

用小角 X 射线散射法研究 CH_2Cl_2 , CHCl_3 和 CCl_4 对磷脂酰胆碱液晶态结构的 影响机理

孙润广 张 静¹⁾ 王德华 王子浩

陕西师范大学实验中心, 西安, 710062

1991年3月13日收到; 1991年9月17日收到修改稿

本文采用小角 X 射线散射法分别研究 CH_2Cl_2 , CHCl_3 和 CCl_4 对磷脂酰胆碱液晶态结构的影响机理。通过比较得知, CH_2Cl_2 , CHCl_3 和 CCl_4 对磷脂酰胆碱液晶态结构影响的不同之处, 主要是它们空间旋转电子云密度分布不同所致。空间旋转电子云密度分布呈球状或椭球状的物质都有使磷脂酰胆碱液晶形成片层六角形的机理, 呈圆锥状的物质有诱发磷脂酰胆碱液晶形成六角形 H_{II} 相的机理。

PACC: 1289; 6937; 8925

一、引 言

磷脂酰胆碱 (phosphatidylcholine, 缩写 PC) 是动物细胞膜中最广泛存在的一种磷脂, 约占总脂质的一半^[1], 是构成生物膜的重要原材料之一, 对维持生命机体的结构和功能起着非常重要的作用^[2]。在生物膜中, 这些磷脂具有多态性, 即在一定条件下可能从双层相转变成非双层相(如立方相、六角形相等)。弄清这些结构的生理和病理状态, 对研究人类的健康和治疗各种疾病都非常重要。因此人们常借助各种近代测试仪器如电导、电子显微镜、X 射线和中子衍射、核磁共振、红外光谱和激光 Raman 光谱等, 研究它们的结构与功能之间的关系^[3-10]。近年来我们用液晶学的观点, 采用小角 X 射线散射 (SAXS) 法, 在研究化学因素、物理学因素对生物膜液晶态结构的影响机理方面也取得了一些进展^[11-13]。本文就是在前期工作的基础上采用 SAXS 法对 PC 液晶在 CH_2Cl_2 , CHCl_3 和 CCl_4 作用下其液晶态结构变化的机理进行了一些探讨。研究这些磷脂膜的理化性质是弄清它们结构与功能之间关系非常关键的一环。通过这些研究, 可以在分子水平上提供关于脂质体在生物膜液晶态结构和动力学方面的重要资料。

1) 西安化工研究所, 西安, 710002.

二、材料与方 法

1. 试剂与原材料

PC 取自上海试剂厂产品,是生化试剂,呈黄色到棕色半透明的蜡状块。具有吸湿性,在空气中颜色变深。能溶于醇、醚、苯、氯仿和轻石油。不溶于丙酮和水,但能水合而成缓慢水解的胶状液。经 DT-30B 系统热分析仪进行热重分析,测得含水量是 5%。 CH_2Cl_2 , CHCl_3 和 CCl_4 均是分析纯。

2. 方法

1) 样品制备 用分析天平称取 PC 100mg 若干份,按实验要求分别在 100mg 的 PC 中加入一定量的 CH_2Cl_2 , CHCl_3 , CCl_4 , 用浴式超声波发生器振荡 30min, 将其充分混匀后,置于特制样品架上进行透射法 SAXS 测定。

2) 测定 SAXS 图谱 SAXS 图谱是在 D/max-rA 型旋转阳极 X 射线衍射仪的小角散射附件上测得。测试条件: CuK_α 辐射, Ni 滤波片,管压是 40kV, 管流是 80mA, 一级狭缝是 0.08mm, 二级狭缝是 0.06mm, 三级狭缝调至最佳状态,接收狭缝是 0.1mm, 防散射狭缝是 0.25mm, 扫描速度是 $0.2^\circ/\text{min}$, 时间常数是 1s, 样品均在室温进行测定。

3) 观察双折射现象 用 LeizII-Pol-BK 型偏光显微镜分别观察三种液晶体系的双折射现象。

三、实验结果

1. PC 的分子结构和 SAXS 图谱

PC 分子的基本结构如图 1 所示,由离子性头部和疏水尾部组成。离子性头部是电荷基团,有强烈的极性,易溶于水,所以头部是亲水端。尾部由含有 14—20 个 C 原子的两条脂肪酸烃链 R_1 和 R_2 组成。 R_1 一般是饱和烃链, R_2 一般是不饱和烃链。疏水的尾部与水互不相溶,只能飘浮于水中,但可以溶于某些有机溶剂中。

