

• 研究论文 •

## 季铵盐表面活性剂与卵磷脂囊泡相互作用的研究

张春艳 徐晓明 吴章锋 韩国彬\*

(厦门大学化学系 固体表面物理化学国家重点实验室 厦门 361005)

**摘要** 采用动态光散射、 $\zeta$ 电势等方法研究了季铵盐二聚表面活性剂( $C_{12}$ -8- $C_{12}$ •2Br)和十二烷基三甲基溴化铵(DTAB)在卵磷脂囊泡中的增溶作用。 $C_{12}$ -8- $C_{12}$ •2Br使囊泡粒径增大,促进脂双层向胶团的转变,过程明显分为三个阶段;而DTAB与囊泡的作用则相对缓和,72 h内未见明显变化。此外,用亲水头基总体积的大小,讨论了这两种表面活性剂在脂质体中的吸附行为,并对实验现象加以解释说明。

**关键词** 季铵盐表面活性剂; 脂质体; 增溶作用; 动态光散射;  $\zeta$ 电势

## Investigation on the Interaction between Quaternary Ammonium Surfactants and Lecithin Vesicles

ZHANG, Chun-Yan XU, Xiao-Ming WU, Zhang-Feng HAN, Guo-Bin\*

(Department of Chemistry, State Key Laboratory for Physical Chemistry of Solid Surface, Xiamen University, Xiamen 361005)

**Abstract** The solubilization process of quaternary ammonium surfactants within lecithin vesicles has been studied by means of optical density monitoring, dynamic light scattering (DLS) and  $\zeta$ -potential. To  $C_{12}$ -8- $C_{12}$ •2Br-liposome system, the vesicle-to-micelle structure transition occurred within 6 h, and could be described by a simple three-stage model. While the DTAB-liposome system remained vesicle state even after 48 h. The size of total volume of hydrophilic head group ( $V_{\text{head}}$ ) as the main influencing factor was investigated.

**Keywords** quaternary ammonium surfactant; liposome; solubilization process; dynamic light scattering;  $\zeta$ -potential

细胞的各种功能,如识别、融合、胞吞、运输、渗透等都是膜为媒介的过程。利用表面活性剂单分子层,双分子层及磷脂囊泡等膜模型来研究膜结构的方法称为膜模拟方法。特别是由两亲分子形成的囊泡,具有与细胞膜相似的封闭双层结构,被视为膜模拟的简单理想模型<sup>[1]</sup>,广泛应用于分子识别、纳米合成以及药物传递等研究领域。形成囊泡的两亲分子可以是天然磷脂,单链表面活性剂,双链表面活性剂,甚至正负离子表面活性剂的混合体系<sup>[2]</sup>。由天然磷脂形成的囊泡(亦称为脂质体)以其毒性低,制备简单,可避免药物的降解和

实现靶向给药,已被广泛作为药物载体使用,表面活性剂则是生物膜学及给药系统的分子研究工具。

目前,关于表面活性剂在脂质体上的吸附、渗透、和最终破坏双层结构的研究多针对阴离子或非离子表面活性剂-囊泡体系<sup>[3~7]</sup>,阳离子表面活性剂相关的报道则较少<sup>[8]</sup>。季铵盐二聚(Gemini)表面活性剂是一类新型表面活性剂,其应用尚处开发阶段。本文采用pH 7.4,盐浓度为 $0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的缓冲体系,模仿人体细胞所处的环境。通过研究季铵盐二聚表面活性剂( $C_{12}$ -8- $C_{12}$ •2Br)以及十二烷基三甲基溴化铵(DTAB)与脂质体的相互作

\* E-mail: hangb@jingxian.xmu.edu.cn

Received July 14, 2004; revised October 14, 2004; accepted November 26, 2004.

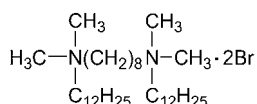
国家自然科学基金(No. 29973033)资助项目。

用, 从阳离子表面活性剂-脂质体体系的稳定性, 电动性质等方面探讨了双子表面活性剂中连接基团对脂质体稳定性的影响.

