

聚乙二醇修饰木犀草素脂质体的制备及其理化性质

刘淼, 高悦, 李康帆, 何维维, 李靖原, 王婷, 钱卫东*

(陕西科技大学食品与生物工程学院, 陕西西安 710021)

摘要: 研究聚乙二醇修饰木犀草素脂质体的最佳制备工艺, 以提高木犀草素的生物利用度。采用薄膜分散法制备聚乙二醇修饰木犀草素脂质体, 以磷脂、胆固醇和磷脂酰乙醇胺-聚乙二醇 2000 作为载体, 包封率为评价指标, 采用 Box-Behnken 设计实验响应面优化法优化工艺参数, 分析聚乙二醇修饰木犀草素脂质体的粒径、电位和形态等指标。结果表明聚乙二醇修饰木犀草素脂质体的最佳制备参数为: 膜材比为 10:1, 脂药比为 16:1, 磷脂酰乙醇胺-聚乙二醇 2000 的质量分数为 3%, 超声时间 15 min, 水化温度 40 ℃。Box-Behnken 响应面法优化后的聚乙二醇修饰木犀草素脂质体平均包封率为 86.3%, 平均粒径为 134.1 nm, 电位为 -14.07 mV, 且在胃液、小肠液和结肠液中的累积释放率分别为 39.08%、43.67% 和 71.71%。所制备的聚乙二醇修饰木犀草素脂质体包封率高, 粒度均匀, 缓释效果明显。

关键词: 木犀草素; 脂质体; 薄膜分散法; 响应面优化法

文章编号: 1673-9078(2021)10-118-125

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2021.10.0064

Preparation and Physicochemical Properties of Polyethylene Glycol-modified Luteolin Liposome

LIU Miao, GAO Yue, LI Kang-fan, HE Wei-wei, LI Jing-yuan, WANG Ting, QIAN Wei-dong*

(School of Food and Biological Engineering, Shaanxi University of Science & Technology, Xi'an 710021, China)

Abstract: The optimal preparation process of polyethylene glycol-modified luteolin liposome was investigated to enhance the bioavailability of luteolin. Polyethylene glycol-modified luteolin liposomes were prepared by the thin-film dispersion method. Phospholipids, cholesterol and phosphatidylethanolamine-polyethylene glycol 2000 (DSPE-PEG2000) were employed as carriers, and the encapsulation efficiency was used as the evaluation index. The Box-Behnken design experiment was used to optimize the process parameters by response surface optimization method. Then the size, zeta potential and morphology of the prepared liposomes were determined. Results showed that the optimal conditions were: ratio of membrane to material was 10:1, ratio of lipid to drug was 16:1, and mass fraction of DSPE-PEG2000 was 3%, ultrasonic treatment time was 15 min, and hydration temperature was 40 ℃. The average encapsulation efficiency of the modified luteolin liposomes was approximately 86.3%, with the mean particle size and potential being 134.1 nm and -14.07 mV, respectively. The cumulative release rates of luteolin from the liposomes in the simulated gastric juice, small intestinal juice and colon fluid were 39.08%, 43.67% and 71.71%, respectively. The prepared liposomes had a high encapsulation efficiency, uniform particle size and obvious sustained-release effect. The preparation method is simple and feasible.

Key words: luteolin; liposome; membrane dispersion; response surface methodology

引文格式:

刘淼,高悦,李康帆,等.聚乙二醇修饰木犀草素脂质体的制备及其理化性质[J].现代食品科技,2021,37(10):118-125,+316

LIU Miao, GAO Yue, LI Kang-fan, et al. Preparation and physicochemical properties of polyethylene glycol-modified luteolin liposome [J]. Modern Food Science and Technology, 2021, 37(10): 118-125, +316

收稿日期: 2021-01-18

基金项目: 西安市科技计划项目 (2019216514GXRC001CG002-GXYD1.6); 西安市未央区科技计划项目 (201926)

作者简介: 刘淼 (1994-), 女, 在读硕士研究生, 研究方向: 中药学, E-mail: 1804065@sust.edu.cn

通讯作者: 钱卫东 (1980-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 应用微生物研究, E-mail: qianweidong@sust.edu.cn

木犀草素 (3',4',5,7-四羟基黄酮) 是一种类黄酮多酚类化合物, 广泛存在于水果、蔬菜和中草药中。现有研究表明木犀草素具有抗肿瘤^[1]、抗氧化^[2]、抗炎^[3]、保护神经系统^[4]和抗菌^[5]等活性。值得注意的是, 木犀草素作为拓扑异构酶抑制剂, 也是一种潜在的可用于治疗肿瘤的天然活性成分。然而, 木犀草素属于脂溶性药物, 存在水溶性差和生物利用度低等问题,

