

Received: June 25, 1990; accepted: November 30, 1990

**SYNTHESE DE NOUVEAUX ACIDES AMINES F-ALKYLES DERIVES DE LA LYSINE,
L'ARGININE ET LA CYSTEINE**

M. HADDACH, R. PASTOR et J.G. RIESS

Laboratoire de Chimie Moléculaire, Associé au CNRS, Université de Nice-Sophia Antipolis, 06034 Nice (France)

SUMMARY

Ethyl-2-F-alcynoates are good substrates for Michael additions. Such additions allowed the preparation of three new families of F-alkylated aminoacids derived from lysine, arginine and cysteine. However, their transformation into betaines has proved more difficult than in the hydrocarbon series.

RESUME

Les F-alcyne-2-oates d'éthyle sont de bons substrats pour les additions de Michael. Ces additions ont permis la préparation de trois nouvelles familles d'acides aminés F-alkylés, dérivés de la lysine, l'arginine et la cystéine. Par contre leur transformation en bétaines s'est révélée plus délicate qu'en série hydrocarbonée.

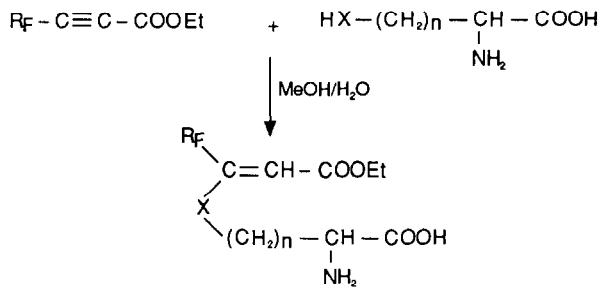
INTRODUCTION

La préparation d'émulsions de fluorocarbures à usage biomédical nécessite la mise au point de tensioactifs et d'émulsifiants perfluoroalkylés biocompatibles. Ceux dont la partie polaire est proche de celle de tensioactifs naturels, semblent particulièrement prometteurs [1,2,3].

Parmi les très nombreux agents de surface actuellement disponibles, seuls les lécithines et le Pluronic F-68 ont été jugés utilisables par voie intravasculaire, encore que l'emploi du second soit actuellement contesté [4]. Les bêtaïnes dérivées d'acides aminés F-alkylés offrent avec les phosphatidyl cholines des lécithines une certaine similitude au niveau des têtes polaires, puisqu'il s'agit dans les deux cas de zwitterions. Les chaînes fluorées introduisent quant à elles la fluorophilie et l'effet d'abaissement des tensions interfaciales fluorocarbure/eau qui manquent aux lécithines naturelles [2]. La littérature ne rapporte guère d'aminoacides F-alkylés substitués [5].

RESULTATS ET DISCUSSION

Il a déjà été montré que les F-alkyl esters constituent des intermédiaires remarquables pour la synthèse d'hétérocycles substitués par des chaînes F-alkylées [6]. Disposant de F-alkynyl esters [6] nous avons préparé des acides aminés perfluoroalkylés par addition de Michael d'acides aminés naturels possédant un groupement secondaire nucléophile, selon le schéma suivant :



$X = \text{S}$ (cystéine), NH (lysine), HN-C(NH)=NH (arginine)

Nous avons préparé ainsi trois nouvelles familles d'aminoacides F-alkylés dérivés de la lysine, l'arginine et la cystéine, caractérisés par le fait que l'élément de jonction entre l'extrémité F-alkylée et la partie polaire est une liaison N-C ou S-C.

TABLEAU I
Caractéristiques physiques des F-alkyl aminoacides

RF-C≡C-CO ₂ Et	Produit	Solvant	R _F	Z/E	Rdt %	F °C
+	$ \begin{array}{c} \text{RF} \\ \\ \text{C} \equiv \text{CH} - \text{COOEt} \\ \\ \text{H} \\ \\ (\text{CH}_2)_4 - \text{CH} - \text{COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array} $	MeOH/ H ₂ O	C ₅ F ₁₁	*	35	106
Lysine	$ \begin{array}{c} \text{RF} \\ \\ \text{C} \equiv \text{CH} - \text{COOEt} \\ \\ \text{H} \\ \\ (\text{CH}_2)_4 - \text{CH} - \text{COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array} $	MeOH/ H ₂ O	C ₇ F ₁₅	*	40	148
Arginine	$ \begin{array}{c} \text{HO} \\ \\ \text{N} \text{---} \text{C} \text{---} \text{NH} - (\text{CH}_2)_3 - \text{CH} - \text{COOH} \\ \\ \text{RF} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array} $	MeOH/ HCl	C ₅ F ₁₁	*	30	115
	$ \begin{array}{c} \text{RF} \\ \\ \text{C} \equiv \text{CH} - \text{COOEt} \\ \\ \text{S} \\ \\ \text{CH}_2 - \text{CH} - \text{COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array} $	MeOH/ H ₂ O	C ₇ F ₁₅	*	25	146
Cystéine	$ \begin{array}{c} \text{RF} \\ \\ \text{C} \equiv \text{CH} - \text{COOEt} \\ \\ \text{S} \\ \\ \text{CH}_2 - \text{CH} - \text{COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array} $	MeOH/ H ₂ O	C ₅ F ₁₁	45/56	70	135
		C ₇ F ₁₅	40/60	75	175	

