

TELOMERES ET COTELOMERES D'INTERET BIOLOGIQUE ET BIOMEDICAL—V. PROPRIETES SOLUBILISANTES DES TELOMERES DERIVES DU TRIS(HYDROXYMETHYL) ACRYLAMIDOMETHANE

B. BOYER,¹ G. LAMATY,¹ J. M. MOUSSAMOU-MISSIMA,¹ A. A. PAVIA,^{2*} B. PUCCI² et J. P. ROQUE¹

¹Laboratoire de Chimie Organique Physique, Université des Sciences et Techniques du Languedoc,
 34095 Montpellier Cedex 05, France

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

(Reçu le 8 mai 1991)

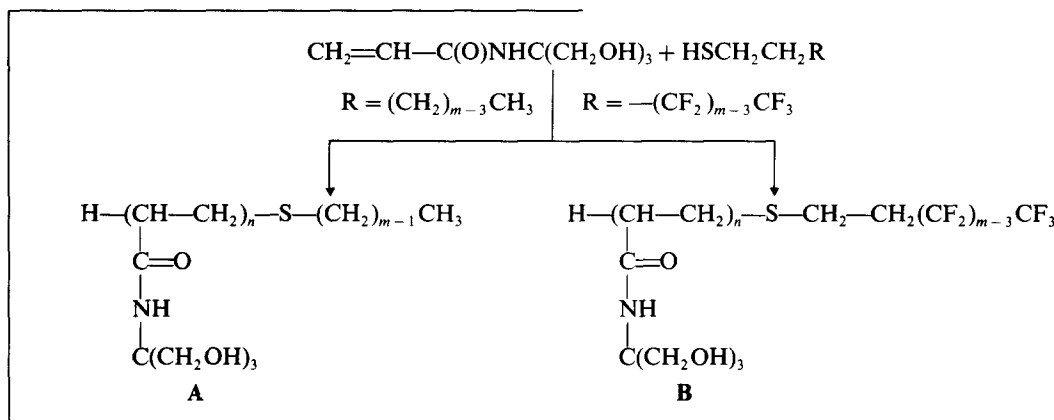
Résumé—Le présent travail concerne l'étude des propriétés solubilisantes en solution aqueuse d'une nouvelle classe d'agents amphiphiles à structure télomère dérivés du Tris(hydroxyméthyl) acrylamido-méthane comportant une extrémité hydrophobe hydro- ou fluorocarbonée. Le pouvoir solubilisant de ces composés dépend essentiellement de la nature et de l'importance de la terminaison hydrophobe, il est maximum pour une chaîne n-dodécane. Les télomères munis d'une extrémité perfluorée solubilisent mieux que leurs homologues hydrocarbonés, les solutés qui sont localisés dans la couche polaire de la micelle, mais moins bien ceux qui interagissent avec le coeur hydrophobe de la micelle. Leur faible toxicité et leur pouvoir solubilisant élevé rendent ces tensio-actifs particulièrement adaptés à un emploi dans les domaines biologique ou phytosanitaire.

INTRODUCTION

L'accroissement de la solubilité d'une substance organique insoluble ou faiblement soluble dans l'eau, à l'aide d'un tensio-actif est une approche qui a déjà fait l'objet de très nombreuses études [1–4]. Ce type de solubilisation est d'une importance fondamentale dans la compréhension des systèmes micellaires, notamment pour mieux apprécier leur impact sur les vitesses des réactions chimiques ou photochimiques [5]. Le pouvoir solubilisant d'un tensio-actif dépend

C'est dans ce but que nous avons étudié le comportement de quelques substrats hydrophobes en présence d'une nouvelle variété de tensio-actifs non ioniques à structure télomère dérivés du Tris(hydroxyméthyl) acrylamidométhane (THAM).

