

En route vers de nouveaux médicaments auto-organisés dans l'eau

Une chimie « à façon » des tensioactifs dérivés de sucres

Isabelle Rico-Lattes

Résumé

Les tensioactifs sont les composés clés des systèmes moléculaires organisés et il est primordial d'utiliser le tensioactif adapté à la fonction recherchée. Cette conception finalisée des molécules tensioactives est rendue efficace par la mise au point de méthodes de synthèse modulaire qui permettent de construire un grand nombre de molécules amphiphiles de structures variables. Dans ce contexte, les tensioactifs dont les têtes polaires sont dérivées de sucres ont une place tout à fait privilégiée. En effet, les têtes polaires mono- ou polyholosides jouent un rôle beaucoup plus important que celui d'apporter l'hydrosolubilité à l'ensemble amphiphile qu'elles constituent en apportant aussi un caractère biocompatible, ou même bioactif. Généralement, la synthèse de ces composés est rendue difficile car elle nécessite une protection préalable des fonctions hydroxyles des sucres utilisés. En utilisant les sucres naturels réducteurs – glucose, lactose ou rhamnose –, nous les avons fixés de manière originale, par des méthodes sans protection préalable ni déprotection, sur des ensembles hydrophobes pour en faire les têtes polaires constitutives de nouveaux tensioactifs. La structure chimique de ces derniers va déterminer les processus d'auto-organisation et donc cibler les applications biologiques recherchées. Ainsi, associée à ces diverses têtes polaires, la partie hydrophobe peut être modulée conjointement et conduire alors à des tensioactifs non ioniques ou catanioniques, monocaténaires, bolaformes et bicaténaires, dont l'auto-organisation micellaire, vésiculaire, filamentaire... préfigure l'application recherchée : formulation bioactive, médicament, etc.

Mots-clés

Tensioactifs, sucres, formulations bioactives, médicaments, systèmes moléculaires organisés, glycolipides, amphiphiles catanioniques, vectorisation.

Abstract

Water, surfactants and sugars: ingredients for new bioactive organized molecular systems and medicines

Surfactants are the key components of the organized systems used for biological applications and it is important to use an appropriate surfactant for the process under consideration. This requires synthesis of a range of suitable surfactants by modular methods leading to variations in the structures of the compounds. In this context, surfactants based on sugars are very important in biological and medicinal applications, the sugar part bearing together hydrophilicity, biocompatibility and/or moreover bioactivity. These surfactants have a water soluble head derived from a carbohydrate which is linked by different functional groups to a hydrophobic part. Variations in the nature of sugar and hydrocarbon tails lengths determine the self-organization properties and therefore applications of the resulting surfactant. Generally, these derivatives are not readily synthesized as the starting sugars require protection. We present here routes, avoiding protection of the starting carbohydrates, to new series of surfactants derived from glucose, lactose and rhamnose, reducing sugars. The synthetic methods of such products enabled us to obtain non ionic or catanionic compounds having one or two chains with different lengths, one or two carbohydrates heads bounded by hydrophobic spacers (bolamphiphilic compounds). All these compounds form aggregates in aqueous solutions: direct micelles and/or vesicles with corresponding biological properties.

Keywords

Surfactants, sugars, bioactive formulations, medicines, organized molecular systems, glycolipids, catanionic amphiphiles, vectorisation.

La conception et la réalisation des systèmes moléculaires organisés (SMO) sont fondées sur l'auto-organisation spontanée en solution dans l'eau de molécules amphiphiles, qui s'adsorbent aux interfaces et que l'on appelle aussi tensioactifs. Ces molécules sont constituées de deux parties d'affinités chimiques différentes (hydrophobe et hydrophile). Les plus simples se composent d'une tête polaire et d'une longue chaîne alkyle. Mais le chimiste de synthèse peut moduler à volonté leurs structures comme le montre la

figure 1. En s'appuyant sur les concepts physico-chimiques qui régissent l'auto-organisation des tensioactifs, il va alors pouvoir imaginer et concevoir chaque molécule en fonction de l'objet recherché et de l'application conjointe. Dans ce contexte, les SMO à visée biologique sont particulièrement attrayants, conduisant à un nouveau concept : la mise en œuvre de formulations bioactives. Les constituants même de la formulation apportent alors leur propre bioactivité et peuvent contribuer à l'activité de nouveaux médicaments dans

structure du tensioactif	type
	monocaténaire
	gémini
	bolaforme
	bicaténaire
	tricaténaire

Figure 1 - Structures générales de différentes familles de tensioactifs.

lesquels le principe actif devient acteur de sa propre formulation.

Ainsi, les principes physico-chimiques qui gouvernent l'auto-organisation de tensioactifs peuvent être les moteurs d'un nouveau mode de conception de médicaments. L'objet de cet article est de donner un éclairage sur cette nouvelle façon de concevoir des substances bioactives et des médicaments à partir d'ingrédients « simples » : de l'eau, des tensioactifs et des sucres.

Prévoir le mode d'auto-organisation des tensioactifs dans l'eau

Pour prévoir l'auto-organisation dans l'eau des tensioactifs, un des concepts particulièrement attrayants est celui de « paramètre d'empilement » développé par J.N. Israelachvili

et coll. en 1976 [1]. Cette conceptualisation thermodynamique de l'auto-organisation des tensioactifs s'appuie sur le fait que les molécules de tensioactifs à la fois hydrophiles et lipophiles présentent la particularité de s'auto-organiser en construisant des interfaces au sein du solvant. La géométrie des objets ainsi formés en solution va alors dépendre essentiellement de deux facteurs : la structure moléculaire du tensioactif de départ et la nature du solvant, donc du milieu environnant.

Structure moléculaire du tensioactif

Le premier facteur peut être quantifié par le paramètre a_0l/V , où a_0 représente la surface par tête polaire de l'amphiphile, l , la longueur de la chaîne étirée, et V , son volume moléculaire :

- pour $a_0l/V > 3$, on obtient aisément des micelles sphériques dans l'eau, dites micelles directes ;
- pour $2 < a_0l/V < 3$, les micelles se déforment pour conduire à des micelles globulaires ;
- pour des valeurs se rapprochant de l'unité, on obtient plutôt des vésicules et des bicouches planes ;
- enfin, en dessous de l'unité, les amphiphiles donneront surtout des micelles dans des solvants apolaires dites micelles inverses.

Ce paramètre géométrique est étroitement lié à la structure moléculaire comme le montre la figure 2 :

- les micelles sphériques directes seront obtenues avec des amphiphiles de structure « conique » (c'est le cas le plus classique avec par exemple le dodécylsulfate de sodium) ;
- les micelles globulaires pour des tensioactifs de forme cylindrique (ex : certaines molécules dérivées de sucres) ;
- les vésicules et les bicouches planes sont obtenues avec des tensioactifs bicaténaires (ex. : les phospholipides). Les vésicules s'obtiennent aussi avec les tensioactifs bolaformes (qui peuvent se replier) ou catanioniques ;
- les micelles inverses sont particulièrement aisées aussi à obtenir avec des tensioactifs bicaténaires souvent ramifiés.

