

^{31}P -核磁共振波谱研究山莨菪碱对磷脂酰乙醇胺脂质体多形性的影响

黄 芬 王 苏 民

(中国科学院生物物理研究所, 北京)

生物膜上类脂分子具有适应多种相的能力,膜类脂除主要形成脂双层结构外,在一定条件下,还能形成非双层类脂结构,其中包括六角形(H_{II})结构,这种现象称为膜类脂的多形性。这种六角形结构(H_{II})与生物膜的某些生理功能有关,如细胞融合、跨膜运送等等。影响生物膜上类脂分子从脂双层转变为六角形(H_{II})结构的因素很多,如温度、类脂组成、pH、二价阳离子以及药物等^[1-3]。本文用 ^{31}P -NMR(核磁共振波谱)技术,研究中药有效成份山莨菪碱对卵黄磷脂酰乙醇胺形成六角形(H_{II})的影响,山莨菪碱可促进卵黄磷脂酰乙醇胺脂质体从脂双层向六角形(H_{II})结构转变。

一、材料和方法

卵黄磷脂酰乙醇胺系英国 BDH 与 Koche Light 产品,未经进一步提纯。山莨菪碱溴氢酸盐为成都第一制药厂产品,Tris 系英国 BDH 产品,重水为北京化工厂生产。

脂质体制备:25 毫克卵黄 PE(磷脂酰乙醇胺)(氯仿溶液)置小烧杯中抽干成膜,在真空干燥器中放冰箱内过夜除去残余溶剂。干燥磷脂加入 Tris-HCl 缓冲液(10 mM, pH 7.0,含重水 80%)使磷脂重悬,磷脂最终浓度为 20 毫克/毫升,45℃ 超声 10 分钟(H 60025-P 超声清洗器,10—15 KHz,250 氏)形成脂质体。山莨菪碱与卵黄 PE 混合脂质体(30:70 克分子%)除将山莨菪碱水溶液加至 PE 中混匀制膜外,其余操作同上。

^{31}P -NMR 谱用 Varian XL-200 型傅里叶变换式核磁共振波谱仪测定,80 MHz,谱线累加 2200 次,90°脉冲,脉冲间隔时间 10 微秒,扫宽 8 KHz,脉冲延迟时间 2 秒。10 mm 管测试。

二、结果与讨论

^{31}P -NMR 技术是研究生物膜类脂分子从脂双层转变为六角形(H_{II})结构最有效的方法,实验证明^[4],含不饱和脂肪酰链的 PE 脂质体在低温时为脂双层排列,从 ^{31}P -NMR 谱上可观察到宽的不对称峰形,即高场峰,低场肩的典型峰,当温度上升至超过 PE 相变温度 10℃ 左右时,则可从 ^{31}P -NMR 谱上看到高场肩,低场峰六角形(H_{II})图形。我们用卵黄 PE 脂质体,分别在 22℃、30℃、45℃ 与 60℃ 时测定其 ^{31}P -NMR 谱,亦可观察到类似谱形(图 1),这种由脂双层转变为六角形(H_{II})的结构直接受温度的影响。

本文 1983 年 9 月 19 日收到,1985 年 3 月 1 日收到修改稿。

从含 30 克分子%山莨菪碱的卵黄 PE 脂质体的 ^{31}P -NMR 谱上可观察到 20℃ 时卵黄 PE 已开始从脂双层向六角形 (H_{II}) 转变,峰形顶端劈裂,随着温度上升,低场肩逐渐消失而转变为高场肩的谱形。从图 2 可观察到含山莨菪碱卵黄 PE 脂质体从脂双层转变为六角形 (H_{II}) 的过程,与卵黄 PE 比较谱形有明显变化。这说明山莨菪碱在室温时就能促进卵黄 PE 脂质体从脂双层结构向六角形 (H_{II}) 结构转变。这种现象与某些多肽抗菌素加入人工合成含不饱和和脂酰链的 PE 脂质体内也能促进 PE 形成六角形 (H_{II}) 结构相似^[5]。

