

Molecular Crystals and Liquid Crystals Science and Technology. Section A. Molecular Crystals and Liquid Crystals

Publication details, including instructions for authors and subscription information:

<http://www.tandfonline.com/loi/gmcl19>

Étude Structurale par Microspectrométries Raman et Infrarouge de Figures Myéliniques Formées à Partir des Systèmes Acide 2-g Octadécénoïque/Solution D'Hydrazine 5M et Cholesterol Monohydraté/Solution Saturée d'Oléate de Sodium

A. Gruger^a & C. Vogel-weill^a

^a Laboratoire de Spectrochimie Infrarouge et Raman, CNRS, 2 rue Henri Dunant, 94320, Thiais, France

Version of record first published: 04 Oct 2006.

To cite this article: A. Gruger & C. Vogel-weill (1994): Étude Structurale par Microspectrométries Raman et Infrarouge de Figures Myéliniques Formées à Partir des Systèmes Acide 2-g Octadécénoïque/Solution D'Hydrazine 5M et Cholesterol Monohydraté/Solution Saturée d'Oléate de Sodium, Molecular Crystals and Liquid Crystals Science and Technology. Section A. Molecular Crystals and Liquid Crystals, 238:1, 227-239

To link to this article: <http://dx.doi.org/10.1080/10587259408046930>

PLEASE SCROLL DOWN FOR ARTICLE

Full terms and conditions of use: <http://www.tandfonline.com/page/terms-and-conditions>

This article may be used for research, teaching, and private study purposes. Any substantial or systematic reproduction, redistribution, reselling, loan, sub-licensing, systematic supply, or distribution in any form to anyone is expressly forbidden.

The publisher does not give any warranty express or implied or make any representation that the contents will be complete or accurate or up to date. The accuracy of any instructions, formulae, and drug doses should be independently verified with primary sources. The publisher shall not be liable for any loss, actions, claims, proceedings, demand, or costs or damages whatsoever or howsoever caused arising directly or indirectly in connection with or arising out of the use of this material.

Étude Structurale par Microspectrométries Raman et Infrarouge de Figures Myéliniques Formées à Partir des Systèmes Acide 2-g Octadécénoïque/Solution D'Hydrazine 5M et Cholesterol Monohydraté/Solution Saturée d'Oléate de Sodium

A. GRUGER et C. VOGEL-WEILL

Laboratoire de Spectrochimie Infrarouge et Raman, CNRS, 2 rue Henri Dunant, 94320 Thiais, France

(Received January 18, 1993; in final form March 25, 1993)

Myelin forms, i.e. multilayer structures ($L\alpha$) grown in tubular fashion, prepared from pure Z-9 octadecenoic acid and hydrazine 5M aqueous solution (system I) and from solid monohydrated cholesterol and sodium oleate saturated aqueous solution (system II) have been studied by means of Raman and infrared microspectrometry. In both systems, significant spectroscopic evidences show that numerous hydrogen bonds occur in the interfacial zone, which contribute to the stability of the lipidic sheets, i.e. to the decrease of their permeability. In the system I, the structural molecular unit is formed by one oleic acid molecule and one oleate ion linked by acid salt type asymmetric hydrogen bond; in the system II, the hydrogen bonding occurs between the cholesterol 3β -hydroxyl functions and the oleate carboxylate groups. In both systems, the hydrophilic zone is surrounded by a water belt arising from hydration of the amphiphilic molecules polar groups; in addition to these interactions, in the system I water layers, the hydrazinium ions are self-associated into more or less long chains cross-linked by several kinds of $\text{NH} \cdots \text{O}$ bonds with the carboxylic or carboxylate oxygen atoms. As for the lipid bilayers, left-handed structures existence is showed by the ill-defined Raman line observed near 1090 cm^{-1} (no indication of preferred defect localization in the chain) and circa $800\text{--}900 \text{ cm}^{-1}$ (end-chain defects). This random disorder, lower in the system II because of the rigid polycyclic part of the cholesterol molecule, leads to a significant weakening of lateral packing forces, allowing the molecules more room to move. The consequence, i.e. the marked fluidity of the $L\alpha$ structure explains the telescopic growth of the myelin tubes.

Keywords: *myelin forms, Raman and infrared microspectrometry, molecular unit, structure*

INTRODUCTION

Deux modèles de membranes biologiques obtenus à partir de solutions aqueuses de sels d'acide oléique (acide Z-9 octadécénoïque*) sont étudiés par microspec-

*Dans la suite du texte nous nommerons l'acide Z-9 octadécénoïque et son reste hydrocarboné par leurs noms triviaux respectivement acide oléique, groupement oleyle.

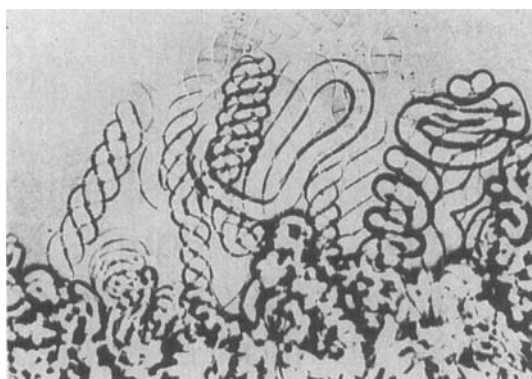


FIGURE 1 Système acide oléique/hydrazine 5M. Formation de tubes myéliniques après cinq minutes de contact ($G \times 100$).