## 1 实验部分

### 1.1 实验试剂

蛋黄卵磷脂(日本, 试用药). 季铵盐二聚表面活性剂( $C_{12}$ -8- $C_{12}$ •2Br)为本实验室合成<sup>[9]</sup>, 其分子结构式如下:



Tris 缓冲液(pH 7.4): 0.005 mol•L<sup>-1</sup> Tris, 0.1 mol•L<sup>-1</sup> NaCl 混合液用稀盐酸溶液(0.1 mol•L<sup>-1</sup>)调至 pH 7.4. 实验中所用溶液均为缓冲液体系.

十二烷基三甲基溴化铵(DTAB): 用乙酸乙酯-乙醇混合溶液重结晶三次.

NaCl, HCl, Tris, 无水乙醇, 乙酸乙酯均为分析纯. 实验用水为三次蒸馏(电导率小于  $2 \times 10^{-5}$  S/m). 所有实验均在 25 °C 下进行.

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 卵磷脂囊泡的制备

采用乙醇注射法<sup>[10]</sup>, 用微量注射器将卵磷脂的无水乙醇溶液注射到 56 °C 的 Tris 缓冲液中, 即制得单分散的脂质体(0.5 mmol•L<sup>-1</sup>).

将上述溶液冷至室温后, 与不同浓度的表面活性剂溶液等体积混合即得表面活性剂-脂质体体系.

#### 1.2.2 吊片法测定表面活性剂溶液 cmc

用 Sigma701 张力仪(KSV 仪器公司, 芬兰)测定  $C_{12}$ -8- $C_{12}$ •2Br 及 DTAB 表面活性剂缓冲溶液的表面张力, 从而得出二者的 cmc 分别约为 0.02, 4 mmol•L<sup>-1</sup>.

#### 1.2.3 浊度的测定

表面活性剂-脂质体混合溶液充分振荡后, 用 Cary50 Win/UV 分光光度计(Varian 仪器公司, 美国), 测定不同时间间隔下体系的吸光值. 实验中使用 1 cm 石英比色池, 入射波长 380 nm.

#### 1.2.4 流体力学直径, Zeta 电势的测定

将表面活性剂和脂质体混合 24 h 后, 将此表面活性剂-脂质体体系在 3000 r/min 转速下离心 20 min, 用 Zetapals 电势仪(Brookhaven 仪器公司, 美国)在激光波长 660 nm, 固定散射角 90°下测定其流体力学直径和 Zeta 电势.

## 2 结果与讨论

### 2.1 增溶作用

囊泡向胶团的转变过程中, 卵磷脂的溶解度将发生很大的改变, 因此观测溶液的浊度变化可以捕捉到卵磷脂相转变及聚集态的信息. 图 1(A)表明  $C_{12}$ -8- $C_{12}$ •2Br 迅速促进囊泡的溶解, 6 h 内囊泡溶解完全, 白色乳液迅速变成澄清的透明液, 浊度急剧下降. 该过程类似于阴离子和非离子表面活性剂与脂质体相互作用的情况<sup>[11,12]</sup>, 分为三个阶段(图 2): 阶段 I,  $C_{12}$ -8- $C_{12}$ •2Br 分子从水相进入脂双层, 促进囊泡的吞包和融合, 形成卵磷脂- $C_{12}$ -8- $C_{12}$ •2Br 混合囊泡, 直到脂双层被  $C_{12}$ -8- $C_{12}$ •2Br 所饱和. 在饱和点 B 处卵磷脂- $C_{12}$ -8- $C_{12}$ •2Br 混合胶团开始形成, 继续增加  $C_{12}$ -8- $C_{12}$ •2Br 的量, 则达到阶段 II, 这时被  $C_{12}$ -8- $C_{12}$ •2Br 饱和的囊泡和卵磷脂- $C_{12}$ -8- $C_{12}$ •2Br 混合胶团共存; 而阶段 III 则不再有囊泡存在. 其特征是卵磷脂- $C_{12}$ -8- $C_{12}$ •2Br 混合胶团与自由的非缔合的  $C_{12}$ -8- $C_{12}$ •2Br 分子达成平衡. 图 2 中 A 点处囊泡开始生长. B 点处囊泡开始溶解, C 点处脂质体完全溶解. 而卵磷脂-DTAB 体系浊度随 DTAB 浓度增加缓慢下降[图 1(B)], 未观察到溶解曲线出现峰值, 表明体系没有发生囊泡到胶团的相转变.

