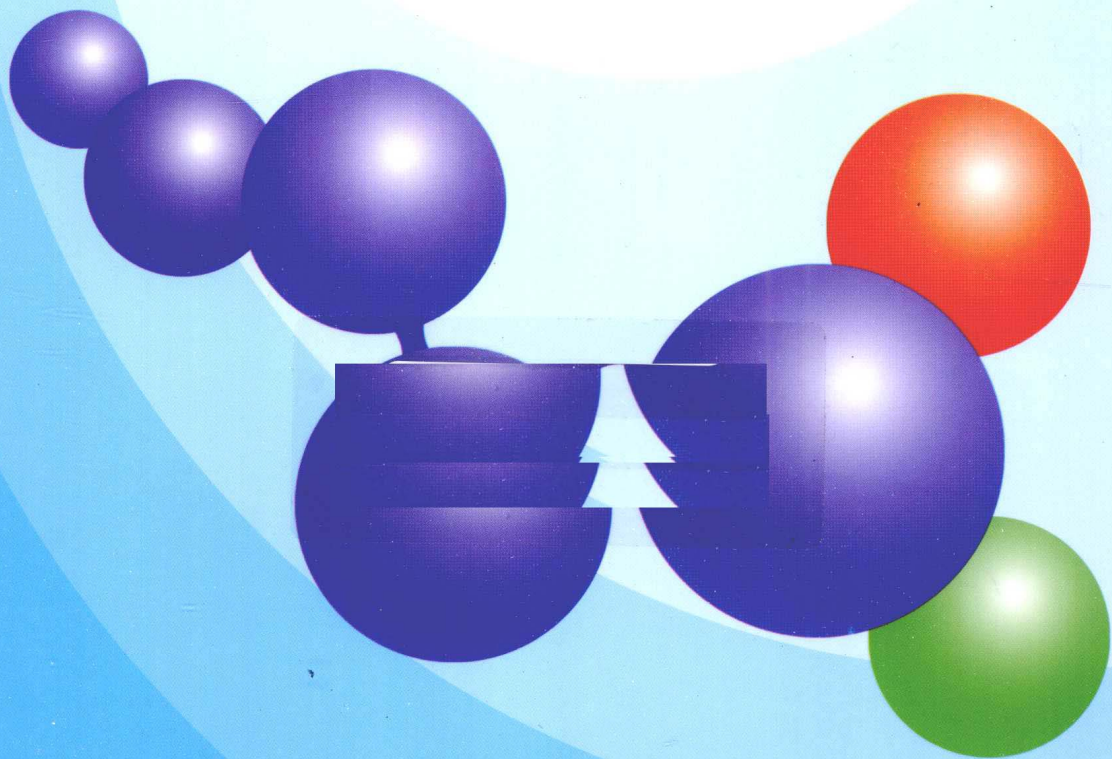


# 现代生物药剂学

主编 朱家璧



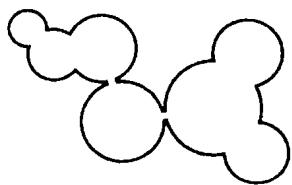
人民卫生出版社  
PEOPLE'S MEDICAL PUBLISHING HOUSE



# 现代生物药科学

— — —





---

# 现代生物药剂学

---

主 编 朱家壁

副主编 刘建平

编 委 (以姓氏笔画为序)

王 柏 朱家壁 刘建平 汤 玥

人民卫生出版社

## 图书在版编目 (CIP) 数据

现代生物药剂学/朱家璧主编. —北京: 人民卫生出版社, 2011.5

ISBN 978-7-117-14053-9

I. ①现… II. ①朱… III. ①生物药剂学 IV. ①R945

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2011)第 017006 号

门户网: <a href="http://www.pmph.com">www.pmph.com</a>	出版物查询、网上书店
卫人网: <a href="http://www.ipmph.com">www.ipmph.com</a>	护士、医师、药师、中医师、卫生资格考试培训

版权所有, 侵权必究!

## 现代生物药剂学

主 编: 朱家璧

出版发行: 人民卫生出版社 (中继线 010-59780011)

地 址: 北京市朝阳区潘家园南里 19 号

邮 编: 100021

E - mail: [pmph@pmph.com](mailto:pmph@pmph.com)

购书热线: 010-67605754 010-65264830

010-59787586 010-59787592

印 刷: 尚艺印装有限公司

经 销: 新华书店

开 本: 787×1092 1/16 印张: 40

字 数: 997 千字

版 次: 2011 年 5 月第 1 版 2011 年 5 月第 1 版第 1 次印刷

标准书号: ISBN 978-7-117-14053-9/R·14054

定 价: 83.00 元

打击盗版举报电话: 010-59787491 E-mail: [WQ@pmph.com](mailto:WQ@pmph.com)

(凡属印装质量问题请与本社销售中心联系退换)

# 前言与导读

(代序)

## 一、“生物药剂学”的研究范畴和近年来发展

“生物药剂学”研究药物制剂投用于机体后在体内的所有过程及其巡行路线图。药物在体内的巡行过程大致包括吸收、转运分布、代谢以及排泄等环节,现已认知,不仅有药物的结构特征,同样包括药物的制剂学特征,还有机体的生理病理特征,这三个特征综合起来,最终才决定药物体内过程的巡行特征和疗效。换言之,具有理想结构的药物还需要制成理想的制剂,才能有理想的体内过程,使靶受体有理想的药物送达,从而发挥理想的药效和治疗作用。生物药剂学观测药物制剂在体内的巡行路线图,观测药物巡行中的遭遇,究明巡行的机制、规律性及可操控性,从而推进新型药物制剂及其处方、工艺的能动与定向设计,并指导药品的生产、质量控制和临床应用。生物药剂学作为一门很重要的生物与医药学科,近年来在药物跨生物膜和细胞内转运机制、转运器构造和功能、药物的生化代谢机制,以及基因药物的承载与转染过程等方面均有很多实验研究和发展;而关于中药制剂在体内生物药剂学过程的研究也颇具中国特色。但迄今国内外全面收集与反映生物药剂学理论基础与研究成果的著作甚少,特别是反映近十多年来本学科发展的书籍更是稀缺。为此我们本着历史使命感和紧迫感,花费不少心血编写了这本书,力图为生物药剂学的发展作出贡献。

## 二、编写过程

本书的编写得到了著者母校——中国药科大学的亲切关怀。由朱家壁教授任主编,编写了第五章,审校了第一、四、五、八、九、十一、十二章;刘建平教授任副主编,编写了第四、六、七章,审校了第二、七章,其中第六、七章还有张文丽博士、段子卿硕士协助编写。其余编写和审稿者为:王柏编写了第三、十三章;蒋曙光编写了第一、十二章,审校了第三、十、十三章;汤玥编写了第二、九、十章;姚静编写了第十一章,审校了第一、六、九章;郑春丽编写了第八章。特别指出:祁小乐博士和王丽双硕士为本书的事务联络、文字校对、作图表以及电子版排稿等方面做了大量重要和繁琐的工作。本书的出版还得益于人民卫生出版社的鼎力支持。在此一并表示衷心感谢!

