

莨菪类药物对人工膜相变行为的影响

王苏民、傅亚珍、李跃贞 (中国科学院生物物理研究所, 北京 100080)

胡粹青 (中国科学院化学研究所, 北京 100080)

提要 用差示扫描量热法比较了山莨菪碱、樟柳碱、东莨菪碱及阿托品四种莨菪类药物对酸性磷脂 DPPA 膜相变行为的影响。膜的流动性随药物的浓度而增加, 对酸性磷脂膜的作用均比中性磷脂膜的要强得多, 并在不同程度上出现分相现象。药物作用的强弱顺序为: 山莨菪碱 > 阿托品 > 东莨菪碱 > 樟柳碱, 与中性磷脂 DPPC 的结果一致。

关键词 山莨菪碱; 樟柳碱; 东莨菪碱; 阿托品; 磷脂脂质体; 相变; 差示扫描量热法; 相分; 膜流动性

生物膜主要由类脂与蛋白质所组成, 并以类脂双分子层为基本骨架。膜脂一般呈异相, 膜的相态决定膜的流动性, 与膜的重要生理功能关系密切。药物与细胞作用时首先须通过细胞膜, 但以往对药物作用的探讨主要着重研究其与膜上专一蛋白受体的作用, 忽视了药物与膜脂相互作用的研究。本文用 DSC 研究了山莨菪碱、樟柳碱、东莨菪碱和阿托品对 DPPA 膜相变行为的影响, 旨在对药物作用的分子机制进行探讨, 并为筛选新药寻找途径。

材料与方 法

二棕榈酰磷脂酸(dipalmitoyl phosphatidic acid, DPPA)美国 Sigma 产品。Hepes (N-2-羧乙基哌嗪-N'-2-乙磺酸), 瑞士 Fluka 产品。山莨菪碱(anisodamine)、樟柳碱(anisodine)、东莨菪碱、阿托品, 成都制药一厂产品, 经进一步纯化。

脂质体制备 磷脂和药物分别溶解, 按所需 mol% 混合, 真空干燥成薄层, 放置过夜, 以 Hepes 液悬浮, 超声振荡 10 min, 浓缩至适

当浓度。另以不加药物的纯磷脂脂质体悬液为对照。操作见前文⁽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, 温度均经标定。升温速率 5 K/min, 量程 4.2 mJ/s, N₂ 氛, 采用密封式样品盘, 以空盘作参考, 相变温度 T_m 以峰顶温度表示。每一实验采用两批样品, 每批样品重复扫描两次。

结果与讨论

阿托品、东莨菪碱、樟柳碱均使 DPPA 脂质体的晶相-液晶相变温度降低, 即流动性增加(图 1), 与前文⁽²⁾报道的山莨菪碱作用于 DPPA 脂质体的结果极为相似。膜的流动性均与药物的浓度成正比。随着药物浓度的增加, 虽峰形变宽, 峰的对称性降低, 但峰面积未见明显变化, 表明其机制与作用中性磷脂二棕榈酰磷脂酰胆碱(DPPC)脂质体⁽¹⁾相似, 同属“触发机理”, 即药物分子主要与膜脂双层两侧

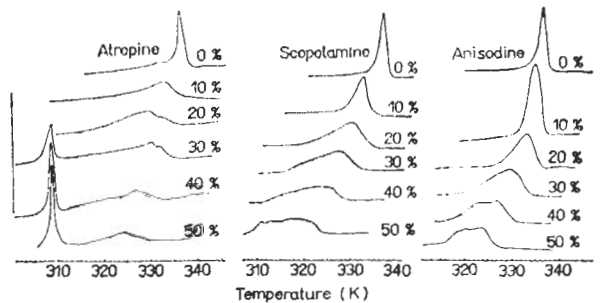


Fig 1. Differential scanning calorimetry (DSC) curves after 3 henbane drugs 0-50 mol% on the gel to liquid-crystalline transition of dipalmitoyl phosphatidic acid (DPPA) liposomes. Heating rate = 5 K/min; range setting = 4.2 mJ/s; N₂ atmosphere.

的类脂分子的极性头部相互作用,从而影响膜的相变温度与流动性。但药物对 DPPA 脂质体的作用比对 DPPC 脂质体的作用强得多,表现在:

相变温度 T_m 降低多 莨菪类药物对 DPPC 脂质体相变温度的影响,以山莨菪碱作用最大。在山莨菪碱浓度为 30 mol% 时仅使 DPPC 的相变温度降低 1° ⁽¹⁾,而使 DPPA 膜原峰的相变温度下降 10° 左右⁽²⁾。阿托品、东莨菪碱、樟柳碱对 DPPA 膜的作用与山莨菪碱一样,均比对 DPPC 膜的作用强得多。这是因为 DPPA 系酸性磷脂,带有负电荷,而 DPPC 属中性磷脂,药物与磷脂分子的极性头部作用,故与 DPPA 的作用必然比 DPPC 的强。上述结果有力地支持莨菪类药物与磷脂脂质体的作用为触发机理。