Dans un travail précédent [9, 10] nous avons montré que la télomérisation radicalaire du THAM en présence d'un alcanethiol comme agent télégène permet d'obtenir une nouvelle famille d'agents amphiphiles que nous avons baptisés H-TAC_m et dont la structure générale est montrée ci-dessous (A)



de nombreux facteurs: le site de solubilisation, la structure (nature de la tête polaire, longueur de la chaîne hydrocarbonée . . .), la nature du substrat, la température [6–8]. Une utilisation optimale des particularités de ces systèmes suppose une meilleure connaissance de l'environnement micellaire dans lequel se déroule la réaction.

Grâce à un choix judicieux de l'agent télégène et des conditions expérimentales, la méthode permet de contrôler respectivement et simultanément la longueur de la chaîne hydrophobe et la taille de la tête hydrophile, c'est-à-dire la balance hydrophile lipophile (HLB) de la macromolécule. Par ailleurs, en utilisant des agents télégènes de type 1H, 1H, 2H, 2H perfluoroalcanethiol $\text{HS}(\text{CH}_2)_2(\text{CF}_2)_{m-3}\text{CF}_3$, on peut préparer des agents amphiphiles de type B

*A qui toute correspondance doit être adressée.

(baptisés F-TAC_mⁿ qui s'avèrent très efficaces dans la préparation d'émulsions injectables de fluorocarbures transporteurs d'oxygène *in vivo* [11, 12].

Dans ce travail, nous présentons les résultats relatifs aux propriétés solubilisantes de ces agents amphiphiles, vis-à-vis de quatre cétones témoins: l'acétophénone, la benzophénone, la dodécaphénone et le 3-acétylphénanthrène. Leurs propriétés solubilisantes sont comparées à celles de deux tensio-actifs non ioniques, le Tween 20 et l'octyl- β -D-glucopyranoside, ainsi qu'à celles d'un autre tensio-actif glycolipidique décrit précédemment [13], le *N*-undécen-10-yl lactobionamide.

PARTIE EXPERIMENTALE

Les différents télomères ont été préparés selon des modes opératoires déjà décrits [9-12].

La solubilisation des différents composés carbonylés est suivie en mesurant par u.v. la densité optique des solutions des cétones en fonction de la concentration en tensio-actif.

Toutes les mesures de densité optique ont été réalisées à l'aide d'un spectrophotomètre u.v. Gilford 250.

1. Mesure du coefficient d'extinction molaire ϵ des cétones

On prépare une solution de la cétone dans le méthanol de titre connu (solution A), on prélève un volume de cette solution que l'on dilue 100 à 200 fois, soit avec de l'eau soit avec du méthanol de façon à avoir une densité optique (D) comprise entre 0,2 et 2. On détermine ainsi pour chaque cétone la longueur d'onde correspondant au maximum d'absorption (λ_{\max}).

Cétone	Acétophénone	Benzophénone	3-Acétylphénanthrène	Dodécaphénone
λ_{\max}	280 ^a	257	252	242
ϵ_{\max}	1220	17,000	34,520	11,640
Solvant	H ₂ O	H ₂ O	MeOH	MeOH

^aEn réalité, λ_{\max} est égale à 234 nm; l'absorption est très forte même pour des solutions très diluées (10^{-5} M). Afin de réduire les erreurs de mesure, nous avons préféré travailler à 280 nm.

2. Mesure de la solubilité

Dans un flacon de 2 ml, on introduit 1 ml d'eau de la solution aqueuse du tensio-actif, puis 50 mg de cétone (ou 50 μ l dans le cas de l'acétophénone). La solution est doucement agitée jusqu'à obtention de l'équilibre. Après avoir laissé reposer on prélève un volume V_0 que l'on dilue avec 2 ml d'eau ou de méthanol dans une cuve de mesure. On mesure la densité optique de la solution obtenue; plusieurs mesures successives identiques confirment l'obtention de l'équilibre de solubilisation.

3. Calcul de la solubilité S

La solubilité S représente la concentration de l'acétone dans la solution à l'équilibre. Soit C cette concentration, D la densité optique, V_a le volume de l'aliquote prélevé, V_t le volume total de la solution après dilution ($V_t = V_a + 2$), la solubilité est alors donnée par la relation:

$$S = \frac{D}{\epsilon l} \cdot \frac{V_t}{V_a}$$

Chaque valeur de densité optique représente la moyenne de trois mesures indépendantes identiques à 3% près. Nous avons de plus vérifié que la valeur de ϵ_{\max} n'est pas affectée par la présence de tensio-actif à des concentrations inférieures à 10^{-3} M, ce qui est toujours le cas dans la cuve de mesure.

