

# 1. 一种人参皂苷Rb1脂质体及其制备方法

## 申请号

CN202210591268

## 申请日

2022.05.27

## 公开(公告)日

2022.07.15

## ipc分类号

A61K9/127

## 申请(专利权)人

江苏大学

## 发明人

曹霞; 吴博; 王启龙; 余江南; 徐希明

## 摘要

- ABSTRACT : 本发明公开了一种人参皂苷Rb1脂质体及其制备方法, 人参皂苷Rb1脂质体包括: 大豆卵磷脂、胆固醇、胆酸钠、肉豆蔻酸异丙酯和人参皂苷Rb1。制备方法为薄膜分散法。本发明制得的人参皂苷Rb1脂质体粒径小且分布均匀, 显著提高人参皂苷Rb1口服生物利用度及抗肿瘤活性, 应用前景广泛。

## 权利要求

1. 一种人参皂苷Rb1脂质体, 其特征在于包括: 大豆卵磷脂、胆固醇、胆酸钠、肉豆蔻酸异丙酯和人参皂苷Rb1。
2. 根据权利要求1所述的人参皂苷Rb1脂质体, 其特征在于: 各组份的质量百分比为: 大豆卵磷脂35%~45%、胆固醇3%~9%、胆酸钠25%~40%、肉豆蔻酸异丙酯15%~25%、人参皂苷Rb1 3%~7%。
3. 根据权利要求1所述的人参皂苷Rb1脂质体, 其特征在于: 各组份的质量百分比为: 大豆卵磷脂40.6%、胆固醇4.5%、胆酸钠31.5%、肉豆蔻酸异丙酯18.9%及人参皂苷Rb14.5%。
4. 根据权利要求1所述的人参皂苷Rb1脂质体, 其特征在于: 所述脂质体的粒径为30~200nm。
5. 一种根据权利要求1~4任一所述的人参皂苷Rb1脂质体的制备方法, 其特征在于: 采用薄膜分散法, 将大豆卵磷脂和人参皂苷Rb1加入有机溶剂中, 超声至完全溶解; 加入胆固醇, 胆酸钠和肉豆蔻酸异丙酯, 超声至完全溶解; 旋转蒸发去除有机溶剂至形成薄膜; 将所得薄膜由水化得到人参皂苷Rb1脂质体。
6. 根据权利要求4所述的制备方法, 其特征在于: 所述有机溶剂为乙醇或二氯甲烷。

## 说明书

一种人参皂苷Rb1脂质体及其制备方法

## 技术领域

本发明属于医药技术领域，特别涉及一种人参皂苷Rb1脂质体及其制备方法。

## 背景技术

人参皂苷Rb1(ginsenoside Rb1, GRb1)，一种天然化学成分，分布在五加科植物人参、三七、西洋参中。人参皂苷Rb1具有众多生物活性，对心血管系统、神经系统、免疫系统等疾病均有一定的治疗作用，临床应用前景广泛。但其口服吸收差及生物利用度低限制了其临床应用场景。

脂质体是目前研究较成功的纳米级药物载体，可以增强药物的溶解度和生物利用度，提高药物靶向性。脂质体通常由磷脂及附加剂组成。磷脂是一类含有磷酸的脂类，其结构特点是由脂肪酸链构成的疏水尾和醇类构成的亲水头组成。磷脂是重要的两亲性物质，可以作为乳化剂、表面活性剂及生物膜的重要组分。脂质体组成成分中的附加剂通常有胆固醇，具有调节膜流动性的作用，对脂质体双分子层的大小、体内的稳定性以及包封药物的含量具有重要影响。同时不同的附加剂可以满足不同药物对脂质体的不同需求，例如添加表面活性剂是为了提高脂质体的药物释放或包封率，添加胆酸盐达到提高稳定性的目的，添加亲水性聚合物如聚乙二醇镶嵌在脂质体表面免于被网状内皮系统的识别和摄取。

人参皂苷Rb1虽然药理活性广泛，但其口服生物利用度低限制了其临床应用。因此，本领域亟待开发一种能够改善人参皂苷Rb1口服生物利用度的药物载体。脂质体可以将药物包裹在磷脂双分子层内，可以增强溶解度，提高稳定性，延长体内循环时间，提高靶向性，有望解决人参皂苷Rb1口服生物利用度低的问题。