* 1 et 2 se dégradent dans l'acide trifluoroacétique.

Liaison N-C

Les additions d'amines sur les F-alcynyl esters ont largement été étudiées [7]. D'autre part la fonction ω -aminée de la lysine et la fonction guanidine de l'arginine sont fortement basiques. Cette propriété devait permettre de réaliser des additions nucléophiles du site azoté le plus basique sur des F-alcynyl esters. En effet, la réaction de la lysine avec les F-alcynyl esters dans un mélange MeOH-H₂O conduit aux F-alkyl aminoacides 1 (Tableau I).

Par contre la réaction avec l'arginine donne un mélange de deux produits identifiés comme étant l'un le produit attendu et l'autre un produit issu d'une cyclisation ultérieure, résultat d'une attaque nucléophile de la deuxième fonction amine du groupement guanidine sur la fonction ester. Le traitement du mélange par une solution 0,1N de HCl à reflux conduit seulement au produit cyclique 2.

Liaison S-C

Les additions de thiols sur les composés insaturés acétyléniques activés par un groupement carboxyle ont été très étudiées en série hydrocarbonée comme en série perfluoroalkylée. La littérature présente de très nombreux exemples qui traitent des conditions et des résultats de cette réaction de type Michael [8].

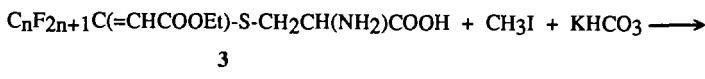
Afin d'obtenir des acides aminés F-alkylés avec une liaison S-C, nous avons réalisé l'addition de la cystéine et de son dérivé, le chlorhydrate de cystéine ester, sur les F-alcynyl esters. En effet la cystéine réagit sur les F-alcynyl esters dans un mélange MeOH-H₂O. Cette addition conduit à deux composés isomères : les (F-alkyl-1 éthoxycarbonyl-2 éthényle)-thiocystéine 3 de configuration Z et E (Tableau I).

Etude de la configuration

Le proton éthylinique des F-alkyl-3 (méthoxycarbonyl méthyl thio)-3 propanoates d'éthyle Z et E résonne à 6,87 ppm pour l'isomère Z et à 6,4 ppm pour l'isomère E [7]. A priori, le remplacement du fragment mercaptoacétate de méthyle par la cystéine ne devrait pas induire une inversion de déplacement chimique entre le Z et le E; il est donc normal d'attribuer le signal à 7,16 ppm à la configuration Z et celui à 6,95 ppm à la configuration E.

Essai de préparation de la bétaine dérivée de la F-alkylcystéine

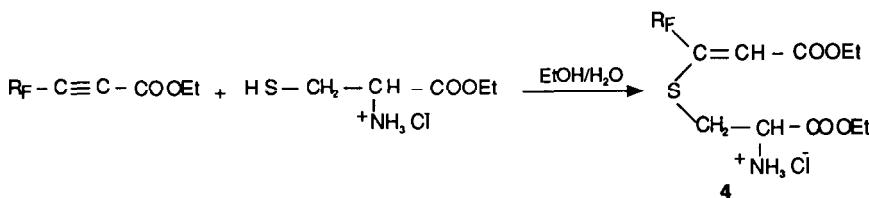
Nous avons choisi d'abord l'acide aminé F-alkylé dérivé de la cystéine pour essayer de préparer la bétaine, car c'est le seul qui ne contienne qu'une seule fonction amine. L'acide aminé 3 est traité selon la méthode de F. Chen et L. Benoiton [9]: à la température ambiante la (éthoxycarbonyl-2 F-alkyl-1 éthényle)thiocystéine en suspension dans le méthanol est mise à réagir avec de l'iode de méthyle en excès, en présence de bicarbonate de potassium selon :



