

胆固醇在脂质体中作用及甾醇、皂苷对其替换的研究进展

陈李霞¹, 丁越^{1*}, 沈征武^{1,2}, 张彤¹, 兰金帅¹, 杨骏³, 张乃廉¹, 陈千¹

1. 上海中医药大学, 上海 201203

2. 上海交通大学医学院, 上海 200025

3. 上海市黄浦区香山中医医院, 上海 200020

摘要: 随着脂质体工艺研究的发展, 多功能脂质体的设计一直是研究热点。胆固醇是脂质体制剂中的主要成分之一, 对维持脂质体膜结构、稳定性等起重要作用。采用与胆固醇结构相似且具有一定药理活性的甾醇、皂苷类化合物替代脂质体处方中胆固醇, 同样能形成性质良好的脂质体。这类化合物具有的药理活性也赋予了新脂质体更好的应用价值。结合近些年国内外相关文献, 就胆固醇在脂质体中的作用以及采用具有药理作用的天然活性物质如甾醇、皂苷类化合物等替换胆固醇的研究进展进行综述。

关键词: 脂质体; 胆固醇; 植物甾醇; 菌类甾醇; 胆固醇衍生物; 皂苷

中图分类号: R282.71 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2020)24-6396-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.24.031

Research progress on role of cholesterol in liposomes and replacement with sterols and saponins

CHEN Li-xia¹, DING Yue¹, SHEN Zheng-wu^{1, 2}, ZHANG Tong¹, LAN Jin-shuai¹, YANG Jun³, ZHANG Nai-lian¹, CHEN Gan¹

1. Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China

2. School of Medicine, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200025, China

3. Shanghai Huangpu Xiangshan Hospital of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200020, China

Abstract: With the development of process study of liposomes, the design of multifunctional liposomes has been a research hotspot. Cholesterol is one of the main components in liposome preparations, and plays an important role in the liposome's structure and stability. Sterols, saponins with the similar structure and certain pharmacological activities can be used to replace cholesterol in liposomes, which can also form good liposomes. Also, the pharmacological activities of sterols and saponins endow the liposomes with better application value. With the relevant literatures at home and abroad in recent years, this paper reviews the research progress of the role of cholesterol and the replacement design of cholesterol in liposomes with sterols and saponins.

Key words: liposome; cholesterol; phytosterol; microbial sterol; cholesterol derivatives; saponin

胆固醇, 又称胆甾醇, 是一种环戊烷多氢菲的衍生物, 最早在胆石中发现, 是人类最早发现的一种甾体化合物, 化学家费歇尔将其命名为“胆固醇”^[1]。胆固醇是哺乳动物细胞膜的主要组成部分, 能与磷脂产生相互作用, 调节脂膜结构、动力学特性等。同时胆固醇在人体内具重要生理作用, 是胆汁酸和

类固醇激素合成的前体^[2]。胆固醇属于两亲物质, 可作为脂质体膜材料、乳化剂、软膏基质等药用辅料, 尤其在脂质体制剂中对提高制剂稳定性等有重要作用。实验证明, 在制备脂质体时添加 30%~50% 的胆固醇, 能为脂质体的氧化稳定性、物理稳定性等提供良好保障^[3]。但过多摄入胆固醇具有引起高

收稿日期: 2020-03-22

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81872981); 2020 年上海市教委曙光人才计划项目; 上海人才发展基金资助项目(2018105)

作者简介: 陈李霞(1996—), 女, 硕士研究生, 研究方向中药药剂学。Tel: 17826865324 E-mail: 905628977@qq.com

*通信作者 丁越, 研究员, 硕士生导师, 博士, 研究方向为中药制药技术及体内过程研究。

Tel: (021)51322325 E-mail: dingyue1640@shutcm.edu.cn

脂血症、肿瘤等疾病的风险。现有利用甾醇、中药皂苷等类似化合物替换脂质体中胆固醇的研究,不仅能减少人体特别是病灶细胞对胆固醇的过多摄入,而且能够维持脂质体稳定性、提升脂质体的药用价值等^[4]。

脂质体最早由英国亚力克·邦汉姆于 1965 年发现,是一种以磷脂和胆固醇为材料的人工磷脂类生化制剂,具备生物相容性和生物可降解性、提高药物疗效、减少药物细胞毒性等作用^[5-7]。脂质体具有疏水体膜和亲水内核,分别为包裹亲脂物质和亲水性物质提供条件^[8-9]。脂质体被认为是最合适的药物

载体,常作为抗肿瘤药物输送系统等,在医药领域具有重要的意义^[10]。胆固醇可调节脂质体膜的流动性,抗磷脂氧化,为维持脂质体自身稳定性和药物包封率提供重要作用^[5,11]。Farzaneh 等^[12]实验确定胆固醇在脂质体膜的稳定化中起关键作用,影响脂质体的粒径分布、药物包封率以及药物释放等特性。目前,已有较多处方中含胆固醇的脂质体上市(表 1),且具有高的药物包封率、良好的稳定性和临床疗效等^[13]。本文对胆固醇在脂质体中的作用以及近年来对用功能性甾醇、皂苷等替换脂质体中胆固醇的研究进展进行综述。

表 1 已上市的含胆固醇的脂质体
Table 1 Cholesterol-liposomes on market

产品名称	药物	处方(物质的量比)	应用	文献
Doxil®	盐酸阿霉素	HSPC-CHOL-DSPE-mPEG ₂₀₀₀ (56:39:5)	卵巢癌、卡波氏肉瘤、多发性骨髓瘤	14-15
Myocet®	盐酸阿霉素	EPC-CHOL (55:45)	乳腺癌	16-17
Lipo-dox®	盐酸阿霉素	DSPC-CHOL-DSPE-mPEG ₂₀₀₀ (56:39:5)	卡波氏肉瘤、卵巢癌、乳腺癌	18-19
DaunoXome®	枸橼酸柔红霉素	DSPC-CHOL (10:5)	卡波氏肉瘤	5、20
Depocyt®	阿糖胞苷	CHOL-DOPC-DPPG (11:7:1)	肿瘤性脑膜炎、淋巴瘤性脑膜炎	21-22
Marqibo®	硫酸长春新碱	SM-CHOL (60:40)	费城染色体阴性急性淋巴细胞白血病、罕见类型白血病	23
DepoDur®	硫酸吗啡	DOPC、DPPG、CHOL、Triolein	疼痛	24
Exparel®	布比卡因	DEPC、DPPG、CHOL、Tricaprylin	疼痛	25
AmBisome®	两性霉素 B	HSPC-DSPG-CHOL (2:0.8:1)	严重真菌感染	26