RESULTATS ET DISCUSSION

Les différents agents tensio-actifs utilisés dans le présent travail sont désignés H-TAC_mⁿ (structure A) et F-TAC_mⁿ (structure B) où m représente le nombre de carbone de la chaîne thioalkyle terminale et n le nombre moyen de motifs Tris présents sur la chaîne (ou DP_n).

Les concentrations micellaires critiques (CMC) de ces composés ont été mesurées par la méthode de Menger et Portnoy [14]. Les principales caractéristiques de ces produits sont reportés dans le Tableau 1.

Plusieurs points méritent d'être rappelés ici.

- (1) Pour des degrés de polymérisation moyen en nombre (DP_n) supérieurs à 3, les télomères TAC sont solubles dans l'eau jusqu'à des concentrations de 200 g/l.
- (2) La CMC des télomères hydro- ou fluorocarbonés est pratiquement indépendante de la grosseur de la tête hydrophile, c'est-à-dire du DP_n de la macromolécule.
- (3) La substitution d'une terminaison hydrocarbonée par une chaîne fluorocarbonée entraîne trois types de modifications: (i) une diminution de la CMC d'un facteur 10-30, (ii) une diminution considérable du pouvoir hémolytique, (iii) une diminution de la DL50 (voie i.v.) d'un facteur supérieur à 2 [9, 10] (par exemple la DL 50 du F-TAC₈⁷ est supérieure à 4 g/kg alors que celle de son homologue hydrocarboné H-TAC₈⁵ est seulement de 1,3 g/kg).

Pour évaluer le pouvoir solubilisant des H-TAC_mⁿ ou F-TAC_mⁿ, nous avons mesuré la solubilité des quatre cétones précitées dans l'eau pure et en présence de chacun des tensio-actifs à des concentrations variant de 10^{-3} à 10^{-1} M.

Nous avons successivement analysé le rôle:

- (i) de la grosseur de la tête polaire;
- (ii) de la longueur de la chaîne hydrocarbonée; et
- (iii) de la chaîne fluorocarbonée.

Influence de la grosseur de la tête polaire

En fixant la longueur de la terminaison hydrocarbonée à 10 carbones (utilisation du décanéthiol comme agent télégène), nous avons fait varier le

Tableau 1. Caractéristiques physicochimiques des tensio-actifs utilisés

No.	Tensio-actifs	m	DP _n	M_w	CMC (mM)
1	H-TAC ₆ ⁴	6	4,2	853	> 10
2	H-TAC ₈ ⁵	8	5	1021	4,8
3	H-TAC ₁₀ ⁶	10	5,7	1172	0,59
4	H-TAC ₁₂ ⁷	10	6,8	1364	0,57
5	H-TAC ₁₀ ¹⁰	10	12	2274	0,55
6	H-TAC ₁₂ ¹³	12	4,2	937	0,15
7	H-TAC ₁₂ ¹³	12	13,3	2530	0,14
8	H-TAC ₆ ⁷	16	6	1308	0,02
9	F-TAC ₈ ⁷	8	6,9	1588	0,38
10	F-TAC ₁₀ ⁶	10	5,75	1486	0,033
11	F-TAC ₁₂ ⁷	12	6,8	1770	0,005
12	<i>N</i> -undec-10-enyl-lactobionamide (UNELAC)				3,2 ^a
13	Octyl- β -D-glucopyranoside (OBDG)				25,00 ^b
14	Tween 20				0,06 ^a

^aRef. [13].

^bRef. [15].

Tableau 2. Influence de la grosseur de la tête polaire sur la solubilisation des quatre cétones. (S_0 ; s)mM; $\Theta = (25 \pm 0,1)^\circ\text{C}$. Détermination du pouvoir solubilisant relatif (p.s.r.)

