

钙通道阻滞剂和 β -肾上腺阻滞剂在 双层脂膜上诱导的跨膜电势

沈霞昌

石彪

(山东医学院物理教研组, 济南) (四川大学微生物教研组, 成都)

H. Ti Tien

(美国密执安州立大学生理和生物物理系)

钙通道和 β -肾上腺阻滞剂是治疗心血管疾患的两大类药物, 它们能够缓解一些心血管疾病的症状, 如心律不齐、心绞痛和高血压等, 因而在临床上已得到广泛应用, 但其作用机理却至今不清楚。通过本实验, 我们发现: 这些药物可在人工双层脂膜上建立跨膜电场。可能正是这个跨膜电场与膜中带电的离子通道发生电作用, 改变离子通道的开闭状态, 因而触发一系列的生理学效应, 这可能是这些药物发挥药理学作用的一个重要方面。

很多 β -肾上腺阻滞剂都是局部麻醉剂, 这些局麻剂与脂膜的相互作用已得到广泛研究。Schlieper 等对 propranolol 一类 β -肾上腺阻滞剂在 BLM 上的效应已作了系统的研究^[1]; Phadke 等根据核磁共振研究提出了解释 propranolol 与脂膜发生相互作用的机制^[2]。与此相反, 迄今对钙通道阻滞剂的研究并不多见, 而以

人工膜为材料加以研究的就为数更少。本实验正是侧重这类药物的 BLM 研究。

一、材料与方法

1. 按 H. Ti Tien^[3] 方法形成双层脂膜。测量电极为甘汞电极。药物所诱导的跨膜电势用 610 B 型静电计测量。膜形成液的成分(除特殊注明处外)为:

磷脂酰胆碱 (PC) 3.1 % (W/W)

磷脂酰乙醇胺 (PE) 1.7 % (W/W)

磷脂酰丝氨酸 (PS) 1.0 % (W/W)

氧化胆固醇 (C) 1.1 % (W/W)

上述药品均为美国 Sigma 产品。

2. 三种钙通道阻滞剂 (verapamil, diltiazem, nifedipine) 和五种 β -肾上腺阻滞剂 (propranolol, sotalol, labetalol, lopressor, transcor), 均由美国制药公司提供。为避免因药物仅加入

从图 2 可看出, 红细胞膜结合 C_{3b} 的量随着 C_{3b} 量增加而增高。经唾液酸酶水解与 CPDS 处理的红细胞膜结合 C_{3b} 量较未处理者明显降低(图 4, 5), 说明 C_{3b} 与血型糖蛋白结合, 与糖基唾液酸及蛋白的巯基有关。血型糖蛋白含唾液酸量较多, 而且都在糖蛋白寡糖链末端, 所以 C_{3b} 与唾液酸结合是可能的。CPDS 是特异与巯基结合的化合物, 在较短时间内 (2 小时以内) 不通过膜只与膜外侧巯基结合^[6]。CPDS 处理的红细胞膜与 C_{3b} 结合减少, 可能有两种原因: 一是直接影响红细胞膜与 C_{3b} 结合, 巯基

是结合基团; 另一是 CPDS 结合, 使红细胞膜蛋白发生空间构型的变化, 从而影响它与 C_{3b} 的结合。

参 考 文 献

- [1] 张之南等: 《中国医学科学院院报》, 1(1), 57, 1979.
- [2] 王克夷等: 《中国医学科学院院报》, 6(1), 1984.
- [3] 潘华珍等: 《中国血液学杂志》, 2(2), 1981.
- [4] Tairbanks: *Biochemistry*, 10(2), 4406, 1969.
- [5] 王世中主编: 《免疫化学技术》, 科学出版社, 1980.
- [6] Mehrishi, J. N. et al.: *Nature*, 224, 563, 1969.

[本文于 1984 年 12 月 26 日收到]

BLM 的一侧引起该侧溶液的 pH 的改变,诱导跨膜电位,药物用缓冲液配制,并使用缓冲液作为膜两侧的水相介质进行测定。又为避免在膜的一侧滴加药物溶液产生膜两侧静水压力差而诱发跨膜电势,在一侧注入药物后,又从该侧吸出相同容量的介质溶液。

二、结 果

向膜的内侧溶液中加入上述任一种药物,均能诱发一跨膜电势。电势出现的时间不等,短则几分钟,长则 20~30 分钟;出现后一般不随时间而衰减。所测电势的极性相对于药物加入侧为负。电势差的大小与药物浓度、介质溶液 pH、介质溶液的离子种类及离子强度和膜形成液的组成及浓度有关。现分述如下:

1. 剂量—效应曲线

膜两侧为 0.01M NaCl 和 1mM Tris-glycine 缓冲液时,所测得的钙通道和 β -肾上腺阻滞剂的剂量~效应曲线分别见图 1 和图 2。这些曲线表明:

