

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



UNIVERSITÉ DE TLEMCEM  
FACULTÉ DES SCIENCES  
DÉPARTEMENT DE CHIMIE



LABORATOIRE DE CHIMIE ORGANIQUE, SUBSTANCES NATURELLES ET ANALYSES

DOMAINE : SCIENCES DE LA MATIÈRE

FILIÈRE : CHIMIE

SPÉCIALITÉ : CHIMIE BIO ORGANIQUE ET THÉRAPEUTIQUE

## MÉMOIRE DE MASTER

# SYNTHÈSE DE NOUVEAUX ANALOGUES DU BACLOFÈNE® ET ÉTUDE DE LEURS COMPLEXES D'INCLUSION AVEC LA $\beta$ -CYCLODEXTRINE

SOUTENU PUBLIQUEMENT PAR M<sup>R</sup> SI SAID MOHAMED EL AMINE LE 10 JUIN  
2015 DEVANT LE JURY COMPOSÉ DE :

BACHIR MOSTEFA KARA, PR	PRÉSIDENT
LATIFA NEGADI, PR	EXAMINATRICE
WASSILA DRICI, MCA	EXAMINATRICE
ZOHEIR ARRAR, MCA	EXAMINATEUR
DJAMEL BENDIABDELLAH, MAA	EXAMINATEUR
WAFAA SEBA LEMERINI, MAA	EXAMINATRICE
ABDELMOUMEN MZERAI, DR	EXAMINATEUR INVITÉ
ASSIA SLIMANI KENICHE, DR	ENCADREUR
JOSEPH KAJIMA MULENGI, PR	(SUPERVISION SCIENTIFIQUE)

ANNÉE 2014-2015

# DÉDICACE

*À la mémoire de mes grands-parents*  
*À mon père qui m'a appris, entre autres, à être moi-même*  
*À ma mère, qui m'a tout donné*  
*À ma grand-mère que j'aime*  
*À mon frère, et ses trois mousquetaires*  
*À mes sœurs et à leurs enfants*  
*À ma belle-sœur et mes beaux-frères*  
*À mes oncles*  
*À tous mes enseignants depuis le tout début*  
*À toute ma promotion, ainsi qu'à mes camarades de l'UMMTO*  
*À tous mes amis*

# REMERCIEMENTS

*Ce travail de recherche n'aurait pas vu le jour sans le soutien financier de la DGRST et le ministère d'enseignement supérieur et de la recherche scientifique, que je tiens vivement à remercier.*

*Ce projet a été réalisé au sein du laboratoire de Chimie Organique, Substances Naturelles et Analyses (COSNA) sous la direction du Professeur JOSEPH KAJIMA MULENGI que je tiens à remercier d'avoir bien voulu m'accueillir au sein de ses étudiants et de m'avoir permis de profiter d'excellentes conditions de travail.*

*Mes remerciements vont vers Mr. DJAMEL BENDIABDELLAH et Mr. HASSAN BENARRIBA, pour le temps alloué aux analyses IR de nos produits. Je remercie aussi, Melle FARWANI GHANIA (laboratoire de Catalyse et Synthèse en Chimie Organique, Université de Tlemcen) pour son aide à analyser par IR quelques produits restants.*

*Je suis infiniment reconnaissant au Docteur SLIMANI née KENICHE ASSIA. Que du temps est passé depuis le début sous son honorable encadrement. Je la remercie pour sa patience et sa confiance tout au long de la réalisation de cette étude.*

*Je remercie sincèrement Le professeur BACHIR MOSTEFA KARA, pour l'honneur qu'il m'a fait en acceptant de présider le jury de ce mémoire. Que ce travail soit l'occasion de lui exprimer le témoignage de ma reconnaissance et de mon grand respect.*

*Je remercie fortement l'ensemble des membres de mon jury de mémoire de m'avoir fait l'honneur d'accepter d'évaluer mon travail.*

*J'ai également une pensée pour toutes ma promotion, et tout particulièrement MALTI IBTISSEM, avec qui j'ai apprécié de partager un coin de paillasse. Je leur souhaite bon courage pour la suite.*

*Je remercie aussi tous ceux, qui, chacun à sa façon, ont participé à la concrétisation de ce travail. Je ne les citerai pas pour n'en oublier aucun, je suis sûr qu'ils se reconnaîtront.*

## LISTE DES ABREVIATIONS

- A** : Absorbance UV
- A\_BF** : Analogue du Baclofène
- AMM** : Autorisation de mise sur le marché
- ANSM** : Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé
- Ar** : Aryle
- Asp** : Acide aspartique
- BF** : Baclofène
- Boc** : tert-butoxycarbonyle
- CCM** : Chromatographie sur couche mince
- CD** : Cyclodextrine
- $\alpha$ -CD** : alpha-cyclodextrine
- $\beta$ -CD** : bêta-cyclodextrine
- $\gamma$ -CD** : gamma-cyclodextrine
- CGT-ase** : Cyclodextrine glucosyl transférase
- DAST** : Trifluorure de diéthylamino de soufre
- DAVA** : Acide Délta Amino-Valérique
- dba** : Dibenzylideneacetone
- $\delta$**  : Déplacement chimique
- DCC** : Dicyclohexycarbodiimide
- DCM** : Dichlorométhane
- DCU** : Dicyclohexylurée
- DMAP** : 4-diméthylaminopyridine
- DMF** : Diméthylformamide
- EC 50** : Concentration Effective médiane
- ee** : excès énantiomérique
- ESI** : Electro- Spray Ionisation (Ionisation par électro-nébuliseur)
- Ft** : Phtalimide
- FTIR** : Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier
- GABA** : Acide Gamma Amino-Butyrique
- Gly** : Glycine
- HMDS** : Hexaméthyle Disilane
- HPLC** : Chromatographie Liquide Haute Performance

**IC 50** : Concentration Inhibitrice médiane  
**IM** : Intra musculaire  
**IV** : Intra veineuse  
**LDA** : Diisopropylamide de lithium  
**MS** : Mass Spectrometry (Spectrométrie de masse)  
**pH** : Potentiel Hydrogène  
**PPL** : Porcine Pancreatic Lipase  
**RMN** : Résonance Magnétique Nucléaire  
**RTSGO** : Relaxations Transitoires du Sphincter Gastro-Œsophagien  
**Ser** : Sérine  
**SNC** : Système Nerveux Central  
**TA** : Température Ambiante  
**TEA** : Triéthylamine  
**TFA** : Acide Trifluoroacétique  
**THF** : Tétrahydrofurane  
**TMSA** : Triméthylsilylacétylène  
**Tyr** : Tyrosine  
**UV** : Ultraviolet

## RESUMÉ

L'acide 4-amino-3-(p-chlorophényl) butyrique (Baclofène<sup>®</sup>, BF) est l'agoniste type des récepteurs GABA<sub>B</sub> et il est cliniquement utilisé comme myorelaxant, et récemment destiné à traiter le sevrage alcoolique. La synthèse de certains analogues du Baclofène<sup>®</sup> et leur inclusion dans la  $\beta$ -cyclodextrine a été rapportée dans ce travail, et ça pour but d'améliorer les propriétés thérapeutiques du Baclofène<sup>®</sup>. Avec cette inclusion, nous avons obtenu des complexes tout à fait originaux, que l'on ne rencontre pas dans la littérature. De plus, l'étude de la complexation a été achevée par spectroscopie UV, un outil pratiquement disponible dans tous les laboratoires de chimie.

**Mots clés:** Synthèse, Analogues du Baclofène, GABA<sub>B</sub>,  $\beta$ -cyclodextrine, complexe d'inclusion, spectroscopie UV.

## ABSTRACT

(RS)-4-Amino-3-(4-chlorophenyl)butanoic acid (Baclofen, BF) is the prototypic selective GABA<sub>B</sub> R agonist and is used clinically for the treatment of spasticity associated with brain and spinal cord injuries ; and recently used as an anti-craving agent. The synthesis of certain analogues of Baclofen and their inclusion in the  $\beta$ -Cyclodextrin has been reported in this work, in order to improve the therapeutic properties of baclofen. Through this inclusion, achieved a novel inclusion complexes between baclofen and  $\beta$ -CD. The latter are not found anywhere in the literature. Moreover, the study of the complexation was completed by UV spectroscopy, an available tool in chemical laboratories.

**Keywords:** Synthesis, Baclofen analogues, GABA<sub>B</sub>,  $\beta$ -cyclodextrine, inclusion complexes, UV spectroscopy.

## ملخص

حمض-4-امينو-3-(4-كلوروفينيل) بوتانويك (باكلوفان BF) هو بمثابة ناهض لمستقبلات غابا ب (GABA<sub>B</sub>) والمستعمل في الطب كعلاج لارتخاء العضلات كما استعمل مؤخراً للقطام الكحولي. ان اصطناع بعض مماثلات الباكلوفان وادراجها ضمن السكريات الحلقية ب ( $\beta$ -cyclodextrine) قد ذكر في هذا العمل، وهذا بهدف تحسين الخصائص العلاجية للباكلوفان. بفضل هذا الادراج تحصلنا على مركبات مبتدعة، لم يتم التطرق إليها من قبل. بالإضافة الى ذلك، فلقد اتمنا دراسة مركباتنا بجهاز التحليل الطيفي للأشعة فوق بنفسجية، هذه الاداة المتوفرة عموماً في جميع مخابر الكيمياء.

الكلمات المفتاحية: الاصطناع، مماثل الباكلوفان، غابا ب، السكريات الحلقية ب، مركبات الادراج، التحليل الطيفي للأشعة فوق بنفسجية.

## SOMMAIRE

<b>INTRODUCTION GÉNÉRALE .....</b>	<b>01</b>
<b>PARTIE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE .....</b>	<b>[06-40]</b>
<b>CHAPITRE 1 : Baclofène, analogues et méthodes de synthèses .....</b>	<b>[06-21]</b>
INTRODUCTION .....	06
I.    MODE D'ACTION DU BF .....	07
II.   GALENIQUE .....	09
III.  PHARMACOCINETIQUE .....	09
A. Administration .....	09
B. Distribution .....	09
C. Métabolisme .....	09
D. Elimination .....	10
IV.   TRAVAUX ANTERIEURS .....	10
A. Séparation du mélange racémique du BF à base de complexes de CD .....	10
1. Séparation électrophorétiques des énantiomères du BF .....	10
2. Étude du complexe BF_CD par RMN- <sup>1</sup> H .....	11
3. Étude du complexe BF_CD par spectroscopie de masse ESI-MS .....	11
B. Modélisation moléculaire de la formation de complexes d'inclusion BF_CD ....	11
V.    METHODES DE SYNTHESE .....	12
A. Synthèses énantiosélectives du BF .....	12
1. Synthèse chimio-enzymatique du BF .....	12
2. Synthèse énantiosélective du BF .....	13
3. Synthèse énantiosélective catalysée du BF par alkylation allylique asymétrique .....	14
4. Synthèse asymétrique des $\gamma$ -lactames $\beta$ -substituées, et application à la synthèse du R-BF .....	15
5. Synthèse catalysée du R-BF par alkylation allylique .....	16
B. Synthèses d'analogues du BF .....	16
1. Modification au niveau de la longueur de la chaîne aliphatique .....	16
2. Modification par suppression de la fonction carboxylique et du groupe aromatique du BF .....	17
3. Modification au niveau de la fonctionnalisation aromatique et sa jonction avec la chaîne aliphatique .....	18
CONCLUSION .....	21

<b>CHAPITRE 2 : Présentation générale des cyclodextrines .....</b>	<b>[22-40]</b>
INTRODUCTION .....	22
I.    STRUCTURE ET PROPRIÉTÉS .....	22
II.   METHODE DE SYNTHÈSE .....	24
III.  COMPLEXES D'INCLUSION .....	25
A. Principe .....	25
B. Méthodes de complexation .....	26
1. Co- précipitation .....	26
2. Complexation en phase liquide .....	27
3. Complexation en pâte .....	27
4. Complexation par chauffage du mélange humide .....	27
C. Stochiométrie et constante de formation du complexe d'inclusion .....	28
1. Détermination de la stœchiométrie .....	28
2. Détermination de $K_a$ .....	29
D. Etudes des complexes d'inclusion .....	33
1. Par UV-visible .....	34
2. Par RMN .....	35
3. Par IR .....	35
IV.  APPLICATIONS DES CD ET TOXICITÉ .....	35
A. Domaine pharmaceutique .....	35
B. Environnement .....	36
C. Catalyse .....	36
D. Analyse .....	36
E. Domaine alimentaire .....	37
F. Cosmétologie .....	37
V.    TOXICITÉ .....	37
CONCLUSION .....	39
<b>CONCLUSION GÉNÉRALE .....</b>	<b>40</b>
<b>PARTIE II : RESULTATS ET DISCUSSION .....</b>	<b>[41-82]</b>
<b>CHAPITRE 3 : Baclofène, analogues et méthodes de synthèses .....</b>	<b>[41-70]</b>
INTRODUCTION .....	41
I.    CHOIX DES ANALOGUES DU BF .....	41
II.   PURIFICATION DES SOLVANTS .....	42
A. Purification du MeOH .....	42

B.	Purification du Dichlorométhane .....	43
C.	Caractéristiques des produits utilisés .....	43
III.	SYNTHESE DES A_BF AROMATIQUES .....	44
A.	Synthèse A_BF_1 .....	44
IV.	SYNTHESE DES A_BF AROMATIQUES FONCTIONNALISÉS .....	45
A.	Synthèse A_BF_2 .....	45
B.	Synthèse A_BF_3 .....	48
C.	Synthèse A_BF_4 .....	48
V.	SYNTHESE DES A_BF AROMATIQUES NON FONCTIONNALISÉS .....	50
A.	Synthèse A_BF_5 .....	50
1.	Purification du benzaldéhyde .....	50
2.	Synthèse du nitroalcool .....	50
3.	Déshydratation du nitroalcool et obtention de l'alcène correspondant	51
4.	Addition de Michaël du malonate de diéthyle .....	51
5.	Réaction de cyclisation .....	52
6.	Réaction d'hydrolyse .....	52
7.	Réaction de décarboxylation .....	52
8.	Ouverture du cycle et synthèse de A_BF_5 .....	53
VI.	ÉTUDE DES COMPLEXES D'INCLUSION PAR SPECTROSCOPIE UV .....	54
A.	A_BF_1- $\beta$ _CD .....	54
1.	Détermination de la complexation .....	54
2.	Détermination de la stœchiométrie .....	55
3.	Détermination de $K_a$ .....	56
4.	Proposition de la géométrie de la complexation .....	58
B.	A_BF_2- $\beta$ _CD .....	58
C.	A_BF_3- $\beta$ _CD .....	62
D.	A_BF_5- $\beta$ _CD .....	66
	<b>CONCLUSION GÉNÉRALE .....</b>	<b>70</b>
	<b>PERSPECTIVES .....</b>	<b>70</b>
	<b>PARTIE EXPERIMENTALE .....</b>	<b>73</b>
	<b>REFERENCES .....</b>	<b>83</b>
	<b>ANNEXE .....</b>	<b>88</b>
	<b>SPECTRES IR .....</b>	<b>91</b>

## INTRODUCTION GÉNÉRALE

La consommation d'alcool est responsable de la mort de 3,3 millions de personnes par an dans le monde. En Algérie, l'alcool est derrière 0,9% du total des décès<sup>1</sup> : Cette situation fait de la lutte contre l'alcoolisme un enjeu de santé publique majeur.

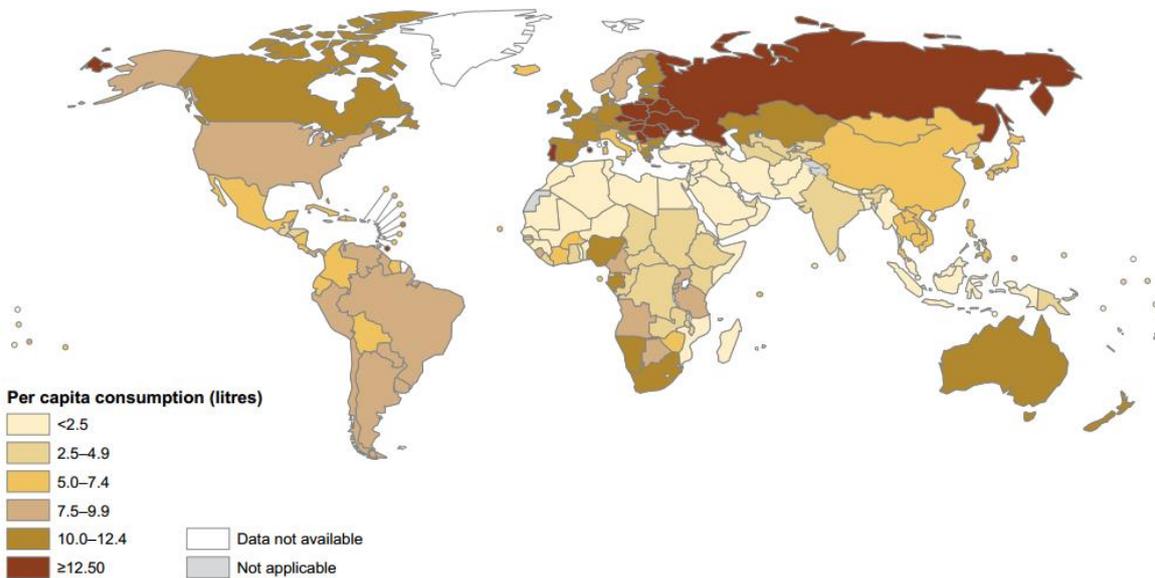


Figure 1: La carte du monde 2014 de la consommation d'alcool (Rapport de l'OMS).

L'addiction à l'alcool, comme à de nombreuses autres substances (tabac, cannabis, cocaïne, héroïne ...), est caractérisée par un intolérable « craving ». Cette envie irrésistible de boire n'est pas compatible avec une abstinence d'alcool à long terme, qui est pourtant encore considérée comme la meilleure réponse à la maladie alcoolique. L'arsenal thérapeutique utilisé vise à diminuer la quantité d'alcool consommée mais le « craving » reste fort et les rechutes fréquentes<sup>2</sup>.

En, 2004, le médecin français Olivier Ameisen<sup>3</sup>, cherchant désespérément à guérir son alcoolisme, teste le médicament « Baclofène » sur lui-même et constate qu'à fortes doses, il supprime le besoin irrésistible de boire. En 2008, il publie son livre témoignage « Le Dernier Verre<sup>4</sup> » et fait ainsi connaître le médicament pour traiter l'alcoolisme au grand public, et toute forme d'addiction à une drogue.

<sup>1</sup> OMS. Global status report on alcohol and health. **2014**.

<sup>2</sup> M.P. Du Clary. Place du baclofène dans la prise en charge Thérapeutique du sevrage alcoolique, **2013**, Université de Nantes, 7.

<sup>3</sup> O. Ameisen, *Alcohol*, **2005**, 40, 147.

<sup>4</sup> O. Ameisen, *Le dernier Verre*, édition: Denoël, **2008**, p.298.

Dans le cerveau d'une personne alcoolique, la seule vue de l'objet, un verre d'alcool, déclenche la sécrétion de dopamine, l'hormone du plaisir et de la récompense. Il s'en suit une irrésistible envie de boire, le « craving ». C'est là qu'intervient le baclofène qui viendrait bloquer ce système de récompense et ainsi faire disparaître l'envie de boire<sup>5</sup>.

### QU'EST-CE QUE LE BACLOFENE ?

Le Baclofène (Lioréal) est un myorelaxant, commercialisé depuis plus de quarante ans sous forme racémique<sup>6</sup>. Ses énantiomères diffèrent dans leurs propriétés pharmacodynamiques et toxicologiques<sup>7</sup>. En effet, le (R)-Baclofène est plus actif, mais aussi plus toxique que son énantiomère (S)<sup>8</sup>. Le Baclofène semble également réduire l'envie d'alcool (effet anti-craving) mais n'avait pas d'autorisation de mise sur le marché (AMM) dans cette indication\*. L'utilisation du Baclofène dans cette indication est le résultat d'une controverse médicale dont l'un des acteurs principaux est le médecin français Olivier Ameisen<sup>4</sup>.

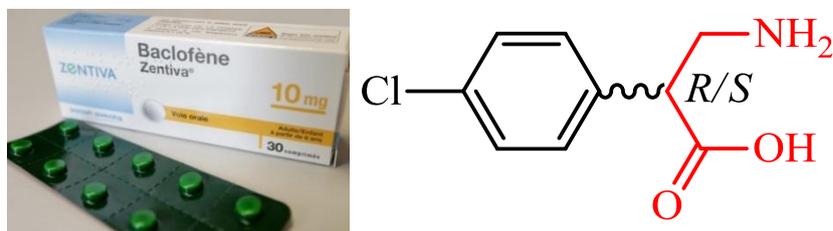


Figure 2: Structure moléculaire du baclofène.

### PROBLÉMATIQUE

La question qui se pose, en lisant cette introduction est la suivante : **Pourquoi travailler sur un médicament qui existe déjà ?** Alors que notre défi autant que chimiste chercheur, est de développer de nouvelles molécules bioactives ?

À ce titre, nous nous intéressons aux problèmes que présente le Baclofène, surtout après la découverte de son pouvoir miraculeux « anti-craving », et l'espoir qu'il présente pour des milliers de patients souffrants de toutes les formes d'addiction.

\* Avant le 14 mars 2014, où le BF a reçu une AMM temporaire pour cette indication (Ref. 20)

<sup>5</sup> M.P. Jaury. Alcoolisme, la promesse du Baclofène, **2014**, 2.

<sup>6</sup> E. Falch, A. Hedegaard, L. Nielsen, B.R. Jensen, H.Hjeds, P. Krogsgaard-Larsen, *J.Neurochem*, **1986**, 47, 898.

<sup>7</sup> N.G. Bowery, D.R. Hill, A.L. Hudson, A. Doble, D.N. Middle, J. Shaw, M.Turnbull, *Nature*, **1980**, 283, 92.

<sup>8</sup> H.R. Olpe, H. DemiCville, V. Baltzer, W.L. Bencze, W.P. Koella, P. Wolf, H.L.Haas, *J. Pharmacol*, **1978**, 52, 133.

L'inconvénient majeur du Baclofène, est sa commercialisation sous forme racémique, sachant que ses énantiomères sont différents dans leurs propriétés pharmacodynamiques et toxicologiques<sup>7</sup>.

De plus, les problèmes de biodisponibilité et de vectorisation que présente le Baclofène dans l'organisme. Comme cela a été montré dans plusieurs travaux<sup>9</sup>, le Baclofène est rapidement absorbé et largement distribué dans tout l'organisme. Sa biotransformation est très limitée de sorte que 85 % du principe actif est évacué sous forme inchangée. De plus, dans le liquide céphalo-rachidien, les taux du Baclofène sont environ 8,5 fois plus faibles que dans le plasma. Tandis que sa demi-vie d'élimination plasmatique est de 3 à 4 heures.

### **OBJECTIFS**

L'objectif de nos travaux consiste d'une part à mettre au point une méthode de synthèse stéréosélective du baclofène, d'autre part la synthèse, la caractérisation et l'évaluation des propriétés de complexation de nouveaux analogues du Baclofène à base de  $\beta$ -cyclodextrine ( $\beta$ -CD) afin d'augmenter la biodisponibilité du principe actif dans l'organisme, et d'améliorer sa vectorisation au site actif. En effet, les CDs naturelles et modifiées ont la propriété de solubiliser les principes actifs hydrophobes. L'organisme humain étant constitué à près de 80% d'eau, cela devrait faciliter le transport de ces principes actifs vers leurs récepteurs. À cela s'ajoute, la capacité des CDs à améliorer les propriétés physicochimiques et pharmacologiques de la molécule hôte au sein du complexe.

Nous envisageons par la suite, l'évaluation de l'activité anti-craving des nouveaux analogues du Baclofène, ce sera une partie qui fera l'objet de nos prochaines investigations.

Afin d'obtenir notre série d'analogues du baclofène, nous allons réaliser les modifications chimiques représentées sur la figure suivante :

---

<sup>9</sup> J.W. Faigle, H. Keberle, *Postgraduate Medical Journal*, **1972**, 48, 9.

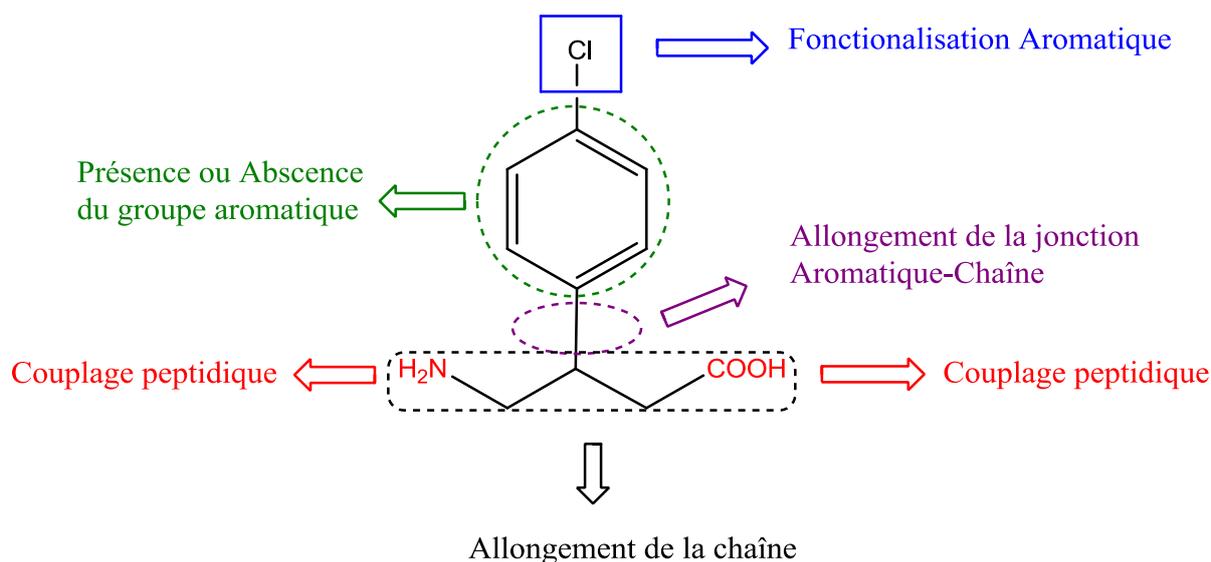


Figure 3: Représentation schématique des modifications chimiques qui aboutissent à la synthèse des différents analogues du Baclofène.

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 le Baclofène, sa galénique et sa pharmacocinétique. Ensuite, nous présenterons les travaux antérieurs sur la synthèse du Baclofène et de ces analogues cités dans la littérature. En second lieu, nous aborderons le développement de nouveaux analogues du Baclofène suivie de leurs synthèses pour une étude ultérieure de leurs complexes avec la  $\beta$ -CD.

Le second chapitre, quand à lui, dresse la synthèse des recherches bibliographiques concernant les CDs, leurs propriétés et leurs domaines d'utilisation. Nous présentons également les techniques d'étude des complexes d'inclusion CD-molécules invitées. Suivie de nos résultats, où nous détaillons dans cette partie, la synthèse des analogues du BF et l'étude de ces complexes supramoléculaires  $\beta$ -CD-Analogue Baclofène, en milieu aqueux par spectroscopie IR et UV.

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.

### **JOURNÉE DE SENSIBILISATION ANTI-ADDICTION**

Dans le but d'être des scientifiques non isolés du courant général de notre société, dans le but d'être des chimistes non isolés dans nos laboratoires avec nos molécules, dans le but de relier la recherche scientifique et la vie réelle, nous avons décidé de réaliser une journée de sensibilisation anti-addiction, auprès du personnel hospitalier, les universités, les écoles, les lycées, les gens qui passent dans la rue.....tout le monde ! En distribuant des formulaires et des affiches.

Par manque de temps, nous n'avons pas pu réaliser cet objectif, néanmoins nous laissons cette idée dans notre manuscrit, afin d'inspirer d'autres étudiants qui travailleront sur le tabagisme ou autre forme d'addiction.

# PARTIE I : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

## Chapitre 1 : Baclofène, analogues et méthodes de synthèses

### INTRODUCTION

Le baclofène est l'acide 4-amino-3-(p-chlorophényl) butyrique. Il est commercialisé sous forme racémique. La formule développée est la suivante :

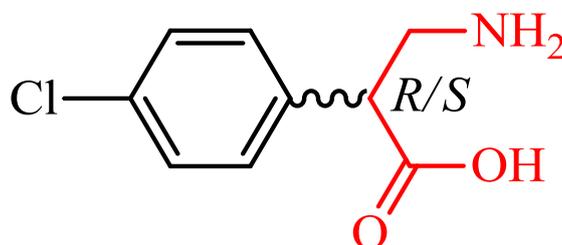


Figure 4: Structure moléculaire du Baclofène.

« Le baclofène est un « vieux » médicament commercialisé depuis plus de 40 ans. Il est utilisé pour diminuer la spasticité musculaire c'est-à-dire l'enraidissement du muscle lié à son inactivité qu'on observe chez les personnes paralysées des membres inférieurs par exemple. De ce fait, on en connaît bien les effets indésirables et on a un bon recul sur sa prescription. Il existe aussi quelques travaux qui ont recensé les prescriptions à hautes doses ainsi que ses interactions potentielles avec l'alcool. Tout ceci fait qu'on sait assez bien à quoi s'attendre avec ce médicament. »<sup>10</sup>

Depuis 2008 et la sortie du livre « le dernier verre » du Pr Ameisen, le baclofène, est médiatisé et présenté comme une nouvelle alternative dans le traitement de l'alcoolisme.

En vue des inconvénients que présente le baclofène, ce dernier fait l'objet de plusieurs études, dont le principal enjeu est d'optimiser la biodisponibilité et la vectorisation du baclofène, et cela soit en développant des méthodes de séparation des deux énantiomères, soit en synthétisant de nouveaux analogues.

Ces travaux seront détaillés le long de ce chapitre.

<sup>10</sup> P. Gache, R. de Beaurepaire, P. Jaury, B. Joussaume, A. Rapp, P. de la Selle. *Guide prescription du baclofène dans le traitement des problèmes d'alcool 2*, 2015, p.298.

## I. MODE D'ACTION DU BACLOFENE :

L'acide  $\gamma$ -Aminobutanoïque (GABA), est le principal neurotransmetteur inhibiteur du système nerveux central (SNC) chez les mammifères<sup>11</sup>. Il exerce ses actions physiologiques sur 3 types de sous-récepteurs : Canaux ioniques-ligands dépendants (GABA<sub>A</sub> et GABA<sub>C</sub>), et des récepteurs couplés à la protéine G (GABA<sub>B</sub>)<sup>12</sup>. Les récepteurs GABA<sub>B</sub> ont été découverts en 1980 par Norman G. Bowery<sup>13</sup>. Ils sont codés par deux gènes correspondant aux deux protéines GABA<sub>B1</sub> et GABA<sub>B2</sub> qui forment des hétéro-dimères B1-B2, qui sont nécessaires pour que les récepteurs GABA<sub>B</sub> soient fonctionnellement actifs<sup>14</sup>. Ils se distinguent des récepteurs GABA<sub>A</sub> par leur capacité à être stimulés sélectivement par le baclofène<sup>15</sup>. En effet, l'analogie structurale du baclofène avec le GABA explique son activité agoniste des récepteurs GABA<sub>B</sub>.

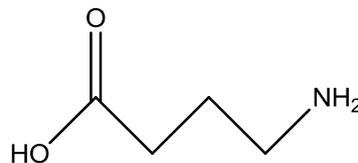


Figure 5: Structure moléculaire du GABA.

L'acide 4-Amino-3-(p-chlorophényl) butyrique (Le Baclofène), est un analogue du GABA qui interagit stéréo spécifiquement avec le récepteur GABA<sub>B</sub>, ce qui fait de lui l'agoniste classique de ce dernier<sup>16</sup>. Mais, contrairement au GABA, le Baclofène peut franchir (faiblement) la barrière hémato-encéphalique<sup>17</sup>.

<sup>11</sup> N.G. Bowery, *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **1993**, 33, 109.

<sup>12</sup> M. Chebib, G.A.R. Johnston, *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.*, **1999**, 26, 937.

<sup>13</sup> N.G. Bowery, D. R. Hill, A. L. Hudson, A. Doble, D. N. Middlemiss, J. Shaw, M. Turnbull, *Nature*, **1980**, 283, 92.

<sup>14</sup> A.R. Calver, C.H. Davies, M. Pangalos, *Neurosignals*, **2002**, 11, 299.

<sup>15</sup> Y. Landry, J.-P. Gies, *Pharmacologie*, Edition : Dunod, **2003**, 2, p.493.

<sup>16</sup> J.B. Van Bree, C.D. Heijligers-Feijen, A. G. de Boer, M. Danhof, D. Breimer, *Pharmaceutical Research*, **1991**, 8, 259.

<sup>17</sup> Y. Deguchi, K. Inabe, K. Tomiyasu, K. Nozawa, S. Yamada, R. Kimura, *Pharmaceutical Research*, **1995**, 12, 1838.

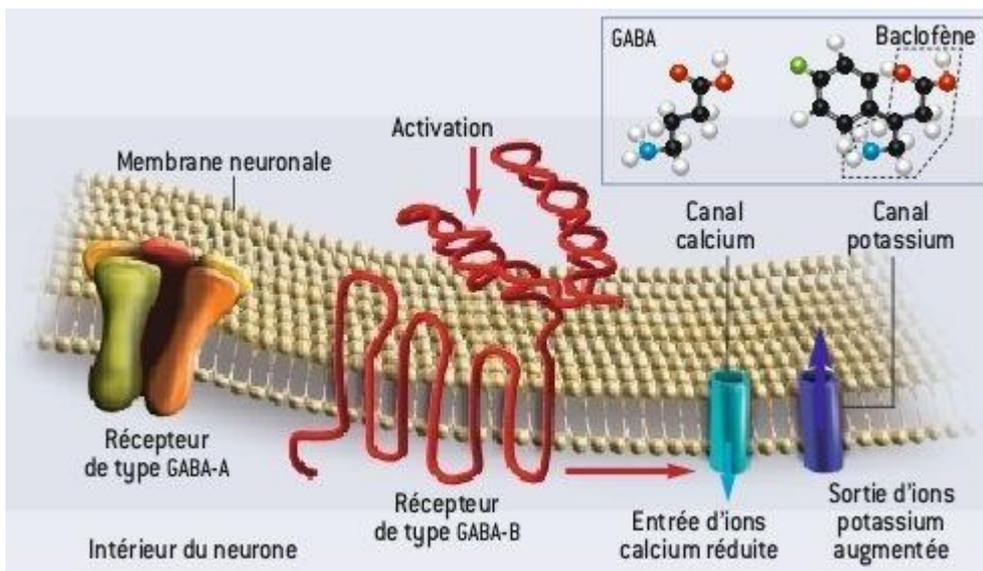


Figure 6: Les Récepteurs GABA-A et GABA-B dans la membrane neuronale.

Une étude de 2001<sup>18</sup> a cherché à modéliser le baclofène pour en évaluer son affinité vis-à-vis du récepteur GABA<sub>B</sub>, l'équipe a conclu que le groupement aromatique (*p*-chlorophényle) se lie au récepteur GABA<sub>B</sub> au niveau d'une poche formée par les acides aminés Tyr366 et Tyr395.

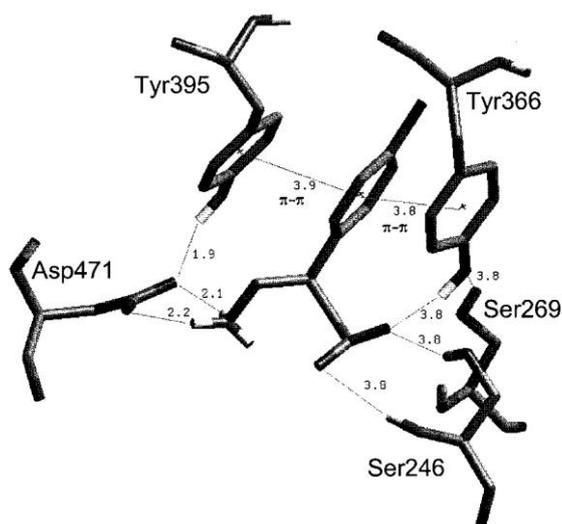


Figure 7 : Modélisation de l'interaction Baclofène-Récepteur GABA<sub>B</sub>.

Le mécanisme d'action exact du baclofène n'est pas encore complètement élucidé<sup>19</sup>. Il stimule les récepteurs GABA<sub>B</sub> pré- et post-synaptiques. Son action est basée sur l'augmentation de l'inhibition présynaptique qui débute principalement dans la moelle épinière, ce qui freine la transmission du stimulus. Cela entraîne une diminution du tonus

<sup>18</sup> G. Costantino, A. Macchiarulo, A.E. Guadix, R. Pellicciari, *J Med Chem*, **2001**, 24,1827.

<sup>19</sup> Vidal **2014**, *Baclofène*.

musculaire et des réflexes pathologiques importants dans la spasticité. Étant un myorelaxant à action centrale, le baclofène n'affecte pas la transmission du stimulus neuromusculaire.

Outre son indication ancienne dans certains troubles musculaires, à la suite de dix années de controverses médicales en France et dans le reste du monde, le baclofène a reçu, le 14 mars 2014, une recommandation temporaire d'utilisation par l'ANSM pour son utilisation dans le sevrage de la dépendance à l'alcool<sup>20</sup>.

## **II. GALENIQUE**

Le baclofène est une poudre cristalline blanchâtre sans odeur ou presque, ayant un poids moléculaire de 213,67 g.mol<sup>-1</sup>. Il est légèrement soluble dans l'eau, très peu soluble dans le méthanol et insoluble dans le chloroforme. Il est commercialisé sous forme de comprimés dosés à 10,00 mg administrables par voie orale ainsi qu'en solutions conditionnées en ampoules et flacons dosés à 0,05 mg/mL, 10 mg/20mL et 10 mg/5mL injectables par voie intrathécale<sup>21</sup>.

## **III. PHARMACOCINETIQUE<sup>22</sup>**

### **A. Absorption :**

L'absorption du baclofène à partir du tractus gastro-intestinal est rapide et complète. Après administration orale de doses uniques de 10, 20 et 30 mg de baclofène, on a mesuré en l'espace de 0.5 à 1.5 h des concentrations plasmatiques maximales de principe actif d'environ 180, 340 et 650 ng/ml en moyenne.

### **B. Distribution :**

Le volume de distribution du baclofène est de 0,7 L/kg. Le taux de liaison aux protéines plasmatiques est approximativement de 30%. Dans le liquide céphalorachidien, la substance active atteint des concentrations environ 8,5 fois plus faibles que dans le plasma. Le baclofène traverse la barrière placentaire et passe dans le lait maternel.

### **C. Métabolisme :**

Le baclofène est métabolisé en très faible proportion (5%). L'acide bêta-(p-chlorophényl)-4-hydroxybutyrique, son métabolite principal formé par désamination, est pharmacologiquement inactif.

---

<sup>20</sup> <http://www.baclofene.org/baclofene/rtu-et-baclofene-compte-rendu-de-la-reunion-du-4-juillet-2013-de-lansm>.

<sup>21</sup> Novartis, Information et communication médicales : Mentions légales LIORESAL® solution injectable.

<sup>22</sup> Novartis Pharma Schweiz AG, Information professionnelle du Compendium Suisse des Médicaments, Mentions légales LIORESAL®.

## D. Élimination

Le médicament est éliminé essentiellement sous forme inchangée dans l'urine. En 72 heures, 75% de la dose est excrété par voie rénale dont 5% sous forme de métabolites. Le reste de la dose est éliminé dans les selles. Le temps de demi-vie d'élimination plasmatique se situe en moyenne entre 3 et 4 h.

## IV. TRAVAUX ANTERIEURS

### A. Séparation du mélange racémique du BF à base de complexes de CD :

En 2012, *O. Suliman et col.*, ont réussi à séparer les énantiomères du BF par électrophorèse capillaire, en formant des complexes avec la  $\beta$ -CD<sup>23</sup>. La <sup>1</sup>H-RMN et la spectroscopie de masse (MS) sont les techniques utilisées pour déterminer la structure du complexe d'inclusion BF- $\beta$ -CD. Ils ont trouvé à partir des données de la (MS) que le BF formait des complexes d'inclusion 1:1 avec l' $\alpha$ -CD et la  $\beta$ -CD, pendant que les données RMN confirment la localisation du groupe aromatique du BF à l'intérieur de la cavité de la CD.

#### 1. Séparation électrophorétiques des énantiomères du BF :

Le BF est une molécule amphotère, ayant les valeurs de pK<sub>a</sub> 3,7 et 9,5<sup>24</sup>. La séparation chirale a été étudiée à la valeur de pH=7. Lors de l'utilisation de l' $\alpha$ -CD comme sélecteur chiral, aucune séparation n'a été obtenue sur le BF sur toutes les concentrations évaluées (5-20mmol/l). Cependant, une séparation chirale du BF a été achevée lorsque la  $\beta$ -CD a été utilisée comme molécule hôte.

Le pH du sélecteur chiral est un paramètre important qui doit être précisément ajusté. En effet, à pH=3 aucune séparation n'est observée, et ce n'est qu'à partir du pH=4 que les deux énantiomères commencent à se séparer. La résolution monte en augmentant le pH jusqu'à 7, où on obtient une résolution de 1,2 (Electropherogramme, voir annexe 1). Des résultats similaires ont été obtenus par Ali & Aboul-Enein<sup>25</sup>.

---

<sup>23</sup> F.O. Suliman, A.A. Elbashir, *J. Molecular Structure*, **2012**, 1019, 43.

<sup>24</sup> a) A. Donald Godwin, N.-H. Kim, R. Zuniga, *J. Pharm.* **2001**, 36; b) M. Sznitowska, S. Janicki, T. Gosb, *Int. J. Pharm.* **1996**, 137, 125; c) S. Ahuja, *Chromatographia*, **1992**, 34, 411.

<sup>25</sup> I. Ali, H.Y. Aboul-Enein, *Electrophoresis*, **2003**, 24, 2064.