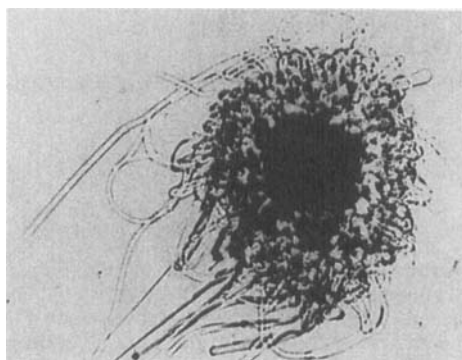


FIGURE 2 Système cholestérol monohydraté/solution saturée d'oléate de sodium après deux minutes de contact ($G \times 100$). La zone noire centrale correspond au cristal de cholestérol non encore myélinisé.

trométries Raman et infrarouge. Les deux modèles sont respectivement formés à partir des mélanges acide oléique/solution aqueuse d'hydrazine 5M (système I) et solution saturée d'oléate de sodium/cristal de cholestérol monohydraté (système II); dans les conditions de l'étude, ils se présentent sous forme de tubes myéliniques (Figures 1 et 2), structure particulière des mésophases lyotropiques lamellaires^{1,2} dans laquelle les couches bimoléculaires (~ 7000) sont enroulées coaxialement, constituant un tube cylindrique non coalescent ($D \sim 30 \mu\text{m}$) observable au microscope (Figure 3). Des microsondes Raman et infrarouge qui ont des faisceaux incidents dont les surfaces peuvent être limitées respectivement à $3 \mu\text{m}^2$ et $100 \mu\text{m}^2$ permettent d'enregistrer sélectivement les spectres de vibration de l'interface et des tubes myéliniques de l'échantillon. L'étude a été entreprise pour déterminer dans le système I la constitution des tubes myéliniques et dans les deux systèmes la nature des forces intermoléculaires qui assurent leur cohésion, en vue de mieux comprendre leur processus de formation.

Le système I s'inscrit dans l'ensemble des structures myéliniques obtenues par

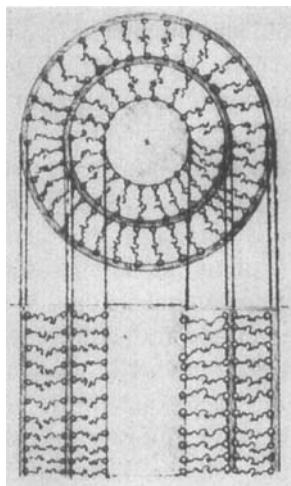


FIGURE 3 Schéma de coupes transversale et longitudinale d'un tube myélinique: couches bimoléculaires de 3,7 nm d'épaisseur séparées par des couches d'eau de 0,3 nm, enroulées suivant un cylindre clos.

action de l'acide oléique sur des bases azotées^{3,4}; dans ces systèmes il a été suggéré, pour des raisons de solubilité, que l'élément de base à partir duquel s'édifient les tubes est un sel acide.¹ Dans le cas du système II, il est connu que le cristal de cholestérol monohydraté, en raison de ses caractéristiques structurales,⁵⁻⁷ passe de l'état solide à un état mésomorphe lorsqu'il est mis en présence de solutions aqueuses de molécules biologiquement actives⁸⁻¹⁰; on a donc cherché plus particulièrement à comprendre l'action du cholestérol dans la formation des tubes: mécanique par son insertion dans les chaînes lipidiques et électrostatique à l'aide de son groupement hydroxyle.

Aucun travail Raman ou infrarouge sur les systèmes I et II et plus généralement sur les structures myéliniques n'a été relevé dans la littérature. Les attributions des modes des chaînes oleyle de la zone hydrophobe des deux systèmes seront facilitées par le travail que nous avons effectué sur l'acide oléique à l'état liquide.¹¹ Pour les attributions des modes propres aux têtes hydrophiles, nous utiliserons des études infrarouge antérieures concernant des sels neutre et acide d'acides organiques¹³⁻¹⁵; parmi ceux-ci notons particulièrement le travail de Novak et coll. relatif à l'oxalate acide d'hydrazinium¹⁵; sera également mis à contribution le travail que nous avons effectué par spectroscopie infrarouge sur l'oléate de sodium dans l'état solide et sur l'oléate acide d'hydrazinium dans l'état gel.¹¹

TECHNIQUE OPERATOIRE—PRESENTATION DES RESULTATS

Les spectres Raman ont été mesurés entre 200 et 4000 cm^{-1} à l'aide d'une microsonde Mole Jobin-Yvon, avec la raie excitatrice d'un laser à Ar^+ à 514,5 nm. La puissance du laser sur l'échantillon est maintenue inférieure à 5 mW afin d'éviter un échauffement qui serait générateur de turbulences. Les fentes du spectromètre sont de 1 mm, ce qui correspond à des résolutions de 7 cm^{-1} vers 500 cm^{-1} , et

de 5 cm^{-1} vers 3000 cm^{-1} . L'objectif du microscope multiplie par 100 le faisceau laser sur une tache de $3\text{ }\mu\text{m}^2$ ($G = 10 \times 100$). L'échantillon est préparé entre deux lamelles de microscope au centre desquelles est déposée une goutte d'acide oléique ou un petit cristal de cholestérol monohydraté; le contact avec les solutions d'hydrazine 5M ou d'oléate de sodium saturée se fait par capillarité dans la microcuve étanche de 0,2 mm d'épaisseur constituée par les deux lamelles. Après quelques minutes nécessaires à la formation des tubes myéliniques, l'échantillon est placé horizontalement sur la platine de la microsonde. Selon ce protocole, les figures myéliniques sont suffisamment stables dans le temps pour que les spectres Raman obtenus soient parfaitement reproductibles.