这对其临床应用产生了一定的限制。因此,改善木犀草素成药性缺陷是提高其临床应用的重要前提之一。

脂质体是一种特殊的囊泡,由一个或多个封闭的壳或片层组成,由磷脂双层组成,磷脂是两亲性的,其基本特征是在同一分子上有一个亲脂的尾部和亲水性的头部^[6]。脂质体大小从几十纳米到几百微米,这主要取决于所用的制备方法。脂质体制备方法有薄膜分散法^[7]、硫酸铵梯度法^[8]、冷冻干燥法^[9]等,其中薄膜分散法制备的脂溶性药物脂质体的包封率高,硫酸铵梯度法对两亲性药物脂质体的包封率高、渗漏小,而冷冻干燥法主要用于包裹蛋白质、多肽等在水溶液中不稳定的物质。脂质体以其血液循环时间长,生物相容性好,生物利用度好和肿瘤特异性高等优点,备受人们关注。

聚乙二醇是一种高亲水性聚合物,能在脂质体表面形成一层水化膜,可阻碍血浆成分与脂质体表面的吸附,从而降低网状内皮系统对脂质体的摄取,使脂质体在体循环中作用时间延长,有利于延长药物的作用时间。鉴于聚乙二醇及其衍生物可提高药物载体的稳定性^[10],研究人员通过对脂质体的表面修饰,将聚乙二醇运用于基于脂质体的药物传递系统的制备研究中^[11],但对聚乙二醇木犀草素脂质体修饰的报道较少。为此,本文利用薄膜分散法制备聚乙二醇修饰木犀草素脂质体,同时应用 Box-Behnken 结合响应面方法优化脂质体处方,以包封率、粒径大小、电位等为评价指标,分析聚乙二醇修饰木犀草素脂质体的最佳制备工艺。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试剂

木犀草素(CAS: 491-70-3, HPLC 纯度 \geq 98%)、氯仿、甲醇、蛋黄卵磷脂、胆固醇、磷脂酰乙醇胺-聚乙二醇 2000 (DSPE-PEG2000)、胃蛋白酶、胰蛋白酶、果胶酶、氯化钠、磷酸二氢钠和氢氧化钠。

1.1.2 主要设备

电热恒温水浴锅、紫外-可见分光光度计、旋转蒸发仪、电子分析天平、超声波细胞破碎仪、纳米粒度及 ZETA 电位分析仪、透射电子显微镜、pH 计。

1.2 方法

1.2.1 木犀草素检测标准曲线的绘制

采用全波长扫描仪分析 0.1 mg/mL 木犀草素乙醇溶液和空白聚乙二醇修饰脂质体的吸光度,明确木犀

草素的吸收最大吸收波长。分别配制 0.05、0.1、0.15、0.2、0.25 mg/mL 的木犀草素乙醇溶液,采用紫外分光光度计测定吸光值,绘制线性回归方程,所制得的回归方程及相关系数为 $y=9.378x+0.0027$, $R^2=0.995$ 。

1.2.2 聚乙二醇修饰木犀草素脂质体的制备

采用薄膜分散法制备木犀草素脂质体^[12],按一定比例称取蛋黄卵磷脂、胆固醇和木犀草素,溶解于氯仿:甲醇=2:1 (V/V) 中,置于旋转蒸发仪中旋转,待薄膜形成后加入 15 mL 纯净水充分摇匀,置于水浴锅中继续水化 1 h 后进行超声处理,获得木犀草素脂质体溶液。接着加入等体积不同质量分数 DSPE-PEG2000 的水溶液,再涡旋使之均匀混合后 4 °C 静置 1 h,即得聚乙二醇修饰木犀草素脂质体^[13]。

1.2.3 聚乙二醇修饰木犀草素脂质体包封率的测定

采用超滤离心法^[14]分析聚乙二醇修饰木犀草素脂质体包封率,取 3 mL 脂质体置于超滤离心管中,离心 (5000 r/min) 10 min,取 400 μ L 过滤所得的溶液测定吸光值,计算游离木犀草素的含量。另取 400 μ L 脂质体,加入无水甲醇涡旋 10 min 进行破乳,测定吸光值,计算聚乙二醇修饰木犀草素脂质体的包封率。计算公式如下:

$$\text{包封率} / \% = \frac{M_a - M_b}{M_a} \times 100\% \quad (1)$$

式中:

M_a ——木犀草素总浓度, mg/mL;

M_b ——游离的木犀草素浓度, mg/mL。

1.2.4 聚乙二醇修饰木犀草素脂质体制备的单因素实验

研究不同膜材(蛋黄卵磷脂:胆固醇)质量比(4:1、6:1、8:1、10:1、12:1)、脂药(蛋黄卵磷脂与木犀草素)质量比(8:1、16:1、24:1、32:1)、超声时间(10 min、15 min、20 min、25 min、30 min)、水化温度(30 °C、40 °C、50 °C、60 °C)和 DSPE-PEG2000 的质量分数(2%、3%、4%、5%、6%)对包封率的影响。依次选出膜材比,药脂比,超声时间,水化温度和 DSPE-PEG2000 的质量分数对聚乙二醇修饰木犀草素脂质体包封率的影响,筛选出合适的三因素进行进一步分析。

