

# スフィンゴミエリンと植物ステロール誘導体との2成分単分子膜挙動

(長崎国際大薬) ○坂元 政一・中原 広道・柴田 攻

【目的】植物ステロールはアテローム性動脈硬化や循環器系疾患のリスクファクターであるLDL コレステロールの血漿中濃度を低下させる。そのため、近年、機能性食品や食品添加物としての需要が世界中で増加の一途を辿っている。そこで、本研究では、脂質ラフトの構成成分であるパルミトイルスフィンゴミエリン(PSM)と植物ステロール及びその誘導体より成る2成分Langmuir単分子膜挙動を明らかにする。そこで、植物ステロールの代表として $\beta$ シトステロール(SITO)、その誘導体の配糖体、 $\beta$ シトステリルグルコシド(SG)及びSGのパルミトイルエステル化体、 $\beta$ シトステリルグルコシドパルミテート(SGP)を用いた。

【方法】表面圧( $\pi$ )—面積( $A$ )は、Wilhelmy法により測定し、表面電位( $\Delta V$ )は、 $^{241}\text{Am}$ 電極と参照電極を用いた空気イオン化電極法により測定した。また、膜の表面形態情報は、ブリュースター角顕微鏡(BAM; KSV Optrel BAM 300, KSV)及び蛍光顕微鏡(FM; BX51WI, Olympus)により直接観察した。下相液は、0.13 M NaCl + 0.02 M Tris 緩衝液(pH 7.4)を用いた。

【結果及び考察】PSM 及び SITO、SG、SGP の各成分は、下相液[0.13 M NaCl + 0.02 M Tris 緩衝液(pH 7.4)]上で安定な単分子膜を形成した。その結果 PSM は、液体膨張(LE)/液体凝縮(LC)膜の共存状態を持つ膜で、SITO、SG、SGP は、LC 膜であった。また、 $\Delta V$ - $A$  曲線より、Demchak and Fort の three layer モデルを適用し、4 種の双極子モーメント[SITO ( $\mu_3^{\text{SITO}} = 0.8 \text{ D}$ )、SG ( $\mu_2^{\text{D-Gl}} = 2.5 \text{ D}$ )、SGP ( $\mu_2^{\text{SGP}} = 4.2 \text{ D}$  and  $\mu_3^{\text{SGP}} = 0.49 \text{ D}$ )及び PSM( $\mu_2^{\text{SPC}} = 1.3 \text{ D}$ )]を算出した。その結果、親水基の構造の相違が、双極子モーメントに反映することが明確となった。次に、 $\pi$ - $A$  曲線より2成分(PSM/SITO, PSM/SG, PSM/SGP)系の過剰ギブス自由エネルギー( $\Delta G^{\text{exc}}$ )を算出した。PSM 膜は他成分膜と、SITO>SGP>SG の順に引力的相互作用が働くことが判明した。更に、2成分系二次元相図を作成し、全系の転移圧と崩壊圧は PSM のモル分率の関数として変化し、両成分の混和挙動が示唆された。また、画像解析の結果からいずれの場合も双方の混和性の傍証を得た。植物ステロール及びその誘導体は、構造類似性の高い CHOL と競合阻害により CHOL の腸管吸収を抑制すると言われており、そのため、本研究は薬物動態の視点からも興味深い知見を与えた。

## Miscibility Behavior of Sphingomyelin with Phytosterol Derivatives by a Langmuir Monolayer Approach

S. SAKAMOTO, H. NAKAHARA, O. SHIBATA (Nagasaki International Univ., wosamu@niu.ac.jp)

The miscibility behavior of palmitoyl sphingomyelin (PSM) with phytosterol derivatives of  $\beta$ -sitosterol (SITO),  $\beta$ -sitosteryl glucoside (SG) and  $\beta$ -sitosteryl glucoside palmitate (SGP) has been systematically investigated by the Langmuir monolayer. The surface pressure ( $\pi$ )-molecular area ( $A$ ) and surface potential ( $\Delta V$ )- $A$  isotherms for the binary PSM/SITO, PSM/SG, and PSM/SGP systems on 0.02 M Tris buffer with 0.13 M NaCl (pH 7.4) have been measured as a function of molar fraction of PSM ( $X_{\text{PSM}}$ ). Surface potentials ( $\Delta V$ ) of pure components were analyzed using the three-layer model proposed by Demchak and Fort. The contributions of the hydrophilic D-glucose moiety, the hydrophobic palmitoyl group, and sphingomyelin group to the vertical component of the dipole moment ( $\mu_{\perp}$ ) were evaluated. The thermodynamic quantities based on  $\pi$ - $A$  isotherms reveal that PSM interacts attractively with all the three phytosterol derivatives in the following order; SITO>SGP>SG. In addition, the two-dimensional phase diagram constructed on the basis of phase transition pressure ( $\pi^{\text{eq}}$ ) from a liquid-expand (LE) to liquid-condensed (LC) state and of collapse ( $\pi^{\text{c}}$ ) pressure shows that all the two-component systems are miscible with each other. Miscibility manner between PSM/SG and PSM/SGP systems is found to be opposite at large  $X_{\text{PSM}}$  region, in which the interaction between the same molecules (PSM-PSM or SG-SG) is stronger than that between the different molecules (PSM-SG) in the PSM/SG system and vice versa in the PSM/SGP system. These results suggest that the incorporation of D-glucose and palmitoyl group to SITO molecule dramatically changes the miscibility behavior with PSM. The observations using fluorescence microscopy (FM) image also provide the miscibility behavior in the monolayer state.