Nature du solvant

Parallèlement, le milieu dans lequel « baigne » le tensioactif, appelé encore phase continue, est capital pour moduler l'architecture supramoléculaire. On utilise généralement :

- les solvants apolaires pour la formation de micelles inverses,
- l'eau pour les autres objets. Ce solvant dont tous les organismes vivants sont tributaires est le milieu dans lequel sont en effet structurés les assemblages biologiques (ex : les membranes cellulaires constituées de phospholipides). Ainsi, sa cohésion exceptionnelle conduit à des interactions couplées à un fort effet dit « hydrophobe ». Ce solvant est ainsi le moteur essentiel de l'auto-organisation des tensioactifs biologiques, souvent ignoré... Il est donc certainement le paramètre essentiel et unificateur des processus d'auto-organisation biologiques et fait partie intégrante de la vie et des assemblages qui y sont associés. Il est donc le solvant privilégié dans la mise au point de formulations bioactives. Soulignons cependant, comme nous l'avons démontré par le passé de manière originale, que certains solvants polaires et structurés, protiques comme le formamide [2], ou aprotiques comme la N-méthylsurdnone [3], dont la cohésion est aussi très importante,

paramètre d'empilement	forme du tensioactif	agrégation et objet formé
$\frac{a_0l}{V} > 3$	cône	micelle sphérique
$2 < \frac{a_0l}{V} < 3$	tronc de cône aplati	micelle globulaire
$1 < \frac{a_0l}{V} < 2$	tronc de cône	vésicule
$\frac{a_0l}{V} \approx 1$	cylindre	bicouche plane
$\frac{a_0l}{V} < 1$	tronc de cône inversé	micelle inverse

Figure 2 - Corrélations entre le paramètre d'empilement (a_0l/V), la géométrie du tensioactif et son mode d'auto-organisation [1].

permettent de redéfinir tous les processus d'auto-organisation de manière analogue aux systèmes aqueux. Nos travaux ont ainsi montré le caractère général de l'auto-organisation des tensioactifs, caractère lié à la cohésion du milieu environnant, l'eau étant le solvant le plus cohésif connu à ce jour.

Les tensioactifs dérivés de sucres : des molécules à haute valeur ajoutée

Dans une stratégie de modulation structurale des tensioactifs, les têtes polaires dérivées de carbohydrates ont une place tout à fait privilégiée, celles-ci, mono- ou polyholosides, jouant un rôle beaucoup plus important que d'apporter l'hydrosolubilité à l'ensemble amphiphile qu'elles constituent. En effet, les tensioactifs dérivés de carbohydrates, biocompatibles, peuvent être utilisés dans la formulation et la vectorisation de principes actifs. Ils peuvent également induire des phénomènes de reconnaissance moléculaire conduisant à une bioactivité propre. Étant aussi généralement biodégradables, ils sont donc des composés attractifs pour une chimie dédiée au développement durable.

Utilisant les carbohydrates naturels, nous les avons fixés sur des ensembles hydrophobes pour en faire les têtes polaires constitutives de nouveaux tensioactifs applicables ensuite en biologie. Afin de simplifier les stratégies de synthèse et pour des raisons économiques, nous avons retenu les carbohydrates réducteurs dont la fonction anomérique permet des réactions sélectives : le glucose, le rhamnose et le lactose, sous-produit bon marché de l'industrie fromagère, étant nos matières premières. En outre, il est important de souligner que le lactose permet d'introduire le motif galactose dont l'importance biologique est de premier plan en reconnaissance moléculaire [4-5].

Associée à ces diverses têtes polaires, la partie hydrophobe peut conjointement être modulée, en fonction de l'objet supramoléculaire recherché, et corrélativement de la propriété correspondante. Ainsi, en s'appuyant sur les concepts de l'auto-organisation des tensioactifs [1], nous allons pouvoir décliner différents types d'objets et d'applications biologiques correspondantes.

Tensioactifs monocaténaire et micellisation : de la détergence aux formulations bioactives

Les tensioactifs monocaténaire dérivés du lactose : de l'importance de la forme des micelles

De manière générale, ces dérivés conduisent à des cristaux liquides lyotropes classiques, mais les structures micellaires obtenues sont différentes selon la forme géométrique du tensioactif :

- sphériques pour les N-acétyl N-alkyllactosylamines (figure 3a), de forme conique induite par la tête polaire comportant deux carbohydrates fermés et un petit « bras » acétyle [2], en conformité avec la théorie d'Israelachvili (figure 2) [6] ;
- non sphériques pour les N-alkylaminolactitols (figure 3b), qui présentent une tête moins volumineuse (avec le glucose ouvert), située dans le prolongement de la chaîne hydrophile et induisant ainsi la formation de micelles globulaires en accord aussi avec la théorie d'Israelachvili (figure 2) [7].

Ces micelles ont été modélisées de manière originale en forme d'ellipsoïdes aplatis d'excentricité supérieure ou égale

à 0,5. Cette forme de micelles est un élément de l'adéquation favorable entre les tensioactifs dérivés de carbohydrates et les protéines membranaires : les tensioactifs de ce type sont alors bien adaptés à la courbure relativement peu importante des zones hydrophobes de la protéine à solubiliser et les extraient des membranes cellulaires sans les dénaturer. Ainsi l'extraction des protéines membranaires ne sera possible qu'avec des tensioactifs susceptibles de détruire les membranes cellulaires (par effet détergent et solubilisation des phospholipides) en préservant l'intégrité des protéines extraites et solubilisées. Un élément en faveur de cette hypothèse est lié au fait que les N-acétyl N-alkyllactosylamines, conduisant à la formation de micelles sphériques, ne donnent aucun résultat positif en extraction des protéines membranaires. Par contre, les N-alkylaminolactitols offrent les caractéristiques physico-chimiques requises pour la solubilisation des protéines membranaires, et nous avons ainsi montré leur aptitude à extraire de manière très efficace le récepteur aux opioïdes, ou encore certaines lipoxgénases [8].

Les tensioactifs monocaténaire dérivés du glucose : un exemple de synthèse organisée et durable

Les tensioactifs APG (alkylpolyglucosides) sont très importants en formulation courante (en détergence « douce », c'est-à-dire solubilisation non agressive des corps gras, dans les lessives, les shampoings) et donc de gros tonnage. Le procédé de synthèse industriel consiste à déplacer l'équilibre d'acétalisation du glucose par un alcool à longue chaîne tel que le dodécanol, en utilisant d'une part un excès d'alcool et en distillant d'autre part au fur et à mesure l'eau formée. Si ce procédé est efficace en termes de rendements (70 % de taux de transformation de glucose en APG), les températures élevées utilisées conduisent à un taux de polymérisation important du glucose qui peut réagir sur lui-même (d'où le terme APG) et de fait à une « coloration » finale des APG formés, nécessitant une étape de purification avant commercialisation.