## 三、本书导读

全书分3大部分:第一章到第四章为基础篇,全面阐述药物的体内过程。第五章较全面地介绍与生物药剂学密切相关的姐妹学科——药动学。第六章以后属于专论性质,反映了生物药剂学的进展。

第一章为“药物吸收”,该章指出:发挥全身作用的药物只有吸收入血,达到一定的血药浓度,才会出现药理效应,其作用强弱和持续时间都与血药浓度直接相关。药物的吸收可以

在口腔、胃、小肠、大肠、直肠、皮肤以及注射部位、肺、角膜和鼻黏膜等处进行。药物的吸收,虽与吸收部位有关,但通常是由相似的生物屏障控制,结构性屏障包括细胞膜、细胞连接(上皮)等。因此,本章首先从介绍生物膜及上皮的构造、组成及其性质入手,进而介绍药物吸收的一般机制,最后分别介绍口腔、胃、小肠、结肠和直肠的解剖与生理特征以及这些部位的吸收特征及其影响因素。

第二章为“药物分布”,该章介绍了药物分布的体内过程、影响分布过程的因素,以及药物向淋巴系统、脑、血细胞、胎儿分布的过程与特点,同时详细阐述了药物的体内分布与制剂设计研究、药物分布的研究方法等。

第三章为“药物代谢”,该章认为:药物代谢是药物体内配置的重要环节,本章概括了药物代谢基本过程和相关部位,重点介绍了药物代谢酶及药物代谢实验方法,特别是肝脏和肝外药物代谢作用,另外,简述了影响药物代谢因素和药物代谢动力学问题。

第四章为“药物排泄”,该章介绍了肾脏的结构与生理和药物在肾脏内的动态过程,描述缓控释制剂、载体微粒中药物的排泄,以及蛋白多肽类和中药的排泄过程。同时简单介绍药物的非肾排泄过程,分析影响排泄的因素,描述体内药物的消除及消除动力学,介绍清除率的概念和测定方法。对于了解药物的排泄机理,设计新型给药系统有较好的启迪作用。

第五章介绍与生物药剂学密切相关的姐妹学科——药动学及其临床应用。著者于国际上首次将药动学这门重要的医药工具学科归纳到运动学科的范畴之中,较完整地构建与规范了药动学的运动系统,对该系统的运动物质、运动空间与时间,以及药物运动的力学特征等都作了详细阐明。还对药动学的3种研究方法——模型化方法、黑箱方法以及统计学方法的要点作了介绍。通过以上阐述,将药动学几十年发展的成果构建成药动学结构性理论平台,对今后药动学理论的发展有重要指导作用。本章还对药动学近年来发展的一些分支领域成果,包括吸收动力学、药动-药效学、生理药动学模型、统计矩理论,以及临床药动学等也作了一定篇幅的介绍,内容新颖全面,对开展现代药动学研究具有很好的参考价值。

第六章为“口服制剂的生物利用度和生物等效性”,该章结合新药开发介绍了生物利用度和生物等效性的概念和研究意义,对生物利用度基本要求、实验方法以及生物等效性的评价方法和统计分析等进行描述,并举例加以佐证。

第七章为“新型中药制剂的剂型设计与体内过程”,该章介绍了中药的吸收、分布、代谢与排泄过程,分析其影响因素,同时对目前中药制剂的生物药剂学研究方法以及采用的新的分析技术和方法也进行了描述。

第八章为“新型口服药物释放系统及其体内过程”,该章介绍了生物药剂学分类系统的科学依据和肠渗透性评价方法,并基于生物药剂学分类系统进行新型口服制剂的处方设计;为适应新型口服释药系统复杂的释放和吸收特征,介绍消化道仿真吸收模型和处理方法:隔室吸收与模型、胃肠道通行与吸收模型、Grass模型及Willmann管状生理模型等。

第九章为“呼吸道给药及其体内过程”,该章介绍了呼吸道给药及其体内过程,首次全面概括了呼吸道的生理特征、药物的吸收机制、药物吸收的研究方法、影响呼吸道吸收的因素。

第十章为“蛋白质与肽类药物的生物药剂学”,该章介绍了蛋白质与肽类药物的生物药剂学,包括蛋白质与肽类药物的结构与性质,该类药物的吸收、分布、代谢和排泄等体内过程,该类药物的给药途径和剂型等。

第十一章为“基因药物载体介导和体内转运”,该章指出:基因治疗是最终解决基因变异所引发疾病的首选策略,其中高效、低毒、靶向性基因载体是基因治疗成功的关键。本章首

先介绍了基因药物的胞外和胞内转运的体内转运过程,进而概述了基因转运载体的最新研究进展。

第十二章为“药物转运器”。药物转运器在药物的吸收、分布、代谢和排泄等方面均扮演重要角色,一定程度上决定着药物的体内命运、治疗效果与毒副作用。本章介绍药物转运器的概念、结构、转运机制及其分类,介绍药物转运器在肠道、肝脏、肾脏以及血脑屏障等的组织分布,最后对主要的 ABC 转运器与 SLC 转运器作了概览。

第十三章为“细胞模型及其应用”,该章指出:鉴于近二十年来细胞模型在药物研究和新药开发中日益彰显的重要作用和作用,本章介绍了常见细胞平台,尤其着重介绍了 Caco-2 和 MDCK 细胞模型制备、实验方法、模型研究和应用研究,并总结了 Caco-2 在药物处方研究中的应用;随着药物递送系统研究日益广泛,本章也介绍和讨论了比二维细胞系统更加接近体内环境的三维细胞培养系统及其在纳米粒载体研究中的应用。

本书可作为医药院校教师和博士生、硕士生和本科生的参考著作,对药物合成、药物制剂、药理、生化、临床等研究工作者和医师、药师、检验师、医药工程师等也有很好的阅读与参考价值。由于编写较匆促,文中疏漏和错处在所难免,敬请专家和广大读者不吝赐教。

朱家璧 执笔  
2010年11月于南京

## 药物吸收

### 第一节 生物膜与上皮

动物细胞的表面包围着一层极薄的膜,称为细胞膜(cell membrane),又称质膜(plasma membrane)。除质膜以外,在真核细胞中还有构成各种细胞器的膜,称为细胞内膜(intracellular membrane)。相对于内膜,细胞膜也被称为外周膜(peripheral membrane)。细胞膜和细胞内膜统称为生物膜(biological membrane, biomembrane)。