## 2. Étude du complexe BF\_CD par RMN-<sup>1</sup>H :

La formation des complexes d'inclusion est souvent associée avec un changement significatif de l'environnement chimique des molécules invitées, ce qui affecte le déplacement chimique des protons des molécules hôtes et invitées<sup>26</sup>.

Après la complexation du BF avec la  $\beta$ -CD, les signaux des protons situés à l'intérieur de la cavité de la  $\beta$ -CD (H<sub>3</sub> et H<sub>5</sub>) sont toujours décalés vers les champs forts, ce qui confirme clairement l'implication de ces hydrogènes dans les interactions hôte-invité. Ce déplacement est dû à l'anisotropie causée par la présence d'un groupe riche en électrons  $\pi$  dans la molécule invitée à l'intérieur de la cavité. Il est clair que les signaux sont influencés par l'ajout du BF, comparés aux protons à l'extérieur de la cavité. Ces observations expliquent l'inclusion du BF à l'intérieur de la cavité de la  $\beta$ -CD. En outre, les signaux provenant des protons aromatiques du BF ont montré aussi une variation de leur  $\delta$ .

## 3. Étude du complexe BF\_CD par spectroscopie de masse ESI-MS :

La complexation du BF avec la  $\alpha$ - et  $\beta$ -CD, est confirmée par les pics à  $m/z=1186$  et  $m/z=1208$  représentent  $[\alpha\text{-CD-BF} + \text{H}]^+$  et  $[\alpha\text{-CD-BF} + \text{Na}]^+$  suggérant la formation d'un complexe d'inclusion 1:1 entre le BF et l' $\alpha$ -CD. De la même manière, le pic à  $m/z=1371$  est attribué à  $[\beta\text{-CD-BF} + \text{Na}]^+$ . Il est clair que le BF forme aussi un complexe d'inclusion avec la  $\beta$ -CD (Spectre de Masse, Voir Annexe 2).

### B. Modélisation moléculaire de la formation de complexes d'inclusion BF\_CD :

Afin d'avoir un aperçu de la séparation du BF par la  $\beta$ -CD, et de rationaliser leurs résultats expérimentaux, F.O. Suliman et A.A. Elbashir<sup>27</sup> ont réalisé un docking moléculaire de l'inclusion du BF dans les cavités de  $\alpha$ -CD et  $\beta$ -CD à l'aide du logiciel Autodock 4.2<sup>27</sup>.

Les résultats des énergies d'interaction du BF avec  $\alpha$ -CD et  $\beta$ -CD obtenu par la méthode semi-empirique PM6 prouve la formation de complexes stables entre R- et S-BF avec ces cyclodextrines.

L'examen des géométries (Voir Annexes 3-a et 3-b) des complexes à base de  $\beta$ -CD, montre que les molécules invitées adoptent des géométries similaires à celles dans les cavités

---

<sup>26</sup> a) C.A. Ventura, I. Giannone, D. Paolino, V. Pistarà, A. Corsaro, G. Puglisi, *J. Med. Chem.*, **2005**, *40*, 624; b) L. Ribeiro, R.A. Carvalho, D.C. Ferreira, F.J.B. Veiga, *J. Pharm. Sci.*, **2005**, *24*.

<sup>27</sup> G.M. Morris, D.S. Goodsell, R.S. Halliday, R. Huey, W.E. Hart, R.K. Belew, A.J. Olson. *Autodock 4.2*, The Scripps Research Institute, La Jolla, CA, USA. **2009**.

des  $\alpha$ -CD. Il ressort clairement que les complexes d'inclusion de S-BF- $\beta$ -CD sont plus stables que les complexes d'inclusion R-BF- $\beta$ -CD par une différence d'énergie de 46,8 kJ.mol<sup>-1</sup>. Ce résultat indique aussi que la  $\beta$ -CD est un excellent sélecteur chiral capable de séparer les énantiomères du BF. Ce résultat est en accord avec les résultats expérimentaux obtenus par l'électrophorèse capillaire.

## V. METHODES DE SYNTHÈSE

### A. Synthèses énantiosélectives du BF :

#### 1. Synthèse chimio-enzymatique du BF

Un des premiers travaux de synthèse énantiosélective du BF a été réalisé en 1994 par R.Chênevert *et col.*,<sup>28</sup> dérivant deux synthèses chimio-enzymatiques des énantiomères du BF basées sur une distinction des groupements ester éantiotopiques, dans des composés comportant un centre prochiral. Dans la première approche, l'étape-clé est une hydrolyse stéréosélective d'un seul groupe ester (**4**) par la chymotrypsine en milieu aqueux, tandis que le deuxième ester est transformé en deux étapes en un groupe amine, donnant ainsi l'énantiomère cible du BF avec un rendement de 36%.

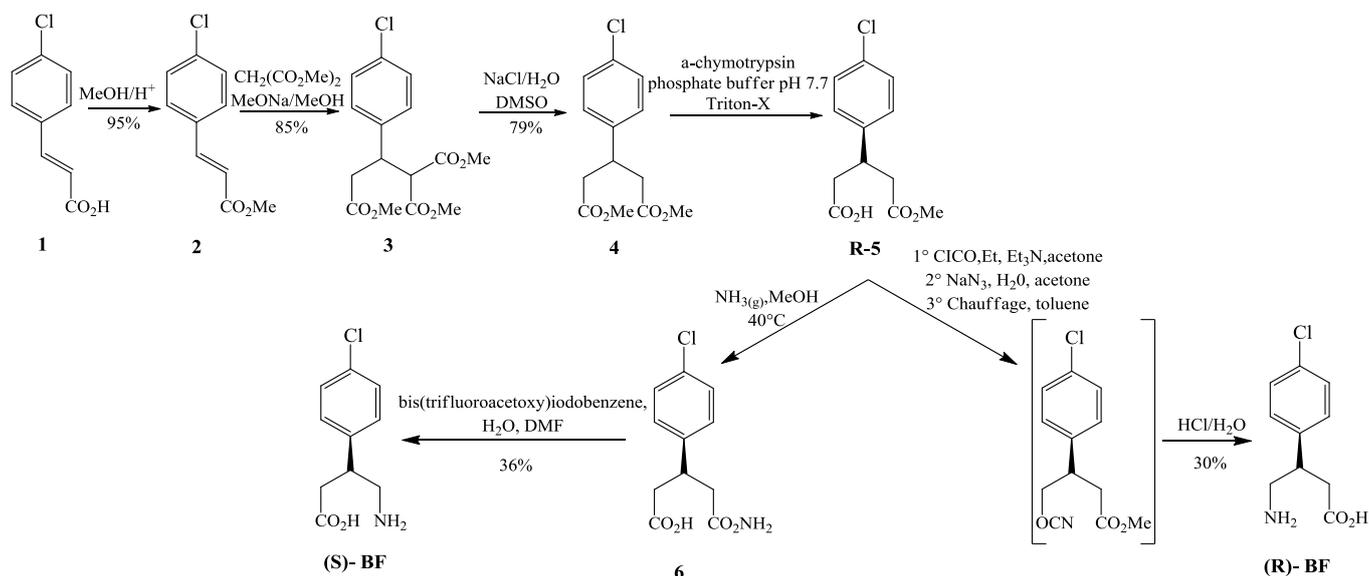


Schéma 1: Synthèse chimio-enzymatique du (R)-BF (première méthode).

Dans la seconde approche, l'étape-clé est une acétylation enzymatique du (**10**) par l'anhydride acétique en présence d'une lipase en milieu organique, ce qui laisse par la suite, le deuxième hydroxyle libre pour une mésylation. Le mésylate est substitué par le cyanure (**13**), qui donnera à la fin le motif du groupe acide carboxylique, au produit cible.

<sup>28</sup> R. Chênevert, M. Desjardins, *Can. J. Chem.*, **1994**, 72, 2312.

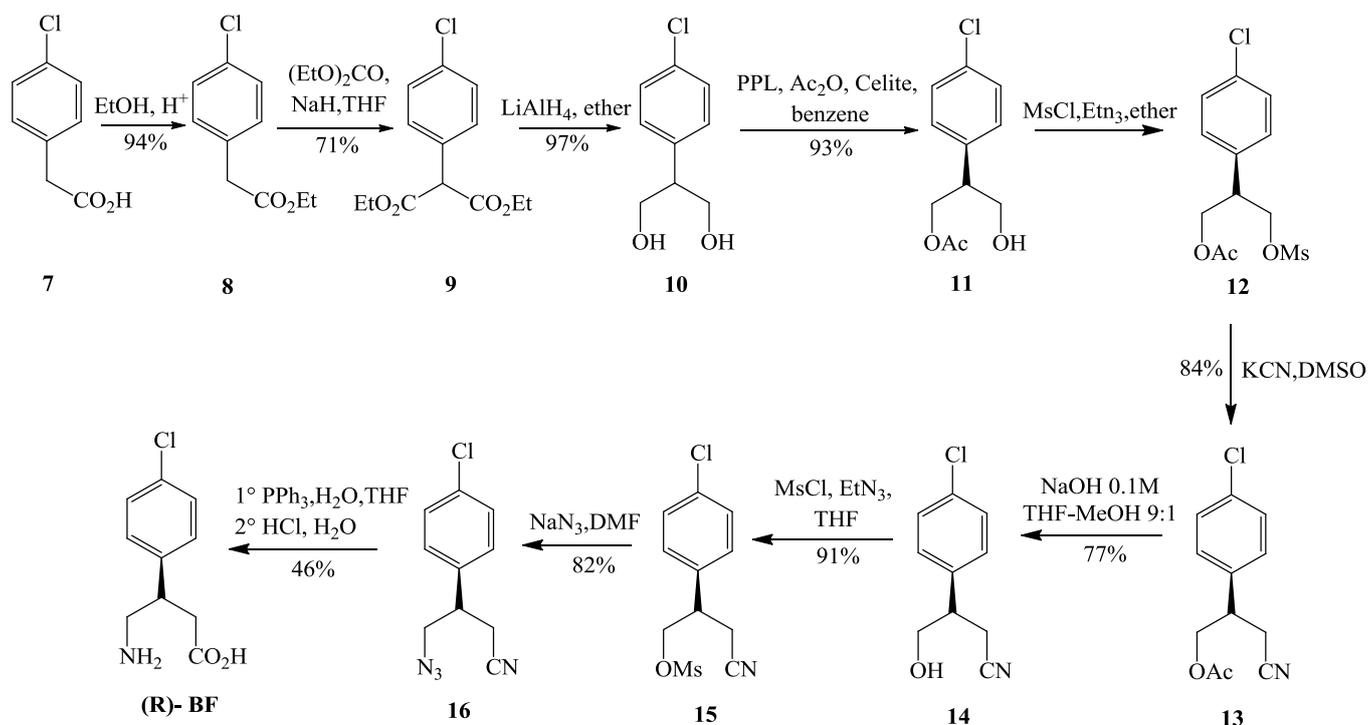


Schéma 2: Synthèse chimio-enzymatique du (R)-BF (deuxième méthode).

## 2. Synthèse énantiosélective du BF

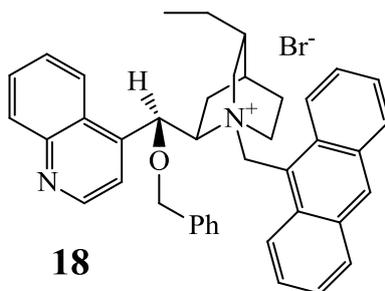


Figure 8 : Catalyseur utilisé dans la réaction d'addition Michael du nitrométhane sur l' $\alpha$ ,  $\beta$ -énone.

Avec ce type de catalyseurs, des énantiosélectivités de plus de 20: 1 ont été obtenues dans de nombreuses additions de Michael<sup>29</sup>. Ces catalyseurs chiraux peuvent également être utilisés pour contrôler la diastéréosélectivité.

En 2000, *E.J. Corey et col.*,<sup>30</sup> ont décrit une nouvelle réaction énantiosélective d'addition de Michael de nitrométhane sur les  $\alpha$ ,  $\beta$ -énone pour former des  $\gamma$ -nitrocétones chirales. C'est une démonstration d'une voie de synthèse du R-BF (qui est un acide  $\gamma$ -amino) par l'intermédiaire de la  $\gamma$ -lactame correspondante.

<sup>29</sup> F.Y. Zhang, E.J. Corey, *J. Org. Lett.* **2000**, 2, 1097.

<sup>30</sup> E.J. Corey, F.Y. Zhang, *J. Am. Chem. Soc.*, **2000**, 2, 4257.

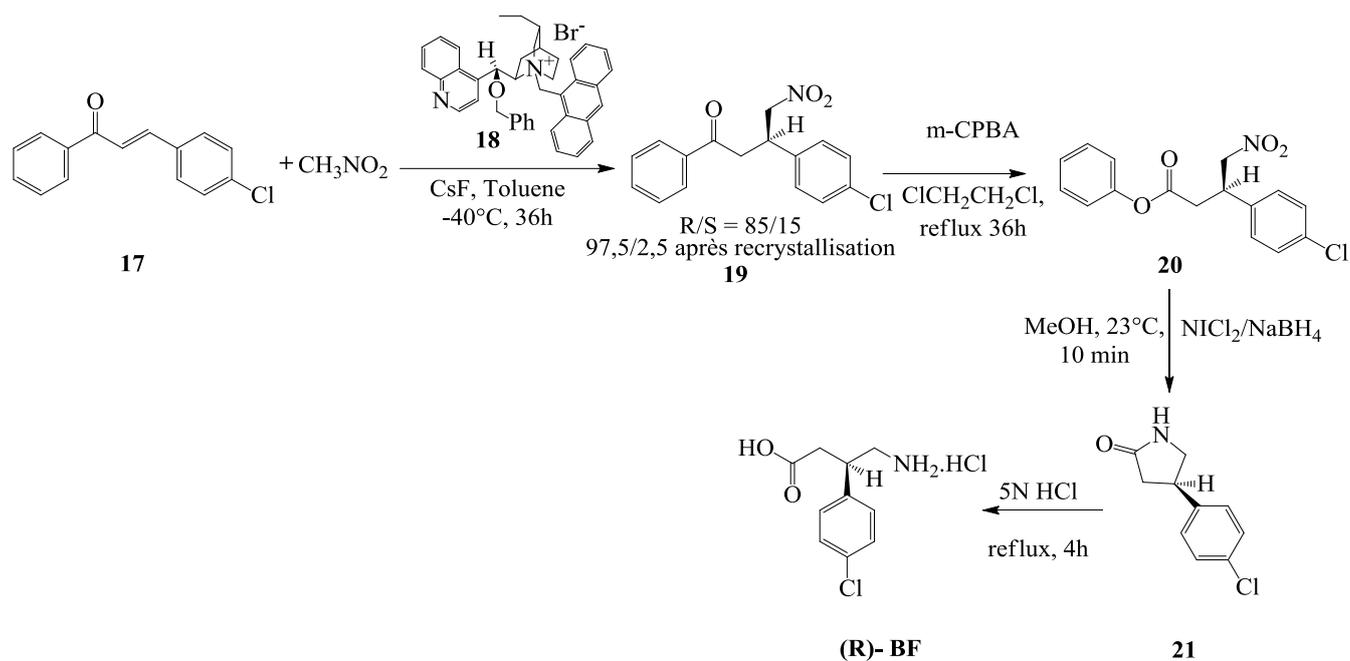


Schéma 3 : Synthèse énantiosélective du (R)-BF.

### 3. Synthèse énantiosélective catalysée du BF par alkylation allylique asymétrique

Cette méthode<sup>31</sup> a été apportée par *O.Belda et col.* en 2003. Ils ont décrit la synthèse d'une série de pyridyl-amides monosubstitués. Ces ligands sont utiles pour les réactions d'alkylation allylique, catalysées par du molybdène activé par micro-ondes. Les ligands ont été évalués dans la réaction et donnent le produit avec des rendements élevés et avec une grande régio et énantiosélectivité. Le ligand hétérogène peut facilement être récupéré et réutilisé plusieurs fois, sans perte significative dans le résultat de la réaction.

Une courte synthèse énantiosélective du R-BF a été réalisée en utilisant la réaction d'alkylation allylique comme étape clé.

<sup>31</sup> O.Belda, S.Lundgren, C.Moberg, *J. Am. Chem. Soc.*, **2003**, *5*, 2275.

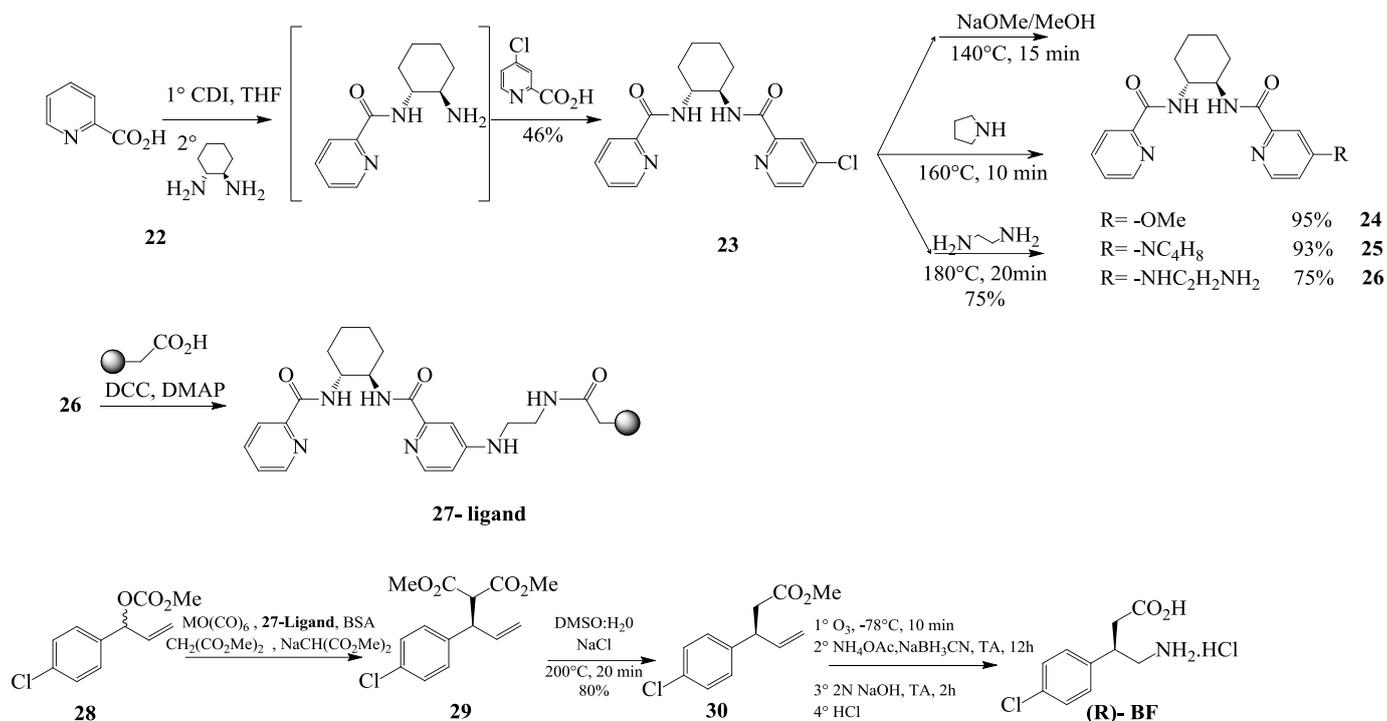


Schéma 4: Synthèse énantiosélective du (R)-BF par alkylation allylique asymétrique.

#### 4. Synthèse asymétrique des $\gamma$ -lactames $\beta$ -substituées, et application à la synthèse du R-BF

Une addition asymétrique d'acides aryl-boroniques aux  $\gamma$ -lactames  $\alpha, \beta$ -insaturés, catalysée par un complexe rhodium-diène a été développée par Cheng Shao *et col.*<sup>32</sup> La puissance de cette méthodologie est démontrée par la synthèse concise du R-BF.

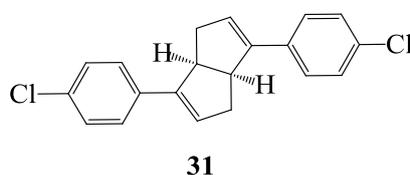


Figure 9: Diène chirale utilisée dans la réaction d'addition.

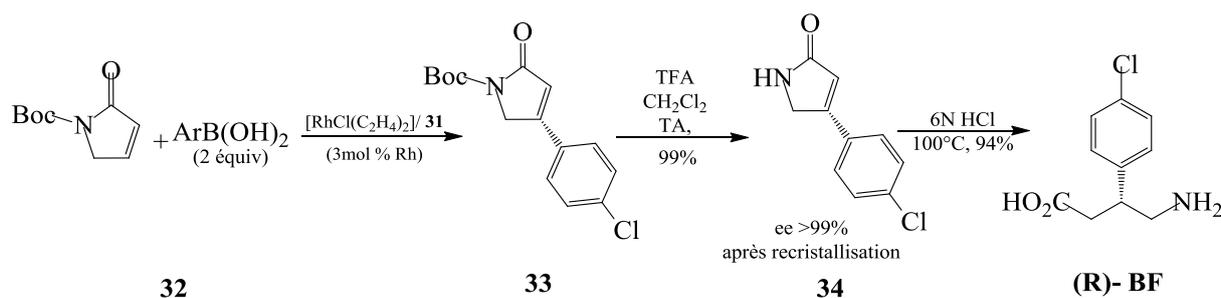


Schéma 5: Synthèse énantiosélective du (R)-BF, via l'ouverture des  $\gamma$ -lactames  $\alpha, \beta$ -insaturés.

<sup>32</sup> C. Shao, H.-J. Yu, N.-Y. Wu, P. Tian, R. Wang, C.-G. Feng, G.-Q. Lin, *J. Am. Chem. Soc.*, **2011**, *13*, 788.

## 5. Synthèse catalysée du R-BF par alkylation allylique :

L'alkylation allylique asymétrique du nitrométhane, avec des substrats allyliques monosubstitués catalysée par du palladium, a été réalisée pour la première fois par *Xiao-Fei Yang et col.*,<sup>33</sup> pour fournir les produits correspondants avec des rendements élevés et avec une grande régio et énantiosélectivité. Le protocole a été appliqué à la synthèse énantiosélective du R-BF et du R-Rolipram®

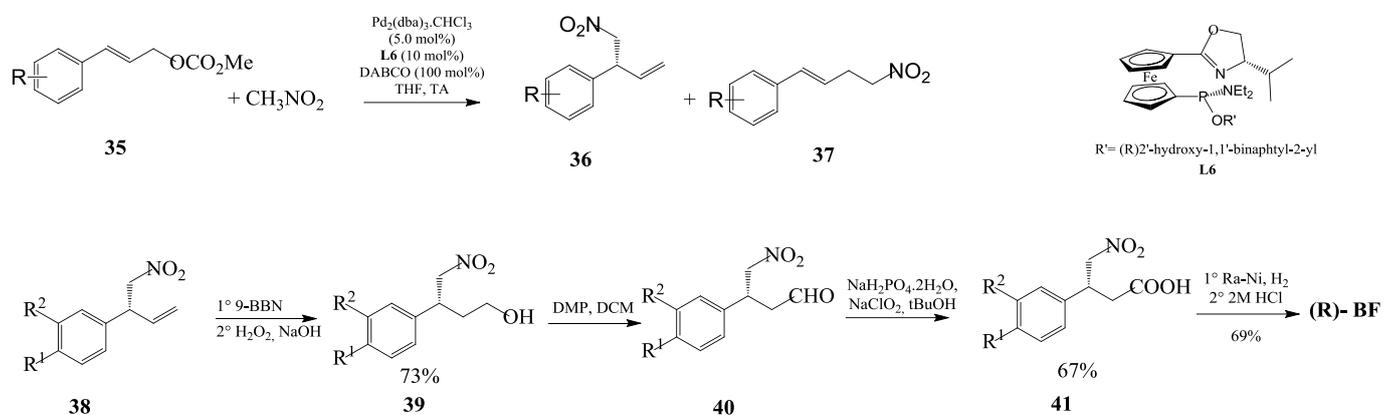


Schéma 6: Synthèse catalysée du (R)-BF.

## B. Synthèse d'analogues du BF :

### 1. Modification au niveau de la longueur de la chaîne aliphatique :

*R.Karla et col.*,<sup>34</sup> se sont intéressés aux agonistes partiels des récepteurs GABA, possédant un intérêt thérapeutique important, notamment comme médicaments destinés à la régulation des dysfonctionnements des récepteurs GABA.

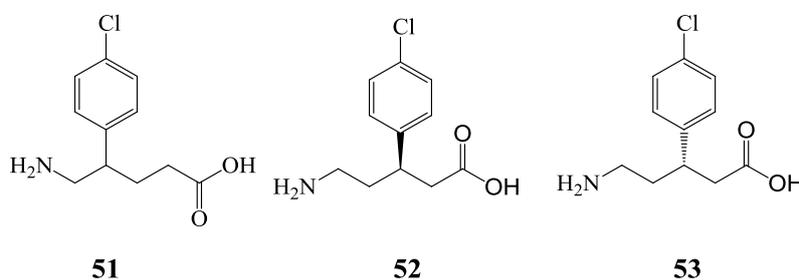


Figure 10: Structure des analogues 51, 52 et 53 du BF.

La méthode de synthèse des analogues (**51**), (**52**) et (**53**), s'effectue essentiellement sur la modification de la chaîne aliphatique, à savoir le nombre de carbone et la position de la jonction du groupe aromatique.

<sup>33</sup> X-F. Yang, C-H. Ding, X-H. Li, J-Q. Huang, X. Hou, L. Dai, P-J. Wang, *J. Org. Chem.* **2012**, *77*, 8980.

<sup>34</sup> R. Karla, B. Ebert, C. Thorkildsen, C. Herdeis, T.N. Johansen, B. Nielsen, P. K-Larsen. *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 2053.

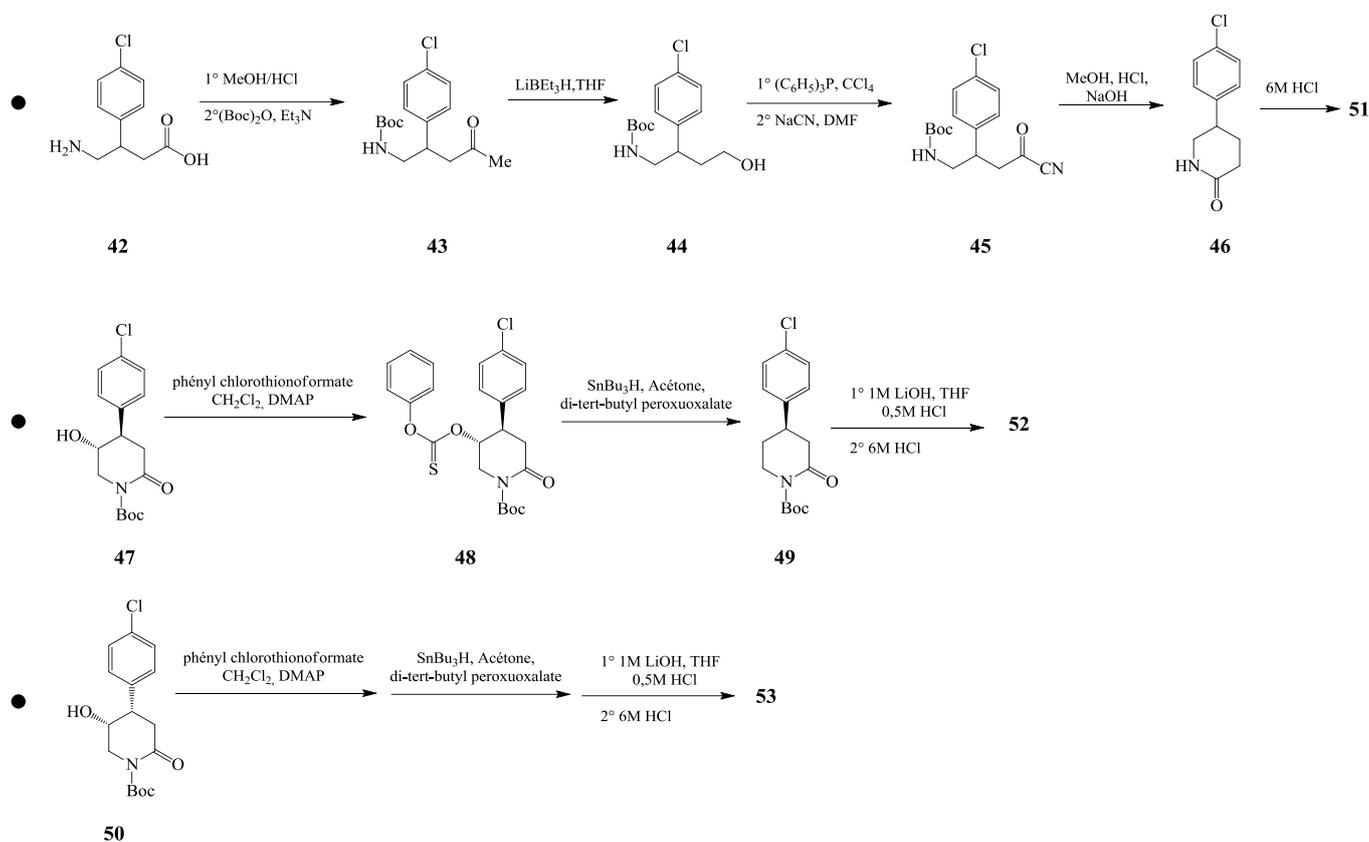


Schéma 7: Synthèse des analogues 51, 52 et 53 du BF.

Les puretés énantiomériques de (**52**) (ee = 99,8%) et (**53**) (ee = 99,3%) ont été déterminées par HPLC chirale. Le composé (**51**) n'a pas montré d'affinité détectable pour les sites récepteurs du GABA et était inactif au niveau des récepteurs GABA<sub>B</sub>.

D'après leur étude de l'interaction analogue-récepteur, ni (**52**) ni (**53**) n'ont montré d'affinité significative pour le GABA<sub>A</sub>, tout comme les énantiomères du BF, et en accord avec le (*S*)-BF, (**53**) interagit faiblement avec le GABA<sub>B</sub>. D'un autre côté, l'énantiomère (*R*) (**52**) s'est révélé être inhibiteur du récepteur GABA<sub>B</sub> (IC<sub>50</sub> = 7,4 ± 0,6 μM), par environ 50 fois moins que le (*R*)-BF (IC<sub>50</sub> = 0,14 ± 0,01 μM).

## 2. Modification par suppression de la fonction carboxylique et du groupe aromatique du BF:

De leur côté, C. Alstermark et col<sup>35</sup>., ont découvert que le BF, agoniste du récepteur GABA<sub>B</sub>, inhibait les relaxations transitoires du sphincter gastro-œsophagien (RTSGO). Ainsi, les agonistes du GABA<sub>B</sub> pouvaient être exploitées pour le traitement de cette maladie. Cette découverte leur a permis de sélectionner après la synthèse d'une série (**R** et **S 57, 60, 67, 68** et **R** et **S 74**) d'analogues du BF, le **R-67** comme un candidat médicament, destiné aux essais

<sup>35</sup> C. Alstermark, J. Gottfries, K. Nilsson, K. Amin, P.R. Guzzo, G. Sundén, S.R. Dinn, J.P. Harding, M. Swanson, T. Elebring, A. Holmén, O. Fjellström, M. Kothare, S. Von Unge, K.Fitzpatrick, A. Lehmann, A.M. Woo, M.J. Wyle, W.B. Geiss, J.P. Mattsson, X. Zheng, *J. Med. Chem.*, **2008**, *51*, 4315.



Cette synthèse a débuté par une diazotation du (**78**), suivie d'une estérification de (**79**) pour aboutir à un diester. Ce dernier subit une mono-saponification, et donne le composé (**81**) qui donne à son tour l'alcool (**82**) par une réduction sélective de sa fonction carboxylique. La fonction alcool subit une bromation, puis la fonction bromo fut transformée en azide (**83**). Le composé (**85**) est ensuite réduit par hydrogénation catalytique, il en résulte l'analogue (**75**) avec un rendement de 75%.

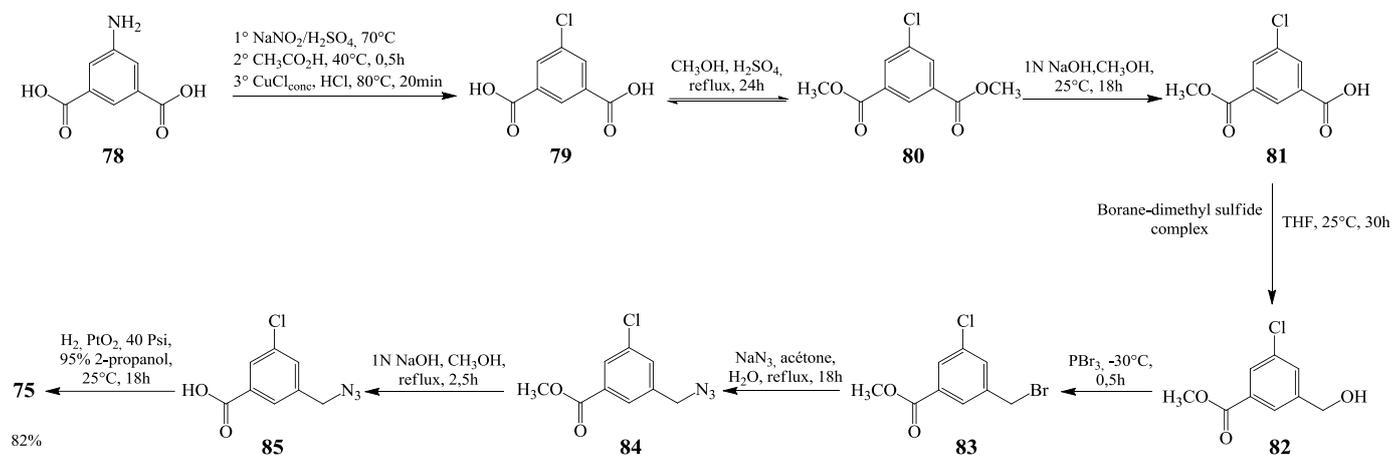


Schéma 9: Schéma synthétique du composé cible 75.

Le passage du para-iodo benzaldéhyde (**86**) au composé éthylénique (**87**) se fait par la réaction de Wittig<sup>37</sup>, puis c'est une réaction de condensation avec le nitrométhane qui se fait sur ce dernier pour donner le nitro-éster (**88**). Ce dernier, subit une réduction sélective de la fonction nitro, pour donner la lactame (**89**) avec un rendement de 65%. Ce dernier est le composé clé qui permettrait de synthétiser les analogues cibles (**76**) et (**77**). L'azote de la fonction amide de (**89**) fut protégé par le groupement Boc, et il en résulte le cycle lactamique (**90**).

L'analogue (**76**) a été obtenu par ouverture du cycle lactamique (**90**), puis déprotection de la fonction N-Boc par l'acide chlorhydrique. L'analogue (**77**) quant à lui, a été obtenu avec un rendement de 87%, par addition du TMSA sur (**90**), ce dernier a subi un clivage du groupe TMS et l'ouverture du cycle lactamique.

<sup>37</sup> G. Wittig, G. Geissler, *Liebigs Ann. Chem.*, **1953**, *44*, 580.

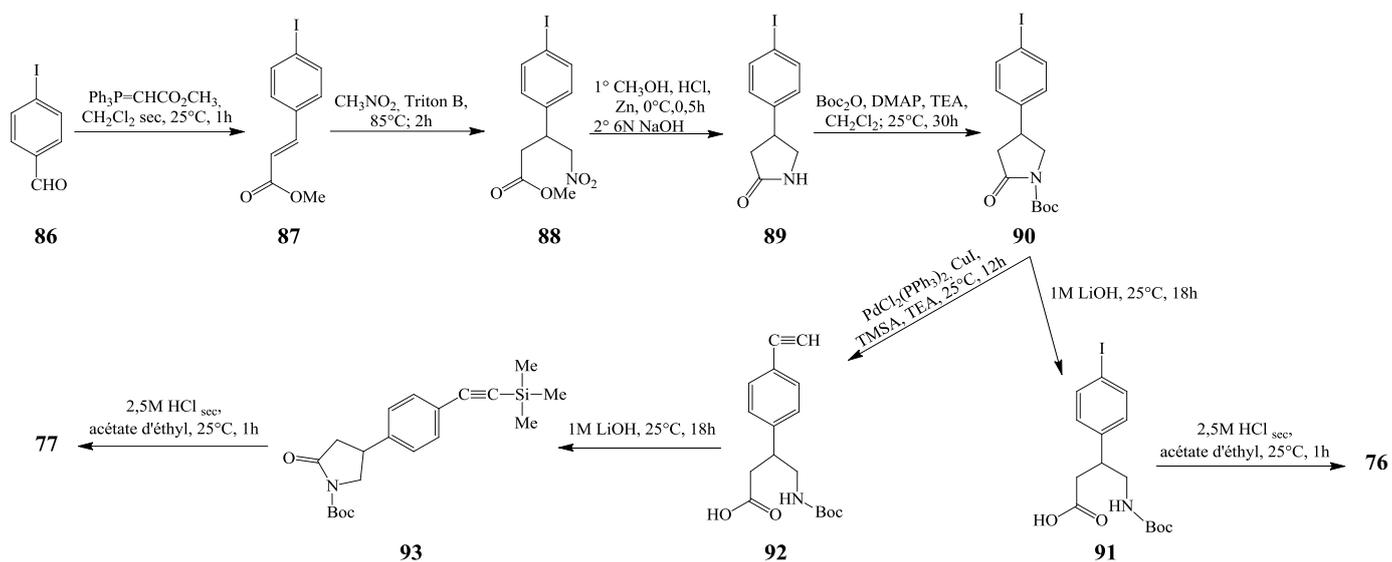


Schéma 10: Schéma synthétique des analogues 76 et 77 du BF.

Les résultats des tests pharmacologiques, ont montré que l'inclusion du fragment chlorophényl dans le squelette du DAVA a donné le composé (**75**) qui était dépourvu de deux activités agonistes et antagonistes sur les récepteurs GABA<sub>B</sub>. Le remplacement du substituant para chloro du BF avec le groupe éthyne conduit au composé (**77**), qui présentait une activité agoniste du récepteur GABA<sub>B</sub> avec EC<sub>50</sub> = 240 μM. L'analogue iodo du BF, le composé (**76**), est apparu comme étant le meilleur agoniste du récepteur GABA<sub>B</sub> parmi les analogues synthétisés avec EC<sub>50</sub> = 32 μM.

## CONCLUSION

Le BF est d'une importance capitale : Il est largement utilisé cliniquement dans le traitement des spasticités<sup>38</sup>, sevrage alcoolique et anti-addiction à certaines drogues<sup>39</sup>, reflux gastro-œsophagien<sup>40</sup>, douleurs tumorales<sup>41</sup> et la maladie de la vessie hyperactive<sup>42</sup>. Mais, le fait qu'uniquement l'un de ses deux énantiomères est actif sur les récepteurs GABA<sub>B</sub>, ne fait pas du BF le médicament miracle.

Heureusement, et grâce à la synthèse organique, de nombreux analogues du BF sont synthétisés, et des études sont en cours, dans le but d'aboutir sur une molécule aussi sélective vis-à-vis des récepteurs GABA<sub>B</sub> que le (*R*)-BF, mais aussi avec une biodisponibilité améliorée et un ciblage meilleur.

---

<sup>38</sup> R. N. Brogden, T. M. Speight, G. S. Avery. *Drugs*, **1974**, 8, 1.

<sup>39</sup> R. J. Tayacke, A. Lingford-Hughes, L. J. Reed, D. J. Nutt. *Pharmacol.*, **2010**, 58, 373.

<sup>40</sup> I. Lidums, A. Lehmann, H. Checklin, J. Dent, R. H. Holloway, *Gastroenterology*, **2000**, 118, 7.

<sup>41</sup> K. Yomiya, N. Matsuo, S. Tomiyasu, T. Yoshimoto, T. Tamaki, T. Suzuki, M. Matoba, *J. Hosp. Palliat. Med.*, **2009**, 26, 112.

<sup>42</sup> M.C. Taylor, C.P. Bates, *J. Urol.*, **1979**, 51, 504.

## Chapitre 2 : Présentation générale des cyclodextrines

### INTRODUCTION

Les CDs sont des oligosaccharides cycliques. Elles ont la capacité de former des complexes d'inclusion avec une molécule invitée. Largement employées dans l'industrie pharmaceutique, pour améliorer les propriétés physicochimiques et pharmacologiques de la molécule hôte au sein du complexe, les CDs peuvent notamment favoriser la diffusion de la molécule complexée à travers les barrières biologiques.

### I. STRUCTURE ET PROPRIETES :

Les CDs sont des oligosaccharides cycliques provenant de la dégradation enzymatique de l'amidon<sup>43</sup>. Les trois CDs naturelles les plus courantes se composent de 6, 7 ou 8 unités de  $\alpha$ -D-glucopyranose en configuration chaise reliées entre elles par des liaisons  $\alpha$ -1,4. Elles sont dénommées respectivement  $\alpha$ -,  $\beta$ - ou  $\gamma$ -CD<sup>44</sup>.

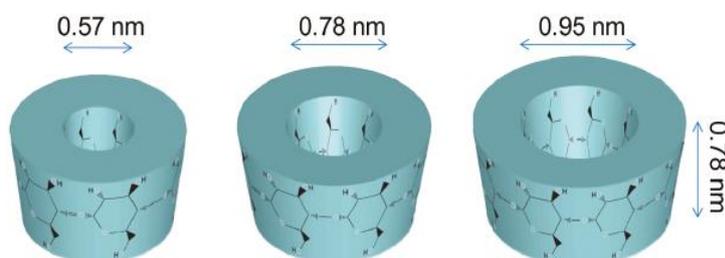


Figure 11: Structure tridimensionnelles des cyclodextrines naturelles  $\alpha$ -, $\beta$ - et  $\gamma$ -CD de gauche à droite<sup>45</sup>.