## 发明内容

本发明目的是针对现有技术的缺陷，提供了一种人参皂苷Rb1脂质体及其制备方法，能够有效解决人参皂苷Rb1口服生物利用度差的问题。

为了实现上述目的，本发明采用以下技术方案：一种人参皂苷Rb1脂质体，包括：大豆卵磷脂、胆固醇、胆酸钠、肉豆蔻酸异丙酯和人参皂苷Rb1。

进一步的，各组份的质量百分比为：大豆卵磷脂35%~45%、胆固醇3%~9%、胆酸钠25%~40%、肉豆蔻酸异丙酯15%~25%、人参皂苷Rb1 3%~7%。

优选的，各组份的质量百分比为：大豆卵磷脂40.6%、胆固醇4.5%、胆酸钠31.5%、肉豆蔻酸异丙酯18.9%及人参皂苷Rb1 4.5%。

进一步的，脂质体的粒径为30~200nm。优选的，人参皂苷Rb1脂质体的粒径为70.32nm

一种人参皂苷Rb1脂质体的制备方法，采用薄膜分散法，将大豆卵磷脂和人参皂苷Rb1加入有机溶剂中，超声至完全溶解；加入胆固醇，胆酸钠和肉豆蔻酸异丙酯，超声至完全溶解；旋转蒸发去除有机溶剂至形成薄膜；将所得薄膜由水化得到人参皂苷Rb1脂质体。

进一步的，有机溶剂为乙醇或二氯甲烷。优选的，所述有机溶剂为乙醇。

本发明的有益效果是：脂质体可以将药物包裹在磷脂双分子层内，可以增强溶解度，提高稳定性，延长体内循环时间，提高靶向性，有望解决人参皂苷Rb1口服生物利用度低的问题。本发明制得的人参皂苷Rb1脂质体粒径小且分布均匀，显著提高人参皂苷Rb1口服生物利用度及抗肿瘤活性，应用前景广泛。

## 附图说明

图1是实施例1制备获得的人参皂苷Rb1脂质体透射电镜图。

图2是实施例2中人参皂苷Rb1原料药和人参皂苷Rb1脂质体体外释放图。

图3是实施例3中人参皂苷Rb1原料药和人参皂苷Rb1脂质体血药浓度-时间曲线图。

图4是实施例4中人参皂苷Rb1原料药和人参皂苷Rb1脂质体抗肿瘤活性图  
具体实施方式

为了使本技术领域的人员更好地理解本申请方案，下面将结合本申请实施例中的附图，对本申请实施例中的技术方案进行清楚、完整地描述，显然，所描述的实施例仅仅是本申请一部分的实施例，而不是全部的实施例。基于本申请中的实施例，本领域普通技术人员在没有做出创造性劳动前提下所获得的所有其他实施例，都应当属于本申请保护的范围。

需要说明的是，本申请的说明书和权利要求书及上述附图中的术语“包括”和“具有”以及他们的任何变形，意图在于覆盖不排他的包含，例如，包含了一系列步骤或单元的过程、方法、系统、产品或设备不必限于清楚地列出的那些步骤或单元，而是可包括没有清楚地列出的或对于这些过程、方法、产品或设备固有的其它步骤或单元。

### 实施例1

本实施例用于说明本发明人参皂苷Rb1脂质体的制备。

将大豆卵磷脂90mg和人参皂苷Rb1 10mg溶于乙醇中，超声至完全溶解；加入胆固醇10mg，胆酸钠70mg和肉豆蔻酸异丙酯42mg，超声至完全溶解；35℃，40rpm/min条件下旋转蒸发去除有机溶剂至形成薄膜；将所得薄膜由1mL水水化，得到人参皂苷Rb1脂质体。

### 实施例2

本实施例用于说明本发明人参皂苷Rb1脂质体的体外表征。

将实施例1制得的人参皂苷Rb1脂质体进行如下体外表征：

(1)粒径分布及Zeta电位：采用NanoBrook 90Plus PALS粒径仪对人参皂苷Rb1脂质体的粒径及Zeta电位进行测定。

经测定，人参皂苷Rb1脂质体的粒径为 $70.32 \pm 0.25$ nm、Zeta电位为 $-38.25 \pm 0.17$ mV。

(2)形态学表征：将约20  $\mu$ L水化的人参皂苷Rb1脂质体涂在铜网上，并用2%磷钨酸染色，待样品在晾干后用透射电镜(JEM-2100透射电子显微镜，日本电子株式会社)观察人参皂苷Rb1脂质体的微观形态。结果见图1。