1.2.5 聚乙二醇修饰木犀草素脂质体制备的响应面实验

在单因素试验结果的基础上,采 Design-Expert 试验设计方法,表 1 为响应面实验因素水平编码表,以膜材比、脂药比、DSPE-PEG2000 的质量分数为三因素,将各个因素的低水平、中水平、高水平分别用

-1、0、1 标记。以包封率为响应值，进行响应面实验设计。

表 1 响应面实验因素水平表

Table 1 Response surface experimental factor level table

因素	水平		
	-1	0	1
膜材比 (A)	8:1	10:1	12:1
脂药比 (B)	8:1	16:1	24:1
DSPE-PEG2000 的质量分数 (C)	2%	3%	4%

1.2.6 聚乙二醇修饰木犀草素脂质体的粒径分布、电位

采用纳米粒度及 ZETA 电位仪在室温下进行平均粒径和电位 (ζ) 测定，每个样品平行测定三次。

1.2.7 聚乙二醇修饰木犀草素脂质体的形态分析

为了观察聚乙二醇修饰木犀草素脂质体的形态，将所制得的聚乙二醇修饰木犀草素脂质体进行光学分析，然后再用透射电镜分析外貌特征。取木犀草素脂质体样品在水中稀释，将 20 μL 稀释样品滴加在 150 目铜网上，静置 10 min。然后用磷钨酸负染色液 (2%) 的覆盖网格 2 min，自然干燥，用透射电镜对样品进行分析^[15]。

1.2.8 聚乙二醇修饰木犀草素脂质体在体外模拟液中的释放实验^[16]

在 100 mL 胃液、小肠液和结肠液中分别加入 25 mL 聚乙二醇修饰木犀草素脂质体溶液，置于 100 r/min，温度为 37 $^{\circ}\text{C}$ 的摇床中，每隔一定时间段取样分析，取样时段为 0 h、0.5 h、1 h、2 h、3 h、4 h、5 h、6 h、7 h、8 h、9 h、10 h，分别取出 1 mL 释放介质，同时加入等温等体积的对应模拟液，实验重复三次。用紫外分光光度计测定木犀草素的含量，计算累积释放率。计算公式如下：

$$\text{累积释放率} / \% = \frac{E_a - E_b}{E_{\text{total}}} \times 100\% \quad (2)$$

式中：

E_a ——时间 a 时测定的游离木犀草素含量，mg；

E_b ——反应刚开始时测定游离木犀草素的含量，mg；

E_{total} ——包封的木犀草素总量，mg。

1.2.9 数据统计分析

实验重复三次，实验数据用 origin 2017 软件分析并作图，数据以平均值 \pm 标准差 (SD) 表示。

2 结果与讨论

2.1 木犀草素含量分析

从图 1 可知，木犀草素的最大吸收波长在 370 nm 处，而空白聚乙二醇修饰脂质体在 370 nm 处无最大吸收，因而选择 370 nm 作为木犀草素的检测波长。

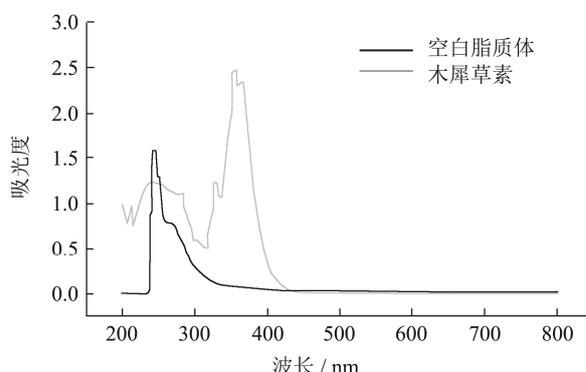
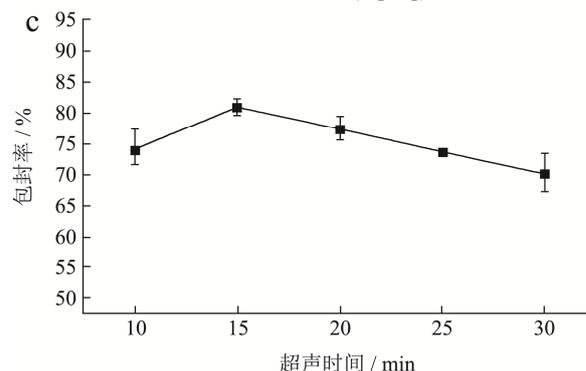
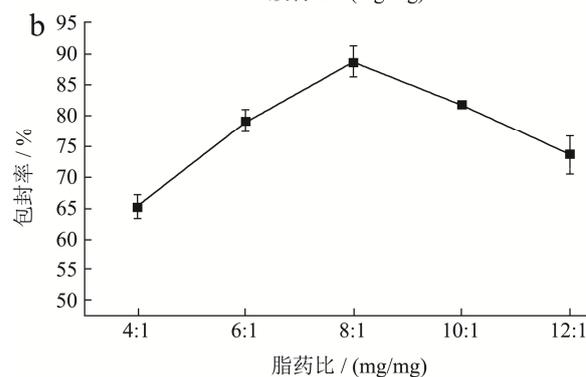
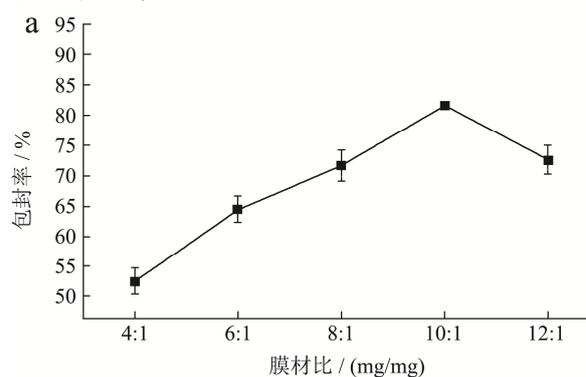