Leur structure en trois dimensions apparaît sous la forme d'un cône tronqué à l'extérieur duquel se trouvent les groupements hydroxyles. La partie extérieure est donc hautement hydrophile. Les hydroxyles secondaires portés par les carbones C<sub>2</sub> et C<sub>3</sub> se situent sur le côté le plus large du cône appelé face secondaire, tandis que les hydroxyles primaires en C<sub>6</sub> se trouvent du côté le plus étroit (face primaire). La libre rotation des hydroxyles primaires diminue le diamètre effectif de la cavité du côté où ils se trouvent alors que les hydroxyles secondaires sont en position plus figée<sup>46</sup>. L'intérieur de la cavité est constituée par des atomes

<sup>43</sup> N. Yui, *Supramolecular Design for Biological Applications*, CRC, Boca Raton FL, **2002**, 1, p.401.

<sup>44</sup> J. Szejtli. *Cyclodextrin Technology*. Davies, J.E.D (Ed.), Kluwer Academic Publisher, Dordrecht. **1988**, 1, p.454.

<sup>45</sup> F.Kayaci, T.Uyar. *J. Agric.Food.Chem*, **2011**, 59, 1772.

<sup>46</sup> K.H. Frömring, J. Szejtli. *Cyclodextrins in Pharmacy*. Davies, J.E.D. (Ed.), Kluwer Academic Publishers, Dordrecht. **1994**.

d'hydrogène portés par les carbones C3 et C5 ainsi que par les atomes d'oxygène participant à la liaison glycosidique ce qui lui confère un caractère apolaire<sup>47</sup>.

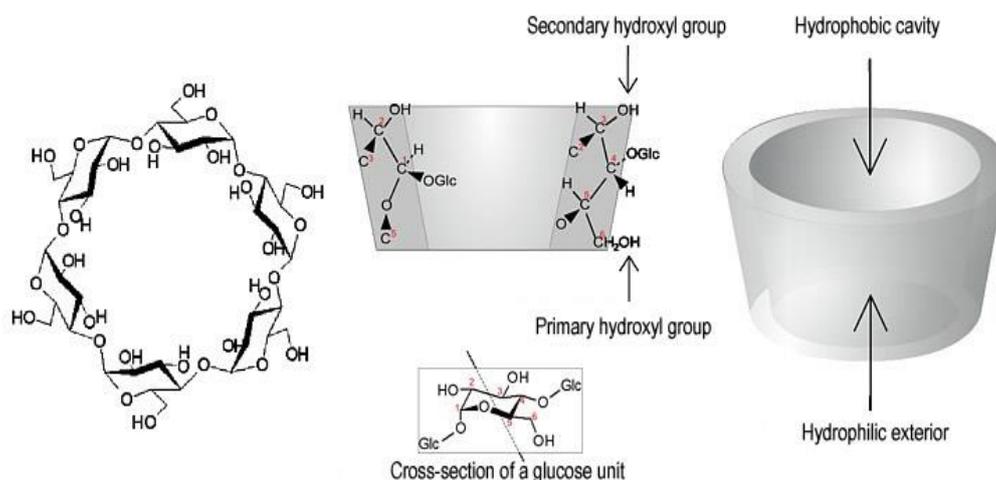


Figure 12: Représentation tridimensionnelle d'une CD native<sup>48</sup>

Le diamètre de la cavité et la masse moléculaire augmentent avec le nombre d'unités glucopyranose constitutives. Bien que toutes les CDs soient solubles en milieu aqueux, leur solubilité dans l'eau augmente dans le sens :  $\beta$ - <  $\alpha$ - <  $\gamma$ -CD. Les CDs se trouvent sous forme hydratée à l'état solide. La teneur en eau à l'équilibre dépend des conditions de cristallisation et de la nature de la CD.

Tableau 1 : Caractéristiques des CDs les plus courantes<sup>49</sup>.

	$\alpha$ -cyclodextrine	$\beta$ -cyclodextrine	$\gamma$ -cyclodextrine
Nombre d'unités glycosidiques	6	7	8
Masse molaire (g/mol)	972	1135	1297
Solubilité dans l'eau (g/L)	145	18.5	232
Diamètre de la cavité (Å)	4.7-5.3	6.0-6.5	7.5-8.3
Hauteur du cône (Å)	7.9±0.1	7.9±0.1	7.9±0.1
Diamètre extérieur (Å)	14.6±0.4	15.4±0.4	17.5±0.4
Volume de la cavité (Å <sup>3</sup> )	174	262	427
Molécules formant des complexes d'inclusion avec la cyclodextrine.	Petites molécules hydrocarbures linéaires	Cycles benzéniques, adamantanes....	Polycycles aromatiques

<sup>47</sup> D. Armspach, G. Gattuso; R. Königer, *Oxford University Press, Oxford*, Hecht, S.M. (Ed.). **1999**, p.458.

<sup>48</sup> E.M.M. Del Valle, *Process Biochemistry*, **2004**, 39, 1033.

<sup>49</sup> R.Challa, A. Ahuja, J. Ali, R.K. Khar, *APPS Pharmscitech*, **2005**, 6, E329.

## II. METHODES DE SYNTHESE :

L'enzyme CD glucosyl transférase (CGT-ase) est produite par un grand nombre de micro-organismes. Le génie génétique a fourni des enzymes plus actives, et probablement, à l'avenir, la plupart de ces enzymes seront utilisées pour la production industrielle des CDs.

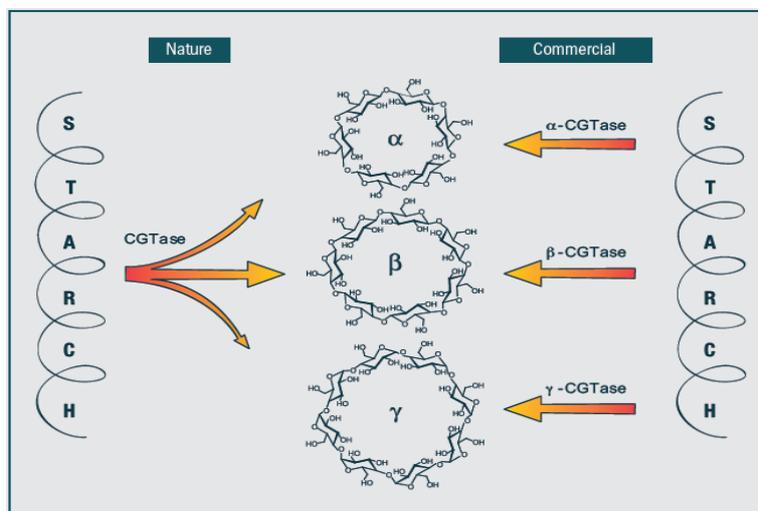


Figure 13 : Représentation schématique de la production des cyclodextrines<sup>50</sup>.

La première étape dans la production des CDs, est la liquéfaction de l'amidon à température élevée. L'amidon pré-hydrolysé ne doit pas contenir de glucose ou d'oligosaccharides de faible poids moléculaire, car ils réduisent fortement le rendement des CDs formées. Après refroidissement jusqu'à température optimale, l'enzyme CGT-ase est ajoutée à la solution d'amidon. Dans la technologie dite «sans-solvant», les  $\alpha$ -,  $\beta$ -, et  $\gamma$ -CD formées doivent être séparés du mélange partiellement hydrolysé. Dans le cas de l'utilisation d'un solvant, un agent formant un complexe approprié est ajouté au mélange :

- Si le toluène est ajouté à ce système, le complexe formé (toluène\_  $\beta$ -CD) est séparé immédiatement, et la réaction est décalée vers la formation des  $\beta$ -CD.
- Si le décanol est ajouté au mélange, l' $\alpha$ -CD sera principalement produite.
- Dans le cas du cyclohexadécénol, le produit principal est la  $\gamma$ -CD.

Divers autres agents complexants peuvent être utilisés. Le choix dépend du prix, de la toxicité, et de l'explosivité, mais surtout de l'efficacité de l'élimination des solvants à partir du produit final cristallin.

Les complexes insolubles sont séparés du mélange par filtration. L'élimination des solvants du complexe filtré et lavé, est généralement réalisée après la mise en suspension dans

<sup>50</sup> A. Keniche, Synthèse de nouveaux analogues cyclodextrine-aziridine, Université de Tlemcen, 2014, p.10.

de l'eau par distillation ou extraction. La solution aqueuse obtenue après élimination du solvant complexant est traitée avec du charbon actif (à bien comprendre) et filtrée. Les CDs sont ensuite séparées à partir de cette solution, par cristallisation et filtration. La pureté des CDs produites industriellement est généralement supérieure à 99%<sup>51</sup>.

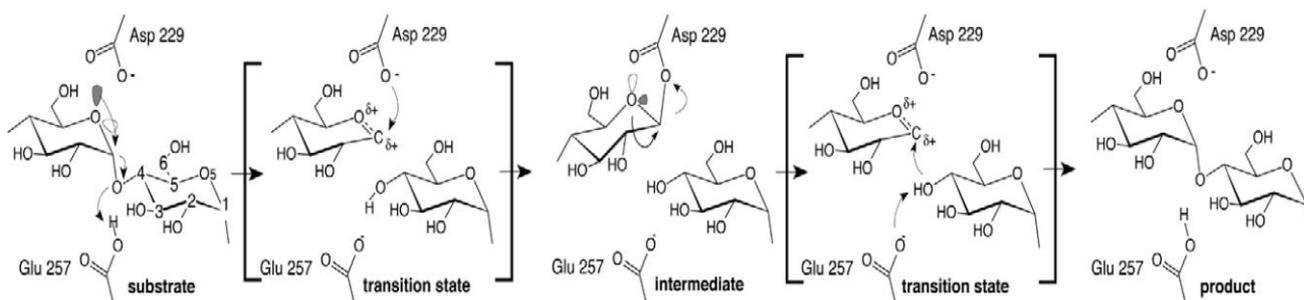


Figure 14: Mécanisme de réaction de l'enzyme CGT-ase à la formation des CD<sup>52</sup>.

### III. COMPLEXES D'INCLUSION

#### A. Principe:

Étant donné leur structure particulière et la dualité de leur polarité, les CDs sont capables d'augmenter la solubilité aqueuse de composés, en formant des complexes d'inclusion. Possédant une cavité plutôt hydrophobe, elles peuvent encapsuler des substances ou des parties de molécules à caractère lipophile<sup>53</sup>. Des complexes de stœchiométries diverses peuvent être formés :

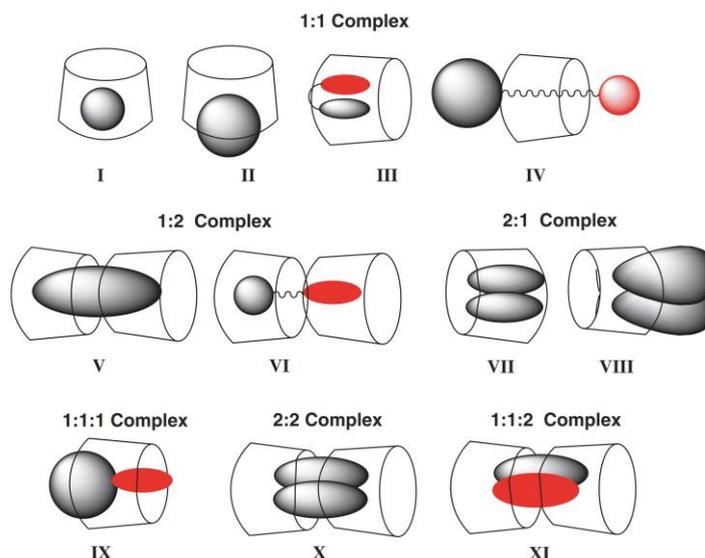


Figure 15 : Représentation schématique des différents types de complexes d'inclusion des CD<sup>54</sup>.

<sup>51</sup> J. Szejtli, *Chem Rev.*, **1998**, 98, 1743.

<sup>52</sup> J. Uitdehaag, B.A. van der Veen, L. Dijkhuizen, B.W. Dijkstra, *Enzyme and Microbial Technology*, **2002**, 30, 295.

<sup>53</sup> M.E. Brewster, T. Loftsson. *Advanced Drug Delivery Reviews*, **2007**, 59, 645.

<sup>54</sup> J.W. Park, *Cyclodextrin Materials Photochemistry, Photophysics and Photobiology*. Elsevier. **2006**, 4, 79.

On parle de complexe 1:1 lorsqu'une molécule invitée interagit avec une molécule de CD. Un complexe 1:2 voire 1:3 est formé si la molécule invitée, est de grande taille et si plusieurs molécules de CD peuvent interagir avec elle. Par contre, un rapport 2:1 est obtenu dans le cas où la cavité de la CD est suffisamment spacieuse pour accueillir deux molécules. La taille de la cavité et de la molécule invitée jouent donc un rôle important dans le processus de complexation. Il est à noter, qu'aucune liaison covalente n'est formée au cours de la complexation. La principale force provoquant la formation des complexes est la stabilisation énergétique du système par le remplacement dans la cavité, des molécules d'eau à haute enthalpie par des molécules hydrophobes qui créent des associations apolaires-apolaires<sup>55</sup>.

## **B. Méthodes de complexation :**

Plusieurs techniques sont utilisées pour former des complexes d'inclusion à base de CD, on expliquera ci-dessous certaines de ces techniques :

### **1. Co-précipitation :**

Cette méthode est la plus utilisée dans le laboratoire. Elle est basée, sur La dissolution complète de la CD dans l'eau, ensuite la molécule invitée est ajoutée, tout en agitant la solution de la molécule hôte. Dans le cas de la  $\beta$ -CD, la concentration peut être augmentée (environ 20%), si la molécule invitée peut résister à des températures élevées. Si une concentration suffisamment forte est choisie, la solubilité du complexe d'inclusion formé sera excédée, tant que la réaction de complexation progresse ou que le refroidissement soit appliqué.

Dans de nombreux cas, la solution de CD et molécule invitée doit être refroidie en agitant avant la formation d'un précipité. Le précipité peut être recueilli par décantation, centrifugation ou filtration. Il peut être lavé avec une petite quantité d'eau ou un autre solvant miscible dans l'eau tel que l'alcool éthylique, le méthanol ou l'acétone. Le lavage au solvant peut être préjudiciable à certains complexes, il est alors préférable de le tester d'abord à petite échelle.

Le principal inconvénient de cette méthode réside dans la mise à l'échelle industrielle. En raison de la solubilité limitée de la CD, de grandes quantités d'eau doivent être utilisés. La capacité de la cavité, le temps, l'énergie de chauffage et de refroidissement peuvent devenir des facteurs importants de coûts. Le traitement et l'élimination du distillat obtenu après avoir

---

<sup>55</sup> E.M.M. Del Valle, *Process Biochemistry*, **2004**, 39, 1033.

recueilli le complexe, peut également être une préoccupation mais cela peut être diminué dans de nombreux cas en recyclant ce dernier<sup>56</sup>.

## **2. Complexation en phase liquide :**

Il n'est pas nécessaire de dissoudre complètement la CD pour former un complexe. La CD peut être ajoutée à l'eau avec agitation. La phase aqueuse sera saturée avec la CD en solution. Les molécules invitées formeront des complexes avec la CD en solution et, comme le complexe de CD sature la phase aqueuse, il cristallise ou précipite. Les cristaux de CD se dissolvent et continuent à saturer la phase aqueuse, afin de former le complexe. Ce dernier précipite ou cristallise hors de la phase aqueuse. Le temps nécessaire pour effectuer la complexation varie, et dépend de la molécule invitée. Des essais doivent être effectués pour déterminer le temps nécessaire.

En général, la suspension de complexes est obtenue à TA. Avec de nombreuses molécules invitées, un chauffage peut être appliquée, afin d'augmenter le taux de complexation, mais il doit être contrôlé car une haute température peut détruire le complexe, et la réaction de complexation peut ne pas s'achever complètement. Le principal avantage de ce procédé est la réduction de la quantité d'eau nécessaire et la taille du réacteur.

## **3. Complexation en pâte :**

C'est une variante du procédé de suspension. Seule une petite quantité d'eau est ajoutée pour former une pâte qui est mélangée avec la CD, en utilisant un mortier et un pilon, ou sur une grande échelle en utilisant un malaxeur. Le temps requis dépend de la molécule invitée. Le complexe résultant peut être séché directement ou lavé avec une petite quantité d'eau, et récupéré par filtration ou centrifugation. Les pâtes seront parfois séchées formant une masse dure au lieu d'une poudre fine. Cela dépend de la molécule invitée et de la quantité d'eau utilisée dans la pâte. En général, la masse dure peut être complètement séchée et broyée pour obtenir une forme de poudre du complexe.

## **4. Complexation par chauffage du mélange humide :**

Cette méthode utilise peu, ou pratiquement pas d'eau. La CD et la molécule invitée sont bien mélangés et placés dans un récipient hermétique, qui est fermé et chauffé à environ

---

<sup>56</sup> a) T. Loftsson, B.J. Ólafsdóttir, H. Fridriksdóttir, S. Jónsdóttir, *J Pharm Sci.*, **1993**, *1*, 95; b) J. Pitha, T. Hoshino, *J Pharm.*, **1992**, *80*, 243.

100°C, ensuite le contenu est retiré et séché. La quantité d'eau ajoutée, le degré de mélange et le temps de chauffage doivent être optimisés pour chaque molécule invitée.

### C. Stœchiométrie et constante de stabilité du complexe d'inclusion:

L'étude des propriétés physico-chimiques du complexe d'inclusion constitue une large partie de la chimie organique moderne. La première étape consiste à déterminer la stœchiométrie du complexe formé.

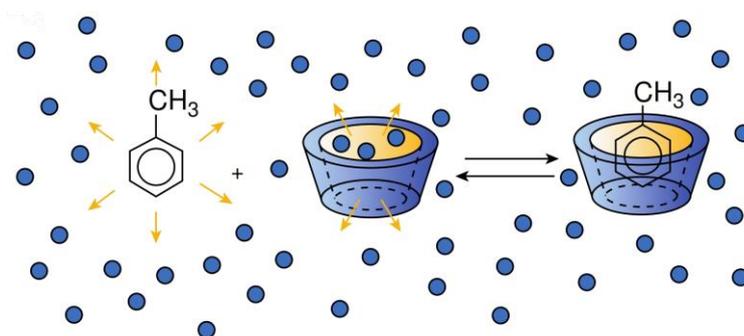


Figure 16 : Exemple de formation du complexe d'inclusion<sup>57</sup>.

#### 1. Détermination de la stœchiométrie :

La détermination de la stœchiométrie du complexe est réalisée avec des expériences de titration, appelées méthode des variations continues ou méthode de Job<sup>58</sup>. Cette technique est basée sur l'évolution d'une variable physico-chimique (déplacement chimique, coefficient de diffusion, absorbance...etc.) au cours d'une titration. Elle regroupe deux conditions :

- La concentration initiale des solutions mères utilisées doit être identique.
- Le volume du mélange des deux solutions doit rester constant.

Un rapport  $r$ , compris entre 0 et 1, est calculé pour chaque solution préparée :

$$r = \frac{[PA]}{([PA] + [CD])}$$

Avec : [PA] : Concentration en principe actif, [CD] : Concentration en CD,  $r$  : la fraction molaire de la molécule invitée ( $0 < r < 1$ ).

La stœchiométrie peut être déterminée en traçant la quantité  $P.[PA]$  en fonction du rapport  $r$ . Une courbe en cloche est alors obtenue et la valeur de  $r$  au maximum de la courbe donne la stœchiométrie du complexe.

<sup>57</sup> E. Bilensoy, *Cyclodextrins in Pharmaceuticals, Cosmetics, and Biomedicine*, John Wiley & Sons. 2011, p.28.

<sup>58</sup> P. Job. *Compt.Rend.Acad.Sci.Paris*. 1925, 180, 928.

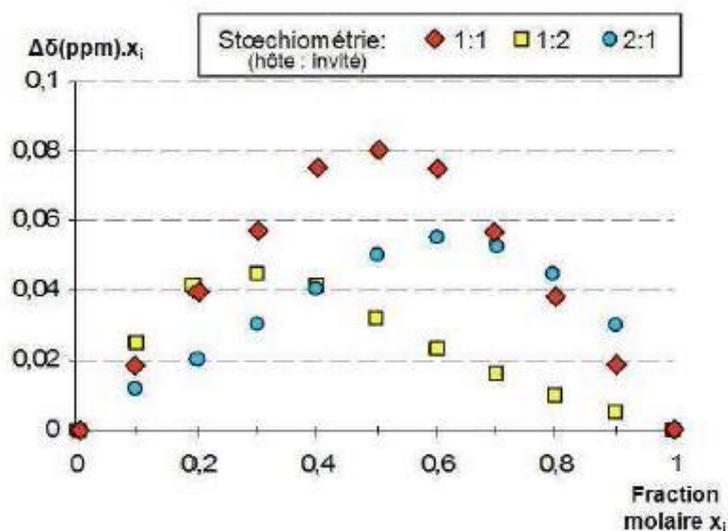


Figure 17 : Courbes qui correspondent aux différentes stœchiométries possibles du complexe d'inclusion.

## 2. Détermination de $K_a$ :

Après avoir déterminé la stœchiométrie du complexe, il faut évaluer la constante d'association (constante de stabilité) qui reflète la force d'interaction entre les deux espèces moléculaires (molécule invitée-molécule hôte) et permet de connaître la proportion de la molécule complexée.

La stabilité du complexe peut être exprimée par la constante de stabilité  $K_S$  ou la constante de dissociation  $K_{diss}$  :

$$K_S = 1 / K_{diss} = [\text{CD.I}] / [\text{CD}] [\text{I}]$$

Où : - CD représente la molécule hôte soit la CD,

- I la molécule invitée,
- $K_S$  est la constante de stabilité du complexe pour un rapport entre la CD et la molécule invitée I de 1:1<sup>59</sup>.
- $K_{diss}$  est la constante de dissociation du complexe CD-I

Un certain nombre d'études physico-chimiques décrites dans la littérature, pour déterminer la constante d'association reposent sur les techniques suivantes<sup>56</sup>: RMN, spectroscopie UV visible, électrophorèse capillaire, potentiométrie, fluorimétrie, solubilité, ...etc.

### a) Méthodes graphiques pour la détermination de $K_a$ :

Les méthodes graphiques (ou de linéarisation) sont conçues pour générer une relation linéaire entre la variation de la propriété observée ( $\delta_{obs}$ ) et  $K_a$ .

<sup>59</sup> H. Connors, *J. Pharm. Sci.*, **1995**, *84*, 843.

### (1) Méthode de Benesi-Hildebrand (Hanna-Ashbaugh):

La méthode développée par Benesi-Hildebrand<sup>60</sup> est l'une des approches les plus abordées. La caractéristique-clé de cette méthode, est que la concentration de la molécule invitée est maintenue constante tout en variant celle de la CD. La variable observable au cours de la titration est le déplacement chimique ( $\delta$ ) des protons de la molécule invitée. Cette approche permet de déterminer graphiquement  $K_a$  à condition que l'espèce non observée soit en large excès (au moins 10 fois plus) par rapport à l'espèce observée. Dans ces conditions, on établit la relation<sup>61</sup>, qui correspond à l'équation d'une droite de type :

$$1/\Delta\delta = 1/(K_a \Delta\delta_{\max} [C]_0) + 1/\Delta\delta_{\max}$$

$$\text{Avec : } \Delta\delta = (\delta_I - \delta_{\text{obs}}), \text{ et } \Delta\delta_{\max} = (\delta_I - \delta_{\text{CI}})$$

La pente et l'ordonnée à l'origine des droites obtenues, en portant  $1/\Delta\delta$  en fonction de  $1/[C]_t$  permettent d'atteindre les deux paramètres recherchés :  $\Delta\delta_{\text{CI}}$  et  $K_a$ . Toutefois, cette méthode reste restrictive quant aux conditions expérimentales. Seule l'exploitation des  $\delta$  présentant de larges variations lors du processus d'inclusion est retenue, la méthode devient donc imprécise pour de faibles variations de  $\delta$ .

De plus, elle n'est valable que pour des constantes d'association faibles et pour une gamme de concentrations en CD très restreinte. En effet, lorsque la valeur de la constante d'association devient importante, la pente de la droite diminue fortement et par conséquent, la précision de la détermination de  $K_a$  diminue<sup>62</sup>.

### (2) Méthode de Scatchard (Foster-Fyfe) :

Foster et Fyfe<sup>63</sup> ont proposé l'équation correspondante à la courbe x-réciproque, plus communément appelé courbe de Scatchard<sup>64</sup>:

$$\Delta\delta/[C]_0 = -K_a \Delta\delta + K_a \Delta\delta_{\max}$$

Dans ce procédé, le graphe qui représente  $\Delta\delta/[C]_0$  en fonction de  $\Delta\delta$  est une droite, la pente est égale à  $-K_a$ , et l'ordonnée à l'origine est  $\Delta\delta_{\max}$ . Contrairement à la méthode précédente, celle-ci requiert des concentrations de solutions infiniment diluées, d'autant que  $K_a$  ne dépend pas de l'extrapolation.

<sup>60</sup> H. A. Benesi, J. H. Hildebrand, *J. Am. Chem. Soc.*, **1949**, *71*, 2703.

<sup>61</sup> R. Mathur, E.D. Becker, R.B. Bradley, N.C. Li. *J. Phys. Chem.*, **1963**, *67*, 2190.

<sup>62</sup> L. Fielding, *Tetrahedron*, **2000**, *56*, 6151.

<sup>63</sup> R. Foster, C.A. Fyfe, *Trans. Faraday Soc.*, **1965**, *61*, 1626.

<sup>64</sup> G. Scatchard, *Ann. N.Y. Acad. Sc.*, **1949**, *51*, 660.

### (3) Méthode de Scott :

Les études RMN pour déterminer la constante d'association s'effectuent le plus souvent à partir des  $\delta$ . En effet, l'obtention de ce paramètre à partir d'un spectre RMN est rapide et précise. Dans le cas complexe, où l'on peut suivre les  $\delta$  des différents protons, et où ces variations sont importantes, la représentation graphique avec la courbe de Scott est la plus utilisée<sup>65</sup>.

$$\frac{[CD]_t}{\Delta\delta_{obs}} = \frac{[CD]_t}{\Delta\delta_c} + \frac{1}{K_a \cdot \Delta\delta_c}$$

### (4) Méthode de Rose-Drago :

Il existe une autre approche graphique pour la mesure de  $K_a$ , c'est la méthode de Rose-Drago<sup>66</sup>, qui est une solution graphique à l'équation reliant  $K_a$  et  $\Delta\delta$ .

$$(\Delta\delta_{max} - \Delta\delta)K_a = \Delta\delta\Delta\delta_{max} / (\Delta\delta_{max} [C]_0 + \Delta\delta[C]_0)$$

Un autre paramètre RMN peut être utilisé pour déterminer  $K_a$ , c'est le temps de relaxation longitudinale (T1). Mais cette méthode présente certains inconvénients du point de vue expérimental, parce qu'il faut dégazer le tube RMN avant la détermination de T1. En effet, la présence du dioxygène dans le milieu affecte le temps de relaxation. De plus, si le temps de relaxation est très faible, on ne peut pas l'utiliser pour déterminer  $K_a$  du complexe d'inclusion (cas des polymères de CD)<sup>67</sup>.

Le coefficient de diffusion (D), déterminé à partir de la séquence RMN DOSY<sup>68</sup>, est un paramètre utilisé pour évaluer  $K_a$  du complexe, en se basant sur la différence entre les coefficients de diffusion des molécules liées et non liées<sup>69</sup>. Dans le cas des CD et des molécules invitées, cette différence n'est pas aussi importante<sup>70</sup>.

### b) Méthode itérative pour la détermination de $K_a$ :

Une autre approche plus générale, consiste à utiliser les données expérimentales ( $\Delta\delta_{obs}$ ) acquises pour déterminer la stœchiométrie avec la méthode des variations continues, et

<sup>65</sup> R.L. Scott, *Rec. Trav. Chim.*, **1956**, 75, 787.

<sup>66</sup> N.J. Rose, R.S. Drago, *J. Am. Chem. Soc.*, **1959**, 81, 6138.

<sup>67</sup> a) J.P. Behr, J.M. Lehn, *J. Am. Chem. Soc.*, **1976**, 98, 1743; b) Y. Inoue, F.H. Kuan, R. Chu, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **1987**, 60, 2539; c) W.M. Mock, N.Y. Shih, *J. Am. Chem. Soc.*, **1989**, 111, 2697; d) G. Hilmersson, R. Rebek, *J. Magn. Reson. Chem.*, **1998**, 36, 663.

<sup>68</sup> a) K.F. Morris, C.S. Johnson, *J. Am. Chem. Soc.*, **1992**, 114, 3139; b) K.F. Morris, C.S. Johnson, *J. Am. Chem. Soc.*, **1993**, 115, 4291.

<sup>69</sup> K. Deaton, E. Feyen, H. Nkulabi, K. Morris, *Magn. Reson. Chem.*, **2001**, 39, 276.

<sup>70</sup> a) R. Wimmer, F.L. Aachmann, K.L. Larsen, S.B. Petersen, *Carb. Res.*, **2002**, 337, 841; b) M. Lin, D.A. Jayawickrama, R.A. Rose, J.A. Delviscio, C.K. Larive, *Anal. Chim. Acta*, **1995**, 307, 449; c) K.S. Cameron, L. Fedling, *Magn. Reson. Chem.*, **2002**, 40, 106; d) R. Wimmer, F.L. Aachmann, K.L. Larsen, S.B. Petersen, *Carbohydr. Res.*, **2002**, 337, 841.

à les traiter mathématiquement<sup>71</sup>. Les données expérimentales sont traitées mathématiquement à l'aide d'une méthode itérative afin d'accéder aux valeurs calculées des deux inconnues  $K_a$  et  $\Delta\delta c$ . Un programme permet d'effectuer cette opération dans le cas de complexes de stœchiométrie 1:1, utilisant comme « input » les déplacements chimique de chacun des protons des deux molécules formant le complexe et les concentrations des deux espèces.

### c) Diagrammes de solubilité :

Les diagrammes de solubilité ou isothermes de solubilité sont réalisés en plaçant un excès de la molécule invitée en présence de solutions aqueuses de CD de concentrations croissantes, à une température donnée. Après un temps d'agitation nécessaire pour atteindre l'équilibre de la complexation (de plusieurs heures à plusieurs jours), on détermine la quantité de substance solubilisée, par une méthode de dosage appropriée. Un diagramme de solubilité est alors réalisé en reportant sur un graphique la concentration molaire du soluté sur l'axe vertical et la concentration molaire en agent complexant sur l'axe horizontal. Higuchi et Connors<sup>72</sup> ont classé les différents types de diagrammes caractérisant les interactions substrat-ligand, auxquelles peuvent être assimilées les interactions CD-molécule invitée.

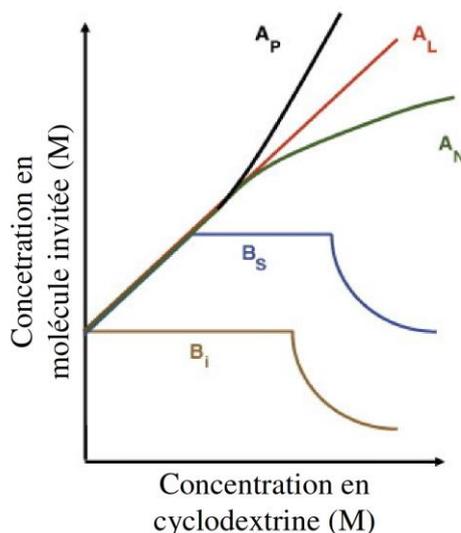


Figure 18 : Types de diagrammes de solubilité selon la classification de Higuchi et Connors<sup>73</sup>.

Le type A est obtenu quand la solubilité apparente de la substance augmente avec des concentrations croissantes en CD. Les profils  $A_L$  (linéaires) sont généralement attribués à la formation de complexes 1:1. Un diagramme de type  $A_P$  traduit la formation simultanée de complexes de stœchiométries différentes (1:1 à l'origine, puis 1:2 ou 1:3, ...). Un profil  $A_N$

<sup>71</sup> L. Fielding, S.C. McKellar, A.J. Florence, *Magn. Reson. Chem.*, **2011**, 49, 405.

<sup>72</sup> T. Higuchi, K.A. Connors, *Advances in Analytical Chemistry and Instrumentation*, **1965**, 4, 117.

<sup>73</sup> M.E. Brewster, T. Loftsson, *Advanced Drug Delivery Reviews*, **2007**, 59, 645.

peut être difficile à interpréter. La chute de solubilité par rapport au profil linéaire peut être liée à des modifications de la solubilité du complexe, de la constante diélectrique du milieu ou à l'association de molécules de CD entre elles.

Le type B indique la formation d'un complexe à solubilité limitée dans le milieu. Le profil B<sub>S</sub> suit au départ le profil A<sub>L</sub> puis à partir d'un point particulier, tout ajout de CD entraîne une précipitation du complexe avec l'apparition d'un plateau (au fur et à mesure que le complexe précipite, le principe actif non encore dissous se solubilise sous forme libre) ; la courbe décroît ensuite (tout l'excès de principe actif est dissous et cette fraction libre dissoute est progressivement complexée et précipitée). La courbe B<sub>I</sub> peut être interprétée de la même manière mais dans ce cas, le complexe est tellement insoluble que l'augmentation initiale de solubilité ne peut être détectée.

La constante d'association K<sub>a</sub> d'un complexe 1:1 peut être déterminée à partir de la portion linéaire des diagrammes B<sub>S</sub> ou A selon l'équation<sup>60</sup>:

$$S_t = S_0 + \frac{K_a S_0 [CD]_t}{1 + K_a S_0}$$

Si on trace S<sub>t</sub> en fonction de [CD]<sub>t</sub>, on obtient une droite de pente K<sub>a</sub>S<sub>0</sub>/1+K<sub>a</sub>S<sub>0</sub> et d'ordonnée à l'origine S<sub>0</sub> :

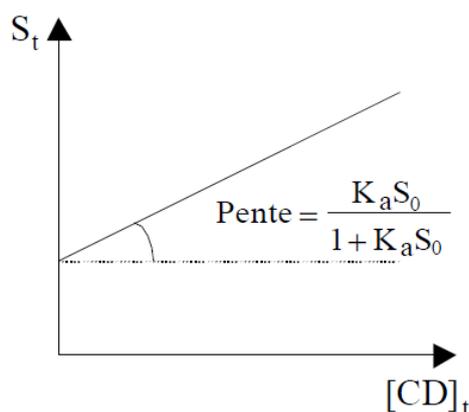


Figure 19: Courbe de la solubilité St en fonction de la [CD].

#### D. Études des complexes d'inclusion:

Des analyses sont effectuées afin de mettre en évidence l'existence d'un complexe d'inclusion en solution. En fait, toute méthode qui permettrait de mettre en évidence des changements au niveau de la solubilité, de la rétention en chromatographie liquide, de

l'absorbance dans l'UV-visible, de la fluorescence ou des déplacements chimiques en RMN, peut être employée pour l'étude des complexes<sup>74</sup>.

### 1. Par UV-visible :

Une étude<sup>75</sup> s'est focalisée sur la caractérisation du complexe d'inclusion de  $\beta$ -CD avec un liquide ionique dicationique, 3,3'-(1,4-phénylène-bis-méthylène) bis(1-méthyl-1H-imidazol-3-ium)dibromure (plus couramment connu sous le nom de PhenmimBr).

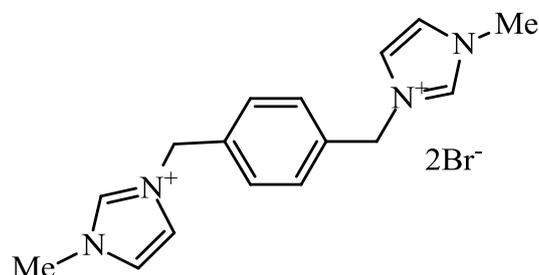


Figure 20: Structure du PhenmimBr.

La comparaison des spectres d'absorption du complexe  $\beta$ -CD\_PhenmimBr, PhenmimBr et  $\beta$ -CD sous leur forme libre (Voir annexe 5), montre que la  $\beta$ -CD n'absorbait pas dans l'intervalle [190-250 nm]. La forme du spectre UV du PhenmimBr était tout à fait semblable au complexe  $\beta$ -CD\_PhenmimBr, mais l'absorption du  $\beta$ -CD\_PhenmimBr était supérieure à celui du PhenmimBr à 200 nm.

L'influence de la concentration de la  $\beta$ -CD sur le PhenmimBr était également étudiée (Voir annexe 6). L'addition de  $\beta$ -CD a provoqué une augmentation notable de l'intensité d'absorption. En effet, lors de l'inclusion dans la cavité de la  $\beta$ -CD, l'absorbance générale de la molécule invitée sera améliorée en raison du blindage des espèces excitées provenant des procédés non radiatives, qui se produisent dans la solution mère, et aussi en raison de l'augmentation du coefficient d'absorption molaire du complexe d'inclusion  $\beta$ -CD\_PhenmimBr.

En conclusion, l'absorption UV a indiqué que la  $\beta$ -CD réagit avec le PhenmimBr pour former un complexe 2:1  $\beta$ -CD\_PhenmimBr avec une constante de formation apparente de  $2,61 \times 10^5 \text{ mol}^{-2} \text{ L}^2$ .

<sup>74</sup> T. Loftsson, P. Jarho, M. Másson, T. Järvinen, *Cyclodextrins in drug delivery*, Expert Opinion on Drug delivery, **2005**, 2, 335.

<sup>75</sup> M. Sharifah, S. Hemavathy, R. Muggundha, M. Tilagam, C. Kumuthini, S.Puvaneswary, *Int. J. Mol. Sci.*, **2011**, 12, 6329.

## 2. Par RMN :

La  $^1\text{H}$ -RMN est une technique de choix, qui confirme la formation d'un complexe d'inclusion. Elle peut fournir des informations utiles sur le mécanisme de complexation des CDs avec des molécules invitées<sup>76</sup> : les protons H3 et H5 de la CD subissent un décalage vers les hauts champs lorsqu'une molécule invitée est complexée par la CD. Ce décalage est plus notable pour les protons H5 que pour les protons H3 du fait de la structure tronconique rigide de la CD. Les protons H1, H2 et H4 situés à l'extérieur de la cavité ne présentent pour leur part, qu'un décalage très limité à cause de leur très faible interaction avec la molécule invitée<sup>77</sup>. Le spectre de la molécule invitée sera, quant à lui, généralement décalé vers les bas champs par rapport à la molécule libre<sup>78</sup>.

## 3. Par FT-IR :

La spectrométrie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) est un outil très utile pour prouver l'existence de deux molécules hôte et invitée dans un complexes d'inclusion<sup>79</sup>.

*Kavirajaa et col.*,<sup>80</sup> ont étudié la complexation de l'azométhine avec la  $\beta$ -CD. Le spectre IR pour le complexe d'inclusion est presque similaire à celui de la  $\beta$ -CD libre (Voir annexe 4)<sup>81</sup>. En outre, une large bande d'hydroxyle, de la  $\beta$ -CD libre à  $3370,72\text{ cm}^{-1}$  a été trouvée rétrécie dans le spectre IR du complexe d'inclusion, ce qui est une bonne indication de l'encapsulation de l'azométhine à l'intérieur de la  $\beta$ -CD. C'est un phénomène couramment observé par de nombreux chercheurs dans la formation du complexe d'inclusion entre les  $\beta$ -CDs (hôte) et les molécules invitées<sup>82</sup>.

## IV. APPLICATIONS DES CDs

Grâce à leurs propriétés, les CDs sont impliquées dans différents domaines, tels que les domaines pharmaceutique, agrochimique, analytique, catalytique et alimentaire.

### A. Domaine pharmaceutique

Les CD agissent en tant que système de transport des médicaments, en raison de leur capacité de changer les propriétés des molécules invitées, par la formation des complexes d'inclusion. Leurs principales applications résident dans leur capacité à solubiliser

<sup>76</sup> B. Cwiertnia, T. Hladon, M. Stobiecki, *J. Pharm. Pharmacol.*, **1999**, *51*, 1213.

<sup>77</sup> G. Wenz, B. Keller, *Chem. Int. Ed. Engl.*, **1992**, *31*, 197.

<sup>78</sup> H. Saito, H. Yonemura, H. Nakamura, T. Matsuo, *Chem. Lett.*, **1990**, 535.

<sup>79</sup> H. Jiao, S.H. Goh, S. Valiyaveetil, *Macromolecules*, **2011**, *34*, 8138.

<sup>80</sup> P.S. Kavirajaa, M. Sharifah, M.S. Norazilawati, I.N. Atiqah. *Int. J. Mol. Sci.*, **2013**, *14*, 3671.

<sup>81</sup> N. Li, J. Liu, X. Zhao, Y. Gao, L. Zhang, J. Zhang, L. Yu, *Colloids Surf.A*, **2007**, *292*, 196.

<sup>82</sup> a) W. Li, B. Lu, A. Sheng, F. Yang, Z. Wang, *J. Mol. Struct.*, **2010**, *981*, 194; b) C.C. Rusa, C. Luca, A.E. Tonelli, *Macromolecules*, **2001**, *34*, 1318; c) J. Li, X. Ni, Z. Zhou, K.W. Leong, *J. Am. Chem. Soc.*, **2003**, *125*, 1788.

des substances actives peu solubles<sup>83</sup> en milieu aqueux et à améliorer potentiellement la biodisponibilité de molécules hydrophobes<sup>84</sup>. Elles permettent parfois d'augmenter la stabilité, de diminuer la perception du mauvais goût, voire les effets indésirables de certains principes actifs<sup>85</sup>.

## **B. Environnement**

Les CDs peuvent jouer un rôle important dans la science environnementale, en termes de solubilisation des contaminants organiques, de l'enrichissement et du déplacement des polluants organiques et des métaux lourds du sol, de l'eau et de l'atmosphère<sup>86</sup>. Les CDs sont également utilisées dans le traitement de l'eau afin d'éliminer les agents contaminants<sup>87</sup>. Les eaux usées contenant des composés aromatiques inacceptables tels que le phénol, le p-chlorophénol et le benzène, peuvent être débarrassées de ces produits par le traitement avec le  $\beta$ -CD<sup>23</sup>.

## **C. Catalyse**

Les CDs et leurs dérivés sont utilisés dans le domaine de la chimie catalytique. En raison de leurs effets stériques, elles jouent un rôle significatif dans des processus biocatalytiques en augmentant l'énantiosélectivité<sup>88</sup>.