HSPC-氢化大豆卵磷脂 CHOL-胆固醇 DSPE-mPEG₂₀₀₀-二硬脂酸磷脂酰乙醇胺-聚乙二醇 2000 EPC-蛋黄卵磷脂 DSPC-二硬脂酰基磷脂酰胆碱 DOPC-二油酰磷脂酰胆碱 DPPG-1,2-棕榈酰磷脂酰甘油 SM-鞘磷脂 Triolein-三油酸甘油酯 Tricaprylin-三辛酸甘油酯
HSPC-hydrogenated soybean phosphatidylcholine CHOL-cholesterol DSPE-mPEG₂₀₀₀-distearoyl phosphoethanolamine-PEG₂₀₀₀ EPC-egg yolk lecithin DSPC-distearoyl phosphatidylcholine DOPC-dioleoyl phosphatidylcholine DPPG-dipalmitoyl phosphatidylglycerol S-sphingomyelin
Triolein-glycerol trioleate Tricaprylin- glycerin tricaprlylate

1 胆固醇在脂质体中的作用

1.1 对膜通透性的影响

膜通透性是影响脂质体载药能力的关键因素^[27]。磷脂是构成脂膜的物质基础,具有一个极性的头基和两条疏水性的流动性强的酰基链,使脂膜有良好柔韧性和高通透性,稳定性差^[28]。添加适量胆固醇,可使膜保持流动性的同时具备相对刚性及不可渗透性^[29]。胆固醇垂直于膜双层平面插入,C-3 位羟基与磷脂的极性头基形成氢键;烷基侧链向双层中心延伸,与磷脂长链平行;平面类固醇环与酰基链之间存在相互作用(图 1)^[30-31]。

Kaddah 等^[11]发现在一定范围内,脂质体中亲水性药物的释放速率以及膜的流动性与胆固醇含量呈反比。实验证明含胆固醇的脂质体中药物包封率更

高,粒径分布更均匀。脂质体微观结构中,适量的胆固醇整合在脂膜内部,填补链间空白,使磷脂紧密堆积^[32],提高酰基链定向排列顺序,从而增加双层厚度,部分限制磷脂横向扩散^[33],降低膜通透性,保证脂质体的包封率并提高稳定性,稳定的膜结构同时保证了均匀的粒径分布;宏观角度上,在一定浓度范围内脂质体的粒径随胆固醇浓度的增加而增加^[34],粒径的增加扩大了脂质体内部空间,进而提高脂质体的包封率。本课题组考察脂质体处方中有无胆固醇的基本表征,含胆固醇的脂质体粒径为 (99.1 ± 1.1) nm,聚合物分散性指数(polymer dispersity index, PDI)为 0.17 ± 0.10 ,无胆固醇的脂质体粒径为 (88.4 ± 0.9) nm, PDI 为 0.33,胆固醇增大粒径,且粒径分布均匀, PDI<0.3。可见胆

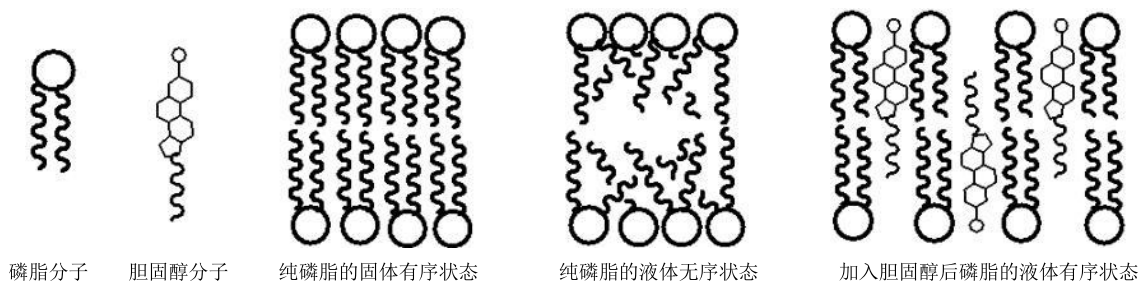


图 1 磷脂分子，胆固醇分子，纯磷脂的固体、液体和加入胆固醇后磷脂的液体有序状态

Fig. 1 Phospholipid, cholesterol, solid order phase, liquid disorder phase of pure phospholipid and pure phospholipid after adding cholesterol

固醇是脂质体粒径均一、包封率高、稳定性好的重要物质基础，同时对减少脂质体中药物在血液中的不必要渗漏，降低药物毒性具有重要意义^[35]。

1.2 对磷脂氧化稳定性影响

磷脂是脂膜重要的组成部分，其疏水端为两条脂肪酸长链。因脂肪酸特别是不饱和脂肪酸的存在，磷脂在金属离子、辐射、温度、酶等外界因素影响下易发生氧化或过氧化反应，即不饱和脂肪酸双键被氧化发生断裂、被活性氧修饰等过程^[36]。卵磷脂、大豆卵磷脂等是常用的含不饱和脂肪酸的磷脂，易氧化水解成具有生物活性的氧化磷脂、脂肪酸、溶血磷脂等物质，使脂膜流动性和稳定性下降^[37-38]。

磷脂的氧化是影响脂质体稳定性的关键问题之一，而胆固醇对防止磷脂氧化具有一定作用。左玉等^[39]用硫氰酸铁法测得 1.6、4、8 $\mu\text{g/mL}$ 胆固醇对大豆磷脂脂质体的磷脂氧化抑制率分别为 37.21%、40.41%、41.28%。McLean 等^[40]提到胆固醇抗磷脂氧化的使用浓度因脂质体中磷脂而异，如在相变温度下二硬脂酰磷脂酰胆碱脂质体中含 33~50 mole%胆固醇能有效降低氧化速率；在大豆磷脂脂质体中浓度适合在 1 mole% 以下。可见在一定浓度范围内胆固醇抗氧化活性随着浓度的增大而增大，随磷脂的不同而变化。

