

山莨菪碱与磷脂脂质体的相互作用

王苏民 黄 芬 傅亚珍 章正康 董仁杰

(中国科学院生物物理研究所, 北京)

胡 粹 青

(中国科学院化学研究所, 北京)

生物膜主要是以类脂双分子层为基本骨架并与蛋白质分子相结合而组成的。一般认为药物首先必须通过或作用于细胞膜而对细胞发生作用。通常药物是以静电力、氢键和疏水作用等与生物膜相互作用、从而影响膜的物理化学性质以及生理功能。山莨菪碱与樟柳碱是我国首先自莨菪类植物中分离、提纯并广泛应用于临床的新药。研究药物对膜作用的分子机理十分重要。前文^[1]报道了四种莨菪类药物对中性磷脂 DPPC 脂质体流动性的影响。实验结果表明,山莨菪碱、阿托品对二棕榈酰磷脂酰胆碱脂质体流动性的影响比其它两种药物明显。本文进一步比较了山莨菪碱对中性磷脂和酸性磷脂脂质体流动性的影响,发现山莨菪碱对后者的作用更为显著。

材 料 与 方 法

DPPC、DPPA 为美国 Sigma 公司产品,薄层层析表明为单一成分。山莨菪碱氢溴酸盐,成都第一制药厂产品,经提纯后使用。HEPES 为瑞士 Fluka 产品。

脂质体的制备 取一定量磷脂和药物分别溶于少量氯仿和重蒸馏水中,按一定克分子百分比混合,真空干燥成薄层,放置过夜。用 HEPES 液悬浮,超声振荡 10 分钟,超声温度略高于磷脂相变温度。浓缩至磷脂最终浓度约为 120 毫克/毫升。DPPA 膜悬液 pH 约为 6.7,以排除 pH 对相变温度的影响^[2]。另以不加药物的纯磷脂脂质体悬浮液作为对照。详细操作参考前文^[1]。

差示扫描量热测定 Perkin-Elmer DSC-2B 型差示扫描量热计,辅以内冷却器 II。温度用铟 (P-E 校正标准)和重蒸馏水标定。升温速率 5K/分,量程 1 毫卡/秒, N₂ 氛,采用密封式样品盘,以空盘作参考。相变温度以峰顶温度表示。

结 果 与 讨 论

纯磷脂脂质体相变温度与文献报道相符^[3]。

1. 山莨菪碱与 DPPC 脂质体的相互作用 山莨菪碱浓度为 10 克分子%时, DPPC 的晶相-液晶相相变温度下降,伴以“预融峰”的消失。随药物浓度逐渐增加,相变温度亦逐渐下

本文 1982 年 6 月 10 日收到。

本文名词缩写: DPPC: 二棕榈酰磷脂酰胆碱; DPPA: 二棕榈酰磷脂酸; HEPES: N-2-羟乙基哌嗪-N'-2-乙磺酸; ESR: 电子自旋共振波谱。

降,峰形保持尖锐,呈良好的相变协同性,峰面积未见明显变化(图1),表明山莨菪碱与 DPPC 脂质体的相互作用属触发机理,即药物分子不是伸入到脂双层中间而是与膜脂双层两侧的类脂分子极性头部以静电力相互作用,从而影响膜的相变温度与流动性,但相变温度下降不够显著。