Les spectres infrarouges ont été obtenus à une température voisine de 310 K entre 1100 et 4000 cm^{-1} avec une microsonde infrarouge Bruker TF.¹² Les échantillons sont préparés sur une lame de fluorure de calcium et laissés une dizaine d'heures à l'atmosphère afin que s'élimine l'excès d'eau; ils se présentent alors à l'oeil nu sous forme de gel dont les différentes régions sont repérées à l'aide d'un microscope à fenêtre en CaF_2 .

Pour le système I, les spectres Raman de l'interface ou couronne anisotrope, des tubes myéliniques rectilignes ou en torsades entre 200 et 1800 cm^{-1} et entre 2700 et 4000 cm^{-1} sont représentés sur la Figure 4; sur cette même figure, entre 3100 et 4000 cm^{-1} a été joint le spectre de la solution d'hydrazine 5M. Sur la Figure 5, se trouve représenté le spectre infrarouge commun de la zone interfaciale et des tubes myéliniques entre 1100 et 3700 cm^{-1} .

Pour le système II, sur la Figure 6 se trouvent les spectres Raman des tubes myéliniques et du cholestérol monohydraté solide entre 200 et 1800 cm^{-1} puis entre 2700 et 4000 cm^{-1} . Ont été joints entre 2700 et 4000 cm^{-1} le spectre de la solution saturée d'oléate de sodium et celui de l'oléate de sodium solide. La Figure 7 correspond aux spectres infrarouge entre 1100 et 2000 cm^{-1} puis entre 2700 et 4000 cm^{-1} des tubes myéliniques.

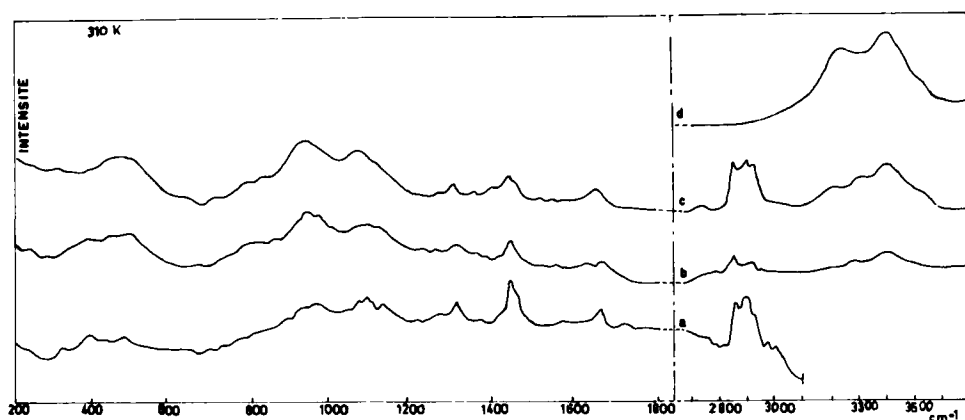


FIGURE 4 Système acide oléique/hydrazine 5M. Spectres Raman. a) Couronne anisotrope; b) tube myélinique rectiligne; c) tube myélinique en torsades; d) hydrazine 5M. Microsonde MOLE Jobin-Yvon; raie 514,5 nm Ar^+ , 4 mW environ sur l'échantillon, fente de 1 mm ($G 10 \times 100$).

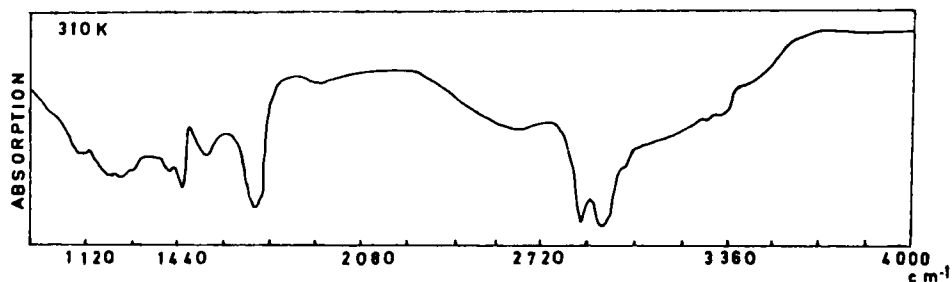


FIGURE 5 Système acide oléique/hydrazine 5M. Spectre infrarouge. Zone radiale et tubes myéliniques après évaporation partielle. Observation au microscope (fenêtre en CaF_2) avec spectromètre infrarouge Bruker TF.¹²

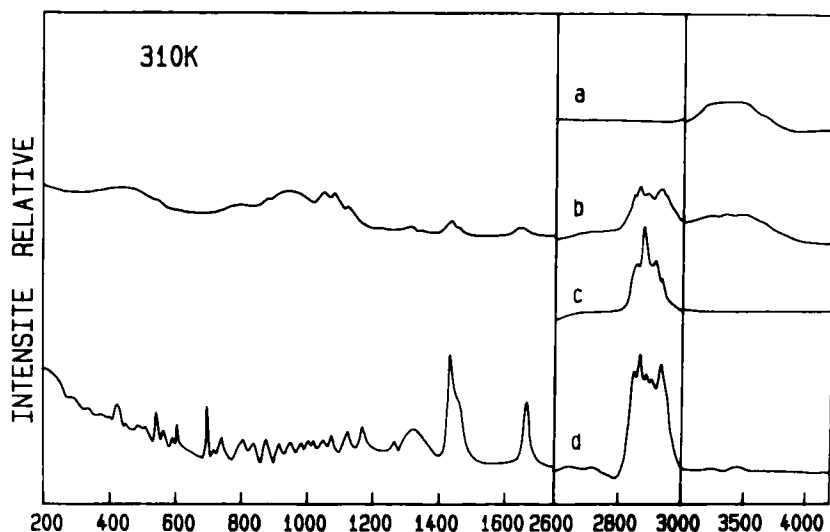


FIGURE 6 Système cholestérol monohydraté/solution saturée d'oléate de sodium. Spectres Raman. a) Cholestérol monohydraté; b) oléate de sodium solide; c) tubes myéliniques ou zone interfaciale; d) solution saturée d'oléate de sodium. Microsonde Jobin-Yvon, raie $514,5 \text{ nm Ar}^+$, 4 mW environ sur l'échantillon, fente de 1 mm ($G = 10 \times 100$).