图 1 木犀草素的全波长扫描

Fig.1 The full wave scanning of luteolin

2.2 单因素实验

2.2.1 膜材比对聚乙二醇修饰木犀草素脂质体包封率的影响



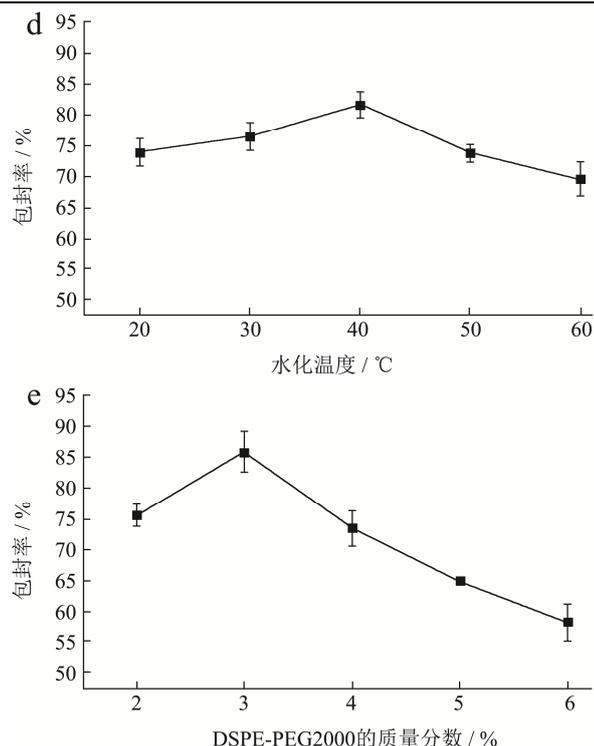


图2 单因素对聚乙二醇修饰木犀草素脂质体包封率的影响
Fig.2 Effect of single factor on the entrapment efficiency of luteolin liposome modified by polyethylene glycol

注: (a) 膜材比对脂质体包封率的影响; (b) 脂药比对脂质体包封率的影响; (c) 超声时间对脂质体包封率的影响; (d) 水化温度对脂质体包封率的影响; (e) DSPE-PEG2000 质量分数对脂质体包封率的影响。

胆固醇与磷脂是共同构成脂质体的基础物质, 胆固醇具有调节膜流动性的作用。结果如图 2a 所示, 随着磷脂与胆固醇质量比从 4:1 增加到 12:1 时, 聚乙二醇修饰木犀草素脂质体的平均包封率从 52.56% 增大到 81.43%, 随后减小至 72.6%, 这可能是由于起初胆固醇的相对含量过高, 增加脂膜刚性, 分子间排列紧密, 木犀草素难以进入磷脂双分子层中, 但是随着膜材比的增加, 使得胆固醇的相对含量降低, 包封率增加, 在 10:1 时达到最大。但是, 随着胆固醇的相对量继续降低到一定程度时, 蛋黄卵磷脂的相对量过多, 水化过程困难, 蛋黄卵磷脂聚集, 导致包封率下降, 这与之前的报道基本一致^[17]。

2.2.2 脂药比对聚乙二醇修饰木犀草素脂质体包封率的影响

结果如图 2b 所示, 木犀草素相对加入量太多, 可能超过了脂质体能包封的最大量, 导致难以形成脂质膜; 而木犀草素相对加入量太少, 则造成蛋黄卵磷脂利用度不高^[18]。因此随着脂药比的 4:1 增加到 32:1 时, 包封率先增大到 88% 随后减小到 73.56%, 当脂药比为 16:1 时包封率最大。