Nous avons développé une alternative qui met en pratique le principe « d'économie moléculaire » défini de manière originale au cours de nos travaux portant sur la réactivité en milieu microémulsion. Ce principe consiste à utiliser les réactifs comme constituants de la microémulsion, ce qui induit alors une simplification de la formulation du système et la suppression de solvants organiques (ce principe est donc aussi intégré dans une chimie plus respectueuse de l'environnement, donc durable). Dans le cas présent, ce principe consiste à utiliser le dodécanol comme phase apolaire d'une

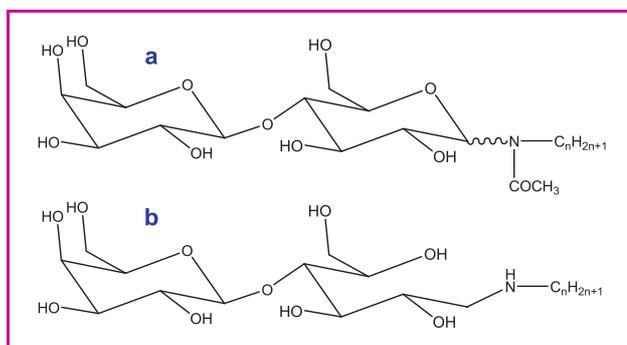


Figure 3 - Formules générales (a) des N-acétyl N-alkyllactosylamines, et (b) des N-alkylaminolactitols.

microémulsion inverse, l'APG qui se forme comme tensioactif et un co-tensioactif bien choisi : le butanol (structure et concentration optimisées). Dès le début de la réaction, celui-ci va permettre la formation de micelles inverses, qui vont alors « encapsuler » l'eau au fur et à mesure de la réaction. Cette compartimentation va spontanément entraîner le déplacement de l'équilibre d'acétalisation du glucose par le dodécanol, réaction qui se déroule à l'interface micellaire. On peut ainsi opérer à plus basse température (70 °C), sans distillation, et obtenir un monoalkylglucoside avec un rendement optimisé de 80 %. De plus, le produit obtenu dans des conditions douces n'a pas à subir d'étape de décoloration ultérieure. Ce procédé, qui nécessite une mise au point industrielle – en particulier pour récupérer les tensioactifs après formation dans le milieu réactionnel – est schématisé figure 4 [9].

Brevetée avec la société Stepan pour le glucose, cette stratégie est actuellement généralisée à d'autres synthèses

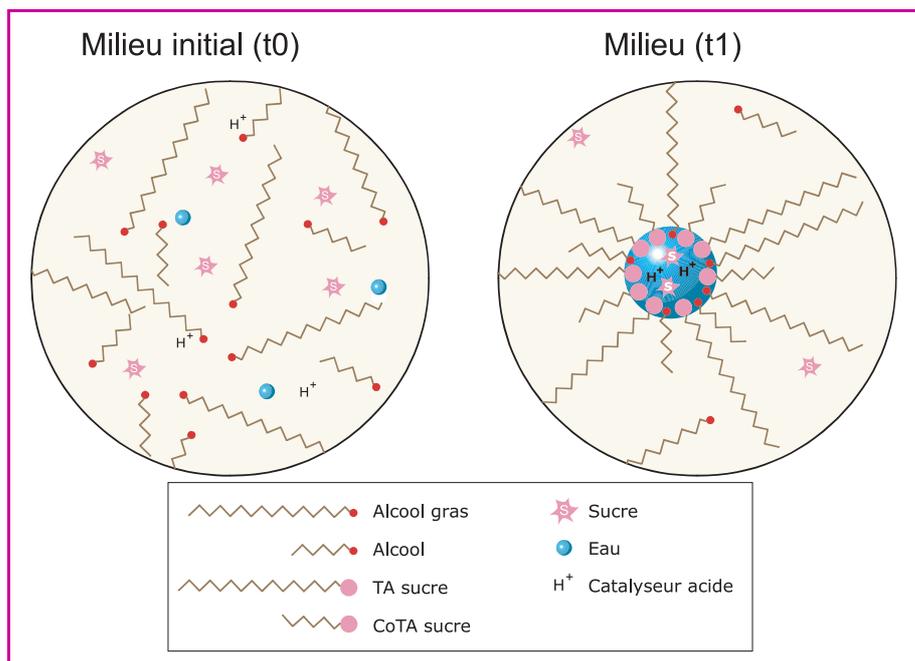


Figure 4 - Synthèse d'APG en milieu microémulsion inverse (TA : tensioactif, CoTA : co-tensioactif).

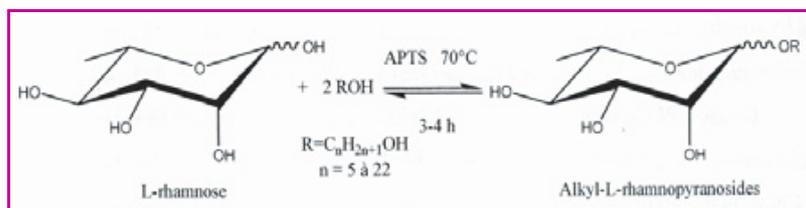


Figure 5 - Voie de synthèse des alkylrhamnosides.
APTS : acide paratoluène sulfonique, catalyseur acide.

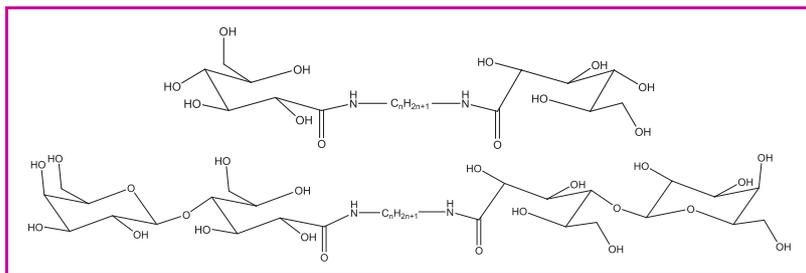


Figure 6 - Exemples de tensioactifs bolaformes dérivés du glucose et du lactose.

de tensioactifs où des problèmes analogues de miscibilité et de formation d'eau résiduelle se posent. Tout récemment, nous avons ainsi abordé la synthèse de tensioactifs bioactifs dérivés du rhamnose à partir d'un concept analogue.

Les tensioactifs monocaténaires dérivés du rhamnose : une première formulation bioactive

Dans un projet associant le CNRS et les laboratoires Pierre Fabre Dermo-Cosmétique (contrat BDI), nous avons synthétisé une bibliothèque de dérivés du rhamnose afin de découvrir de nouveaux candidats potentiels dans la lutte contre l'inflammation (figure 5).