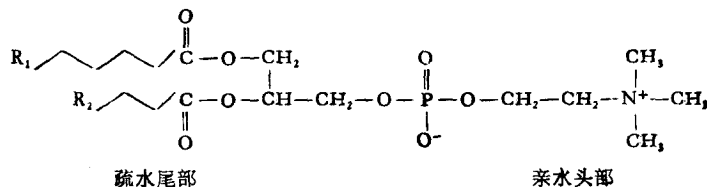


图 1 PC 双尾分子的结构式

含水 5% 的 PC 样品在 SAXS 图谱上有三个强峰,它们的晶面间距分别是

$$d_1 = 135.79 \times 10^{-8} \text{cm}, d_2 = 63.50 \times 10^{-8} \text{cm}, d_3 = 46.95 \times 10^{-8} \text{cm},$$

如图 2 所示。

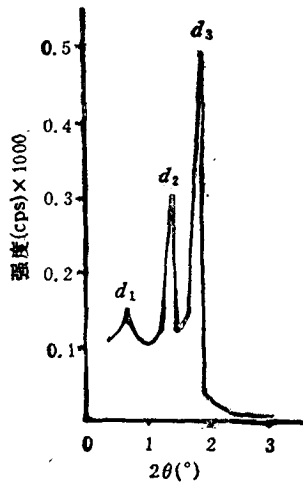


图 2 含水 5% 的 PC 液晶态的 SAXS 图谱

2. PC 液晶态结构与 Bragg 空间关系

对于生物液晶体系, X 射线衍射技术是研究液晶多态性最可靠的方法之一。一般若磷脂分子呈片层状排列, 则在 X 射线衍射图谱中, 一级衍射与高级衍射之间 Bragg 空间关系是 $1:1/2:1/3:1/4$ 。若磷脂分子呈六角形 H_{11} 相排列, 则一级衍射与高级衍射之间的 Bragg 空间关系是 $1:1/\sqrt{3}:1/\sqrt{4}:1/\sqrt{7}$ 。若磷脂分子呈立方结构 C 排列, 则一级衍射与高级衍射之间的 Bragg 空间关系是 $1:\sqrt{3}/4:\sqrt{3}/8:\sqrt{3}/11$ ^[4]。若磷脂分子从片层状 L_{β} 相变成片层状 L_{α} 相时, 重复间距 d 值变小, 这是因为片层状 L_{α} 相中烃键能自由地弯曲, 呈锯齿状。

我们发现, 作为液晶态的生物膜, 基本结构是片层状结构, 但在外界因素的影响下, 除常见的六角形相外还存在一系列更复杂的中间相, 如片层六角形相、立方六角形相等。

