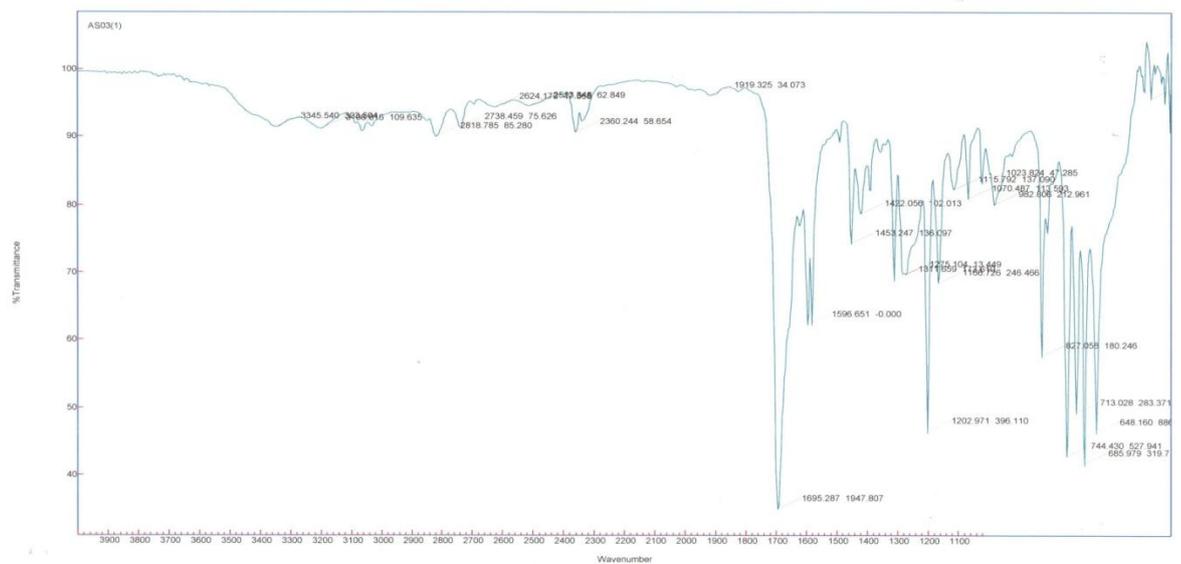
- 15) N. Zhu, T.Wang,  $\gamma$ -Amino Butyric Acid (GABA) Synthesis Enabled by Copper-Catalyzed carboamination of Alkenes , *Organic Letter*. **2017**, *19*, 4718–4721.
- 16) T. Kobayashi, A. Suemasa, A. Igawa, Conformationally restricted GABA with bicycle [3.1.0] hexane backbone as the first highly selective BGT1 Inhibitor, *ACS Med. Chem. Lett.* **2014**, *5*, 889–893.
- 17) A.Y. Park, H. R Moon, K.R. Kim, M.W. Chun, L.S. Jeong, Synthesis of novel L-N-MCd4T as a potent anti-HIV agent, *Org BiomolChem*. **2006**, *4*, 4065–4067.
- 18) C. Gauzy, E. Pereira, S. Faure, D.J. Aitken , Synthesis of (+)-(1S,2R) and(-)-(1R,2S)-2-aminocyclobutane-1 carboxylic acids , *Tetrahedron Letters*. **2004**, *45*, 7095–7097.
- 19) O. Bassas, J. Huuskonen, K. Rissanen, A. M. P. Koskinen, A Simple Organocatalytic Enantioselective Synthesis of Pregabalin, *Eur. J. Org. Chem*. **2009**, *9* ,1340–1351.
- 20) C. Shao, H.J. Yu, N.Y. Wu, P. Tian, R. Wang, C.G. Feng, G.Q. Lin, Asymmetric Synthesis of  $\beta$ -Substituted  $\gamma$ -Lactams via Rhodium/Diene-Catalyzed 1,4-Additions ,*ORGANIC LETTERS* .**2011**, *13*,788–791.
- 21) K.A. Connors, The Stability of Cyclodextrin Complexes in Solution, *Chem. Rev.* **1997**, *97*, 1325-1357.
- 22) T. Guo, Q. Zhu, D. Xia, X. Li, J Zhang Pluronic, F127-modified liposome-containing tacrolimus-cyclodextrin inclusion complexes , *J Pharm Pharmacol*. **2013**, *65*, 1107-1117.
- 23) A.R. Hedges, Industrial applications of cyclodextrins, *Chem Rev.* **1998**, *98*, 2035–2044.
- 24) T. Loftsson, M.E. BREWSTER, Cyclodextrins as Functional Excipients: Methods to Enhance Complexation Efficiency, *Journal of Pharmaceutical Sciences*. **2012**, *101*, 3019 –3032.
- 25) T. Loftsson, D. Duchene, Cyclodextrins and their pharmaceutical applications, *International Journal of Pharmaceutics*, **2007**, *2*, 1–11.
- 26) T. Loftsson, M.E. BREWSTER, Pharmaceutical Applications of Cyclodextrins, *Journal of Pharmaceutical Sciences*. **1996**, *85*, 1017-1025.
- 27) L. Collin, Opening the brain to new therapies, *Med Sci*. **2014**, *30*, 486–488.
- 28) G. Bozzuto, A. Molinari, Liposomes as nanomedical devices, *International Journal of Nanomedicine*. **2015**, *10*, 976-999.
- 29) A. Laouini, C. Jaafar-Maalej, I. Limayem-Blouza, S. Sfar, C. Charcosset, H. Fessi, Preparation, Characterization and Applications of Liposomes: State of the Art, *Journal of Colloid Science and Biotechnology*. **2012**, *1*, 147–168.
- 30) H. Rongen, W.P. Bennekom, A. Bult, Liposomes and immunoassays, *Journal of Immunological Methods*. **1997**, *204*, 105-133.
- 31) N.D. Weiner, Phospholipid Liposomes: Properties and Potential Use in Flavor Encapsulation, *ACS Symposium Series* .**1997**,*610*, 210–218.