[T.A.] mM	Solubilité S (mM)							
	Acétophénone		Benzophénone		Dodécaphénone		3-Acétylphénanthrène	
	H-TAC ₆ ¹⁰	H-TAC ₁₂ ¹⁰	H-TAC ₆ ¹⁰	H-TAC ₁₂ ¹⁰	H-TAC ₆ ¹⁰	H-TAC ₁₂ ¹⁰	H-TAC ₆ ¹⁰	H-TAC ₁₂ ¹⁰
0	47,1		0,41		0,017		0,023	
1	48,1	48,4	0,90	0,54	0,03	0,17	0,06	0,15
2,5	52,7	48,4	0,80	0,54	0,09	0,18	0,16	0,20
5	54,6	49,8	1,00	0,88	0,18	0,28	0,26	0,30
10	62,6	55,8	1,40	1,02	1,90	0,37	0,53	0,63
25	74,7	72,5	3,50	4,60	0,76	1,02	1,60	2,20
50	102	97,5	6,70	8,70	1,40	2,30	3,40	4,80
75	132	118	10,4	13,4	2,20	3,40	4,80	6,20
100	154	—	13,0	18,1	2,80	4,40	6,13	8,50
p.s.r.	23	—	325	400	1540	2515	2780	3650

nombre de motifs hydrophiles. Les composés que nous étudions ont un DP_n respectivement de 6 et de 12 (H-TAC₆¹⁰ et H-TAC₁₂¹⁰). Les valeurs des solubilités mesurées en présence de ces deux tensioactifs sont rassemblées dans le Tableau 2.

Plusieurs points méritent d'être soulignés:

(1) D'une manière générale on observe une variation linéaire de la solubilité en fonction de la concentration du tensio-actif, ainsi qu'il est montré à titre d'exemple sur la Fig. 1 pour le 3-acétylphénanthrène.

La pente de la droite, p , correspond au nombre de moles de soluté solubilisé par mole de tensio-actif micellisé; p correspond au pouvoir solubilisant du tensio-actif.

On peut définir son pouvoir solubilisant relatif (p.s.r.) comme le rapport entre son pouvoir solubilisant et la solubilité du soluté dans l'eau, S_0 : $p.s.r. = p/S_0$.

Les valeurs de p.s.r. des H-TAC₆¹⁰ et H-TAC₁₂¹⁰ ont été calculées pour les quatre solutés étudiés. Ces valeurs sont reportées dans le Tableau 2.

(2) Pour un tensio-actif donné, il apparaît que le p.s.r. est d'autant plus élevé que la solubilité de la

cétone dans l'eau est plus faible. En d'autres termes le tensio-actif est d'autant plus efficace que le soluté est plus hydrophobe.

(3) L'effet de la grosseur de la tête polaire est surtout perceptible pour les solutés les plus hydrophobes: la dodécaphénone et le 3-acétylphénanthrène. Ces deux cétones, de volume molaire plus élevé que les deux autres, ont une solubilité qui s'accroît avec l'épaisseur de la couche polaire de la micelle. Elles doivent utiliser au moins en partie cette zone comme site de solubilisation.

Les solubilités de l'acétophénone et de la benzophénone, de volume molaire plus faible, sont moins sensibles à l'augmentation de l'épaisseur de la couche polaire.

Influence de la longueur de la terminaison hydrocarbonée

La solubilité des quatre substrats hydrophobes a été étudiée dans les mêmes conditions que précédemment en présence de cinq tensio-actifs munis de terminaison hydrocarbonée d'importance variable (H-TAC₆⁴, H-TAC₈⁵, H-TAC₁₀⁶, H-TAC₁₂⁴ et H-TAC₆⁶). Les valeurs du p.s.r. de chacun de ces agents amphiphiles ont été calculées pour chaque cétone et comparées à celles obtenues avec des tensio-actifs commerciaux tels que le Tween 20 et l'octyl β -D-glucopyranoside ainsi qu'au *N*-undec-10-ényl-lactobionamide décrit précédemment [13]. Les résultats sont reportés dans le Tableau 3.