在磷脂已被氧化的情况下，胆固醇具有继续保持脂质体膜结构稳定性的能力。氧化的磷脂会引起脂双层的无序，并出现自身形成胶束等现象。胆固醇能够减缓氧化脂质横向流动、抑制膜变形及防止孔隙形成^[41-42]。Megli 等^[43]通过构建脂质过氧化模型膜发现，胆固醇的存在能够减弱和防止脂双层的破坏和磷脂胶束的形成，使在磷脂明显被氧化发生断裂的脂质体中仍有较为稳定的脂双层结构。

2 胆固醇存在的不足

胆固醇为多环单不饱和醇，结构如图 2 所示，

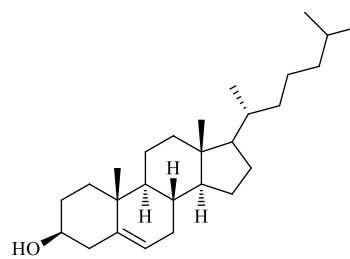


图 2 胆固醇的化学结构

Fig. 2 Chemical structure of cholesterol

具有易发生结构衍生化的官能团，如双键和羟基，易在加工储存过程中受氧、光、金属等外界条件的影响产生胆固醇氧化产物^[44]。胆固醇氧化产物种类多样，且具有一定的细胞毒性、致突变性和潜在致癌性、可明显促进动脉粥样硬化^[1,45]，进而影响脂质体制剂的稳定性、安全性，危害人体健康。

正常量的胆固醇在体内起着重要的生理作用，而过量的胆固醇吸收入血会引起高脂血症等疾病，同时肿瘤微环境中的高胆固醇水平与肿瘤的发生发展也有相关性。外源性的胆固醇主要通过小肠部位高表达的相关吸收蛋白如胆固醇吸收蛋白直接吸收进入血液循环，且这种吸收识别存在高度特异性， β -谷甾醇等甾醇与胆固醇结构只在 C-24 位上的官能团不同，却无法被吸收^[46-47]。胆固醇以低密度脂蛋白胆固醇（LDL-C）的形式在血液中运输，当 LDL-C 被氧化且超出高密度脂蛋白胆固醇（HDL-C）将其转运回肝脏的量时，血管中的巨噬细胞就会因吞噬 LDL-C 而死亡，累积在血管中，继而引发动脉粥样硬化等一系列疾病^[48]。胆固醇与肿瘤的生长也密切相关。除了自身合成，肿瘤细胞还会增加对胆固醇等脂类的外源摄取来满足快速增殖所需^[49]。同时大部分胆固醇代谢物也具有促肿瘤生长作用，如肠道微生物作用产生的胆固醇代谢产物是结肠癌发生的诱因^[50]，27-羟基胆固醇为胆固醇代

谢物具有雌性激素样作用,能与乳腺癌细胞的对应受体结合促进癌细胞的增殖等^[51]。

3 甾醇和皂苷对脂质体中胆固醇的替换

在自然界中有多种与胆固醇结构类似的物质,如甾醇、皂苷等,这些是广泛存在于植物、菌类中的活性物质,具有抗肿瘤、抗炎、抑菌、调节免疫力以及降低体内胆固醇等药效^[52]。传统的脂质体处方由不同比例的磷脂和胆固醇组成,作为包裹药物的载体。若采用结构类似,且具有良好药理活性的甾醇、皂苷替换原处方中的胆固醇,可使脂质体自身具有药效作用,在此基础上包裹药物,可能会与甾醇、皂苷共同发挥协同作用,提高原脂质体的药效。甚至可减少脂质体中所载药物的剂量,达到增效减毒的效果。在处方替换的同时,要求新脂质体仍保持较好的稳定性,具有较优的粒径、包封率和释放率等性能,因此制备过程中,需进行必要的工艺优化。

3.1 甾醇类化合物

3.1.1 植物甾醇 植物甾醇是广泛存在于植物油、种子、谷物中的天然安全活性物质,已被表征的植物甾醇约 200 多个,其中主要有 β -谷甾醇、豆甾醇等^[53],结构见图 3。植物甾醇被称为健康型甾醇,与胆固醇结构类似,却能够抑制胆固醇在肠道的吸收并影响其代谢,对心血管代谢性疾病和癌症等也有预防作用^[54-56],如 β -谷甾醇被称为“**Heart-friendly**”植物甾醇,能干扰胆固醇的吸收,并具有抗肿瘤作用^[57]。实验证明只要剂量适当, β -谷甾醇、豆甾醇可替代脂质体中胆固醇,同时两种植物甾醇具有与胆固醇类似的热致相行为和抗脂质体氧化的作用^[58-61]。Yu 等^[62]用 β -谷甾醇代替胆固醇制备得到成本更低、长循环作用更好的新型藤黄酸脂质体。喻樊等^[63]发现 β -谷甾醇替代胆固醇所得槲皮素脂质体的包封率、稳定性、重现性都良好,且适用于工业化生产。

天然的植物甾醇属于无毒物,是一类被允许在

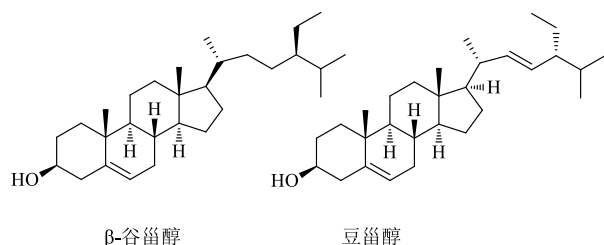


图 3 β -谷甾醇和豆甾醇的化学结构

Fig. 3 Chemical structures of β -sitosterol and stigmasterol

食品中添加的甾醇^[64-65],在脂质体制剂中使用安全可靠。植物甾醇具有与胆固醇相似的调节脂膜的能力,所得功能性脂质体能保持与原胆固醇脂质体类似的基本特征;且植物甾醇赋予了脂质体自身干扰体内胆固醇吸收和抗肿瘤等药理活性;这类健康型甾醇的药理作用以及不使用胆固醇扩大了脂质体制剂在降血脂领域的应用,因此植物甾醇具有代替胆固醇制备脂质体的可行性以及优势。