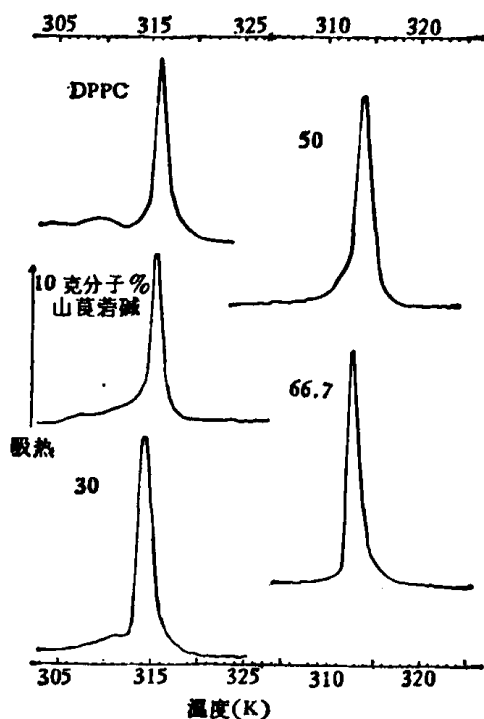


图1 不同浓度的山莨菪碱对 DPPC 脂质体热曲线的影响

药物浓度依次为: 0、10、30、50、66.7 克分子%

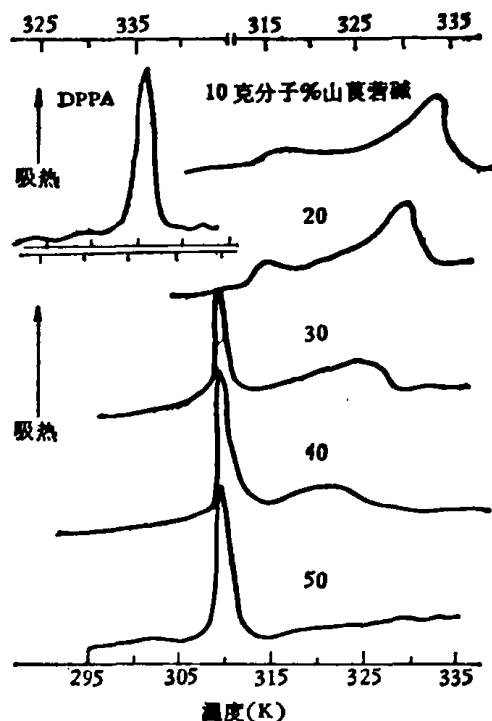


图2 不同浓度的山莨菪碱对 DPPA 脂质体热曲线的影响

药物浓度以克分子%表示

2. 山莨菪碱与 DPPA 脂质体的相互作用 莨菪类药物对胆碱能神经功能有抑制作用,神经膜上酸性磷脂含量较大。为了比较不同磷脂与药物的相互作用,我们研究了山莨菪碱对酸性磷脂 DPPA 相变的影响。从图2看到山莨菪碱的加入使 DPPA 相变温度明显下降,但峰面积无明显变化,这同样表明山莨菪碱与膜的作用为触发机理。当山莨菪碱浓度为 10 克分子%时, DPPA 热曲线即出现明显变化,原相变峰相变温度下降,峰宽增大,峰对称性降低,表明相变协同性变差,而且出现分相现象,呈两个峰,即低温部分有新峰出现。相变温度高的峰是以 DPPA 为主要成分的相变峰,而相变温度低的是以 DPPA-山莨菪碱络合物为主要成分的相变峰。两峰温度均随药物浓度增加而降低。以 DPPA 为主要成分的峰面积不断减小,以 DPPA-山莨菪碱络合物为主要成分的峰面积逐渐增加,当山莨菪碱浓度为 30 克分子%时,低温峰的相变温度 T_2 即不再降低,高温峰 T_1 则仍继续下降,至山莨菪碱浓度为 50 克分子%时,原有的高温峰完全消失,仅有相变温度为 310K 的单一峰存在,表明此时 DPPA 分子全部与山莨菪碱结合,形成 1:1 的分子络合物。

综合上述实验结果,山莨菪碱药物与 DPPC 及与 DPPA 作用比较,两者同属以触发机理作用,但 DPPA 是带负电荷的磷脂,因此与药物作用要强得多。表现在相变温度降低显著,从表1可见:当山莨菪碱与 DPPA 克分子比为 30:70 时,高温峰的相变温度 T_1 可下降 10 度之多,而此时 DPPC 的相变温度仅降低 1 度。此外,山莨菪碱与 DPPA 作用,出现明显的分相

表 1 不同浓度山莨菪碱对磷脂脂质体相变温度的影响

山莨菪碱浓度 (克分子%)	相 变 温 度		
	DPPC (K)	DPPA	
		$T_1(K)$	$T_2(K)$
0	315.9	336.0	—
10	315.4	334.0	316.0
20	—	329.4	314.0
30	314.8	326.0	310.0
40	—	322.6	310.0
50	313.5	—	310.0

现象。

关于带负电荷磷脂与药物相互作用,过去亦曾有一些报道, Papahadjopoulos 等^[4]用 DSC 与荧光偏振技术研究局部麻醉药 Dibucaine 对磷脂脂质体流动性的影响,结果表明: Dibucaine 对酸性磷脂脂质体的作用明显地大于中性磷脂。Surewicz 等^[5]用 ESR 和荧光光谱技术研究表明,抗心律不齐药物心得安 (propranolol) 可使膜流动性降低,同时与酸性磷脂作用也较中性磷脂明显。本文用山莨菪碱作用于酸性磷脂 DPPA 与中性磷脂 DPPC 亦得到相似的结果。

为了进一步了解山莨菪碱对膜的作用的分子机制,我们正进行山莨菪碱与不同种类的磷脂以及其它因素存在时对膜流动性影响的研究。

参 考 文 献

- [1] 王苏民等,科学通报,28(1983),1:60—62.
- [2] Träuble, H. & Eibl, H., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 71(1974), 214—219.
- [3] Hinz, H. J. & Sturtevant, J. M., *J. Biol. Chem.*, 247(1972), 3697—3700.
- [4] Papahadjopoulos, D. et al., *Biochim. Biophys. Acta*, 394(1975), 504—519.
- [5] Surewicz, W. K. & Leyko, W., *Biochim. Biophys. Acta*, 643(1981), 387—397.