生物膜的真正发现和确证存在溯源于 20 世纪 30 年代,近几十年来有关生物膜的研究发展很快,生物膜的研究作为生命科学各分支的汇集点已经成为生物科学的一个极为活跃的领域,受到生理、生化、生物物理、细胞生物学、免疫学、药学及临床医学等许多方面的重视,也吸引了一些物理学家和化学家从事生物膜的研究。目前,生物膜的研究已成为分子生物学研究的重点之一。

生物膜是生命活动的主要结构基础。许多基本的生命过程,如能量转换、物质转运、信息识别和传递、细胞发育和分化、细胞的吞饮与分泌作用、药物和毒物的作用、新陈代谢的调控、细胞癌变等都和生物膜密切相关。人体是由约 1800 亿个细胞构成 1 个完整的有机体,膜结构对细胞内环境的恒定、细胞的生存及其活动的协调一致起着至关重要的作用。

物质通过生物膜(或细胞膜)的现象称为膜转运(membrane transport)。膜转运对于药物的吸收、分布、代谢和排泄过程十分重要,是不可缺少的重要生命现象之一。药物的吸收过程就是 1 个膜转运的过程。因为吸收过程中药物必须先进入吸收部位一侧的细胞,于细胞另一侧释放出来,再进入附近的血管或淋巴管,从而输送到身体的其他关部位。药物的吸收,虽然也与吸收部位有关,但通常是由相似的屏障来控制的,结构性屏障有细胞膜、细胞连接(上皮)等。

#### 一、细胞的膜系统

生物膜是细胞的重要组分,具有独特的结构与功能。细胞中的生物膜包括质膜、内质网膜(endoplasmic reticulum membrane)、高尔基体膜(golgi apparatus membrane)、线粒体膜(mitochondria membrane)、溶酶体膜(lysosomal membrane)、过氧化酶体膜(peroxisome membrane)、核膜(nuclear membrane)等。细胞的膜系统处于不断的动态变化过程中,各自担负有独特的功能,各种膜之间都存在着密切联系<sup>[1-3]</sup>。



质膜是动物细胞的最外层结构,是细胞活动的关键调节单位,是最为复杂、功能最多样的一种膜系统,也是目前研究得最多的膜系统。

内质网是细胞浆中复杂的膜系统,它把细胞浆分隔成许多小间。形态上内质网可分为粗面内质网和光面内质网。粗面内质网上含有核糖体(ribosome),核糖体通过大亚基与膜结合,一些分泌蛋白和膜蛋白就在核糖体上合成。光滑内质网则与固醇类物质、磷脂、多糖的合成以及药物的代谢有关。

高尔基体也称高尔基器,它与细胞内物质传递有关,起着工厂装配线的作用。质膜蛋白上糖基的最后装配就在高尔基体完成。合成蛋白输送到高尔基体后经过暂时贮存、浓缩,最后以胞饮的逆过程形式把物质送到质膜之外。

线粒体由内膜与外膜两层膜包围组成。内膜折叠成嵴,是氧化、磷酸化的场所,号称细胞的发电厂。外膜与内质网膜有关,基质中含有三羧酸循环等重要酶系以及转录、转译系统。

溶酶体是单层膜包裹的一种细胞器。溶酶体中含有各种水解酶,能水解细胞中各种组分:蛋白质可水解成二肽或游离氨基酸,复合多糖可水解成寡多糖或单糖,核酸可水解成核苷和磷酸,中性脂和磷脂可水解成游离脂肪酸和甘油或甘油磷酸二酯,鞘磷脂可水解成鞘氨醇、脂肪酸、无机磷和胆碱等。

过氧化酶体膜是由单层膜包围的球状细胞器,其中所含的酶与过氧化氢的形成和破坏有关。

核膜包围核,由两层膜组成,其外膜与内质网膜有联系。核膜的某些地方有孔隙,称为核孔。核孔与细胞核和胞浆之间的物质交流有密切关系,在代谢的调控方面起很大作用。

## 二、生物膜的结构

不同的生物膜有着不同的生物功能,但在结构上有着明显的共性:形态上,生物膜呈薄片结构,厚度只有6~10nm,即只有几个分子厚;化学组成上,生物膜主要由膜脂(membrane lipid)和膜蛋白(membrane protein)借助非共价键结合而形成,糖基则通过共价键与某些膜的脂质或蛋白质结合。不同生物膜的脂质与蛋白质所占的比例不同,范围可从1:4到4:1。一般而言,功能复杂或多样的生物膜中膜蛋白比例较大。生物膜上尚含少量的水和无机盐。膜上的水中约有20%呈结合状态,其余则是自由水。膜上金属离子和一些膜蛋白与膜的结合有关,其中钙离子对于调节膜的生物功能具有重要作用。

### (一) 脂质双分子层是生物膜的基本结构<sup>[2-4]</sup>

生物膜的结构主要是由膜脂和膜蛋白等相互作用,以非共价键方式相互缔合而成的脂双层结构。主要的分子作用力有:①范德华分子引力。它存在于极性基团之间而依赖于两者之间的距离;②静电力(库仑力)。它主要存在于膜表面与水的交界处,包括磷脂的极性基团与蛋白的荷电基团之间的相互作用力;③疏水效应。膜在水中的形成必须打破水分子之间氢键的抗拒而成膜;④立体排斥力。脂质分子聚集靠近时发生斥力,斥力的大小依分子的形状和大小而不同,脂质聚集时,与疏水效应有关的自由能下降将决定聚集体是否形成,而聚集体的大小和形状又取决于分子的几何排列及分子间的相互作用力。

膜脂的组成成分主要有磷脂、糖脂、胆固醇等。磷脂有许多种,糖脂也因糖基的不同而有许多种。生物膜中含有种类众多的脂质,可能与适应不同的膜蛋白构象有关,但膜脂都有共同的结构特点:它们都是两亲性分子,既含亲水部分又含疏水部分,如表1-1所示。磷脂就是双亲性脂,它具有亲水的磷脂酰基极性头部和疏水的脂肪酸链非极性尾部。糖脂也有

与磷脂相似的构象,糖基构成极性头,脂肪酸链与神经鞘氨醇(sphingosine)的碳氢链则构成两条疏水尾。

表 1-1 膜脂的亲水部分与疏水部分

膜 脂	亲水部分	疏水部分
磷酸甘油酯 phosphoglyceride	磷脂酰醇基	脂肪酸链
鞘磷脂 sphingomyelin	磷脂酰胆碱	脂肪酸链与神经鞘氨醇的碳氢链
糖脂 glycolipids	糖基	脂肪酸链与神经鞘氨醇的碳氢链
胆固醇 cholesterol	C <sub>3</sub> 上的一OH	除一OH外的整个分子