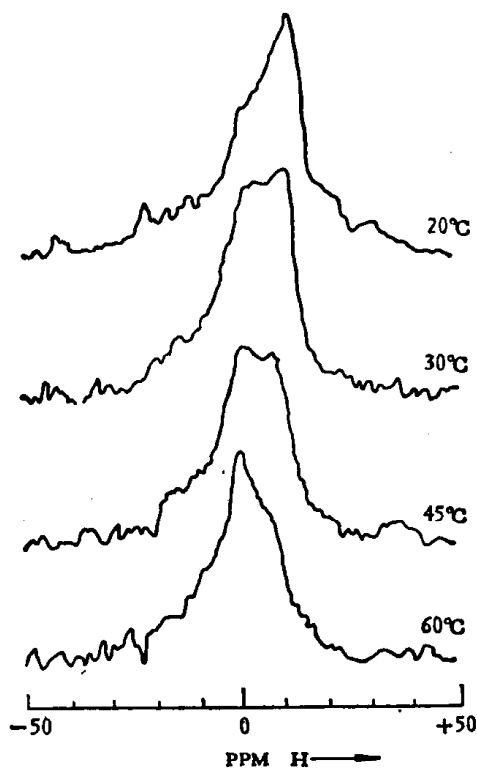


图 1 卵黄 PE 脂质体的 80 MHz ^{31}P -NMR 谱

谱宽 8 KHz, 90° 脉冲, 脉冲间隔时间 10 微秒, 样品 20 毫克/毫升, 于 10 mm 管测试, 累加 2200 次

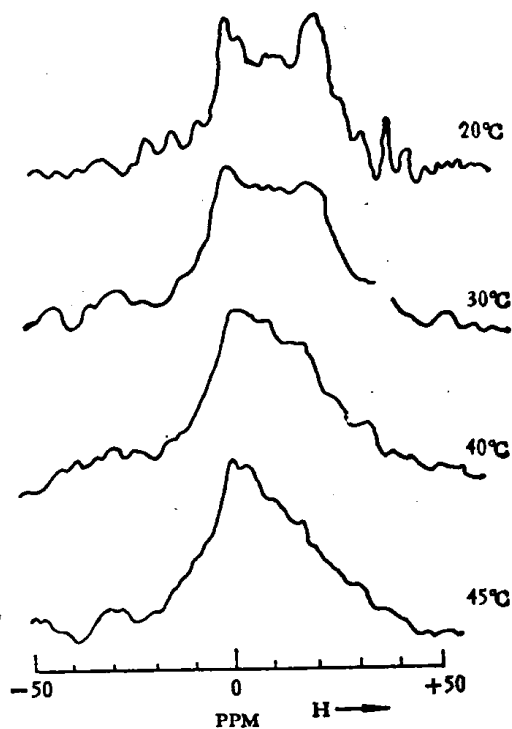


图 2 卵黄 PE 脂质体 (含山莨菪碱 30 克分子%) 的 80 MHz ^{31}P -NMR 谱

谱宽 8 KHz, 90° 脉冲, 脉冲间隔时间 10 微秒, 卵黄 PE 脂质体 (含 30 克分子%山莨菪碱) 20 毫克/毫升于 10 mm 样品管测试, 累加 2200 次

生物膜上含有多种类脂, 这些类脂分子的生理功能尚不清楚, 膜类脂分子除主要形成脂双层结构外还有非双层类脂相存在, 是近几年来一个新的发现, 引起不少人的兴趣, Verkleij 以及 Cullis 等曾进行了不少工作, 同时还研究了各种因素对各种类脂形成六角形 (H_{II}) 的影响。山莨菪碱对胆碱能神经功能有抑制作用, 能改善微循环, 治疗中毒性休克, 对有机磷中毒有显著解毒作用。我国在临床上应用广泛, 但药物作用机理尚不清楚。我们曾用差示扫描量热法等手段研究山莨菪碱对 DPPC (二棕榈酰磷脂酰胆碱)、DPPA (二棕榈酰磷脂酸) 脂质体的影响。山莨菪碱均能增加上述人工膜的流动性^[6]。我们的实验中又发现山莨菪碱能促进卵黄 PE 脂质体形成六角形 (H_{II}), 这种现象是一个有趣的问题。据文献报道, Ca^{2+} 可诱发 DPG (心磷脂)、PS (磷脂酰丝氨酸) 以及 PG (磷脂酰甘油) 脂质体从脂双层转变为六角形 (H_{II})^[1]。短杆菌肽能促使人工合成含不饱和脂肪酸 PE 脂质体形成六角形 (H_{II})^[5]。山莨菪碱是作用于中枢神经的药物, 它在室温就能开始促进 PE 向六角形 (H_{II}) 结构转变, 可能是使 PE 的分子形状由脂双层结构的圆柱形转变为椎形分子, 即六角形 (H_{II}) 结构, 从而产生药效。进一步的

研究正在进行中。

致谢：本工作承钱保功教授大力支持，武汉物理研究所沈联芳同志在核磁共振波谱技术热情帮助并进行有益的讨论，裘鉴卿、李丽云同志协助测试，一并致谢。

参 考 文 献

- [1] Cullis, P. R. and De Kruijff, B., *Biochim. Biophys. Acta*, 559 (1979), 399—420.
- [2] De Kruijff, B., Cullis, P. R. and Verkleij, A. J., *Trends Biochem. Sci.*, 5(1980), 79—83.
- [3] Verkleij, A. J., De Maagd, R., Leunissen-Bijvelt, J. and De Kruijff, B., *Biochim. Biophys. Acta*, 684 (1982), 255—262.
- [4] Cullis, P. R. and De Kruijff, B., *Biochim. Biophys. Acta*, 513 (1978), 31—42.
- [5] Van Echteld, C. J. A., Van Stigt, R., De Kruijff, B., Leunissen-Bijvelt, J., Verkleij, A. J. and De Gier, J., *Biochim. Biophys. Acta*, 648 (1981), 289—291.
- [6] 王苏民等, 科学通报, 28(1983), 1: 60—62.