

SYNTHESE D'UN TELOMERE PERFLUOROCARBONE DERIVE DU TRIS- (HYDROXYMETHYL) ^{14}C ET ^{13}C -ACRYLAMIDOMETHANE (F-TAC)

**M. AZIM¹, J.C. MADELMONT¹, M. RAPP¹, J.C. MAURIZIS¹, A.PAVIA²,
B. PUCCI², A. VEYRE^{1,3}**

¹INSERM U 71 Rue Montalembert, 63005 CLERMONT-FERRAND CEDEX

²Laboratoire de Chimie Bioorganique, Faculté des Sciences, 33, rue Louis Pasteur,
84000 AVIGNON

³Laboratoire de Biophysique Médicale, Faculté de Médecine, 28, Place Henri Dunant
B.P. 38 - 63001 CLERMONT-FERRAND CEDEX

SUMMARY

F₅TAC₅ a Perfluoroalkylated telomer, was labeled by ^{14}C and ^{13}C on the carbonyl group from acrylic acid ^{14}C . The synthesis of this compound was performed via a five steps procedure. The labelling yield calculated from the precursor (Ba 14 or $^{13}\text{CO}_2$) is in the range of 25-30 %.

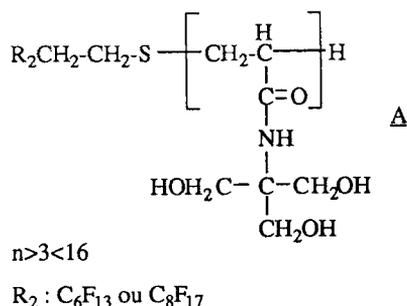
RESUME

Le télomère perfluoré F₅TAC₅ a été marqué par ^{14}C et ^{13}C sur le groupe carbonyle à partir de l'acide acrylique ^{14}C . La synthèse est réalisée en cinq étapes à partir de BaCO₃ comme précurseur. Le rendement de marquage calculé par rapport au précurseur (Ba $^{14}\text{CO}_2$ ou $^{13}\text{CO}_3$) est de l'ordre de 25 à 30 %.

INTRODUCTION

Le transport in vivo de principes actifs par des systèmes organisés (liposomes, nanoparticules, macroémulsion...) ou après greffage sur des structures macromoléculaires naturelles ou synthétiques a été abondamment étudié au cours des vingt dernières années. Ces différentes approches ont toutes pour objectif de moduler les propriétés pharmacologiques des principes actifs, notamment prolonger leur activité et/ou accroître leur spécificité d'action.

Une des inconnues de ces différentes approches reste le devenir in vivo du vecteur, sa biodégradabilité et son élimination de l'organisme. En aucun cas le vecteur ne doit s'accumuler dans les tissus ou organes. Pavia et coll. ont développé récemment une nouvelle classe de transporteurs de type télomère, d'oligomère de faible masse moléculaire (< 15000) à extrémité fonctionnalisée. Les télomères munis de capsules peptidiques (1-2) permettent le greffage et le transport de principes actifs tels que l'acide chromone (2), ceux munis d'une extrémité hydrophobe perfluoroalkylée et d'une tête hydrophile hydroxylée dont la structure générale est indiqué ci-après, permettent d'émulsionner les perfluorocarbures et de transporter l'O₂ in vivo



3) PREPARATION DU TRIS (HYDROXY METHYL) ACRYLAMIDOMETHENE ¹⁴C et ¹³C 3

A 6 mmoles de chlorure d'acryloyle refroidie (0-2°C), on ajoute 24 mmoles de Tris-(hydroxyméthyl) aminométhane et 4 mg de NaNO₂ en solution dans 8 ml d'eau. Après deux heures d'agitation à cette température le mélange est acidifié à pH = 3 et extrait par l'éther pour éliminer le chlorure d'acide en excès. La phase aqueuse est ensuite évaporée sous vide, puis le résidu sec extrait par le méthanol est chromatographié sur gel de silice avec l'acetate d'éthyle/Méthanol 8/2 v/v comme éluant. Le rendement de cette étape est de 70 % par rapport au chlorure d'acide.