磷脂与糖脂的结构特点使得它们在水溶液中能自动形成胶束(micelle)或片状双层结构。它们的极性头通过静电引力和氢键作用对水具有亲和力,因而朝外面向水,而疏水尾端则互相聚集向内,尽量避免与水接触,成为热力学上稳定的脂质双分子层结构。除磷脂和糖脂外的其他膜脂,如脑苷脂(cerebroside)与胆固醇,也具有两亲性,在参与脂质双分子层构建时与磷脂的分子排列一致。

## (二) 生物膜的流动镶嵌模型<sup>[2-4]</sup>

在脂质双分子层的基础上,科学家们提出了不少生物膜结构的模型,其中最重和受到广泛支持的有液晶镶嵌模型(liquid crystal mosaic model)和流动镶嵌模型(fluid mosaic model)两种,其实它们在本质上是一致的。生物膜的动态构型是由液晶态结构决定的。结构中因某些有机物如磷脂的存在,当处于液晶态时,对光、电、热等外界刺激就特别敏感,而且还有存储信息的功能。液晶是物质由固相转向液相的一种过渡状态,它既有液体(流体)的流动性又有固体(晶体)的光学特征(双折射率、旋光性等)。

流动镶嵌模型则由 S. J. Singer 和 G. Nicolson 于 1972 年提出,如图 1-1 所示,该模型将脂质双分子层视为膜的“构架”,球蛋白分子有的镶在脂质双分子层的表面,有的则部分或全部嵌入其内,有的横跨整个脂质双分子层。膜上的蛋白质可分为两大类,镶在膜内、外表面的称为外在蛋白(extrinsic protein)或周边蛋白(peripheral protein);嵌入膜内的蛋白或横跨全膜的蛋白称为内在蛋白(intrinsic protein)或整合蛋白(integral protein)。该模型有两个主要特点:一是强调了膜的流动性(flowability),二是膜蛋白和膜脂分子分布的不对称性(asymmetry)。

该模型提出者们认为,膜分子之所以能聚集在一起,主要是蛋白-蛋白、蛋白-脂质、脂质-脂质之间相互作用的结果,属于非共价键的相互作用。按热力学原理,当非共价键的相互作用达到最大时,自由能降低到最小,膜结构就能维持稳定。在细胞内外的水性环境中,磷脂和蛋白质的疏水基团远离水,而膜蛋白、膜脂和糖基的极性基团亲近水。膜蛋白中暴露于水性环境的部分由亲水的氨基酸组成,而嵌在脂双层的部分由疏水氨基酸组成。至于细胞中各种膜的不同活性和特异性,可能是由于膜蛋白的种类不同所致。大部分膜是不对称的,其内、外表面及内部分布有不同数量及不同功能的蛋白质。例如红细胞膜糖脂,糖蛋白只分布在膜的

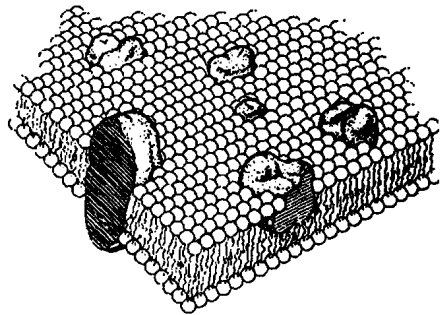


图 1-1 生物膜的流动镶嵌模型

外表面。此外,脂双层的内、外两层脂质分子的分布也是不对称的。

流动性是生物膜结构的重要特征。研究表明,合适的流动性对生物膜表现正常功能具有十分重要的作用,例如能量转换、物质传递、信息传送、细胞分裂、细胞融合、内吞外排及激素作用等都与膜的流动性有着密切联系。

对生物膜的流动镶嵌模型,近来有所补充:膜脂质呈现多形性与其组分有关,一般认为磷脂酰胆碱及鞘磷脂在生物膜上往往形成稳定的脂质双分子层结构,而含不饱和脂肪酸链的磷脂酰乙醇胺(phosphatidylethanolamine, PE)、单葡萄糖甘油二酯及单半乳糖甘油二酯(monogalactosyl diglyceride)则容易形成六角形结构,以便适应生物膜的某些重要生理功能。无论是双分子层的层状结构或者六角形结构,都支持了膜的液晶态结构本质。

近些年来,对膜组分的动态结构、膜组分之间的关系、膜的不对称性、流动性等等均有大量深入的研究,不仅深化了对膜的结构与功能的认识,也进一步支持、完善了“流动镶嵌模型”。现在,对膜的分子结构已有了较为一致的认识,生物膜分子结构的一般模型如图 1-2 所示。

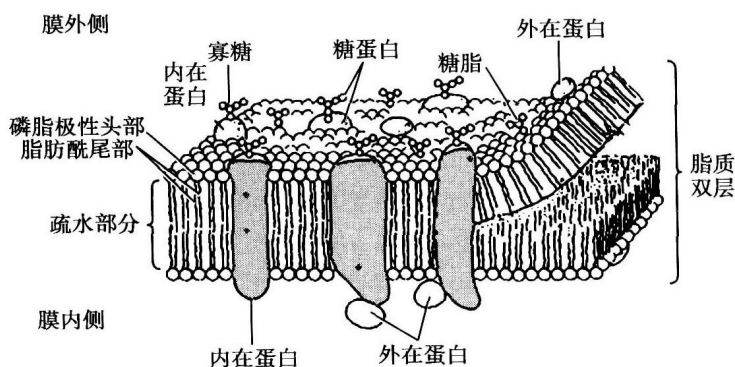


图 1-2 生物膜分子结构的一般模型

流动镶嵌模型仍存在着不足之处。研究发现,在膜蛋白的周围有相对固定的脂层,称为界面脂。由于界面脂相对于膜蛋白是不流动的,所以膜内可流动的脂质应少于按全部脂质均为流动态的估计。此外,尚存在膜的局部相交(分相现象)、膜脂的小片状流动和膜蛋白对脂质流动的影响等等。因此,又有人提出晶格镶嵌模型,认为膜蛋白分子与界面脂形成脂质-蛋白晶格,晶格间依据不同种生物可含有不同量的流动脂,晶态和液晶态可以分相和发生相交。