Ces résultats appellent plusieurs remarques:

(1) La solubilité varie linéairement avec la concentration en tensio-actif hormis pour les H-TAC₆⁴ et H-TAC₈⁵ où elle n'apparaît qu'après un palier correspondant à une concentration équivalente à celle de la CMC. La solubilisation des différentes cétones est donc bien de type micellaire. La Fig. 2 représente ces variations dans le cas de la benzophénone.

(2) Le H-TAC₆⁴ se révèle peu efficace pour solubiliser ces cétones à l'exception de la dodécaphénone et à un degré moindre du 3-acétylphénanthrène. Le manque d'efficacité peut être attribué aux mauvaises propriétés micellisantes de ce composé (CMC très élevée > 10 mM).

Le comportement nettement différent que l'on observe vis-à-vis de la dodécaphénone, vient probablement du rôle de co-tensio-actif que peut jouer cette cétone grâce à sa longue chaîne hydrocarbonée.

(3) Pour les autres tensio-actifs on note à nouveau que le p.s.r. est d'autant plus élevé que le soluté est

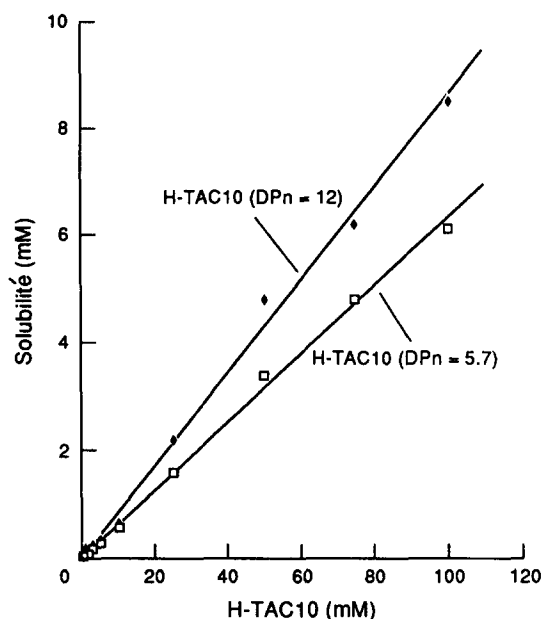


Fig. 1. Solubilité du 3-acétylphénanthrène en présence de H-TAC₆¹⁰ et H-TAC₁₂¹⁰, $\Theta = 25 \pm 0,1^\circ$.

Tableau 3. Détermination du p.s.r. de différents tensio-actifs H-TAC_m. Evolution du pouvoir solubilisant en fonction de la longueur de la terminaison hydrocarbonée

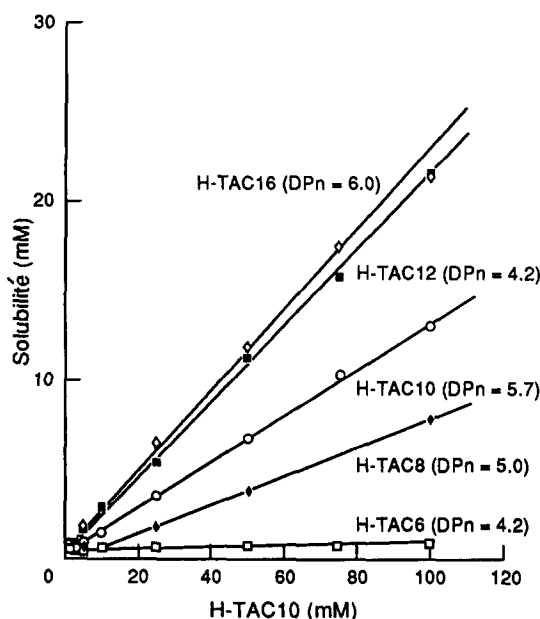
Tensio-actif	Cétone			
	Acétophénone	Benzophénone	Dodécaphénone	3-Acétylphénanthrène
H-TAC ₄	4	7	860	110
H-TAC ₆	24	190	1030	1960
H-TAC ₈	23	325	1540	2780
H-TAC ₁₀	23	525	1830	4560
H-TAC ₁₂	22	520	2680	6520
Tween 20	/	/	2570	6390
OBDO ^a	/	/	1090	1620
UNELAC ^a	/	/	1545	3220