3.1.2 菌类甾醇 除动物和植物外,微生物中也富含甾醇。麦角甾醇、羊毛甾醇等是真菌膜中的主要甾醇成分,可以通过微生物发酵合成得到,与胆固醇结构相似^[66-67],结构见图 4。真菌中的甾醇种类多样包括麦角甾醇类、羊毛甾醇类等,具抑菌、抗肿瘤、抗炎等作用,且为黄体酮、可的松、维生素 D2 等多种药物的前体。实验发现麦角固醇、羊毛甾醇和胆固醇的甾环和侧链结构对膜结构有重要作用,且对不同磷脂都具有增加膜的堆积,填充双层膜的作用,当甾醇用量为 20%时对应脂质体的各类表征特点相接近^[68-69]。Pencer 等^[70]利用中子小角散射测量含不同比例胆固醇、麦角甾醇、羊毛甾醇的脂质体,发现 3 种甾醇对膜厚度的影响非常相似。Cui 等^[67]利用麦角甾醇以及羊毛甾醇替换胆固醇制备胰岛素脂质体,具备与胆固醇类似的脂质体表征,且更好地提高胰岛素在体内的稳定性以及生物利用度。

麦角甾醇、羊毛甾醇等菌类甾醇是一类广泛用于食品、医药、化工行业中的安全性天然产物^[71-72],具备生产原料成本低、易工业化生产等优势^[73]。实验证明,一定浓度范围下如 20%的用量^[68-69],菌类甾醇与胆固醇存在类似的脂膜调节作用,为其替代脂质体中胆固醇奠定了基础。菌类甾醇丰富的药理活性以及细微的结构差异赋予脂质体新的特性,具备替换的可行性以及优势,是能够替代胆固醇的甾醇化合物之一。

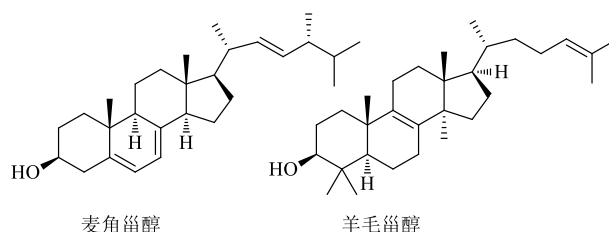


图 4 麦角甾醇和羊毛甾醇的化学结构

Fig. 4 Chemical structures of ergosterol and lanosterol

3.1.3 胆甾醇衍生物 胆固醇作为动物甾醇，是一种官能团易衍生化的有机合成原始材料，其在人体中的衍生物包括各种激素、维生素 D、胆汁酸等。胆固醇的双键、C-3 位羟基等是容易发生衍生化的主要位点。近些年，各种新型胆固醇衍生物的合成增多，在药理、生物等方面得到广泛应用^[74]。在临床脂质体应用中，合适的胆固醇衍生物具有更好的改善膜流动性并提供良好的药物保留特性^[75]。Yang 等^[76]发现胆固醇衍生物 4-cholesterocarbonyl-4'-N,N,N-triethylamine butyloxyl bromide (CTBBA) 代替脂质体中 50%比例胆固醇包裹阿霉素，能够改善脂质体长期保存的稳定性、有效降低药物渗漏。Monpara 等^[77]合成得到胆固醇精氨酸乙酯 (CAE) 替换传统紫杉醇脂质体中的胆固醇，发现 CAE 提高了脂质体的紫杉醇载药量和稳定性、具显著的膜增厚作用，在 3 种不同的细胞系中显示出改善细胞毒性和内皮细胞迁移抑制能力，而 CAE 自身无任何遗传毒性。

胆固醇衍生物通过胆固醇衍生化得到，结构可根据需求合理设计，灵活多样。大部分衍生化通过双键、羟基等官能团进行改变，改善了胆固醇易氧化官能团的不足，同时增加良好的药理活性。但对于新衍生物合成路线、检测方法、药理活性、安全性等的明确过程较为繁琐复杂，是这类物质所要面对的挑战。目前胆固醇衍生物已在脂质体中得到广泛的应用。

3.2 皂苷

皂苷是一类以三萜或螺旋甾烷类化合物为苷元的糖苷，是中药中重要的天然活性物质^[52,78]。部分皂苷具备与胆固醇相同的甾环母核，在 C-3 位有亲

水基团，C-17 位为疏水端，如人参皂苷、海参皂苷、知母皂苷等。皂苷种类丰富，多具有良好的抗癌、抗炎、调节免疫等药用价值^[79]。将皂苷作为脂膜调节物质替换胆固醇包裹在脂质体中得到具有药理活性的新型功能脂质体更具有应用前景。

人参皂苷 Rh₂ 和 Rg₃、海参皂苷 holothurin A 和 echinoside A、知母皂苷 A III 分别为人参、海参、知母中的活性成分，是具有类胆固醇结构的皂苷，在肿瘤治疗、心血管系统疾病、调节免疫功能等方面有较好的临床价值，结构见图 5^[80-83]。Hong 等^[84]制备得到不含胆固醇的人参皂苷 Rh₂ 脂质体、人参皂苷 Rg₃ 脂质体，并包载抗癌药物紫杉醇，所得紫杉醇-人参皂苷脂质体与胆固醇脂质体粒径、包封率等性质接近，且具有更好的长循环作用以及协同抗胃癌疗效。Li 等^[85]利用 holothurin A 与 echinoside A 替代胆固醇制备新型多功能脂质体，在用量为胆固醇一半的情况下，海参皂苷脂质体仍具备更好的稳定性，同时提升了脂质体的药用价值。马宁辉等^[86]和 Lu 等^[87]制备知母皂苷 A III 脂质体，处方中不含胆固醇，但用知母皂苷 A III 脂质体包裹盐酸阿霉素，所得脂质体包封率高、粒径均一，且稳定性好，同时知母皂苷 A III 与阿霉素存在协同抗肝癌作用，因此，知母皂苷 A III 将是一种具有替换胆固醇潜力的皂苷。

目前大部分皂苷因溶解性差、生物利用度低、具有溶血作用等不足，主要作为目标药物包裹于脂质体中达到减毒增效，而用皂苷作为膜材替换脂质体处方中胆固醇的相关研究较少。但皂苷种类丰富，药理活性多样，具有作为胆固醇替代物制备功能性脂质体的潜力。除上述皂苷外，人参皂苷 Rg₅、薯