片层六角形相又称复相六角形相(用符号 LH 表示), 它的 Bragg 空间比率除具有二维六角形晶格的特征外, 还有片层状晶格的特征, 并且晶

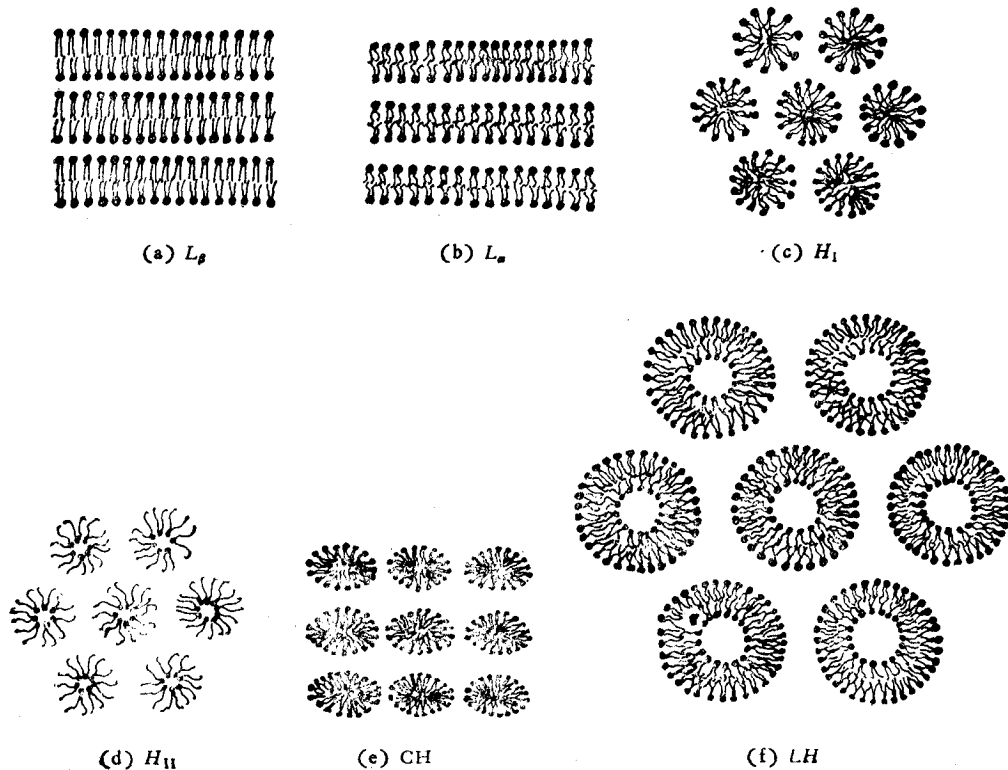


图 3 PC 液晶态结构模型图

格的线度比六角形相大, 反射强度也比六角形相更无规律。反射强度经常随着反射角的增加而减小。由此可见, 结构比较复杂。我们设想它的模型是脂质体形成圆柱筒, 水或其它液体充满圆柱筒的内外两边。如图 3(f) 所示。

立方六角形相也称变形六角形相(用符号 CH 表示), 它的 Bragg 空间比率除具二维六角形晶格的特征外还具有立方晶格的特征。它和六角形相非常类似, 但是晶格是用正方形代替六角形, 圆柱的横截面也可能是椭圆, 如图 3(e) 所示。

3. SAXS 数据及其分析

CH_2Cl_2 , CHCl_3 , CCl_4 对 PC 液晶态 SAXS 峰位的影响如表 1 至表 3 所示。

表 1 CH_2Cl_2 对 PC 液晶态 SAXS 峰位的影响 (单位: $\times 10^{-8}\text{cm}$)

CH_2Cl_2 含量 (ml)	第一峰位 d_1	第二峰位 d_2	第三峰位 d_3	液晶态
0	135.79	63.50	46.95	L_β
0.02	132.79	61.30	44.14	L_α
0.04	132.79	66.87	45.27	L_α
0.06	220.66	80.24	42.03	LH

表 2 CHCl_3 对 PC 液晶态 SAXS 峰位的影响 (单位: $\times 10^{-8}\text{cm}$)

CHCl_3 含量 (ml)	第一峰位 d_1	第二峰位 d_2	第三峰位 d_3	液晶态
0	135.79	63.50	46.95	L_β
0.02	117.69	62.16	45.97	CH
0.04	126.09	63.96	45.97	CH
0.06	113.16	63.50	42.03	H_{II}
0.08	112.59	65.38	42.03	H_{II}
0.10	126.09	73.55	49.03	H_{II}

表 3 CCl_4 对 PC 液晶态 SAXS 峰位的影响 (单位: $\times 10^{-8}\text{cm}$)

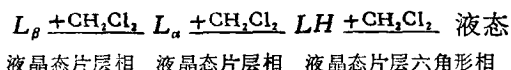
CCl_4 含量 (ml)	第一峰位 d_1	第二峰位 d_2	第三峰位 d_3	液晶态
0	135.79	63.50	46.95	L_β
0.02	126.09	62.16	45.97	LH
0.04	126.09	63.50	46.95	LH
0.06	176.53	60.87	46.46	LH
0.08	147.11	65.87	53.92	LH
0.10	147.11	65.87	53.92	LH

实验发现, PC 分子在液体中的排列方向视溶剂而定。当 PC 含水 5% 时, 对应的 Bragg 空间关系是 $135.79:63.50:46.95 = 1:0.47:0.34 \approx 1:1/2:1/3$, 说明此时 PC 液晶态处于片层状 L_β 相。当在含水 5% 的 PC 中加入 CH_2Cl_2 时, 层间距 d 从 $46.95 \times 10^{-8}\text{cm}$ 减小到 $44.14 \times 10^{-8}\text{cm}$, 对应的 Bragg 空间关系是 $1:0.46:0.33 = 1:1/2:1/3$, 说明 PC 液晶态已从片层状 L_β 相变成片层状 L_α 相。这是因为 CH_2Cl_2 进入 PC 液晶态的片层相之间, 使 PC 的疏水尾部溶于 CH_2Cl_2 中, 烃链柔曲, 导致 d 值减小。当

