

Les bolaphiles Bi(*F*-alkylés) de type cationique à espaceur court: aptitude à la vésiculation en solution aqueuse après sonication

Marc Gaysinski ^a, Laleh Joncheray ^a, Frédéric Guittard ^a, Aimé Cambon ^{a,*}, Patrick Chang ^b

^a Laboratoire de Chimie Organique du Fluor, Université de Nice-Sophia Antipolis, Parc Valrose, BP 71, 06108 Nice-Cedex, France

^b CNRS, UA 671, Villefranche-sur-Mer, France

Reçu le 26 octobre 1994; accepté le 27 janvier 1995

Abstract

The production of vesicular membranes in aqueous solution by a new series of bis (polyfluoroalkylated) bis (ammonium) compounds with a short spacer length, i.e. $[\text{R}_F\text{C}_2\text{H}_4\text{XCOCH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2(\text{CH}_2)_n\text{N}(\text{CH}_3)_2\text{CH}_2\text{OCXC}_2\text{H}_4\text{R}_F]^{2+}$, 2Br^- , has been studied. Of these compounds, it is shown by freeze-fracture electron microscopy that after sonication two amphiphiles produce small unilamellar vesicles in water. Dynamic light scattering (DLS) experiments have been used to characterise their mean hydrodynamic radii.

Résumé

Nous avons étudié l'aptitude à la vésiculation en solution aqueuse d'une nouvelle série de bis (ammonium) bi (*F*-alkylés), de type cationique, à espaceur court, de formule générale: $\text{R}_F\text{C}_2\text{H}_4\text{XCOCH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2(\text{CH}_2)_n\text{N}(\text{CH}_3)_2\text{CH}_2\text{OCXC}_2\text{H}_4\text{R}_F]^{2+}$, 2Br^- . Parmi ces composés deux d'entre eux ($\text{R}_F = \text{C}_6\text{F}_{13}$, $\text{X} = \text{NH}$, $n = 2$; $\text{R}_F = \text{C}_6\text{F}_{13}$, $\text{X} = \text{O}$, $n = 3$) ont formé des vésicules après sonication. L'analyse des photos obtenues par microscopie électronique après cryofracture a montré que ces vésicules étaient majoritairement de type unilamellaire. Leur rayon hydrodynamique moyen respectif a été déterminé par diffusion quasi-élastique de la lumière (DLS).

Keywords: Vesicles; Bolaphiles; Bis (polyfluoroalkylated); Sonication; Electron microscopy; Differential light scattering

1. Introduction

Les bactéries appartenant au groupe des Archaeobacteria [1,2] vivent dans des milieux extrêmes, mortels pour de nombreux autres organismes. Cette résistance est attribuée à la présence dans leur membrane plasmique de lipides, dont les structures, de type A ou B, sont inhabituelles (cf. Fig. 1).

Plus connues aujourd'hui sous le nom de bolaphile [3], ces structures restent, cependant, difficilement accessibles par voies naturelles ou synthétiques. Les recherches se sont donc orientées vers la synthèse de molécules présentant la caractéristique structurale essentielle de ces lipides, à savoir, deux têtes hydrophiles séparées par un espaceur hydrophobe.

On a montré que les bolaphiles [1,4–6] issus de ces travaux ont, de part leurs propriétés, des potentialités dans de nombreux domaines d'applications. On peut citer: l'obtention de films thermostables [7], la stabilisation ou la déstabilisation des vésicules porteuses de substances actives [8,9], le