### (三) 细胞外被<sup>[1-3]</sup>

细胞外被(cell coat)也称细胞被,由构成质膜的糖蛋白和糖脂伸出的寡糖链组成,实质上是质膜结构的一部分。糖蛋白的蛋白部分嵌于质膜的脂双层内;糖脂的脂类部分埋在脂双层中。糖蛋白和糖脂的寡糖链部分全部伸向质膜的外表面,如图 1-3 所示。现已知蛋白多糖(proteoglycan)是一长的多糖链共价连接到蛋白的核心,主要存在于细胞外;但位于整合膜的蛋白多糖,其蛋白核心横跨脂质双分子层,糖链伸展到膜的外表面,或通过糖基磷脂酰肌醇(glycosyl-phosphatidyl inositol, GPI)锚连到脂质双分子层。因此,现在一般承认这些物质是细胞膜的正常组分。由于细胞外被存在于细胞表面,所以也称为细胞表面(cell surface)。不过也有人将细胞表面作为细胞膜与细胞外被的总称,或认为细胞表面包括细胞

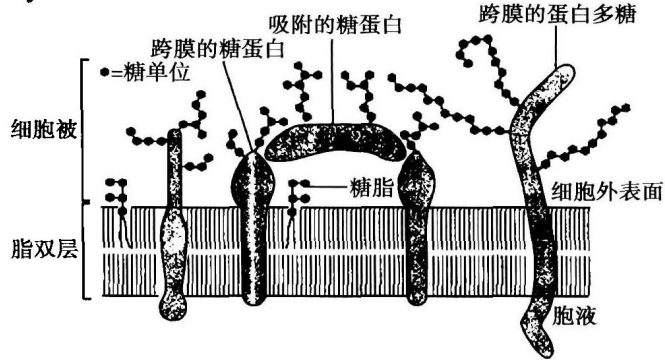


图 1-3 细胞外被示意图

被、微绒毛和细胞外部结构。还有人认为细胞表面是由细胞外被、质膜和质膜下胞质溶胶组成的。位于哺乳动物小肠上皮细胞的细胞外被又称为糖萼(glycocalyx)。

在细胞外被的外侧,常附有细胞外基质(extracellular matrix),主要为细胞分泌的含糖的大分子,如糖蛋白、蛋白多糖等等。这类物质在一些细胞很丰富,而在大部分细胞膜外则不明显,且细胞外基质与细胞被的糖蛋白、糖脂很难明显区分。

自然界存在的 100 多种单糖中,仅有 9 种左右的单糖存在于膜的糖蛋白和糖脂中。主要有半乳糖(galactose)、甘露糖(mannose),岩藻糖(fucose)、半乳糖胺(galactosamine)、葡萄糖胺(glucosamine)、葡萄糖(glucose)和唾液酸(sialic acid)等。唾液酸残基通常存在于糖侧链末端,带负电荷,它是真核细胞的标志。糖脂和糖蛋白的寡糖链通常不足 15 个糖基,常有分支,糖脂和糖蛋白通过不同的共价键与糖结合。在不同细胞的细胞外被内,寡糖链的排列组合多种多样。

细胞外被中寡糖的多样性及其在细胞表面的位置,有利于细胞的识别与相互作用。例如,结合质膜的外源凝集素(或称植物血凝素,lectin)能识别糖脂和糖蛋白特异的寡糖,介导各种暂时的细胞-细胞黏附过程,包括发生在精子-卵子的相互作用、血液凝固、淋巴细胞再循环作用以及发炎反应等等。

细胞外被处于细胞表面,能保护细胞免受机械和化学损伤。在细胞外被中的寡糖和多糖链能吸收水分而使细胞表面黏滑,这有助于一些能动的细胞(如白细胞)通过窄的缝隙,并防止血细胞彼此黏着或黏着于血管壁。此外,细胞外被还与细胞的许多重要功能有关,如细胞-细胞识别和黏附、细胞与环境的相互作用、细胞增殖的接触抑制等。另外,膜抗原(包括血型抗原)、一些特异性受体和一些有关的酶均位于细胞外被内。血型抗原是研究最深入的细胞表面抗原之一,它也是说明细胞外被中糖类作用的最好例证。

#### (四) 模拟生物膜的人工模型<sup>[3,4]</sup>

生物膜的模拟是研究生物膜的一个重要的必不可少的手段。生物膜的通透性质、膜上各种脂的作用以及脂与蛋白质的相互作用等,都需要通过能模拟生物膜的人工模型的研究来加以阐明。

目前,平面双层脂质膜(flat bilayer lipid membrane)与脂质体(liposome)两种人工膜模型研究最多。这两种模型各有优点,作为生物膜模型的人工膜,均具备以下特点:化学组成及厚度与天然膜相似;能有效地分开两侧不同的水相;具有结构和化学的两侧不对称性;易于操作,能用来研究膜的向量功能。

平面双层脂膜如图 1-4 所示,由脂质在两水相之间的小孔中形成,直径为几毫米,厚度只有 5nm。由于平面双层脂膜的厚度只有可见光波长的几十分之一,因此它完全透明而不反射光,在观察时呈黑色,故也称之为黑脂膜(black lipid membrane)。平面双层脂膜可用于研究膜电位、pH 梯度、离子梯度等,其主要缺点是:膜面积太小,稳定性差;在它的平均寿命内能通过的物质太少,不易精确分析;在操作技术上,由于双层平面膜很薄,因此防震问题是实验操作中的关键。

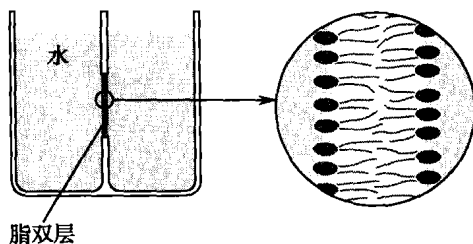


图 1-4 平面双层脂膜示意图

脂质体是利用人工方法将生物磷脂或合成磷脂制成的一种脂质双分子层包围水溶液内腔的微球体,其粒径处于 5nm~5 $\mu$ m 之间。脂质体作为一种运载工具,可把含有特殊功能的生物大分子(如酶、抗体、核酸,甚至单个基因等)以及小分子药物等,通过其脂质双分子层膜与生物体细胞的相互作用(包括膜融合、吞噬等),定向地导入特定的细胞中,从而达到诊断、治疗各种疾病或改变细胞代谢和遗传特性等应用目标。近年来,特别是携带有特异抗体或抗原的脂质体(免疫脂质体)的成功应用,使靶向递送成为可能。