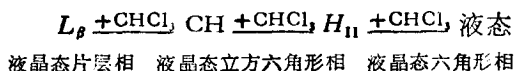
CH_2Cl_2 加到 0.06ml 时,对应的 Bragg 空间关系是

$$220.66:80.24:42.03 = 1:0.36:0.19 = 1:1/\sqrt{7}:1/5,$$

说明 PC 液晶态又从片层状 L_a 相变成 LH 相。随后再继续加入 CH_2Cl_2 , PC 液晶态结构逐渐消失,整个系统变成一种透明的液体。用偏光显微镜观察,双折射现象消失。整个过程可以描述为

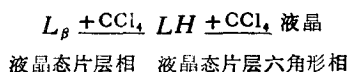


当 PC 液晶中加入 CH_2Cl_2 时,随着 CHCl_3 含量的增加,层间距 d 从 $46.95 \times 10^{-8}\text{cm}$ 逐渐减小到 $43.02 \times 10^{-8}\text{cm}$ 。当 CHCl_3 的含量是 0.02ml 时,对应的 Bragg 空间关系是 $117.69:62.16:45.97 = 1:0.52:0.39 = 1:\sqrt{3/11}:1/\sqrt{7}$,说明 PC 液晶态从片层状 L_β 相变成了立方六角形相 CH 。当 CHCl_3 的含量是 0.06ml 时,对应的 Bragg 空间关系是 $113.16:63.50:42.03 = 1:0.56:0.37 = 1:1/\sqrt{3}:1/\sqrt{7}$, PC 液晶态从 CH 相变成了 H_{11} 相。当 CHCl_3 含量超过 0.10ml 时, PC 液晶态结构逐渐消失。整个系统变成一种透明液体。整个过程可描述为



当 PC 液晶中加入 CCl_4 时,层间距 d 从 $46.95 \times 10^{-8}\text{cm}$ 减小到 $45.97 \times 10^{-8}\text{cm}$,对应的 Bragg 空间关系是 $126.09:62.16:45.97 = 1:0.5:0.37 = 1:\frac{1}{2}:\frac{1}{\sqrt{7}}$,说明 PC 液晶

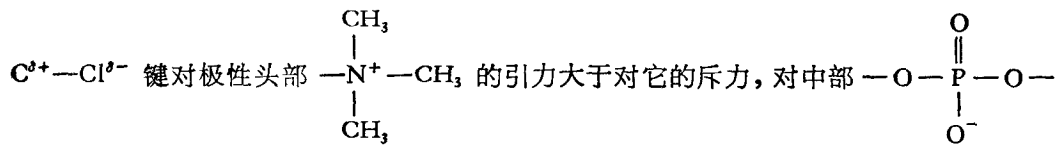
态已从片层状 L_β 相变成片层六角形相 LH 。随后不断加 CCl_4 , 直到达到 0.10ml, PC 液晶态仍处于 LH 相,当 CCl_4 超过 0.10ml 时, PC 液晶态逐渐消失,整个系统变成一种透明的液体,用偏光显微镜观察,双折射现象消失。整个过程可描述为



四、 讨 论

从 PC 结构看,其极性头部和疏水尾部大小基本相同,呈圆柱状,因而在溶剂中趋于形成片层状结构。当改变条件使极性头部变小或在疏水的尾部加入一些锥体状分子,即可形成六角形 H_{11} 相。

从力的角度看,对于 CH_2Cl_2 和 CHCl_3 来说,由于 Cl 原子的电负性大于 C 原子, C—Cl 键上的电子云偏向 Cl 原子一边, C 原子带部分正电荷, Cl 原子上带部分负电荷,致使氯代烃中的 $\text{C}^{\delta+}-\text{Cl}^{\delta-}$ 键具有一定的极性。 CH_2Cl_2 和 CHCl_3 都是亚极性共价化合物,从它们的空间结构来看,都是正四面体结构,不同之处只是 CH_2Cl_2 四面体的四个顶角分别被两个 Cl 原子和两个 H 原子占据,而 CHCl_3 四面体的四个顶角分别被三个 Cl 原子和一个 H 原子占据。当它们进入 PC 液晶片层状时,烷基 H—C 使尾部烃链柔曲。



的斥力大于对它的引力,所以在这种力的作用下,PC 分子旋转形成六角形 H_{II} 相结构。 CHCl_3 与 CH_2Cl_2 相比, CHCl_3 比 CH_2Cl_2 多一个Cl原子,因此它的负电性比 CH_2Cl_2 大。在这种较大的负电力作用下,PC 液晶态不经过 L_a 相就直接变成 CH 相。