## **D. Analyse**

En chromatographie, les CDs sont utilisées intensivement dans les séparations, en raison de leur capacité de distinguer entre les isomères de position, les groupes fonctionnels, les homologues et les énantiomères<sup>89</sup>. Cette propriété en fait un des agents les plus utiles pour une large gamme de séparation. Elles sont encore utilisées en tant que ligands chimiquement collés ou absorbés dans la phase stationnaire ou dans la phase mobile<sup>90</sup>. Actuellement, les séparations chirales sont un des domaines les plus importants de l'application des CD et leurs dérivés<sup>91</sup>.

---

<sup>83</sup> T. Yamakawa, S. Nishimura, *J.Control.Rel*, **2003**, 86, 101.

<sup>84</sup> T. Loftsson, H. Fridriksdottir, T.K. Gudmundsdottir, *Int.J.Pharm*, **1996**, 127, 293.

<sup>85</sup> T. Loftsson, D. Duchêne, *Intern.J.Pharmaceutics*, **2007**, 329, 1.

<sup>86</sup> C. Wu, J. Fan, *Shuichuli Jishu*, **1998**, 24, 67.

<sup>87</sup> M.A. Parrish, *Cyclodextrins – review available from sterling organics, Newcastle. Tyne NE3 3TT*, **1988**.

<sup>88</sup> H. Ye, W. Tong, V.T. Dsouza, *J. Am. Chem. Soc*, **1992**, 114, 5470.

<sup>89</sup> SH. Hun, *Biomed Chromatography*, **1997**, 11, 259.

<sup>90</sup> E. Schnederman, *J. Chromatography B*, **2000**, 745, 83.

<sup>91</sup> X. Lu, Y. Chen, *J. Chromatography A*, **2002**, 955, 133.

## **E. Domaine alimentaire**

Les CDs ont trouvé de nombreuses applications dans l'industrie alimentaire. Elles sont utilisées pour supprimer et masquer les composants indésirables et pour relarguer avec le temps les constituants désirés<sup>92</sup>. Les CDs sont également utilisées pour protéger et faire relarguer les arômes. Par exemple, la complexation des édulcorants tels que l'aspartame avec la CDs stabilise et améliore son goût. Elle élimine également le goût amer d'autres édulcorants tels que le stevioside et le rubusoside. Les flavonoïdes et les terpénoïdes sont bons pour la santé en raison de leurs propriétés antioxydantes et antimicrobiennes mais ils ne peuvent pas être utilisés comme des produits alimentaires à cause de leur faible solubilité et leur goût amer. Sumiyoshi<sup>93</sup> a discuté l'amélioration des propriétés de ces composés par la complexation avec la CD.

## **F. Cosmétologie**

Les CDs sont encore employées dans les industries cosmétiques et parfumeries. Elles sont utilisées pour diminuer la volatilité des parfums et les relarguer instantanément en se reposant sur le phénomène de relargage contrôlé. Les principaux avantages des CDs dans ce secteur sont la stabilisation, le relargage, la protection et la livraison des arômes<sup>94</sup>.

## **V. TOXICITÉ**

En général, les CDs naturelles et de leurs dérivés hydrophiles sont capables de pénétrer les membranes biologiques lipophiles, tels que la cornée de l'œil, avec des difficultés considérables<sup>95</sup>.

Toutes les études de toxicité ont démontré que les CDs administrées par voie orale sont pratiquement non toxique, en raison du manque d'absorption dans le tractus gastro-intestinal<sup>96</sup>. En outre, un certain nombre d'évaluations de la sécurité ont montré que la  $\gamma$ -CD, sulfobutylether  $\beta$ -CD,  $\beta$ -CD sulfaté et maltosyle  $\beta$ -CD semblent être sûres même lorsqu'elles sont administrées par voie parentérale. Toutefois, des études toxicologiques ont également montré que l' $\alpha$ -, la  $\beta$ -CD et les  $\beta$ -CD méthylées ne sont pas appropriés pour une administration parentérale<sup>97</sup> :

---

<sup>92</sup> N. Prasad, D. Strauss, G. Reichart, *European Patent*, **1999**, 84, 625.

<sup>93</sup> H. Sumiyoshi, *Nippon Shokuhin Shinsozai Kenkyukaiishi*, **1999**, 2, 109.

<sup>94</sup> H.J. Bushmann, E. Schollmeyer, *J. Cosmet. Sci.*, **2002**, 53, 185.

<sup>95</sup> D.O. Thompson, *Crit Rev Ther Drug Carrier Syst*, **1997**, 14, 1.

<sup>96</sup> T. Irie; K. Uekama, *J Pharm Sci*, **1997**, 86, 147.

<sup>97</sup> E.M. Martin Del Valle, *Process Biochemistry*, **2004**, 39, 1033.

**A. Principales propriétés toxicologiques de la  $\alpha$ -CD :**

- Relativement irritant après injection intra musculaire (IM).
- Lie certains lipides.
- Irritation des yeux.
- DL50 par voie orale (rat) > 10 000 mg/kg.
- DL50 en intra veineuse (IV) (rat) entre 500 et 750 mg/kg.

**B. Principales propriétés toxicologiques de la  $\beta$ -CD :**

- Moins irritant que l' $\alpha$ -CD.
- Lie le cholestérol après injection IM.
- La dégradation bactérienne et la fermentation dans le côlon peuvent conduire à la production de gaz et de diarrhées.
- Toxicité rénale irréversible de la  $\beta$ -CD suite à la cristallisation des complexes de  $\beta$ -CD avec le cholestérol dans les reins<sup>98</sup>.
- DL50 par voie orale (rat) > 5000 mg/kg.
- DL50 en IV (rat) entre 450 et 790 mg/kg.

**C. Principales propriétés toxicologiques de la  $\gamma$ -CD :**

Probablement la cyclodextrine la moins toxique des trois CDs naturelles.

- Irritation significative après injection IM.
- DL50 par voie orale (rat) 8000 mg/kg.
- DL50 en IV (rat) 4000 mg/kg.

---

<sup>98</sup> H.W. Frijlink, A.C. Eissens, N.R. Hefting, K. Poelstra, C.F. Lerk, D.K. Meijer, *Pharm.Res*, **1991**, 3, 8.

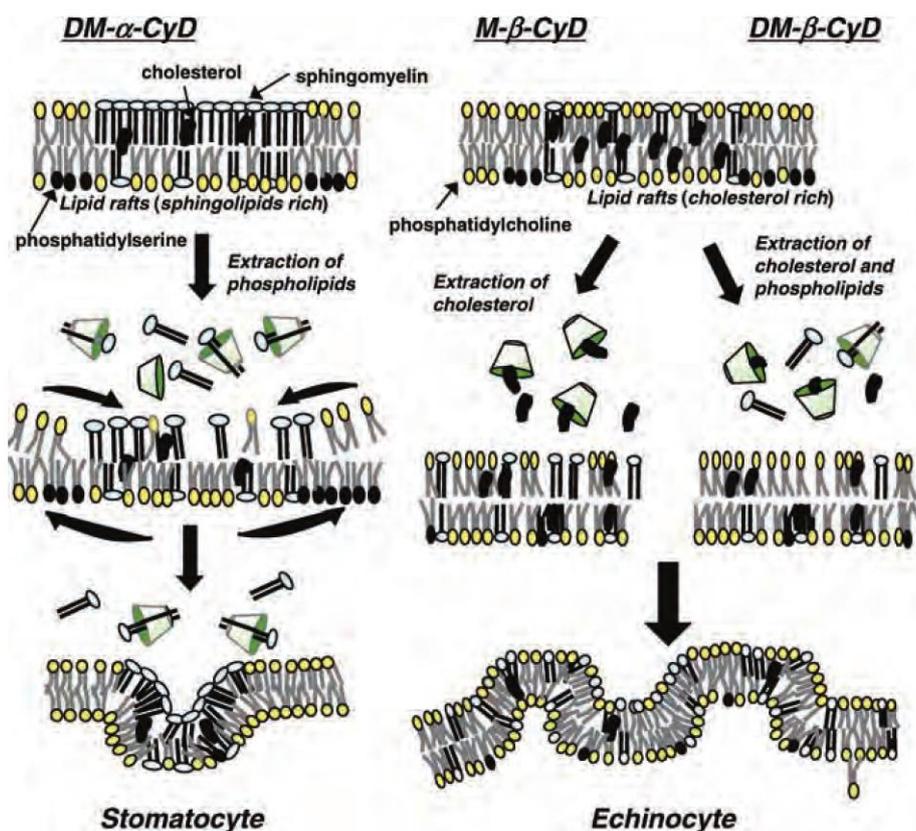


Figure 21 : Mécanisme du changement morphologique induit par les CDs dans les globules rouges.

## CONCLUSION

Les CDs sont des molécules intéressantes dans le domaine de la technologie pharmaceutique vu leurs hautes capacités de complexation. Elles sont notamment utilisées pour favoriser la solubilité de substances actives insolubles en milieu aqueux, pour augmenter leur biodisponibilité, pour améliorer dans certains cas leur stabilité. Son utilisation est tout de même limitée par le volume de sa cavité hydrophobe.

Cependant, nous ne pouvons passer sous silence la toxicité de ces composés, malgré toutes les potentialités qu'elles permettent de concrétiser, d'où la nécessité de promouvoir la synthèse de nouvelles CDs modifiées de façon à réduire leur toxicité.

## CONCLUSION GÉNÉRALE

Le BF est d'une importance capitale : Il est largement utilisé cliniquement dans le traitement de diverses maladies, mais le fait qu'uniquement l'un de ses deux énantiomères est actif sur les récepteurs GABA<sub>B</sub>, ne fait pas du BF le médicament miracle. Grâce à la synthèse organique, de nombreux analogues du BF sont synthétisés, et des études sont en cours, dans le but d'aboutir sur une molécule aussi sélective vis-à-vis des récepteurs GABA<sub>B</sub> que le (*R*)-BF, mais aussi avec une biodisponibilité améliorée et un ciblage meilleur.

Dans le chapitre suivant, nous présentons nos résultats, dont notre but en tant que chimiste consiste d'une part à mettre au point une méthode de synthèse stéréosélective du baclofène, et d'autre part la synthèse, la caractérisation et l'évaluation des propriétés de complexation de nouveaux analogues du Baclofène à base de  $\beta$ -cyclodextrine ( $\beta$ -CD) afin d'augmenter la biodisponibilité du principe actif dans l'organisme, et d'améliorer sa vectorisation au site actif.

## PARTIE II : RESULTATS ET DISSCUSSION

### Chapitre 3 : Travail effectué

#### INTRODUCTION :

Comme il a été montré dans la partie bibliographique, une large variété d'analogues du BF a été préparée, dans le but d'améliorer ses propriétés telles que : la biodisponibilité, l'interaction avec le récepteur GABA<sub>B</sub>, la réduction des effets secondaires...etc. L'intérêt thérapeutique et la grande capacité anti-craving du BF et ses analogues, en font une cible de choix pour notre recherche.

Dans cette partie, nous allons exposer nos résultats de synthèse d'une nouvelle série d'analogues du BF, ainsi que ceux de l'étude de leurs complexes d'inclusion avec la  $\beta$ -CD.

#### I. Choix des analogues du BF :

En se basant sur l'étude théorique<sup>99</sup> de l'interaction entre le BF et le récepteur GABA<sub>B</sub>, il nous a été possible d'aboutir aux structures analogues envisagées. L'idée principale dans notre schéma synthétique retenu dans notre travail, constitue à élaborer des composés portant à leurs deux extrémités, deux groupes libres, à savoir : l'acide carboxylique et l'amino libre. L'accès à nos analogues à partir des acides aminés représente une méthode de choix par rapport aux autres procédures décrites dans la littérature, afin de préserver dans la structure finale ces deux groupes libres.

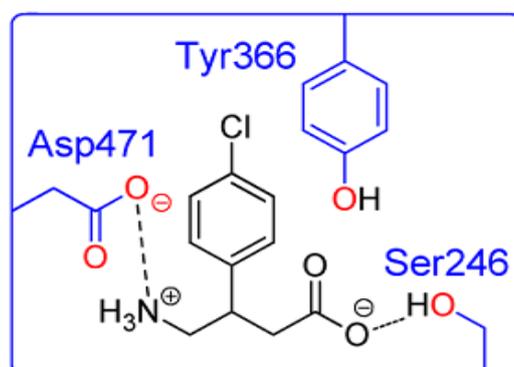


Figure 22 : Interaction du BF avec le récepteur GABA<sub>B</sub>

Plusieurs approches sont possibles pour réaliser nos analogues du BF, ce qui fournira par la suite trois types d'analogues du BF : **Les Analogues\_BF Aliphatiques, les**

<sup>99</sup> G. Costantino, A. Macchiarulo, A.E. Guadix, R. Pellicciari, *J Med Chem*, **2001**, 24, 1827.

## Analogues\_BF Aromatiques Fonctionnalisés, et les Analogues\_BF Aromatiques non Fonctionnalisés.

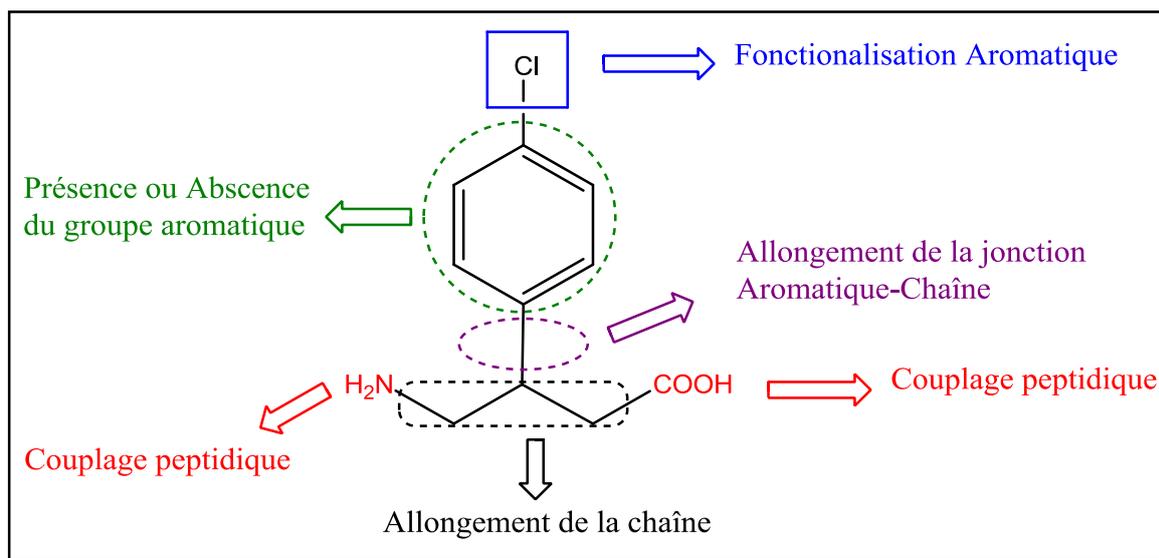


Figure 23 : Choix des modifications pour la synthèse des trois types d'analogue du BF.

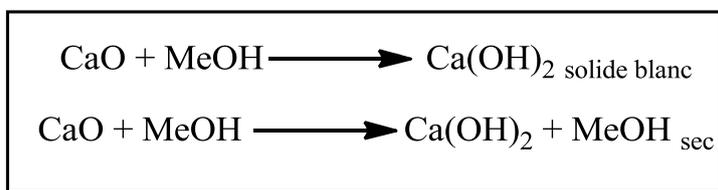
### II. Purification des solvants :

Avant d'entamer nos synthèses, il est important de purifier nos différents solvants dont on aura besoin par la suite, à savoir : MeOH et dichlorométhane.

#### A. Purification du MeOH :

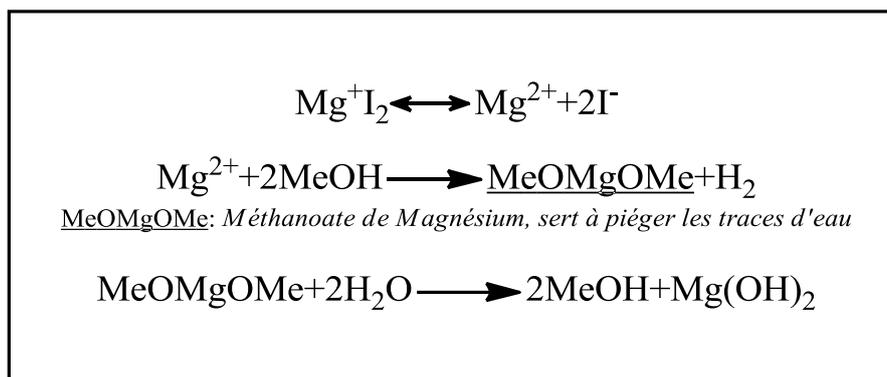
##### 1. Séchage primaire du MeOH :

Après avoir introduit 100g de chaux vive (CaO) dans un tricol, on ajoute 1000ml de MeOH. Ce ballon est surmonté d'un montage de distillation, qui permettra de distiller le MeOH au fur et à mesure ( $T_{eb} = 64,7 \text{ } ^\circ\text{C}$ ).



##### 2. Traitement avec l'iode et le magnésium :

Avec la balance technique, on pèse 1g d'iode et 5g de magnésium, qui seront introduits dans un ballon, auxquels on ajoute 100ml de MeOH préalablement distillé. Ce mélange est porté à reflux jusqu'à disparition de la couleur marron ; l'iode sert à activer le magnésium, une fois  $\text{I}_2$  consommé, la couleur disparaît. Enfin, redistiller le tout à nouveau.



### B. Purification du dichlorométhane :

Dans un ballon on verse 700ml de dichlorométhane ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) ensuite, on remplit  $\frac{3}{4}$  en volume du ballon de pentoxyde de phosphore ( $\text{P}_2\text{O}_5$ ). On monte un réfrigérant à boules sur le ballon et on porte notre mélange à reflux ( $T=40^\circ\text{C}$ ).

Après le reflux, on enlève le réfrigérant et on place un montage de distillation directement sur le ballon. Du DCM pur et sec est alors récupéré.

### C. Caractéristiques des produits utilisés :

Le tableau suivant récapitule les caractéristiques des solvants utilisés lors des différentes étapes de nos manipulations. Par ailleurs, tous les produits sont préalablement purifiés et séchés avant toute utilisation.

Tableau 2: Caractéristiques des solvants utilisés lors de notre synthèse.

Solvants	Densité à 20°C (g/l)	Point d'ébullition (°C)
Chloroforme	1,492	61
Dichlorométhane	1,33	40
Acétate d'éthyle	0,897	77,1
THF	0,889	66
Méthanol	0,791	64,7
Éthanol	0,79	78,5
Ether éthylique	0,713	35

### III. Synthèse des Analogues\_BF aliphatiques :

#### A. Synthèse A\_BF\_1 :

##### 1. Élimination du chlorhydrate :

La première étape de notre schéma réactionnel pour la synthèse Analogue\_BF\_1, consiste à convertir le groupe amino du chlorhydrate de l'ester méthylique de la leucine (commerciale) sous sa forme libre, en traitant notre réactif de départ par la TEA dans du DCM pendant 45 minutes à T<sup>amb</sup>, ce qui nous a permis d'obtenir notre produit cible avec un bon rendement 99,49%. Cette exigence, est justifiée par la réussite de la réaction de couplage par la suite.

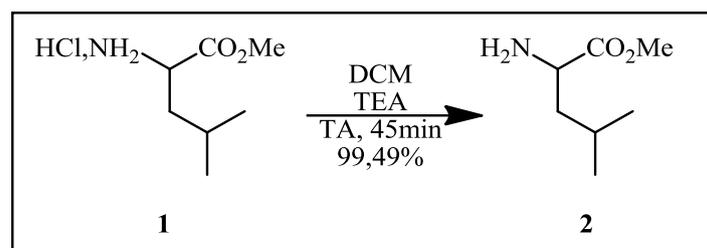


Schéma 11: Traitement du chlorhydrate par la TEA.

##### 2. Couplage de la N-Ft-gly et Leu-CO2Me :

Nous avons poursuivi notre synthèse dans le but de réaliser les analogues du BF, par l'introduction du motif amino et l'allongement de la chaîne dans la structure finale, via la réaction de couplage entre la N-phthalimidoglycine (N-Ft-gly) et l'ester méthylique de la leucine (Leu-CO<sub>2</sub>Me), en présence du dicyclohexycarbodiimide (DCC) dans le DCM anhydre. Le dipeptide est obtenu après 24h de réaction, sous forme de cristaux blancs avec un rendement de 93,1%.

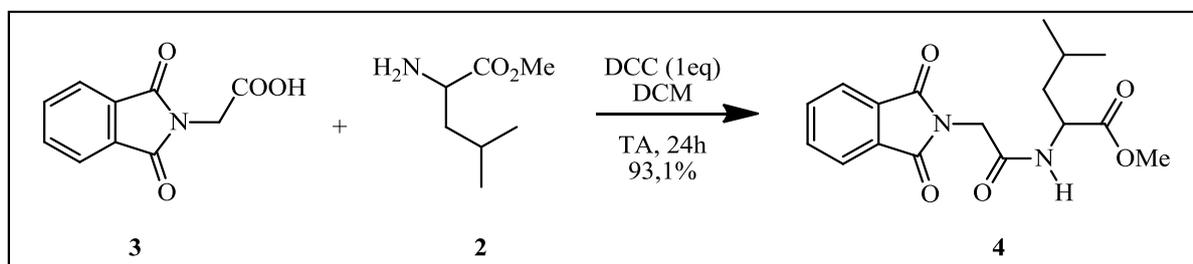


Schéma 12: Couplage de la N-Ft-gly et de la Leu-CO<sub>2</sub>Me.

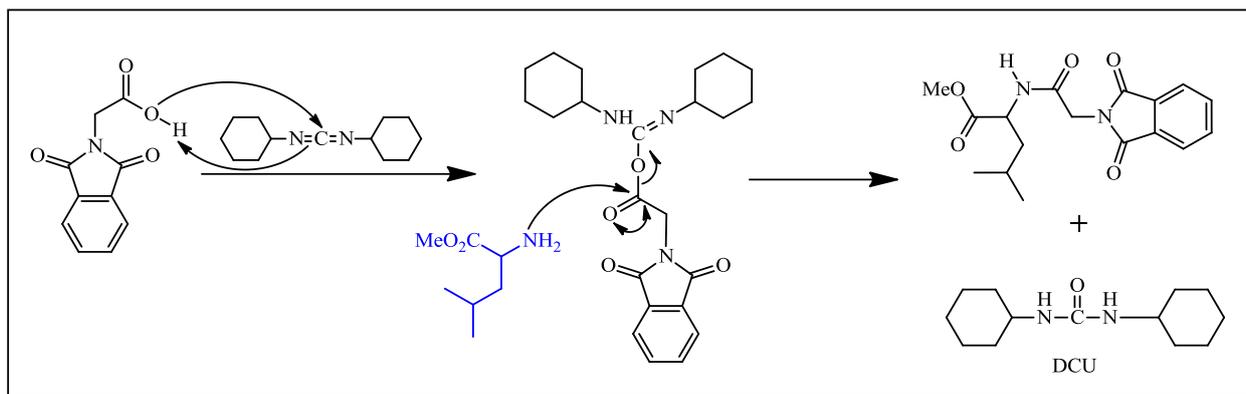


Schéma 13 : Mécanisme général du couplage peptidique en présence du DCC.

### 3. Hydrolyse du Dipeptide N-Ft-gly-Leu-COOME :

L'ester méthylique est simplement utilisé comme groupe protecteur temporaire de la fonction carboxyle. La complexation de cet analogue avec la  $\beta$ -CD dans l'eau qui suit nécessite la libération de la fonction C-terminale. Par conséquent, nous avons effectué une hydrolyse de l'ester par une solution de LiOH (1N) à 0°C, en utilisant un mélange THF:Eau (2:1) comme solvant. Puis, après acidification avec une solution de HCl 1N, et après traitement de cette phase nous avons bien obtenu l'acide carboxylique, confirmé par l'analyse IR avec une large bande vers 3300cm<sup>-1</sup>. Quant au rendement de cette hydrolyse, il est de 56,35%.

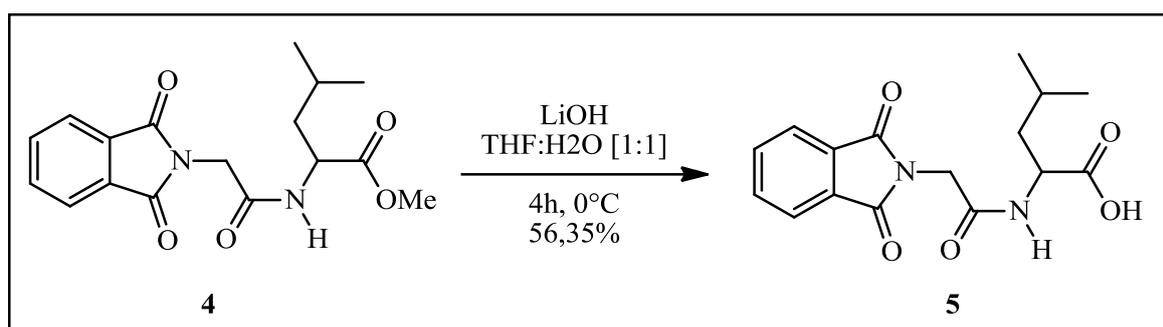


Schéma 14: Hydrolyse de l'ester du dipeptide N-Ft-gly-Leu-COOME.

## IV. Synthèse des Analogues\_BF Aromatique Fonctionnalisés :

### A. Synthèse A\_BF\_2 :

#### 1. Estérification de la glycine :

Pour la synthèse de notre second analogue, on commence par une protection de la glycine que l'on couplera par la suite avec la tyrosine. Il est nécessaire de protéger la fonction carboxylique de notre acide aminé, pour éviter la formation d'autres dipeptides. Cette protection se déroule sous conditions anhydres dans le MeOH et le chlorure d'acétyle.

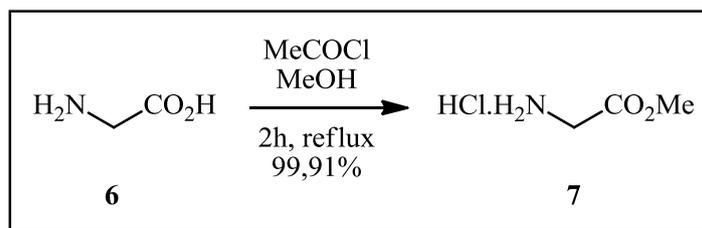


Schéma 15: Estérification de la glycine.

## 2. Traitement du chlorhydrate de la glycine estérifiée :

Comme pour la synthèse de l'Analogue<sub>BF\_1</sub>, on convertit le groupe amino du chlorhydrate de l'ester méthylique de la glycine sous sa forme libre, en le traitant par la TEA dans du DCM à T<sup>amb</sup>.

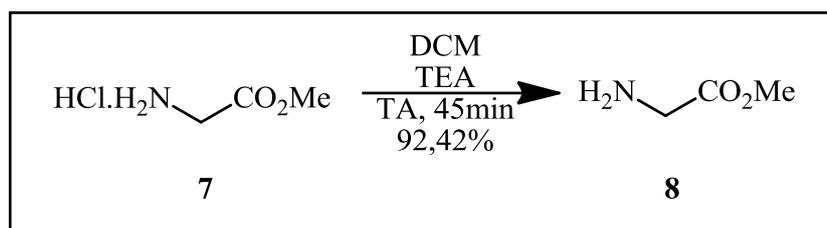


Schéma 16: Élimination du chlorhydrate de la glycine estérifiée.

## 3. Couplage peptidique entre Gly-CO<sub>2</sub>Me et N-Ft-Tyr :

La réaction de couplage entre la N-phthalimidotyrosine (N-Ft-Tyr) et l'ester méthylique de la glycine (Gly-CO<sub>2</sub>Me), en présence du dicyclohexycarbodiimide (DCC) dans le DCM anhydre nous donne après 24h de réaction le dipeptide (10), sous forme de gel, avec un rendement de 99%.

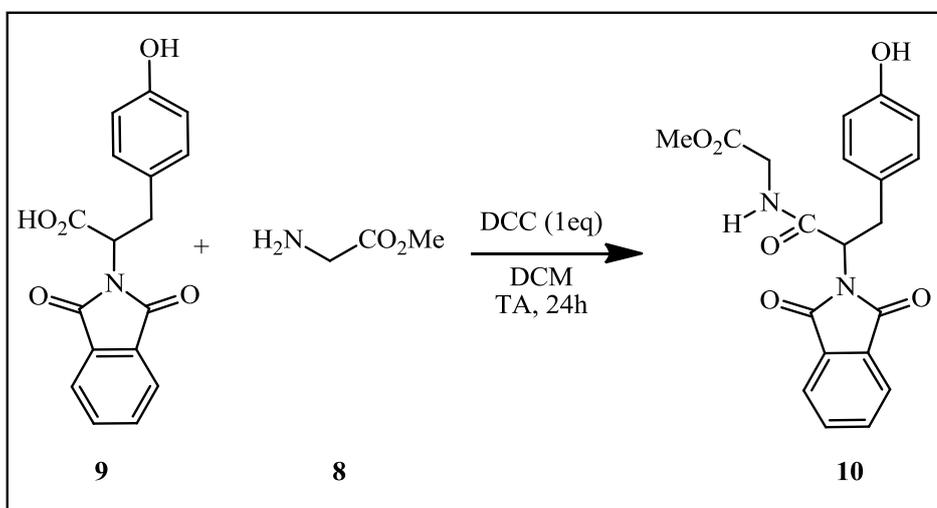


Schéma 17: Couplage de la Gly-CO<sub>2</sub>Me et de la N-Ft-Tyr.

#### 4. Hydrolyse du dipeptide Gly-CO<sub>2</sub>Me-N-Ft-Tyr :

Il est nécessaire de déprotéger la fonction C-terminale si on veut par la suite complexer l'analogue cible avec la  $\beta$ -CD. C'est pour cela qu'on a procédé à une hydrolyse de l'ester du composé (**10**) par une solution de LiOH (1N) à 0°C, en utilisant un mélange THF:Eau (2:1) comme solvant. Ensuite, et après acidification avec une solution de HCl 1N, et traitement de cette phase, nous avons obtenu l'acide carboxylique correspondant (**11**), avec un rendement faible (10%) que l'on justifie par un temps d'hydrolyse insuffisant.

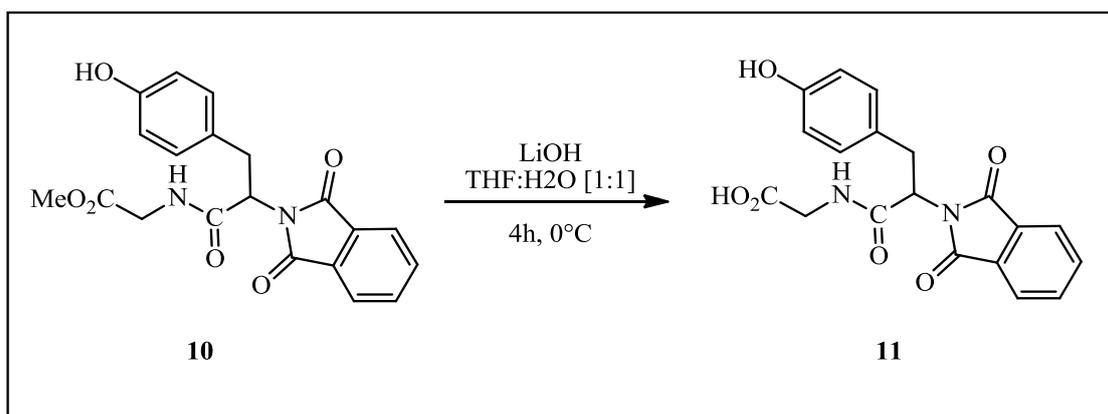


Schéma 18 : Hydrolyse de l'ester du dipeptide Gly-CO<sub>2</sub>Me-N-Ft-Tyr.

#### 5. Déprotection du groupe phthalimido du dipeptide (**11**) :

La déprotection du groupe phthalimido a été réalisée par un traitement de notre dipeptide par l'hydrazine, dans un mélange de dichlorométhane-méthanol (1:1) à température ambiante durant 18h, afin d'aboutir à notre second analogue avec un rendement de 85,71%.

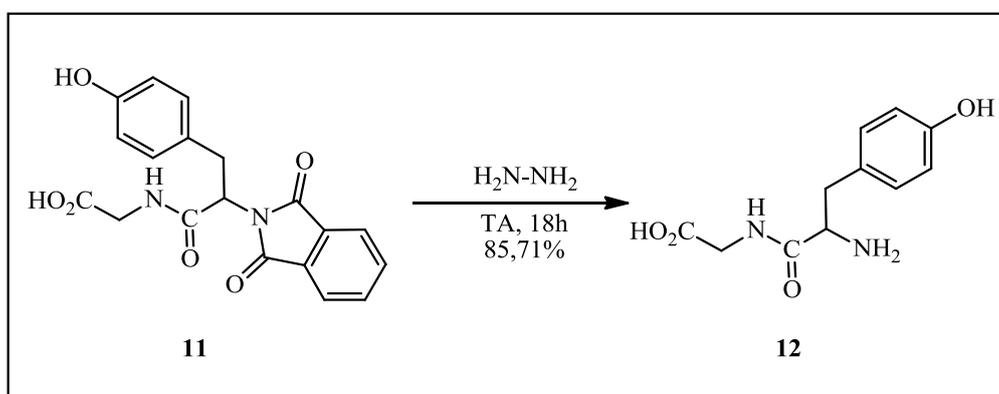


Schéma 19 : Déprotection du groupe phthalimido du dipeptide Gly-CO<sub>2</sub>H-N-Ft-Tyr.

Par action de l'hydrazine (NH<sub>2</sub>-NH<sub>2</sub>) sur le phthalimide on peut libérer la fonction amine selon le mécanisme ci-dessous :

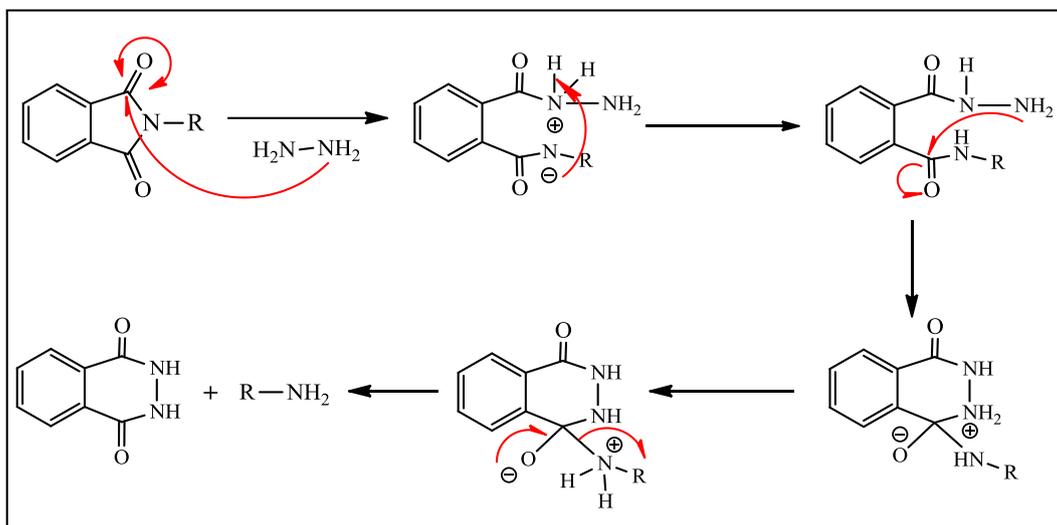


Schéma 20 : Mécanisme d'hydrolyse du groupe phthalimido par l'hydrazine.

## B. Synthèse A\_BF\_3 :

### 1. Couplage peptidique entre Gly-CO<sub>2</sub>Me et l'acide gallique :

Pour la synthèse d'un autre analogue aromatique fonctionnalisé (**14**) nous avons procédé au couplage peptidique montré sur le schéma suivant :

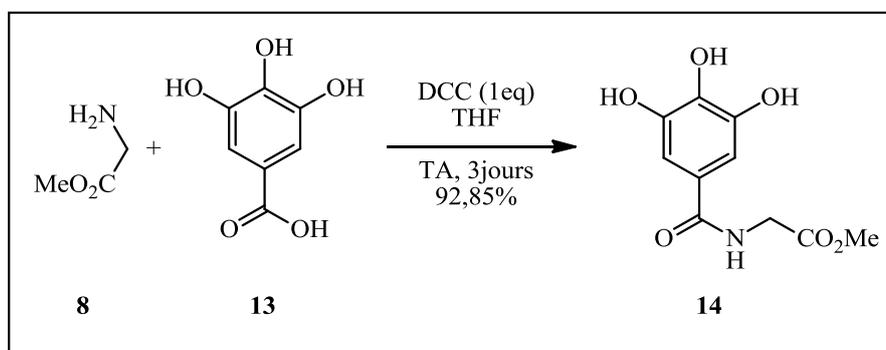


Schéma 21 : Couplage peptidique entre Gly-CO<sub>2</sub>Me et l'acide gallique.

La réaction de couplage entre l'acide gallique et l'ester méthylique de la glycine (Gly-CO<sub>2</sub>Me), en présence du dicyclohexycarbodiimide (DCC) dans le THF anhydre s'est déroulée à T<sup>amb</sup> et a duré 3 jours, au bout desquels on a récupéré notre analogue (**14**) avec un rendement de 92,85% sous forme d'une huile rouge brique.

## C. Synthèse A\_BF\_4 :

### 1. Synthèse du 1,2,3,4,6 penta\_O\_acétyl\_D\_glucopyranose :

La première étape de la synthèse de notre dernier analogue aromatique fonctionnalisé par le motif sucre (**18**) est l'acétylation du glucose. Ceci a pour but de protéger les groupements OH lors du prochain greffage de ce sucre.

L'acétylation du glucose dans la pyridine, se fait alors par le traitement avec l'anhydride acétique à  $T=0^{\circ}\text{C}$ , la réaction se poursuit ensuite à TA pendant une nuit. On obtient le glucosyle (**16**) après traitement et recristallisation sous forme de solide blanc avec un rendement de 74,04%

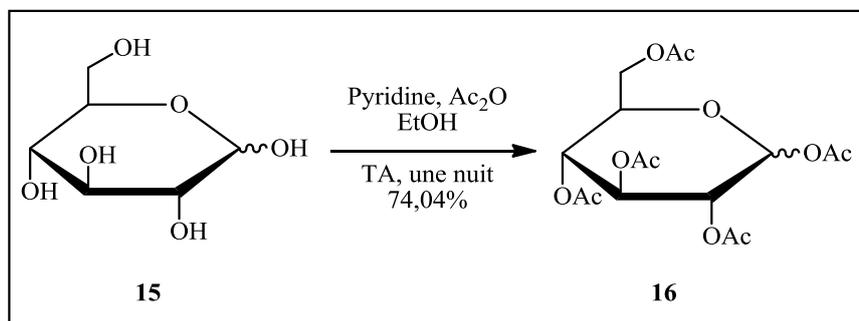


Schéma 22: Synthèse du 1,2,3,4,6 penta-O-acétyl-D-glucopyranose.

## 2. Synthèse du bromure 2,3,4,6 penta-O-acétyl-D-glucopyranose:

Le greffage du sucre est une réaction de substitution nucléophile. Il est donc primordial de convertir l'un des groupes O-Ac du glucosyle (**16**) en un bon groupe partant, et cela par la conversion d'un groupe O-Ac en un brome.

Cette réaction a été réalisée par le traitement du composé (**16**) par une solution de HBr à 30% dans l'acide acétique, pour donner le bromure de glucosyle (**17**) avec un rendement de 26,75%

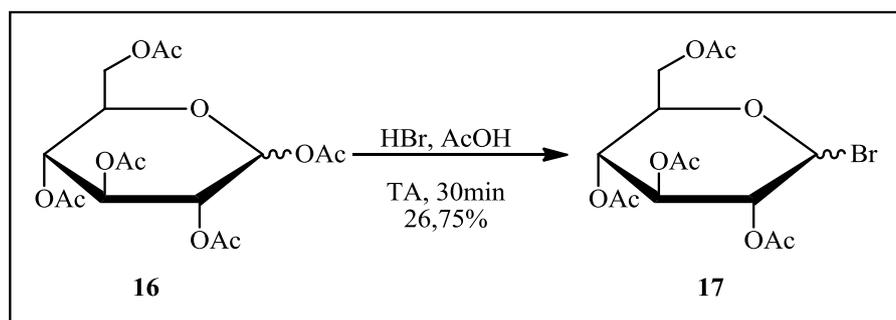


Schéma 23: Synthèse du bromure 2,3,4,6 penta-O-acétyl-D-glucopyranose.

## 3. Greffage de trois motifs sucre sur A\_BF\_3 :

La dernière étape de la synthèse de notre dernier analogue aromatique fonctionnalisé (**18**), est la réaction de greffage du bromure 2,3,4,6 penta-O-acétyl-D-glucopyranose (**17**) sur le composé (**14**) en milieu basique en utilisant un mélange THF:Eau (2:1) comme solvant. La réaction s'est déroulée à  $T^{\text{amb}}$  pendant 5 jours, au bout desquels on a récupéré 100mg de notre analogue (**18**) sous forme d'une pâte orange.

On attribue le faible rendement de notre réaction, au fait que le procédé général applicable à la glycosylation des phénols se fait à l'abri de la lumière, et le temps de réaction doit être suivi par RMN ou Spectrométrie de Masse jusqu'à disparition totale du produit de départ.

