

ALKYLFLUOROLIPOPEPTIDES : UNE NOUVELLE CLASSE DE MOLECULES AMPHIPHILES NON IONIQUES

Claude SELVE*, Faouzia HAMDOUNE

Laboratoire d'Etudes des Solutions Organiques et Colloïdales Associé au CNRS.
Groupe "Etudes et Synthèses de Tensio-Actifs"
UNIVERSITE DE NANCY I - Campus Scientifique Victor GRIGNARD.
B.P. 239 - 54506 - VANDOEUVRE-LES-NANCY - FRANCE

A synthesis of new alkylfluorolipopeptides is described. These compounds are non-ionic surfactants in which the hydrophilic part is an oligopeptide and the hydrophobic end is composed of an alkylperfluoro group. The surfactant properties were shown by measurement of the lowering of surface tension of their aqueous solutions.

Dans le cadre de la mise au point de solutions aqueuses de fluorocarbures [1] nous avons réalisé la synthèse de tensioactifs non ioniques perfluorés à tête hydrophile de type éthylène glycol [2,3]. Ces produits ont permis de montrer la possibilité de formuler des solutions homogènes isotropes de perfluorocarbures dans l'eau (microémulsions) [4]. Celles-ci présentent des propriétés physico chimiques permettant d'envisager leur emploi comme transporteur des gaz respiratoires en substitution du sang ou toute autre application biologique pour laquelle un apport d'oxygène est requis [5,6]. Cependant ces premières formulations présentaient une toxicité trop importante, celle-ci semblant provenir des surfactifs utilisés et en particulier de la partie éthylène glycol linéaire [7,8]. Le principe de l'utilisation d'une microémulsion ou d'une émulsion de fluorocarbures à des fins biologiques reste cependant très attractif [5,6,9], il passe par la synthèse de tensioactifs biocompatibles comme l'indique Riess dans une mise au point récente [10].

Nous avons entrepris la recherche de formulations de nouvelles molécules tensioactives fluorées non ioniques qui seraient mieux tolérées par un milieu biologique [11]. Nous présentons ici la synthèse de composés à tête hydrophile constituée par un oligopeptide et dont la partie lipophile est un alkylfluoroacide. Une telle structure permet à la fois d'envisager des produits présentant une variation de balance hydrophile lipophile [12] très fine et une compatibilité biologique vraisemblablement meilleure que les composés précédemment examinés. Nos premiers résultats de synthèse et de mesure de tensioactivité de ces *alkylfluorolipopeptides monodisperses non ioniques*, montrent l'intérêt de cette démarche.

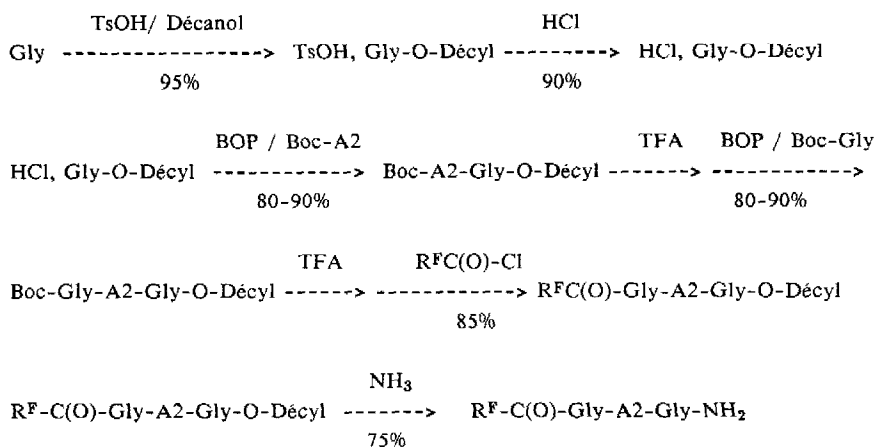
L'oligopeptide qui constitue la tête hydrophile des molécules est préparé préalablement et la partie hydrophobe fluoroacide est alors condensée sur le N terminal. Ceci permet de faire varier la longueur et la nature de la partie fluorée. De plus, l'oligopeptide pourra être utilisé pour préparer de nouvelles classes de substances surfactives par la partie C terminale couplée avec des fluoroalkylamines.

Après différents essais dans la synthèse de l'oligopeptide, utilisant une glycine C terminale sous forme amide, ester méthylique ou éthylique, on constate que ces protections ne permettent pas un accès performant et simple (purification par simples lavages acides et basiques [13]) aux quantités de produit visées (de l'ordre de 20 grammes). En fait la forte hydrophilie du composé formé rend inutilisables les lavages extractifs (sauf au prix d'une perte de rendement). Nous avons alors préparé un ester de l'acide aminé C terminal avec le décanol: la chaîne à 10 carbones hydrogénéés assure une hydrophobie convenable pour que la synthèse se déroule suivant les protocoles décrits (purification par simples lavages acides et basiques) avec couplage au BOP [13,14].