ATTRIBUTIONS

Seuls les spectres Raman des systèmes étudiés en milieu aqueux peuvent renseigner sur l'état conformationnel des restes lipidiques dans la zone radiale et dans les tubes myéliniques. Les spectres infrarouges obtenus à partir de milieux partiellement déshydratés seront utilisés en association avec les spectres Raman afin d'identifier les espèces constitutives (système I) et afin de déterminer les interactions présentes aux interfaces (systèmes I et II).

Les deux systèmes seront examinés séparément en envisageant successivement les têtes hydrophiles et leurs associations en rapport avec le milieu aqueux puis les parties hydrophobes, à savoir les restes hydrocarbonés oléyle (système I), oléyle

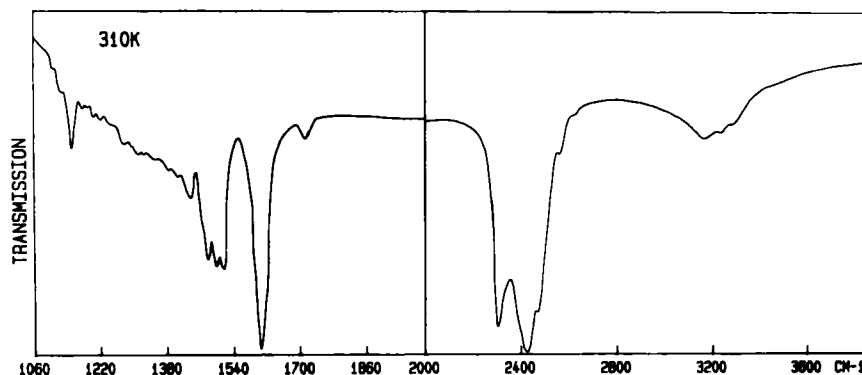


FIGURE 7 Système cholestérol monohydraté/solution saturée d'oléate de sodium. Spectre infrarouge. Tubes myéliniques ou zone interfaciale après évaporation partielle. Observation au microscope (fenêtre en CaF_2) avec spectromètre infrarouge Bruker TF.¹²

et cholestéryle (système II). Dans le Tableau I, ont été rassemblées les attributions proposées pour le système I.

Système I

1. Têtes hydrophiles. Milieu aqueux. Les spectres Raman et infrarouge des tubes myéliniques et de la couronne radiale (Figures 4 et 5) présentent les raies et absorptions des groupements $(-\text{COOHOOC}-)^-$ et NH_2-NH_3 de l'oléate acide d'hydrazinium.¹¹

a) Groupement $(-\text{COOHOOC}-)^-$. Des attributions (Tableau I), il résulte que la liaison hydrogène entre les groupements carboxylique et carboxylate est dissymétrique; chaque groupement est en effet observé séparément.^{13a,b} La vibration $\nu\text{C}=\text{O}$ du groupement acide, surtout active en infrarouge, se situe à 1710 cm^{-1} , tandis que les modes symétrique et antisymétrique du groupement carboxylate sont observés respectivement à 1408 cm^{-1} et 1540 cm^{-1} (Figures 4 et 5). Les modes δCOO , δCCO , γCCO ne sont pas observés dans les spectres Raman des tubes myéliniques en raison à la fois de leur faible intensité¹¹ et de la largeur des raies de la région $400\text{--}700\text{ cm}^{-1}$ (Figure 4); par contre, dans le spectre Raman de la couronne radiale plus structurée, on note la présence des modes δCOO et δCCO , respectivement à 470 et 684 cm^{-1} (Figure 4). Le mode νOH est attribué au massif infrarouge intense et large situé entre $1200\text{--}1500\text{ cm}^{-1}$ ($\bar{\nu} = 1350\text{ cm}^{-1}$) (Figure 5). Des modes de déformation δOH , γOH , seule la vibration γOH a pu être attribuée: il lui correspond un massif Raman large vers 1100 cm^{-1} où se superposent les modes νCC des chaînes polyméthyléniques (Figure 4).

On note une grande concordance entre les fréquences du groupement $(-\text{COOHOOC}-)^-$ de l'oléate acide d'hydrazinium engagé dans des structures myéliniques et dans l'état gel. Dans ce dernier état, les modes $\nu\text{C}=\text{O}$, $\nu_s\text{COO}^-$, $\nu_a\text{COO}^-$ se situent en effet respectivement à 1680 , 1400 et 1532 cm^{-1} , le mode νOH correspondant à un massif infrarouge large centré vers 1350 cm^{-1} .¹¹ Cette proximité des fréquences incite à penser que dans l'état mésomorphe lyotropique