对于 CCl_4 来说,它是一个非极性共价化合物。它比 CHCl_3 多一个Cl原子,在四面体中,四个顶角都被Cl原子占据。当它被加入到 PC 液晶中,一方面它能插入 PC 分子之间,有稳定 PC 液晶态片层状的机理;另一方面,在Cl原子电负性的作用下,又有诱发六角形相的机理。

通过比较 CH_2Cl_2 , CHCl_3 , CCl_4 三种物质空间旋转电子云密度的分布,可以看出, CH_2Cl_2 空间旋转的电子云密度分布呈椭球状,电偶极矩 $\mu \approx 0$, CHCl_3 空间旋转的电子云密度分布呈圆锥状,电偶极矩 $\mu \approx 0$, CCl_4 空间旋转的电子云密度分布呈球状,电偶极矩 $\mu = 0$ 。从电子云密度分布和电偶极子的角度看:(1)球状和椭球状都有使 PC 液晶形成片层六角形的机理。(2)圆锥状有诱发 PC 液晶形成六角形 H_{II} 相的机理。

CH_2Cl_2 , CHCl_3 和 CCl_4 虽然属于同系列物质,但由于它们含Cl原子的多少不同,因而它们对 PC 液晶态结构的影响也不同。这是因为Cl原子是典型的非金属原子,它对周围电子有很强的吸引力,在Cl原子这种静电引力的作用下,使液晶态结构发生了明显变化。这使我们联想到生物膜作为生物液晶态,在这些物质作用下,也可能发生类似的变化,显然这种变化也会影响到膜对物质和能量以及信息传递功能的变异。过量的Cl会造成人体中毒,这是否与Cl对生物液晶作用使其结构发生变化造成功能失调有关,还有待于今后进一步探讨。

- [1] 张志鸿、刘文龙编著,膜生物物理学,高等教育出版社,(1987),第29至35页。
- [2] 纪极英编著,生物液晶,科学普及出版社,(1987),第74页。
- [3] H. Ellens, *et al.*, *Biochemistry*, **25**(1986), 5500.
- [4] J. Gallay, *et al.*, *Biochemistry*, **25**(1986), 2650.
- [5] Fen Hwang *et al.*, *Biochem. Biophys. Acta.* **763**(1983), 220.
- [6] 何建平等,生物物理学报, **3**(1987), 292.
- [7] 刘会洲等,北京大学学报(自然科学版), **6**(1986), 9.
- [8] 曾朝阳等,生物物理学报, **3**(1987), 285.
- [9] 鲁崎唔等,科学通报, **33**(1988), 1505.
- [10] 尹长城等,科学通报, **33**(1988), 1022.
- [11] 孙润广等,生物化学与生物物理学报, **22**(1990), 293.
- [12] 孙润广等,生物化学与生物物理进展, **18**(1991), 123.
- [13] 孙润广等,科学通报, **36**(1991), 1382.
- [14] V. Luzzati and F. Husson, *J. Cell. Biol.*, **12**(1962), 207.

**A STUDY FOR THE INFLUENCE OF CH_2Cl_2 , CHCl_3 , CCl_4 ON
THE PHOSPHATIDYLCHOLINE LIQUID-CRYSTAL
STRUCTURE BY MEANS OF THE SMALL-
ANGLE X-RAY SCATTERING**

SUN RUN-GUANG ZHANG JING WANG DE-HUA WANG ZI-HAO

Experimental Centre of Shaanxi Normal University, Xi'an, 710062

(Received 13 March 1991; revised manuscript received 17 September 1991)

ABSTRACT

This article presents the results of the research using the method of SAXS (small angle X-ray scattering) to investigate the influence of CH_2Cl_2 , CHCl_3 and CCl_4 respectively on the liquid-crystal structure of phosphatidylcholine (PC). Experiments show the following phenomena: The structure of the PC liquid-crystal phase is primarily influenced by space-spinning electronic cloud density distribution of CH_2Cl_2 , CHCl_3 and CCl_4 . The compounds that their space-spinning electronic cloud density distribution assume spinning ball or spinning oval ball in shape all give the mechanism that makes the PC liquid-crystal state to form lamellar and hexagonal phase. And the compounds that their space-spinning electronic cloud density distribution assume spinning taper in shape give the mechanism that makes the PC liquid-crystal state to form hexagonal II phase.

PACC: 1289; 6937; 8925