- 32) A. Gabizon, D. Tzemach, L. Mak, M. Bronstein, A.T. Horowitz, Dose dependency of pharmacokinetics and therapeutic efficacy of pegylated liposomal doxorubicin (DOXIL) in murine models, *J Drug Target*. **2002**, *10*, 539-587.
- 33) M.M. Dergraef, « les liposomes : aspects technologiques et pharmaceutiques ».Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie, Université de Nantes, France. **2004**, p40.
- 34) R. Gharib, H.Gerges, S. Fourmentin, C. Charcosset, L. Auezova, Liposomes incorporating cyclodextrin–drug inclusion complexes: Current state of knowledge, *Carbohydrate Polymers*. **2015**, *129*, 175-186.
- 35) F. Maestrelli, L. Gonzalez Rodriguez, A.M. Rabasco, P Mura, Effect of preparation technical on the properties of liposomes encapsulating ketoprofen–cyclodextrin complexes aimed for transdermal delivery, *Int J Pharm*. **2006**, *312*, 53–60.
- 36) A. Ascenso, M. Cruz, C. Euleterio, F.A.Carvalho, F.A. Santo, H.C. Marques, S. Simoes, Novel tretinoin formulations: a drug-in-cyclodextrin-in liposome approach, *J Liposome Res*. **2013**, *23*, 211-219.
- 37) N. Skalko, M. Brandl, M. Bedirevid, J. Filipovid, I. Jalsenjak, Liposomes with nifedipine and nifedipine cyclodextrin complex: calorimetric and plasma stability comparison, *Eur J Pharm Sci*. **1996**, *4*, 359-366.
- 38) D.G. Fatouros, K. Hatzidimitriou, S.G. Antimisariis, Liposomes encapsulating prednisolone and prednisolone–cyclodextrin complexes: comparison of membrane integrity and drug release, *Eur J Pharm Sci*. **2001**, *13*,287-296.
- 39) Z. Chang, F. Boyaud, R. Guillot, T. Boddaert, D.J. Aitken, A Photochemical Route to 3- and 4-Hydroxy Derivatives of 2-Aminocyclobutane-1-carboxylic Acid with an all-cis Geometry , *J. Org. Chem*. **2018**, *83*, 527-534.
- 40) E. Benedetti, M Lomazzi, F Tibiletti, Synthesis of Nitrogen-Containing Heterocycles via Ring-Closing Ene-Ene and Ene-Yne Metathesis Reactions, *Synthesis*. **2012**, *44*, 3523-3533.
- 41) A.T. Mansour, J. Buendia, J. Xie, F. Brisset, S. Robin, D Naoufal, D.J. Aitken,  $\beta$ -Cyclodextrin-Mediated Enantioselective Photochemical Electrocyclization of 1,3-Dihydro-2H-azepin-2-one , *J. Org. Chem*. **2017**,*82*, 9832-9836.
- 42) P. Job, Comptes rendus de l'Académie des sciences, *Sci. Paris*. **1925**, *180*, 928.
- 43) H.A. Benesi, J.H. Hildebr, *J. Am, Chem.Soc*. **1949**, *71*, 2703-2707.
- 44) F. Maestrelli, M.L. Gonzalez-Rodriguez, A.M. Rabasco, P. Mura, Preparation and characterisation of liposomes encapsulating ketoprofen–cyclodextrin complexes for transdermal drug delivery , *International Journal of Pharmaceutics*. **2005**, *298*, 55–67.

