

水、甲醇、乙醇对含水脑磷脂液晶结构影响的 X 射线衍射研究

孙润广 徐逢勋 张 静* 田穗康

(陕西师范大学实验中心, 西安 710062)

提 要

用小角 X 射线散射法 (SAXS) 对含水脑磷脂分别用水、甲醇和乙醇实验所形成的液晶体系结构进行了研究。实验结果证明: 在脑磷脂-水体系中, 随着水含量增加, 脑磷脂和水形成的双分子层液晶体系的层间距变大; 在脑磷脂-甲醇体系中, 随着甲醇含量增加, 它们的层间距变小。在脑磷脂-乙醇体系中, 随着乙醇含量的增加, 它们的层间距先由小到大, 继而又由大变小, 然后液晶相逐渐消失, 最后变成液态。水和甲醇、乙醇相比, 水有使层间距变大的趋势, 醇类有使层间距变小的趋势, 随着醇中碳链的增长, 层间距减小的趋势增大。

关键词 脑磷脂, 液晶相, 小角 X 射线散射

生物膜由蛋白质、磷脂和碳水化合物组成, 磷脂分子不仅作为膜的结构成分, 而且也参与生物膜的功能活动调节过程。脑磷脂是脑等组织中细胞膜的主要成分, 它和膜的功能有十分密切的关系。因此人们常借助各种近代分析测试仪器研究它们的结构与功能的关系。本文就是采用 X 射线衍射法研究脑磷脂在水、甲醇、乙醇的作用下其结构如何发生变化。旨在探讨水及其羟基小分子化合物对双亲性脂类多态性的影响, 为研究化学因素和物理因素对生物膜结构的影响提供启示。

材 料 与 方 法

1. 试剂及原材料 脑磷脂 (cephalin) 是上海试剂厂的生化试剂产品, 为黄棕色无定形固体, 溶于乙醚, 氯仿, 不溶于乙醇和水。经 TB-30 B 系统热分析仪进行热重分析, 测得含水量为 5%。水是二次蒸馏水, 甲醇和乙醇为分析纯。

2. 样品制备 在分析天平上称取脑磷脂 100 mg 若干份, 置于磨口瓶中, 按实验要求分别在 100 mg 的脑磷脂中加入一定量的水, 甲醇或无水乙醇, 将其充分混匀后, 置于透射样品架上进行透射法小角 X 射线散射和广角 X 射线衍射测定。

3. 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: $\text{CuK}\alpha$ 辐射, Ni 滤波, 管压 40 kV, 管流 80 mA, 一级狭缝 0.08 mm, 二级狭缝 0.06 mm, 三级狭缝调至最佳状态, 接收狭缝 0.1 mm, 防散射狭缝 0.25 mm, 扫描速度 $0.2^\circ/\text{min}$, 时间常数 1 s, 样品均在室温进行测定。

4. 观察双折射现象 脑磷脂-水液晶体系, 脑磷脂-甲醇液晶体系和脑磷脂-乙醇液晶体系的双折射现象是 LeizII-Pol-BK 型偏光

* 西安市化工研究所。

显微镜上观察得到。

实验结果

1. 含水 5% 的脑磷脂样品在 SAXS 图谱

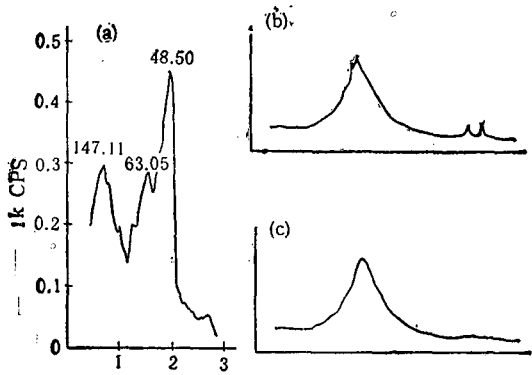


图 1

(a) 含水 5% 的脑磷脂液晶态的小角 X 射线散射图; (b) 含水 5% 的脑磷脂液晶态的广角 X 射线衍射图; (c) 含水 43% 的脑磷脂液晶态的广角 X 射线衍射图