出现分相现象 四种莨菪类药物与 DPPC 膜作用仅使相变温度稍有下降,相变协同性仍保持良好,无分相现象。但与 DPPA 脂质体作用则相变峰形变宽,对称性降低,并均在不同程度上出现分相现象,即在 DSC 热曲线上呈现两个相变峰,表示其相互作用较强,药物的加入使原 DPPA 相变峰峰温逐渐降低,并随药量的增加,低温部分有新峰出现,此低温峰系药物与 DPPA 结合后的相变峰。山莨菪碱、阿托品与 DPPA 膜结合后的新峰峰温均为 310 K 左右。药物浓度继续增加,可看到低温峰面积逐渐增加,高温峰面积随之相应减少,山莨菪碱为 50 mol% 时,高温峰已完全消失,仅存单一的低温峰,表示 DPPA 分子全部与药物结合。

比较上述四种莨菪类药物对 DPPA 膜的作用,可看到药物分子结构的空位位置以及极性基团的影响。当山莨菪碱、阿托品、东莨菪碱的加入浓度分别为 10, 30, 50 mol% 时,出现分相现象,表明这四种药物对 DPPA 作用强弱是有差别的,其顺序为山莨菪碱 > 阿托品 > 东

莨菪碱 > 樟柳碱,与和 DPPC 膜作用的强弱次序一致。山莨菪碱与阿托品的作用较东莨菪碱、樟柳碱为强,可能由于后两者的分子上均具有三元杂环,空间位阻大,影响其扩散至膜层及与脂双层表面极性基团的紧密作用。山莨菪碱与膜的作用强于阿托品,可能是因为它分子上多一较活泼的极性基团——仲羟基。但东莨菪碱与樟柳碱相比,后者的分子上虽也多一极性基团,然而与膜的作用却弱于前者,可能是由于樟柳碱分子上多的是一叔羟基,而叔羟基上的氢原子不如仲羟基上的活泼,其对膜极性作用的加强尚不足以补偿多一极性基团所引起的位阻影响。

相变假说^(3,4)认为药物通过改变膜脂的相态,影响膜蛋白的构象,是药物对生物膜作用的可能的重要方式。用差示扫描量热法可研究麻醉药对膜相变行为的影响⁽⁵⁻⁸⁾,对抗肿瘤药等也已开始进行探索⁽⁹⁻¹¹⁾。我们的结果表明莨菪类药物确能改变膜脂相态,并有助于其药理探讨。

参 考 文 献

- 1 王苏民、胡粹青、黄芬、傅亚珍、章正廉、董仁杰. 科学通报 1983; 28: 60
- 2 王苏民、胡粹青、黄芬、傅亚珍、章正廉、董仁杰. 同上 1983; 28: 878
- 3 Trudell JR. *Anesthesiology* 1977; 46: 5
- 4 Lee AG. *Nature* 1976; 262: 545
- 5 Papahadjopoulos D, Jacobson K, Poste G, Shepherd G. *Biochim Biophys Acta* 1975; 394: 504
- 6 Bach D, Raz A, Goldman R. *Ibid* 1976; 436: 889
- 7 Jain MK, Wu NM. *J Membr Biol* 1977; 34: 157
- 8 Frenzel J, Arnold K, Nuhn P. *Biochim Biophys Acta* 1978; 507: 185
- 9 Goldman R, Facchinette T, Raz A, Bach D, Shinitzky M. *Ibid* 1978; 512: 254
- 10 Rudolph LJ, Stamp D. *Ibid* 1979; 586: 137
- 11 Goormaghtigh E, Chatelain p, Caspers J, Ruysschaert JM. *Ibid* 1980; 597: 1

Effects of henbane drugs on thermotropic transition behaviour of phospholipid membrane

WANG Su-min, FU Ya-zhen, LI Yue-zhen

(*Inst Biophysics, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100080*)

HU Cui-qing

(*Inst Chemistry, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100080*)

ABSTRACT The effects of anisodamine, atropine, scopolamine and anisodine on the thermotropic transition behaviour of dipalmitoylphosphatidic acid (DPPA) membrane were studied by differential scanning calorimetry (DSC). The membrane fluidity was increased by the drugs in a dose-dependent manner. The effects of the henbane drugs on acid phospholipid liposomes were more marked than on the neutral phospholipid dipalmitoyl phosphatidylcholine (DPPC) membrane. Phase separation was seen on the

DSC curves of DPPA membrane under the effects of above-mentioned drugs. The order of the efficacies of these 4 drugs on DPPA membrane fluidity was similar to that on the DPPC membrane: anisodamine > atropine > scopolamine > anisodine.

KEY WORDS anisodamine; anisodine; scopolamine; atropine; phospholipid liposomes; phase transition; differential scanning calorimetry; phase separation; membrane fluidity