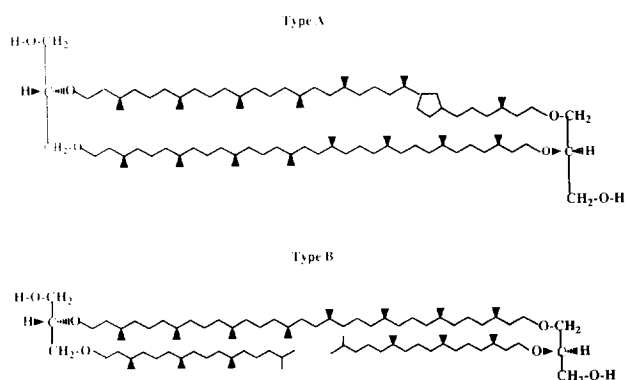


Fig. 1. Exemple de lipides présents dans la membrane plasmique des bactéries appartenant au groupe des Archaeobacteria.

mimétisme membranaire [10], la photosynthèse artificielle [11], la détergence [12,13].

Au sein de notre groupe de recherche nous nous sommes orientés vers la synthèse des amphiphiles perfluoroalkylés et l'étude de leur aptitude à la vésiculation [14–21].

Le caractère hydrophobe des chaînes perfluorées confère à ces surfactants des caractéristiques particulières [22]: faible

* Auteur auquel la correspondance doit être adressée

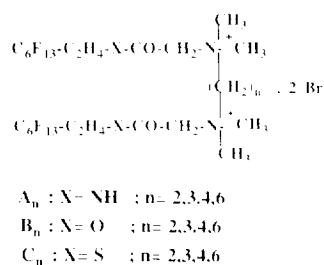


Fig. 2. Structure chimique des bolaphiles bi(*F*-alkylés) de type cationique.

tension de surface, capacité à la solubilisation des gaz, grande inertie chimique, etc.

En solution aqueuse les tensioactifs perfluoroalkylés forment des édifices supramoléculaires, dont les caractéristiques géométriques et les propriétés [23,24] sont souvent différentes de celles obtenues à partir de leurs homologues hydrocarbonés.

A notre connaissance aucun travail sur les bolaphiles perfluoroalkylés n'a été mentionné dans la littérature. Ceci est sans nul doute lié aux problèmes inhérents à leur synthèse. En effet la quaternisation des amines tertiaires par les iodures de 2-*F*-alkyléthyle conduit généralement à l'élimination de HI. Pour y pallier nous avons synthétisé, au sein de notre laboratoire les halogénures perfluoroalkylés [25] de formule générale: $R_F\text{-C}_2\text{H}_4\text{-XCO-CH}_2\text{Br}$ ($X = \text{NH, O, S}$). Ces précurseurs nous ont permis d'atteindre, avec des rendements quantitatifs, les bolaphiles présentés sur la Fig. 2. La synthèse et l'étude des propriétés de surface de ces nouveaux tensioactifs bi(*F*-alkylés) ont été présentées récemment [26,27].

Dans ce travail, nous rapportons, pour la première fois, une étude concernant l'aptitude à la vésiculation de ces composés originaux. Les vésicules ont été caractérisées par microscopie électronique après cryofracture. La taille des vésicules a été déterminée par diffusion quasi-élastique de la lumière (dynamic light scattering: DLS).

2. Résultats et discussion

Les bolaphiles bi(*F*-alkylés) que nous avons étudiés sont de type cationique (cf. Fig. 2). Nous les avons classés en trois catégories notées A_n , B_n et C_n . Les lettres en majuscules A, B et C correspondent aux tensioactifs comportant respectivement dans leurs parties hydrophobes deux fonctions amides, esters et thioesters. Pour chacune de ces catégories, l'indice n représente le nombre de motifs méthyléniques séparant les deux têtes cationiques ($n = 2, 3, 4$ et 6). Les douze bolaphiles ont été mis en solution aqueuse, à une concentration de 30 g l^{-1} . Après dispersion au vortex, à température ambiante, les quatre amphiphiles de la série A se sont révélés solubles dans l'eau. Ceux appartenant aux catégories B et C ne le sont que partiellement. Après sonication et retour à la température ambiante, les solutions obtenues à partir des surfactants de la série A sont limpides. Celles obtenues à partir des catégories B et C sont laiteuses. On note cependant

une exception dans le cas du bolaphile B_2 où la solution a l'aspect et la consistance d'un gel.