TABLEAU I

Fréquences et attributions de vibrations propres au système myélinique acide oléique/hydrazine 5M

| Tubes myéliniques | Tubes myéliniques Couronne radiale | Couronne radiale | Attributions |
|----------------------|---|---------------------|---|
| Raman | IR | Raman | |
| | 3424 | 3650ép | ν H ₂ O autoassociée |
| | 3328 | 3416TF | ν H ₂ O autoassociée |
| | 3280 | 3318ép | ν NH ₂ |
| | | | ν NH ₂ |
| | | 3216ép | 2 δ H ₂ O autoassociée |
| | 3158 | | ν NH ₁₁ |
| 3000f | 3000f | 3000f | ν CH olefinique |
| 2950ép | 2950ép | 2950ép | ν CH ₃ |
| | 2924TF | | ν CH ₂ (π) |
| 2880F | | 2880F | ν CH ₂ (o) |
| | 2870ép | | ν CH ₃ |
| | 2855F | | ν CH ₂ (π) |
| 2845m | | 2845m | ν CH ₂ (o) |
| | 2710tf | | ν NH ₁ |
| | 2648tf | | ν C=O |
| | 1710F | | ν C=C |
| 1660F | | 1660F | ν COO ⁻ |
| 1560tf | 1540m | 1554tf | δ CH ₃ |
| 1454ép | 1462m | 1454ép | δ CH ₂ , δ CH ₃ |
| 1436F | 1440ép | 1436F | ν COO ⁻ |
| 1412tf | 1408f | 1410ép | δ CH ₃ |
| 1380tf | 1370f | 1368ép | ω CH ₂ |
| 1352tf | 1350tf | | tCH ₂ (π) |
| 1304m | | 1304m | ω CH ₂ , δ CH olefinique |
| 1256tf | 1246ttf | 1266tf | ω CH ₂ |
| 1206tf | 1204ttf | 1212tf | tCH ₂ (o) |
| | 1182ttf | | ν CC (o) |
| 1121ép | | 1124ép | ν CC "gauche" |
| | 1114tf | | ν CC (π) |
| 1074m | 1094ttf | 1084m | ν CC |
| | 1060ép | 1066ép | γ NH ₁₁ |
| | | 1020ttf | |
| 968ép | | 960ép | |

 ν OH
 $\sim 1300\text{cm}^{-1}$

TABLEAU I (continued)

| | | | |
|-------|-------|------------------------|----------------|
| 932F | 924F | γ CH olefinique | |
| 914ép | | | |
| 888tf | 888tf | $r//CH_3$ | |
| 850tf | | rCH_2 | |
| 790tf | 796tf | rCH_2 | |
| | 768tf | rCH_2 | |
| 730tf | | | torsion H_2O |
| | 720tf | rCH_2 | auto- |
| | 684tf | δCOO | associée |
| 470f | 470f | δCCO | libration |
| 438tf | 424tf | δCCC | H_2O |
| 384tf | 396tf | δCCC | auto- |
| 300tf | 314tf | δCCC | associée |
| 240tf | 240tf | δCCC | |

L'intensité relative suit la fréquence. TF: très fort; F: fort; m: moyen; f: faible; tf: très faible; ép: épaulement. Une accolade groupant plusieurs fréquences indique un massif large à plusieurs sous-maxima.

et l'état gel les groupements $(-COOHOOC-)^-$ de l'oléate acide d'hydrazinium ont à la fois une géométrie et un état électronique peu différents.

b) Groupement $\dot{N}H_3-\dot{N}H_2$. En infrarouge, vers 2700 cm^{-1} et entre 3000 et 3400 cm^{-1} , sont observés deux massifs larges et intenses riches en sous-maxima (Figure 5). En accord avec les attributions proposées par Novak *et coll.*¹⁴ dans l'étude de l'oxalate acide d'hydrazinium dans l'état solide, nous situons dans ces massifs les absorptions des modes d'élongation νNH de l'ion hydrazinium autoassocié $-\dot{N}H_3 \dots \dot{N}H_2-$ (νNH_I à la bande large $2648-2710\text{ cm}^{-1}$) ou lié aux groupements carboxylique ou carboxylate selon $-\dot{N}H_3 \dots O$) (νNH_{II} à 3158 cm^{-1}) ou selon $-\dot{N}H_2 \dots O$ ($\nu_s NH_2$ et $\nu_{as} NH_2$, respectivement à 3280 et 3328 cm^{-1}); l'épaulement faible non encore attribué vers 3424 cm^{-1} correspond au mode $\nu_d H_2O$ de l'eau autoassociée.^{15,16} En Raman (Figure 4), cette vibration $\nu_d H_2O$ devient fortement active tandis qu'apparaissent les deux autres modes caractéristiques de l'eau autoassociée $\nu_s H_2O$ et $2\delta H_2O$, respectivement à 3650 et 3216 cm^{-1} ; reste alors un épaulement moyennement intense vers 3318 cm^{-1} absent des spectres Raman de l'eau et de l'hydrazine 5M que nous faisons correspondre au mode $\nu_d NH_2$ déjà observé en infrarouge (v.s.) de l'ion hydrazinium lié aux groupements carboxylique ou carboxylate.

2. Région hydrophobe. Restes lipidiques. Malgré la présence de massifs larges et souvent intenses attribués aux modes des vibreurs OH et NH (Tableau I), il est possible à partir des spectres Raman (Figure 4) de faire les remarques suivantes.