Le rhamnose a été choisi car il est présent sur de nombreux récepteurs cellulaires comme les kératinocytes. Les différents dérivés ont été synthétisés de manière très simple avec de bons rendements (en milieu microémulsion). Ces nouveaux dérivés offrent des propriétés intéressantes en formulation et ne présentent aucune toxicité ni d'effets allergisants. Leurs propriétés anti-inflammatoires sont très prometteuses et nous avons montré qu'ils constituent des molécules utiles en dermo-cosmétique pour des applications par voie topique. L'un des composés, qui s'est révélé particulièrement actif, a été breveté et doit être commercialisé très prochainement par la société Pierre Fabre. Nous avons ici un premier exemple du concept des « formulations bioactives » que nous avons introduit : les molécules tensioactives qui participent à la formulation sont elles-mêmes bioactives. Le principe actif entre donc dans sa propre formulation, simplifiant à la fois le système et en apportant une bioactivité propre : c'est en fait un cas d'école « d'économie moléculaire » appliquée à la biologie [10-11].

Tensioactifs bolaformes et vésicules pour des formulations sans caractère détergent

En accord avec leur « paramètre d'empilement » d'Israelachvili, ces tensioactifs originaux (figure 6) peuvent conduire, selon le nombre de carbones de l'espaceur entre les deux têtes sucre, à la formation de vésicules sans former de micelles (cf. figure 2). Cette double caractéristique leur permet alors de formuler de manière inédite divers principes actifs en galénique, sans présenter de caractère détergent (lié à l'interaction micelles/membranes), et donc avec une faible toxicité cellulaire. Nous les avons brevetés et développés avec la société Stepan, en particulier dans certains procédés de synthèse enzymatique [12-13].

Tensioactifs à mi-chemin entre monocaténaires et bolaformes : l'intérêt thérapeutique des analogues de glycolipides

Ce travail s'inscrit dans une démarche plus générale qui prend en compte l'importance grandissante des glycolipides dans les phénomènes de reconnaissance

moléculaire. En effet, de nombreux glycolipides membranaires ont été identifiés ces dernières années comme sites récepteurs pour divers agents pathogènes. La reconnaissance des motifs sucres des glycolipides par différents microorganismes ou ligands joue donc un rôle important aux côtés de celle impliquant les glycoprotéines. Ce type de reconnaissance peut alors conduire à proposer un certain nombre de stratégies chimiothérapeutiques qui mettent en jeu des leurres chimiques visant à mimer les glycolipides impliqués dans les processus de reconnaissance. Ces stratégies reposent sur une ingénierie moléculaire ciblée d'analogues de glycolipides élaborés et optimisés en fonction de l'activité biologique recherchée [8, 14].

Ainsi, s'il est bien établi que le récepteur CD4 – la glycoprotéine exprimée par les lymphocytes, monocytes et macrophages – est le premier récepteur du virus de l'immunodéficience humaine (VIH) par adsorption de la glycoprotéine d'enveloppe gp 120 du virus, l'infection par ce virus de cellules nerveuses ou épithéliales du côlon CD4⁻ (qui ne portent pas le récepteur CD4 à leur surface) a été aussi rapportée. Ces résultats suggèrent donc un mode d'entrée du virus indépendant de CD4 et l'existence d'un ou plusieurs autres récepteurs pour le VIH. L'équipe de Gonzales Scarano à Philadelphie a entrepris une étude systématique de l'infection de lignées de cellules nerveuses CD4⁻ par le VIH, ce qui lui a permis de caractériser le galactosylcéramide Galcer comme un récepteur du VIH dans le système nerveux (*figure 7*) [15].

Par ailleurs, la muqueuse intestinale jouant un rôle fondamental dans la transmission et la pathogenèse du VIH, il était essentiel de connaître les mécanismes impliqués dans l'entrée du VIH au niveau des cellules de l'épithélium intestinal. J. Fantini et ses collaborateurs à Marseille ont aussi identifié le glycosphingolipide galactosylcéramide (Galcer) comme récepteur du VIH dans les cellules épithéliales du côlon [16]. C'est pourquoi, à côté des traitements rétroviraux classiques, l'identification de drogues spécifiques capables de bloquer l'interaction entre le virus et les cellules Galcer⁺ constitue une voie de recherche originale dans le domaine des molécules anti-VIH. Une piste est la mise au point d'analogues du Galcer.

Dans ce contexte, notre équipe a appliqué les protocoles de synthèse mis au point précédemment pour obtenir les N-alkylaminolactitols (*figure 3*) afin d'obtenir les N-acyl N-aminolactitols (*figure 8*). En effet, ces composés, qui possèdent la liaison Gal β spécifiquement impliquée dans la reconnaissance du Galcer par le VIH, sont des analogues potentiels du Galcer. Il est important de souligner qu'ils sont préparés en trois étapes seulement à partir du lactose non protégé qui est un disaccharide peu coûteux. De plus, la méthode de synthèse choisie permet de moduler la longueur et la nature de chaînes alkyles fixées sur l'azote. Les composés synthétisés se révèlent dans les deux cas (dérivé mono- ou bicaténaire) actifs contre le VIH – surtout les dérivés monocaténaires – par un mécanisme d'inhibition de l'adsorption du virus. Nous avons en particulier montré le rôle de la tête galactose dans le phénomène de reconnaissance de la boucle V3 de la gp 120 (analogue au Galcer). Une hydrophobie importante est aussi nécessaire pour avoir une bonne activité anti-VIH. En effet, la force motrice de la fusion membranaire virus-cellule doit être compensée dans l'action d'un leurre par une reconnaissance non spécifique (de type

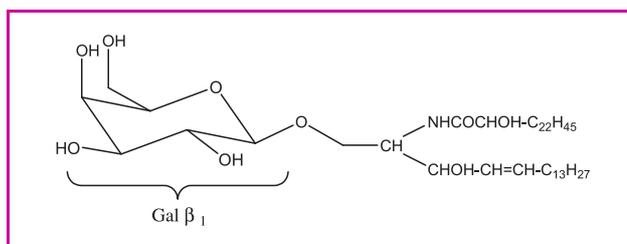


Figure 7 - Le galactosylcéramide Galcer.

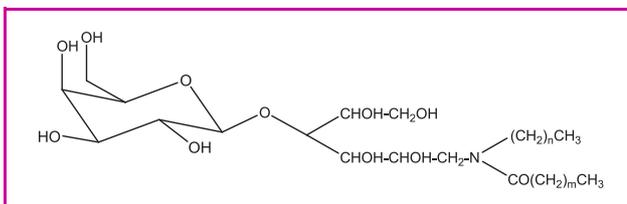


Figure 8 - Formule générale des N-acyl N-alkylaminolactitols.