^aVoir Tableau 1.

plus hydrophobe. On remarque aussi que l'effet de la modification de la longueur de la chaîne carbonée dépend de la nature de la cétone. Quand la chaîne augmente de 8 à 16 carbones, l'effet est nul sur l'acétophénone; il est par contre sensible avec les autres cétones, plus hydrophobes, notamment avec le 3-acétyl phénanthrène.

Ces résultats suggèrent que l'acétophénone est entièrement solubilisée dans la couche externe polaire de la micelle; sa solubilité est donc indifférente à la longueur de la chaîne carbonée. Par contre les cétones plus hydrophobes doivent être, au moins en partie, solubilisées dans le coeur non polaire de la micelle.

(4) Si l'on compare l'efficacité des H-TAC_m à celles des Tween 20, octyl- β -D-glucopyranoside ou *N*-undéc-10-ényl-lactobionamide, le H-TAC₁₆ présente le meilleur pouvoir solubilisant, nettement, plus important que celui du glucopyranoside. Ce dernier connu pour ses excellentes propriétés de détergent cellulaire, présente l'inconvénient dans ce cas particulier de posséder une CMC élevée (20 mM), et de nécessiter de fortes quantités de tensio-actif pour jouer un rôle de solubilisant.

Fig. 2. Solubilité de la benzophénone en présence de différents H-TAC C_m (6 ≤ m ≤ 10); $\theta = 25 \pm 0,1^\circ$.

Influence d'une chaîne fluorée

On peut penser qu'au delà des modifications qu'apporte l'introduction d'une chaîne fluorée sur les propriétés micellissantes (CMC, nombre d'agrégation, etc. . .), la substitution d'une chaîne hydrocarbonée par une extrémité fluorée peut jouer sur la solubilité et, en particulier, diminuer celle des solutés qui sont le plus localisés dans le coeur hydrophobe de la micelle.

Pour vérifier cette hypothèse, nous avons comparé la solubilité de la benzophénone, de la dodécaphénone et du 3-acétyl phénanthrène en présence des F-TAC et des H-TAC équivalents.

Bien que pour chaque couple de tensio-actifs, la grosseur de la tête polaire ne soit pas strictement égale, on peut comparer les valeurs obtenues puisque ce paramètre structural modifie peu le pouvoir solubilisant. L'analyse graphique des résultats obtenus conduit aux p.s.r. indiqués dans le Tableau 4.

Ces résultats montrent que les tensio-actifs fluorés ont un p.s.r. légèrement supérieur à ceux de leurs analogues hydrogénés vis-à-vis de la benzophénone et du 3-acétylphénanthrène, mais l'inverse est observé dans le cas de la dodécaphénone.

La présence d'une chaîne fluorée de section plus grande qu'une chaîne hydrogénée a pour conséquence d'écarter les têtes polaires et de favoriser la solubilisation de solutés principalement localisés dans cette zone polaire de la micelle; c'est probablement le cas de la benzophénone et du 3-acétylphénanthrène. Au contraire, une chaîne fluorée défavorisera la solubilisation de solutés préférentiellement dans le coeur hydrophobe de la micelle; c'est le cas de la dodécaphénone dont la chaîne carbonée doit être au contact de celle du tensio-actif. Il est clair que les interactions hydrophobes sont favorables à la solubilisation dans le cas d'un tensio-actif hydrogéné, mais défavorables dans celui d'un tensio-actif fluoré.

CONCLUSION

Ce travail a mis en évidence les propriétés solubilisantes des TAC vis-à-vis de quatre cétones peu solubles dans l'eau. Le pouvoir solubilisant est pratiquement indépendant du nombre de motifs acrylamido constituant la tête polaire; par contre, il augmente très sensiblement avec la longueur de la chaîne hydrophobe et atteint une valeur maximum pour 12 atomes de carbones. Les TAC fluorés, dont les CMC sont nettement plus faibles, solubilisent mieux les solutés qui sont localisés dans la couche polaire de la micelle (acétophénone, benzophénone

Tableau 4. Influence de la nature de la chaîne lipophile du tensioactif sur le p.s.r.