a) Comme c'est le cas pour des chaînes polyméthyliques désordonnées,¹⁷⁻¹⁹ les progressions des modes méthyléniques ou de squelette ne sont plus observées; seules persistent de ces progressions les vibrations peu sensibles à la longueur des segments tout *s-trans*, fortement actives. Pour les modes méthyléniques, on note

la présence des modes d'élongation symétriques et antisymétriques ν_s et $\nu_{as}\text{CH}_2$ à 2860 et 2920 cm^{-1} , et des modes de déformation "bending" δCH_2 et "twisting" $t(\pi)^\dagger$, respectivement à 1432 et 1294 cm^{-1} ; pour les modes de squelette, seul continue à être observé dans le spectre des tubes myéliniques (Figure 4b) le mode $\nu\text{CC}(\text{o})^\dagger$ à 1060 cm^{-1} , tandis que dans celui de la zone radiale plus structurée (Figure 4a) on note la présence supplémentaire de raies à 1030 et 1130 cm^{-1} correspondant à des modes d'élongation de chaîne C_9 tout *s-trans*.¹¹

b) Des vibrations caractéristiques de chaînes polyméthyléniques désordonnées sont observées.¹⁵⁻²¹ Ainsi, à la raie large vers 1080 cm^{-1} (Figure 4) est attribué un mode d'élongation νCC caractéristique des défauts "gauche" présents non localisés dans les chaînes, tandis qu'à la raie à 720 cm^{-1} (Figure 4a) correspond un mode de déformation méthylénique "rocking" de fragment de chaîne zig-zag comportant au moins trois groupements méthyléniques; enfin, aux sous-maxima faibles relevés dans le massif large vers 960 cm^{-1} (Figure 4), sont associés les modes de déformation r/CH_3 du groupement méthyle terminal, de fréquence variable selon le type d'enchaînement qui lie ce groupement au reste de la chaîne hydrocarbonée.

c) L'absence d'une raie d'intensité notable vers 1460 cm^{-1} , l'aspect de la région 2800–3000 cm^{-1} (I_{2840}/I_{2880} ; I_{2930}/I_{2880}) (Figure 4) rendent compte d'une désorganisation importante des chaînes polyméthyléniques.²²⁻²⁴

Cet ensemble de remarques montre que, dans toutes les zones du système étudié, les chaînes polyméthyléniques qui constituent la partie hydrophobe des bicouches sont dans un état de désordre conformationnel statistique important; toutefois, l'aspect plus structuré du spectre Raman de la zone radiale comparée à celui des tubes dans la région 1000–1150 cm^{-1} , joint à la présence de la raie à 720 cm^{-1} (Figures 4a et b) indique une fusion des chaînes lipidiques moindre dans cette zone que dans celle des figures myéliniques.

Dans l'acide oléique liquide que nous avons étudié précédemment, on relève la persistance d'un ordre conformationnel dans les groupements oléyles¹¹; la forte désorganisation qui apparaît dans ces groupements lorsqu'ils sont engagés dans une structure myélinique rend compte d'un empilement moins compact des chaînes dans l'état mésomorphe que dans l'état liquide, ce qui permet l'apparition dans les zones hydrophobes de la plasticité nécessaire à l'existence de ce type de structure.

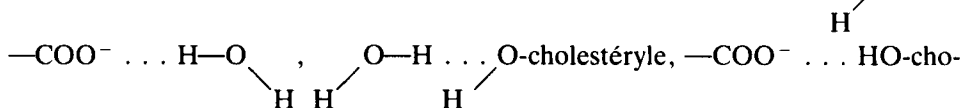
Système II

1. *Têtes hydrophiles. Milieu aqueux.* Les vibrations de valence du groupement carboxylate de l'oléate de Na présent dans le système II sont observées aux fréquences 1424 cm^{-1} (Figure 7) et 1561 cm^{-1} (Figures 6 et 7), identiques à celles relevées dans l'oléate de sodium cristallisé ou en solution.¹¹ Il est très important de noter que ces deux fréquences sont également présentes dans le spectre infrarouge du pourtour du cristal de cholestérol (Figure 7).

Entre 3000 et 4000 cm^{-1} , on observe en Raman et en infrarouge la présence de massifs larges ($\Delta\nu_{1/2} = 300 \text{ cm}^{-1}$) dans lesquels on relève les sous-maxima 3650 cm^{-1} (R), 3440 cm^{-1} (IR), 3420 cm^{-1} (IR, R), 3380 cm^{-1} (IR), 3318 cm^{-1} (R) et 3216 cm^{-1} (R) (Figures 6 et 7). Aux fréquences 3650, 3420 et 3216 cm^{-1} ,

[†]Convention de phase selon Snyder.¹⁷

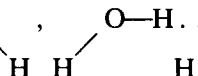
correspondent, comme dans le cas du système I, respectivement les vibrations $\nu_s\text{H}_2\text{O}$, $\nu_a\text{H}_2\text{O}$ et $2\delta\text{H}_2\text{O}$ des molécules d'eau autoassociées.^{15,16} La présence dans l'eau des têtes hydrophiles (ion carboxylate, fonction alcool du cholestérol) et d'ion Na^+ rend possible les interactions du type $\text{Na}^+ \dots \text{O}-\text{H}$,



lestéryle Les interactions cation-eau perturbent peu les fréquences de l'eau tandis que celles de type $\text{O}-\text{H} \dots \text{X}^-$, plus énergétiques, entraînent un déplacement



significatif de la fréquence $\nu_s\text{H}_2\text{O}$, lié à la force acceptrice de X^- .²⁵ En accord avec les travaux antérieurs,^{15,16,25} nous proposons d'attribuer aux fréquences 3380 et 3440 cm^{-1} la vibration $\nu_s\text{H}_2\text{O}$ de molécules d'eau engagées respectivement dans les interactions $\text{COO}^- \dots \text{H}-\text{O}$,