Fig. 1

(a) SAXS spectrum of liquid-crystal of 5% water-containing cephalin; (b) WAXD spectrum of liquid-crystal of 5% water-containing cephalin; (c) WAXD spectrum of liquid-crystal of 43% water-containing cephalin

上有三个强峰。它们的晶面间距分别为 $d_1 = 48.50 \text{ \AA}$, $d_2 = 63.05 \text{ \AA}$, $d_3 = 147.11 \text{ \AA}$, 如图 1 a 所示。在广角衍射谱图上有 4 个强峰, 即 $d_1 = 4.58 \text{ \AA}$, $d_2 = 4.32 \text{ \AA}$, $d_3 = 2.23 \text{ \AA}$, $d_4 = 2.13 \text{ \AA}$, 如图 1 b 所示。

2. 不同含量的水对脑磷脂液晶相分子层间距的影响 随含水量的增加, 脑磷脂的主要

SAXS 峰的峰位变化情况列于表 1。

由表 1 可见, 随含水量的增加, 脑磷脂-水系液晶相的分子层间距增大, 随着含水量增加, 小角散射峰强度明显降低, 当二次蒸馏水加到 0.10 ml 时, 小角散射峰趋于消失。说明体系中被大量水包围着的脑磷脂流动性增加, 趋于无序态。在含水量低时, 根据广角 X 射线衍射数据得到 $d_1:d_3 = 4.58:2.23 \approx 2 a:a$, $d_2:d_4 = 4.32:2.13 \approx 2 b:b$, 符合含水双亲分子体系中矩形相须用两个独立面间距表征, 即 $a:2a:3a$, $b:2 b:3 b$ 的基本规则, 故水与脑磷脂形成一种二维中心矩形结构, 它的结构模型如图 2 a 所示。我们认为 48.50 $\text{\AA}$ 反映了脑磷脂曲链分子的层间距, 63.05 $\text{\AA}$ 反映的是脑磷脂直链分子的层间距, 147.11 $\text{\AA}$ 表示脑磷脂-水系液晶相微区有序畴的大小, 当含水量增加, 游离水增多, 脑磷脂的曲链分子开始伸展, 层间距增大, 第一强峰向第二强峰的位置靠近。当二次蒸馏水加到 0.08 ml 时, 第一强峰与第二强峰重合, 脑磷脂曲链分子和直链分子弯曲的情况基本相同, 形成了六角结构。如图 2 b 所示。在广角衍射谱图上出现顶位为 4.5 $\text{\AA}$ 的一个弥散宽峰, 如图 1 c 所示。当再继续加水时, 小角散射峰完全消失, 用偏光显微镜观察, 发现双折射现象消失, 即脑磷脂的液晶状态变成了液态。

3. 不同含量的甲醇对含水 5% 的脑磷脂液晶相分子层间距的影响 随含甲醇量的增加, 脑磷脂的主要 SAXS 峰的峰位变化情况列

表 1 不同含量的水对脑磷脂液晶相小角 X 射线散射图谱主要峰位的影响

Table 1 The influence of various water containing on the major peak position of SAXS spectrum of liquid-crystal cephalin

含水量 Water containing (ml)	第一强峰峰位 1st peak position			第二强峰峰位 2nd peak position			第三强峰峰位 3rd peak position		
	20	d(A)	cps	20	d(A)	cps	20	d(A)	cps
0.00	1.82	48.50	488	1.40	63.05	291	0.60	147.11	2988
0.02	1.50	58.84	423	1.20	73.55	233	0.60	147.11	273
0.04	1.45	60.87	374	1.12	78.81	127	0.50	176.52	208
0.06	1.40	63.05	325	0.90	98.07	98	0.50	176.52	152
0.08	1.35	65.38	116	—	—	—	0.50	176.52	103
0.10	—	—	—	—	—	—	—	—	—