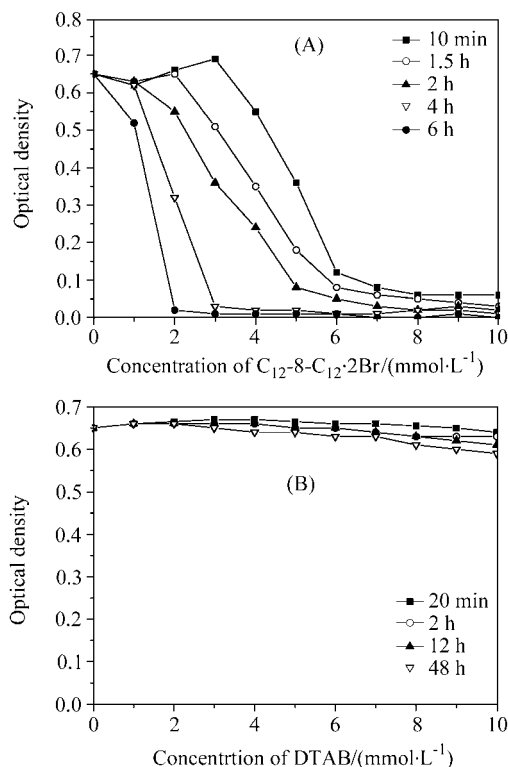


图 1 表面活性剂-脂质体体系随时间变化的溶解曲线

(A)  $C_{12}$ -8- $C_{12}$ •2Br-脂质体体系; (B) DTAB-脂质体体系

Figure 1 Solubilization of 0.5 mmol•L<sup>-1</sup> liposome as a function of  $C_{12}$ -8- $C_{12}$ •2Br (A) and DTAB (B)

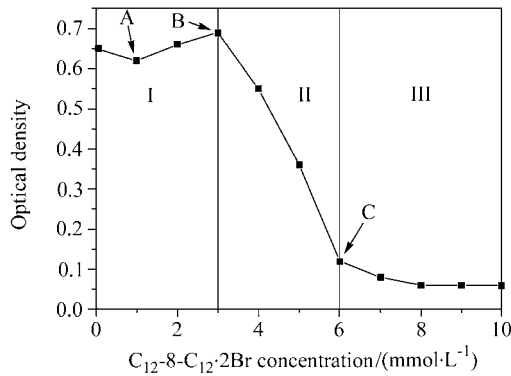


图2 混合 10 min 后,  $C_{12}-8-C_{12}\cdot 2Br$ -脂质体体系的溶解曲线  
 Figure 2 Solubilization of  $0.5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  liposome as a function of the  $C_{12}-8-C_{12}\cdot 2Br$  solution after interaction for 10 min

## 2.2 电动性质的研究

表 1 体现了  $C_{12}-8-C_{12}\cdot 2Br$ -脂质体体系与“三阶段”相对应的三种状态: 囊泡(表中的大粒子), 囊泡与胶团, 胶团(表中的小粒子). 随着  $C_{12}-8-C_{12}\cdot 2Br$  的不断加入, 小粒子越来越多, 大粒子越来越少. 而 DTAB-脂质体体系则始终保持囊泡形态, 未有胶团形成. 这与溶解曲线 [图 1(B)] 的结果是一致的.

$\zeta$  电势能有效反映表面活性剂对脂质体表面电荷的修饰程度. 单纯表面活性剂溶液的  $\zeta$  电势(图 3)在其 cmc 处最大, 浓度小于 cmc 几乎测不出  $\zeta$  电势的变化, 浓度