Cetone	T.A.					
	H-TAC ₈ ⁵	F-TAC ₈ ⁷	H-TAC ₁₀ ⁶	F-TAC ₁₀ ⁶	H-TAC ₁₂ ⁴	F-TAC ₁₂ ⁷
Benzophénone	190	355	325	330	525	—
Dodécanophénone	1030	970	1540	800	1830	—
3-Acétylphénanthrène	1960	2350	2780	3390	4560	4760

et 3-acétylphénanthrène) que ceux qui interagissent avec le coeur hydrophobe de la micelle (dodécanophénone).

Les pouvoirs solubilisant des TAC étudiés ainsi que leur faible toxicité, les rendent tout à fait compétitifs vis-à-vis d'autres tensio-actifs commerciaux pour leur application potentielle dans les domaines phytosanitaire, cosmétologique ou agro-alimentaire.

BIBLIOGRAPHIE

1. M. E. L. McBain et E. Hutchinson. *Solubilization and Related Phenomena*. Academic Press, New York (1955).
2. H. B. Klevens. *Chem. Rev.* **47**, 1 (1950).
3. A. S. C. Lawrence. *Trans. Faraday Soc.* **33**, 325 (1937); *ibid.* **33**, 815 (1937).
4. P. H. Elworthy, A. T. Florence et C. B. McFarlane. *Solubilization by Surface Active Agent and its Application in Chemistry and Biological Systems*. Chapman & Hall, London (1968).
5. J. H. Fendler et E. J. Fendler. *Catalysis in Micellar and Macromolecular Systems*. Academic Press, New York (1975).
6. D. Attwood et A. T. Florence. *Surfactant Systems, their Chemistry, Pharmacy and Biology*. Chapman & Hall, London (1983).
7. J. H. Fendler, E. J. Fendler, G. A. Infante, P. Shih et L. K. Patterson. *J. Am. chem. Soc.* **97**, 1989 (1975).
8. P. Mukerjee. In *Solubilization in Aqueous Micellar Systems* (édité par K. L. Mittal), Vol. 1, p. 153. Plenum Press, New York (1979).
9. B. Pucci, J. C. Maurizis et A. A. Pavia. *Eur. Polym. J.* **27**, 1101 (1991).
10. B. Pucci et A. A. Pavia. *Tetrahedron Lett.* **32**, 1437 (1991).
11. A. A. Pavia, B. Pucci, J. G. Riess et L. Zarif. *Biomed. J. Chem. Lett.* **1**, 103 (1991).
12. A. A. Pavia, B. Pucci, J. G. Riess et L. Zarif. *Makromolek. Chem.* (à paraître).
13. B. Boyer, G. Lamaty, J. M. Moussamou-Missima, A. A. Pavia, B. Pucci et J. P. Roque. *Tetrahedron Lett.* **32**, 1191 (1991).
14. F. M. Menger et C. E. Portnoy. *J. Am. chem. Soc.* **89**, 4698 (1967).
15. K. Shinoda, T. Yamaguchi et R. Hori. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **34**, 237 (1961).
16. S. Saito et T. Tsuchiya. *Biochem. J.* **222**, 829 (1984) et références citées.

Abstract—Telomers derived from tris-(hydroxymethyl)-acrylamidomethane, with either a hydrocarbon or a fluorocarbon hydrophobic tail, were investigated with respect to their ability to solubilize highly hydrophobic substrates in water. The solubilizing power was shown to be strongly dependent on both the nature and size of the hydrophobic terminus. Fluorinated surfactants proved better than their hydrocarbon analogues for dissolving solutes that are preferentially localized in the polar layer of the micelle. Conversely, hydrocarbon amphiphilic telomers are better solubilizing agents than fluorinated derivatives for compounds which are localized in the hydrophobic core of the micelle.