表 2 甲醇对脑磷脂液晶相小角 X 射线散射图谱主要峰位的影响

Table 2 The influence of methanol on the major peak position of SAXS spectrum of liquid-crystal cephalin

甲醇含量 Methanol containing (ml)	第一强峰峰位 1st peak position			第二强峰峰位 2nd peak position			第三强峰峰位 3rd peak position		
	2θ	d(A)	cps	2θ	d(A)	cps	2θ	d(A)	cps
0.00	1.82	48.50	488	1.40	63.05	291	0.60	147.11	298
0.02	1.92	45.97	443	1.32	66.87	371	0.65	135.79	358
0.04	1.90	46.47	457	1.30	67.90	252	0.55	160.48	321
0.06	2.05	43.06	553	1.31	67.38	142	0.70	126.09	228
0.08	2.05	43.06	630	—	—	—	0.81	108.97	168
0.10	2.05	43.06	530	—	—	—	0.80	110.33	164
0.12	2.05	43.06	332	—	—	—	0.70	126.09	152
0.14	2.08	42.44	250	—	—	—	0.75	117.69	107
0.20	2.08	42.44	131	—	—	—	0.85	103.84	87
0.22	—	—	—	—	—	—	—	—	—

于表 2。从表 2 的数据中可知,当甲醇加入到含水 5% 的脑磷脂体系中(如图 3 所示),脑磷脂-甲醇液晶相分子的层间距随它的含量增加而减小,第二强峰很快消失,第一强峰的强度随着第二强峰强度的消失而增强,当甲醇被加到 0.10 ml 时,第二强峰完全消失,第一强峰的强度达到最大值,随后继续增加甲醇,第一强峰的强度开始降低,当加到 0.12 ml 时降为最大值的一半,加到 0.22 ml 时,则完全消失,此时在偏光显微镜下观察,双折射现象消失,即液晶

态完全变成液态。

4. 不同含量的无水乙醇对含水 5% 的脑磷脂液晶相分子层间距的影响 随含水乙醇量的增加,脑磷脂的主要 SAXS 峰的峰位变化情况列于表 3。从表 3 数据可见,当无水乙醇

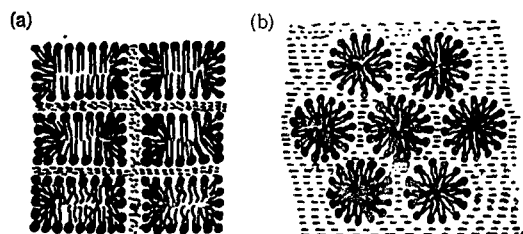


图 2

(a) 脑磷脂与水相互作用形成一种二维矩形结构的模型图;(b) 在大量的水存在的情况下,脑磷脂双尾分子形成六角形 I 结构的模型图

Fig. 2

(a) The model spectrum of a two-dimensional centered rectangular structure formed by the interaction of cephalin and water;(b) The model spectrum of hexagonal I structure formed by peaking of cephalin amphiphilic molecules in the presence of a large amount of water

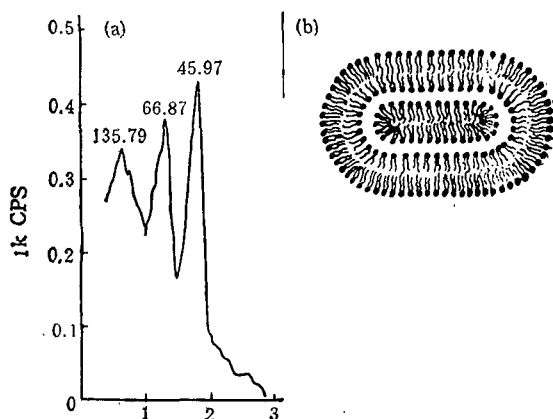


图 3

(a) 含水 5% 的 100 mg 脑磷脂中加入 0.02 ml 甲醇的小角 X 射线散射图谱;(b) 在甲醇中脑磷脂液晶相片层状结构模型图

Fig.3

(a) SAXS spectrum of 100 mg cephalin containing 5% water and mixing with 0.02 ml methanol (b) model spectrum of double layer structure of the amphiphilic molecules of liquid crystalline cephalin in the presence of methanol