Tous les échantillons, excepté le gel B_2 , ont été soumis à la cryofracture et observés au microscope électronique. L'analyse des clichés nous a permis d'identifier des vésicules dans les solutions A_2 et B_3 . Leurs morphologies sont comparables à celles que l'on peut observer dans le cas des tensioactifs bi(*F*-alkylés) de type cationique [15,21].

La Fig. 3 représente les vésicules obtenues pour A_2 . On observe une population, polydisperse en taille, de vésicules unilamellaires de forme sphérique ou ellipsoïdale. On constate également la présence de grandes vésicules bilamellaires, caractérisées par un espace aqueux interlamellaire d'environ 100 nm.

La Fig. 4 correspond à la cryofracture réalisée sur B_3 . Les vésicules sont unilamellaires de forme sphérique ou ellipsoïdale, polydisperses en taille.

L'analyse des clichés pris sur les autres échantillons met en évidence la présence de petits agrégats dont la taille est inférieure à 15 nm mais également de quelques gros agrégats. A titre d'exemple nous présentons les cryofractures effectuées sur A_6 (Figs. 5 et 6). Les agrégats observés et non identifiés y sont indiqués par des flèches.

Nous avons évalué le rayon hydrodynamique moyen des vésicules présentes dans les échantillons A_2 et B_3 , par diffusion quasi-élastique de la lumière. Les résultats sont consignés dans le Tableau 1.

On constate que les vésicules obtenues pour B_3 ont un rayon hydrodynamique moyen (51,6 nm) plus important que

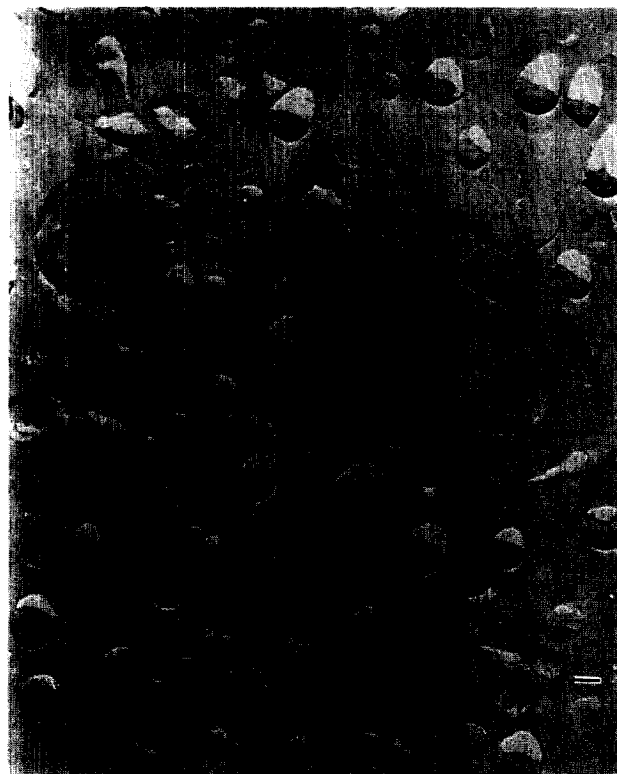


Fig. 3. Cryofracture réalisée sur l'échantillon A_2 (l'échelle correspond à 100 nm).