As = 1,810² MBq/mmole 4,89mCi/mmole.

Identification

Fp = 139-140

CCM Silice Merck Si 60 HF 254 éluant: acetate d'éthyle/Méthanol 8/2 v/v, R_f=0,7

IR(KBr v cm⁻¹): 3400-3100(NH,OH) 2950-2850 (CH), 1650 (CONH)

¹H RMN (DMSO d₆) : 3,57 (d, J = 5,8 Hz, 6H, CH₂); 4,78 (t, J = 5,71 Hz, 3H, OH); 5,55 (doublet de doublet, J₁ = 10 Hz, J₂ = 2,27); 6,05 (doublet de doublet, J₁ = 17,2 Hz, J₂ = 2,29, 1H, CH₂=); 6,38 (doublet de doublet, J₁ = 17,2 Hz, J₂ = 10 Hz, 1H, -CH=); 7,44 (S, 1H, NH)

¹³C : 60,487 (CH₂OH); 62,667 [C(CH₂OH)]; 125,011 (-CH=); 132,40 (CH₂=); 165,493 (C=O)

4) PREPARATION DU TELOMERE F₅ TAC5 - ¹⁴C et ¹³C 4

A une solution de 4,2 mmoles de tris (hydroxyméthyl)-acrylamidométhane dans 6 ml de méthanol à 50°C, on ajoute 0,84 mmole de 1H, 1H, 2H, 2H perfluoro octane thiol et 11 mg de α,α'azoisobutyronitrile (AIBN) comme amorceur de télomérisation. Après 24 heures à reflux, sous atmosphère d'azote, on distille 80% du méthanol puis ajoute 100 ml d'éther, et le composé précipite. Après filtration et nouveau traitement par 100ml d'éther le précipité est isolé, séché sous pression réduite. Le rendement est de 61,5% par rapport au tris(hydroxyméthyl)-acrylamidométhane. Le DP_n est évalué en RMN ¹H dans le DMSO_d₃ : DP_n = 5

As = 8,6110⁵Bq/mg, 28μCi/mg

Identification

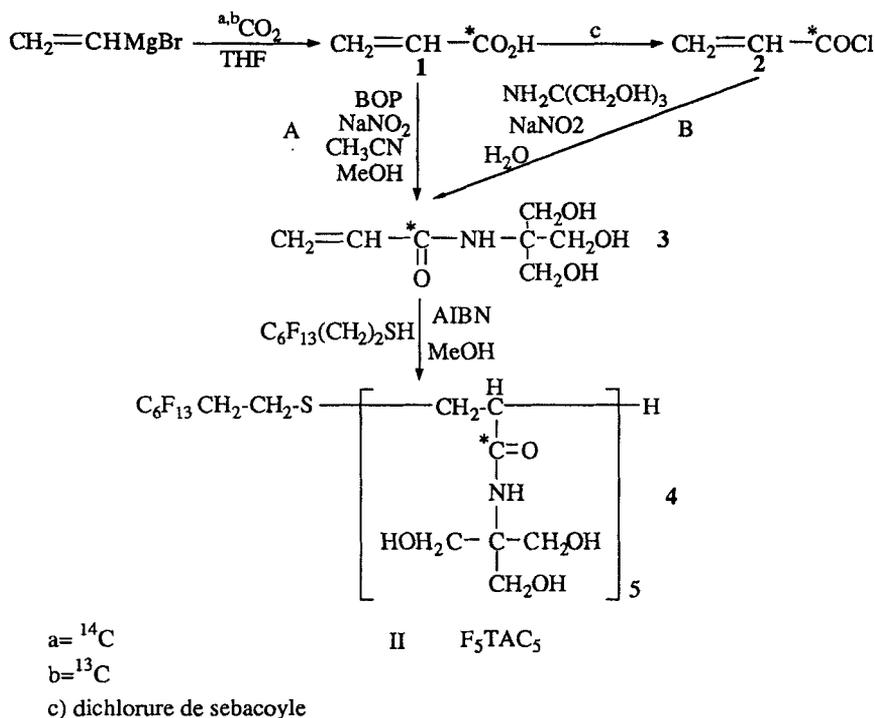
IR(KBr v cm⁻¹): 3300-3100 (NH,OH) 2950-2850 (CH), 1650 (CONH)