加入到含水 5% 的脑磷脂液晶体系中,液晶相曲链分子的层间距先是随无水乙醇含量的增加

表3 乙醇对脑磷脂液晶相小角 X 射线散射图谱主要峰位的影响

Table 3 The influence of ethanol on the major peak position of SAXS spectrum of liquid crystalline cephalin

乙醇含量 Ethanol containing (ml)	第一强峰峰位 1st peak position			第二强峰峰位 2nd peak position			第三强峰峰位 3rd peak position		
	2θ	d(Å)	cps	2θ	d(Å)	cps	2θ	d(Å)	cps
0.00	1.82	48.50	488	1.40	63.05	291	0.60	147.11	298
0.02	2.15	41.06	523	1.35	65.38	278	0.75	117.69	343
0.04	2.16	40.87	571	1.30	67.90	232	0.70	126.09	325
0.06	1.18	74.80	580	1.08	81.73	180	0.70	126.09	317
0.08	2.10	42.03	588	1.99	44.37	153	0.75	117.09	304
0.10	2.10	42.03	349	—	—	—	0.85	103.84	284
0.12	2.10	42.03	225	—	—	—	0.85	103.84	226
0.14	2.05	41.06	104	—	—	—	0.85	103.84	83
0.16	—	—	—	—	—	—	—	—	—

而减小,当达到某一值时层间距又变大。继续增加无水乙醇的含量,曲链分子的层间距又开始减小。对于液晶相直链分子来说,它的层间距先是随无水乙醇含量的增加而增大,当达到某一值时再增加乙醇的含量,层间距却又开始

变小。第二强峰的强度随着乙醇含量的增加很快消失。而第一强峰的强度随着乙醇含量增加先是增强,到一定量时强度开始变小,最后完全消失。在偏光显微镜下观察,双折射现象消失,即液晶态变成了液态。(图4)。

讨 论

我们认为水与醇类对脑磷脂形成液晶相分子层间距的影响有如此明显区别的原因在于它们结构的差异。以甲醇与水为例比较,甲醇可看作水中一个氢被甲基取代后的产物,甲基是一个推电子基团,在它的作用下甲醇中羟基氢对氢的吸电子能力发生改变,使水与甲醇的极性有较大差异。在水-脑磷脂体系中加入甲醇后,水与甲醇彼此能无限相容成均匀相,改变了水与脑磷脂界面的性质,不仅脑磷脂的极性头部与甲醇-水相有相溶性,而且因甲基与脑磷脂烃链尾部的端基的相似结构使它的尾部疏水端也呈现对甲醇-水相有相溶性,这样使脂类烃链折迭交错要比在水中更甚。于是表现在层间距变小,微区有序畴也变小。随着甲醇含量增加,脑磷脂流动性增大,它的极性头部与烃链尾部都有竞相趋于甲醇的趋势,体系层间距变小,有序分子减小,峰的相对强度降低。当脑磷脂浓度低于形成液晶的临界浓度时,由于它的极性头部与烃链尾部都有竞相趋于甲醇的趋势,因

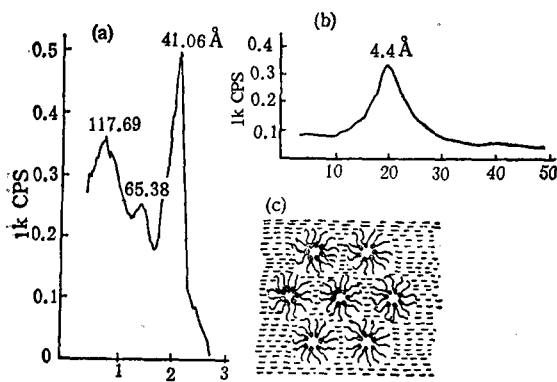


图 4

(a) 在含水 5% 的 100 mg 的脑磷脂中加入 0.02 ml 乙醇的小角 X 射线散射图谱; (b) 在含水 5% 的脑磷脂中加入大量乙醇时的广角 X 射线衍射图谱; (c) 在大量的乙醇存在的情况下,脑磷脂双层分子形成六角 II 结构的模型图