Le chlorure du fluoroalkylacide est couplé sur le N terminal de l'oligopeptide. L'ester de décyle est aminolysé par NH_3 suivant les conditions habituelles: cette aminolyse permet d'obtenir des composés dont les propriétés tensioactives seront pratiquement indépendantes du pH. La synthèse des produits est résumée dans le schéma (les réactions sont faites en visant des quantités de substances de l'ordre de 20 g). Les rendements sont corrects, les purifications à chaque stade sont faites par simples lavages acides et basiques [13]. La pureté et la structure des produits sont vérifiées à chaque étape par CCM, analyses centésimales et spectroscopiques. Les substances obtenues sont toutes des solides à point de fusion net [15].

Nous avons préalablement préparé des produits comportant des dipeptides comme tête hydrophile (Gly-Gly- NH_2 ; Ala-Gly- NH_2). Ils se révèlent très peu solubles dans l'eau, l'hydrophilie apportée par un dipeptide est insuffisante pour obtenir des surfactifs présentant les propriétés recherchées. Avec un tripeptide comme tête hydrophile, les produits présentent une solubilité dans les milieux aqueux suffisante.

Schéma de synthèse des alkylfluorolipopeptides:



A2: Ala, β Ala, Sar ; $\text{R}^{\text{F}} = \text{C}_6\text{F}_{13}\text{-CH}_2\text{-}, \text{C}_8\text{F}_{17}\text{-CH}_2\text{-}$.

Caractère tensioactif et micellisation dans l'eau des alkylfluorolipopeptides.

Les propriétés tensioactives en système binaire (eau/alkylfluorolipopeptide) de nos composés ont été évaluées par mesure de la variation de la tension superficielle en fonction de la concentration en produit étudié. Les courbes obtenues en portant γ versus $\log(C)$ permettent d'obtenir à la fois l'abaissement maximum de tension superficielle et la Concentration Micellaire Critique. Une évaluation de la solubilité dans l'eau des substances préparées a également été réalisée. Pour les substances peu solubles, aucune CMC ne peut-être évaluée. Cependant les dérivés fluorés présentant une densité très supérieure à 1, nous avons mesuré la tension superficielle de la solution saturée.

Les propriétés dans l'eau des alkylfluorolipopeptide-esters intermédiaires ont été également examinées; ils se révèlent très peu solubles (en général moins de 10^{-6} moles.l⁻¹). Nous avons cependant mesuré les abaissments de tension superficielle pour leurs solutions aqueuses saturées. Les valeurs de γ trouvées montrent un abaissement sensible (> 20 mN.m⁻¹) malgré les très faibles quantités présentes dans le milieu aqueux, ceci indiquant une activité tensioactive importante pour ces produits. L'ensemble des résultats est reporté dans le tableau.

Tableau: Tensions superficielles et CMC des systèmes binaires eau/alkylfluorolipoptide.

N°	Produits	Solub.(a) Mol.l ⁻¹	γ (b) mN.m ⁻¹	CMC(c) Mol.l ⁻¹
1	C ₆ F ₁₃ CH ₂ C(O)-Gly- β Ala-Gly-NH ₂	< 10 ⁻³	37,5 (sat)	-
2	C ₆ F ₁₃ CH ₂ C(O)-Gly-Ala-Gly-NH ₂	> 10 ⁻³	18,4	1,99.10 ⁻³
3	C ₆ F ₁₃ CH ₂ C(O)-Gly-Sar-Gly-NH ₂	> 10 ⁻²	17,3	1,41.10 ⁻³
4	C ₈ F ₁₇ CH ₂ C(O)-Gly-Sar-Gly-NH ₂	> 10 ⁻²	15,7	1,15.10 ⁻⁴
5	C ₆ F ₁₃ CH ₂ C(O)-Gly- β Ala-Gly-O-DécyI	< 10 ⁻⁷	50 (sat)	-
6	C ₆ F ₁₃ CH ₂ C(O)-Gly-Ala-Gly-O-DécyI	< 10 ⁻⁶	38 (sat)	-
7	C ₆ F ₁₃ CH ₂ C(O)-Gly-Sar-Gly-O-DécyI	< 10 ⁻⁶	56 (sat)	-
8	C ₈ F ₁₇ CH ₂ C(O)-Gly-Sar-Gly-O-DécyI	< 10 ⁻⁷	50 (sat)	-

(a) Solubilité des produits dans l'eau à 22°C évaluée par simple observation [les produits sont tous des solides (15)].

(b) γ = tension superficielle minimum en milliNewton par mètre obtenue soit à la CMC (composés suffisamment solubles) soit à la saturation (sat.); les mesures sont effectuées à 22°C.

(c) Concentration Micellaire Critique en mole par litre.