A. 八种药物除 sotalol 外均能诱导幅度较

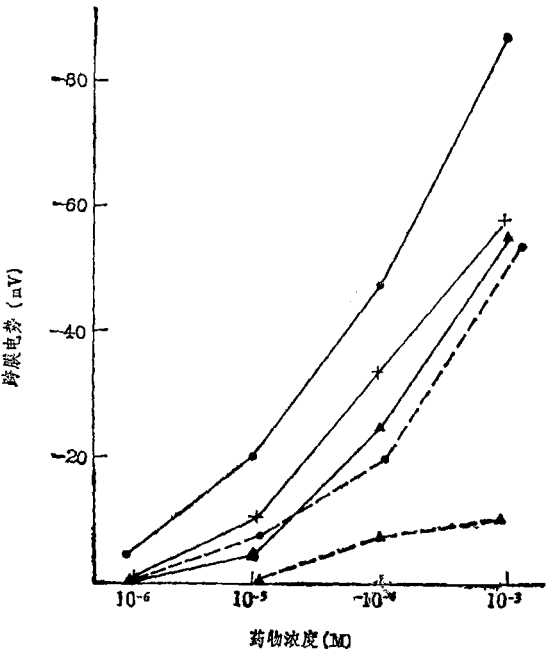


图 1 钙通道阻滞剂的剂量—效应曲线

—•— verapamil ×—× diltiazem
▲—▲ nifedipine

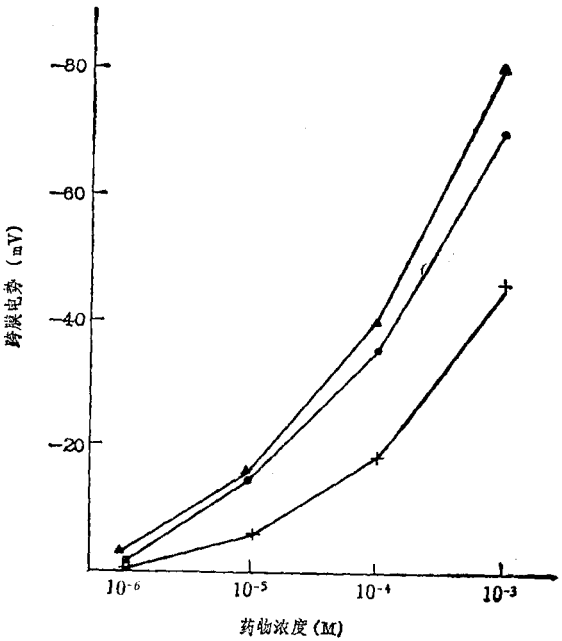


图 2 β -肾上腺阻滞剂的剂量—效应曲线

—•— propranolol ×—× transcor ▲—▲ labetalol
●—● sotalol

大的跨膜电势。

B. 不同药物的剂量—效应曲线大体相似。当药物浓度变化于 10^{-6} — 10^{-3} M 时,诱导的跨膜电势与药物浓度的关系为准线性。但加入浓度相同的不同药物时,诱导出的跨膜电势的幅度不同。

2. 膜两侧溶液中离子种类和离子强度对药物诱导跨膜电势的影响

本实验选择应用广泛的血管扩张药 verapamil 作为钙通道阻滞剂的代表,用来测定它与 BLM 相互作用的各种效应。见图 3。

A. Verapamil 诱导的跨膜电势用 CaCl_2 作介质溶液时比用 NaCl 作介质溶液时的为低;含有 PS 的膜和不含 PS 的膜均如此。这说明 Ca^{++} 是这种药物的拮抗剂。

B. 当电解质从 10^{-1} M 减少到 0M (蒸馏水)时,不同离子强度的介质溶液对 Verapamil 所诱导的跨膜电势影响不大;而当电解质溶液浓度从 10^{-1} M 增加到 1M 时,药物所诱导的跨膜电势急剧下降。这对以 CaCl_2 或以 NaCl 作为介质溶液均适用。