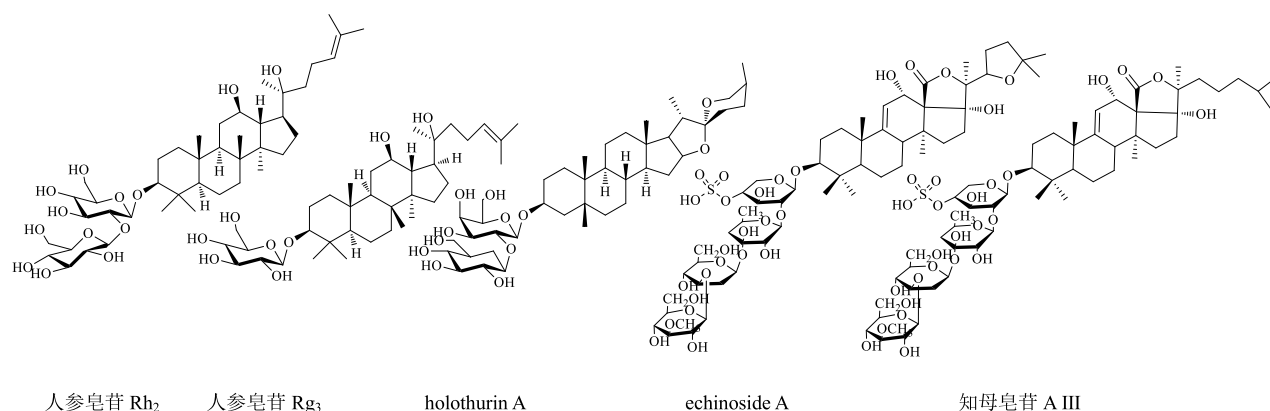


图 5 具有类胆固醇结构皂苷的化学结构

Fig. 5 Chemical structures of saponins with cholesterol-like structure

蒺藜皂苷、薯蓣皂苷、薯蓣次皂苷 A 和重楼皂苷 D 等都是具有类似结构且药理活性好的皂苷，值得研究，同时也能拓展中药活性成分在脂质体研究中的应用价值。须注意的是，皂苷类化合物多存在造成肝肾

损伤等风险，但这些毒性是在大量、长期的使用下形成，因此对皂苷的使用需注意量与期限的把控^[88]。

甾醇、皂苷作为胆固醇替换物的药效及新脂质体的基本特征见表 2。

表 2 甾醇、皂苷作为胆固醇替换物的药效及新脂质体的基本特征

Table 2 Efficacy of sterols and saponins as cholesterol substitutes and basic characteristics of new liposomes

种类	药效功能	脂质体基本表征	文献
植物甾醇	抗炎、干扰人体对胆固醇的吸收、抗肿瘤、抗氧化、调节免疫力、促进新陈代谢的作用等	β -谷甾醇-槲皮素脂质体 (194.60±4.38) nm, PDI 为 0.116±0.005, 对槲皮素包封率为 (82.55±1.10) %, 形态、粒径及体外释放与普通脂质体无差异, 且可应用于工业化生产; β -谷甾醇-藤黄酸脂质体 267.9 nm, PDI 为 0.124, 对藤黄酸的包封率为 90.1%, 具有更好的长循环作用, 扩大了脂质体制剂在降血脂领域的应用	56-61
菌类甾醇	抑菌、抗肿瘤、抗炎的作用等	麦角甾醇-胰岛素脂质体 (157.1±0.4) nm, PDI 为 0.218, 包裹胰岛素保护胰岛素的作	53、68
胆固醇衍生物	根据具体衍生物而定, 不同的衍生物作用不同	CTBBA-阿霉素脂质体 (133.20±4.60) nm, 对阿霉素的包封率大于 80%, 具有长期保存的稳定性, 再释放实验中有效降低药物渗漏; CAE-紫杉醇脂质体 (135.4±1.3) nm, 紫杉醇的含量为 7.5 mole% 高于胆固醇脂质体的 3 mole%, CAE 有显著的膜增厚作用, 改善脂质体的细胞毒性和内皮细胞迁移抑制能力	74-77
皂苷	抗癌、抗炎、抗菌、抗病毒、调节免疫、降血脂、防治心血管疾病作用等	人参皂苷 Rh ₂ -紫杉醇脂质体[EYPC-Rh ₂ (10:3)] 粒径为 (77.71±3.22) nm, PDI 为 0.27±0.014, 对紫杉醇包封率为 (91.3±2.1) %, 粒径小于胆固醇脂质体, 包封率和稳定性接近, 在体内具更好长循环作用, 同时人参皂苷 Rh ₂ 与紫杉醇具协同抗胃癌作用; 人参皂苷 Rg ₃ -紫杉醇脂质体[EYPC-Rg ₃ (5:2)] 粒径为 (60.11±3.42) nm, PDI 为 0.17±0.013, 对紫杉醇包封率为 (95.5±3.3) %, 粒径比胆固醇脂质体更均一, 且包封率更高, 体内长循环作用更优, 同时人参皂苷 Rg ₃ 与紫杉醇具有协同抗胃癌作用; 海参皂苷用量仅为胆固醇的一半时, 粒径 (164.8±2.00) nm, PDI 为 124.8±0.95, 用量与胆固醇相同时, 粒径 (139.4±0.35) nm, PDI 为 0.180±0.029, 粒径都与胆固醇脂质体相接近, 但稳定性明显提升, 且使脂质体自身具备抗肿瘤、抗真菌等作用	79-84

4 结语

目前, 多功能脂质体的处方设计是研究热点^[89]。胆固醇是脂质体中重要组成部分, 具有维持脂质体稳定等作用, 但过量存在影响人体健康的隐患。甾醇、皂苷具备与胆固醇类似的结构, 可替换原脂质体处方中的胆固醇, 使脂质体自身具备药效作用。在此替换基础上包裹药物, 能使所载药物与甾醇或皂苷产生协同药效, 且仍能保持脂质体的包封率、释放率及稳定性等性质。同时胆固醇替换研究找到了不同化合物之间的相似之处, 并在多功能脂质体

设计中得到合理应用。脂质体作为药物载体在临床上具有重要意义, 筛选更多合适的甾醇、皂苷等来替代胆固醇制备新功能性脂质体, 是对甾醇、皂苷物质应用的新拓展, 也为脂质体的处方研究提供新思路, 具有良好的研究和应用前景。

参考文献

- [1] 左玉, 冯丽霞, 魏世芳. 胆固醇的研究及应用 [J]. 太原师范学院学报: 自然科学版, 2010, 9(4): 104-107.
- [2] Huster D, Scheidt H A, Arnold K, et al. Desmosterol may replace cholesterol in lipid membranes [J]. *Biophys J*,