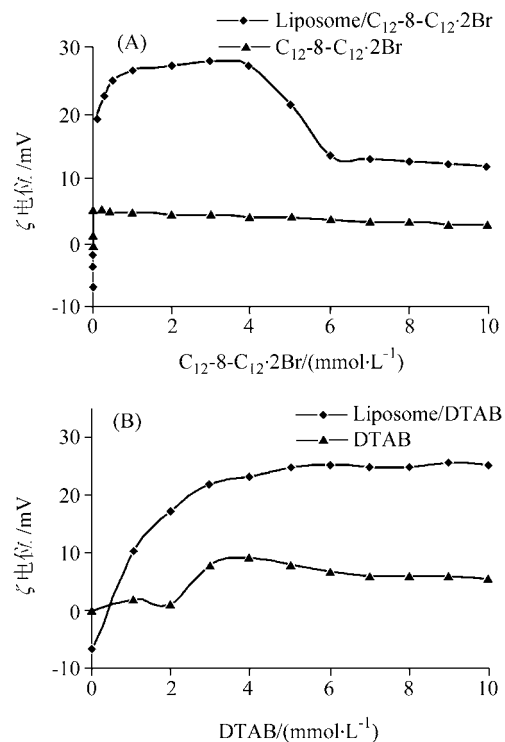


图3 表面活性剂、表面活性剂-脂质体体系随表面活性剂浓度变化的  $\zeta$  电势值

(A)  $C_{12}-8-C_{12}\cdot 2Br$  系列; (B) DTAB 系列

Figure 3 Variation of Zeta potentials of  $C_{12}-8-C_{12}\cdot 2Br$  solutions and liposome/ $C_{12}-8-C_{12}\cdot 2Br$  systems (A), and DTAB solutions and liposome/DTAB systems (B)

表 1 脂质体和脂质体-表面活性剂的平均流体动力学直径

Table 1 Mean hydrodynamic diameter of liposome and liposome/surfactant systems at different surfactant concentration<sup>a</sup>

Surfactant Concentration/ ( $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ )	Liposome/ $C_{12}-8-C_{12}\cdot 2Br$			Liposome/DTAB <sup>b</sup>	
	First peak/nm	Second peak/nm	State	Single peak/nm	State
0		256	Vesicles	256	Vesicles
0.05		258	Mixed vesicles		
0.3		259			
0.5		260			
1		262			
2	4.0(9%)	264	Mixed vesicles + mixed micelles	258	
3	4.2(15%)	266		254	
4	4.2(22%)	266		253	
5	4.3(41%)	266		252	
6	3.9			251	Mixed vesicles
7	3.9			250	
8	3.9		Mainly mixed micelles	252	
9	3.9			254	
10	3.8			254	

<sup>a</sup> Value points out the average of 4 times measurements. In all the cases, the liposome concentration remained constant ( $0.5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ). <sup>b</sup> DLS measurement of each system was performed after 24 h, except that the DTAB/liposome system was performed after 48 h.

表 2 最大  $\zeta$  电势值及其对应的表面活性剂浓度  
Table 2  $\zeta_{\max}$  and corresponding concentration of surfactants

	Surfactant		Liposome/surfactant	
	C <sub>12</sub> -8-C <sub>12</sub> •2Br	DTAB	Lipo-C <sub>12</sub> -8-C <sub>12</sub> •2Br	Lipo-DTAB
$\zeta_{\max}/\text{mV}$	6.0	9.2	28.2	No reached
Concentration/(mmol•L <sup>-1</sup> )	0.02	4	3	No reached

超过 cmc,  $\zeta$  电势略有减小. 略带负电的卵磷脂囊泡( $\zeta$  电势值约为  $-7 \text{ mV}$ ) 结合表面活性剂作用后, 表面为正电荷所替代, 是阳离子表面活性剂在脂质体上特征吸附的结果<sup>[13]</sup>.

C<sub>12</sub>-8-C<sub>12</sub>•2Br-脂质体体系以  $3 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ,  $6 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  为分界点划分出与图 1 相对应的“三阶段” [图 3(A)]:  $3 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  饱和和吸附点处, 电势值最大,  $6 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  后  $\zeta$  电势降低到一恒定值, 囊泡完全溶解. 而 DTAB-脂质体体系  $\zeta$  电势随 DTAB 浓度的增大持续上升, 在实验浓度范围内未有转折点出现[图 3(B)].  $\zeta$  电势的结果表明表面活性剂分子进入脂双层将相应地提高囊泡的表面电势, 且  $\zeta$  电势最大值与使双层饱和和所需的有效表面活性剂浓度是相关联的<sup>[14]</sup> (表 2). 可见, 要使 DTAB 在脂质体上达到饱和和吸附, 其浓度应大于  $10 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ .

### 2.3 连接基影响

对卵磷脂囊泡 C<sub>12</sub>-8-C<sub>12</sub>•2Br 表现迅速、强烈的破坏作用, 源于联接基的存在使其头基体积较大, 进而影响其在脂质体中的吸附行为. 定义亲水头基总体积  $V_{\text{head}}$  为用来构成亲水层的离子头基和被水润湿的那些亚甲基的总体积, 可得 C<sub>12</sub>-8-C<sub>12</sub>•2Br 的  $V_{\text{head}}$  约为 DTAB 的 3 倍<sup>[15]</sup> (表 3).

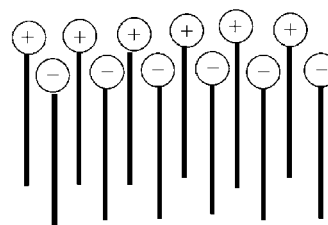
表 3 C<sub>12</sub>-8-C<sub>12</sub>•2Br 和 DTAB 的  $V_{\text{head}}$  理论计算值

Table 3  $V_{\text{head}}$  of C<sub>12</sub>-8-C<sub>12</sub>•2Br and DTAB

	DTAB	C <sub>12</sub> -8-C <sub>12</sub> •2Br
$V_{\text{head}}/\text{nm}^3$	0.168	0.476

极性物质总是将头基固定在囊泡的极性基或离子型基团层中, 它们的非极性的碳氢基则存在于囊泡的碳氢微区中<sup>[16]</sup>. 由于  $V_{\text{head}}$  大, 当单位体积内 C<sub>12</sub>-8-C<sub>12</sub>•2Br 分子增多时, 空间效应使得 C<sub>12</sub>-8-C<sub>12</sub>•2Br 的极性基与卵磷脂的较大极性基不易处于同一平面内, 而采取“错位”排列方式<sup>[17]</sup> (如右图所示), 使得囊泡的最外层为同电性极性基所覆盖, 囊泡之间产生一定的静电斥力; 且同电性极性基处于同一平面内, 相距很近, 也将产生一定的静电斥力. 因此造成能量的不稳定, 囊泡结构瓦解(表 1). 同时, 这种排列方式使囊泡表面为 C<sub>12</sub>-8-C<sub>12</sub>•2Br 正电性头基所覆盖, 因此  $\zeta$  电势迅速上升[图 3(A)]. DTAB

的  $V_{\text{head}}$  则小得多, 其极性基与卵磷脂头基处于同一平面, 这降低了囊泡表面的负电性, 因此随 DTAB 浓度的增加,  $\zeta$  电势上升速度较 C<sub>12</sub>-8-C<sub>12</sub>•2Br-脂质体体系慢(图 3). 72 h 未见 DTAB-囊泡形态显著变化. DTAB 分子有可能“钻穿”到囊泡内部, 采取头基与脂双层的极性内表面结合的方式, 而不破坏双层结构.



囊泡到胶团的转变过程存在着许多中间形态<sup>[18]</sup>, 如蠕虫, 条状等球形囊泡的变形体, 亦或囊泡间相互交织成链珠状, 网状等. DTAB-脂质体体系溶解曲线(图 1), 动态光散射的粒径变化趋势(表 1)均表明该体系仍处于过程的某一中间态, 具体形态需要电镜进一步证实.

二聚体表面活性剂通过连接基团将两个表面活性剂“单体”在离子头基处以化学键形式连接在一起<sup>[19]</sup>, 其在改变膜结构方面表现出特殊的性质. 实验中 C<sub>12</sub>-8-C<sub>12</sub>•2Br 比 DTAB 更易使脂双层溶解, 少量的双子表面活性剂就能改变脂质体表面荷电性质. 因此, 可通过控制季铵盐二聚表面活性剂中连接基的长度, 来调节脂质体的药物释放速度.