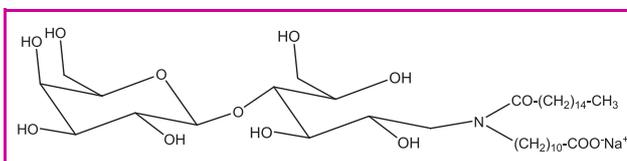


Figure 9 - Formule du premier analogue soluble du Galcer.

hydrophobe) avec la gp 120. En revanche, ces composés conduisent tous à une toxicité importante :

- les dérivés monocaténaires par effet détergent sur les membranes (les concentrations à partir desquelles ils deviennent toxiques étant corrélées à leurs CMC (concentrations micellaires critiques). L'activité augmente ainsi conjointement avec la toxicité, rendant difficile l'utilisation de dérivés monocaténaires dans ce type de reconnaissance cellulaire [17].
- les bicaténaires, trop hydrophobes, par insertion membranaire. Cette grande hydrophobie est aussi responsable d'une perte d'activité par rapport aux monocaténaires.

Dans ce contexte, l'absence de toxicité des composés bolaformes précédemment étudiés nous a conduit à développer de nouveaux analogues du Galcer en couplant le motif anionique et le motif sucre. Des bolaformes mixtes – intermédiaires entre monocaténaires et bicaténaires – ont été ainsi préparés dans un double but : éviter d'une part la micellisation des dérivés à une seule chaîne qui entraîne une toxicité, et diminuer d'autre part l'hydrophobie des bicaténaires, tout en ajoutant un site anionique susceptible de constituer un point d'ancrage supplémentaire permettant de renforcer l'interaction du leurre avec la gp 120. Nous avons ainsi obtenu le premier analogue soluble du Galcer de la littérature (*figure 9*) grâce à l'évolution modulaire des molécules synthétisées [16, 18]. Cependant, ces composés restent encore trop toxiques pour conduire à un éventuel développement comme médicament ; nous avons donc décidé de développer une nouvelle famille de néoglycolipides catanioniques.

Nous avons envisagé de développer de tels composés « catanioniques » (paire d'ions amphiphile cationique-amphiphile anionique, *figure 10*) où la liaison covalente liant le groupement acyle

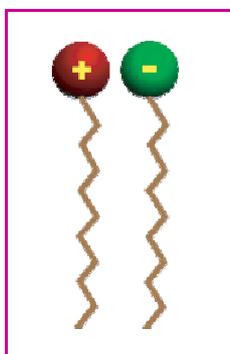


Figure 10 - Structure générale des tensioactifs catanioniques (couplage non covalent de deux entités ioniques).

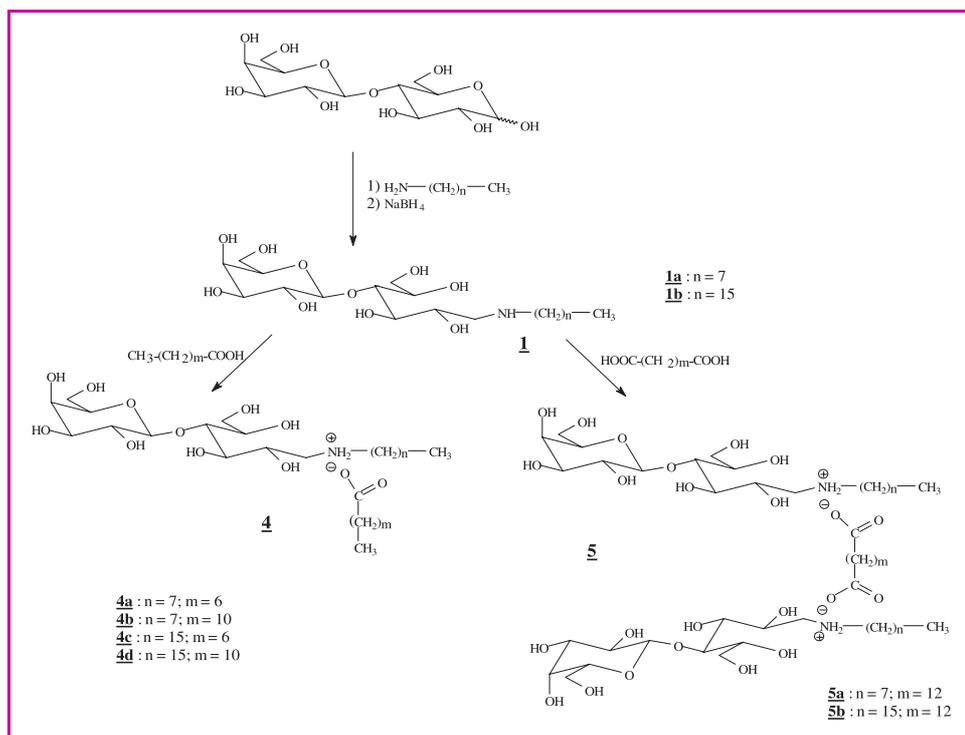


Figure 11 - Voie de synthèse des tensioactifs catanioniques bicaténaires et géminis analogues du Galcer.

Tableau I - Activités et toxicités sur lymphocytes des tensioactifs catanioniques bicaténaires et géminis.

IC50 : concentration inhibitrice sauvant 50 % de cellules infectées par le VIH ; CC50 : concentration cytotoxique tuant 50 % de cellules saines ; CAC : concentration d'agrégation critique.

Composés	IC50 (μM)	CC50 (μM)	CAC (mM)
4a	> 1 000	> 1 000	–
4b	100	> 100	2,1
4c	16	38	0,17
4d	0,9	2,5	0,01
5a	500	600	2,5
5b	0,5	> 100	0,01

à la partie sucre est remplacée par une liaison ionique, l'ensemble restant associé par interactions hydrophobes. De tels composés sont actuellement très recherchés pour leurs propriétés remarquables (en particulier d'associations spontanées en vésicules en accord avec la théorie d'Israelachvili, *figure 2*). Par ailleurs, cela nous a permis de dupliquer le motif analogue du Galcer sur une même molécule pour obtenir des dérivés « gémini/bolaformes » susceptibles de potentialiser l'activité biologique du composé [19-21].

Tensioactifs catanioniques dérivés de sucres : des molécules « bicaténaires » de nouvelle génération pour de nouveaux médicaments

Soulignons dans cette dernière partie la simplicité de la démarche dans laquelle

nous conservons constamment pour la partie sucre, la structure générique des N-alkylaminolactitols qui permet « de construire » l'amphiphile cationique, autour de laquelle nous allons moduler la partie anionique selon l'application recherchée.

Les tensioactifs catanioniques à activité anti-VIH

Les molécules retenues et leurs méthodes de synthèse sont décrites selon le schéma de synthèse résumé dans la *figure 11*. A notre connaissance, il s'agit des premiers composés catanioniques analogues de glycolipides, suffisamment hydrophiles (par la tête sucre) pour être utilisés à la stœchiométrie entre la partie cationique et la partie anionique. De plus, notre méthode de synthèse, par réaction acido-basique entre l'aminosucré et l'acide gras à longue chaîne, permet d'éviter la formation de sels concomitants, ce qui constitue un atout important pour des applications biologiques [22].