脂质体的特点包括:①与生物体细胞彼此相容,无毒性及免疫原活性,因而不产生免疫排斥;②可以生物降解,不会在体内积累;③可以制成直径 0.03~50 $\mu$ m 大小的球体,因而能包含不同大小的生物活性分子;④可以带有不同表面电荷,因而可与不同表面电荷的细胞膜相互作用;⑤具有不同的膜脂流动性、稳定性及温度敏感性,因而可以适应不同的生理要求。

脂质体通过与细胞膜特定的相互作用来发挥作用。脂质体可能有以下 5 种作用方式:①吸附于细胞表面;②脂质体与细胞膜发生磷脂交换,但不交换其内含物;③膜相互融合,可以导入生物活性分子,如菌、毒素蛋白、信使核酸或基因等到细胞中;④内吞,巨噬细胞可以吞噬不同大小和不同表面电荷的脂质体,带表面正电荷和单层膜脂质体更易于被吞噬,携带抗体和糖基的脂质体通过受体介导作用而被吞噬,但直径不能大于 0.15~0.2 $\mu$ m;⑤某些细胞可引起脂质体泄漏,如成纤维细胞、肝癌细胞等。从生理和应用这两方面来看,5 种方式中,以吞噬和融合是脂质体最为普遍和重要的作用方式。

### 三、膜脂与膜蛋白

#### (一) 膜脂

膜脂以磷脂为主,有时还含有胆固醇和糖脂。膜脂是膜的基本骨架,是生物活性物质(酶、受体等)作用的舞台。生物膜是一个非常复杂的体系,约含 100 种不同的脂质,膜脂的组成(例如,胆固醇/磷脂的比值)发生 1%~2% 的变化就足以影响细胞的存活。膜脂的种类繁多,这是因为膜脂的极性头有多种,脂肪酸链因其长短和饱和度不同又有多种,糖脂也因糖基不同而有多种,这种膜脂的多样性适应于不同的膜功能。

概言之,膜脂不仅构成膜的支架,为膜蛋白(包括酶)维持构象、表现活性提供适宜环境(一般膜脂本身不参与反应,但细菌例外),而且膜上多种酶的活性依赖于膜脂的存在。去掉脂质,酶即失去活性,加上脂质又可恢复其活性。有些膜蛋白只有在特异的磷脂头部基团存在时才有功能。磷脂的极性端对维持膜上酶蛋白的活性是必需的,其作用机制尚待进一步研究<sup>[5,6]</sup>。

1. 磷脂 磷脂是含有磷酸基团的复合脂质,具有不均一性和高度混杂性。磷脂可以分为磷酸甘油酯(或称甘油磷脂)和鞘磷脂两大类。膜磷脂主要是磷酸甘油酯(phosphoglyceride),它以甘油为骨架,甘油 1 位与 2 位的 2 个羟基与 2 条脂肪酸链生成酯,3 位的羟基与磷酸成酯,具有 1 个极性头和 2 个非极性尾,如图 1-5 所示,但存在于线粒体内膜和某些细菌质膜上的双磷脂酰甘油具有 4 个非极性的区域。

磷酸甘油酯是其他磷酸甘油酯的前体,其磷酸基团可以与其他醇生成酯而形成各种磷脂,如磷脂酰乙醇胺(phosphatidyl ethanolamine, PE, 脑磷脂)、磷脂酰丝氨酸(phosphatidyl serine, PS)、磷脂酰胆碱(phosphatidyl choline, PC, 卵磷脂)、磷脂酰肌醇(phosphatidyl Inositol, PI)、磷脂酰甘油(phosphatidyl glycerol, PG)和双磷脂酰甘油(cardiolipin, CL)等。PE 占膜脂的 30%以上,是植物和动物中最丰富的磷脂;在动物细胞膜中 PS、PI 各约占 10%, PG 很少。

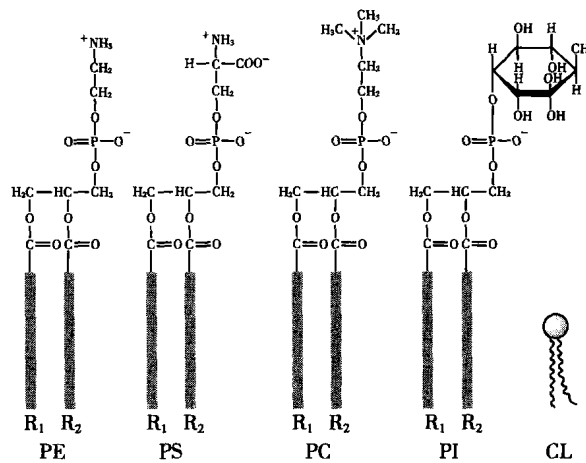


图 1-5 不同类型的磷酸甘油酯

鞘磷脂(sphingomyelin, SM)在脑和神经细胞膜中特别丰富,亦称神经醇磷脂,原核细胞和植物中没有鞘磷脂。鞘磷脂的结构和构象与 PC 相似,但以神经鞘氨醇(sphingosine)代替甘油为骨架,而且只与一条脂肪酸链组成疏水尾部,亲水头部也含胆碱与磷酸结合。

在生理条件下,PG、PI 和 CL 由于磷酸基团的电离而带有负电荷,PS、PE 和 PC 可以带正、负两种电荷。磷脂分子的各种电离基因的 pK 值受环境的影响,如 pH、离子强度、二价正离子。

磷脂分子在膜结构中所表现的结构形态取决于其分子特点,磷脂分子所形成的稳态膜结构应使磷脂分子间范德华力作用达到最大,并使分子间距达到最小。不同种类的磷脂在膜结构中的结构形态取决于其极性头及非极性尾的物理化学性质,而在生理条件下和充分水合作用下,大部分磷脂分子基本上采取片层结构。磷脂分子脂肪链不饱和度降低或链长缩短,增加了分子的有序性,从而使脂肪链间的作用加强,膜流动性降低。二价正离子的存在,比如 Ca<sup>2+</sup> 的存在,会导致磷脂分子极性头表现脱水作用,并形成 Ca<sup>2+</sup>-磷脂复合物,从而导致脂质沉淀和螺旋状脂(cochleate ester)柱形体结构的出现。鞘磷脂对内外因素相对不敏感,在很大范围内采取片层结构。

2. 糖脂 糖脂是含糖的脂类,是神经鞘氨醇的衍生物,结构与鞘磷脂相似,只是糖基代

替了磷脂酰胆碱而与神经鞘氨醇的羟基结合。最简单的糖脂是脑苷脂,它只有 1 个单糖残基,可以是葡萄糖或半乳糖。神经节苷脂是比较复杂的糖脂,含有多达 7 个糖残基的分支链。神经节苷脂本身就是一类膜受体,现已知破伤风毒素、霍乱毒素、干扰素、促甲状腺素、绒毛膜促性腺激素、5-羟色胺等的受体就是不同的神经节苷脂。