Fig. 4

(a) SAXS spectrum of 100mg cephalin containing 5% water and mixing with 0.02 ml ethanol; (b) WAXD spectrum of 5% water containing cephalin added with a larger amount of ethanol; (c) Model spectrum of hexagonal II structure formed by peaking of cephalin amphiphilic molecules in the presence of a larger amount of ethanol

此,脑磷脂分子被大量的甲醇包围,其分子排列的有序程度不断降低,微区有序畴消失,变成液态。

对于乙醇来说,它与甲醇又有所不同,乙醇中的甲基的推电子作用是通过 α 碳原子而作用羟基上的氧,所以要比甲醇中甲基对羟基的影响弱,根据推电子能力传递减弱原理,它对羟基上的氧的影响要比甲醇小,从整个分子结构考虑,乙醇中乙基与脑磷脂中烃链尾部又有更好的相似性,表现出更强的相亲和力,在这种力的作用下脑磷脂分子的疏水尾朝向圆柱的外表面,极性头指向充满水的圆柱中心,这样,圆柱与乙醇相互作用产生了反转的六角结构,如图4c所示。对应于广角衍射谱图上出现顶位为 $4.4 \text{ \AA}$ 的一个弥散宽峰,如图4b所示。所以在乙醇与脑磷脂组成的体系中,随着乙醇含量的增加,脑磷脂的小角散射峰的层间距出现了一个由小变大而后又由大变小的现象。而且变小的趋势要比甲快,这都是因为脑磷脂的极性头部和疏水尾部皆和醇类有相亲和作用造成。

脑磷脂又叫磷脂酰乙醇胺,属于磷脂类,它是构成生物膜的重要原料之一,对维持生命机体的结构和功能,起着非常重要的作用。

脑磷脂分子的基本结构如图5所示。这个分子由头部和尾部组成。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—18个碳原子的两条脂肪酸链组成,是疏水端,象通常见到的油脂那样,与水互不溶混,只能漂浮于水中。

脑磷脂分子在液体中的排列方向,视溶剂而定。在水中,它们头朝外,尾朝内,有序地排列起来。在无水乙醇溶剂中,它们尾朝外,头朝内地排列起来。在甲醇溶剂中,脑磷脂分子的头部在甲醇-水溶液中相互结合起来,构成了双层分子层,它们尾部的脂肪酸都朝向双层分子层的中线,尾尾相邻,如图3b所示。总之,这时脑磷脂分子在溶液中既排列有序,又能流动,所以处于液晶态。

当大量的脑磷脂分别与水、甲醇或乙醇混合时,要经历一个从混浊到清亮溶液的相转变

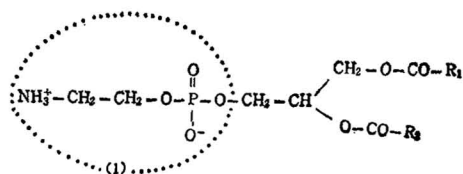


图5 脑磷脂分子的基本结构图

由亲水的头部(1)和疏水的尾部构成, R_1 和 R_2 一般含有14—18个碳原子

Fig.5 This sketch illustrates the general structure for a cephalin amphiphilic molecule and solubility characteristics

The R_1 and R_2 chains generally contain 14 to 18 carbon atoms

过程,并呈现出液晶性质。水与脑磷脂形成的二维矩形结构和细胞中的片层结构非常相似。脑磷脂的体外液晶结构与体内的实际结构如此相似决非偶然,很可能生物分子的液晶性质对维持生命机体的结构和功能起重要作用。