De manière remarquable, tous ces analogues du Galcer – géminis mais aussi bicaténaires – se révèlent susceptibles d'être actifs contre le VIH. Leurs activités sur lymphocytes (IC50 : concentration inhibitrice sauvant 50 % des cellules infectées) sont rassemblées dans le *tableau I* où se trouvent aussi consignées leurs toxicités (CC50 : concentration cytotoxique tuant 50 % de cellules saines), ainsi que leurs concentrations d'agrégation critiques (CAC). Au-delà de ces concentrations, ils forment des objets généralement vésiculaires, en accord avec la théorie d'Israelachvili (paramètre d'empilement voisin de celui d'un tensioactif covalent bicaténaire) (*figure 12*), sauf pour les dérivés géminis comme expliqué ci-après [23].



Figure 12 - Vésicules spontanées unilamellaires obtenues avec le tensioactif bicaténaire 4c (cliché de microscopie électronique par cryofracture).

L'examen des résultats montre donc que leurs activités sont liées à de très petits agrégats (les IC50 étant très nettement inférieures aux CAC).

Le dérivé gémini 5b (figure 13) se révèle particulièrement intéressant avec une IC50 (dose active) de 0,5 μM et une CC50 (dose toxique) supérieure à 100 μM . Un tel composé a, cette fois-ci, des caractéristiques biologiques *in vitro* susceptibles de permettre un développement *in vivo*, et cela ouvre de nouvelles possibilités en chimiothérapie anti-VIH. Ce composé, pourtant fortement hydrophobe, présente une très faible toxicité, même à l'état agrégé. Une hypothèse consiste à expliquer cette faible toxicité par l'importante partie hydrophobe masquée. En effet, des études par diffusion de la lumière, microscopie électronique à transmission et par cryofracture, ont mis en évidence la formation de lamelles non fracturables pour ce gémini (figure 14). Ceci nous a permis de vérifier que ce composé s'arrange de façon à ce que son espaceur et les deux chaînes latérales soient étirées et se compactent pour limiter leur contact avec l'eau. Aux concentrations utilisées et à 37 °C, la partie hydrophobe peut ainsi être masquée limitant considérablement son incorporation dans la membrane cellulaire, phénomène responsable de la toxicité de cette famille de produits. Le composé gémini et hydrophobe se comporte donc comme un bolaforme, interagissant peu avec les membranes cellulaires, d'où sa faible toxicité [24-26].

Une formulation associant l'AZT montre aussi une synergie tout à fait remarquable. Dès lors, un tel système devrait pouvoir être développé industriellement pour le futur. Nous poursuivons par ailleurs l'étude de ces composés dans le domaine de la vectorisation, soit de dérivés hydrophobes, soit hydrophiles [5, 27].

Vectorisation de médicaments hydrophobes par auto-assemblage en vésicules cationiques d'unités élémentaires constituées d'une molécule hôte amphiphile liée de manière non covalente au médicament

Le médicament est par exemple une molécule amphiphile ou initialement lipophile pouvant se lier par liaison ionique et/ou hydrogène avec la molécule hôte amphiphile. L'originalité du concept tient au fait que le médicament transporté n'est pas un simple ligand, mais participe de manière active à l'auto-assemblage (figure 15). Pour réaliser ce type de transport, nous avons associé par interaction acide/base des anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) ou des acides gras polyinsaturés (AGPI) aussi anti-inflammatoires à un tensioactif biocompatible. Le tensioactif choisi pour former cette paire d'ions appartient à la famille des N-alkylamino-1-déoxylactitols (figure 16).

La vectorisation vers les cellules cibles est assurée par la tête polaire de la molécule hôte amphiphile. L'ensemble médicament + amphiphile hôte, toujours en accord avec la théorie d'Israelachvili, peut former par auto-association spontanée des vésicules de quelques

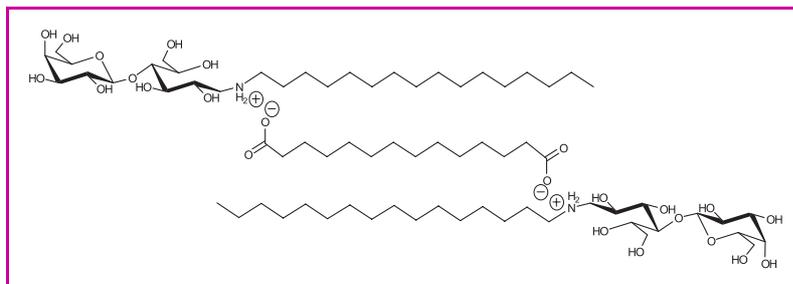


Figure 13 - Formule du dérivé gémini 5b à haute activité anti-VIH et faible toxicité.



Figure 14 - Morphologie des agrégats du gémini 5b observés par microscopie par cryofracture.

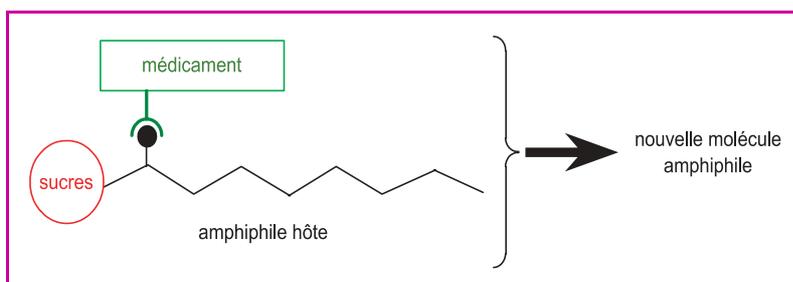


Figure 15 - Nouveau concept de vectorisation cationique d'un médicament (ensemble cationique s'auto-associant spontanément en vésicules).

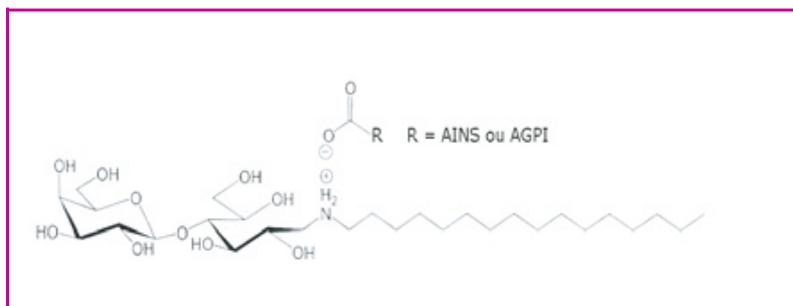


Figure 16 - Tensioactif cationique biactif : nouvelle voie de vectorisation d'anti-inflammatoires lipophiles par paire d'ions.

dizaines de nanomètres très stables et contenant une concentration importante de médicament. Les résultats sur la vectorisation par voie topique d'anti-inflammatoires non stéroïdiens systémiques sont très encourageants. Ces travaux, réalisés en collaboration avec la société Pierre Fabre (bourse BDI cofinancée par le CNRS), ont été brevetés récemment et un produit particulièrement actif est en cours de développement [28].