2.2.3 超声时间对聚乙二醇修饰木犀草素脂质体包封率的影响

适宜的超声时间有利于脂质体的形成, 但超声时间过长会使部分脂质体破裂从而降低包封率^[19]。结果如图 2c 所示, 脂质体的, 包封率随着超声时间的增大而增大, 当超声时间为 15 min 时, 包封率达到最大即为 80.86%。

2.2.4 水化温度对聚乙二醇修饰木犀草素脂质体包封率的影响

本文所用的磷脂为天然蛋黄卵磷脂, 温度过高会加速蛋黄卵磷脂的氧化, 使得脂质体膜出现降解, 导致药物流出, 引起包封率下降^[20], 所以水化温度不能太高。结果如图 2d 所示, 水化温度在 40 °C 时, 包封率较高, 为 81.66%。

2.2.5 DSPE-PEG2000 的质量分数对聚乙二醇修饰木犀草素脂质体包封率的影响

研究报道若 DSPE-PEG2000 使用量过大, 将不利于其进入脂质体的磷脂双分子层中^[21]。结果如图 2e 所示, DSPE-PEG2000 的质量分数从 2% 增加到 6% 时, 脂质体平均包封率依次为 75.46%、85.80%、73.30%、64.77%、51.33%, 呈先升高后降低现象。

2.3 利用响应曲面方法优化聚乙二醇修饰木犀草素脂质体制备工艺

表 2 Box-Behnken 试验设计方案与结果

Table 2 Design and results of Box-Behnken

编号	膜材比 (A)	脂药比 (B)	DSPE-PEG2000 的质量分数 (C)	包封率 / %
1	0	0	0	86.71
2	0	1	-1	63.03
3	0	-1	-1	71.62
4	0	0	0	85.03
5	0	0	0	88.21
6	0	0	0	92.87
7	1	0	-1	67.91
8	-1	1	0	60.07
9	1	-1	0	60.47
10	0	1	1	65.37
11	-1	0	-1	65.09
12	-1	-1	0	57.66
13	0	0	0	90.86
14	-1	0	1	60.44
15	1	1	0	56.25
16	1	0	1	52.88
17	0	-1	1	60.96

表 3 回归模型方差分析表

Table 3 Analysis of variance of regression model

方差来源	平方和	自由度	方差	F 值	显著性概率	显著性
模型	2842.61	9	315.85	45.17	<0.0001	***
A	4.12	1	4.12	0.59	0.47	-
B	10.95	1	10.95	1.57	0.25	-
C	75.77	1	75.77	10.84	0.01	*
AB	25	1	25	3.58	0.10	-
AC	12.25	1	12.25	1.75	0.23	-
BC	42.25	1	42.25	6.04	0.04	*
A ²	1201.71	1	1201.71	171.88	<0.0001	***
B ²	833.71	1	833.71	119.24	<0.0001	***
C ²	373.55	1	373.55	53.43	0.0002	***
残差	48.94	7	6.99			
失拟检验	9.25	3	3.08	0.31	0.82	-
纯误差	39.69	4	9.92			
总变异	2891.55	16				

注：“***”表示差异极显著 ($p < 0.001$)；“**”表示差异非常显著 ($p < 0.01$)；“*”表示差异显著 ($p < 0.05$)；“-”表示差异不显著。

表 4 回归方程误差统计分析表

Table 4 Statistical table of regression equation error

Std. Dev.	2.64	R-Squared	0.98
Mean	69.73	Adj R-Squared	0.96
C.V./%	3.79	Pred R-Squared	0.93
PRESS	210.02	Adeq Precision	17.43