¹HRMN DMSO_d₆): 1,38 (COCH₂-CH₂); 2,02 (CH₂-SCH₂); 2,20 (CHCO); 2,70 (-CH₂CF₂-); 3,39 (-CH₂-OH); 4,98 (OH); 7,12 (NH)

¹³CRMN (DMSO_d₆): 175,60 (CO).

Ces tensioactifs se révèlent non hémolytiques, présentent une DL 50 élevée après injection i v (DL 50 > 4 g/kg) et forment des microémulsions stables à la chaleur et dans le temps (4). L'utilisation thérapeutique de tels vecteurs nécessite une étude pharmacocinétique préalable. C'est la raison du travail rapporté ci-après.

SCHEMA II



La radioactivité est introduite dès le premier stade par carbonatation $^{14}\text{CO}_2$ ou $^{13}\text{CO}_2$ du bromure de vinyl magnésium dans le THF, elle conduit après hydrolyse acide à l'acide acrylique ^{14}C ou ^{13}C (5). Pour la préparation du tris (hydroxyméthyl) acrylamidométhane 3, nous avons utilisé deux méthodes (A et B schéma II).

La méthode A consiste à faire réagir directement l'acide acrylique sur le Tris-(hydroxyméthyl) aminométhane en présence de BOP [benzotriazo-1-yloxytris (diméthylamino) phosphonium hexafluorophosphate] (6). Cette réaction permet d'obtenir l'amide en une seule étape ; malheureusement le rendement reste faible (30 %).

La méthode B utilise le chlorure d'acryloyle. La réaction menée avec le Tris-(hydroxyméthyl) aminométhane en excès conduit au composé 3 avec un rendement de 70 %. C'est cette méthode que nous avons utilisée pour réaliser le marquage.

La chloruration de l'acide acrylique peut se faire par l'action de divers chlorures d'acide. La difficulté réside dans la séparation du chlorure d'acryloyle du mélange réactionnel. C'est la raison pour laquelle nous avons utilisé le dichlorure de sebacoyle, composé moins volatil.

Le télomère F_5TAC_5 est obtenu en une étape par télomérisation du Tris-(hydroxyméthyl) aminométhane en présence de thiol perfluoré.

Les difficultés de cette synthèse proviennent du fait que l'acide acrylique et le chlorure d'acryloyle sont des composés relativement instables, qui se polymérisent facilement ce qui impose de travailler rapidement à l'abri de la lumière en atmosphère inerte avec des produits les plus purs possible. Le rendement global est de l'ordre de 25 à 30 % par rapport à $\text{Ba}^{14}\text{CO}_3$ ou $\text{Ba}^{13}\text{CO}_3$ comme précurseur.

PARTIE EXPERIMENTALE

INDICATIONS GÉNÉRALES

Les points de fusion ont été mesurés sur un banc Kofler. Les chromatographies sur couche mince (CCM) sont réalisées sur gel de silice Merck 60 F254.

Les mesures de la radioactivité sont effectuées avec un spectromètre à scintillation liquide Packard modèle 4530.

Les spectres IR sont enregistrés sur un spectromètre Perkin Elmer 398, les spectres RMN sur un appareil Brüker AM 200 WB : la position des bandes est donnée en valeur de δ par rapport au TMS comme référence interne.

Le carbonate de barium ^{14}C et ^{13}C ont été fournis par les Sociétés Dositek et Eurisotope.