Encapsulation de principes actifs hydrophiles dans des vésicules spontanées formées par des amphiphiles catanioniques

Nous avons aussi synthétisé de nouveaux amphiphiles catanioniques à têtes sucre afin d'évaluer l'influence de plusieurs paramètres structuraux sur la stabilité des vésicules formées : nature de l'acide, introduction d'une entité sucre

supplémentaire pour augmenter les liaisons hydrogène entre parties polaires, ajout d'une chaîne alkyle supplémentaire pour former un amphiphile tricaténaire et accentuer les effets hydrophobes dans l'eau (figure 17).

Par différentes techniques physico-chimiques (diffusion de la lumière, microscopie électronique à transmission et par cryofracture), nous avons vérifié la formation de vésicules spontanées pour ces différents tensioactifs et avons mis en évidence l'apport d'une troisième chaîne grasse sur la stabilité des vecteurs préparés [5, 29].

Dans le cadre d'une collaboration entre le CNRS et les laboratoires Pierre Fabre Dermo-Cosmétique (contrat BDI), nous étudions maintenant les propriétés d'encapsulation de molécules hydrophiles dans le cœur aqueux des vésicules et de relargage de différents principes actifs hydrophiles au sein de ces nouveaux vecteurs à la fois très faciles à préparer et de structure versatile.

Conclusion

La conception moléculaire finalisée de systèmes moléculaires organisés constitue un domaine largement pluridisciplinaire où le chimiste de synthèse, en coordination avec des physiciens et des biologistes, imagine et synthétise des molécules tensioactives dont il peut ensuite maîtriser l'association pour obtenir la fonction choisie.

Ainsi, les tensioactifs préparés à partir de sucres réducteurs constituent une famille très variée de composés nouveaux dont on peut exploiter les propriétés supramoléculaires d'agrégation dans l'eau, et corrélativement leurs applications dans différents domaines de la biologie.

Les tensioactifs catanioniques sont particulièrement prometteurs, notamment dans le domaine de la vectorisation tant de dérivés hydrophobes qu'hydrophiles, permettant en particulier d'incorporer les principes actifs au sein de systèmes autoformulés que nous nommons « formulations bioactives » et qui constituent une nouvelle approche de la vectorisation et un concept très original pour la réalisation de nouveaux médicaments.

Cette nouvelle approche, fondée sur des principes physico-chimiques d'auto-organisation dans laquelle le principe actif devient le propre acteur de sa formulation et où l'activité thérapeutique est étroitement liée à son mode d'auto-organisation, peut être généralisée au-delà même de la mise en œuvre de tensioactifs dérivés de sucres.

C'est d'ailleurs ce concept que nous avons mis en œuvre dans la mise au point d'Oxane Hd®, une huile de silicone « lourde » qui est une formulation bioactive (micelles) d'un amphiphile fluoré original, ce médicament traitant avec succès les décollements de rétine majeurs et permettant dans de nombreux cas d'éviter la cécité des patients (figure 18) [30]. Près de 100 000 personnes de par le monde ont déjà bénéficié de cette thérapeutique, mais cela est une autre histoire...

Références

- [1] Israelachvili J.N., Mitchell D.J., Ninham W., *J. Chem. Soc. Far Trans.*, **1976**, 2, p. 1525.
- [2] Rico I., Lattes A., *J. of Phys. Chem.*, **1986**, 90, p. 5870.
- [3] Auvray X., Petipas C., Perche T., Anthore R., Marti M.J., Rico I., Lattes A., *J. of Phys. Chem.*, **1990**, 94, p. 8604.

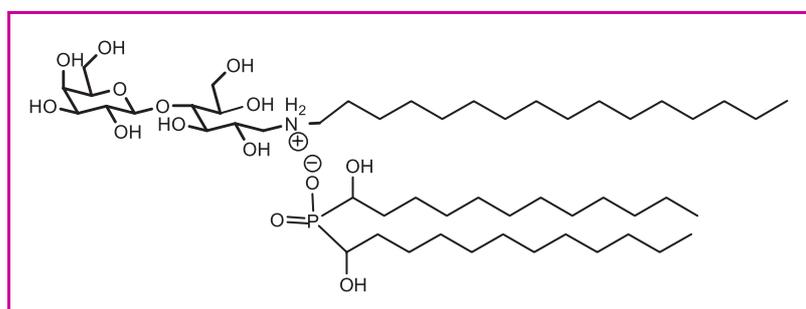


Figure 17 - Tensioactif tricaténaire catanionique conduisant à des systèmes vésiculaires très stables applicables à l'encapsulation et à la vectorisation de principes actifs hydrophiles et solubles dans le cœur vésiculaire.



Figure 18 - L'Oxane Hd® : une formulation bioactive traitant les décollements de rétine majeurs.