Les valeurs des abaissments de tension superficielle allant jusqu'à la valeur remarquable de 15,7 mN.m⁻¹ sont dans la gamme des valeurs généralement observées pour les tensioactifs fluorés [11,16]. Les CMC sont aussi de l'ordre habituel pour des surfactifs non ioniques. La variation alanine, alanine, sarcosine dans l'oligopeptide influe fortement sur la solubilité des surfactifs. La sarcosine apporte un facteur de solubilité le plus important peut-être par des modifications de conformations. Elle permet d'introduire dans la structure une chaîne fluorée plus longue en conservant une bonne solubilité, ce facteur est intéressant car il permet une activité tensioactive plus grande ($\gamma = 15,7$ mN.m⁻¹).

Au plan biologique nous avons effectué simplement des test d'hémolyse de globules rouges avec les différents produits solubles en milieu aqueux. Ils ne présentent pas de caractère hémolytique à des concentrations allant jusqu'à 5g.l⁻¹. Ce résultat est encourageant et des mesures d'agressivité sur des cultures cellulaires seront effectuées [11].

Conclusion.

Les synthèses des molécules sont réalisées avec des rendements globalement satisfaisants et un protocole relativement simple. Les premières évaluations des propriétés physicochimiques des produits préparés les situent dans la gamme des tensioactifs fluorés non ioniques [4,16]. Elles permettent d'espérer pour ces composés la possibilité d'obtenir des systèmes ternaires (eau/fluorocarbure/alkylfluorolipoptide) à caractéristiques intéressantes pour des applications diverses et notamment biologiques.

Les auteurs remercient le Prof. J.J. DELPUECH et les Drs. J.C. RAVEY, M.J. STEBE et M. MAUGRAS pour de fructueuses discussions sur ce travail.

Références.

- [1] a) G. MATHIS, Thèse de doctorat, Université de Nancy I, (1982).
b) T. GARTISER, Thèse de doctorat, Université de Nancy I, (1982).
- [2] C. SELVE, B. CASTRO, P. LEEMPOEL, G. MATHIS, T. GARTISER et J.J. DELPUECH, *Tetrahedron*, **39**, 1313, (1983).
- [3] T. GARTISER, C. SELVE, L. MANSUY, A. ROBERT et J.J. DELPUECH, *J. Chem. Res. (S)* 292, (M) 2672, (1984).
- [4] G. MATHIS, P. LEEMPOEL, J.C. RAVEY, C. SELVE et J.J. DELPUECH, *J. Amer. Chem. Soc.* **106**, 6162, (1984).
- [5] B. CASTRO, J.J. DELPUECH, G. MATHIS, A. ROBERT, C. SELVE, G. SERRATRICE et C. TONDRE, *Médecine et Armée*, **12**, 103, (1984).
- [6] a) J. G. RIESS, *Artificial Organs*, **8**, 44, (1984).
b) P. ADLERCREUTZ, B. MATTIASSON, *Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechn.*, **16**, 165, (1982).
- [7] T. CSERHATI, M. SZOGYI, B. BORDAS et A. DOBROVOLSZKY, *Quant. Struct. -Act. Relat.*, **3**, 56, (1984).
- [8] E. M. MOUMNI, Thèse de doctorat, Université de Nancy I, (1982).
- [9] a) J. G. RIESS, M. LE BLANC, *Pure Appl. Chem.*, **54**, 2383, (1982).
b) C. BLAIGNON, Thèse de doctorat, Université de Nice, (1987).
- [10] J. RIESS, *J. Chim. Phys.*, **84**, 1119, (1987) et références citées.
- [11] a) C. SELVE, E. M. MOUMNI, J. J. DELPUECH, *J. Chem. Soc. Chem. Com.*, 1437, (1987).
b) M. MAUGRAS, J. F. STOLTZ, C. SELVE, E. M. MOUMNI, J. J. DELPUECH, *Innov. Tech. Biol. et Méd.*, **10**, 145, (1989).
- [12] A. ORRECCHIONI, F. PUISIEUX, M. SEILLER, *Galenica 5, Systèmes dispersés*, Tech. et Doc. Lavoisier. 153, (1983).
- [13] B. CASTRO, J. R. DORMOY, G. EVIN, C. SELVE, *Synthesis*, 751, (1976) et 413, (1977).
- [14] B. CASTRO, J. R. DORMOY, G. EVIN, C. SELVE, *J. Chem. Res.*, **7**, (S) 182, (M) 2118, (1977).
- [15] points de fusions (voir tableau), composé 1: 139°C; 2: 140°C; 3: 120°C; 4: 172°C; 5: 129°C; 6: 130°C; 7: 100°C; 8: 102°C.
- [16] a) B. M. FUNG, D. L. MAMROSH, E. A. O'REAR, C. B. FRECH, J. AFZAL, *J. Phys. Chem.*, **92**, 4405, (1988).
b) L. MATOS, J. C. RAVEY, G. SERRATRICE, *J. Coll. Interf. Sc.*, **128**, 341, (1989) et références citées.

(Received in France 23 August 1989)