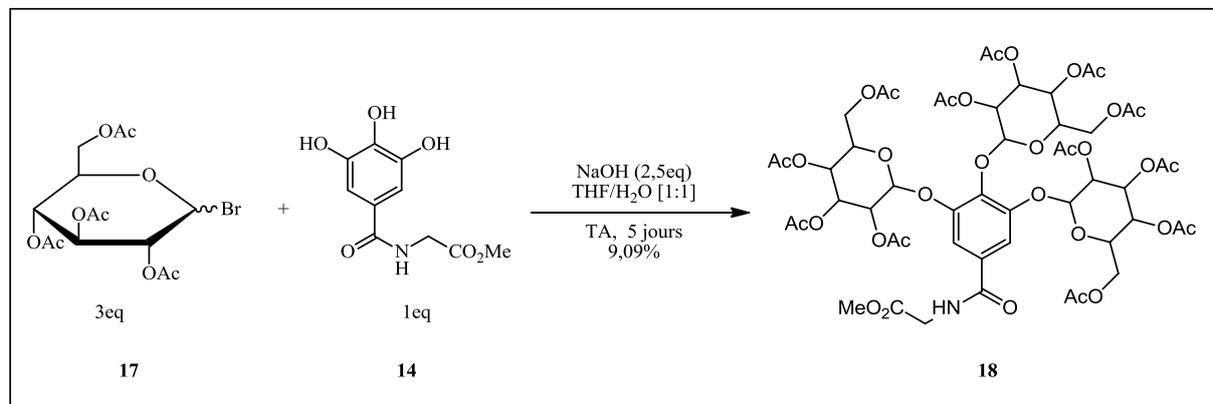


Schéma 24: Greffage du bromure 2,3,4,6 penta-O-acétyl-D-glucopyranose sur A\_BF\_3.

## V. Synthèse A\_BF Aromatique non fonctionnalisés:

### A. Synthèse A\_BF\_5 :

#### 1. Purification du benzaldéhyde :

Avant d'entamer notre synthèse, on a du purifier notre benzaldéhyde, qui contenait un peu d'acide benzoïque. Et pour cela, on a dissout le benzaldéhyde dans de l'éther, et on a procédé à des lavages de la phase organique par une solution de NaOH. La soude réagit avec Ph-COOH pour donner Ph-COO<sup>-</sup>Na<sup>+</sup>, un sel soluble dans l'eau, qui sera par la suite éliminé lors du lavage.

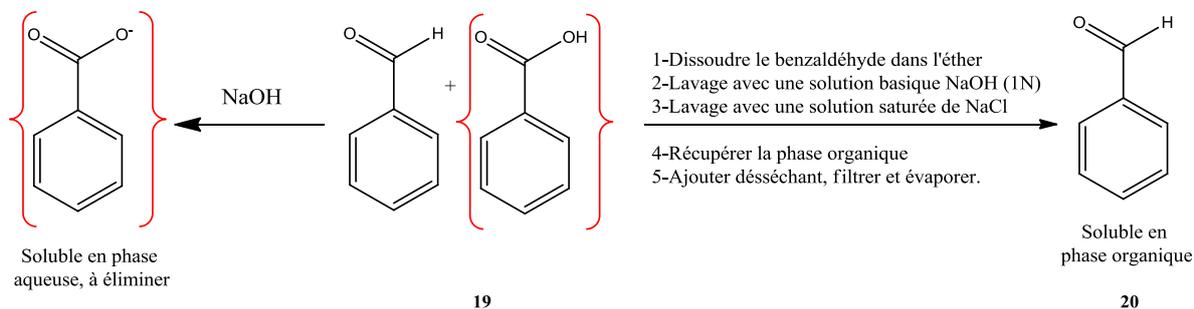


Schéma 25 : Purification du benzaldéhyde.

#### 2. Synthèse du nitroalcool

Cette réaction est basée sur la condensation du nitrométhane avec le benzaldéhyde purifié, catalysée par l'acétate de sodium trihydraté, afin d'aboutir au nitroalcool (21) après 24h de réaction, avec un rendement de 84,78%.

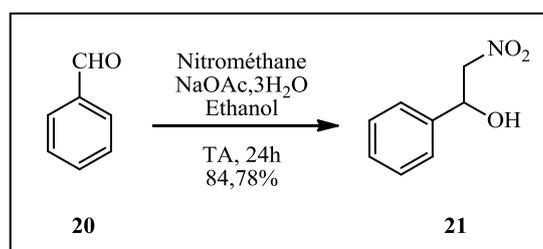


Schéma 26 : Synthèse du nitroalcool.

### 3. Déshydratation du nitroalcool et obtention de l'alcène correspondant :

La déshydratation du nitroalcool (ou β-élimination) est une réaction qui transformera le nitroalcool (**21**) en nitrostyrène cible (**22**). Celle-ci a été réalisée à 0°C, par traitement du nitroalcool de départ avec la TEA et le TsCl dans le THF, pour donner le composé (**22**) avec 17,67% de rendement.

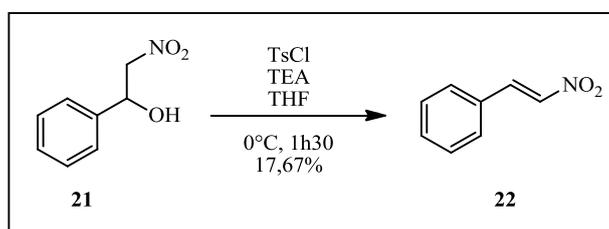


Schéma 27: Synthèse du nitroalcène.

### 4. Addition de Michaël du malonate de diéthyle :

Celle-ci est l'étape clé dans notre synthèse, vu la création du centre asymétrique dans le composé (**23**). C'est une réaction d'addition Michaël, du malonate de diéthyle sur la double liaison du 2-Nitrovinylbenzène (**22**) en milieu basique. Le rendement de cette réaction est de 98,97%.

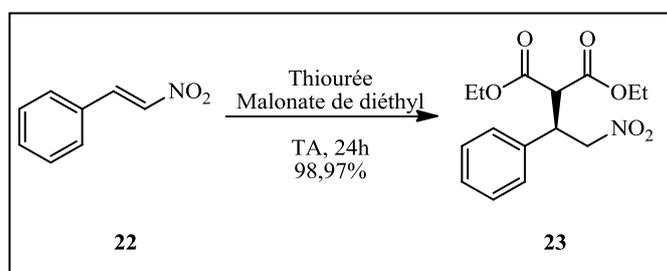


Schéma 28: Addition de Michaël du malonate de diéthyle.

## 5. Réaction de cyclisation :

À cette étape, nous avons procédé à une réduction de la fonction nitro par le  $\text{NaBH}_4$ , qui nous donne l'amine correspondant, qui réagit à son tour avec l'ester lors d'une cyclisation intramoléculaire, par élimination d'une molécule d'éthanol, obtenant ainsi la pyrrolidinone (**24**) cible avec un rendement de 92,86%.

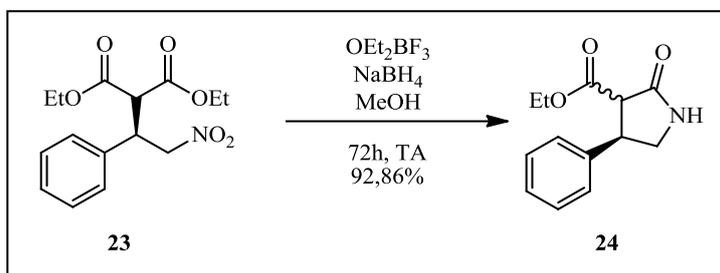


Schéma 29: Réaction de cyclisation.

## 6. Réaction d'hydrolyse :

Afin de libérer la fonction ester, on procède à une hydrolyse de ce dernier par la soude dans l'éthanol, pour donner l'acide carboxylique (**25**) après 30 min de réaction, avec un rendement de 50,8%.

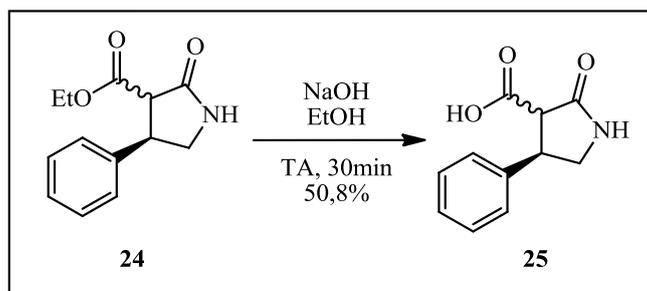


Schéma 30: Hydrolyse de l'ester.

## 7. Réaction de Décarboxylation :

Avant d'arriver à la dernière étape, on effectue la décarboxylation de l'acide (**25**), pour donner la phényle-pyrrolidinone (**26**) avec un rendement de 87%. La décarboxylation s'effectue par reflux dans le toluène pendant 6h.

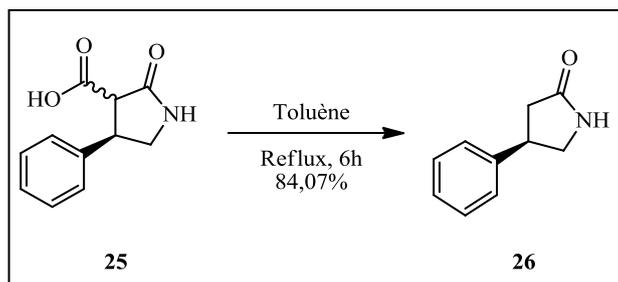


Schéma 31: Décarboxylation du composé (**25**).

## 8. Ouverture du cycle lactamique et synthèse A\_BF\_5 :

L'amide du composé (26) subit une hydrolyse acide, durant un reflux de 24h dans une solution de HCl 6N, ce qui donne automatiquement la fonction acide carboxylique, et la fonction amine, de notre analogue cible (27) avec un rendement de 86,36%.

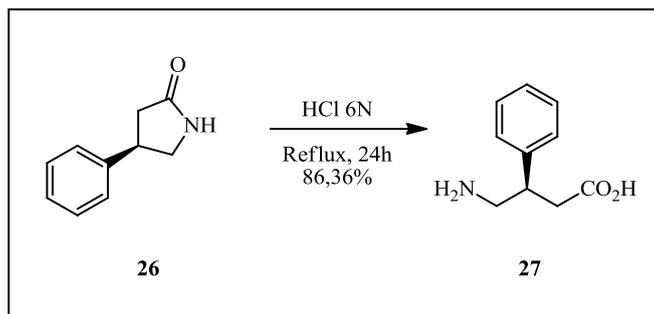


Schéma 32: Ouverture du cycle lactamique.

Globalement, la réaction du benzaldéhyde avec le nitrométhane et la déshydratation du nitroalcool résultant, nous conduit au nitroalcène correspondant, qui sera amené à réagir avec du malonate de diéthyle en présence de la thiourée, pour donner le composé (23) avec un rendement de 98,97%.

En outre, la réduction du groupe nitro avec le NaBH<sub>4</sub> a donné le lactame correspondant avec un rendement de 92,86%. Le groupe ester de celle-ci a été hydrolysé et décarboxylé pour donner le composé (26). Composé qui sera hydrolysé par une solution de HCl 6N, pour donner notre troisième analogue cible, en sept étapes.

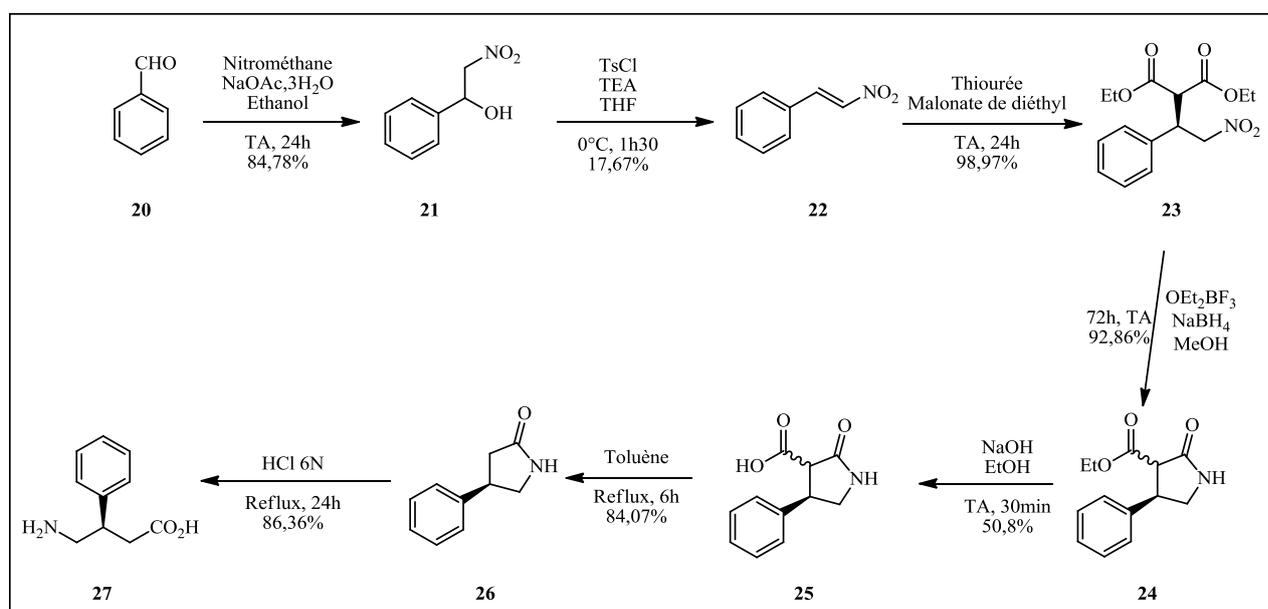


Schéma 33 : Synthèse A\_BF\_5.

## VI. Étude des complexes d'inclusion par spectroscopie UV: Analogues BF\_β-CD :

Durant ce chapitre, nous allons étudier par spectroscopie UV-Visible les complexes d'inclusion des analogues du BF synthétisés, avec la β\_CD native dans l'eau et à température ambiante.

### A. A\_BF\_1-β\_CD :

#### 1. Détermination de la complexation :

Pour cette étude, nos références sont d'une part une solution mère de A\_BF\_1, et d'autre part une solution de β\_CD, chacune à une concentration de  $1,9 \times 10^{-5} \text{M}$ . Pour cela, on enregistre les spectres UV dans l'intervalle [190-240nm], de chacune des solutions individuellement dans l'eau, et puis le complexe obtenu par un mélange équimolaire des deux solutions mères (Figure 24).

Je précise qu'à la solution aqueuse de A\_BF\_1 ont été ajoutés quelques gouttes d'une solution de LiOH 1N afin de solubiliser le composé.

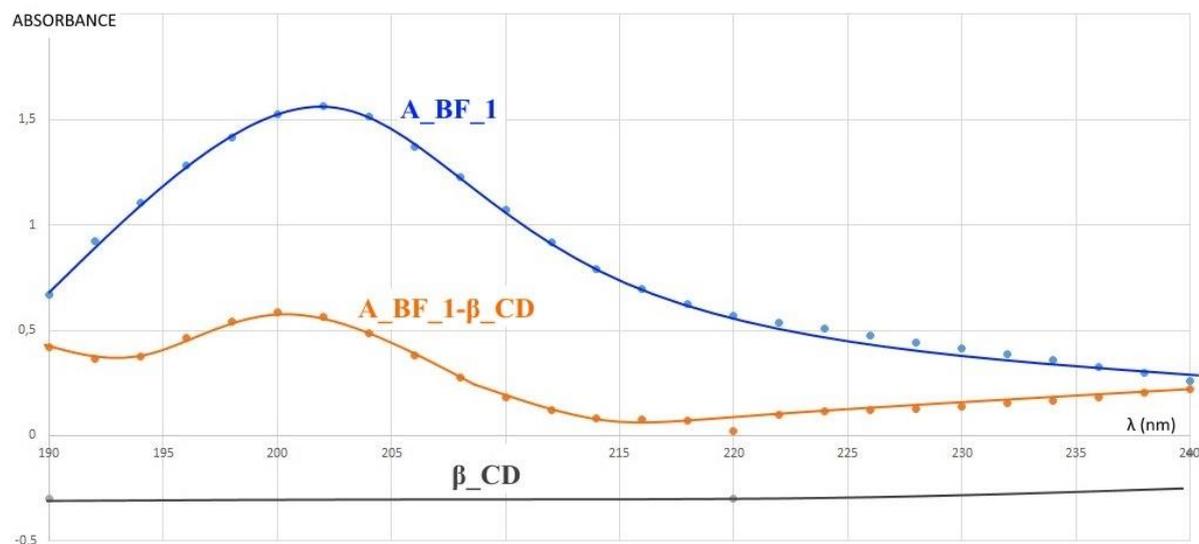


Figure 24: Spectre d'absorption de A\_BF1, A\_BF1-β\_CD et de la β\_CD.

La transparence de la CD fait qu'elle n'absorbe pas dans le domaine de l'UV, contrairement à A\_BF\_1 qui, d'après le spectre, absorbe bien dans cet intervalle, ce qui s'explique par la présence des différents groupes chromophores dans sa structure, à savoir le groupe phthalimido et les carbonyles de la fonction amide et acide carboxylique.

Dans le cas du complexe, le composé (**5**) subit un effet hypochrome (diminution de l'intensité d'absorption), ce qui prouve clairement qu'il y a complexation, et que les groupes chromophores qui absorbent le plus de la molécule invitée, sont bien encapsulés à l'intérieur de la cavité hydrophobe de la CD, ce qui diminue considérablement l'absorption  $\Delta A = 0.5$ .

Tableau 3 : Absorbance de la CD dans le domaine 190-240nm

$\lambda$ (nm)	A-CD	$\lambda$ (nm)	A-CD
190	-0,3	310	-0,056
220	-0,3	340	-0,045
250	-0,104	370	-0,038
280	-0,09	400	-0,013

Tableau 4 : absorbances UV de de A\_BF1 et du complexe A\_BF1-  $\beta$  CD.

$\lambda$ (nm)	A A_BF1	A Complexe	$\lambda$ (nm)	A A_BF1	A Complexe
190	0,668	0,42	216	0,698	0,078
192	0,922	0,364	218	0,624	0,073
194	1,108	0,376	220	0,57	0,02
196	1,285	0,466	222	0,536	0,102
198	1,416	0,544	224	0,508	0,115
200	1,524	0,588	226	0,476	0,121
202	1,567	0,566	228	0,445	0,127
204	1,518	0,488	230	0,412	0,138
206	1,374	0,382	232	0,389	0,152
208	1,228	0,276	24	0,362	0,168
210	1,075	0,184	36	0,328	0,185
212	0,918	0,119	238	0,298	0,204
214	0,792	0,084	240	0,262	0,22

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

La méthode des variations continues (ou méthode de Job) est utilisée afin de déterminer la stœchiométrie des complexes d'inclusion avec les CDs. Dans notre cas, le paramètre expérimental observé pour les molécules hôte et invitée est l'absorbance A en UV, qui est sensible à la formation du complexe. Les données tracées sont sous la forme  $A_{\text{complexe}}$  par rapport au ratio  $\beta_{\text{CD}}$ . Nous avons donc préparé 11 solutions filles, à partir des deux solutions mères préalablement préparées d'A\_BF\_1 et de  $\beta_{\text{CD}}$ , en différentes proportions pour atteindre le volume final constant de 2 ml. On a laissé les solutions durant 18h pour une complexation optimale, et les résultats de l'analyse UV de ces différentes solutions à  $\lambda_{\text{max}} = 200$  nm nous permettent de tracer la courbe suivante :

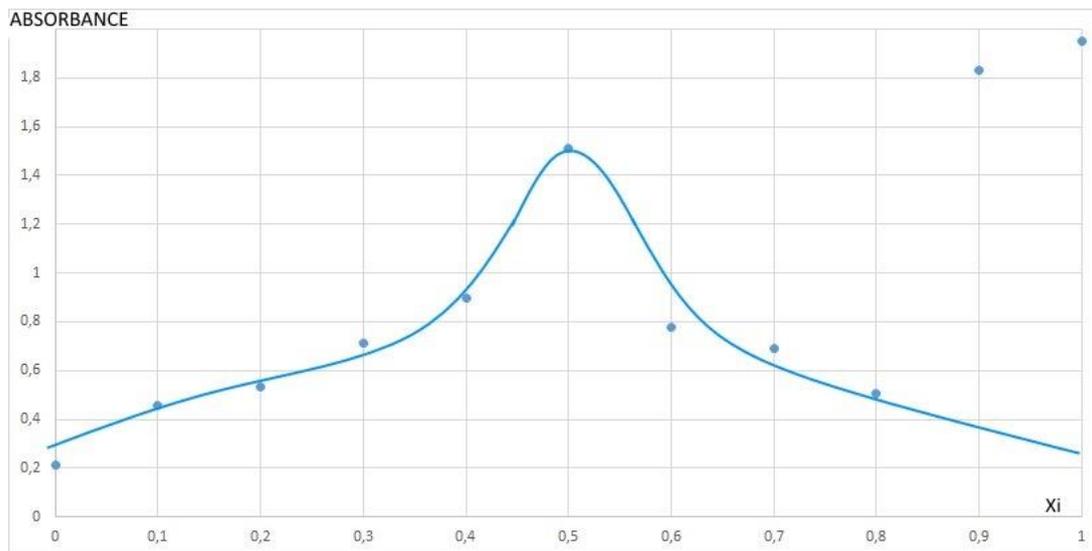


Figure 25: Courbe de job du complexe A\_BF1-  $\beta$ \_CD.

Selon la courbe de Job,  $r=0,5$ , ce qui montre que le complexe est formé selon une stœchiométrie 1:1.

Tableau 5 : Absorbances UV du complexe A\_BF1-  $\beta$ \_CD à différentes proportions.

N° flacon	V A_BF_1 ( $\mu$ L)	V $\beta$ _CD ( $\mu$ L)	[A_BF_1] (M)	[ $\beta$ _CD] (M)	$X_i$	A à $\lambda = 200$ nm
1	0	2000	0	$1,9 \times 10^{-4}$	<b>0</b>	0,212
2	200	1800	$1,9 \times 10^{-5}$	$1,71 \times 10^{-4}$	<b>0,1</b>	0,46
3	400	1600	$3,8 \times 10^{-5}$	$1,52 \times 10^{-4}$	<b>0,2</b>	0,536
4	600	1400	$5,7 \times 10^{-5}$	$1,33 \times 10^{-4}$	<b>0,3</b>	0,714
5	800	1200	$7,6 \times 10^{-5}$	$1,14 \times 10^{-4}$	<b>0,4</b>	0,895
6	1000	1000	$9,5 \times 10^{-5}$	$9,5 \times 10^{-5}$	<b>0,5</b>	1,51
7	1200	800	$1,14 \times 10^{-4}$	$7,6 \times 10^{-5}$	<b>0,6</b>	0,777
8	1400	600	$1,33 \times 10^{-4}$	$5,7 \times 10^{-5}$	<b>0,7</b>	0,691
9	1600	400	$1,52 \times 10^{-4}$	$3,8 \times 10^{-5}$	<b>0,8</b>	0,507
10	1800	200	$1,71 \times 10^{-4}$	$1,9 \times 10^{-5}$	<b>0,9</b>	1,83
11	2000	0	$1,9 \times 10^{-4}$	0	<b>1</b>	1,95

### 3. Détermination de $K_a$

Ici, pour le calcul de  $k_a$ , on voit bien que les points sont bien linéaires (figure 26), ceci nous pousse à conclure que la molécule invitée et la  $\beta$ \_CD forment un complexe d'une stabilité importante.

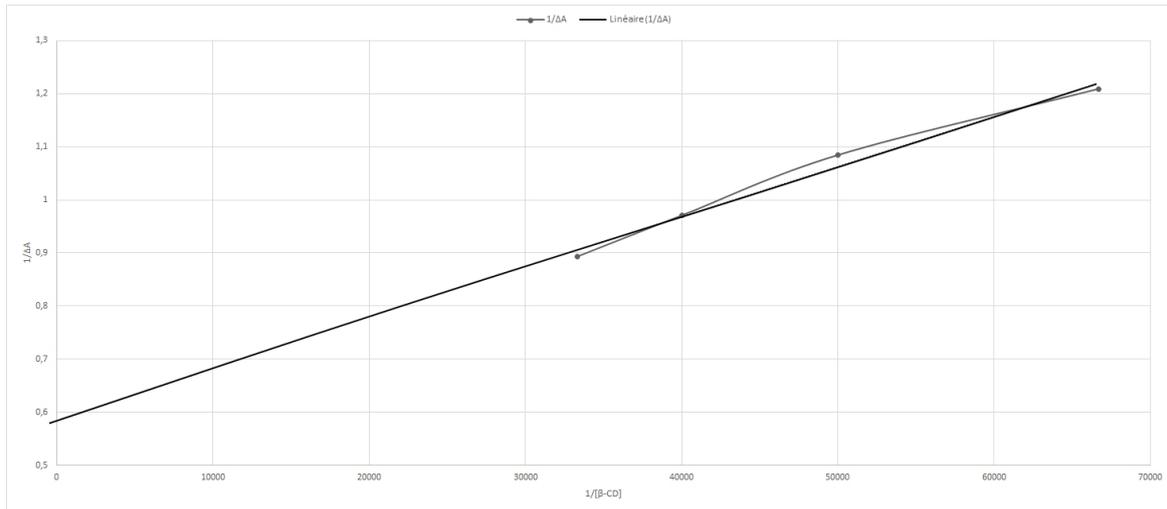


Figure 26: Courbe  $K_a$  du complexe A\_BFI-  $\beta$ \_CD

Afin d'estimer la valeur de cet échange, nous nous sommes basés sur la technique de Benesis-Hildebrand, qui, à travers la différence d'absorption entre la molécule complexée et la molécule libre, détermine la constante d'association  $K_a$ , en suivant l'absorbance d'un principe actif lorsque la CD à différentes concentrations est ajoutée, selon l'équation 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 :  $\Delta A$  : Différence d'absorption entre la molécule complexée et la molécule libre,  $\Delta \varepsilon$  : Différence du coefficient d'extinction entre la molécule complexée et la molécule libre,  $[PA]$  : Concentration en principe actif,  $[CD]$  : Concentration en CD.

La constante d'association peut alors être déterminée en traçant  $1/\Delta A$  en fonction de  $1/[PA]$ .  $\Delta \varepsilon$  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. On a d'après le graphe l'équation suivante :

$$y_1 = (9 \times 10^{-6})x + 0,5917 \dots\dots\dots (2)$$

$$\Delta \varepsilon_1 = 3,380091 \cdot 10^4$$

$$K_{a1} = 6,57 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1}$$

Tableau 6 : Absorbances UV du complexe A\_BFI-  $\beta$ \_CD à différentes concentrations de la  $\beta$ \_CD.

V A_BF_1 (mL)	V $\beta$ _CD (mL)	[A_BF_1] (mol/L)	[ $\beta$ _CD] (mol/L)	1/[ $\beta$ _CD] (L/mol)	A	$\Delta A$	1/ $\Delta A$
2	2	0,00005	0,00003	<b>33333,33333</b>	0,287	1,119	<b>0,893655049</b>
2	2	0,00005	0,000025	<b>40000</b>	0,372	1,03	<b>0,970873786</b>
2	2	0,00005	0,00002	<b>50000</b>	0,48	0,922	<b>1,084598698</b>
2	2	0,00005	0,000015	<b>66666,66667</b>	0,575	0,827	<b>1,209189843</b>
4	0	0,0001	0	$\infty$	1,402	0	$\infty$

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

Bien qu'il soit difficile de donner une géométrie du complexe d'inclusion, sans avoir recours à la méthode la plus judicieuse qui est le ROESY, nous allons nous baser pour un premier temps sur nos résultats UV, et proposerons la géométrie suivante :

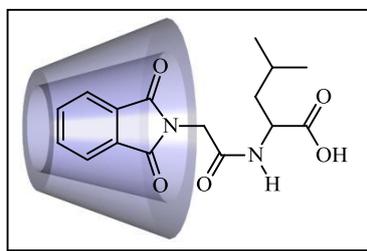


Figure 27 : Complexe d'inclusion A\_BF\_1- $\beta$ \_CD.

La diminution de l'absorbance du complexe par rapport à la molécule invitée seule, prouve que le groupe phthalimido qui absorbe le plus est encapsulé à l'intérieur de la CD, car ce dernier renferme dans sa structure des doubles liaisons conjuguées.

#### B. A\_BF\_2- $\beta$ \_CD :

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

Comme pour le premier complexe, deux solutions à  $2,5 \times 10^{-5} \text{M}$ , contenant la molécule invitée, et la  $\beta$ \_CD respectivement, ont été préparées. Je précise qu'à la solution aqueuse de A\_BF\_2 ont été ajoutés quelques gouttes d'une solution de LiOH 1N afin de solubiliser le composé. Ces solutions ont été analysées dans l'intervalle [190-240nm], ainsi qu'une solution contenant un mélange équimolaire des deux, pour aboutir aux spectres suivants :

On voit clairement que l'ajout de la CD à la molécule invitée augmente l'absorbance de cette dernière, et la variation la plus prononcée dans l'intervalle [215-230] nm.

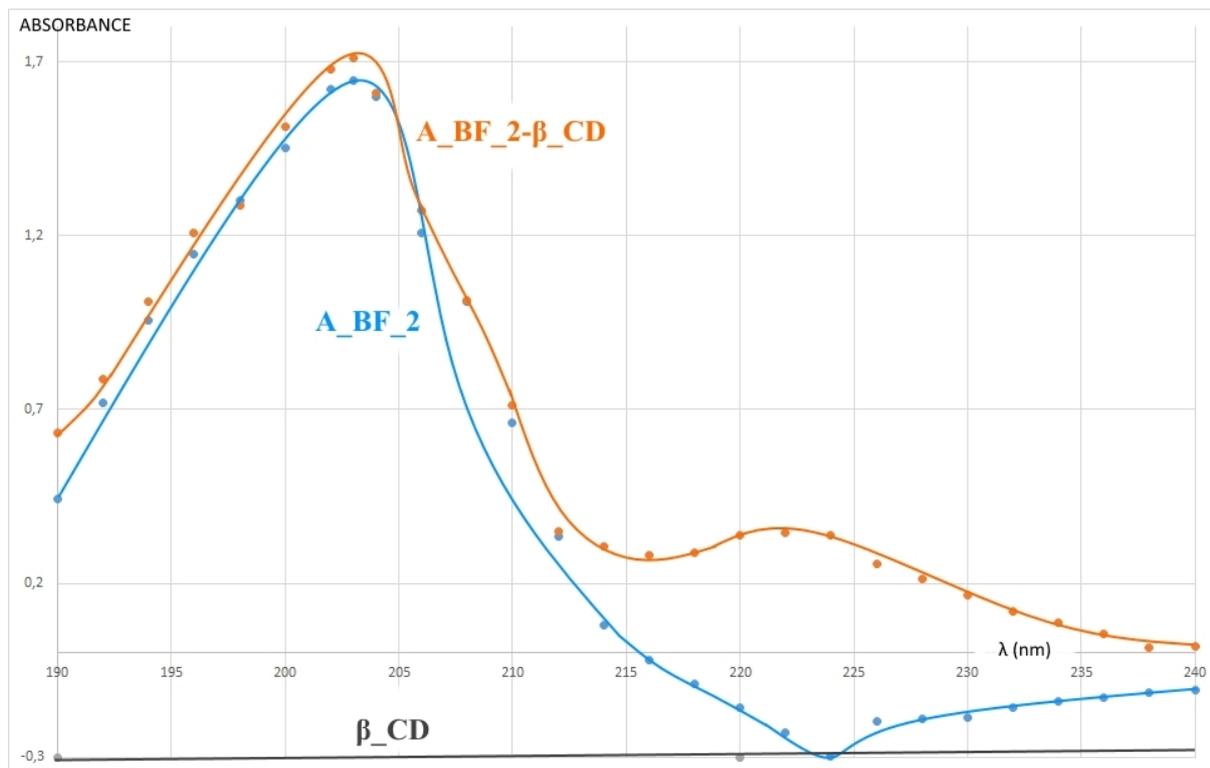


Figure 28: Spectre d'absorption de A\_BF2, A\_BF2-  $\beta$ \_CD et de la  $\beta$ \_CD.

Tableau 7: absorbances UV de de A\_BF2 et de A\_BF2-  $\beta$ \_CD.

$\lambda$ (nm)	A A_BF2	A Complexe	$\lambda$ (nm)	A A_BF2	A Complexe
190	0,444	0,635	216	-0,021	0,28
192	0,72	0,789	218	-0,088	0,288
194	0,957	1,011	220	-0,155	0,34
196	1,147	1,208	222	-0,23	0,348
198	1,302	1,288	224	-0,296	0,338
200	1,451	1,512	226	-0,195	0,256
202	1,62	1,677	228	-0,19	0,213
203	1,647	1,712	230	-0,186	0,168
204	1,6	1,609	232	-0,156	0,12
206	1,208	1,272	234	-0,14	0,089
208	1,012	1,015	236	-0,128	0,055
210	0,662	0,712	238	-0,112	0,017
212	0,336	0,35	240	-0,105	0,021
214	0,081	0,307			

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

La courbe de Job, n'est pas révélatrice d'aucune notion sur la stœchiométrie. L'obtention d'une telle allure s'explique par le fait que l'équilibre de la complexation n'est pas encore atteint, ce dernier dépend de chaque molécule et il peut varier de quelques minutes à quelques jours voire des mois. Cette allure indique aussi l'existence de plusieurs modes d'inclusion.

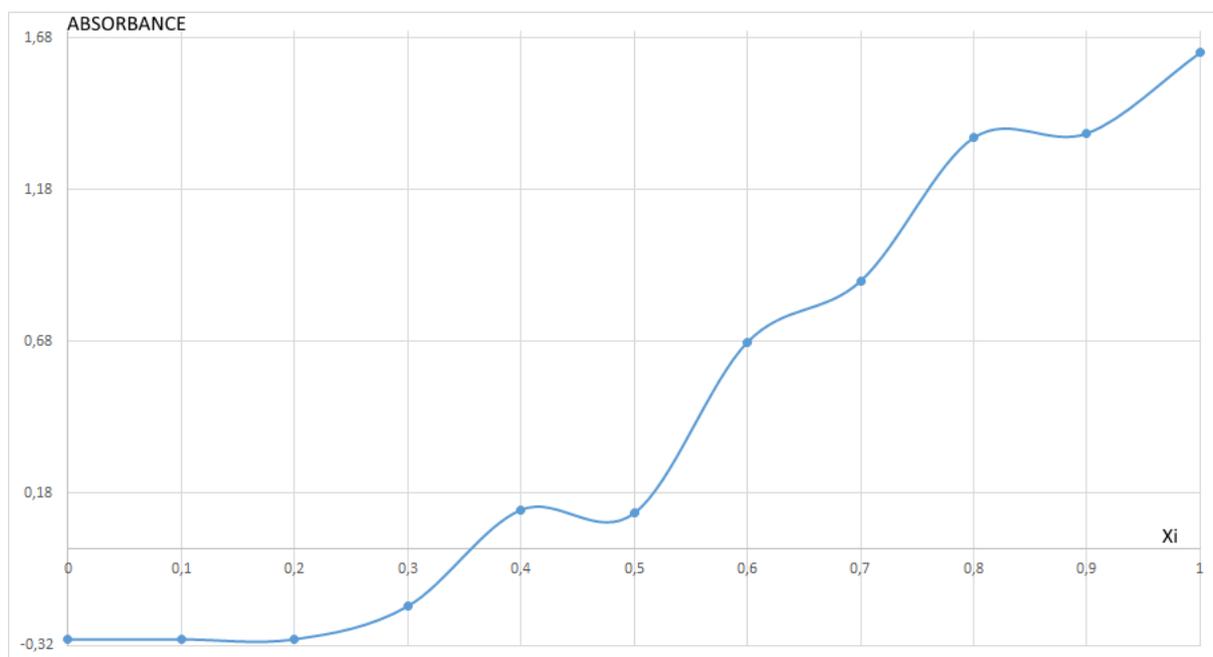


Figure 29: Courbe de job du complexe A\_BF2-  $\beta$ -CD.

De plus, la courbe de Job confirme bien la figure 28, dans laquelle l'absorbance du complexe est plus élevée que celle de l'analogue seul. Même remarque pour la courbe de Job, où en dehors de l'équilibre de complexation, l'ajout de la  $\beta$ -CD augmente l'absorbance.

Tableau 8: Absorbances UV du complexe A\_BF2-  $\beta$ -CD à différentes proportions.

N° flacon	V A_BF_2 ( $\mu$ L)	V $\beta$ -CD ( $\mu$ L)	[A_BF_2] (M)	[ $\beta$ -CD] (M)	$\xi_i$	A à $\lambda = 203$ nm
1	0	2000	0	$2,5 \times 10^{-5}$	0	-0,3
2	200	1800	$2,5 \times 10^{-6}$	$2,25 \times 10^{-5}$	0,1	-0,3
3	400	1600	$5 \times 10^{-6}$	$2 \times 10^{-5}$	0,2	-0,3
4	600	1400	$7,5 \times 10^{-6}$	$1,75 \times 10^{-5}$	0,3	-0,191
5	800	1200	$1 \times 10^{-5}$	$1,5 \times 10^{-5}$	0,4	0,126
6	1000	1000	$1,25 \times 10^{-5}$	$1,25 \times 10^{-5}$	0,5	0,115
7	1200	800	$1,5 \times 10^{-5}$	$1 \times 10^{-5}$	0,6	0,678
8	1400	600	$1,75 \times 10^{-5}$	$7,5 \times 10^{-6}$	0,7	0,879
9	1600	400	$2 \times 10^{-5}$	$5 \times 10^{-6}$	0,8	1,351
10	1800	200	$2,25 \times 10^{-5}$	$2,5 \times 10^{-6}$	0,9	1,365
11	2000	0	$2,5 \times 10^{-5}$	0	1	1,631

### 3. Détermination de $K_a$

Ici même pour le calcul de  $k_a$ , on voit bien que les points ne sont pas linéaires (figure 30) vu que la molécule invitée est en échange rapide entre les deux formes libre et encapsulée. Mais ceci ne nous empêche pas d'estimer la valeur de cet échange.

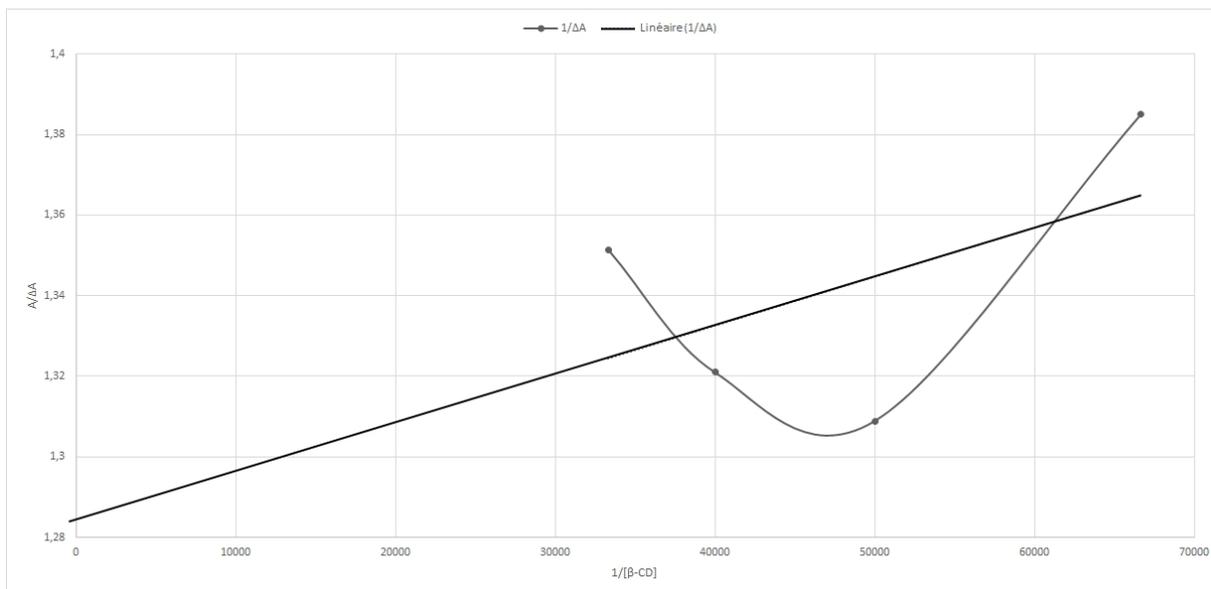


Figure 30: Courbe  $K_a$  du complexe  $A\_BF2 \beta\_CD$ .

Suivant la méthode de Benesis-Hildebrand, on obtient graphiquement :

$$y_2 = (10^{-6})x + 1,2838 \dots \dots (3)$$

$$\Delta \epsilon_2 = 3,11575 \cdot 10^4$$

$$K_{a2} = 1,2838 \cdot 10^6 M^{-1}$$

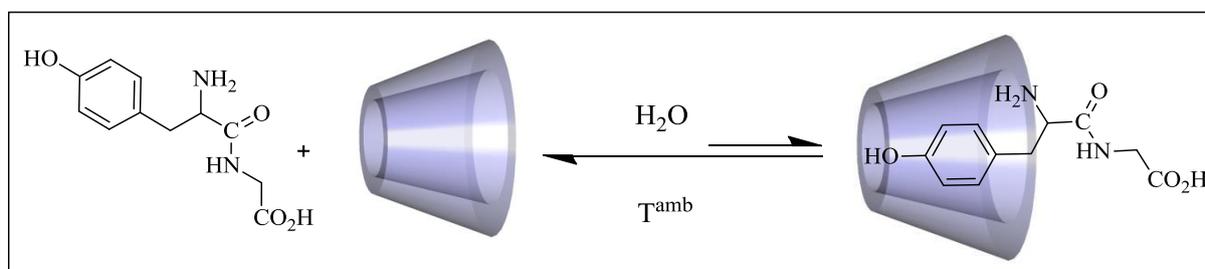


Schéma 34 : Complexation de  $A\_BF2$  avec la  $\beta\_CD$  dans l'eau

Tableau 9 : Absorbances UV du complexe  $A\_BF2-\beta\_CD$  à différentes concentrations de la  $\beta\_CD$ .

