

· 研究简报 ·

可聚合脂质体的研究

II. 含桐酸脂质体的稳定性和穿透能力的研究*

李子臣 何巍 李福绵

(北京大学化学系 北京 100871)

关键词 脂质体, 桐酸, 光聚合, 稳定性, 穿透能力

脂质体的稳定性是脂质体性质的一个重要方面, 一般合成的类脂化合物经超声后形成的脂质体(微泡)的稳定性普遍不如天然磷脂形成的脂质体为好; 聚合可以使脂质体的稳定性提高, 但同时却使脂质体的流动性大大降低; 因此, 磷脂-聚合物型混合脂质体可以作为较理想的生物膜模拟体系^[1]. 桐酸为一分子中含有三个共轭双键的单长链双亲化合物, 关于它与天然磷脂形成的脂质体及其聚合已进行了较为详细的研究^[2,3], 本文主要通过含桐酸脂质体对荧光探针化合物的包藏及释放来研究其稳定性和穿透能力.

1 含桐酸的脂质体及其聚合

β -桐酸(9,11,13-反、反、反-十八碳三烯酸, β -ESA)的制备曾在文献^[2]报道. 由于其疏水长链的刚性, 它不但可以和天然磷脂形成混合脂质体, 而且本身也可以在超声下自组成类似脂质体的微泡结构, 在这种脂质体的双分子层结构上, β -ESA 的三个共轭双键经紫外光照射可以发生聚合反应. 本文以双十四碳酰磷脂酰胆碱(DMPC)为天然磷脂用超声法制备了下面五种摩尔组成的含桐酸的脂质体: DMPC, β -ESA, DMPC/ β -ESA (2/1), DMPC/ β -ESA(1/1) 和 DMPC/ β -ESA(1/2), 脂质体的形成均用负染色法在电子显微镜下进行了验证, β -ESA 的聚合与文献方法相同^[2].

2 脂质体对荧光探针化合物 5(6)-羧基荧光素(5(6)-CF)的包藏及释放

脂质体的制备使用 100mM 的 5(6)-CF 缓冲溶液, 然后用凝胶色谱柱(Sephadex G-50, 2×20 cm)将未被包藏的 5(6)-CF 分离掉, 包藏有 5(6)-CF 的脂质体则被用来研究 5(6)-CF 的释放百分数^[4], 并以此为依据来判定脂质体的稳定性和通透能力.

3 β -ESA 含量对脂质体稳定性和通透性的影响

图 1A 为含 β -ESA 量不同的 DMPC 脂质体在 50℃ 放置不同时间后 5(6)-CF 的释放. 从中可以看出, 随着 β -ESA 含量的增加, 5(6)-CF 在相同的时间内释放也增加, 尤其是纯 β -ESA 的脂质体, 在 50℃ 放置 40min, 后, 其包藏的 5(6)-CF 已有近 90% 释放出来. 这说明由于 β -ESA 上庞大的不规则基团的引入, 引起通透性升高; 另一方面 β -ESA 破坏了天然磷脂上亲水基团之间, 疏水长链之间规整的相互作用, 稳定性降低. β -ESA 含量越大, 这两个方面的作用就越明显. 图 1B 为将包藏了 5(6)-CF 的含 β -

* 1993-08-02 收稿; 高等学校博士学科点专项科研基金资助课题

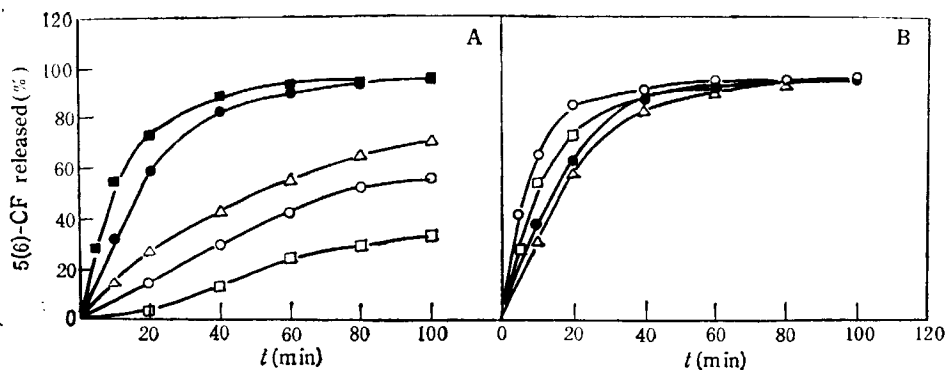


Fig. 1 Time-dependent release of trapped CF from the liposomes at 50°C

A DMPC/β-ESA; (□)1, (○)2/1, (△)1/1, (●)1/2, (■)0

B DMPC/β-ESA; (○)0 and polymer (△), (□)1/2 and polymer (●)