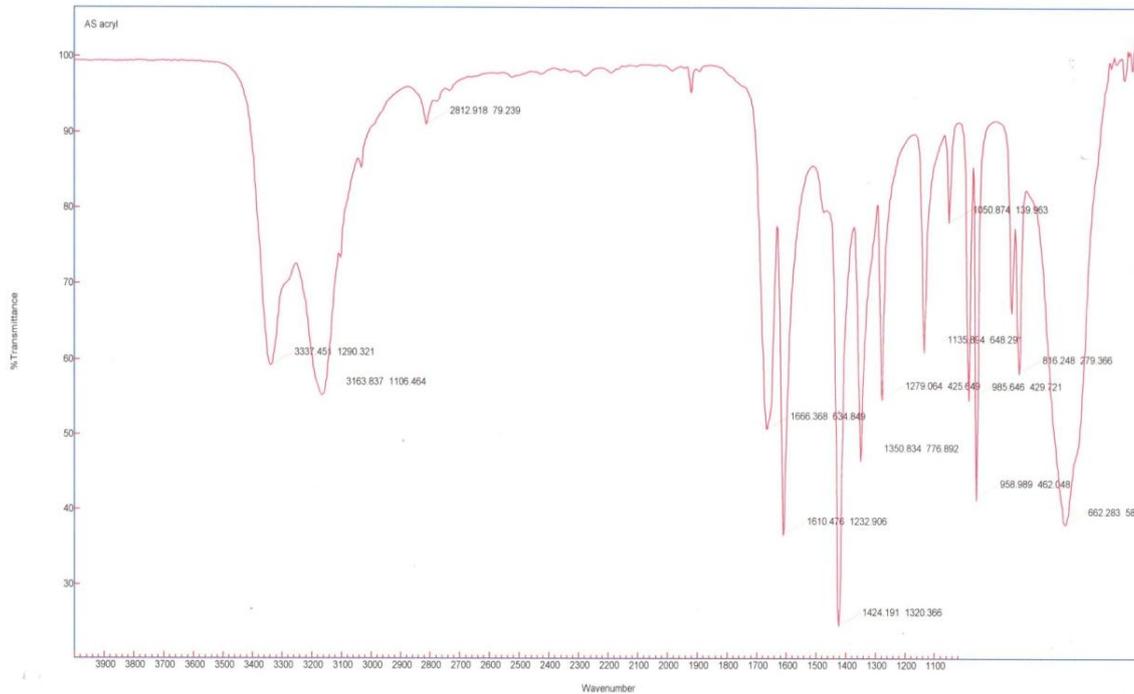
## SPECTRES IR



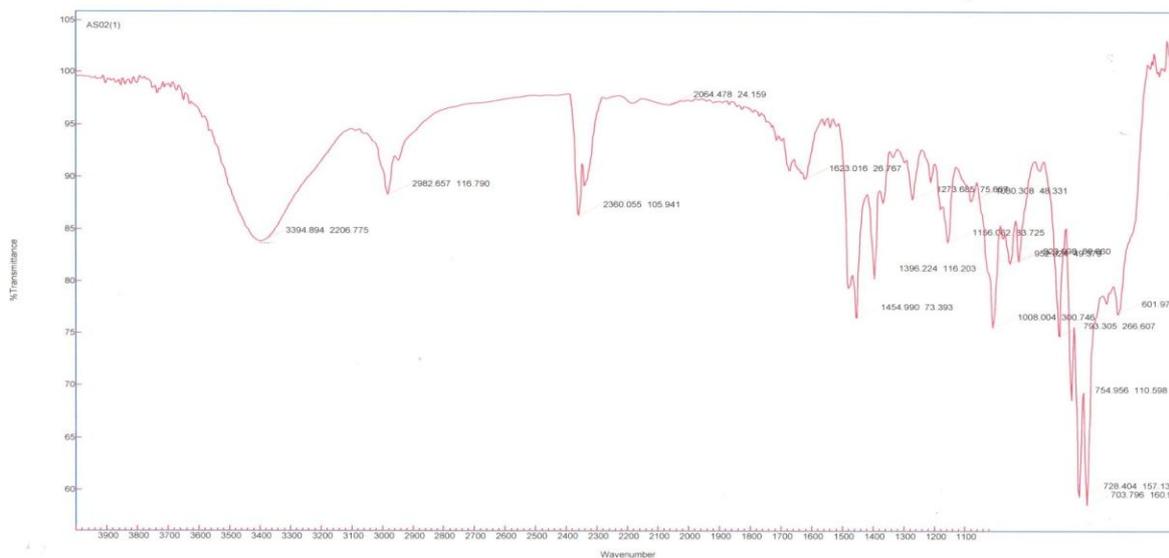
**Spectre IR de : N-benzylideneacrylamide (3) de la première méthode.**