1) PREPARATION DE L'ACIDE ^{14}C ou ^{13}C ACRYLIQUE 1

Le $^{14}\text{CO}_2$ ou $^{13}\text{CO}_2$, obtenu par acidification de 10 mM (50mCi) de $\text{Ba } ^{13}\text{CO}_3$, est recueilli sur 11 mmole de bromure de vinyl magnésium dans le THF. La réaction s'effectue à -20°C pendant 1 heure (7). Après carbonatation, le THF est évaporé sur la rampe à vide et le mélange est hydrolysé à -20°C par 10 ml d'eau puis 5 ml de H_2SO_4 6N en présence de 5 mg d'hydroquinone. La solution aqueuse contenant l'acide acrylique est déposée sur extrelut 20 (MERCK) puis éluee avec 500 ml d'éther. Après séchage sur MgSO_4 la solution éthérée est distillée sous pression réduite à température ambiante. Les rendements chimique et radiochimique sont de 80 %.

A.S.1,8410² MBq/mmmole 4.99 mCi/mmmole.

Identification

CCM Silice Merck Si 60 HF254 éluant: acétate d'éthyle, Rf= 0,74

IR (NaCl, vcm-1): 3600-3000 (OH), 1750 (CO), 1540 (CH=CH)

^1H , RMN, CDCl_3 : 5,92 (doublet de doublet, 1H, $J_1 = 10,3$ Hz, $J_2 = 1,7$ Hz, $\text{CH}_2 =$); 6,10 (doublet de doublet, 1H, $J_1 = 16,9$ Hz, $J_2 = 10,3$ Hz - $\text{CH} =$);

6,49 (doublet de doublet, 1H, $J_1 = 16,9$ Hz, $J_2 = 1,7$ Hz, $\text{CH}_2 =$)

^{13}C RMN : 127,912 (-CH=); 133,161 ($\text{CH}_2 =$); 171,574 (C=O)

2) PREPARATION DU CHLORURE D'ACRYLOYLE ^{14}C ET ^{13}C 2

A 8 mmoles d'acide acrylique et 4 mg de Cu SO_4 , on ajoute 4 ml de dichlorure de sebacoyle : le mélange est chauffé à 100°C pendant 1 heure, puis le chlorure d'acryloyle est recueilli dans un piège à -180° après distillation sous vide à la rampe à vide. Le composé est utilisé tel quel, sans purification ultérieure, en raison de sa volatilité et de son instabilité. Le rendement chimique et radiochimique est de l'ordre de 75 à 80%.

As= 1,810² MBq/mmmole 4,89mCi/mmmole.

REMERCIEMENTS

Nous remercions Madame LEFRANCOIS pour sa participation à la réalisation de ce manuscrit.

BIBLIOGRAPHIE

- 1) PUCCI B., GUY E., VIAL-REVEILLON F., PAVIA A.A. Eur. Polym. J., **24**, 1077-1086 (1988).

- 2) PUCCI B., LACOMBE J.M., GUY E., RAKOTOMANOMANA N., FAURIE M., MAURIZIS J.C., PAVIA A.A.
Eur. Polym. J., 26, 731-738 (1990).
- 3) PAVIA A.A., PUCI B., RIESS J.G., ZARIF L.
Makromol. Chem., 193, 2505-2517 (1992).
- 4) ZARIF L., RIESS J.G., PUCCI B., PAVIA A.A.
Biomaterials, 1993 (sous presse).
- 5) PICCHAT L., HERBERT M., et AUBERT F.- J. Lab.Comp. , Vol 1, n°1, (1965).
- 6) SELVE C., DELESTRE Ch, ACHILEFU S., MAUGRAS M., et ATTIOUI F.,
J. Chem. Soc., Chem. Commun., 863-884, (1991).
- 7) BARET C. et PICCHAT L., Bull. Soc. Chem. France, 18 : 580 (1951)