### References

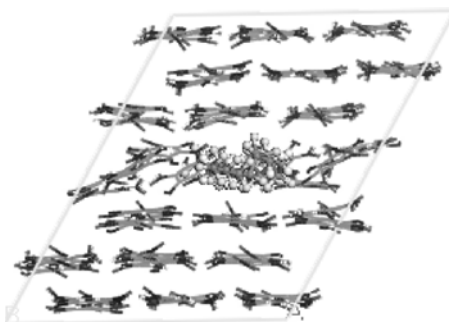
- Fendler, J. H. *Membrane Mimetic Chemistry*, Science Press, Beijing, 1991, pp. 310~313 (in Chinese). (芬德勒 J. H., 膜模拟化学, 科学出版社, 北京, 1991, pp. 310~313.)
- Yu, W.-L.; Zhao, G.-X. *Chemistry* 1996, (6), 21 (in Chinese). (于网林, 赵国玺, 化学通报, 1996, (6), 21.)
- Hou, G.-R.; Zeng, K.; Zhou, Z.-G.; Li, G.-F. *J. First Mil. Med. Univ.* 2003, 23(3), 216 (in Chinese). (后桂荣, 曾抗, 周再高, 李国锋, 第一军医大学学报, 2003, 23(3), 216.)
- de la Maza, A.; Parra, J. L. *Langmuir* 1995, 11, 2435.

- 5 de la Maza, A.; Parra, J. L. *Langmuir* **1996**, *12*, 3393.
- 6 Edwards, K.; Almgren, M. *Langmuir* **1992**, *8*, 824.
- 7 Paternostre, M. T.; Roux, M.; Rigaud, J. L. *Biochemistry* **1988**, *27*, 2668.
- 8 Edwards, K.; Gustafsson, J.; Almgren, M.; Karlsson, G. *J. Colloid Interface Sci.* **1993**, *161*, 299.
- 9 Xu, X.-M.; Lin, Y.-S.; Wu, Z.-F.; Han, G.-B. *Chem. J. Chin. Univ.* **2004**, *25*(7), 1334 (in Chinese).  
(徐晓明, 林永生, 吴章锋, 韩国彬, 高等学校化学学报, **2004**, *25*(7), 1334.)
- 10 Kremer, J. M. H.; Esker, M. W. J. V. D.; Pathmamanoharan, C.; Wiersema, P. H. *Biochemistry* **1977**, *16*, 3932.
- 11 Deo, N.; Somasundaran, P. *Langmuir* **2003**, *19*, 7271.
- 12 Edwards, K.; Almgren, M. *J. Colloid Interface Sci.* **1991**, *147*, 1.
- 13 Chen, Z.-Q.; Wang, G.-X.; Xu, G.-Y. *Colloid and Interface Chemistry*, Higher Education Press, Beijing, **2001**, p. 161 (in Chinese).  
(陈宗淇, 王光信, 徐桂英, 胶体与界面化学, 高等教育出版社, 北京, **2001**, p. 161.)
- 14 Cocera, M.; Lopez, O.; de la Maza, A.; Parra, J. L.; Estelrich, J. *Langmuir* **1999**, *15*, 2230.
- 15 Zhao, J.-X. *China Surfactant Detergent & Cosmetics* **2002**, *32*(3), 39 (in Chinese).  
(赵剑曦, 日用化学工业, **2002**, *32*(3), 39.)
- 16 Zhao, G.-X.; Zhu, B.-Y. *Principles of Surfactant Action*, China Light Industry Press, Beijing, **2003**, p. 612 (in Chinese).  
(赵国玺, 朱 瑶, 表面活性剂作用原理, 中国轻工业出版社, 北京, **2003**, p. 612.)
- 17 Xiao, J.-X.; Zhao, G.-X. *Chemical Research and Application* **2001**, *13*(5), 502 (in Chinese).  
(肖进新, 赵国玺, 化学研究与应用, **2001**, *13*(5), 502.)
- 18 Johnsson, M.; Edwards, K. *Langmuir* **2000**, *16*, 8632.
- 19 Zhu, Y.-P.; Zhao, J.-X.; You, Y. *Acta Chim. Sinica* **2002**, *60*(6), 1001 (in Chinese).  
(朱永平, 赵剑曦, 游毅, 化学学报, **2002**, *60*(6), 1001.)

(A0407144 CHENG, B.; DONG, H. Z.)