- 2005, 88(3): 1838-1844.
- [3] Briuglia M L, Rotella C, McFarlane A, *et al.* Influence of cholesterol on liposome stability and on *in vitro* drug release [J]. *Drug Deliv Transl Res*, 2015, 5(3): 231-242.
- [4] 杨贝贝, 曹 栋, 耿亚男, 等. 植物甾醇与胆固醇对脂质体膜性质的影响 [J]. *食品工业科技*, 2013, 34(7): 77-81.
- [5] Chang H I, Yeh M K. Clinical development of liposome-based drugs: Formulation, characterization, and therapeutic efficacy [J]. *Int J Nanomedicine*, 2012, 7: 49-60.
- [6] Al-Jamal W T, Kostarelos K. Liposomes: From a clinically established drug delivery system to a nanoparticle platform for theranostic nanomedicine [J]. *Acc Chem Res*, 2011, 44(10): 1094-1104.
- [7] Dadwal A, Baldi A, Narang R K. Nanoparticles as carriers for drug delivery in cancer [J]. *Artif Cells*, 2018, 46(Sup 2): 1-10.
- [8] Nag O, Awasthi V. Surface engineering of liposomes for stealth behavior [J]. *Pharmaceutics*, 2013, 5(4): 542-569.
- [9] Kolter M, Wittmann M, Köll-Weber M, *et al.* The suitability of liposomes for the delivery of hydrophobic drugs – A case study with curcumin [J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2019, 140: 20-28.
- [10] Ahmed K S, Sun C L, Shan X T, *et al.* Liposome-based codelivery of celecoxib and doxorubicin hydrochloride as a synergistic dual-drug delivery system for enhancing the anticancer effect [J]. *J Liposome Res*, 2020, 30(3): 285-296.
- [11] Kaddah S, Khreich N, Kaddah F, *et al.* Cholesterol modulates the liposome membrane fluidity and permeability for a hydrophilic molecule [J]. *Food Chem Toxicol*, 2018, 113: 40-48.
- [12] Farzaneh H, Ebrahimi N M, Mashreghi M, *et al.* A study on the role of cholesterol and phosphatidylcholine in various features of liposomal doxorubicin: From liposomal preparation to therapy [J]. *Int J Pharm*, 2018, 551(1/2): 300-308.
- [13] Chaudhury A, Das S, Lee R F, *et al.* Lyophilization of cholesterol-free PEGylated liposomes and its impact on drug loading by passive equilibration [J]. *Int J Pharm*, 2012, 430(1/2): 167-175.
- [14] Barenholz Y C. Doxil®—The first FDA-approved nano-drug: Lessons learned [J]. *J Control Release*, 2012, 160(2): 117-134.
- [15] Bozzuto G, Molinari A. Liposomes as nanomedical devices [J]. *Int J Nanomedicine*, 2015, 10: 975-999.
- [16] Quarello P, Berger M, Rivetti E, *et al.* FLAG-liposomal doxorubicin (myocet) regimen for refractory or relapsed acute leukemia pediatric patients [J]. *J Pediatr Hematol Oncol*, 2012, 34(3): 208-216.
- [17] NA. FDA fast track designation for myocet in metastatic breast cancer [J]. *Oncol Times*, 2010, 32(3): 24.
- [18] Rau K M, Lin Y C, Chen Y Y, *et al.* Pegylated liposomal doxorubicin (Lipo-Dox®) combined with cyclophosphamide and 5-fluorouracil is effective and safe as salvage chemotherapy in taxane-treated metastatic breast cancer: An open-label, multi-center, non-comparative phase II study [J]. *BMC Cancer*, 2015, 15: 423.
- [19] Chen C A, Wei L H, Huang C Y, *et al.* Lipo-Dox® (pegylated liposomal doxorubicin) and platinum in patients with advanced ovarian cancer in late relapse [J]. *Int J Gynecol Cancer*, 2004, 14(1): 47.
- [20] Bulbake U, Doppalapudi S, Kommineni N, *et al.* Liposomal formulations in clinical use: An updated review [J]. *Pharmaceutics*, 2017, 9(2): E12.
- [21] Rueda Domínguez A, Olmos Hidalgo D, Viciana Garrido R, *et al.* Liposomal cytarabine (DepoCyt®) for the treatment of neoplastic meningitis [J]. *Clin Transl Oncol*, 2005, 7(6): 232-238.
- [22] Gaviani P, Corsini E, Salmaggi A, *et al.* Liposomal cytarabine in neoplastic meningitis from primary brain tumors: a single institutional experience [J]. *Neurol Sci*, 2013, 34(12): 2151-2157.
- [23] Kalaydina R V, Bajwa K, Qorri B, *et al.* Recent advances in “smart” delivery systems for extended drug release in cancer therapy [J]. *Int J Nanomedicine*, 2018, 13: 4727-4745.
- [24] Nagle P C, Gerancher J C. DepoDur® (extended-release epidural morphine): A review of an old drug in a new vehicle [J]. *Tech Reg Anesth Pain Manag*, 2007, 11(1): 9-18.
- [25] Burbridge M, Jaffe R A. Exparel®: A new local anesthetic with special safety concerns [J]. *Anesth Analg*, 2015, 121(4): 1113-1114.
- [26] Adler-Moore J P, Proffitt R T. *AmBisome®: Long Circulating Liposomal Formulation of Amphotericin B* [M]. Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 1998.
- [27] Takechi-Haraya Y, Sakai-Kato K, Goda Y. Membrane rigidity determined by atomic force microscopy is a parameter of the permeability of liposomal membranes to the hydrophilic compound calcein [J]. *AAPS PharmSciTech*, 2017, 18(5): 1887-1893.
- [28] Waheed Q, Tjörnhammar R, Edholm O. Phase transitions in coarse-grained lipid bilayers containing cholesterol by molecular dynamics simulations [J]. *Biophys J*, 2012, 103(10): 2125-2133.
- [29] Mills T T, Huang J Y, Feigenson G W, *et al.* Effects of cholesterol and unsaturated DOPC lipid on chain packing of saturated gel-phase DPPC bilayers [J]. *Biophys J*, 2009, 96(3): 605a.
- [30] Ohvo-Rekilä H, Ramstedt B, Leppimäki P, *et al.* Cholesterol interactions with phospholipids in membranes [J]. *Prog Lipid Res*, 2002, 41(1): 66-97.