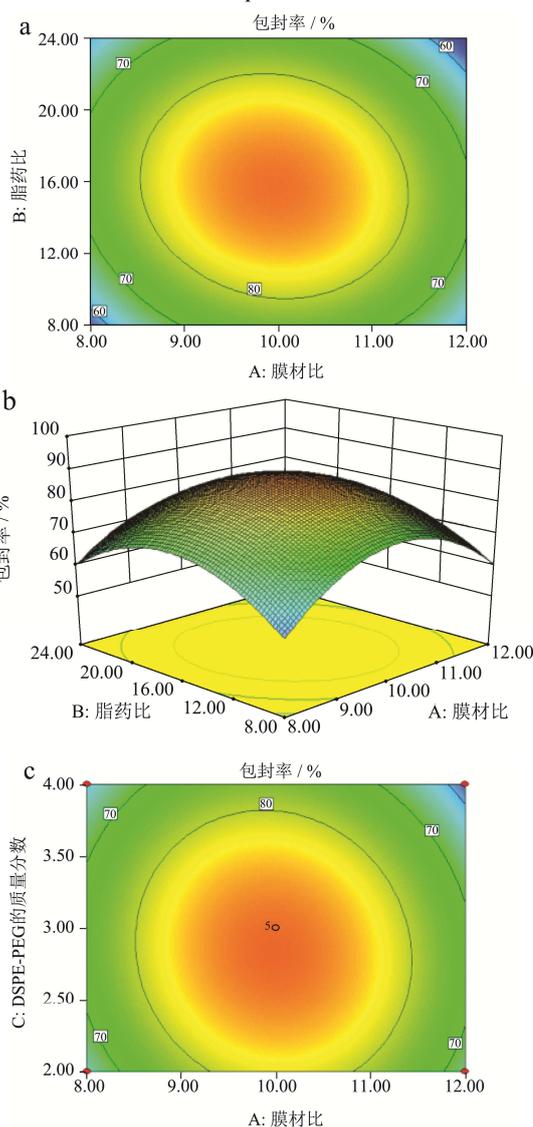
使用 Design-Expert 设计软件进行三因素三水平实验设计，三因素为膜材比、脂药比和 DSPE-PEG2000 的质量分数。响应面实验设计方案与结果如表 2 所示。

2.3.1 数据处理

使用 Design-Expert 分析表 3 和表 4，对响应面结果进行二次回归拟合，其方程包封率 (Y) = $88.74 - 0.72 \times A - 1.17 \times B - 3.08 \times C - 2.5 \times A \times B - 1.75 \times A \times C + 3.25 \times B \times C - 16.89 \times A^2 - 14.07 \times B^2 - 9.42 \times C^2$ ($R^2 = 0.98$, $F = 45.17$, 失拟度检验 $F = 0.31$, $p = 0.82$)。

由二次方程结果可知拟合模型 F 值高， $p < 0.001$ ，说明实验模型显著和较高的拟合度，失拟项 F 值为 0.31，值较小且 $p = 0.82 > 0.05$ ，表明失拟项不显著，表明拟合模型结果好，符合实验的要求，可用于分析实验结果。二次回归方程的系数 $R^2 = 0.98 > 0.95$ ，变异系数 $CV = 3.79\% < 10\%$ ，证明变异性差，实际值与预计值之间存在较高的相关性，能够准确的预测实际情况。因此 Box-Behnken 设计的模型可用于聚乙二醇修饰木犀草素脂质体的制备工艺分析和预测。

2.3.2 各因素的交互作用对脂质体壁材粒径的影响



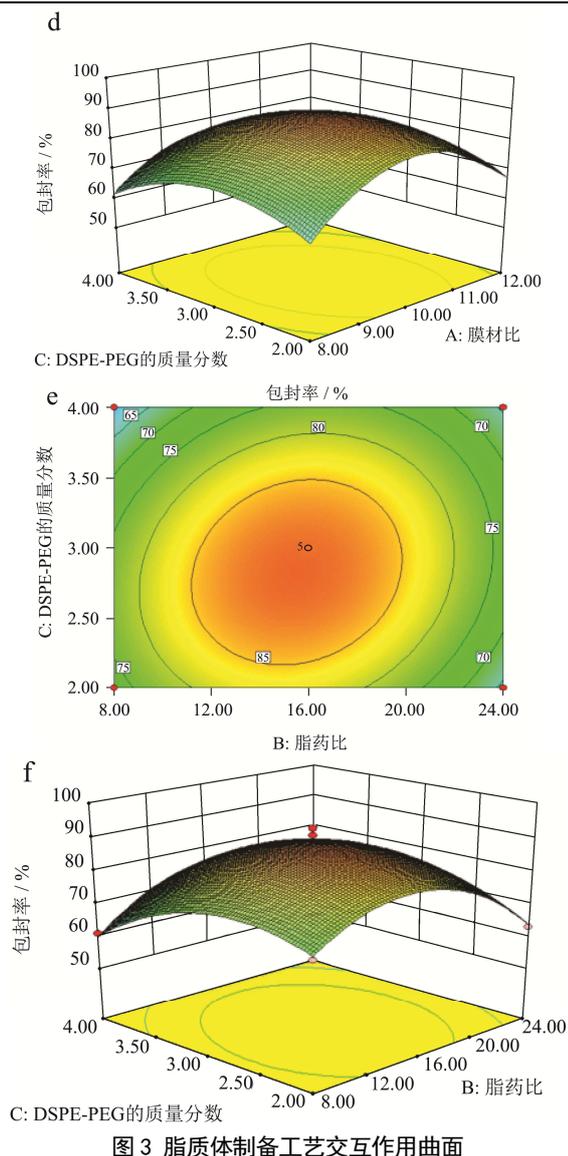


图3 脂质体制备工艺交互作用曲面

Fig.3 Response surface analysis of interaction between liposomes preparation parameter