V $A\_BF\_2$ (mL)	V $\beta\_CD$ (mL)	[ $A\_BF\_2$ ] (mol/L)	[ $\beta\_CD$ ] (mol/L)	1/[ $\beta\_CD$ ] (L/mol)	A	$\Delta A$	1/ $\Delta A$
2	2	0,0000125	0,00003	<b>33333,3333</b>	0,27	0,74	<b>1,35135135</b>
2	2	0,0000125	0,000025	<b>40000</b>	0,253	0,757	<b>1,32100396</b>
2	2	0,0000125	0,00002	<b>50000</b>	0,246	0,764	<b>1,30890052</b>
2	2	0,0000125	0,000015	<b>66666,666</b>	0,288	0,722	<b>1,3850415</b>
4	0	0,000025	0	$\infty$	1,01	0	$\infty$

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

Bien qu'il soit difficile de donner une géométrie du complexe d'inclusion, sans avoir recours à la méthode la plus judicieuse qui est le ROESY, nous n'allons émettre que des hypothèses, en ne se basant pour un premier temps que sur nos résultats UV, et essentiellement sur la courbe de complexation qui reflète l'augmentation de l'absorbance du complexe par rapport à la molécule invitée.

Cette observation laisse prédire l'encapsulation de la chaîne aliphatique de A\_BF\_2 et non pas du groupe aromatique qui possède la conjugaison. Mais à ce niveau, une étude uniquement par UV ne nous permet pas d'exclure l'existence d'une deuxième possibilité d'inclusion à un faible pourcentage, et nous proposons les deux structures suivantes :

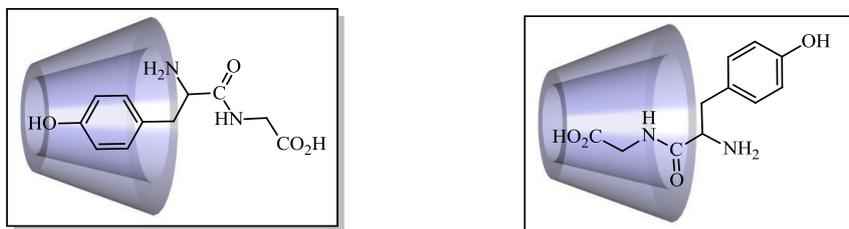


Figure 31: Deux géométries possibles pour le complexe d'inclusion A\_BF\_2-β-CD.

## C. A\_BF\_3-β-CD

### 1. Détermination de la complexation :

En suivant la même méthode employée pour les autres complexes, deux solutions à  $5 \times 10^{-5} M$ , contenant la molécule invitée, et la β-CD respectivement, ont été préparées. Ces solutions ont été analysées dans l'intervalle [190-400nm], ainsi que le mélange des deux, pour aboutir aux spectres suivants :

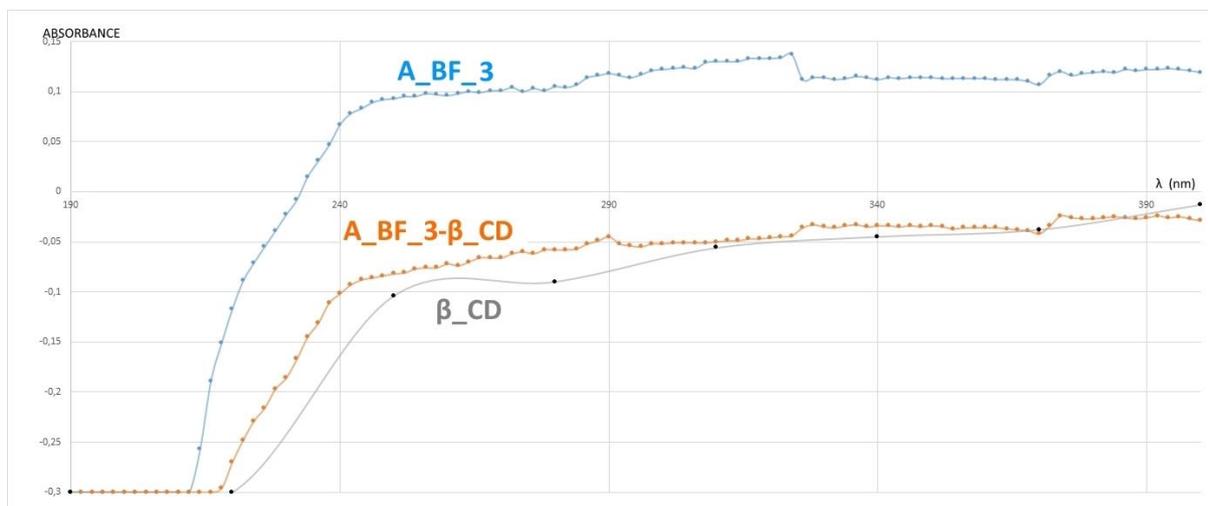


Figure 32: Spectre d'absorption de A\_BF3, A\_BF3-β-CD et de la β-CD.

La présence des différents groupes chromophores font que la molécule A\_BF\_3 absorbe bien dans cet intervalle, ce qui est confirmé dans le spectre. Cette absorbance a chuté lors de l'analyse du complexe, ce qui prouve clairement qu'il y'a complexation, et que les groupes chromophores de la molécule invitée sont bien encapsulés à l'intérieur de la cavité hydrophobe de la CD.

Tableau 10 Absorbances UV de de A\_BF3 et de A\_BF3-β\_CD.

λ (nm)	A A_BF3	A Complexe	λ (nm)	A A_BF3	A Complexe
190	-0,3	-0,3	296	0,117	-0,055
192	-0,3	-0,3	298	0,121	-0,052
194	-0,3	-0,3	300	0,122	-0,052
196	-0,3	-0,3	302	0,123	-0,051
198	-0,3	-0,3	304	0,124	-0,051
200	-0,3	-0,3	306	0,123	-0,051
202	-0,3	-0,3	308	0,129	-0,051
204	-0,3	-0,3	310	0,13	-0,05
206	-0,3	-0,3	312	0,13	-0,049
208	-0,3	-0,3	314	0,13	-0,049
210	-0,3	-0,3	316	0,133	-0,047
212	-0,3	-0,3	318	0,133	-0,047
214	-0,257	-0,3	320	0,133	-0,046
216	-0,189	-0,3	322	0,134	-0,045
218	-0,151	-0,296	<b>324</b>	<b>0,137</b>	-0,044
220	-0,117	-0,27	326	0,112	-0,036
222	-0,089	-0,248	328	0,114	-0,033
224	-0,071	-0,229	330	0,114	-0,035
226	-0,055	-0,216	332	0,112	-0,036
228	-0,039	-0,197	334	0,113	-0,034
230	-0,023	-0,186	336	0,115	-0,033
232	-0,008	-0,167	338	0,114	-0,035
234	0,015	-0,145	340	0,112	-0,034
236	0,031	-0,131	342	0,114	-0,034
238	0,047	-0,111	344	0,113	-0,035
240	0,067	-0,102	346	0,114	-0,034
242	0,078	-0,093	348	0,114	-0,035
244	0,083	-0,088	350	0,114	-0,034
246	0,089	-0,086	352	0,113	-0,035
248	0,092	-0,084	354	0,113	-0,037
250	0,093	-0,082	356	0,113	-0,036
252	0,095	-0,081	358	0,113	-0,036
254	0,095	-0,077	360	0,113	-0,036
256	0,098	-0,076	362	0,112	-0,036
258	0,097	-0,076	364	0,112	-0,037
260	0,096	-0,072	366	0,112	-0,038
262	0,098	-0,074	368	0,11	-0,039
264	0,1	-0,07	370	0,107	-0,042
266	0,099	-0,066	372	0,116	-0,034
268	0,101	-0,066	374	0,12	-0,024
270	0,101	-0,066	376	0,116	-0,026
272	0,104	-0,062	378	0,118	-0,027
274	0,1	-0,06	380	0,119	-0,027

276	0,103	-0,062	382	0,12	-0,026
278	0,101	-0,058	384	0,119	-0,025
280	0,105	-0,058	386	0,122	-0,026
282	0,104	-0,058	388	0,121	-0,027
284	0,107	-0,057	390	0,122	-0,026
286	0,114	-0,052	392	0,122	-0,024
288	0,116	-0,049	394	0,123	-0,026
290	0,118	-0,045	396	0,122	-0,025
292	0,116	-0,052	398	0,121	-0,027
294	0,114	-0,054	400	0,119	-0,029

## 2. Détermination de la stœchiométrie (courbe de Job)

Nous avons donc préparés 11 solutions filles, à partir des deux solutions mères, préalablement préparées d'A\_BF<sub>3</sub> et de  $\beta$ \_CD, en différentes proportions pour atteindre le volume final constant de 2 ml. On a laissé les solutions durant 18h pour une complexation optimale, et les résultats de l'analyse UV de ces différentes solutions à  $\lambda_{\text{max}} = 200 \text{ nm}$  nous permettent de tracer la courbe suivante :

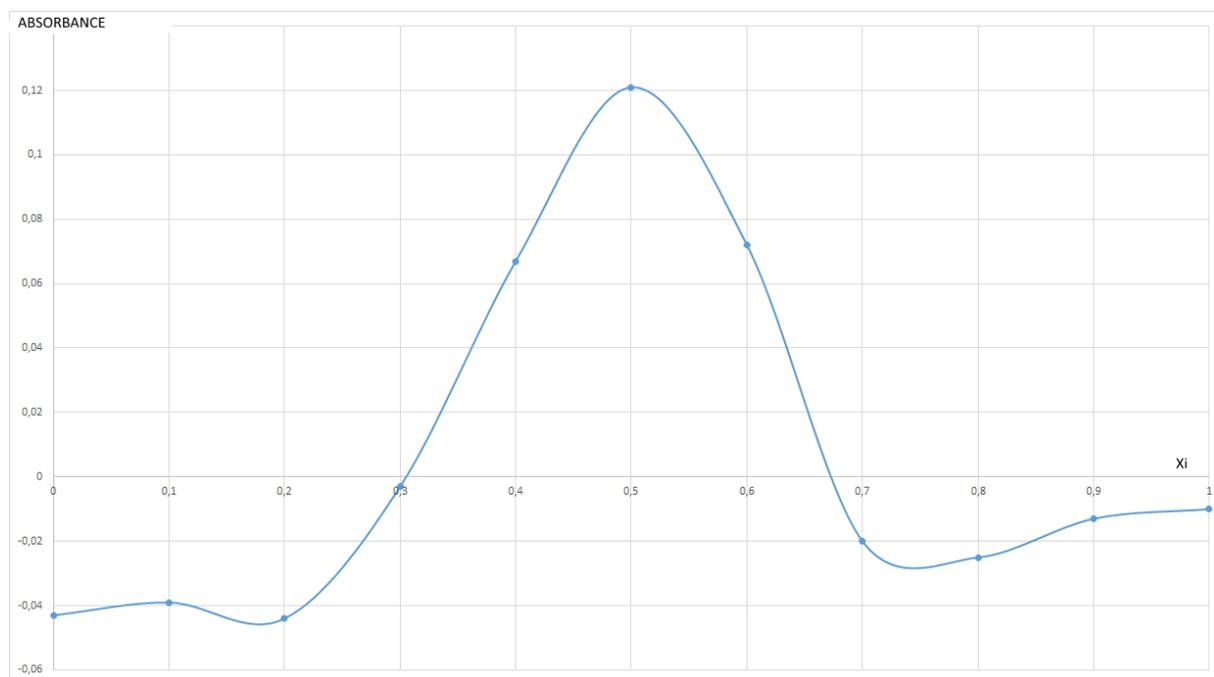


Figure 33: Courbe de job du complexe A\_BF<sub>3</sub>- $\beta$ \_CD.

Selon la courbe de Job,  $r=0,5$ , ce qui montre que le complexe est formé selon une stœchiométrie 1:1.

Tableau 11 Absorbances UV du complexe A\_BF3-β\_CD à différentes proportions

N° flacon	V A_BF_3 (μL)	V β_CD (μL)	[A_BF_3] (M)	[β_CD] (M)	Xi	A à λ = 324 nm
1	0	2000	0	5x10 <sup>-5</sup>	0	-0,043
2	200	1800	5x10 <sup>-6</sup>	4,5x10 <sup>-5</sup>	0,1	-0,039
3	400	1600	1x10 <sup>-5</sup>	4x10 <sup>-5</sup>	0,2	-0,044
4	600	1400	1,5x10 <sup>-5</sup>	3,5x10 <sup>-5</sup>	0,3	-0,003
5	800	1200	2x10 <sup>-5</sup>	3x10 <sup>-5</sup>	0,4	0,067
6	1000	1000	2,510 <sup>-5</sup>	2,5x10 <sup>-5</sup>	0,5	0,121
7	1200	800	3x10 <sup>-5</sup>	2x10 <sup>-5</sup>	0,6	0,072
8	1400	600	3,5x10 <sup>-5</sup>	1,5x10 <sup>-5</sup>	0,7	-0,02
9	1600	400	4x10 <sup>-5</sup>	1x10 <sup>-5</sup>	0,8	-0,025
10	1800	200	4,5x10 <sup>-5</sup>	5x10 <sup>-6</sup>	0,9	-0,013
11	2000	0	5x10 <sup>-5</sup>	0	1	-0,01

### 3. Détermination de K<sub>a</sub>

Ici, pour le calcul de ka, on voit bien que les points sont bien linéaires (figure 34), ceci s'explique par le fait que la molécule invitée et la β\_CD forment un complexe d'une stabilité importante.

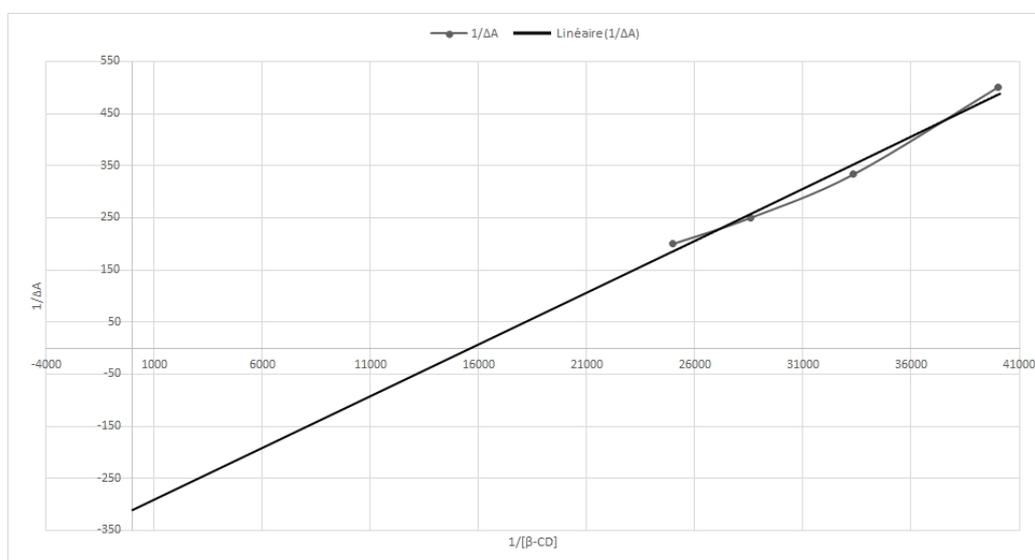


Figure 34: Courbe K<sub>a</sub> du complexe A\_BF3-β\_CD.

Afin d'estimer la valeur de cet échange, nous nous sommes basés sur la technique de Benesi-Hildebrand, expliquée auparavant. On aura donc, graphiquement :

$$y_3 = 0,0201x - 317,22 \dots \dots (4)$$

$$\Delta\epsilon_3 = 63,05$$

$$K_{a3} = 1,5782 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1}$$

Tableau 12 : Absorbances UV du complexe A\_BF3- $\beta$  CD à différentes concentrations de la  $\beta$  CD.

V A_BF_3 (mL)	V $\beta$ _CD (mL)	[A_BF_3] (mol/L)	[ $\beta$ _CD] (mol/L)	1/[ $\beta$ _CD] (L/mol)	A	$\Delta$ A	1/ $\Delta$ A
2	2	0,000025	0,00004	<b>25000</b>	-0,052	0,005	<b>200</b>
2	2	0,000025	0,000035	<b>28571,42857</b>	-0,051	0,004	<b>250</b>
2	2	0,000025	0,00003	<b>33333,33333</b>	-0,05	0,003	<b>333,3333</b>
2	2	0,000025	0,000025	<b>40000</b>	-0,049	0,002	<b>500</b>
4	0	0,00005	0	$\infty$	-0,047	0	$\infty$

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

Bien qu'il soit difficile de donner une géométrie du complexe d'inclusion, sans avoir recours à la RMN 2D, nous allons nous baser sur la courbe de complexation, qui montre une diminution de l'absorbance suite à l'inclusion de A\_BF\_3 dans la CD, ce qui prouve l'encapsulation du groupe aromatique qui absorbe le plus, faisant ainsi chuter l'absorbance.

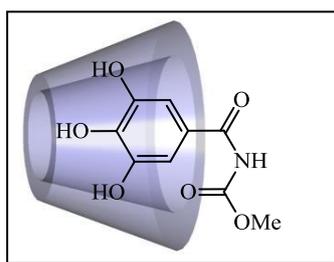


Figure 35 : Complexe d'inclusion A\_BF\_3- $\beta$ -CD.

#### D. A\_BF\_5- $\beta$ \_CD

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

Pour cette étude, nous avons préparés une solution mère de A\_BF\_5 d'une part, et solution mère de  $\beta$ \_CD d'autre part, chacune à une concentration de  $1,25 \times 10^{-5}$  M. Ensuite, on enregistre les spectres UV dans l'intervalle [190-230nm], de chacune des solutions individuellement dans l'eau, et puis du mélange équimolaire des deux solutions (Figure 36).

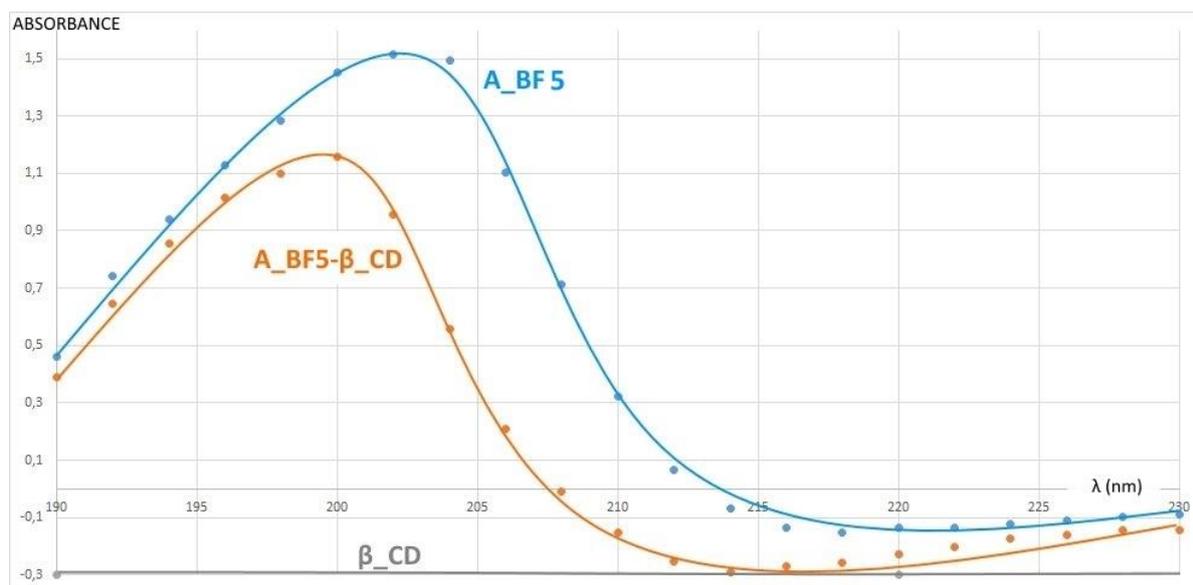


Figure 36: Spectre d'absorption de A\_BF5, A\_BF5-β<sub>CD</sub> et de la β<sub>CD</sub>.

La présence des différents groupes chromophores font que la molécule A\_BF\_5 absorbe bien dans cet intervalle, ce qui est confirmé dans le spectre. Cette absorbance a chuté lors de l'analyse du complexe, ce qui prouve clairement qu'il y'a complexation, et que les groupes chromophores de la molécule invitée sont bien encapsulés à l'intérieur de la cavité hydrophobe de la CD.

Je précise qu'à la solution aqueuse de A\_BF\_5 ont été ajoutés quelques gouttes d'une solution de LiOH 1N afin de solubiliser le composé.

Tableau 13 : Absorbances UV de de A\_BF5 et de A\_BF5-β<sub>CD</sub>.

λ (nm)	A A_BF5	A Complexe	λ (nm)	A A_BF5	A Complexe
190	0,46	0,391	216	-0,133	-0,27
192	0,741	0,647	218	-0,151	-0,257
194	0,941	0,856	220	-0,137	-0,228
196	1,129	1,016	222	-0,137	-0,203
198	1,284	1,099	224	-0,124	-0,173
200	1,452	1,16	226	-0,108	-0,16
202	1,516	0,957	228	-0,098	-0,145
204	1,494	0,559	230	-0,09	-0,144

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

En suivant la méthode des variations continues, nous avons préparé 11 solutions filles, à partir des deux solutions mères préalablement préparées de A\_BF\_5 et de β<sub>CD</sub>, en différentes proportions pour atteindre un volume final constant de 2 ml. On a laissé les solutions durant 18h pour une complexation optimale, et les résultats de l'analyse UV de ces différentes solutions à λ<sub>max</sub> = 200 nm nous permettent de tracer la courbe suivante :

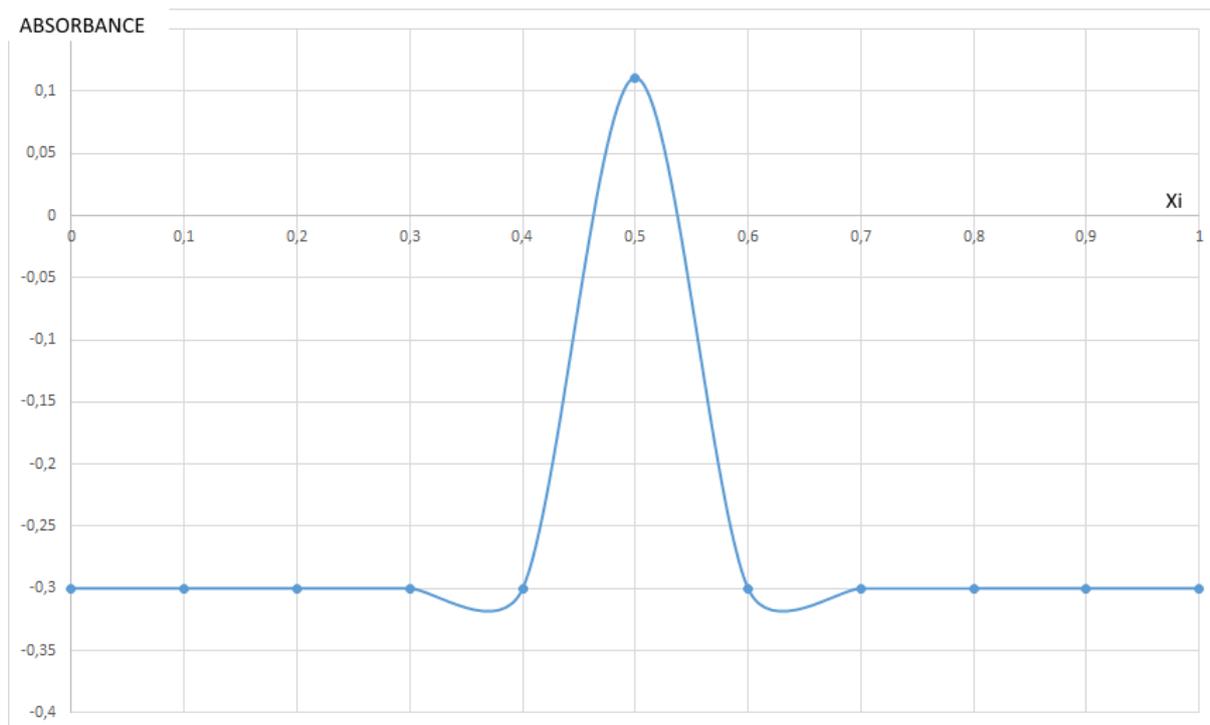


Figure 37: Courbe de job du complexe A\_BF5-  $\beta$ \_CD.

Selon la courbe de Job,  $r=0,5$ , ce qui montre que le complexe est formé selon une stœchiométrie 1:1.

Tableau 14 : Absorbances UV du complexe A\_BF5-  $\beta$ \_CD à différentes proportions.

N° flacon	V A_BF_5 ( $\mu$ L)	V $\beta$ _CD ( $\mu$ L)	[A_BF_5] (M)	[ $\beta$ _CD] (M)	Xi	A à $\lambda = 200$ nm
1	0	2000	0	$1,25 \times 10^{-5}$	<b>0</b>	<b>-0,3</b>
2	200	1800	$1,25 \times 10^{-6}$	$1,125 \times 10^{-5}$	<b>0,1</b>	<b>-0,3</b>
3	400	1600	$2,5 \times 10^{-6}$	$1 \times 10^{-5}$	<b>0,2</b>	<b>-0,3</b>
4	600	1400	$3,75 \times 10^{-6}$	$8,75 \times 10^{-6}$	<b>0,3</b>	<b>-0,3</b>
5	800	1200	$5 \times 10^{-6}$	$7,5 \times 10^{-6}$	<b>0,4</b>	<b>-0,3</b>
6	1000	1000	$6,25 \times 10^{-6}$	$6,25 \times 10^{-6}$	<b>0,5</b>	<b>0,111</b>
7	1200	800	$7,5 \times 10^{-6}$	$5 \times 10^{-6}$	<b>0,6</b>	<b>-0,3</b>
8	1400	600	$8,75 \times 10^{-6}$	$3,75 \times 10^{-6}$	<b>0,7</b>	<b>-0,3</b>
9	1600	400	$1 \times 10^{-5}$	$2,5 \times 10^{-6}$	<b>0,8</b>	<b>-0,3</b>
10	1800	200	$1,125 \times 10^{-5}$	$1,25 \times 10^{-6}$	<b>0,9</b>	<b>-0,3</b>
11	2000	0	$1,25 \times 10^{-5}$	0	<b>1</b>	<b>-0,3</b>

### 3. Détermination de $K_a$ :

Ici, pour le calcul de  $k_a$ , on voit bien que les points sont d'une certaine linéarité (figure 38), ceci explique que molécule invitée et la  $\beta$ \_CD forment un complexe d'une stabilité moindre que les deux premiers achevés.

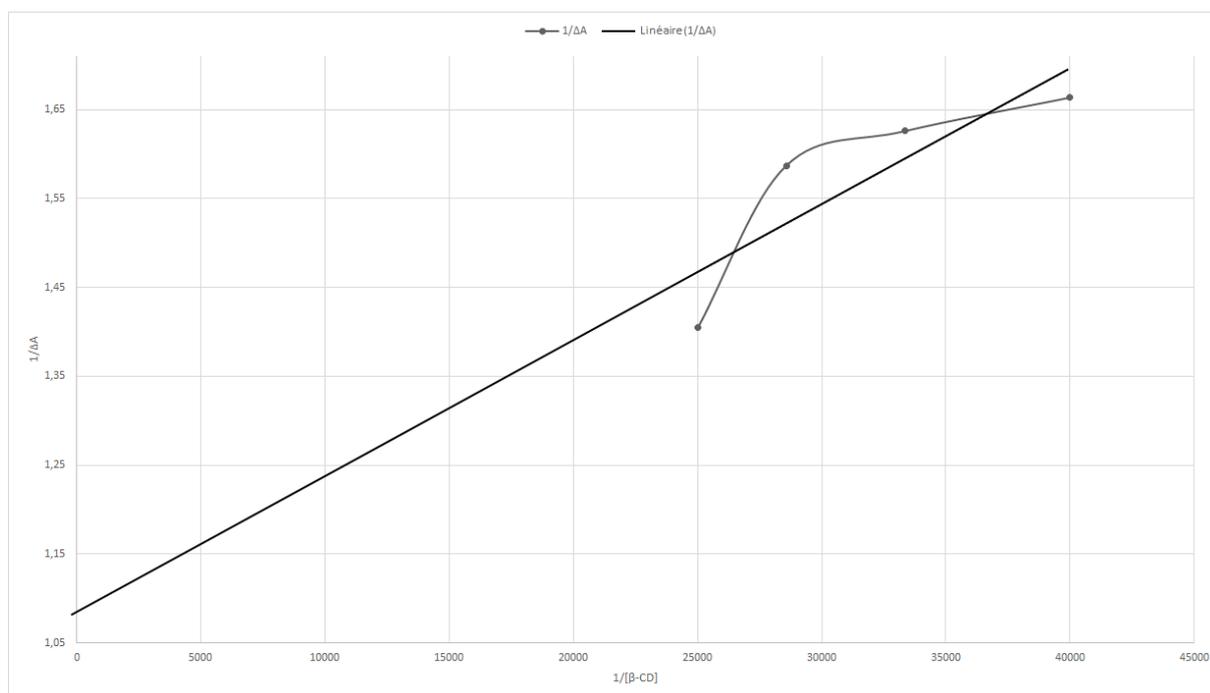


Figure 38 : Courbe  $K_a$  du complexe  $A\_BF5\ \beta\_CD$ .

Afin d'estimer la valeur de cet échange, nous nous sommes basés sur la technique de Benesi-Hildebrand, expliquée auparavant. On aura donc, graphiquement :

$$y_5 = (2 \times 10^{-5})x + 1,0865 \dots \dots (5)$$

$$\Delta \varepsilon_5 = 7,363092 \cdot 10^4$$

$$K_{a5} = 5,4325 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1}$$

Tableau 15: Absorbances UV du complexe  $A\_BF5-\beta\_CD$  à différentes concentrations de la  $\beta\_CD$ .

V $A\_BF\_5$ (mL)	V $\beta\_CD$ (mL)	[ $A\_BF\_5$ ] (mol/L)	[ $\beta\_CD$ ] (mol/L)	1/[ $\beta\_CD$ ] (L/mol)	A	$\Delta A$	1/ $\Delta A$
2	2	0,00000625	0,00004	<b>25000</b>	0,756	0,712	<b>1,40449</b>
2	2	0,00000625	0,000035	<b>28571,42857</b>	0,838	0,63	<b>1,5873</b>
2	2	0,00000625	0,00003	<b>33333,33333</b>	0,853	0,615	<b>1,62602</b>
2	2	0,00000625	0,000025	<b>40000</b>	0,867	0,601	<b>1,66389</b>
4	0	0,0000125	0	$\infty$	1,467	0,001	<b>1000</b>

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

Bien qu'il soit difficile de donner une géométrie du complexe d'inclusion, sans avoir recours à la RMN à 1D et 2D, nous allons nous baser pour un premier temps sur nos résultats UV, et proposerons la structure suivante :

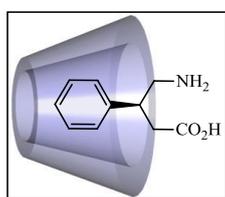


Figure 39 : Complexe d'inclusion  $A\_BF\_5-\beta\_CD$ .

## CONCLUSION GÉNÉRALE

Au cours de ce travail, nous avons élaboré pour la première fois des complexes d'inclusion à base des analogues de BF et de la  $\beta$ -CD en milieu aqueux. Pour cela, nous avons adopté une stratégie qui consistait à synthétiser les analogues du BF par des procédés simples et à en étudier la capacité à former des complexes d'inclusion par la spectroscopie UV.

Notre étude a visé à améliorer la vectorisation et la biodisponibilité du BF à travers la synthèse de nouveaux analogues selon plusieurs approches, notamment en couplant deux amino acides, un phénol et un amino acide par l'établissement de liaisons amide, et en greffant un motif sucre sur le phénol. Ce qui a engendré des analogues qui diffèrent par la présence ou non du groupe aromatique et le type de fonctionnalisation sur ce dernier.

Dans un second temps, afin de palier au problème du BF racémique nous avons synthétisé un analogue chiral, en mettant en œuvre un schéma de synthèse simple basé sur la réaction d'addition de Michaël pour la création du centre chiral dans la structure de l'analogue cible. Ce dernier ne diffère du BF initial que par l'absence du chlore sur le cycle aromatique.

Nous terminons, notre projet par la complexation des analogues synthétisés avec la  $\beta$ -CD naturelle, qui consiste principalement à améliorer le ciblage moléculaire de notre principe actif.

## PERSPECTIVES

Ceci n'est qu'une initiation, ou une partie d'un gros travail qui reste à faire, d'autres études seraient utiles pour affirmer nos résultats : Tout d'abord réaliser les analyses RMN à 1D, 2D et HPLC de nos produits synthétisés ; ainsi que l'élucidation de la géométrie de complexes par ROESY et NOE.

Quant à l'évaluation de l'activité biologique, nous espérons pouvoir étendre le spectre des investigations au-delà de l'évaluation de l'activité anti-craving des analogues BF seuls mais aussi des complexes à base de la cyclodextrine pour mettre en lumière l'apport des cyclodextrines, tout en étant conscient qu'il faudra vaincre ou minimiser les effets secondaires de la cyclodextrine. C'est pour ça nous envisageons dans la continuité de ce travail de développer de nouvelles molécules hôtes à nos analogues du BF qui sont les cyclodextrines amphiphiles, dotées des propriétés d'auto-organisation dans l'eau ce qui engendre

généralement la complexation sous forme de nanoparticules, assurant une libération contrôlée du principe actif et une meilleur vectorisation.

Le schéma à suivre pour la synthèse de ces nouvelles structures, ainsi que pour étudier leur complexation ultérieure avec nos analogues du BF par RMN 1D et 2D, est le suivant :

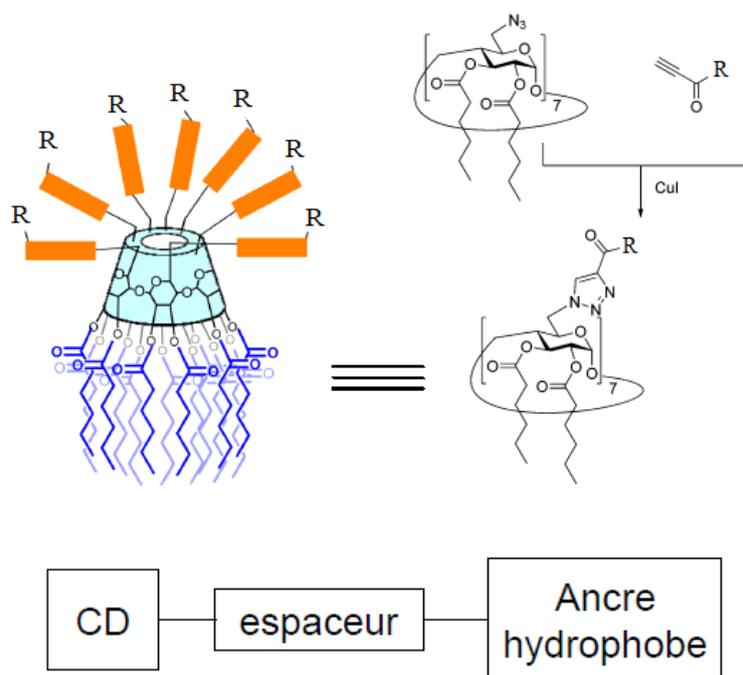


Schéma 35 : Structure générale des CD amphiphiles cibles

D'autre part une étude préalable de simulation moléculaire, entre le récepteur GABA<sub>B</sub> et de nouveaux analogues du BF, est indispensable avant de passer à la paillasse pour la synthèse. Nos idées portent sur les structures suivantes :

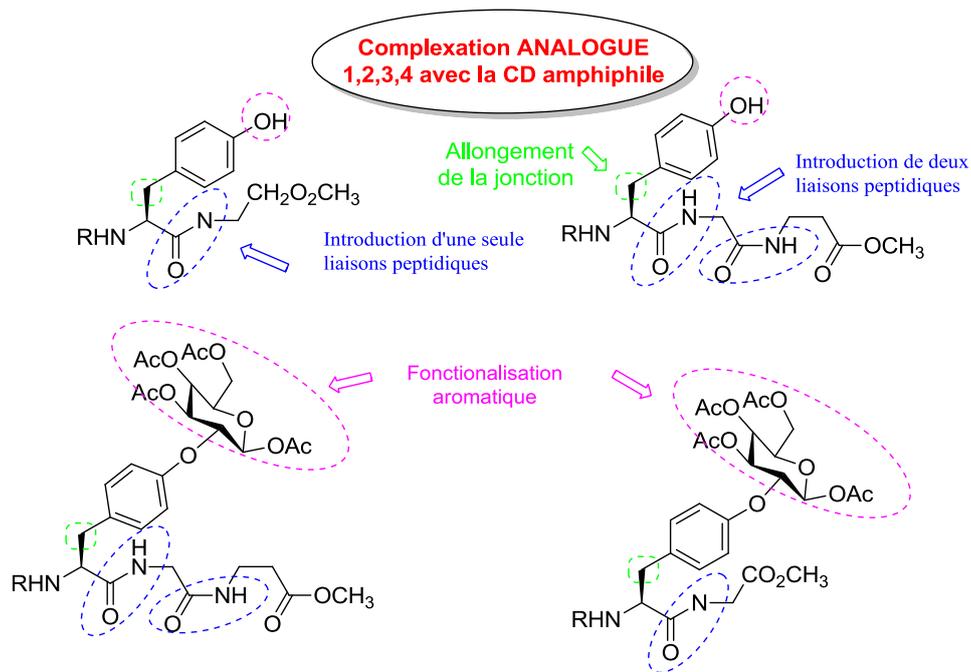


Schéma 36 : synthèse d'analogues en prenant en considération le nombre de liaison peptidique introduite.

D'autres analogues peuvent être envisagés, en jouant sur la présence ou non du groupe aromatique.

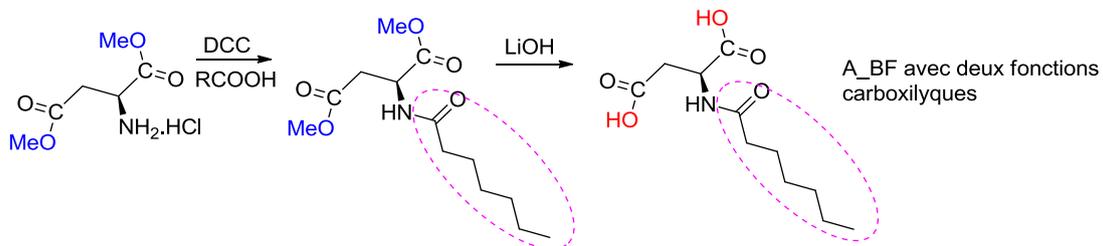


Schéma 37: Synthèse d'analogue BF sans groupe aromatique et sans groupe amino.

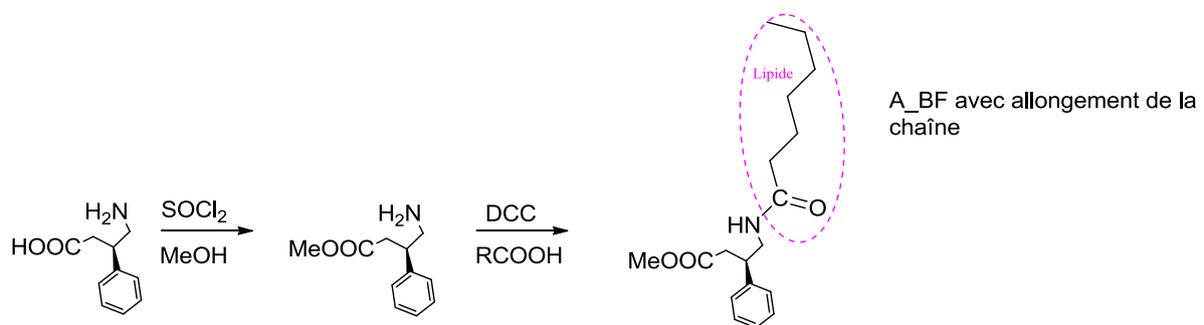


Schéma 38: Synthèse d'analogue BF en couplant avec un lipide la fonction amino.

## **PARTIE EXPERIMENTALE**

### **Indications générales :**

Au cours de notre travail, les manipulations et analyses ont été réalisées dans le laboratoire de Chimie Organique, Substances Naturelles et Analyses (COSNA), et les analyses IR au Laboratoire des Substances Naturelles et Bioactives (LASNABIO), de l'Université Aboubakr Belkaid-Tlemcen.

### **Matériel et méthodes :**

#### **A. Produits chimiques et solvants :**

Les réactifs et les solvants de réaction proviennent des sociétés Sigma-Aldrich. Ils ont été utilisés sans traitement spécifique, sauf précision. Les solvants nécessitant une utilisation dans des conditions anhydres sont distillés. Les solvants ou réactifs utilisés au cours des différentes réactions ont été distillés à pression atmosphérique et séchés selon le cas.

#### **B. Chromatographie :**

Chromatographie sur Couche Mince (CCM), réalisée sur des plaques de 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 (9/1).

#### **C. Infra rouge et points de fusion :**

##### **1. Infra-Rouge**

Les analyses dans l'infrarouge (IR) ont été effectuées au centre de mesures du laboratoire (LASNABIO). Les échantillons étaient traités sous forme de pastilles de KBr. Les principales fréquences d'absorption sont données en nombre d'onde (cm<sup>-1</sup>).

##### **2. Points de fusion**

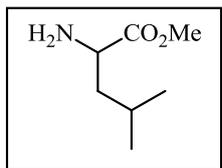
Les points de fusion sont déterminés sur un fusionomètre digital de la série IA9200 d'Electrothermal au laboratoire (COSNA).

#### **D. UV-Visible :**

Les analyses UV, réalisées lors de cette étude ont été effectuées au laboratoire (COSNA) sur un spectrophotomètre Thermo-Scientific Helios  $\gamma$ .