ESA 的脂质体经凝胶柱分离后紫外光照射 30 分钟的情况, 为了便于比较, 仅对 β -ESA 含量较多的两种脂质体 β -ESA 和 DMPC/ β -ESA(1/2) 脂质体进行了研究。从图 1B 不难看出, 紫外光照射后的两种脂质体在 50°C 放置时, 其包藏的 5(6)-CF 的释放与照射前相比较, 没有太明显的差别。这些结果不同于一般的聚合型脂质体, 聚合物的形成使包藏于脂质体内部的 5(6)-CF 从内水相的释放变慢。含 β -ESA 的脂质体聚合后 CF 释放变化不明显的原因, 可能是 β -ESA 的聚合度不大而且 β -ESA 含量较多的脂质体本身稳定性已较低等。

4 乙醇对含 β -ESA 脂质体稳定性的影响

图 2A 为加入乙醇对含 β -ESA 脂质体所包藏的 5(6)-CF 释放行为的影响, 可以看出, 当 DMPC 脂质体中 β -ESA 的含量小于 50mol% 时, β -ESA 的含量并没有明显改变加入乙醇对 DMPC 脂质体的破坏作用; 而对 β -ESA 含量较多的两种脂质体, 在加入乙醇的量相同时, 5(6)-CF 的释放要比 DMPC 为快; 这也说明 β -ESA 的加入使 DMPC 脂质体的稳定性降低。如果将其中的 β -ESA 聚合, 则明显可以看出聚合后的脂质体在

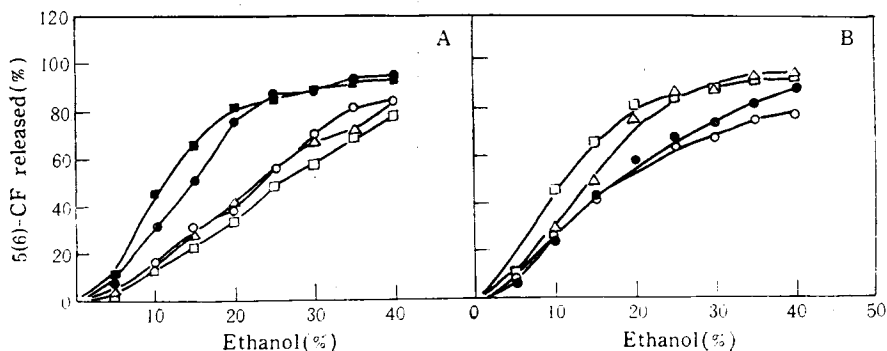


Fig. 2 Effect of ethanol on the release of trapped CF from the following liposomes at room temperature within 30 minutes

A DMPC/β-ESA; (□)1, (○)2/1, (△)1/1, (●)1/2, (■)0

B DMPC/β-ESA; (□)0 and polymer (○), (△)1/2 and polymer (●)

加入相同体积的乙醇时, 5(6)-CF 的释放比未聚合的要慢, 可见 β -ESA 的聚合使得脂质体相对于乙醇的稳定性增高(图 2B)。

乙醇为与水相溶的极性溶剂, 对于含 β -ESA 的卵磷脂 (EPC) 脂质体的研究表明,

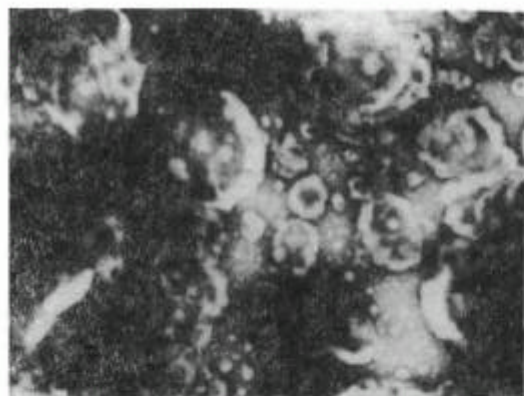


Fig. 3 Electron microphotograph of EPC/ β -ESA(1/1) liposome after 50% ethanol (V/V) was added before TEM observation ($\times 24,000$)

尽管乙醇对脂质体的作用是溶解其中的脂质体成分, 但是从电子显微镜的结果来看, 即使当脂质体悬浮液中加入乙醇的量达 50% 时, 脂质体仍然存在, 只是脂质体明显增大, 分散更不均匀, 这是脂质体融合的结果(图 3); 所以 5(6)-CF 的释放一方面可能是由于脂质体被乙醇溶解而从内水相扩散出来, 另一方面则主要为在融合的过程中, 包藏在脂质体内水相的 5(6)-CF 释放出来, 因此, 即使脂质体的结构依然存在, 5(6)-CF 的释放仍然可达近 100%。