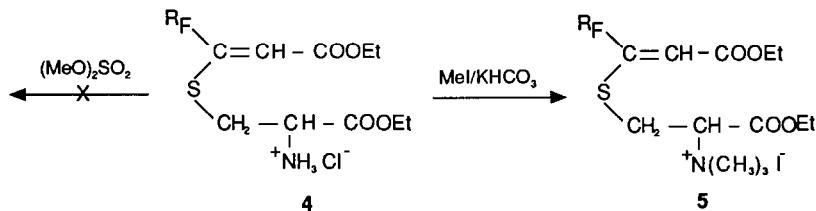
$n = 5,7$

Après neutralisation du mélange réactionnel brut par HCl dilué, c'est un mélange de produits difficilement séparables qui est obtenu. Le spectre RMN de ce mélange brut ne présente ni le pic caractéristique du groupement ammonium quaternaire ni ceux d'un groupement diméthylamino : la quaternisation (ou tout au moins la méthylation) n'a pas eu lieu.

Pour travailler dans les mêmes conditions que F. Chen et N. Benoiton (milieu homogène) le composé 3 a été transformé en chlorhydrate de l'ester éthylique de l'éthoxycarbonyl-2 F-alkyl-1 éthénylethiocystéine par addition du chlorhydrate de l'ester éthylique de la cystéine sur les F-alcynoates d'éthyle. La réaction conduit avec un excellent rendement (80-85%) à un mélange des deux isomères Z et E (7/3) du composé 4 :



Essai de préparation des F-alkylbétaïnes



Après traitement du composé 4, en solution dans le méthanol, par l'iodure de méthyle en présence de bicarbonate de potassium, nous avons récupéré des cristaux rouges de 5 avec un rendement très faible, de l'ordre de 5%. Le spectre RMN ^1H dans l'acide trifluoroacétique montre qu'il s'agit bien de la bétaine 5. Les signaux des méthyles de l'ammonium quaternaire résonnent à 3,4 ppm (intégration 9), ceux du méthyle de la fonction ester éthylique apparaissant à 1,3 ppm (intégration 3). Les autres hydrogènes résonnent sous forme d'un massif très confus centré à 4,1 ppm (intégration 5). Le spectre IR, sur pastille de KBr, indique la présence de la chaîne F-alkyle: absorptions intenses entre 1300 et 1100 cm^{-1} .

Le faible rendement obtenu semble montrer que l'iodure de méthyle n'est pas un agent alkylant satisfaisant pour méthylérer l'azote, même si l'on opère en milieu homogène.

Le sulfate de diméthyle est un agent alkylant plus puissant [9].* Son action sur les chlorhydrates des esters de F-alkylcystéines 4 dans les conditions opératoires préconisées, en présence d'hydroxyde de potassium, et après hydrolyse par HCl 12N, conduit à un liquide marron. La CPV indique que c'est un mélange de plusieurs composés dont l'un est largement majoritaire (80%). Malheureusement toutes les tentatives de séparation et de purifications par chromatographie sont restées vaines. L'étude spectrométrique du mélange montre toutefois qu'il n'y a pas eu formation de bétaine mais méthylation partielle de la fonction amino, ainsi que le confirme la présence des protons N-méthyle à 2,5ppm pour les amines secondaires et à 3,5ppm pour les amines primaires, et transestérification (O-méthyle à 3,8ppm).

* Divers essais d'alkylation utilisant la méthode d'Eschweiler-Clark (HCOH/HCOOH) ont conduit à des résultats similaires à ceux obtenus avec le sulfate de diméthyle.

CONCLUSIONS

Nous avons montré que les additions de la lysine, de l'arginine et de la cystéïne sur les F-alcynoates d'éthyle permettent la préparation d'acides aminés porteurs d'une chaîne F-alkyle. Il est donc manifeste que les F-alcyne-2 oates sont de bons substrats pour les additions de Michael, additions qui dépendent de la nucléophilie de la fonction secondaire de l'acide aminé utilisé.

La faible solubilité des F-alkylaminoacides obtenus, et le désir d'obtenir des produits plus fortement amphiphiles et tensioactifs, nous a conduit à tenter la quaternisation de la fonction amino et la préparation de bétaiïnes dérivées de la cystéïne F-alkylée. Mais dans cette série fluorée, l'alkylation s'est révélée beaucoup plus délicate qu'en série hydrocarbonée. Ainsi l'action de l'iodure de méthyle ne conduit à la bétaiïne attendue qu'avec un faible rendement. L'emploi du sulfate de diméthyle ne permet pas la quaternisation dans les conditions utilisées, et semble conduire à un mélange d'amines primaires et secondaires.