如图1所示，人参皂苷Rb1脂质体水化后为均匀分布的类球形粒子，表面光滑，尺寸均匀，无明显团聚现象。

(3)体外释放研究：将相同质量的人参皂苷Rb1的原料药和人参皂苷Rb1脂质体溶液(5mg/mL)装入透析袋，分别放置在含有100mL pH 7.4、pH 6.8磷酸盐缓冲液的锥形瓶中。将锥形烧瓶放置在37℃恒温水浴振荡器中，以100rpm/min模拟体内生理条件。在预设的时间间隔(0.25、0.5、1、2、4、6、8、10、12和24h)从释放介质中取出1mL样品，并立即补充同体积37℃的新鲜介质。将取出的样品加入适量甲醇稀释后，在10000rpm离心10min，使用微孔滤膜过滤，高效液相色谱检测人参皂苷Rb1浓度，进而计算释放率。结果见图2。

如图2所示，在pH 7.4、pH 6.8两种释放介质中，相同时间下，人参皂苷Rb1脂质体的累积释放率要显著高于人参皂苷Rb1原料药。说明，在模拟体内环境

中，人参皂苷Rb1脂质体能够有效提高人参皂苷Rb1的释放速率。

### 实施例3

本实施例用于说明人参皂苷Rb1脂质体可以增强人参皂苷Rb1的口服生物利用度。

将实施例1制得的人参皂苷Rb1脂质体进行如下体内药动学实验：

将20只SD(Sprague Dawley)大鼠随机分为两组(n=10)，第一组口服给药人参皂苷Rb1脂质体溶液，第二组，口服给药人参皂苷Rb1原料药，给药剂量均为400mg/kg。给药后在预设时间点(5min、15min、30min、45min、1h、2h、3h、4h、6h、8h、10h、12h、16h、24h)从大鼠眼眶静脉采集0.5mL血样，放入含有20  $\mu$ L 5%肝素钠溶液离心管中，然后以3700rpm离心10min，分离血浆。采用甲醇沉淀法处理血样，通过高效液相色谱测定浓度，绘制血药浓度-时间曲线，见图3。

如图3所示，在相同取样时间点，人参皂苷Rb1脂质体组的血药浓度均显著高于人参皂苷Rb1原料药组(p<0.05)，且人参皂苷Rb1脂质体组的口服生物利用度是人参皂苷Rb1原料药组的5.63倍。说明人参皂苷Rb1脂质体能够显著增强人参皂苷Rb1的口服生物利用度。

### 实施例4

本实施例用于说明本发明人参皂苷Rb1脂质体可以增强人参皂苷Rb1的抗肿瘤活性。

将实施例1制得的人参皂苷Rb1脂质体进行如下抗肿瘤活性实验：

采用噻唑蓝(Thiazolium blue colorimetry, MTT)比色法比较人参皂苷Rb1脂质体和人参皂苷Rb1原料药的抗肿瘤活性。将人肺癌细胞(A549细胞)接种在96孔细胞培养板中，接种浓度为 $2 \times 10^4$ 个/每孔。培养24小时后，分别向细胞中加入不同浓度(5、25、50和100  $\mu$ g/mL)的人参皂苷Rb1脂质体、人参皂苷Rb1原料药、不含人参皂苷Rb1的空白脂质体和5-氟尿嘧啶。以未加入待测物质的A549细胞为阴性对照组，以完全培养基为空白对照组。孵育24h后，加入20  $\mu$ L MTT溶液(5mg/mL)，用pH7.4磷酸盐缓冲液洗涤处理细胞两次，并在37°C下培养4小时。用酶标仪检测在490nm波长处每孔吸光度(Abs)，并用下列方程计算细胞存活率。结果见图4。

如图4所示，在不同浓度的人参皂苷Rb1脂质体作用下，A549细胞的存活率均比相同浓度的人参皂苷Rb1原料药显著降低(p<0.01)。说明人参皂苷Rb1脂质体可以增加人参皂苷Rb1的抗肿瘤活性。

以上是对本发明所作的进一步详细说明，不可视为对本发明的具体实施的局限。对于本发明所属技术领域的普通技术人员来说，在不脱离本发明构思的简单推演或替换，都在本发明的保护范围之内。