- [31] Altunayar C, Sahin I, Kazanci N. A comparative study of the effects of cholesterol and desmosterol on zwitterionic DPPC model membranes [J]. *Chem Phys Lipids*, 2015, 188: 37-45.
- [32] Kahya N, Schwille P. How phospholipid-cholesterol interactions modulate lipid lateral diffusion, as revealed by fluorescence correlation spectroscopy [J]. *J Fluoresc*, 2006, 16(5): 671-678.
- [33] Kočiřová E, Antalík A, Procházka M. Drop coating deposition Raman spectroscopy of liposomes: Role of cholesterol [J]. *Chem Phys Lipids*, 2013, 172/173: 1-5.
- [34] 王俊芝, 安学勤. 胆固醇对脂质体双分子膜结构、性质和控制释放药物的影响 [A] //第十三届胶体与界面化学会议论文集 [C]. 太原: 中国化学会, 2011.
- [35] Sadeghi N, Deckers R, Ozbakir B, *et al.* Influence of cholesterol inclusion on the doxorubicin release characteristics of lysolipid-based thermosensitive liposomes [J]. *Int J Pharm*, 2018, 548(2): 778-782.
- [36] 于波涛, 张志荣, 曾仁杰, 等. 脂质体稳定性的研究进展 [J]. 西南国防医药, 2005, 15(6): 686-688.
- [37] 田蒙蒙, 李娜, 魏富强, 等. 脂质体在体外消化过程中的氧化稳定性 [J]. 食品工业科技, 2016, 37(22): 154-158.
- [38] Plochberger B, Stockner T, Chiantia S, *et al.* Cholesterol slows down the lateral mobility of an oxidized phospholipid in a supported lipid bilayer [J]. *Langmuir*, 2010, 26(22): 17322-17329.
- [39] 左玉, 李鹏鸽, 谢文磊. 胆固醇在复杂体系中的抗氧化作用 [J]. 食品与发酵工业, 2014, 40(8): 100-108.
- [40] McLean L R, Hagaman K A. Effect of lipid physical state on the rate of peroxidation of liposomes [J]. *Free Radic Biol Med*, 1992, 12(2): 113-119.
- [41] Bennett W F, MacCallum J L, Tieleman D P. Thermodynamic analysis of the effect of cholesterol on dipalmitoylphosphatidylcholine lipid membranes [J]. *J Am Chem Soc*, 2009, 131(5): 1972-1978.
- [42] Cornelius F. Cholesterol-dependent interaction of polyunsaturated phospholipids with Na, K-ATPase [J]. *Biochemistry*, 2008, 47(6): 1652-1658.
- [43] Megli F M, Conte E, Ishikawa T. Cholesterol attenuates and prevents bilayer damage and breakdown in lipoperoxidized model membranes. A spin labeling EPR study [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2011, 1808(9): 2267-2274.
- [44] Wang C G, Siriwardane D A, Jiang W L, *et al.* Quantitative analysis of cholesterol oxidation products and desmosterol in parenteral liposomal pharmaceutical formulations [J]. *Int J Pharm*, 2019, 569: 118576.
- [45] 赵玮, 董玉虹, 付慧玲, 等. 食品中胆固醇氧化产物对人体健康影响的研究进展 [J]. 当代医学, 2019, 25(12): 185-186.
- [46] Zhang J H, Ge L, Qi W, *et al.* The N-terminal domain of NPC1L1 protein binds cholesterol and plays essential roles in cholesterol uptake [J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(28): 25088-25097.
- [47] Temel R E, Gebre A K, Parks J S, *et al.* Compared with Acyl-CoA: Cholesterol O-acyltransferase (ACAT) 1 and lecithin: Cholesterol acyltransferase, ACAT2 displays the greatest capacity to differentiate cholesterol from sitosterol [J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(48): 47594-47601.
- [48] Wu Q Q, Wang Q T, Fu J F, *et al.* Polysaccharides derived from natural sources regulate triglyceride and cholesterol metabolism: A review of the mechanisms [J]. *Food Funct*, 2019, 10(5): 2330-2339.
- [49] Folkard E J, Dowsett M. Influence of sex hormones on cancer progression [J]. *J Clin Oncol*, 2010, 28(26): 4038-4044.
- [50] Le Goff M, Le Ferrec E, Mayer C, *et al.* Microalgal carotenoids and phytosterols regulate biochemical mechanisms involved in human health and disease prevention [J]. *Biochimie*, 2019, 167: 106-118.
- [51] Nelson E R, Chang C Y, McDonnell D P. Cholesterol and breast cancer pathophysiology [J]. *Trends Endocrinol Metab*, 2014, 25(12): 649-655.
- [52] 石佳佳, 曹丽丽, 韩倩倩, 等. 含皂苷类中药抗肿瘤作用的研究进展 [J]. 光明中医, 2016, 31(23): 3526-3529.
- [53] Silva C, Aranda F J, Ortiz A, *et al.* Molecular aspects of the interaction between plants sterols and DPPC bilayers [J]. *J Colloid Interface Sci*, 2011, 358(1): 192-201.
- [54] Wang M M, Huang W S, Hu Y Z, *et al.* Phytosterol profiles of common foods and estimated natural intake of different structures and forms in China [J]. *J Agric Food Chem*, 2018, 66(11): 2669-2676.
- [55] 郭瑞光, 李维峰, 侯俊玲, 等. 植物固醇在脂质体中的应用研究进展 [J]. 中国新药杂志, 2011, 20(12): 1092-1094.
- [56] 卢婧霞, 郑祖国, 徐志猛, 等. 植物甾醇降血脂机制研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2019, 44(21): 4552-4559.
- [57] Imanaka H, Koide H, Shimizu K, *et al.* Chemoprevention of tumor metastasis by liposomal β -sitosterol intake [J]. *Biol Pharm Bull*, 2008, 31(3): 400-404.
- [58] Tai K D, Rappolt M, He X Y, *et al.* Effect of β -sitosterol on the curcumin-loaded liposomes: Vesicle characteristics, physicochemical stability, *in vitro* release and bioavailability [J]. *Food Chem*, 2019, 293: 92-102.
- [59] Wu R G, Wang Y R, Wu F G, *et al.* A DSC study of paeonol-encapsulated liposomes, comparison the effect of cholesterol and stigmasterol on the thermotropic phase behavior of liposomes [J]. *J Therm Anal Calorim*, 2012, 109(1): 311-316.
- [60] 左玉, 李鹏鸽, 朱瑞涛, 等. 豆甾醇在大豆磷脂脂质体中的抗氧化作用 [J]. 食品与发酵工业, 2015, 41(6): 118-124.
- [61] 左玉, 朱瑞涛, 冯丽霞, 等. β -谷甾醇在复杂体系中