本文初步研究了羟基小分子化合物对脑磷脂液晶结构性质的影响,其它化学物质对脑磷脂液晶结构的影响正在进行中。另外,我们认为有关电场、磁场、超声、应力和辐射等物理因素的影响,也都是有意义的研究课题。随着有关研究的广泛开展和深入进行,必有助于更深入地理解和认识生物膜在生命过程中的基本性质和功能。

参 考 文 献

- 1 Brown G H, Doane J W. *A review of the structure and physical properties of liquid crystals*. New York Butterworth & Co. London: Academic Press, 1971:117
- 2 Brown GH, Wolken JJ. *Liquid crystals and biological structure*. New York San Francisco London: Academic Press 1979:35—41
- 3 Chapman D. *Biological membranes*. New York: Academic press, Vol. 1, 1986:71—199; Vol 2, 1973:1—86
- 4 田心棣著,肖科译. 人造双分子层膜. 北京: 高等教育出版社, 1987: 102
- 5 立花太郎等著,谈漠琪等译. 液晶知识. 科学普及出版社, 1982: 54
- 6 姚松年,曹连欣. 理学X射线衍射仪用户协会论文选集. 1988: No. 2, 41
- 7 谢毓章编著. 液晶物理学. 北京: 科学出版社, 1988: 9
- 8 纪极英编著. 生物液晶. 北京: 科学普及出版社, 1987: 74
- 9 香川靖雄著,蓝书成等译. 生物膜与生物能. 1986: 7—

- 10 Gomperts BD 著, 梁康译. 质膜——作结构和功能研究的模型膜. 北京: 科学出版社, 1981. 62
- 11 孙润广, 姚松年, 曹连欣. 生物化学与生物物理学报, [本文于 1990 年 1 月 18 日收到, 10 月 5 日修回]

SAXS STUDY OF THE INFLUENCE OF WATER, METHANOL AND ETHANOL ON THE LIQUID-CRYSTAL STRUCTURE OF CEPHALIN

Sun Runguang Xu Fengxun Zhang Jing Tian Suikang
(Experimental Centre of Shanxi Normal University, Xi'an 710062, China)

ABSTRACT

This treatise introduces the results of the author's research in using the method of SAXS (the small angle X-ray scattering) on the structure of the liquid-crystal system made from micro-hydro cephalin with water, methanol and ethanol respectively. Experiments reveal to us the following phenomena: in the cephalin-water system when the content of water increases, the repeat distance of bilayers in the liquid-crystal system of cephalin and water widens and in the cephalin-methanol and cephalin-ethanol system, when the content of alcohol increases the repeat distance narrows; according to the multiplies of hydro-carbon chain in alcohol, the repeat distance varies from wider to narrower, then vanishes gradually and at last the liquid-crystal phase changes into liquid phase. Therefore it is quite clear that water and alcohol exert different influence on the repeat distance of liquid-crystal phase of cephalin.

Key words cephalin, liquid-crystal system, small angle X-ray scattering(SAXS)

(Continued from page 122)

cinoma MGC-803 cells with simultaneous induction of normalized cell morphology, this work was designed to investigate the mechanisms of TFP effect on MGC-803 cells. By using biochemical assays, CaM and phosphodiesterase(PDE) activities in TFP treated MGC-803 cells were quantitatively analyzed with comparison to untreated control cells. TFP treated mouse ascitic hepatoma cells were analyzed as parallel. Results indicate that TFP selectively inhibits Ca^{2+} /CaM-dependent PDE activity rather than the PDE-binding activity of CaM in drug-treated cells of both types. However, both MGC-803 and mouse hepatoma cells exposed to aminophylline (2mmol/L) for 3 days or shorter time showed decrease in PDE-binding activity of CaM. The possible mechanisms concerning TFP effects and their role in regulating cell proliferation of MGC-803 cells were discussed.

Key words CaM, PDE bioassay, TFP, Aminophylline, human stomach carcinoma cells, mouse ascitic hepatoma cells