PARTIE EXPERIMENTALE

Acides aminés F-alkylés dérivés de la lysine et de l'arginine

1- Préparation de la F-alkyllysine 1

A 2,1 mmol de F-alcynoate d'éthyle dans 20 ml de méthanol, on ajoute, à température ambiante, 2,5 mmol de lysine dans 12 ml d'eau. Le mélange est agité durant 6 h. Le précipité formé est essoré, lavé par 2 fois 10 ml d'eau puis séché sous vide (0,3 mm Hg). Microanalyse : trouvé : C 34,68; H 3,21; N 4,35; F 45,06; calculé à partir de C₁₇H₁₇F₁₅O₄N₂: C 35,29; H 3,7; N 4,57; F 46,56.

2- Préparation du F-alkyl arginine 2

Le même procédé que ci-dessus est utilisé pour l'arginine. Le produit récupéré est traité par une solution 0,1N de HCl et chauffé à reflux durant une nuit. Après neutralisation du milieu par une solution 0,1N de NaOH, le précipité formé est récupéré, lavé avec 10 ml d'eau puis séché sous vide (0,3 mm Hg). R_F = C₇F₁₅ : SM (LID/IC NH₃) : 576 (M-17) 15%

3- Préparation de la F-alkylcystéine 3

A 4,1 mmol de F-alcynoate d'éthyle dans 20 ml de méthanol on ajoute, à température ambiante, 4,3 mmol de cystéine dans 15 ml d'eau. Le mélange est agité à température ambiante durant 6 h. Le précipité blanc formé est essoré puis lavé par 20 ml d'eau et séché sous vide (0,3 mm Hg). Microanalyse trouvé: C 31,88; H 2,56; N 2,8; S 6,87; F 43,19 calculé à partir de C₁₅H₁₂F₁₅O₄NS : C 32,03; H 2,46; N 2,87; S 6,57; F 42,91.

trouvé : C 30,45; H 2,11; N 2,19; S 5,41; F 48,85. calculé à partir de C₁₃H₁₂F₁₁O₄NS : C 30,03; H 2,04; N 2,21; S 5,45; F 48,55.

RMN ¹H(CF₃COOH) : d 7,16; 6,95 (dd, 1H, CH=C) d 4,76 (m, 1H, CH-COOH) d 4,4 (q, 2H, ²J(HH) = 7Hz, CH₂-CH₃) d 3,75 (m, 2H, S-CH₂) d 1,3 (t, 3H, ²J = 7Hz, CH₂-CH₃)

4- Préparation du composé 4

A 2,83g (15,4mmol) de F-alkyl-3 alcynoate d'éthyle dans 50ml de méthanol sont additionnés 5,65g(15,4mmol) du chlorhydrate de l'ester de la cystéine. Le mélange est agité à température ambiante durant 6h. Le méthanol est évaporé à sec, le résidu jaune obtenu est lavé avec de l'hexane et correspond au mélange résultant des additions cis et trans. Après lavage à l'éther (50ml), on récupère 2,6g d'un solide blanc 4. Microanalyse : Trouvé : C 32,57; H 3,2; N 2,44; F 37,58; S 5,89; Cl 6,42. calculé à partir de C₁₅H₁₇F₁₁O₄NSCl : C 32,63; H 3,08; N 2,53; F 37,89; S 5,8; Cl 6,43.

REMERCIEMENTS

Nous remercions le CNRS et la société ATTA pour leur soutien continu et la société ATOCHEM pour le don de matériaux perfluoroalkylés.

REFERENCES

- 1 J.G. Riess, M. Le Blanc, in K.C. Lowe (Ed.), 'Blood Substitutes: Preparation, Physiology and Medical Applications,' Ellis-Horwood, Chichester, 1988, Ch.5.
- 2 J.G. Riess, Proceed. 2nd World Surfactant Congress (Paris 1988), Vol 4, p256.

- 3 J.G. Riess, C. Arlen, J. Greiner, M. Le Blanc, A. Manfredi, S. Pace, C. Varescon, L. Zarif, *Biomat., Art, Cells, Art, Org.*, 16(1-3) (1988) 421.
- 4 G.M. Vercellotti, D.E. Hammerschmidt, *Int. Anesth. Clin.*, 23 (1985), 47.
- 5 C. Blaignon, M. Le Blanc, J.G. Riess, *Proc. 2nd World Surfactant Congress (Paris 1988)*, Vol. 2, p 137.
- 6 J. Froissard, J. Greiner, R. Pastor, A. Cambon, *J. Fluorine Chem.*, 17 (1981) 249.
- 7 J. Fabron, R. Pastor, A. Cambon, *J. Fluorine Chem.*, 37 (1987) 371.
- 8 A. Chauvin, J. Greiner, R. Pastor, A. Cambon, *Tetrahedron*, 42 (1986) 663.
- 9 F. Chen, N. Benoiton, *Can. J. Chem.*, 54 (1976) 3310.
- 10 H.E. Carter, D.B. Melville, *J. Biol. Chem.*, (1940) 109.