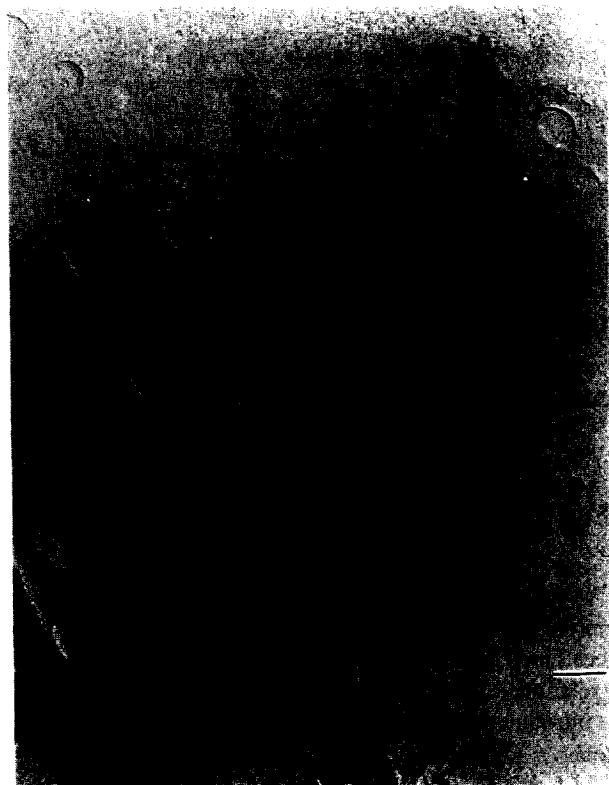


Fig. 4. Cryofracture réalisée sur l'échantillon B₃ (l'échelle correspond à 100 nm).

celles formées pour A₂ (41,8 nm). La comparaison des écarts types indique, bien que les deux populations soient polydisperses, une homogénéité en taille plus grande pour A₂.

La formation de vésicules dans le cas des tensioactifs A₂ et B₃ constitue un résultat inattendu. En effet, leurs homologues hydrocarbonés bicationiques s'assemblent en vésicules lorsque la longueur de l'espaceur est suffisante pour former une monocouche membranaire [5,6]. A l'inverse lorsque le nombre de motifs méthyléniques séparant les deux têtes hydrophiles est inférieur ou égal à six on observe des micelles et ce quelle que soit la longueur des chaînes alkyles [12].

Sur la Fig. 7 nous avons schématisé les arrangements envisagés dans la littérature [5] pour les tensioactifs monocaténaires à segment rigide [Fig. 7(a)], les tensioactifs bicaténaires [Fig. 7(b)] et les bolaphiles à espaceur long [Fig. 7(c)]. Dans le cas des bolaphiles A₂ et B₃, compte tenu du faible nombre de motifs méthyléniques séparant les deux têtes hydrophiles, l'arrangement en bicouche au sein de la membrane semble le plus probable. Celui-ci est présenté sur la Fig. 7(d).

La formation de ce type de bicouche membranaire, au vu des résultats obtenus après cryofracture, semble dépendre de la nature des fonctions chimiques présentes dans les parties hydrophobes des bolaphiles ainsi que de la longueur de l'espaceur séparant les deux têtes cationiques de ces amphiphiles.

Afin d'évaluer la stabilité des vésicules au cours du temps, nous avons procédé à une nouvelle série de mesures