3. 胆固醇 胆固醇为中性脂,主要存在于动物细胞中,在高等植物中极少,在原核细胞膜内不存在。一些真核细胞(如红细胞、肝细胞及髓鞘神经细胞)的质膜中含有相当量的胆固醇,可能起着调节生物膜中脂质物理状态的作用。

胆固醇对复合磷脂体系的相态变化有双重作用。在相变温度以上,胆固醇可以降低膜的流动性和通透性,从而使膜趋于凝固胶态;而在相变温度以下,胆固醇可以降低磷脂膜体系分子间的有序排列,抑制膜体系从液晶态向结晶态的相变,保持膜的流动性,实际上降低了磷脂膜系统的相变温度。

4. 膜脂质的脂肪酸侧链 在膜脂质中,脂肪酸侧链组分也有相当的变动范围。绝大多数膜脂脂肪酸侧链均含偶数个 C,其中含 C<sub>16</sub>、C<sub>18</sub>、C<sub>20</sub> 脂肪酸的约占 80% 以上,膜脂的脂肪酸侧链可含 1~6 个不饱和键,但是,C 的个数与不饱和键的个数的比例为 18:1、18:2 和 20:4 的几乎占 90% 以上。脂肪酸碳链的长短和不饱和键的多少与膜脂的流动性相关。若脂肪酸碳链中有一个双键形成,则发生几何异构现象。例如,硬脂酸(18:0)的熔点为 70℃,但若含有一个双键的油酸,其熔点则低至 14℃,若含更多的双键则熔点更低。

## (二) 膜蛋白

膜蛋白是构成细胞膜的重要组分,是膜功能的主要体现者。因此,膜中蛋白质的种类和数量反映了膜功能的复杂程度。如神经髓鞘主要为神经纤维的绝缘体,含有大量脂质,蛋白质只有约 25%(质量分数)。而功能较复杂的、参与能量转换的线粒体内膜和叶绿体片层膜,蛋白质含量可高达 75% 左右。一般真核细胞的质膜,含有多种酶、受体、转运蛋白等等,蛋白质含量约为 50%。

根据在膜中所处的位置以及与膜脂相互作用的方式不同,膜蛋白可分为 2 类:外周蛋白与内在蛋白(固有蛋白),如图 1-1、1-2 所示。外周蛋白的主要特点是分布在膜的内、外表面,水溶性,由离子键或其他较弱的键与膜表面的蛋白分子或脂类分子结合。线粒体膜上的细胞色素 C、己糖激酶、F<sub>1</sub>-ATP 酶、红细胞膜的纤维状蛋白、髓鞘的碱性蛋白等均属此类。内在蛋白嵌入脂质双分子层,多为跨膜蛋白,其疏水区域与脂质双分子层中脂质分子的疏水尾部相互作用,亲水区域暴露于膜的一侧或两侧表面,因此这些蛋白质亦为两亲性分子,其中疏水性氨基酸比例较高。这些膜蛋白,有的是物质转运的载体,有的是激素、神经递质或药物的受体,有的是酶,有的是具有个体特异性的组织相容性抗原、传递信息的信号分子等等。

在三级结构特征上,膜蛋白与多数蛋白完全不同。膜蛋白处于生物膜内部高度疏水的环境之中,其膜内部分形成  $\alpha$  螺旋, $\alpha$  螺旋是除末端外主链完全氢键化的二级结构,其极性侧链在氢键的作用下被包绕在螺旋之内,而疏水侧链则暴露于外,与膜的疏水区发生作用。 $\alpha$  螺旋有一侧的表面集中了大量的疏水侧链基团(称为  $\alpha$  螺旋的外侧),暴露于膜的疏水内层;而  $\alpha$  螺旋的另一侧面(称为  $\alpha$  螺旋的内层表面)则含有带电的亲水侧链基团,它们以互补的形式与另一个  $\alpha$  螺旋内层表面上的亲水侧链基团发生作用。蛋白的膜外端常有极性氨基酸(如精氨酸、赖氨酸、组氨酸、谷氨酸和门冬氨酸等)能与脂质双分子层的磷脂极性头部相互作用。膜内端的疏水作用和膜外端的极性作用使整合蛋白锚定于膜脂质上,是脂质-蛋白相互作用的基础。

### (三) 膜蛋白与膜脂的结合方式

膜蛋白如何与膜脂相结合是膜分子结构中的重要问题。已知膜的外在蛋白较易于分离,而内在蛋白与膜结合紧密,需要用去垢剂(detergent)处理,采用凝胶电泳或二维电泳技术分离纯化,然后再使用X射线衍射技术或者电镜技术与电子衍射分析相结合来研究其三维结构。现在常用亲水性图(hydrophathy plot)技术来分析确定 $\alpha$ 螺旋跨膜的次数,从而确定不同的膜蛋白以不同的方式与膜脂结合<sup>[1,2,5,6]</sup>,主要有以下几类方式:

1. 膜蛋白以 $\alpha$ 螺旋单次或多次跨膜 许多膜蛋白横跨过脂质双分子层,在膜的两侧各露出一部分,为跨膜蛋白(transmembrane protein)。大部分跨膜蛋白是以 $\alpha$ 螺旋构象横越脂双层。有些多肽链是一次以单一的 $\alpha$ 螺旋通过脂质双分子层,如图1-6①所示,称单次跨膜蛋白(single pass transmembrane protein)。有些多肽链多次以 $\alpha$ 螺旋通过脂质双分子层,如图1-6②所示,称多次跨膜蛋白(multipass transmembrane protein),跨膜蛋白的疏水区域在脂质双分子层内与脂质分子的疏水尾部相互作用,亲水区域露在膜的两侧。有些跨膜蛋白在胞质侧通过氨基酸(如半胱氨酸)残基与脂肪酸链共价结合,脂肪酸链可插入胞质侧的脂质单层中,从而加强了膜蛋白与脂质双分子层的结合,如图1-6④所示。跨膜蛋白横跨脂质双层的节段大部分是由非极性侧链的氨基酸残基所构成。因为肽键本身是极性的,又因为无水,所以所有埋在脂质双分子层中的肽键被驱动而彼此形成氢键。如果多肽链形成有规则的 $\alpha$ 螺旋通过脂质双分子层,则肽键之间可最大程度地形成氢键。大多数多肽链的跨膜节段就是这样横跨脂质双分子层的。红细胞膜的血型糖蛋白(glycophorin)属于单次跨膜蛋白,斑带Ⅲ(band Ⅲ)、细菌视紫质(bacteriorhodopsin)则属于多次跨膜蛋白。