Theoretical Study on Binding Energies and Mechanical Properties of TATB-based PBX

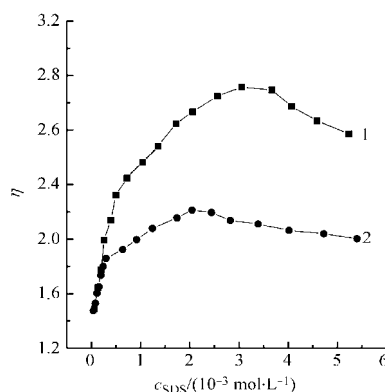
XIAO, Ji-Jun; GU, Cheng-Gang; FANG, Guo-Yong; ZHU, Wei; XIAO, He-Ming\*  
*Acta Chimica Sinica* **2005**, 63(6), 439



Molecular dynamics (MD) simulation has been used to calculate mechanical properties for TATB (1,3,5-triamino-2,4,6-trinitrobenzene) and a series of PBX (polymer bonded explosive). Elastic properties of TATB can be greatly improved by adding a little amount of polymer.

Interaction between the *L*-Aspartic Acid and SDS Micelle System

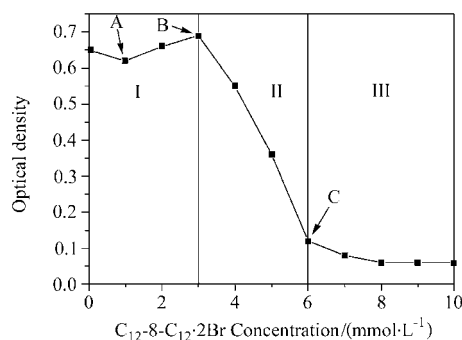
GUO, Rong\*; SHU, Ying; LIU, Tian-Qing  
*Acta Chimica Sinica* **2005**, 63(6), 445



SDS can catalyze the electrochemical oxidation of *L*-aspartic acid (*L*-ASP). The catalytic efficiency is increased sharply with the increase of SDS concentration when the concentration of SDS is smaller than the critical admicelle concentration (smc) and increased slowly with SDS when SDS concentration is between smc and the critical micelle concentration (cmc). When SDS concentration is larger than cmc, the catalytic efficiency is decreased. The addition of *n*-C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>OH can adjust the catalytic efficiency.

Investigation on the Interaction between Quaternary Ammonium Surfactants and Lecithin Vesicles

ZHANG, Chun-Yan; XU, Xiao-Ming; WU, Zhang-Feng; HAN, Guo-Bin\*  
*Acta Chimica Sinica* **2005**, 63(6), 450

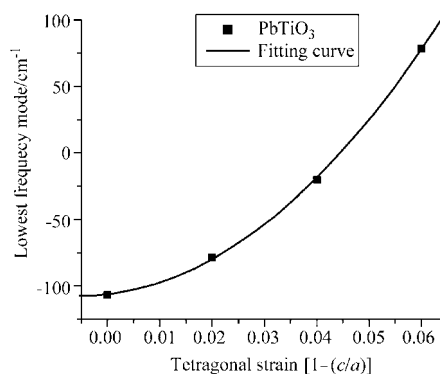


(A) onset of vesicle growth, (B) onset of lipid solubilization, (C) complete lipid solubilization

The interaction of C<sub>12</sub>-8-C<sub>12</sub>·2Br molecules with liposomes can be described by a simple three-stage model. In stage I, mixed lecithin/C<sub>12</sub>-8-C<sub>12</sub>·2Br vesicles are formed. Increasing the concentration of C<sub>12</sub>-8-C<sub>12</sub>·2Br, C<sub>12</sub>-8-C<sub>12</sub>·2Br-saturated vesicles coexist with lecithin/C<sub>12</sub>-8-C<sub>12</sub>·2Br micelles in stage II. In stage III, no vesicle exist anymore.

A DFT Investigation of Vibrational Nature and Ferroelectric Phase Transition of BaTiO<sub>3</sub> and PbTiO<sub>3</sub>

XIE, Ying; QIANG, Liang-Sheng; ZHONG, Hua; YU, Hai-Tao; FU, Hong-Gang\*  
*Acta Chimica Sinica* **2005**, 63(6), 455



The soft mode frequency increases with the increasing tetragonal strain and turns into a stable mode at about 0.045. Owing to its large tetragonal strain (6%), the tetragonal phase of PbTiO<sub>3</sub> is very stable.