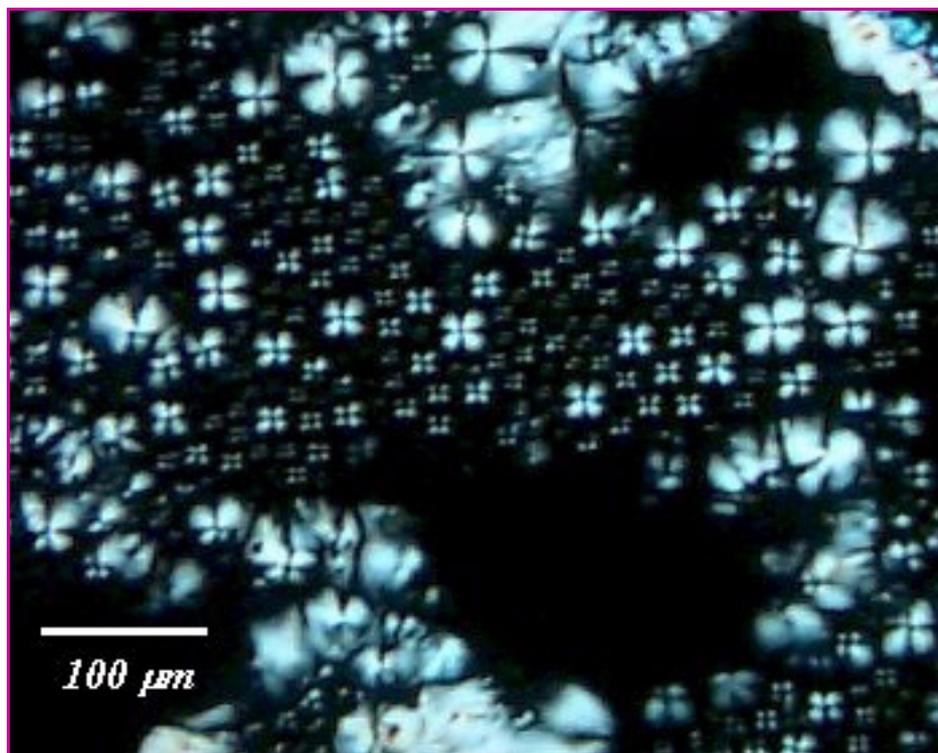
- [4] Rico-Lattes I., Lattes A., *Colloids and surfaces A. Physicochemical and Engineering Aspects*, **1997**, 123-124, p. 37.
- [5] Rico-Lattes I., Blanzat M., Franceschi-Messant S., Perez E., Lattes A., *C.R. Chimie*, **2005**, 8, p. 807 et réf. citées.
- [6] Costes F., El Ghoul M., Bon M., Rico-Lattes I., Lattes A., *Langmuir*, **1995**, 11, p. 3644.
- [7] Dupuy C., Auvray X., Petipas C., Anthore R., Costes F., Rico-Lattes I., Lattes A., *Langmuir*, **1996**, 12, p. 3162.
- [8] a) Garelli-Calvet R., Latge P., Rico I., Lattes A., Puget A., *Biochimica Biophysica Acta*, **1992**, 1109, p. 55 ; b) Rico-Lattes I., Gouzy M.F., Andre-Barres C., Guidetti B., Lattes A., *Biochimie*, **1998**, 80, p. 483 et réf. citées.
- [9] a) Perez E., Rico-Lattes I., Lattes A., Godefroy L., *Nouveau procédé de préparation d'APG*, Brevet déposé le 20 juin 1997 par la société Stepan-Europe, FR N° 9708461 et extensions ; b) Rico-Lattes I., Lattes A., Perez E., Schmitzer A., Gonzaga F., *Reactions and synthesis in surfactant systems*, Marcel Decker, **2000**, p. 337.
- [10] Houlmont J.P., Vercruyssen K., Perez E., Rico-Lattes I., Bordat P., Treilhou M., *Int. J. of Cosm. Science*, **2001**, 25, p. 1.
- [11] Houlmont J.P., Perez E., Rico-Lattes I., Bordat P., *Procédé de synthèse directe d'alkyrhamnosides et utilisation en tant que médicament*, Brevet déposé le 31 octobre 2003 par la société Pierre Fabre, FR n° 0312796 et extensions.
- [12] Brisset F., Garelli-Calvet R., Azema J., Chebli C., Rico-Lattes I., Lattes A., Moisan A., *New J. of Chem.*, **1996**, 20, p. 595.
- [13] Garelli-Calvet R., Brisset F., Rico I., Lattes A., Godefroy L., *New amphiphilic compounds containing two sugar derived head groups*, Brevet déposé le 5 novembre 1991 par la société Stepan-Europe, BF n° 9113851 et extensions.
- [14] a) Garrigues J.C., Perez E., Linas M.D., Rico-Lattes I., Seguela J.P., Lattes A., *J. Mycol. Med.*, **1996**, 6, p. 111 ; b) Garrigues J.C., Rico-Lattes I., Perez E., Lattes A., *Langmuir*, **1998**, 14, p. 5968.
- [15] Harouse J.M., Bhat S.L., Spitalnik S.L., Laughlin M., Stefano K., Silbergery D.H., Gonzales-Scarano F., *Science*, **1991**, 253, p. 320.
- [16] Fantini J., Hammache C., Delezay O., Yahji N., Andre-Barres C., Rico-Lattes I., Lattes A., *J. Biol. Chem.*, **1997**, 272, p. 7245 et réf. citées.
- [17] Rico-Lattes I., Garrigues J.C., Perez E., Andre-Barres C., Linas M.D., Aubertin A. M., Lattes A., *New J. of Chem.*, **1995**, 19, p. 341.
- [18] Guidetti B., Andre-Barres C., Rico-Lattes I., Lattes A., *Perspective in drug discovery and design*, **1996**, 5, p. 234.
- [19] Tondre C., Caillet C., *Adv. Colloid Interface Sci.*, **2001**, 93, p. 115 et réf. citées.
- [20] Dubois M., Deme B., Gulik-Krzywicki T., Dedieu J.C., Desert S., Perez E., Zemb T., *Nature*, **2001**, 411, p. 672.
- [21] Kaler E.W., Murthy A. K., Rodriguez B. E., Zasadzinski A.N., *Science*, **1989**, 245, p. 1371.
- [22] Blanzat M., Perez E., Rico-Lattes I., Lattes A., *New J. of Chem.*, **1999**, 23, p. 1063.
- [23] Blanzat M., Perez E., Rico-Lattes I., Prome D., Prome J.C., Lattes A., *Langmuir*, **1999**, 15, p. 6163.
- [24] Blanzat M., Perez E., Rico-Lattes I., Lattes A., Gulik A., *Chem. Comm.*, **2003**, 2, p. 244.
- [25] Brun A., Brezesinski G., Möhwald H., Blanzat M., Perez E., Rico-Lattes I., *Colloids and Surf.*, **2003**, 228, p. 3.
- [26] Teixeira C.L., Blanzat M., Kutz J., Brezesinski G., Rico-Lattes I., *Biochim. Biophysica Acta*, **2006**, 1758, p. 1797.
- [27] Soussan E., Pasc-Banu A., Consola S., Labot T., Perez E., Blanzat M., Oda R., Vidal C., Rico-Lattes I., *Chem. Phys. Chem.*, **2005**, 6, p. 2492.
- [28] a) Consola S., Blanzat M., Rico-Lattes I., Perez E., Bordat P., *Complexe d'association intermoléculaire d'un transporteur et d'un principe actif*, Brevet déposé le 22 juillet 2005 par la société Pierre Fabre, BF n° 0507856 ; b) Consola S., Blanzat M., Perez E., Bordat P., Rico-Lattes I., *Chemistry*, sous presse.
- [29] Rico-Lattes I., Blanzat M., Perez E., Soussan E., *Colloids and Surfaces*, sous presse.
- [30] Rico-Lattes I., Feurer B., Guidetti B., Payrou V., Nouveaux composés organiques fluorés : applications ophtalmologiques, BF n° 9402480 déposé le 25 février 1994 par la société Chauvin-Opsia devenue Bausch and Lomb en 2000. Oxane Hd® a été commercialisé en 2003.



Isabelle Rico-Lattes

est directrice de recherche CNRS au Laboratoire IMRCP de Toulouse*. Elle a reçu la Médaille d'argent du CNRS pour ses travaux en 2006. Elle dirige d'autre part le programme interdisciplinaire du CNRS « Chimie pour le développement durable ».

* Laboratoire des interactions moléculaires et réactivité chimique et photochimique (IMRCP), UMR CNRS 5623, Université Paul Sabatier, 118 route de Narbonne, 31062 Toulouse Cedex. Tél. : 05 61 55 62 70. Fax : 05 61 55 68 08. Courriel : rico@chimie-ups-tlse.fr



Triflès « porte-bonheur » dans l'eau : vue au microscope d'une phase lamellaire. © Laboratoire IMRCP.