注：(a) 膜材比和脂药比对脂质体包封率影响等高线图；(b) 膜材比和脂药比对脂质体包封率影响曲面图；(c) 膜材比和 DSPE-PEG 的质量分数对脂质体包封率影响等高线图；(d) 膜材比和 DSPE-PEG 的质量分数对脂质体包封率影响曲面图；(e) 脂药比和 DSPE-PEG 的质量分数对脂质体包封率影响等高线图；(f) 药脂比和 DSPE-PEG 的质量分数对脂质体包封率影响曲面图。

Design-Expert 分析可知，3 个因素中 DSPE-PEG 2000 的质量分数对包封率的影响最大，其次是脂药比和膜材比。三因素之间均存在一定的交互作用，其中 DSPE-PEG2000 的质量分数和脂药比的交互作用最为显著 ($F=6.04$)。为探讨三因素之间交互作用对木犀草素脂质体包封率的影响，根据二次回归方程的拟合结果，将膜材比，脂药比和 DSPE-PEG2000 的质量分数中的一个因素固定，以获得另外两个因素对脂质体包

封率的影响。

从图 3 可以看出，三个响应曲面图坡度都较陡峭，其中固定 DSPE-PEG2000 的质量分数，膜材比和脂药比交互的响应曲面图最陡峭，表明这三因素对脂质体包封率的影响均有明显的影响，但膜材比和脂药比对脂质体包封率的影响最大。综合表 3 结果可知，膜材比和脂药比、膜材比和 DSPE-PEG2000 的质量分数，两两之间交互作用不显著 ($p>0.05$)，而脂药比和 DSPE-PEG2000 的质量分数之间具有显著的交互作用 ($p<0.05$)。

2.3.3 最佳制备工艺参数的确定

利用软件进行优化，聚乙二醇修饰木犀草素脂质体最佳制备参数为：在保持其它工艺条件不变的情况下，当膜材比为 10:1，脂药比为 16:1，DSPE-PEG2000 的质量分数为 3%，超声时间 15 min 和水化温度 40 °C 时，所制备的聚乙二醇修饰木犀草素脂质体，其平均包封率为 86.30%，表明木犀草素脂质体最佳制备工艺的可行性较好。

2.4 聚乙二醇修饰木犀草素脂质体粒径及电位

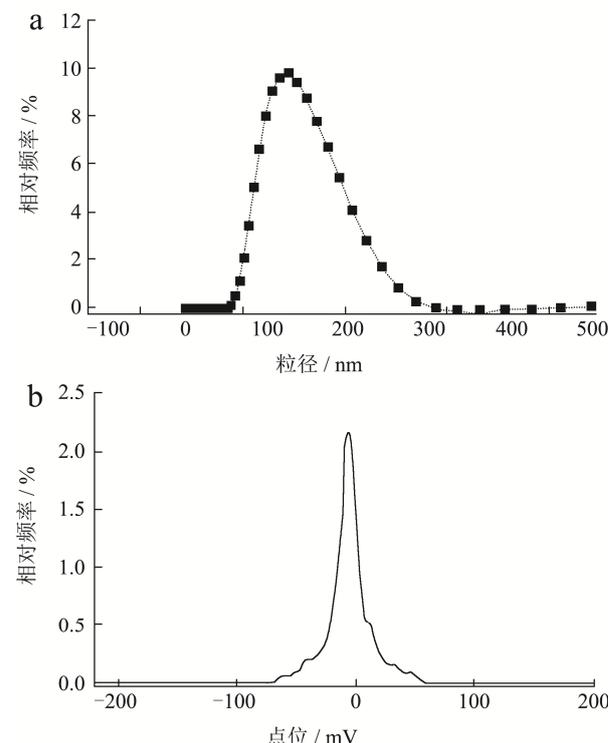


图4 聚乙二醇修饰木犀草素脂质体粒径分布及 Zeta 电位图
Fig.4 Distribution of particle size and Zeta potential of luteolin liposome modified by polyethylene glycol