用其它药物重复上述实验,结果相似(曲线图略),说明上述两个特点为检测的钙通道和 β -肾上腺阻滞剂所共有。

3. 膜形成液的组成和浓度对药物诱导跨膜电势的影响

A. 图 3 也说明: 药物在含有 PS 的膜上诱

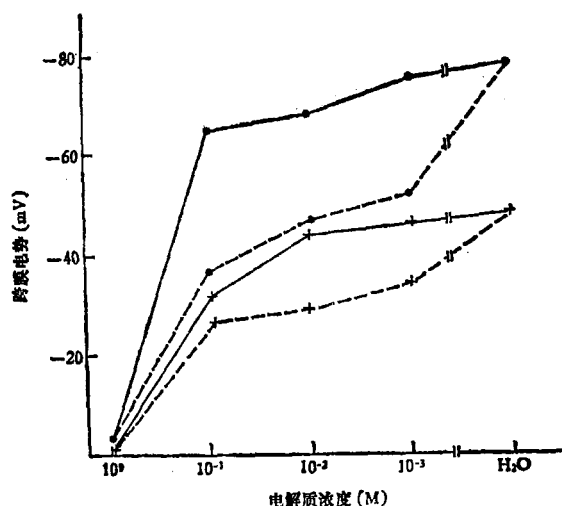


图 3 介质溶液的离子种类及其强度对 Verapamil ($10^{-3}M$) 诱导跨膜电势的影响

●—○ NaCl (PC + C + PE + PS) BLM
 ●...● $CaCl_2$ (PC + C + PE + PS) BLM
 X—X NaCl (PC + C + PE) BLM
 X...X $CaCl_2$ (PC + C + PE) BLM

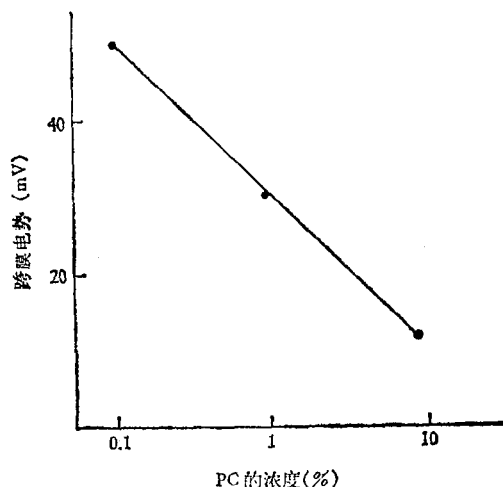


图 4 PC 浓度对 Verapamil 诱导跨膜电势的影响

膜形成液中 C 的浓度固定在 0.1%
 介质溶液: $10^{-2}M$ NaCl

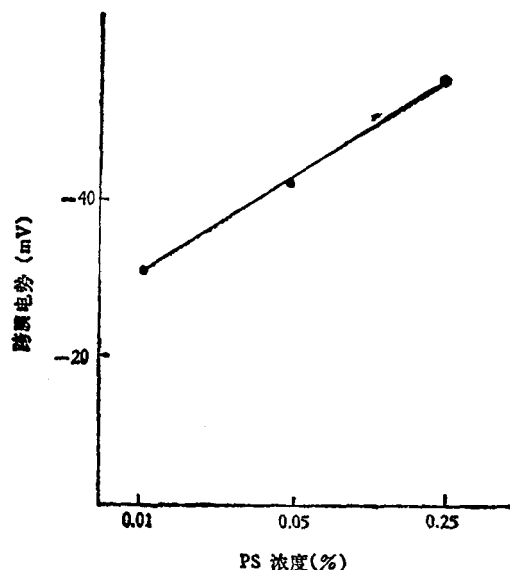


图 5 PS 浓度对药物诱导跨膜电势的影响

膜形成液中 PC 和 C 的浓度分别固定为 1.5% 和 0.5%
 介质溶液 $10^{-2}M$ NaCl
 所加药物 $10^{-3}M$ verapamil