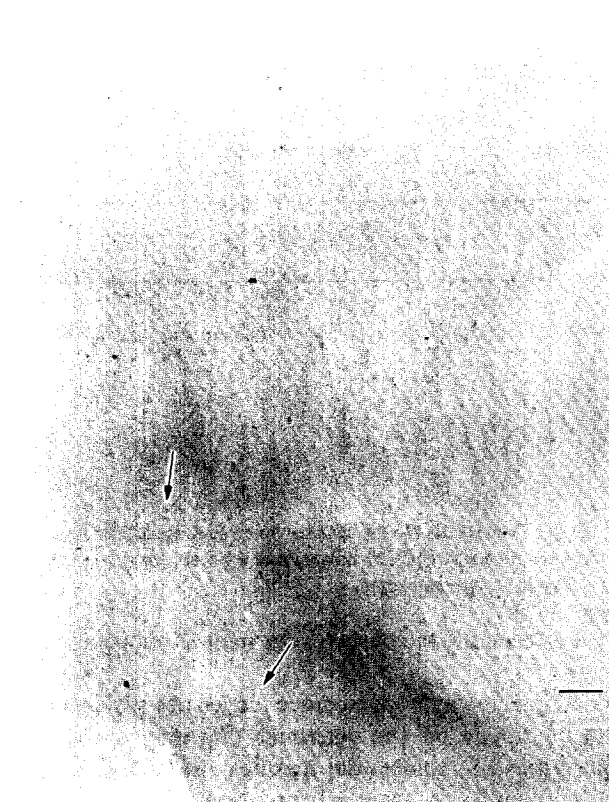


Fig. 5. Cryofracture réalisée sur l'échantillon A₆ (l'échelle correspond à 100 nm). Les flèches indiquent les petits agrégats observés et non identifiés.



Fig. 6. Cryofracture réalisée sur l'échantillon A₆ (l'échelle correspond à 100 nm). Les flèches indiquent les gros agrégats observés et non identifiés.

Tableau 1

Rayons hydrodynamiques moyens déterminés par DLS pour les vésicules obtenues à partir des bolaphiles perfluorés A₂ et B₃

Echantillon	Angle de diffusion (°)	$\bar{R}_H = \frac{\sum_{i=1}^x R_{Hi}}{x}$ (nm)	Ecart type, σ	Nombre de mesures, x
A ₂	90	41.8	2.9	76
B ₃	90	51.6	7.4	84

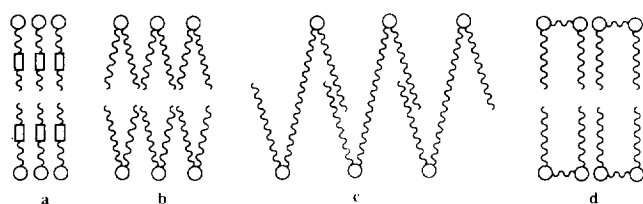


Fig. 7. (a) Tensioactifs monocaténaire à segment rigide, (b) tensioactifs bicaténaire monochargés, (c) bolaphiles à espaceur long, (d) bolaphiles bi (*F*-alkylés) à espaceur court.

sur les échantillons conservés un mois à température ambiante.

Seul le rayon hydrodynamique moyen des vésicules obtenues pour A₂ a pu être déterminé (R_H moyen = 52,5 nm; écart type = 3,6; nombre des mesures = 40). Dans le cas de l'échantillon B₃ on observe la présence d'un abondant précipité blanc. L'analyse du surnageant n'a donné aucun résultat. On constate, pour A₂, un léger accroissement (environ 10 nm) de la taille des vésicules au cours du temps. Cet accroissement s'accompagne d'une variation de l'écart type. Cette variation positive (+0,7) indique une diminution de l'homogénéité en taille des vésicules.

Ces résultats mettent en avant l'influence de la nature des fonctions chimiques présentes dans les parties hydrophobes des bolaphiles bi(*F*-alkylés) sur la stabilité des vésicules. La formation probable de liaisons hydrogènes serait un des facteurs stabilisant pour l'arrangement proposé sur la Fig. 7(d)

3. Partie expérimentale

La synthèse des douze bolaphiles bi(*F*-alkylés) de type cationique à espaceur court a été présentée dans un travail précédent [26,27]. Les spectres de résonance magnétique nucléaire du fluor et du proton, enregistrés sur Bruker AC-200, sont conformes aux structures attendues et assurent une pureté minimale de 95%.

3.1. Formation des vésicules

D'une manière générale on introduit dans une ampoule en verre de 10 ml, 60 mg de tensioactif et 2 ml d'eau distillée (concentration comprise entre 0,027 M et 0,026 M). Après avoir scellé l'ampoule, le tensioactif est dispersé au vortex (Labino BV model L 24: vitesse maximum) puis maintenu à 70 °C pendant 3 min. La sonication de l'échantillon est faite par l'intermédiaire d'une sonotrode à gobelet (Branson

Sonifier 450) durant 30 min à une puissance de 160 W. Un bain thermostaté (Polystat 44 Bioblock Scientific) relié au dispositif permet de conserver une température constante de 70 °C pendant toute la durée de l'expérience.