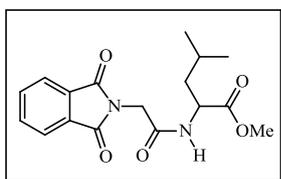
## I. Acide 2-(2-(1,3-dioxisoindolin-2-yl)acétamido)-4-méthylpentanoïque

### A. 2-amino-4-méthylpentanoate de méthyle (2) :



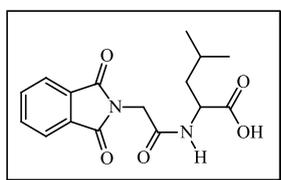
A une solution de chlorhydrate de Leucine-CO<sub>2</sub>Me, (1,11g, 6,1 mmol) dans le dichlorométhane (40ml), on ajoute (1,24ml, 1,5eq) de TEA goutte à goutte et on laisse réagir sous agitation et à température ambiante pendant 45 minutes. L'ajout de la TEA formait une pâte au début, indiquant sa réaction avec HCl. À la fin de la réaction, on récupère un liquide blanc opaque, que l'on filtre par la suite. Après filtration, on évapore le solvant (DCM, T<sub>eb</sub> = 40°C) sous vide, et on récupère (0,88g, 99,49%) de Leu-CO<sub>2</sub>Me. **Formule brute:** C<sub>7</sub>H<sub>15</sub>NO<sub>2</sub>; **MM** = 145,1 g.mol<sup>-1</sup>; **Rendement:** 99,49%.

### B. 2-(2-(1,3-dioxisoindolin-2-yl)acétamido)-4-méthylpentanoate de méthyle (4) :



On dissout (0,88g, 6,1mmol) de L-Leu-CO<sub>2</sub>Me et (1,25g, 1eq) de N-Ft-Glycine dans 20ml de DCM, le tout dans notre ballon réactionnel, on y ajoute ensuite goutte à goutte (1,26g, 1eq) de DCC, dissouts dans un petit volume de DCM. On laisse réagir pendant 24h à TA. On filtre et on évapore à pression réduite et on obtient (1,89g, 93,1%) d'un solide blanc. **Formule brute:** C<sub>17</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>; **MM** = 332,4 g.mol<sup>-1</sup>; **Rendement:** 93,1% ; **CCM:** R<sub>f</sub> = 0,86 (éluant: MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:9)); **Pf** = 181,3°C ; **I.R(cm<sup>-1</sup>)** : 3313,09 NH (amide), 1662,85 C=O (amide), 1773,59 C=O (phthalimido), 1717,45 C=O (ester), 1114,54 C-O (ester).

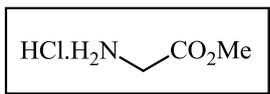
### C. Acide 2-(2-(1,3-dioxisoindolin-2-yl)acétamido)-4-méthylpentanoïque (5) :



Dans un mélange THF:Eau (2:1) on dissout (1,89g, 57mmol) de notre dipeptide protégé, auxquels on ajoute à 0°C (5,7ml, 1eq) de solution LiOH 1N. On laisse réagir pendant 4h, ensuite on lave la solution avec l'acétate d'éthyle, ensuite on acidifie la phase aqueuse avec une solution de HCl 1N jusqu'à pH=1, et on l'extrait avec l'acétate d'éthyle, qu'on lave enfin avec une solution saturée de NaCl. On sèche et on évapore sous vide, et on obtient (1,02g, 56,35%) de notre premier analogue. **Formule brute:** C<sub>16</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub> ; **MM** = 218,3 g.mol<sup>-1</sup>; **Rendement:** 56,35 % ; **CCM:** R<sub>f</sub> = 0,35 (éluant: MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:9)); **I.R(cm<sup>-1</sup>)** : 3340,92 NH (amide), 3340,92 OH (acide carboxylique), 1239,98 =C-O (acide carboxylique), 1710 -C=O (acide carboxylique), 1653,16 C=O (amide), 1770 C=O (phthalimido).

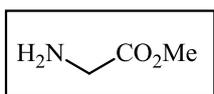
## II. Acide 2-(2-amino-3-(4-hydroxyphenyl)propanamido)acétique:

### A. Le chlorhydrate de 2-aminoacétate de méthyle (7) :



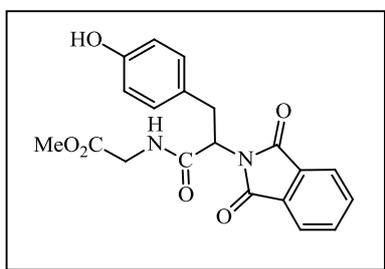
Sous atmosphère d'azote et à ( $T=0^{\circ}\text{C}$ ) on additionne du chlorure d'acétyl (7,98ml, 1,2eq) à 40ml de MeOH froid, auxquels on ajoute la glycine (7g, 93mmol). On note une solubilisation instantanée. Après 30 minutes, on porte le mélange à reflux pendant 2h ( $65^{\circ}\text{C}$ ). Une fois les deux heures écoulées, on évapore sous vide, et on récupère (11,7g, 99,91%) d'ester méthylique de glycine. **Formule brute:**  $\text{C}_3\text{H}_8\text{ClNO}_2$ , **MM** = 125,6  $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ ; **Rendement:** 99,91%

### B. 2-aminoacétate de méthyle (8)



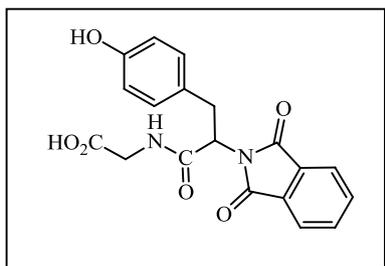
A une solution de chlorhydrate de Glycine- $\text{CO}_2\text{Me}$  (11,7g, 93 mmol) dans le dichlorométhane (60ml), on ajoute (18,88ml, 1,5 eq) de TEA goutte à goutte et on laisse réagir sous agitation et à température ambiante pendant 45 minutes. Le produit est alors filtré puis évaporé sous vide. (0,88g, 99,49%) de  $\text{NH}_2\text{Gly}-\text{CO}_2\text{Me}$  sont récupérés. **Formule brute:**  $\text{C}_3\text{H}_7\text{NO}_2$ ; **MM** = 89,1  $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ ; **Rendement:** 93,1% ; **CCM:**  $R_f = 0,25$  (éluant:  $\text{MeOH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (1:9); **Pf** =  $79,1^{\circ}\text{C}$ ; **I.R**( $\text{cm}^{-1}$ ) : 3250-3260  $-\text{NH}_2$  (amine primaire), 1717,21  $\text{C}=\text{O}$  (ester), 1171,26  $-\text{O}-\text{C}$  (ester), 1036,15  $=\text{C}-\text{O}$  (ester).

### C. 2-(2-(1,3-dioxoisindolin-2-yl)-3-(4-hydroxyphényl)propanamido) acétate de méthyle (10)



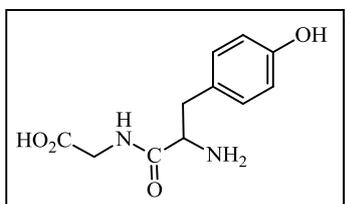
On dissout (86mg, 0,96mmol) de  $\text{Gly}-\text{CO}_2\text{Me}$  et (300mg, 1eq) de N-Ft-Tyrosine dans du DCM, et on y ajoute goutte à goutte (1,26g/1eq) de DCC dissouts dans un petit volume de DCM. On laisse réagir pendant 24h à TA. On filtre et on évapore sous vide pour obtenir (0,37g, 99%) d'un gel jaune. **Formule brute:**  $\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_6$ ; **MM** = 382,4  $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ ; **Rendement:** 99%; **CCM:**  $R_f = 0,49$  (éluant:  $\text{MeOH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (1:9); **I.R** ( $\text{cm}^{-1}$ ) : 3300 NH (amide), 1652,83  $\text{C}=\text{O}$  (amide), 1730  $\text{C}=\text{O}$  (phtalimido), 1690  $\text{C}=\text{O}$  (ester), 1239,58  $-\text{O}-\text{C}$  (ester), 1172,06  $=\text{C}-\text{O}$  (ester), 2940,74  $\text{O}-\text{CH}_3$  (ester), 3500 OH (phénol).

**D. Acide 2-(2-(1,3-dioxisoindolin-2-yl)-3-(4-hydroxyphényl) propanamido) acétique (11)**



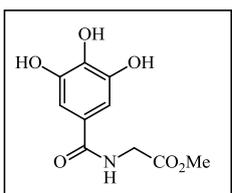
Dans un mélange THF:Eau (2:1) on dissout (0,37g, 2,5mmol) de notre dipeptide protégé, auxquels on ajoute à 0°C (2,5ml, 1eq) de solution LiOH 1N. On laisse réagir pendant 4h, ensuite on lave la solution avec l'acétate d'éthyle, ensuite on acidifie la phase aqueuse avec une solution de HCl 1N jusqu'à pH=1, et on l'extrait avec l'acétate d'éthyle, qu'on lave enfin avec une solution saturée de NaCl. On sèche et on évapore sous vide, et on obtient (90mg, 9,78%) du composé (11). **Formule brute:** C<sub>19</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>; **MM** = 368,3 g.mol<sup>-1</sup>; **Rendement:** 9,78 %

**E. Acide 2-(2-amino-3-(4-hydroxyphényl)propanamido)acétique (12) :**



On ajoute sous agitation de l'hydrate d'hydrazine (0,024ml, 2eq) à une solution de composé (11) (90mg, 0,244mmol) dissous dans un mélange de DCM:MeOH (1:1, 10ml); le mélange est maintenu à température ambiante pendant une nuit. On filtre et on évapore le mélange pour obtenir un solide. On ajoute 5 ml d'eau distillée, puis le résidu est alcalinisé à pH=11 avec une solution de NaOH, et extrait avec du DCM. Après séchage et évaporation du solvant (0,05g, 87,71%) de notre second analogue sous forme de pâte jaune. **Formule brute:** C<sub>11</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>; **MM** = 238,2g.mol<sup>-1</sup>; **Rendement:** 85,71% ; **CCM:** R<sub>f</sub> = 0,82 (éluant: MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:9)); **I.R(cm<sup>-1</sup>) :** 3300 NH (amide), 3300OH (acide carboxylique), 3200 OH (phénol), 1710 -C=O (acide carboxylique), 1627,81 C=O (amide), 1260,66 =C-O (acide carboxylique).

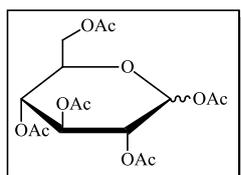
**III. 2-(3,4,5-trihydroxybenzamido)acétate de méthyle (14) :**



Dans 15ml de THF anhydre, on dissout (0,5g, 2,94mmol) d'acide gallique, et (261,8mg, 1éq) de Gly-CO<sub>2</sub>Me. On ajoute ensuite (0,6g, 1eq) de DCC dans un petit volume de THF goutte à goutte. La réaction dure 48h à T<sup>amb</sup>. Une fois terminée, le mélange est filtré puis évaporé sous vide. On obtient ainsi (0,65g, 92,85%) de l'analogue cible (14) sous forme d'huile rouge brique. **Formule brute:** C<sub>10</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>6</sub>; **MM** = 227,2 g.mol<sup>-1</sup>; **Rendement:** 92,85 % ; **CCM:** R<sub>f</sub> = 0,4 (éluant: MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:9)); **I.R(cm<sup>-1</sup>) :** 3429,07 OH (phénol), 3300 NH (amide), 1702,03 -C=O (ester), 1553,22 C=O (amide), 1067,03 -O-C (ester), 1172,06 =C-O (ester).

#### IV. 2-(3,4,5-tri(2,3,4,6-penta-O-acétyl-D-glucopyranose)benzamido)acétate de méthyle (18):

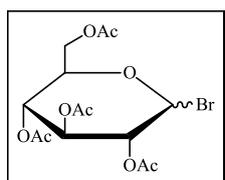
##### A. 1,2,3,4,6-penta-O-acétyl-D-glucopyranose (16) :



À une solution de glucose (4g, 22.2mmol) dans la pyridine (30ml), refroidie à 0°C est additionné goutte à goutte l'anhydride acétique (11,2 ml, 5.3 éq.). Le mélange est agité une nuit à T<sup>amb</sup>, puis on ajoute de l'éthanol (12 ml). Après évaporation du solvant, on obtient un résidu solide qui est recristallisé deux fois dans l'éthanol pour donner (8,64g, 74,04%).

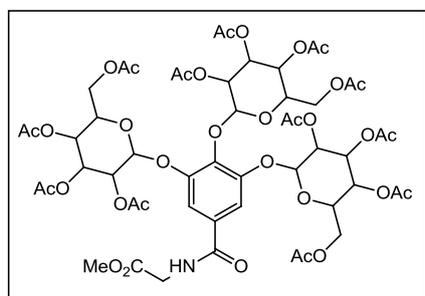
**Formule brute:** C<sub>16</sub>H<sub>22</sub>O<sub>11</sub>; **MM** = 390,3g.mol<sup>-1</sup>; **Rendement:** 74,04% ; **Pf** = 110,1°C.

##### B. Le bromure 2,3,4,6-penta-O-acétyl-D-glucopyranose (17) :



À une solution de HBr à 33% dans l'acide acétique (7,7ml, 4.3éq), sous agitation et sous azote, est additionné par petite portions le pentaacétate de glucose (16) (4g, 16 mmol). L'agitation est maintenue pendant 30 min, au bout desquelles 90 ml de DCM puis 66 ml d'eau glacée sont alors additionnés au mélange. La phase organique est lavée successivement par une solution saturée de Na<sub>2</sub>CO puis H<sub>2</sub>O, séchée (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) et concentrée. Le sirop obtenu cristallise dans un mélange hexane éther diéthylique 70:30 pour donner 1,1g de cristaux blancs (26,75% de rendement). **Formule brute:** C<sub>14</sub>H<sub>19</sub>BrO<sub>9</sub> ; **MM** = 411,2 g.mol<sup>-1</sup>; **Rendement:** 26,75% ; **Pf** = 87,6°C

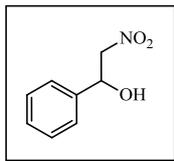
##### C. 2-(3,4,5-tri(2,3,4,6-penta-O-acétyl-D-glucopyranose)benzamido)acétate de méthyle (18):



Dans 40ml de THF:H<sub>2</sub>O (1:1) on dissout (216mg, 0,9mmol) le composé (14), et (1,1g, 3éq) de (17). On ajoute ensuite goutte à goutte (0,09g, 2,5eq) de NaOH dissouts dans 5ml d'eau. La réaction dure 5 jours à T<sup>amb</sup>. Une fois terminée, le mélange réactionnel est filtré et évaporé sous vide, obtenant ainsi (0,1g, 9,09%) de l'analogue cible (18) sous forme de pâte orange. **Formule brute:** C<sub>52</sub>H<sub>65</sub>NO<sub>33</sub>; **MM** = 1232,1 g.mol<sup>-1</sup>; **Rendement:** 9,09% ; **CCM:** R<sub>f</sub> = 0,79 (éluant: MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:9); **I.R(cm<sup>-1</sup>) :** 3322,07 NH (amide), 1659,97 -C=O (ester), 1563,87 C=O (amide), 1045,6 -O-C (ester), 1259,17 =C-O (ester).

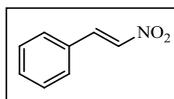
## V. Acide (*R*)-4-amino-3-phenylbutanoïque (**27**) :

### A. 2-nitrophényléthanol (**21**) :



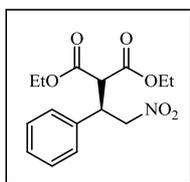
Le mélange de benzaldéhyde (2,48ml, 2,37g, 22mmol), nitrométhane (12ml, 10éq) et NaOAc.3H<sub>2</sub>O (0,51g, 0,17éq) dans du MeOH (15ml) est agité à T<sup>amb</sup> pendant 24h. Au bout de ce temps, 40ml d'une solution saturée en NH<sub>4</sub>Cl sont ajoutés, et la phase aqueuse est extraite trois fois avec 15ml d'AcOEt. L'extrait est lavé avec une solution saturée en NaCl, séché sur CaSO<sub>4</sub> puis concentré sous vide. Ce qui nous a permis d'avoir (3,12g, 84,78%) de nitroalcool (**21**). **Formule brute:** C<sub>8</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>3</sub> ; **MM** = 167,2 g.mol<sup>-1</sup>; **Rendement:** 84,78 % ; **CCM:** R<sub>f</sub> = 0,74 (éluant: MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:9)); **I.R (cm<sup>-1</sup>):** 3538 OH, 1288,94 (C-O), 1554,5 (N-O) assymétrique (nitro), 1378,66 (N-O) symétrique (nitro).

### B. 2-Nitrovinylbenzène (**22**) :



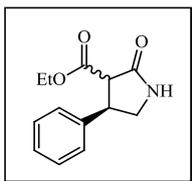
Le nitroalcool (**21**) obtenu (3,12g, 19mmol), est mélangé avec (4,33g, 1,2éq) de TsCl, et (5,38ml, 2,1éq) de TEA goutte à goutte, dans du THF anhydre (20ml) à T=0°C. Le mélange est agité pendant 1h30, au bout desquelles 20ml d'une solution saturée en NH<sub>4</sub>Cl sont ajoutées, et la phase aqueuse est extraite trois fois avec 10ml d'AcOEt. L'extrait est lavé deux fois avec 15ml d'une solution de HCl à 1N, 15ml d'une solution saturée en NaHCO<sub>3</sub>, puis une solution saturée en NaCl. La phase organique est alors séchée et évaporée sous vide. (0,5g, 17,67%) d'un solide jaune sont recueillis, correspondant au β-nitrostyrène (**22**). **Formule brute:** C<sub>8</sub>H<sub>7</sub>NO<sub>2</sub> ; **MM** = 149,1 g.mol<sup>-1</sup>; **Rendement:** 17,67 % ; **CCM:** R<sub>f</sub> = 0,6 (éluant: MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:9)).

### C. [(1*R*)-2-nitro-1-phényléthyl] malonate de diéthyle (**23**) :



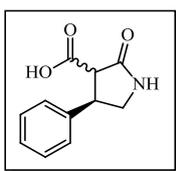
Sous atmosphère d'azote, on agite (0,5g, 3mmol) de 2-Nitrovinylbenzène (**22**) et (23mg, 0,10éq) de thiourée dans (10ml) du toluène; auxquels sont ajoutés (0,88ml, 2éq) de malonate de diéthyle. La réaction se déroule à T<sup>amb</sup> et dure 24h. Une fois achevée, on évapore le solvant sous vide, et on récupère (0,96g, 98,97%) d'une pâte jaune (composé (**23**)). **Formule brute:** C<sub>15</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>6</sub> ; **MM** = 309,3 g.mol<sup>-1</sup>; **Rendement:** 98,97 % ; **CCM:** R<sub>f</sub> = 0,26 (éluant: MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:9)).

**D. (4R)-2-oxo-4-phénylpyrrolidine-3-carboxylate d'éthyle(24) :**



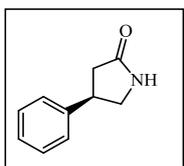
Sous atmosphère d'azote et sous agitation, on ajoute (1,32g, 12éq) de NaBH<sub>4</sub> à la solution de (23) (0,96g, 3mmol) et de BF<sub>3</sub>OEt<sub>2</sub> (0,37ml, 1éq) dans le MeOH à T=0°C. Ensuite, le mélange est agité pendant 72h à T<sup>amb</sup>. La réaction est arrêtée par l'ajout d'une solution de NH<sub>4</sub>Cl diluée dans du chloroforme. La phase organique est séparée puis séchée, filtrée et évaporée sous vide. Ce qui nous donne (0,65g, 92,68%) de résidu (24). **Formule brute:** C<sub>13</sub>H<sub>15</sub>NO<sub>3</sub> ; **MM** = 233,3g.mol<sup>-1</sup>; **Rendement:** 92,86%.

**E. Acide (4R)-2-oxo-4-phénylpyrrolidine-3-carboxylique (25) :**



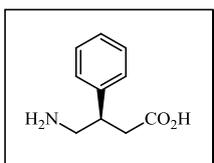
À une solution de (11) (0,65g, 2,8mmol) dans l'EtOH, sont ajoutés 3ml d'une solution de NaOH à 1N à T<sup>amb</sup>. Après 30 minutes, le solvant est évaporé sous vide. On ajoute 5ml d'eau au résidu, puis on acidifie la phase aqueuse jusqu'à pH=1 avec une solution de HCl à 1N. On extrait la phase aqueuse avec du chloroforme, qui sera ensuite séché puis évaporé sous vide, pour donner (0,31g, 50,8%) de l'acide carboxylique correspondant (25). **Formule brute:** C<sub>11</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>3</sub> ; **MM** = 205,2 g.mol<sup>-1</sup>; **Rendement:** 50,8 % ; **CCM:** R<sub>f</sub> = 0,85 (éluant: MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:9); **I.R(cm<sup>-1</sup>) :** 3355,27 NH (amide), 3253,27 OH (acide carboxylique), 1760 -C=O (acide carboxylique), 1627,81 C=O (amide), 1259,9 C-O (acide carboxylique).

**F. (R)-4-phénylpyrrolidin-2-one (26) :**



La solution (0,31g, 1,4mmol) d'acide (R)-oxophénylpyrrolidine dans 18ml de toluène est portée à reflux à 140°C pendant 6h, au bout desquelles on évapore le solvant sous vide, afin d'aboutir à (0,19g, 84,07%) de phénylpyrrolidinone (26). **Formule brute:** C<sub>10</sub>H<sub>11</sub>NO ; **MM** = 161,2 g.mol<sup>-1</sup>; **Rendement:** 84,07 % ; **Pf** = 121,4°C

**G. Acide (R)-4-amino-3-phénylbutanoïque (27) :**



Dans 20ml de HCl à 6N est porté à reflux (0,19g, 1,2mmol) de la γ-lactame (26) pendant 24h à 100°C. Après 24h, on extrait la phase aqueuse trois fois avec 10ml d'AcOEt. Les phases organiques rassemblées sont séchées, filtrées puis évaporées sous vide, et on obtient (0,19g, 86,36%) l'analogue du baclofène. **Formule brute:** C<sub>10</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>2</sub> ; **MM** = 179,2 g.mol<sup>-1</sup>; **Rendement:** 86,36 % ; **CCM:** R<sub>f</sub> = 0,86 (éluant: MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:9); **Pf** = 180,3°C.

## VI. Complexation des analogues-BF-cyclodextrines

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



La complexation des analogues avec la  $\beta$ -CD, se déroule dans l'eau à température ambiante ( $25^{\circ}\text{C}$ ). On prépare deux solutions mères d'analogues du BF et de  $\beta$ -CD, de même concentrations, qui seront agitées afin de les homogénéiser et solubiliser la totalité des deux produits. On prépare ensuite une solution contenant un mélange équimolaire des deux solutions mères. Ces trois solutions seront enfin soumises aux analyses UV.

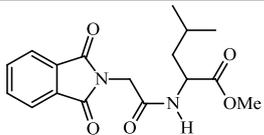
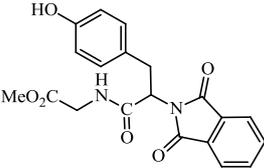
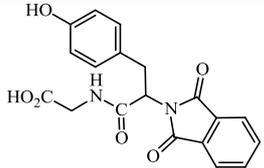
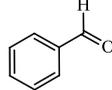
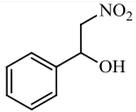
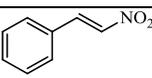
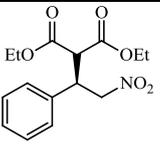
### B. Protocole général pour la détermination de la stœchiométrie du complexe:

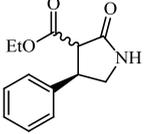
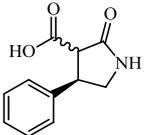
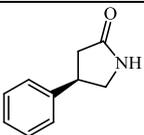
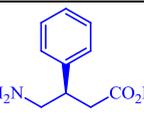
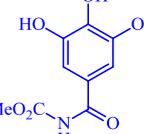
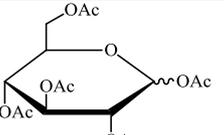
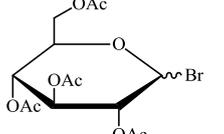
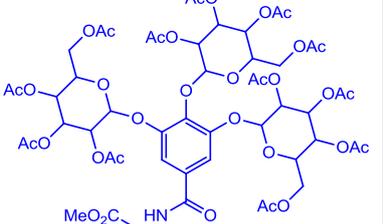
Une fois la complexation déterminée, on prépare 11 solutions filles, à partir des deux solutions mères des molécules hôtes et invitées à des ratios allant de 0 à 1, en gardant le volume total constant. Ces solutions seront ensuite analysées par spectroscopie UV à la longueur d'onde d'absorption maximale de la molécule invitée.

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

Pour le calcul de  $K_a$ , on prépare 4 solutions de  $\beta$ -CD à partir de la solution mère, diluées chacune par rapport à l'autre, auxquels on ajoute un même volume d'une solution mère de la molécule invitée. Ces 4 solutions, et une autre contenant uniquement la solution mère de la molécule invitée seront analysées par spectroscopie UV, à la même longueur d'onde où la courbe de Job a été tirée.

Tableau 16 : Récapitulatif des produits synthétisés et résultats obtenus

Code nature	N	Structure	Masse molaire	R (%)	Pf (°C)	Rf	IR (cm <sup>-1</sup> )
<b>Baclo1</b> Solide blanc	4		332,4 g/mol	93,10	181,3	0,86	1036,15 1171,26 1717,21 3250-3260
<b>Analog1</b> Pate jaune	5		318,3 g/mol	56,35	/	0,35	1239,98 1653,16 1710; 1770 2958,43 3340,92
<b>Baclo3</b> Solide blanc	8	<chem>H2NCC(=O)OC</chem>	89,1 g/mol	92,42	79,1	0,25	1036,15 1171,26 1717,21 2937,24 3250-3260
<b>Baclo4</b> Gel jaune	10		382,4 g/mol	99	/	0,49	1172,06 1239,58 1652,83 1690 1730 2940,74 3300 3500
<b>Baclo5</b> Pate jaune	11		368,3 g/mol	09,78	/	/	/
<b>Analog2</b> Pate jaune	12		238,2 g/mol	85,71	/	0,82	1260,66 1627,81 1710 2963,18 3200 3300
<b>Baclo6</b> Liquide incolore	20		106,1 g/mol	88,65	/	/	1686,74 2718,23
<b>Baclo10</b> Huile jaune	21		167,2 g/mol	84,78	/	0,74	1288,94 1378,66 1554,5 3538
<b>Baclo12</b> solide jaune	22		149,1 g/mol	17,67	/	0,6	/
<b>Baclo13</b> Pate jaune	23		309,3 g/mol	98,97	/	0,26	/

<b>Baclo11</b> Solide blanc	<b>24</b>		233,3 g/mol	92,86	/	/	/
<b>Baclo14</b>	<b>25</b>		205,2 g/mol	50,8	/	0,85	1259,9 1627,81 1760 2962,84 3355,27
<b>Baclo15</b> Solide blanc	<b>26</b>		161,2 g/mol	84,07	121,4	/	/
<b>Analog3</b> Solide blanc	<b>27</b>		179,2 g/mol	86,36	180,3	0,86	/
<b>Analog4</b> Huile rouge- brique	<b>14</b>		227,2 g/mol	92,85	/	0,4	1067,03 1172,06 1553,22 1702,03 3033,43 3300 3429,07
<b>Baclo16</b> Solide blanc	<b>16</b>		390,3 g/mol	74,04	110,1	/	/
<b>Baclo17</b> Solide blanc	<b>17</b>		411,2 g/mol	26,75	87,6	/	/
<b>Analog5</b> Pate orange	<b>18</b>		1232,1 g/mol	9,09	/	0,79	1045,6 1259,17 1563,87 1659,97 2927,82 3322,07

## REFERENCES

- [1] OMS. Global status report on alcohol and health. **2014**.
- [2] M.P. Du Clary, Place du baclofène dans la prise en charge Thérapeutique du sevrage alcoolique, **2013**, *Université de Nantes*, 7.
- [3] O. Ameisen, *Alcohol*, **2005**, 40, 147.
- [4] O. Ameisen, *Le dernier Verre*, édition: Denoël, **2008**, p.298.
- [5] M.P. Jaury. Alcoolisme, la promesse du Baclofène, **2014**, 2.
- [6] E. Falch, A. Hedegaard, L. Nielsen, B.R. Jensen, H.Hjeds, P. Krogsgaard-Larsen, *J.Neurochem*, **1986**, 47, 898.
- [7] N.G. Bowery, D.R. Hill, A.L. Hudson, A. Doble, D.N. Middle, J. Shaw, M.Turnbull, *Nature*, **1980**, 283, 92.
- [8] H.R. Olpe, H. DemiCville, V. Baltzer, W.L. Bencze, W.P. Koella, P. Wolf , H.L.Haas, *J. Pharmacol*, **1978**, 52, 133.
- [9] J.W. Faigle, H. Keberle, *Postgraduate.Medical.Journal*, **1972**, 48, 9.
- [10] P. Gache, R. de Beaurepaire, P. Jaury, B. Joussaume, A. Rapp, P. de la Selle. *Guide prescription du baclofène dans le traitement des problèmes d'alcool 2*, **2015**, p.298.
- [11] N.G. Bowery, *Annu. Rev.Pharmacol.Toxicol*, **1993**, 33, 109.
- [12] M. Chebib, G.A.R. Johnston, *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol*, **1999**, 26, 937.
- [13] N.G. Bowery, D. R. Hill, A. L. Hudson, A. Doble, D. N. Middlemiss, J. Shaw, M. Turnbull, *Nature*, **1980**, 283, 92.
- [14] A.R. Calver, C.H. Davies, M. Pangalos, *Neurosignals*, **2002**, 11, 299.
- [15] Y. Landry, J.-P. Gies, *Pharmacologie*, Edition : Dunod, **2003**, 2, p.493.
- [16] J.B. Van Bree, C.D. Heijligers-Feijen, A. G. de Boer, M. Danhof, D. Breimer, *Pharmaceutical Research*, **1991**, 8, 259.
- [17] Y. Deguchi, K. Inabe, K. Tomiyasu, K. Nozawa, S. Yamada, R. Kimura, *Pharmaceutical Research*, **1995**, 12, 12, 1838.
- [18] G. Costantino, A. Macchiarulo, A.E. Guadix, R. Pellicciari, *J Med Chem*, **2001**, 24,1827.
- [19] Vidal **2014**, *Baclofène*.
- [20]<http://www.baclofene.org/baclofene/rtu-et-baclofene-compte-rendu-de-la-reunion-du-4-juillet-2013-de-lansm>.
- [21] Novartis, Information et communication médicales : Mentions légales LIORESAL® solution injectable.

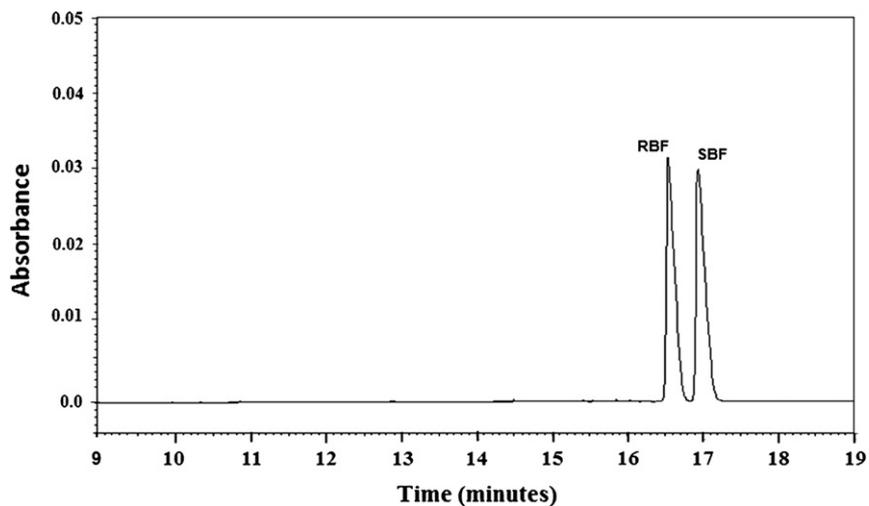
- [22] Novartis Pharma Schweiz AG, Information professionnelle du Compendium Suisse des Médicaments, Mentions légales LIORESAL®.
- [23] F.O. Suliman, A.A. Elbashir, *J. Molecular Structure*, **2012**, 1019, 43.
- [24] a) A. Donald Godwin, N.-H. Kim, R. Zuniga, *J. Pharm.* **2001**, 36; b) M. Sznitowska, S. Janicki, T. Gosb, *Int. J. Pharm.*, **1996**, 137, 125; c) S. Ahuja, *Chromatographia*, **1992**, 34, 411.
- [25] I. Ali, H.Y. Aboul-Enein, *Electrophoresis*, **2003**, 24, 2064.
- [26] a) C.A. Ventura, I. Giannone, D. Paolino, V. Pistarà, A. Corsaro, G. Puglisi, *J. Med. Chem.*, **2005**, 40, 624; b) L. Ribeiro, R.A. Carvalho, D.C. Ferreira, F.J.B. Veiga, *J. Pharm. Sci.*, **2005**, 24.
- [27] G.M. Morris, D.S. Goodsell, R.S. Halliday, R. Huey, W.E. Hart, R.K. Belew, A.J. Olson. *Autodock 4.2, The Scripps Research Institute, La Jolla, CA, USA.* **2009**.
- [28] R. Chênevert, M. Desjardins, *Can. J. Chem.*, **1994**, 72, 2312.
- [29] F.Y. Zhang, E.J. Corey, *J. Org. Lett.*, **2000**, 2, 1097.
- [30] E.J. Corey, F.Y. Zhang. *J. Am. Chem. Soc.*, **2000**, 2, 26, 4257.
- [31] O. Belda, S. Lundgren, C. Moberg, *J. Am. Chem. Soc.*, **2003**, 5, 2275.
- [32] C. Shao, H.-J. Yu, N.-Y. Wu, P. Tian, R. Wang, C.-G. Feng, G.-Q. Lin, *J. Am. Chem. Soc.*, **2011**, 13, 788.
- [33] X.-F. Yang, C.-H. Ding, X.-H. Li, J.-Q. Huang, X. Hou, L. Dai, P.-J. Wang, *J. Org. Chem.*, **2012**, 77, 8980.
- [34] R. Karla, B. Ebert, C. Thorkildsen, C. Herdeis, T.N. Johansen, B. Nielsen, P. K-Larsen. *J. Med. Chem.* **1999**, 42, 2053.
- [35] C. Alstermark, J. Gottfries, K. Nilsson, K. Amin, P.R. Guzzo, G. Sundén, S.R. Dinn, J.P. Harding, M. Swanson, T. Elebring, A. Holmén, O. Fjellström, M. Kothare, S. Von Unge, K. Fitzpatrick, A. Lehmann, A.M. Woo, M.J. Wyle, W.B. Geiss, J.P. Mattsson, X. Zheng, *J. Med. Chem.*, **2008**, 51, 4315.
- [36] M.I. Attia, C. Herdeis, H. Bräuner-Osborne, *Digest Journal of Nanomaterials & Biostructures*, **2013**, 1, 139.
- [37] G. Wittig, G. Geissler, *Liebigs Ann. Chem.*, **1953**, 44, 580.
- [38] R. N. Brogden, T. M. Speight, G. S. Avery. *Drugs*, **1974**, 8, 1.
- [39] R. J. Tayacke, A. Lingford-Hughes, L. J. Reed, D. J. Nutt. *Pharmacol.* **2010**, 58, 373.
- [40] I. Lidums, A. Lehmann, H. Checklin, J. Dent, R. H. Holloway, *Gastroenterology*, **2000**, 118, 7.

- [41] K. Yomiya, N. Matsuo, S. Tomiyasu, T. Yoshimoto, T. Tamaki, T. Suzuki, M. Matoba, *J. Hosp. Palliat. Med.*, **2009**, *26*, 112.
- [42] M.C. Taylor, C.P. Bates, *J. Urol.*, **1979**, *51*, 504.
- [43] N. Yui, *Supramolecular Design for Biological Applications*, CRC, Boca Raton FL, **2002**, *1*, p.401.
- [44] J. Szejtli. *Cyclodextrin Technology*. Davies, J.E.D (Ed.), Kluwer Academic Publisher, Dordrecht. **1988**, *1*, p.454.
- [45] F.Kayaci, T.Uyar. *J. Agric.Food.Chem*, **2011**, *59*, 1772.
- [46] K.H. Frömring, J. Szejtli. *Cyclodextrins in Pharmacy*. Davies, J.E.D. (Ed.), Kluwer Academic Publishers, Dordrecht. **1994**.
- [47] D. Armspach, G. Gattuso; R. Königer, *Oxford University Press, Oxford*, Hecht, S.M. (Ed.). **1999**, p.458.
- [48] E.M.M. Del Valle, *Process Biochemistry*, **2004**, *39*, 1033.
- [49] R.Challa, A. Ahuja, J. Ali, R.K. Khar, *APPS Pharmscitech*, **2005**, *6*, E329.
- [50] A. Keniche, Synthèse de nouveaux analogues cyclodextrine-aziridine, Université de Tlemcen, **2014**, p.10.
- [51] J. Szejtli, *Chem Rev*, **1998**, *98*, 1743.
- [52] J. Uitdehaag, B.A. van der Veen, L. Dijkhuizen, B.W. Dijkstra, *Enzyme and Microbial Technology*, **2002**, *30*, 295.
- [53] M.E. Brewster, T. Loftsson. *Advanced Drug Delivery Reviews*, **2007**, *59*, 645.
- [54] J.W. Park, *Cyclodextrin Materials Photochemistry, Photophysics and Photobiology*. Elsevier. **2006**, *4*, 79.
- [55] E.M.M. Del Valle, *Process Biochemistry*, **2004**, *39*, 1033.
- [56] a) T. Loftsson, B.J. Ólafsdóttir, H. Fridriksdóttir, S. Jónsdóttir, *J Pharm Sci*, **1993**, *1*, 95;  
b) J. Pitha, T. Hoshino, *J Pharm*, **1992**, *80*, 243.
- [57] E. Bilensoy, *Cyclodextrins in Pharmaceutics, Cosmetics, and Biomedicine*, John Wiley & Sons. **2011**, p.28.
- [58] P. Job. *Compt.Rend.Acad.Sci.Paris*. **1925**, *180*, 928.
- [59] H. Connors, *J. Pharm. Sci*, **1995**, *84*, 843.
- [60] H. A. Benesi and J. H. Hildebrand. *J. Am. Chem. Soc.* **1949**, *71*, 2703.
- [61] R. Mathur, E.D. Becker, R.B. Bradley, N.C. Li. *J. Phys. Chem*, **1963**, *67*, 2190.
- [62] L. Fielding, *Tetrahedron*, **2000**, *56*, 6151.
- [63] R. Foster, C.A. Fyfe, *Trans. Faraday Soc.*, **1965**, *61*, 1626.
- [64] G. Scatchard, *Ann. N.Y.Acad. Sci*, **1949**, *51*, 660.

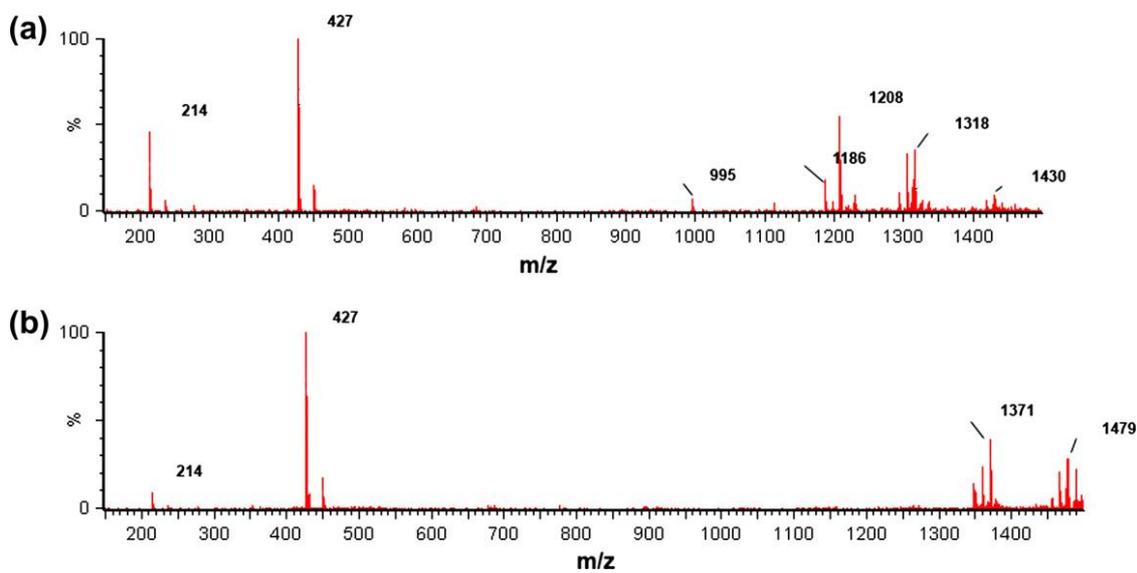
- [65] R.L. Scott, *Rec. Trav. Chim.*, **1956**, 75, 787.
- [66] N.J. Rose, R.S. Drago, *J. Am. Chem. Soc.*, **1959**, 81, 6138.
- [67] a) J.P. Behr, J.M. Lehn, *J. Am. Chem. Soc.*, **1976**, 98, 1743; b) Y. Inoue, F.H. Kuan, R. Chu, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **1987**, 60, 2539; c) W.M. Mock, N.Y. Shih, *J. Am. Chem. Soc.*, **1989**, 111, 2697; d) G. Hilmersson, R. Rebek, *J. Magn. Reson. Chem.*, **1998**, 36, 663.
- [68] a) K.F. Morris, C.S. Johnson, *J. Am. Chem. Soc.*, **1992**, 114, 3139; b) K.F. Morris, C.S. Johnson, *J. Am. Chem. Soc.*, **1993**, 115, 4291.
- [69] K. Deaton, E. Feyen, H. Nkulabi, K. Morris, *Magn. Reson. Chem.*, **2001**, 39, 276.
- [70] a) R. Wimmer, F.L. Aachmann, K.L. Larsen, S.B. Petersen, *Carb. Res.*, **2002**, 337, 841; b) M. Lin, D.A. Jayawickrama, R.A. Rose, J.A. Delviscio, C.K. Larive, *Anal. Chim. Acta.*, **1995**, 307, 449 ; c) K.S. Cameron, L. Fedling, *Magn. Reson. Chem.*, **2002**, 40, 106; d) R. Wimmer, F.L. Aachmann, K.L. Larsen, S.B. Petersen, *Carbohydr. Res.*, **2002**, 337, 841.
- [71] L. Fielding, S.C. McKellar, A.J. Florence, *Magn. Reson. Chem.*, **2011**, 49, 405.
- [72] T. Higuchi, K.A. Connors, *Advances in Analytical Chemistry and Instrumentation*, **1965**, 4, 117.
- [73] M.E. Brewster, T. Loftsson, *Advanced Drug Delivery Reviews*, **2007**, 59, 645.
- [74] T. Loftsson, P. Jarho, M. Másson, T. Järvinen, *Cyclodextrins in drug delivery*, *Expert Opinion on Drug delivery*, **2005**, 2, 335.
- [75] M. Sharifah, S. Hemavathy, R. Muggundha, M. Tilagam, C. Kumuthini, S. Puvaneswary, *Int. J. Mol. Sci.*, **2011**, 12, 6329.
- [76] B. Cwiertnia, T. Hladon, M. Stobiecki, *J. Pharm. Pharmacol.*, **1999**, 51, 1213.
- [77] G. Wenz, B. Keller, *Chem. Int. Ed. Engl.*, **1992**, 31, 197.
- [78] H. Saito, H. Yonemura, H. Nakamura, T. Matsuo, *Chem. Lett.*, **1990**, 535.
- [79] H. Jiao, S.H. Goh, S. Valiyaveetil, *Macromolecules*, **2011**, 34, 8138.
- [80] P.S. Kavirajaa, M. Sharifah, M.S. Norazilawati, I.N. Atiqah, *Int. J. Mol. Sci.* **2013**, 14, 3671.
- [81] N. Li, J. Liu, X. Zhao, Y. Gao, L. Zhang, J. Zhang, L. Yu, *Colloids Surf. A*, **2007**, 292, 196.
- [82] a) W. Li, B. Lu, A. Sheng, F. Yang, Z. Wang, *J. Mol. Struct.*, **2010**, 981, 194; b) C.C. Rusa, C. Luca, A.E. Tonelli, *Macromolecules*, **2001**, 34, 1318; c) J. Li, X. Ni, Z. Zhou, K.W. Leong, *J. Am. Chem. Soc.*, **2003**, 125, 1788.
- [83] T. Yamakawa, S. Nishimura, *J. Control. Rel.*, **2003**, 86, 101.
- [84] T. Loftsson, H. Fridriksdottir, T.K. Gudmundsdottir, *Int. J. Pharm.*, **1996**, 127, 293.
- [85] T. Loftsson, D. Duchêne, *Intern. J. Pharmaceutics.*, **2007**, 329, 1.