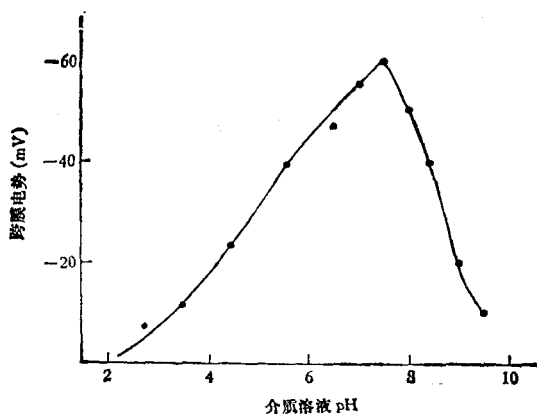


图 6 介质溶液 pH 对药物诱导跨膜电势的影响

介质溶液 $10^{-4}M$ NaCl
 所加药物 $10^{-3}M$ verapamil

导的跨膜电势远较在不含 PS 膜上的为高。在以 $CaCl_2$ 或以 NaCl 作为介质溶液时均如此。

B. 图 4 说明: 药物诱导的跨膜电势随膜形成液中 PC 浓度的增加而直线下降。

C. 图 5 表明: 药物所诱导的跨膜电势随膜形成液中 PS 浓度的增加而直线上升。这就进一步证实了图 3 所表明的含 PS 的膜可增加药物所诱导的跨膜电势的说法。

4. 膜两侧溶液的 pH 对药物诱导跨膜电势的影响 (图 6)。

图 6 曲线表明: Verapamil 所诱导的跨膜电势最大值出现在膜两侧溶液 pH 约为 7.6 处, 此数值接近于该药物的 pK 值。

三、讨 论

1. 关于跨膜电位产生机理。用不同方法研究了几种局部麻醉剂与脂膜相互作用的分子机制^[4,5]的学者们认为: 由于这些药物的双亲性, 其所解离的有机非极性部分通过疏水结合插入脂膜的烃链区, 而它的极性部分则通过电性作用结合在磷脂的极性头上。Schlieper 等提出: Propranolol 在脂膜上所诱导的跨膜电势虽有一部分是由于膜表面电荷的不同分布, 但主要却来源于分子定向偶极矩的改变^[1]。由于钙通道阻滞剂 verapamil 与肾上腺阻滞剂 propranolol 的化学结构相似, 而本实验结果亦表明两者在脂膜上诱导跨膜电势的变化相似, 故我们认为: verapamil 在脂膜上所诱导的跨膜电势亦同样可用偶极矩理论解释。一侧水相介质导入药物后, 药物解离的离子通过扩散接近该侧膜表面, 再通过电性作用结合在该侧膜表面上。由于电中和效应改变了该侧膜表面的电荷分布, 从而改变了该侧的偶极矩, 而另一侧膜表面的偶极矩并未改变, 这样就破坏了膜两侧偶极矩的对称性, 从而产生跨膜电势。

实验中所测得的跨膜电势较 Schlieper 等^[1]所测得的稍低, 这可能是由于我们使用的膜形成液中磷脂酰胆碱含量较高 (3.1%; Schlieper 等仅为 0.91%), 使所形成的脂膜结构更为紧密, 从而抑制了跨膜电势的产生。另外, 至于药物所诱导的跨膜电势虽在很大范围内与膜两侧溶液中电解质的浓度无关, 而当电解质浓度从 $10^{-1}M$ 上升到 $1M$ 时, 跨膜电势值急剧下降, 可根据 Tien^[3] 的屏蔽效应加以解释。

大多数 β -肾上腺阻滞剂具有相似的化学结构, 均能在 BLM 上诱导出幅度较大的跨膜电势, 但 sotalol 虽在化学结构上与 Propranolol 无明显差异, 而其所诱导的跨膜电势值却远较

后者为低。这可能是由于其疏水环上多出的一个侧链中含有亲水基团羟基, 使其具有一定的亲水性, 很难与 BLM 上磷脂疏水部分实现疏水性结合, 从而限制了跨膜电势的产生。

2. 含 PS 脂膜的跨膜电势。药物在含带负电荷 PS 的脂膜上能诱导比仅含中性脂的脂膜上幅度较大的跨膜电势 (图 3), 这可能与膜上电荷密度不同有关。Lüllmann 等研究了双亲性药物与含有不同脂成分脂质体的结合能力, 发现其结合力大小的顺序是 $PC < PE < PS$ ^[6]。另外, Rojus 等发现: 丝氨酸的极性头具有较大的水合半径, 则在其所形成的 BLM 中相邻丝氨酸分子之间具有较大空隙, 使更多的药物分子可结合入脂膜中^[7]。正是由于更多数量的药物分子能与含 PS 脂膜实现更为紧密结合的双重原因, 使药物在含 PS 膜的两个侧面上形成较大的偶极矩之差, 因而诱导出幅度较大的跨膜电势。

3. Ca^{++} 与跨膜电势。本实验证明: 钙通道阻滞剂在 $CaCl_2$ 溶液中所诱导的跨膜电势远较在 $NaCl$ 溶液中的为低 (图 3), 即钙对药物有拮抗效应。这种拮抗作用可能是由于 Ca^{++} 与药物解离的阳离子互相竞争膜表面的负电荷, 限制了药物嵌入脂膜; 而当 Ca^{++} 结合在脂膜表面上时, Ca^{++} 在相邻的脂分子间起桥连作用, 进一步限制了药物分子与脂膜的结合, 因而对药物与脂膜的相互作用起拮抗作用。

参 考 文 献

- [1] Schlieper, P. et al.: *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, 310, 195, 1980.
- [2] Phadke, R. S. et al.: *Int. J. Quantum. Chem.*, 20 (1), 85, 1981.
- [3] Tien, H. T.: *Bilayer Lipid Membrane (BLM): Theory and Practice*, Marcel Dekker Inc., New York, 1974.
- [4] Schlieper, P. et al.: *Biochem. Biophys. Acta*, 644, 273, 1981.
- [5] Boulanger, Y. et al.: *Biochem.*, 20, 6824, 1981.
- [6] Lüllmann, H. et al.: *Biochem. Pharmacol.*, 28, 3409, 1979.
- [7] Rojus, E. *Biochem. Biophys. Acta*, 94, 394, 1965.

[本文于 1985 年 1 月 16 日收到]