5 Triton X-100对含 β -ESA 脂质体稳定性的影响

Triton X-100 作为一种非离子型的表面活性物质被广泛应用于生物膜的研究中。Triton X-100 在浓度较低时, 它只是使脂质体的大小尺寸稍微增大, 在较高的浓度下, 则使脂质体急剧变大, 直到最后浓度增大到使脂质体全部破坏^[5]。图 4A 为 Triton X-100 对含 β -ESA 的 DMPC 脂质体所包藏的 5(6)-CF 释放行为的影响, 可以看到与加入乙醇几乎相同的趋势。但当 β -ESA 聚合后, 脂质体相对于 Triton X-100 的稳定性明显增强(图 4B)。脂质体上聚合物的形成使 Triton X-100 插入脂质体双分子层而引起脂质体的破坏或融合变得不易, 内部的 5(6)-CF 的释放也就较少, 从而表现出对 Triton

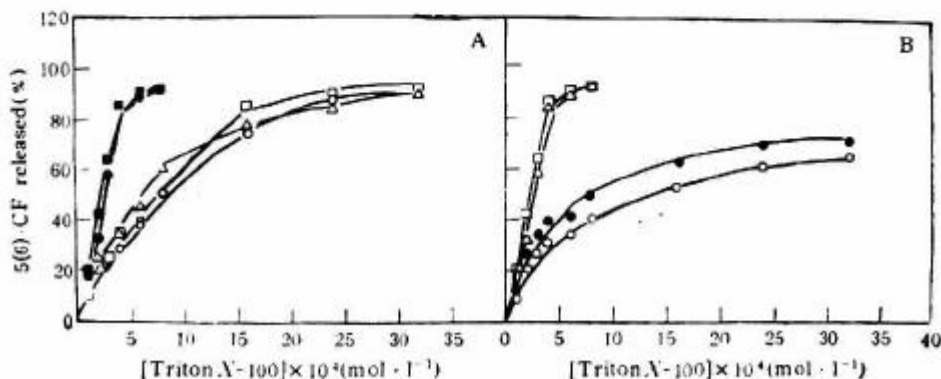


Fig. 4 Effect of Triton X-100 on the release of trapped CF from the following liposomes at room temperature within 30 minutes

A DMPC/ β -ESA; ($\square$)1, ($\circ$)2/1, (Δ)1/1, ($\bullet$)1/2, ($\blacksquare$)0

B DMPC/ β -ESA; ($\square$)0 and polymer ($\circ$), (Δ)1/2 and polymer ($\bullet$)

X-100 相对较高的稳定性。

值得说明的是,与加入乙醇一样,即使加入 Triton X-100 的量相当于使 5(6)-CF 的释放接近 100% 释时,脂质体结构仍然存在于水相中,但是表现出明显的集聚与分散不均匀。

致谢 本研究工作还得到中关村分析测试基金的资助,谨致谢忱。

参 考 文 献

- [1] Kurikara K, Fendler J H. *J Chem Soc Chem Commun*, 1983, **21**: 1188
- [2] Li Zichen, Xie Ximing, Fan Qinghua, et al. *Chin J Polym Sci*, 1992, **10**: 26
- [3] Fang Yifei, *Chin J Polym Sci*, 1987, **4**: 346
- [4] Hupfer B, Ringsdorf H, Schupp H. *Chem Phys Lipids*, 1983, **33**: 335
- [5] Nilsson K, Aimgren M, Brown W, et al. *Mol Cryst Liq Cryst*, 1987 **152**: 181

POLYMERIZABLE LIPOSOMES

II. STUDIES ON THE STABILITY AND PERMEABILITY OF LIPOSOMES CONTAINING ELEOSTEARIC ACID

LI Zichen, HE Wei, LI Fumian

(Department of Chemistry, Peking University, Beijing 100871)

Abstract The stability of mixed liposomes containing β -eleostearic acid (β -ESA) and dimyristoylphosphatidylcholine (DMPC) have been studied by measuring the release of trapped 5(6)-carboxyfluorescein (5(6)-CF) from the inner phase of liposomes. The results showed that the stability of the mixed liposomes decreased with the increase of the content of β -ESA in liposomes. Addition of ethanol and Triton X-100 into the liposome suspensions could damage the liposome structure or induce liposome aggregation, followed by the release of dye; but less release was observed for the polymerized liposomes when the same amount of ethanol or Triton X-100 were added, which revealed the increase of stability by polymerization.

Key words Liposome, Eleostearic Acid, Photopolymerization, Stability, Permeability