- 抗氧化作用的研究 [J]. 中国粮油学报, 2017, 32(2): 80-87.
- [62] Yu F, Tang X H. Novel long-circulating liposomes consisting of PEG modified β -sitosterol for gambogic acid delivery [J]. *J Nanosci Nanotechnol*, 2016, 16(3): 3115-3121.
- [63] 喻 樊, 杨锦明. β -谷甾醇替代胆固醇制备槲皮素脂质体的可行性研究 [J]. 中草药, 2013, 44(23): 3303-3308.
- [64] Berger A, Jones P J H, Abumweis S S. Plant sterols: factors affecting their efficacy and safety as functional food ingredients [J]. *Lipids Health Dis*, 2004, 3(5): 907-919.
- [65] 张莉华, 许新德, 邵 斌, 等. 植物甾醇毒理学安全性评价 [J]. 中国油脂, 2010, 35(5): 19-22.
- [66] Cournia Z, Ullmann G M, Smith J C. Differential effects of cholesterol, ergosterol and lanosterol on a dipalmitoyl phosphatidylcholine membrane: A molecular dynamics simulation study [J]. *J Phys Chem B*, 2007, 111(7): 1786-1801.
- [67] Cui M, Wu W, Hovgaard L, et al. Liposomes containing cholesterol analogues of botanical origin as drug delivery systems to enhance the oral absorption of insulin [J]. *Int J Pharm*, 2015, 489(1/2): 277-284.
- [68] Ermakova E, Zuev Y. Effect of ergosterol on the fungal membrane properties. All-atom and coarse-grained molecular dynamics study [J]. *Chem Phys Lipids*, 2017, 209: 45-53.
- [69] Chen C F, Tripp C P. A comparison of the behavior of cholesterol, 7-dehydrocholesterol and ergosterol in phospholipid membranes [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2012, 1818(7): 1673-1681.
- [70] Pencer J, Nieh M P, Harroun T A, et al. Bilayer thickness and thermal response of dimyristoylphosphatidylcholine unilamellar vesicles containing cholesterol, ergosterol and lanosterol: A small-angle neutron scattering study [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2005, 1720(1/2): 84-91.
- [71] 曹龙辉, 李晓珺, 赵文红, 等. 麦角甾醇的研究进展 [J]. 中国酿造, 2014, 33(4): 9-12.
- [72] 高铤晖, 王高乾, 黄蕙芸, 等. 真菌三萜及甾体的生物合成研究进展 [J]. 有机化学, 2018, 38(9): 2335-2347.
- [73] 李 静, 周立刚, 文成敬. 真菌甾体化合物的研究进展 [J]. 天然产物研究与开发, 2008, 20(1): 165-171.
- [74] Zerbinati C, Iuliano L. Cholesterol and related sterols autoxidation [J]. *Free Radic Biol Med*, 2017, 111: 151-155.
- [75] Albuquerque H M T, Santos C M M, Silva A M S. Cholesterol-based compounds: Recent advances in synthesis and applications [J]. *Molecules*, 2018, 24(1): E116.
- [76] Yang B, Geng S Y, Wang J Y. Physical stability of cholesterol derivatives combined with liposomes and their *in vitro* behavior [J]. *Annu Int Conf IEEE Eng Med Biol Soc*, 2013, 2013: 4114-4117.
- [77] Monpara J, Kanthou C, Tozer G M, et al. Rational design of cholesterol derivative for improved stability of paclitaxel cationic liposomes [J]. *Pharm Res*, 2018, 35(4): 90.
- [78] Song X Y, Han F Y, Chen J J, et al. Timosaponin AIII, a steroidal saponin, exhibits anti-tumor effect on taxol-resistant cells *in vitro* and *in vivo* [J]. *Steroids*, 2019, 146: 57-64.
- [79] 徐先祥, 吴杨峥, 孙爱静, 等. 中药皂苷的植物雌激素样作用 [J]. 中国临床药理学与治疗学, 2011, 16(12): 1431-1436.
- [80] 朱晓丽. 人参皂苷药理作用研究进展 [J]. 中国药物经济学, 2017, 12(12): 152-154.
- [81] Meng J, Hu X Q, Zhang T T, et al. Saponin from sea cucumber exhibited more significant effects than ginsenoside on ameliorating high fat diet-induced obesity in C57BL/6 mice [J]. *Med Chem Comm*, 2018, 9(4): 725-734.
- [82] Song S S, Cong P X, Xu J, et al. Absorption and pharmacokinetic study of two sulphated triterpenoid saponins in rat after oral and intravenous administration of saponin extracts of *Pearsonothuria graeffei* by HPLC-MS [J]. *J Funct Foods*, 2016, 25: 62-69.
- [83] 陈燕芳, 卞 卡. 知母皂苷 AIII 药理活性及机制研究进展 [J]. 上海中医药杂志, 2016, 50(11): 102-104.
- [84] Hong C, Wang D, Liang J M, et al. Novel ginsenoside-based multifunctional liposomal delivery system for combination therapy of gastric cancer [J]. *Theranostics*, 2019, 9(15): 4437-4449.
- [85] Li R, Zhang L Y, Li Z J, et al. Characterization and absorption kinetics of a novel multifunctional nanoliposome stabilized by sea cucumber saponins instead of cholesterol [J]. *J Agric Food Chem*, 2020, 68(2): 642-651.
- [86] 马宁辉, 路 璐, 丁 越, 等. 盐酸阿霉素和知母皂苷 A III 共载脂质体的制备及包封率的测定 [J]. 中草药, 2019, 50(1): 69-75.
- [87] Lu L, Ding Y, Zhang Y, et al. Antibody-modified liposomes for tumor-targeting delivery of timosaponin AIII [J]. *Int J Nanomedicine*, 2018, 13: 1927-1944.
- [88] 刘若因, 徐 立, 时 乐, 等. 常用皂苷类中药致肝损伤的毒理学研究进展 [J]. 中南药学, 2010, 8(12): 916-919.
- [89] 罗玉琴, 杨伟俊, 阿吉艾克拜尔·艾萨. 毛茛菪总倍半萜磁性纳米脂质体在小鼠体内组织分布和靶向效果 [J]. 现代药物与临床, 2019, 34(1): 5-10.