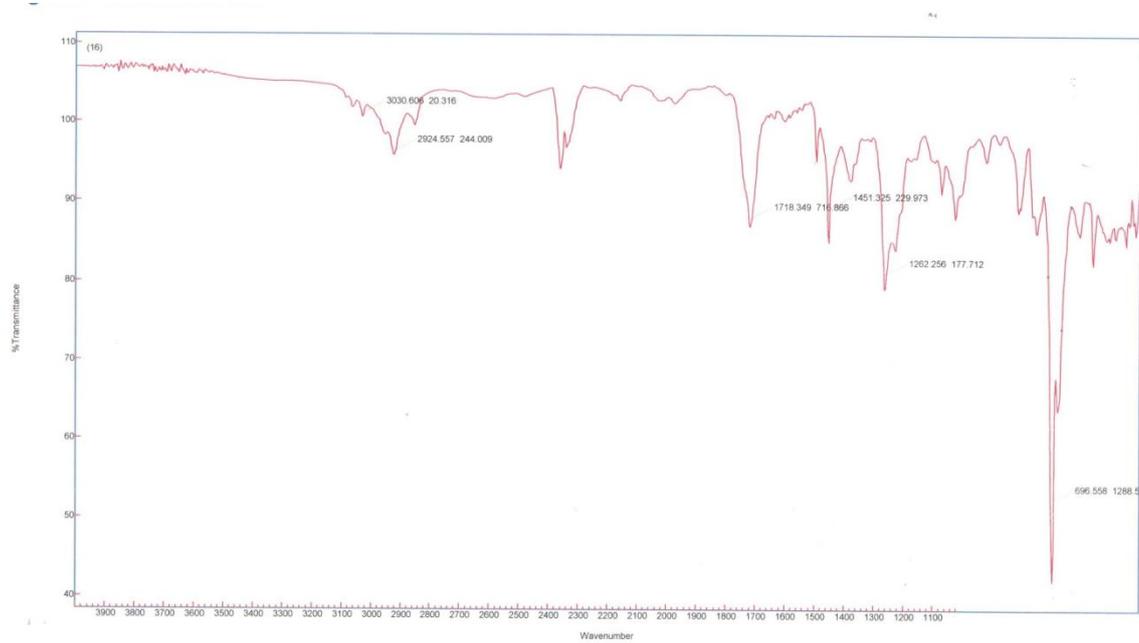
**Spectre IR de : N-benzylideneacrylamide (3) de la deuxième méthode.**



**Spectre IR de l'acrylamide (2).**



**Spectre IR de N-benzylacrylamide (5').**



**Spectre IR de N-allyl-N-benzylacrylamide (7) .**



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

## UNIVERSITE ABOU-BEKR BELKAID – TLEMCEM



### ABSTRACT:

In this work, we synthesized analogues of the GABA receptor, which is involved in several neurological diseases. Our analogues have cycles to increase rigidity compared to the neurotransmitter GABA. We also conducted a study of liposome formation based on cyclodextrin to help improve the pharmacokinetic parameters of our analogues.

**Keywords:** Synthesis, Agonist, GABA, Cyclodextrin, Liposome, Central nervous system.

### RESUME :

Dans ce travail, nous avons synthétisé des analogues du récepteur GABA, impliqués dans plusieurs maladies neurologiques. Nos analogues possèdent des cycles afin d'augmenter la rigidité par rapport au neurotransmetteur GABA. Nous avons aussi réalisé une étude de formation de liposome à base de cyclodextrine afin de contribuer à l'amélioration des paramètres pharmacocinétiques de nos analogues.

**Mots clés :** Synthèse, Agoniste, GABA, Cyclodextrine, Liposome, Système nerveux central.

### ملخص :

في هذا العمل ، قمنا بتركيب نظائر من مستقبلات GABA ، والتي تشارك في العديد من الأمراض العصبية. نظائرنا لها دورات لزيادة الصلابة مقارنة بالنواقل العصبية GABA. أجرينا أيضًا دراسة لتكوين الجسيمات الشحمية استنادًا إلى السكريات الحلقية للمساعدة في تحسين المعلمات الحركية الدوائية من نظائرنا.

الكلمات المفتاحية: اصطناع, مماثل, الغابا, السكريات الحلقية, الجسيمات الشحمية, الجهاز العصبي المركزي .

*Laboratoire de Chimie Organique, Substances Naturelles et Analyses (COSNA)  
Tlemcen- Algérie*

*ANNEE 2018 – 2019*