Le sous-maxima relevé à 3318 cm^{-1} (Figure 6) est absent des spectres Raman de l'eau, de la solution aqueuse d'oléate de sodium saturée, du cholestérol monohydraté. Nous proposons de lui faire correspondre la vibration de valence νOH du cholestérol associé au groupement carboxylate. Notons que cette attribution n'est pas incompatible avec les fréquences νOH relevées dans la littérature du cholestérol autoassocié (νOH dimère 3470 cm^{-1} , νOH multimère 3340 cm^{-1}), ou lié à un groupement carbonyle

selon $\begin{array}{c} \diagdown \\ \text{C}=\text{O} \dots \text{H}-\text{O}-\text{cholestéryl} \end{array}$ (νOH 3530 cm^{-1}) ou au groupement SO_3^- de l'AOT (νOH 3417 cm^{-1}).²⁶

2. Région hydrophobe. Restes hydrocarbonés. La nature complexe des restes hydrocarbonés constitués par un mélange de groupements oléyle et cholestéryle rend l'analyse des spectres Raman difficile. Les progressions propres aux modes polyméthyléniques ne sont pas observées; comme dans le système I, on note la présence de raies à 1430, 1300 et 1190 cm^{-1} correspondant aux modes de déformation méthyléniques respectivement δCH_2 , $t(\pi)$, $w(\pi)$ fortement actifs et de fréquences peu sensibles à la conformation des chaînes.¹⁷⁻¹⁹ Entre 1000–1150 cm^{-1} , on note une allure spectrale proche de celle de la région correspondante du système I (Figures 4 et 6); les raies observées dans ce domaine de fréquences seront donc attribuées plutôt aux vibrations d'élongation des restes oléyles désordonnés: la raie large à 1090 cm^{-1} est à relier, comme dans le système I, à un mode d'élongation νCC du reste lipidique affecté de défauts "gauche" non localisés,¹⁸⁻²⁰ tandis que les raies à 1013, 1064 et 1131 cm^{-1} présentes, également dans le spectre Raman de l'oléate de sodium solide,¹¹ sont attribuées à des modes de valence νCC peu perturbés par le désordre de la chaîne oléyle. L'aspect de la région 2800–3000 cm^{-1} (Figure 6) ne correspond pas à celui attendu pour une chaîne polyméthylénique désordonnée²²⁻²⁴ mais, à l'élargissement des raies près, à celui du cholestérol monohydraté cristallisé (Figure 6a). Les bandes et raies présentes ont donc plutôt

été attribuées aux modes de valence des groupements méthylène et méthyle appartenant à la partie tétracyclique rigide du cholestérol peu perturbée lors de la transition mésomorphique qui, de longueur peu différente de la chaîne polyméthylénique en C₉ qui jouxte la fonction carboxylate dans l'oléate de sodium,^{28,29} s'oppose par sa rigidité à l'apparition d'un désordre conformational trop important dans la région hydrophobe proches des têtes hydrophiles.

III. CONCLUSION

Système I

Les couches bimoléculaires, tant dans la zone radiale que dans les tubes myéliniques (Figure 1), sont constituées d'un mélange à part égale d'acide oléique et d'oléate d'hydrazinium. L'unité structurale est formée par association par liaison hydrogène moyennement forte (νOH centrée à 1300 cm^{-1}) des groupements carboxylique et carboxylate d'une molécule d'acide oléique et d'une molécule d'oléate. Dans la partie hydrophobe des bicouches constitutives des tubes myéliniques et de la zone radiale, les chaînes lipidiques sont dans un désordre conformational statistique important, ce désordre étant cependant moindre dans la zone radiale moins hydratée. Dans les tubes myéliniques, le pont hydrogène présent dans l'unité structurale explique en partie la cohésion des couches bimoléculaires, tandis que l'état de fluidité de la partie hydrophobe rend compte de leur plasticité et de leur croissance.

Dans les zones aqueuses séparant les bicouches, les cations hydrazinium sont autoassociés en chaînons plus ou moins longs. Ils participent à la cohésion des tubes en s'associant par liaison hydrogène avec les atomes d'oxygène des groupements carboxyliques et carboxylates. Ces interactions, qui s'ajoutent à celles provenant de l'hydratation des têtes hydrophiles, augmentent l'imperméabilité des bicouches mettant en évidence le rôle structurant très particulier joué dans ces formations par le cation hydrazinium.

Système II

L'étude spectroscopique Raman et infrarouge montre la présence, dans la région interfaciale du cristal de cholestérol monohydraté, d'ions oléate unis aux molécules de stérol par liaisons hydrogène moyennement fortes. Ces interactions entre les fonctions hydroxyles et les groupements carboxylates supposent la destruction aux franges du cristal des ponts hydrogène moins énergétiques mettant en jeu les molécules de stérol entre elles et avec les molécules d'eau de cristallisation.⁶ La diminution de la compacité du cristal qui en résulte permet le transfert des chaînes paraffiniques d'oléate qui, en raison de leur configuration, s'accrochent à la face β du cholestérol.⁵ On assiste à un affaissement des franges du cristal et à l'apparition d'une zone anisotrope d'où naissent les tubes myéliniques (Figure 2). Notons que ce processus, qui aboutit dans le temps à la disparition totale du cristal de cholestérol monohydraté, n'est pas observé lorsque le cholestérol est anhydre, donc de compacité cristalline plus importante.³⁰