- [86] C. Wu, J. Fan, *Shuichuli Jishu.*, **1998**, 24, 67.
- [87] M.A. Parrish, *Cyclodextrins – review available from sterling organics, Newcastle. Tyne NE3 3TT.* **1988**.
- [88] H. Ye, W. Tong, V.T. Dsouza, *J. Am. Chem. Soc.*, **1992**, 114, 5470.
- [89] SH. Hun, *Biomed Chromatography*, **1997**, 11, 259.
- [90] E. Schnederman, *J. Chromatography, B.* **2000**, 745, 83.
- [91] X. Lu, Y. Chen, *J. Chromatography A.*, **2002**, 955, 133.
- [92] N. Prasad, D. Strauss, G. Reichart, *European Patent1.* **1999**, 84, 625.
- [93] H. Sumioshi, *Nippon Shokuhin Shinsozai Kenkyukaiishi*, **1999**, 2, 109.
- [94] H.J. Bushmann, E. Schollmeyer, *J. Cosmet. Sci.*, **2002**, 53, 185.
- [95] D.O. Thompson, *Crit Rev Ther Drug Carrier Syst.*, **1997**, 14, 1.
- [96] T. Irie; K. Uekama, *J Pharm Sci*, **1997**, 86, 147.
- [97] E.M. Martin Del Valle, *Process Biochemistry*, **2004**, 39, 1033.
- [98] H.W. Frijlink, A.C. Eissens, N.R. Hefting, K. Poelstra, C.F. Lerk, D.K. Meijer, *Pharm.Res*, **1991**, 3, 8.
- [99] G. Costantino, A. Macchiarulo, A.E. Guadix, R. Pellicciari, *J Med Chem*, **2001**, 24, 1827.

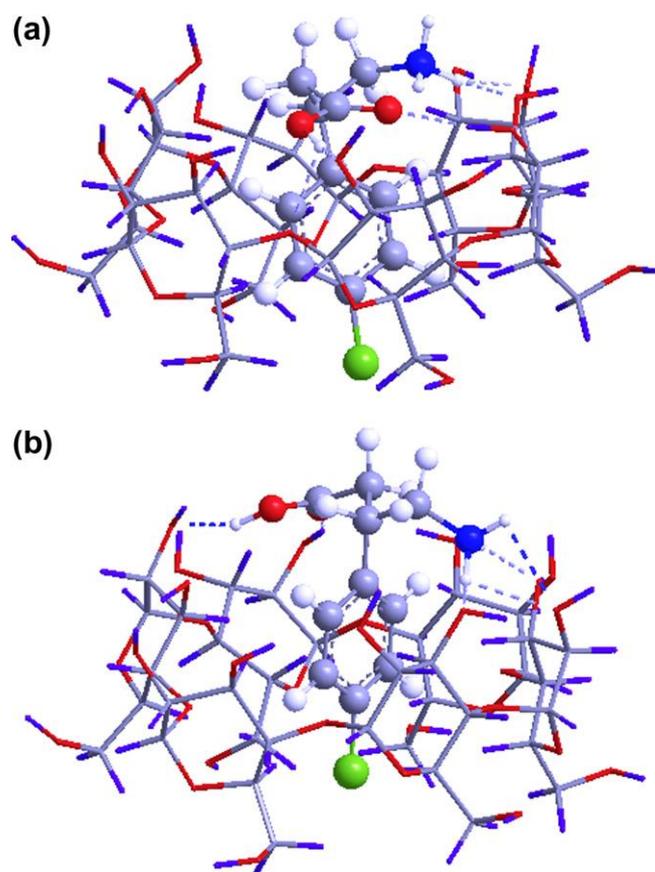
## ANNEXE



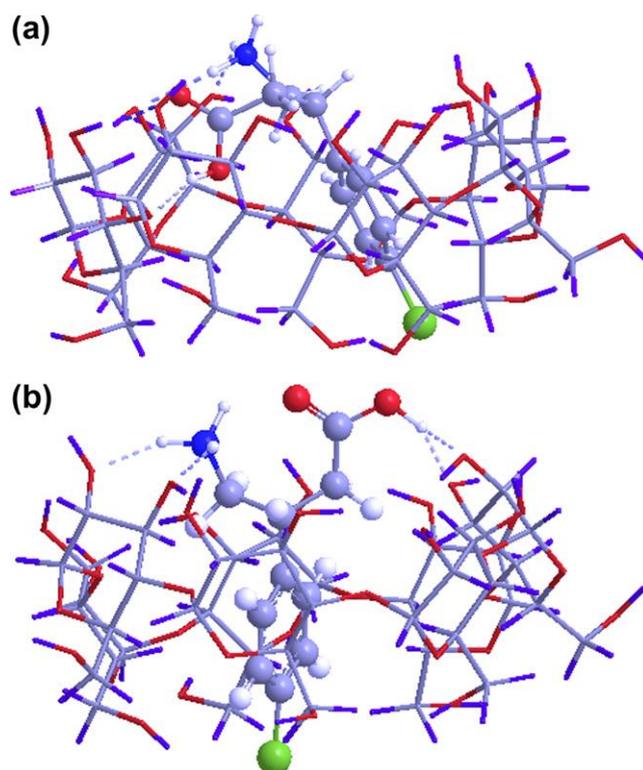
Annexe 1 : Electropherogramme de séparation du baclofène avec la  $\beta$ -CD.  
Conditions: 15 mM  $\beta$ -CD, 50 mM dihydrogène phosphate de sodium pH 7.0, temps d'injection 10 s; voltage 15 kV;  
température capillaire 25°C.



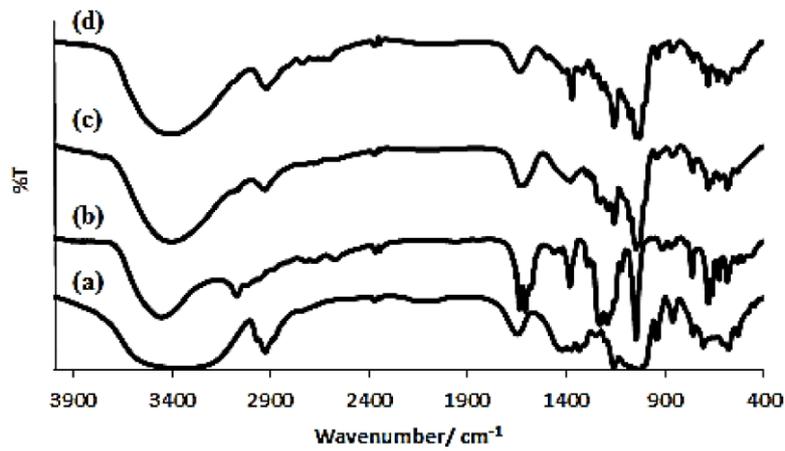
Annexe 2 : Spectre d'analyse ESI-MS du BF en présence de (a)  $\alpha$ -CD et de (b)  $\beta$ -CD. pH= 7



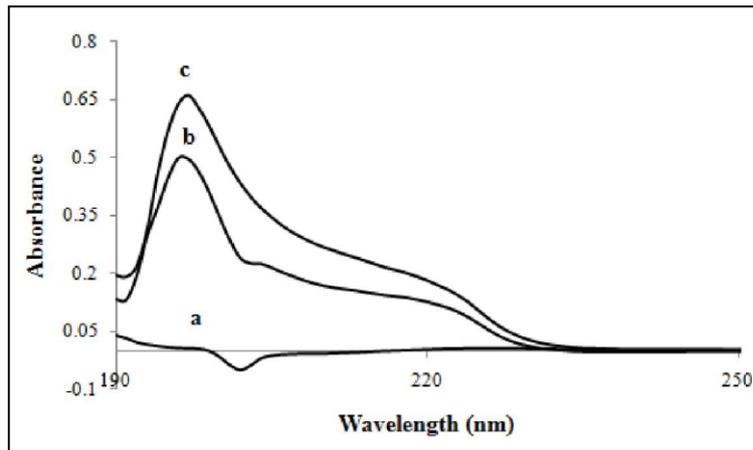
Annexe 3-a : Géométries des complexes d'inclusion les plus favorables du (a) R-BF\_α-CD et (b) S-BF\_α-CD



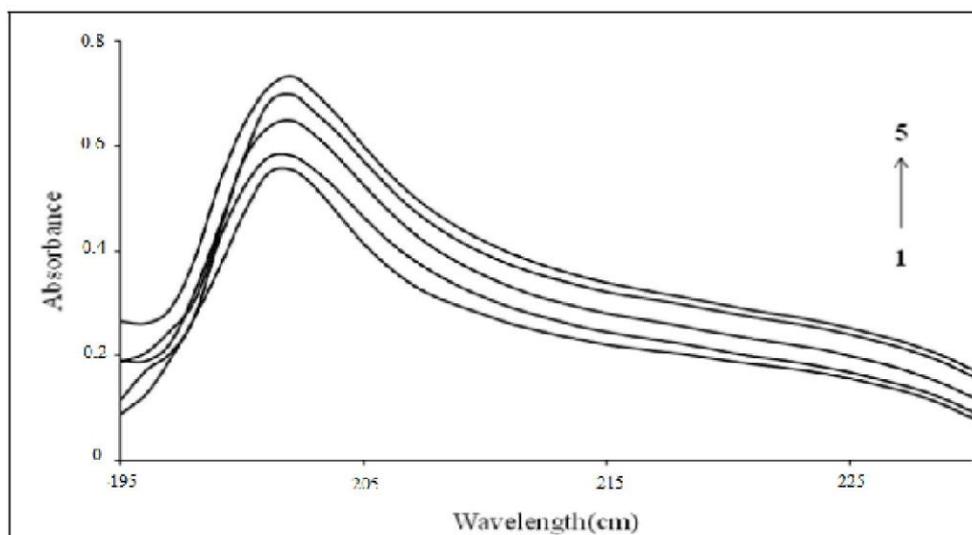
Annexe 3-b : Géométries des complexes d'inclusion les plus favorables du (a) R-BF\_β-CD et (b) S-BF\_β-CD



Annexe 4 : Spectre FTIR (a)  $\beta$ -CD; (b) Azomethine; (c) mélange physique d'azométhine et de  $\beta$ -CD; (d) complexe d'inclusion Azomethine- $\beta$ -CD

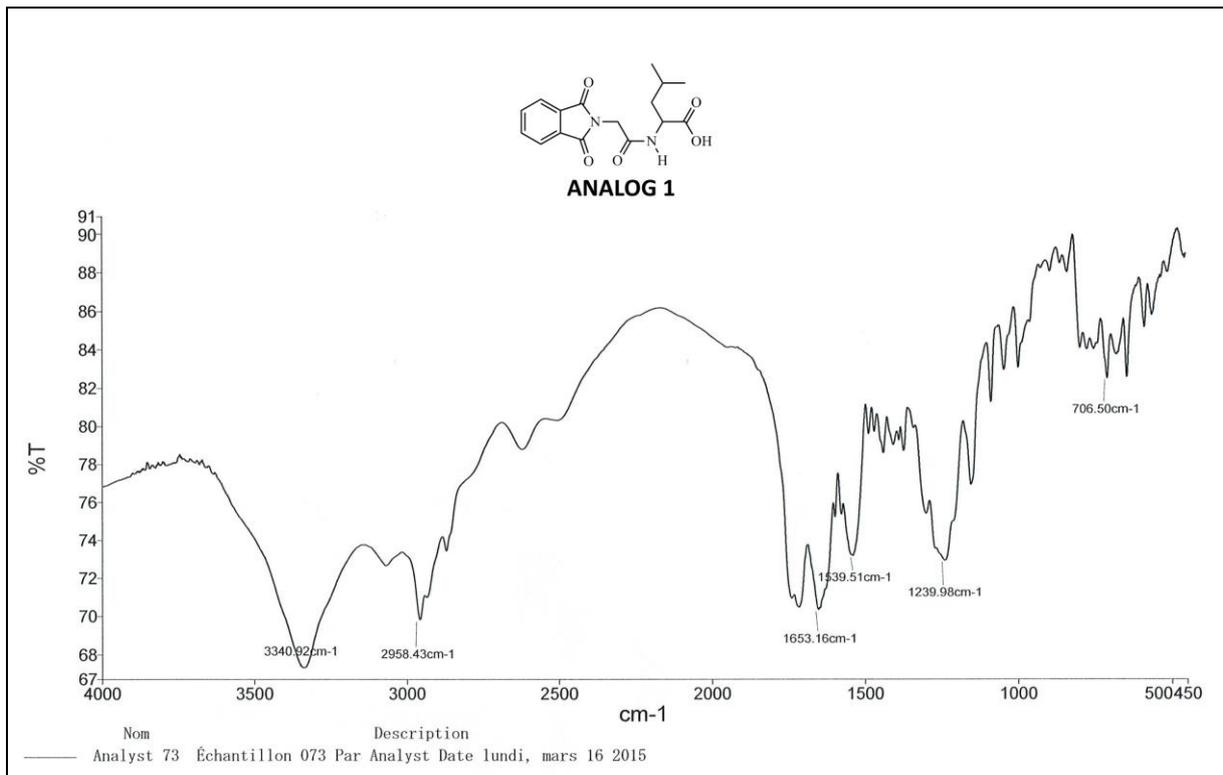
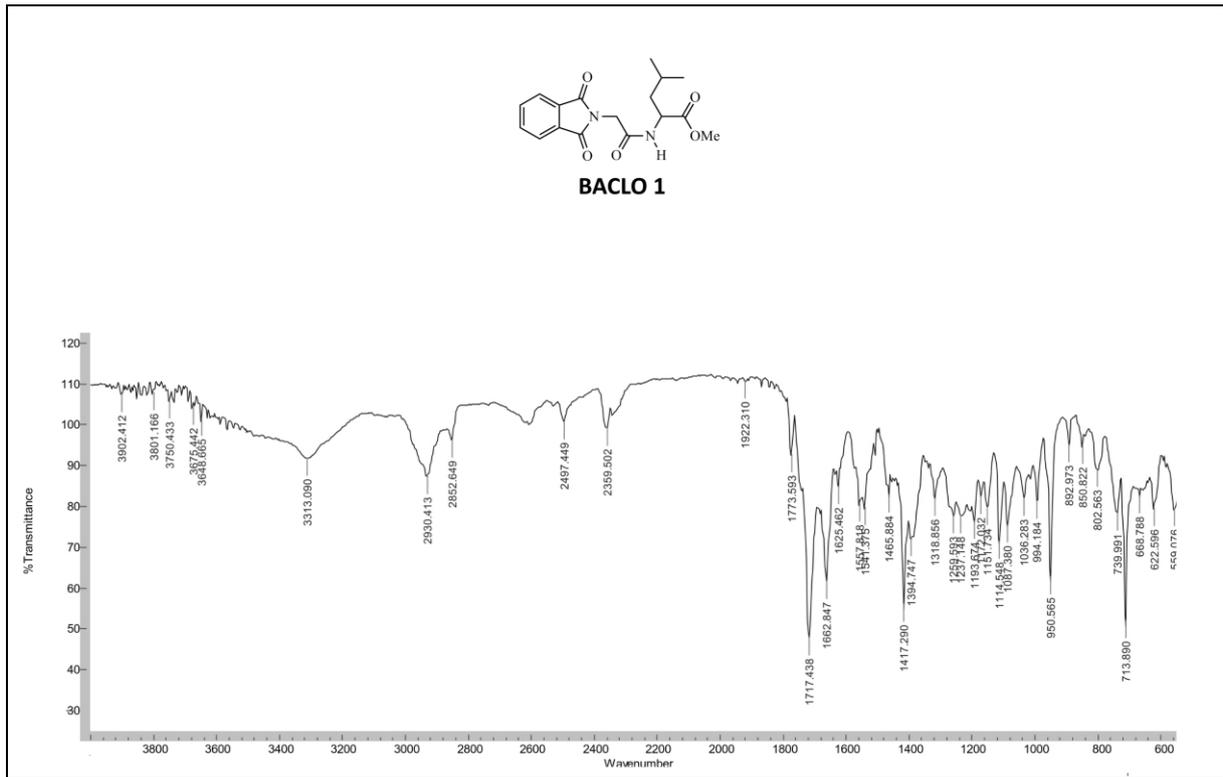


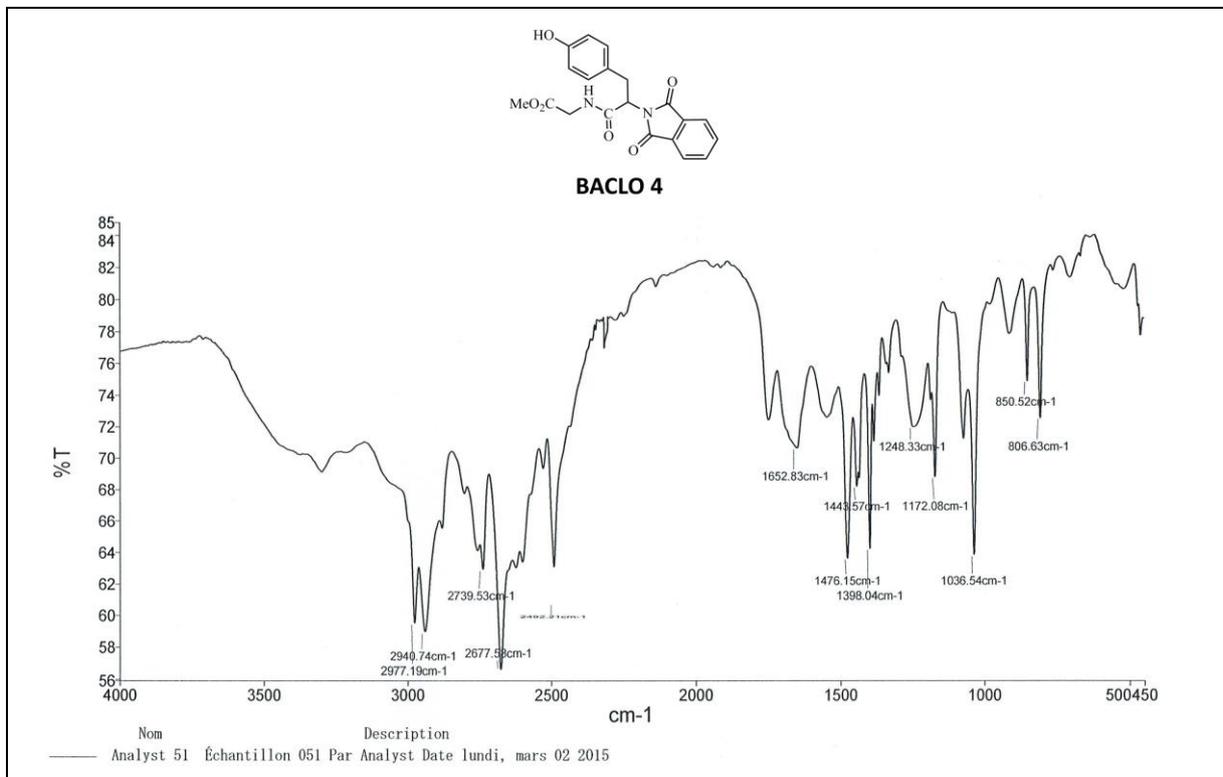
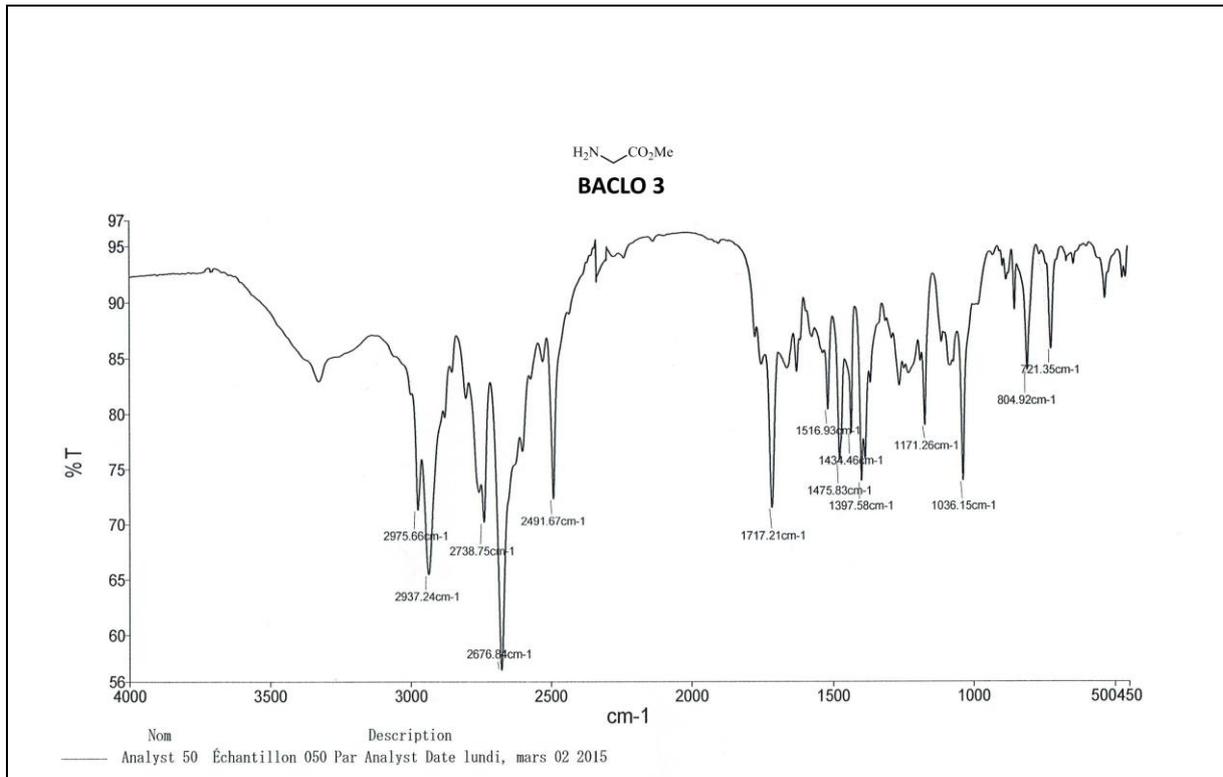
Annexe 5 : Spectre d'absorption de (a)  $\beta$ -CD; (b) PhenmimBr; (c)  $\beta$ -CD-PhenmimBr  
Avec  $[\text{PhenmimBr}] = 0,01 \text{ mM}$ ,  $[\beta\text{-CD}] = 0,0032 \text{ M}$ ; à pH 7,  $T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$ .

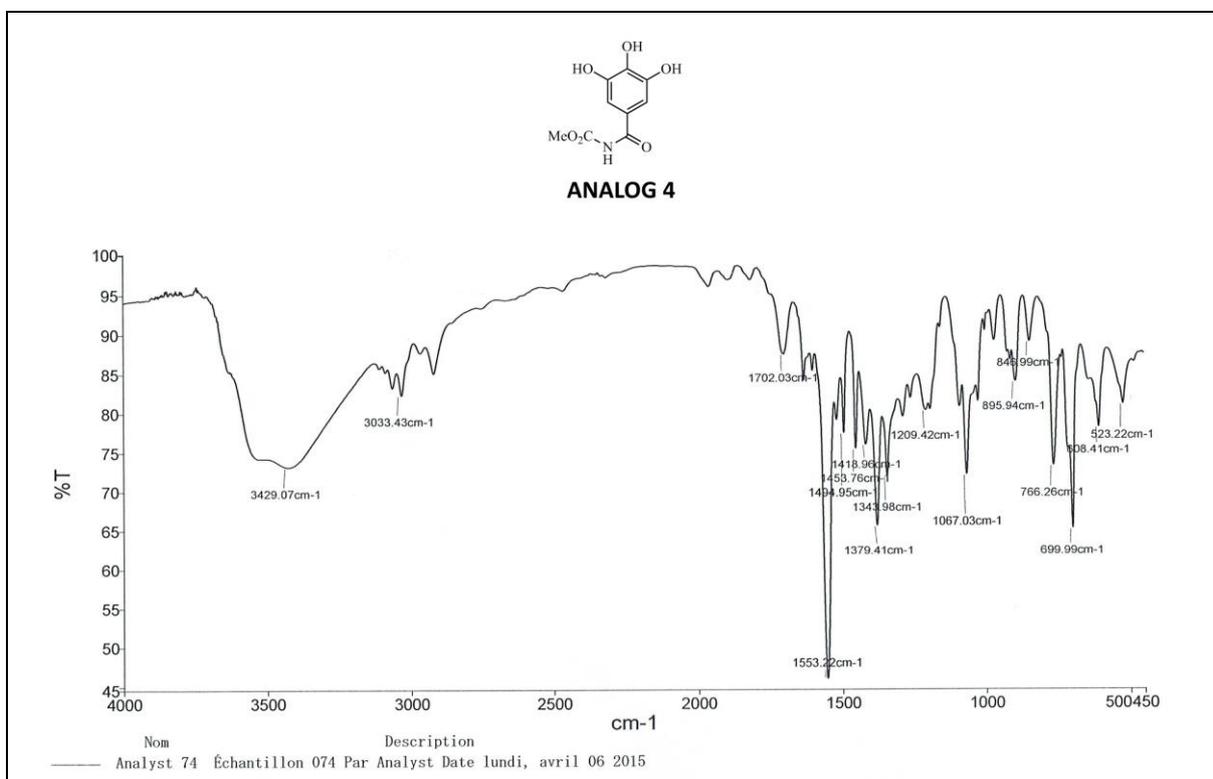
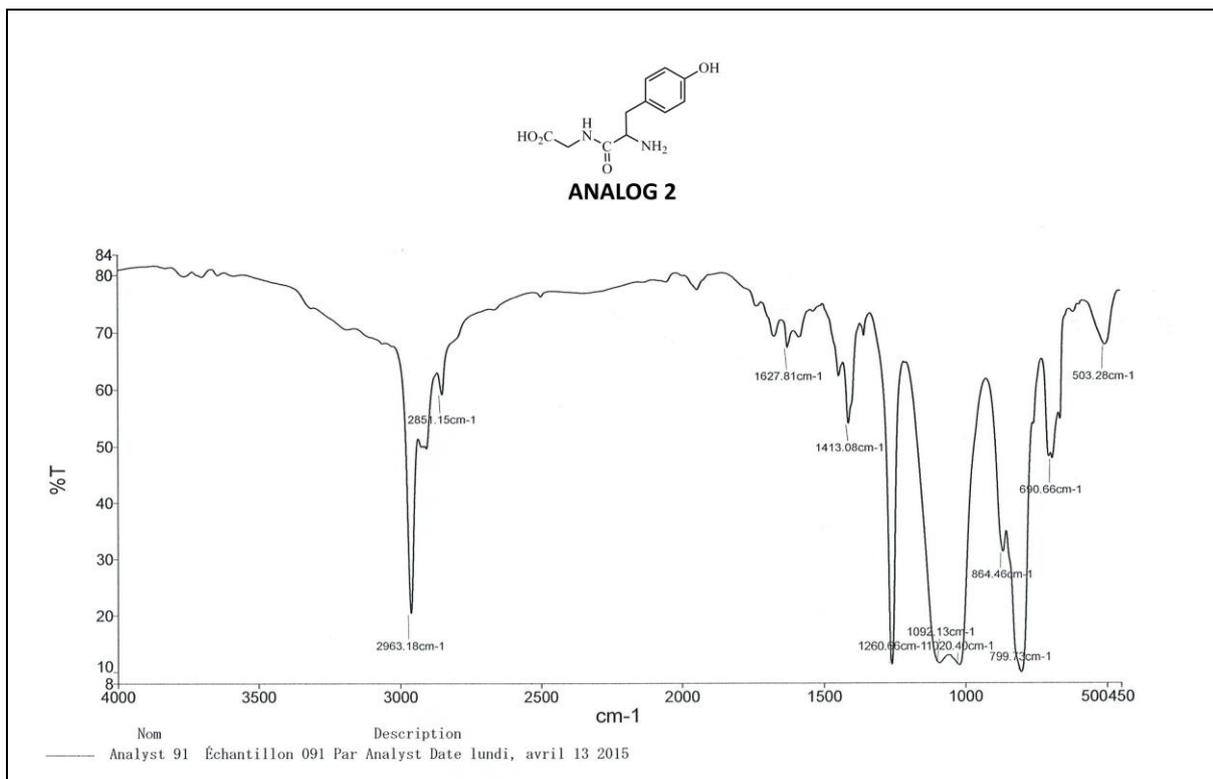


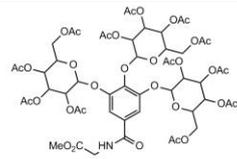
Annexe 6 : Spectre d'absorption du PhenmimBr avec différentes concentrations de  $\beta$ -CD  
pH 7,  $T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$ . De 1 à 5: 0 M; 0,001 M; 0,002 M; 0,003 M ; 0,005 M.

# SPECTRES IR

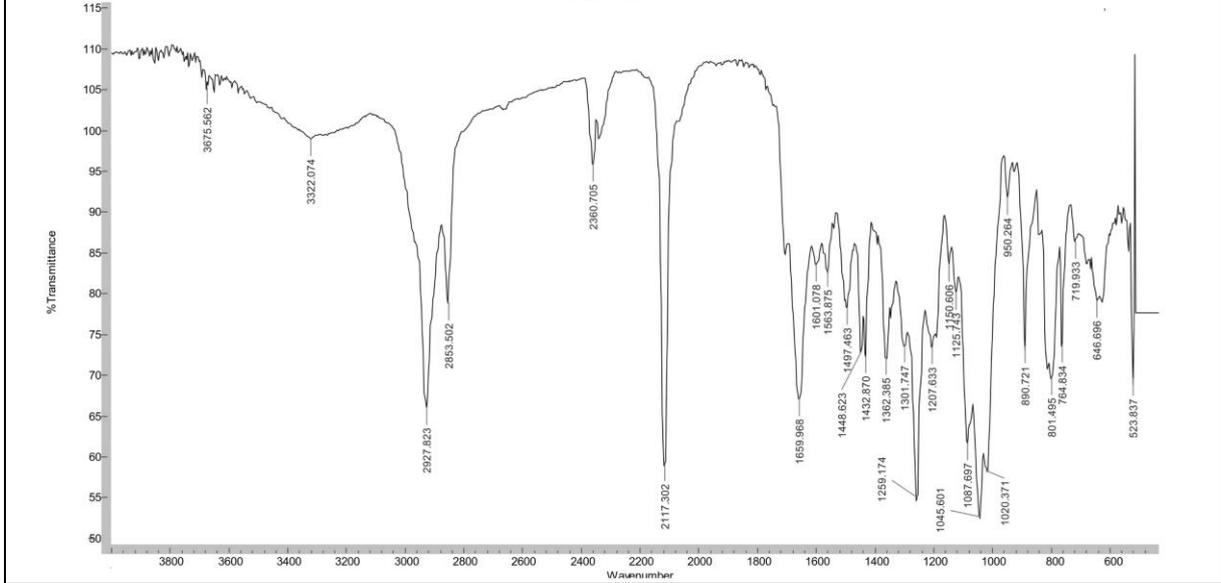




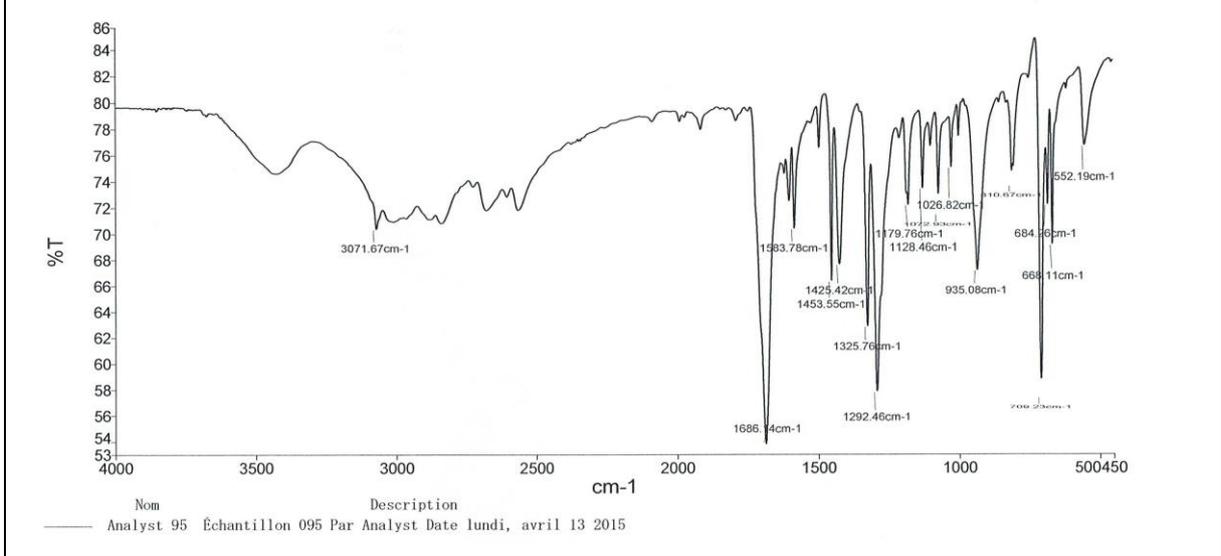


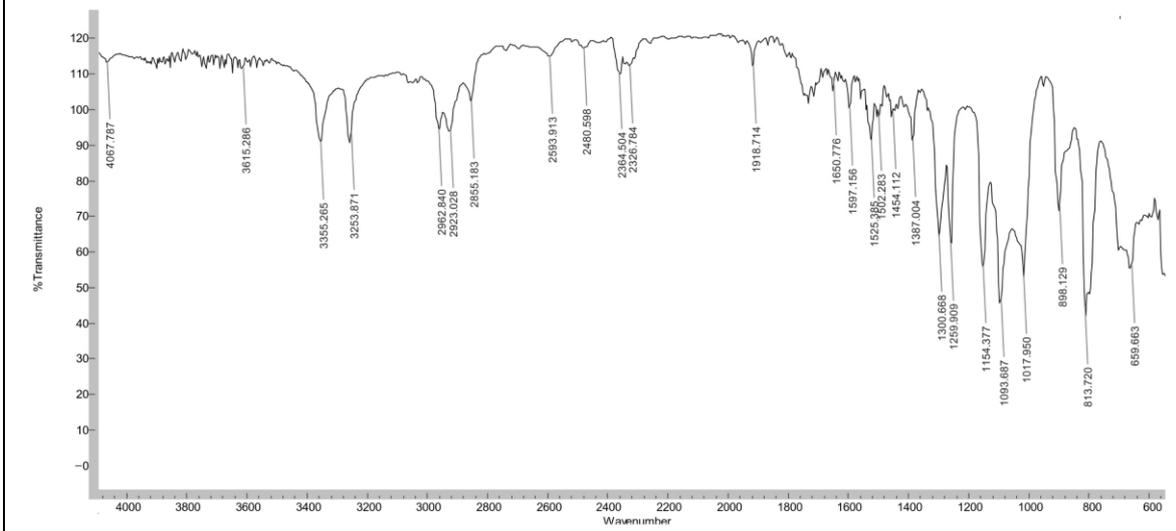
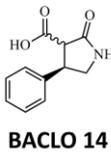
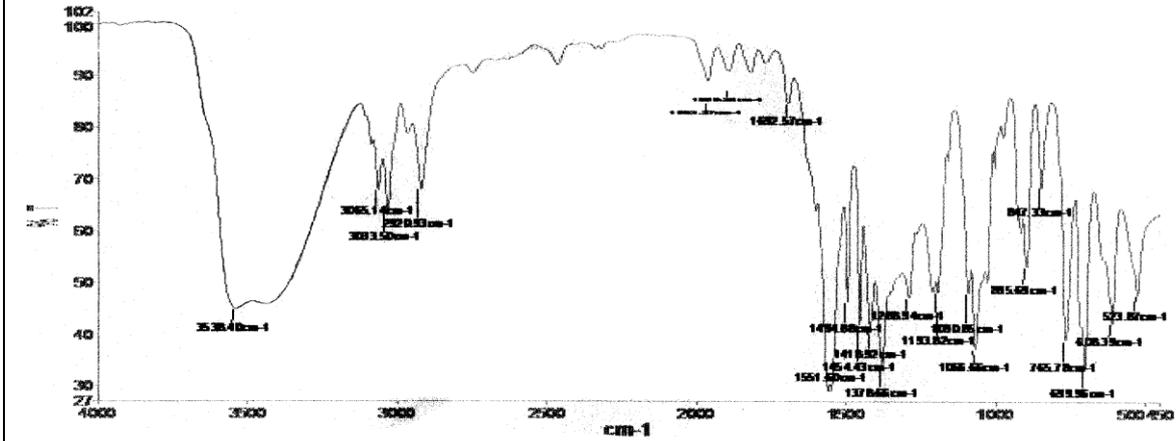


**ANALOG 5**



**BACLO 6**





## RESUMÉ

L'acide 4-amino-3-(p-chlorophényl) butyrique (Baclofène<sup>®</sup>, BF) est l'agoniste type des récepteurs GABA<sub>B</sub> et il est cliniquement utilisé comme myorelaxant, et récemment destiné à traiter le sevrage alcoolique. La synthèse de certains analogues du Baclofène<sup>®</sup> et leur inclusion dans la  $\beta$ -cyclodextrine a été rapportée dans ce travail, et ça pour but d'améliorer les propriétés thérapeutiques du Baclofène<sup>®</sup>. Avec cette inclusion, nous avons obtenu des complexes tout à fait originaux, que l'on ne rencontre pas dans la littérature. De plus, l'étude de la complexation a été achevée par spectroscopie UV, un outil pratiquement disponible dans tous les laboratoires de chimie.

**Mots clés:** Synthèse, Analogues du Baclofène, GABA<sub>B</sub>,  $\beta$ -cyclodextrine, complexe d'inclusion, spectroscopie UV.

## ABSTRACT

(RS)-4-Amino-3-(4-chlorophenyl)butanoic acid (Baclofen, BF) is the prototypic selective GABA<sub>B</sub> R agonist and is used clinically for the treatment of spasticity associated with brain and spinal cord injuries ; and recently used as an anti-craving agent. The synthesis of certain analogues of Baclofen and their inclusion in the  $\beta$ -Cyclodextrin has been reported in this work, in order to improve the therapeutic properties of baclofen. Through this inclusion, achieved a novel inclusion complexes between baclofen and  $\beta$ -CD. The latter are not found anywhere in the literature. Moreover, the study of the complexation was completed by UV spectroscopy, an available tool in chemical laboratories.

**Keywords:** Synthesis, Baclofen analogues, GABA<sub>B</sub>,  $\beta$ -cyclodextrine, inclusion complexes, UV spectroscopy.

## ملخص

حمض 4-امينو-3-(4-كلوروفينيل) بوتانويك (باكولوفان BF) هو بمثابة ناهض لمستقبلات غابا ب (GABA<sub>B</sub>) والمستعمل في الطب كعلاج لارتخاء العضلات كما استعمل مؤخراً للقطام الكحولي. ان اصطناع بعض مماثلات الباكلوفان وادراجها ضمن السكريات الحلقية ب ( $\beta$ -cyclodextrine) قد ذكر في هذا العمل، وهذا بهدف تحسين الخصائص العلاجية للباكلوفان. بفضل هذا الادراج تحصلنا على مركبات مبتدعة، لم يتم التطرق إليها من قبل. بالإضافة الى ذلك، فلقد اتمنا دراسة مركباتنا بجهاز التحليل الطيفي للأشعة فوق بنفسجية، هذه الاداة المتوفرة عموماً في جميع مخابر الكيمياء.

الكلمات المفتاحية: الاصطناع، مماثل الباكلوفان، غابا ب، السكريات الحلقية ب، مركبات الادراج، التحليل الطيفي للأشعة فوق بنفسجية.