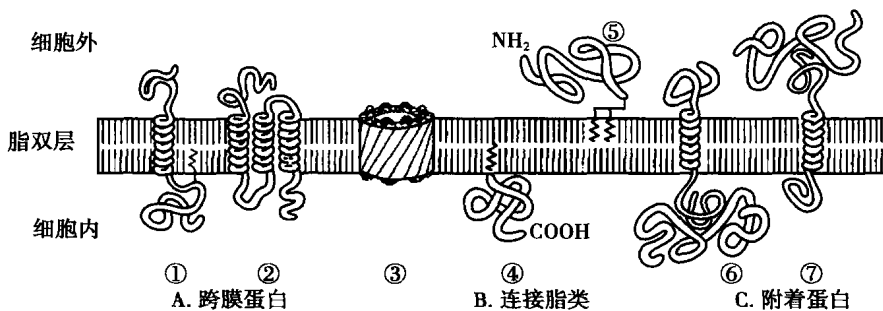


图 1-6 膜蛋白与脂质双层结合的几种方式(仿 B. Alberts 等<sup>[6]</sup>)

①膜蛋白以单一 $\alpha$ 螺旋横过脂质双层,有些膜蛋白将其共价连接的脂肪酸链,插入胞质面的脂单层;②膜蛋白以多个 $\alpha$ 螺旋横过脂质双层;③膜蛋白以 $\beta$ 筒横过脂质双层;④膜蛋白通过其共价连接的脂肪酸链或异戊烯基团,插入胞质面的脂单层;⑤膜蛋白通过其共价连接的寡糖,与非胞质面脂单层中磷脂酰肌醇连接;⑥、⑦膜蛋白通过非共价键与其他跨膜蛋白相互作用而附着于膜上。

2.  $\beta$ 筒( $\beta$  barrel)跨膜 一些多次跨膜蛋白,其跨膜节段不是 $\alpha$ 螺旋,而是排列成封闭的 $\beta$ 片,通常称为 $\beta$ 筒,如图1-6③所示。这可能是由于脂质双分子层中的肽键在无水情况下,强的驱动力使氢键的形成达到最大程度所致。例如孔蛋白(porin),它是形成孔道的跨膜蛋白,以 $\beta$ 筒横跨脂质双分子层,存在于许多细菌包括大肠杆菌的外膜中。

3. 通过与脂类基团共价连接 有些膜蛋白在膜的内表面,通过膜蛋白上一个或多个共价连接的脂肪酸链或其他类型的脂链(如异戊烯基团),与脂质双分子层连接,如图1-6④所示。另一些膜蛋白在膜的外表面,完全露于膜表面,通过膜蛋白上共价连接的寡糖,与质膜



外脂单层中磷脂酰肌醇连接,从而锚定于脂质双分子层,如图 1-6⑤所示。

4. 通过与其他膜蛋白的非共价相互作用 一些外在蛋白不能伸入脂质双分子层,仅通过与其他跨膜蛋白的非共价相互作用而结合到膜的胞质面或外表面,如图 1-6⑥⑦所示。这类蛋白一般用相对温和的提取方法,如用高或低的离子强度或 pH,即可将其从膜上分离下来。

5. 形成大的蛋白复合物跨膜 细菌的光合反应中心(photosynthetic reaction center)是最复杂的跨膜蛋白结构。膜蛋白排列成大的复合物,这不仅有利于收获各种形式的能量,也有利于转换细胞外的信号为细胞内的信号。

## 四、膜的流动性与不对称性

### (一) 膜的流动性

自 Singer 和 Nicolson 的“流动镶嵌模型”问世,膜的流动性已得到许多实验的证明和支持。由于实验技术不断创新,对生物膜组分运动状态的进一步研究,加深了对膜结构与功能的认识。一般认为,膜的流动性(membrane fluidity)是生物膜结构的基本特征之一。早期的概念主要是指膜脂质的脂肪酸链的运动状态,现在也包括了膜蛋白的运动。由单一磷脂制成的人工脂质双分子层,在其特性凝固点(characteristic freezing point)时,可从液体状态变化到晶态(或称凝胶态),这种状态的变化称为相变(phase transition)。同样,在一定温度下,构成膜的脂质可从流动的液晶态转变为晶态;晶态也可转变为液晶态。这种引起相变发生的温度称为相变温度。各种膜脂由于其组分不同而各有其相变温度。如果脂质的脂肪酸链短或具双键,则其相变温度低(即膜较难成为晶态),因为短链减弱了脂肪酸链尾部的相互作用,使其不易聚集在一起。

在含 2 种或 2 种以上的纯磷脂的人工脂质双分子层中,当温度降低至某一值时,可发生分相(phase separation)。这是由于不同磷脂的相变温度不同,在某一温度时,有的已转变为晶态,有的仍为液晶态。处于不同状态的磷脂分子各自分别汇集,以致形成相的分离。由于生物膜中脂质的组分比较复杂,即使在生理温度,也存在分相现象,从而形成一些流动性不同的微区。大量的研究表明,在相变温度以上时,液晶态的膜脂总是处于流动状态,而且膜脂分子具有不同形式的运动,膜蛋白也处于运动状态<sup>[1,2,5,6]</sup>。

1. 膜脂的流动性 可用多种物理学技术,如电子自旋共振、磁共振、差示热扫描等,来测量膜脂分子及其不同部分的运动。电子自旋共振技术中,人工建立脂质分子使其极性头部基团携带一个“自旋标记”,如硝基氧基团(nitroxide),作为磷脂膜流动性的探针。这种基团包含一个不配对的电子,其自旋产生的顺磁信号能够通过电子自旋共振谱(electron spin resonance spectroscopy, ESR)检测出来,这样膜脂质分子的运动及方位都易于测量。研究表明,脂质分子在相变温度以上时,有以下几种运动方式,如图 1-7 所示:

其一为旁向扩散(或称侧向扩散, lateral diffusion):在膜平面脂类分子很容易与同一层邻近的分子交换位置,速度约  $10^7$  次/秒,从而产生快速旁向扩散(或称侧向扩散),扩散系数( $D$ )约为  $10^{-8}$   $\text{cm}^2/\text{s}$ 。它意味着平均 1 个脂质分子在 1 秒内扩散的距离约为  $2\mu\text{m}$ (相当于 1 个大细菌的长度)。旁向扩散是膜脂的基本运动方式。

如图 1-7①所示。

其二为旋转运动(rotation movement):膜脂分子围绕其长轴与膜平面垂直地进行旋转,运动的平均相关时间约为  $10^{-6} \sim 10^{-9}$  s,而且膜脂的脂肪酸链有韧性,可弯曲,最大程度的弯