3.2. Microscopie électronique

Des échantillons (0,5 μ l) sont déposés entre deux plaques de cuivre. Ce 'sandwich' est congelé dans du propane à usage domestique, liquéfié par de l'azote liquide (−196 °C). Après congélation, le 'sandwich' est placé dans un porte-échantillon puis introduit dans un appareil à cryofracture (Cryo fract 190 Reichert). La fracture est faite à −135 °C sous un vide de 10^{−6} Pa. Après ombrage à 45° avec Pt—C, la réplique est stabilisée par recouvrement rotatif à 75° à l'aide d'une couche de carbone. La réplique est ensuite plongée dans une solution saturée de KOH [28], lavée à l'eau, puis trempée dans une solution d'eau de javel commerciale. Après lavage à l'eau, la réplique est déposée sur une grille et observée au microscope électronique (Hitachi H600 100 kV).

3.3. Diffusion quasi-élastique de la lumière (DLS)

Le rayon hydrodynamique moyen des vésicules a été mesuré en mode continu à 298 K sur model 801 Molecular Size Detector (Oros Instruments) à l'aide d'un laser solide d'une puissance de 30 mW émettant une lumière monochromatique à 780 nm. Le model 801 analyse par une fonction d'autocorrélation la fluctuation de l'intensité de la lumière diffusée en fonction du temps, et détermine le coefficient de diffusion de translation noté D_T . L'équation de Stokes–Einstein [Eq. (1)] permet, alors, de déterminer le rayon hydrodynamique des particules en suspension.

$$R_H = \frac{K_d T}{6\pi\eta D_T} \quad (1)$$

avec K_d = constante de Boltzmann; T = température absolue en degrés Kelvin; η = viscosité.

Avant d'être analysé, l'échantillon est soumis à une centrifugation (13 000 tour min \times 10 min) afin d'éliminer les traces de poussières. Le surnageant est prélevé puis injecté manuellement, à l'aide d'une seringue en verre, dans la cellule de mesure. Entre chaque échantillon, la cellule est lavée à l'eau distillée afin d'éliminer les bulles d'air et les traces de l'échantillon précédent.

4. Conclusions

Israelachvili et al. ont montré que la géométrie des molécules tensioactives en solution aqueuse conditionne leurs modes d'agrégation [29]. Par exemple les amphiphiles de formes coniques vont s'auto-organiser en micelles sphériques. Ceux de forme cylindrique en bicouches planes. En série hydrocarbonée les bolaphiles de type cationique à espaceur court forment des vésicules. Dans ce travail nous avons établi que leurs homologues perfluorés pouvaient s'auto-assembler en vésicules. Le remplacement de deux chaînes hydrocarbonées par deux chaînes perfluoroalkylées permet donc, en solution aqueuse, de modifier la géométrie des bolaphiles à espaceurs courts. Par ailleurs les édifices vésiculaires obtenus semblent stabilisés par la présence de liaisons hydrogènes au sein de la partie hydrophobe de la bicouche. En effet nous avons observé un ordre de stabilité décroissant pour les édifices formés à partir des bolaphiles présentant respectivement deux fonctions amides, deux fonctions esters, deux fonctions thioesters. Ces résultats confirment l'influence particulière que peut entraîner l'introduction d'une ou plusieurs chaînes perfluorées sur l'organisation des molécules tensioactives en solution aqueuse.

Remerciements

Nous remercions pour son soutien financier la société Seporga. Nous remercions également le professeur M. Blandamer de l'Université de Leicester (UK) pour l'aide qu'il nous a apportée.