Les tubes myéliniques sont donc formés par des molécules de cholestérol et des molécules d'oléate associées. Les parties lipidiques proches des têtes hydrophiles sont relativement rigides: l'étude spectroscopique montre en effet que la partie tétracyclique du stérol est peu perturbée lors de la transition mesomorphique tandis que le coeur des bicouches constitué par les restes aliphatiques du stérol et de l'oléate (chaîne en C_9) est dans un désordre conformationnel important. De plus, la mise en évidence par spectroscopie d'interactions entre les têtes hydrophiles et les molécules d'eau rend compte d'une concentration locale en eau importante au niveau des groupements hydroxyles et carboxylates protégeant l'association stérol-oléate des ions Na^+ .³¹ En résumé, l'étude du système II permet de montrer par le moyen conjugué des microspectrométries Raman et infrarouge le rôle du cholestérol dans les couches bimoléculaires des tubes myéliniques; rappelons, en effet, qu'il n'est pas possible d'obtenir des formes myéliniques à partir d'oléate de sodium seul. Le cholestérol a un effet de condensation par l'intermédiaire de sa partie polycyclique rigide et diminue la perméabilité de la bicouche par formation d'un pont hydrogène entre sa fonction hydroxyle et les têtes carboxylates. Notons que ces deux effets conjugués sont nécessaires à la formation de tubes myéliniques: ni l'epicholestérol (epicholesterol (cholest-5-en-3 α -ol) ni le coprostanol (coprostanol (5 β -cholestran-3 β -ol) ne donnent de formes myéliniques en présence d'oléate de Na ^{32,33}; dans le premier composé, la configuration de la fonction hydroxyle (3 α -OH) empêche qu'il y ait à la fois condensation et pont hydrogène tandis que, dans le second composé, c'est la planéité de la partie tétracyclique qui s'oppose à l'effet de condensation.³⁴ Notons également que le pont hydrogène n'intervient que par sa participation à la diminution de la perméabilité de la bicouche et non par ses propriétés intrinsèques; ainsi, l'oléate de cholesteryle, molécule proches de l'unité structurale du système II, mis en présence d'eau donne naissance à des formes myéliniques.³³

References

1. J. Nageotte, *Morphologie des gels liquides*, Hermann Ed. (Paris, 1936), Actual. Scient. et Indus., pp. 431-434, 1-25.
2. N. Luzzati, H. Mustacchi et A. Skoulios, *Disc. Far. Soc.*, **25**, 43 (1958).
3. D. Dervichian et C. Magnant, *C. R. Soc. Biol.*, **140**, 94 (1946).
4. E. Neuzil, J. Fourche et H. Jensen, *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, **120**, 131 (1981).
5. Ching-Hsien Huang, *Lipids*, **12**, 348 (1976).
6. B. M. Craven, *Nature*, **260**, 727 (1976).
7. C. R. Loomis, G. G. Shipley et D. M. Small, *J. Lipid Res.*, **20**, 525 (1979).
8. A. Steiger, *Microcosmos*, **35**, 54 (1941).
9. D. Dervichian, *Bull. Soc. Chim. Biol.*, **28**, 419 (1946).
10. P. Ekwall, H. Baltscheffsky et L. Mandell, *Acta Chem. Scand.*, **15**(5), 1195 (1961); *Acta Chem. Scand.*, **15**(5), 1198 (1961).
11. A. Gruger et C. Vogel-Weill (à paraître).
12. J. P. Forgerit, *Micromorphologie des sols*, Association Française pour l'Etude du Sol (1987).
13. a) J. Clare-Speakman, *Structure and Bonding*, **12**, 141, Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York, 1974; b) A. Novak, *Structure and Bonding*, **18**, 177 (1974).
14. J. Lindgren, J. de Villepin et A. Novak, *Chem. Phys. Letters*, **4**, 84 (1969).
15. G. E. Walrafen, *Water, a comprehension treatise*, F. Franks (Editor) (Plenum Press, New York, 1972) p. 151.

16. N. J. Horwung, R. Choppin et G. Renovitch, *Appl. Spectrosc. Rev.*, **8**, 149 (1974).
17. R. G. Snyder et J. H. Schachtschneider, *Spectrochim. Acta*, **19**, 85 (1963).
18. R. J. Snyder, *J. Chem. Phys.*, **47**, 1316 (1967).
19. G. Zerbi, R. Magni, M. Guisconi, K. H. Moritz, A. Bigotto et S. Dirlikov, *J. Chem. Phys.*, **75**, 3175 (1985).
20. D. A. Pink, T. J. Green et D. Chapman, *Biochemistry*, **19**, 349 (1980).
21. M. Maissara, Thèse d'Etat, Bordeaux (1984).
22. R. G. Snyder, S. L. Hsu et S. Krimm, *Spectrochim. Acta*, **34A**, 395 (1978).
23. S. Abbate, G. Zerbi et S. L. Wunder, *J. Phys. Chem.*, **86**, 3140 (1982).
24. A. Bertoluzza, S. Bonora, G. Fini, M. A. Morelli et R. Simoni, *J. Raman Spectrosc.*, **14**(6), 395 (1983).
25. K. A. Hartman Jr., *J. Phys. Chem.*, **70**, 270 (1966).
26. P. Menassa et C. Sandorfy, *Can. J. Chem.*, **63**, 3367 (1985).
27. P. Mercier, C. Sandorfy et D. Vocelle, *J. Phys. Chem.*, **87**, 3670 (1983).
28. B. Abrahamsson et I. Ryderstedt-Nahring-Bauer, *Acta Cryst.*, **15**, 4261 (1962).
29. G. Ourisson, *L'Actualité Chimique*, 25 (1986).
30. Huey-Sheng Shieh, L. G. Hoard et C. E. Wordman, *Acta Cryst.*, **B37**, 1538 (1981).
31. C. Sandorfy, R. Buchet, P. Hobza et P. Ruelle, *J. Mol. Struct.*, **107**, 251 (1984).
32. E. Neuzil, J. Fourche, R. Jensen, H. Jensen et G. Morin, *Biochim. Biophys. Acta*, **641**, 11 (1981).
33. J. Fourche, E. Neuzil et H. Jensen, *Mol. Cryst. Liq. Cryst.* (1988).
34. H. Brockerhoff, *Lipids*, **9**, 645 (1974).