Bibliographie

- [1] D.H. Thompson, K.F. Wong, R. Humphry-Baker, J.J. Wheeler, J.-M. Kim and S.B. Rananavare, *J. Am. Chem. Soc.*, **114** (1992) 9035.
- [2] K. Yamauchi, A. Moriya and M. Kinoshita, *Biochim. Biophys. Acta*, **1003** (1989) 151.
- [3] N. Jayasuriya, S. Bosak and S.L. Regen, *J. Am. Chem. Soc.*, **112** (1990) 5844.
- [4] Y. Okahata and T. Kunitake, *J. Am. Chem. Soc.*, **101** (1979) 5231.
- [5] T. Kunitake, A. Tsuge and K. Takarabe, *Polym. J.*, **17** (1985) 633.
- [6] T. Kunitake, *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, **31** (1992) 709.
- [7] J.-M. Kim and D.-H. Thompson, *Langmuir*, **8** (1992) 637.
- [8] K. Yamauchi, Y. Sakamoto, A. Moriya, K. Yamada, T. Hosokawa, T. Higuchi and M. Kinoshita, *J. Am. Chem. Soc.*, **112** (1990) 3188.
- [9] J.-H. Fuhrhop, U. Liman and V. Koesling, *J. Am. Chem. Soc.*, **110** (1988) 6840.
- [10] V.E. Carmichael, P.J. Dutton, T.M. Fyles, T.D. James, J.A. Swan and M. Zojaji, *J. Am. Chem. Soc.*, **111** (1989) 767.
- [11] E. Baumgartner and J.-H. Fuhrhop, *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, **19** (1980) 550.
- [12] R. Zana, M. Benraou and R. Rueff, *Langmuir*, **7** (1991) 1072.
- [13] Y. Nagawa and S.L. Regen, *J. Am. Chem. Soc.*, **113** (1991) 7237.
- [14] S. Szönyi, A. Sismondi, H.J. Watzke and A. Cambon, *J. Com. Esp. Deterg.*, **23** (1992) 219.
- [15] S. Szönyi, H.J. Watzke and A. Cambon, *Prog. Colloid Polym. Sci.*, **89** (1992) 149.
- [16] A. Sismondi, S. Szönyi, P. Abenin, L. Joncheray and A. Cambon, *Tenside Surf. Deterg.*, **29** (1992) 3.
- [17] A. Sismondi, S. Szönyi, P. Abenin, L. Joncheray, M.A. Jouani and A. Cambon, *Tenside Surf. Deterg.*, **29** (1992) 333.
- [18] H. Trabelsi, S. Szönyi, M. Gaysinski, H.J. Watzke and A. Cambon, *Langmuir*, **9** (1993) 1201.
- [19] S. Szönyi, H.J. Watzke and A. Cambon, *New J. Chem.*, **17** (1993) 425.
- [20] S. Szönyi, M.A. Jouani, S.Y. Dieng, H.J. Watzke and A. Cambon, *Proc. Colloid. Chem.*, (1993) 151.
- [21] H. Meinert, P. Reuter, W. Rohlke, A. Cambon, S. Szönyi and M. Gaysinski, *J. Fluorine Chem.*, **66** (1994) 203.
- [22] M.C. Alison, *Spec. Chem.*, **4** (1984) 23.
- [23] T. Kunitake and N. Higashi, *Makromol. Chem. Suppl.*, **14** (1985) 81.
- [24] H. Ringsdorf, B. Schlard and J. Venzmer, *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, **27** (1988) 113.
- [25] A. Sismondi, P. Abenin, L. Joncheray and A. Cambon, *J. Fluorine Chem.*, **59** (1992) 127.
- [26] L. Joncheray, *Thèse de doctorat*, Nice, 1993.
- [27] F. Guittard, *Thèse de doctorat*, Nice, 1994.
- [28] G.C. Ruben, *J. Electron Microsc. Techniques*, **13** (1989) 335.
- [29] J.N. Israelachvili, D.J. Mitchell and B.W. Ninham, *J. Chem. Soc., Faraday Trans. 1*, **72** (1976) 1525.