注：(a) 脂质体粒径分布图；(b) 脂质体电位图。

取一定量聚乙二醇修饰木犀草素脂质体溶液，用去离子水稀释一定倍数后，利用纳米粒度及 ZETA 电位仪测定粒径和 Zeta 电位。结果如图 4a 所示，脂质

体平均粒径为 134.1 nm, 且大多数分布在 80~200 nm。曹大振等^[22]研究以大豆卵磷脂、胆固醇为膜材, 用薄膜-超声分散法制备了表没食子儿茶素没食子酸酯脂质体, 制备的脂质体的平均粒径为 132.74 nm, 与本研究所制备的脂质体粒径相当。脂质体多分散指数 (PDI) 为 0.14, PDI 与脂质体的稳定性紧密相关, 当 PDI 值 ≥ 1.0 , 脂质体均一性较差, 而 PDI 值 ≤ 0.30 , 表明 60%以上的脂质体粒径大小相当^[23], 均一性较好, 符合要求。Zeta 电位是评价脂质体分散稳定性的重要参数, 如图 4b 所示, 本文所制备的脂质体电位为-14.07 mV, 为带负电的脂质体, 而 Zeta 电位是评价脂质体制剂分散稳定性的重要参数, Zeta 电位不仅可表征粒子的表面电荷, 而且可用于分析粒子间排斥力, 可以预测分散体的稳定性, 理论上电荷脂质体带负电荷越多其越稳定。朱顺耀等^[24]采用改良逆相乙醇注入法制备唾液酸修饰的绿原酸脂质体, 其 Zeta 电位为-25.3 mV。此外, 研究发现 DSPE-PEG2000 也可以增加脂质体的空间位阻, 使脂质体更加稳定^[15]。

2.5 聚乙二醇修饰木犀草素脂质体的形貌

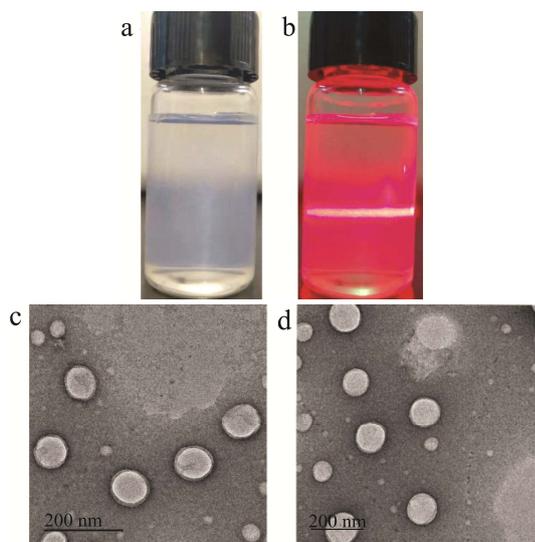


图 5 木犀草素脂质体形貌特征

Fig.5 Morphology of luteolin liposome

注: (a) 聚乙二醇修饰木犀草素脂质体外观; (b) 丁达尔现象; (c) 木犀草素脂质体 TEM; (d) 和聚乙二醇修饰木犀草素脂质体 TEM。

如图 5, 聚乙二醇修饰木犀草素脂质体呈均一透明, 具有蓝色乳光的胶体形态 (图 5a), 且在激光照射下能产生丁达尔效应 (图 5b), 表明制备的脂质体状态较好。用磷钨酸负染于透射电镜下观察木犀草素脂质体和聚乙二醇修饰木犀草素脂质体形态 (图 5b), 观察到木犀草素脂质体 (图 5c) 和聚乙二醇修饰木犀草素脂质体 (图 5d) 外观比较圆整, 多数为球形, 且

大小较为均一, 少数形状不规则。

2.6 聚乙二醇修饰木犀草素脂质体在体外不同模拟液的释放曲线

以取样时间为横坐标, 以木犀草素累积释放率为纵坐标, 结果如图 6 所示, 聚乙二醇修饰木犀草素脂质体在胃、小肠和结肠模拟液中累积释放量分别为 39.08%、43.67%和 71.71%。

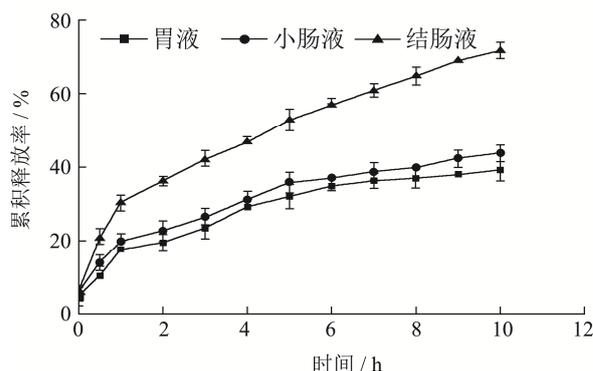


图 6 聚乙二醇修饰木犀草素脂质体在不同模拟液中的释放曲线

Fig.6 Release kinetics of luteolin liposome modified by polyethylene glycol in different simulated medium

3 结论

木犀草素具有多种药理作用, 但水溶性差, 因此将其制备成脂质体不仅可提高溶解度, 而且可增加生物利用度。本文以木犀草素包封率为评价指标, 结果表明水化温度和超声时间对脂质体包封率的影响较小, 进而应用响应面方法优化蛋黄卵磷脂和 DSPE-PEG2000 含量, 获得制备工艺参数, 构建聚乙二醇修饰木犀草素的脂质体。经优化后所制备的聚乙二醇修饰木犀草素脂质体平均粒径为 134.1 nm, Zeta 电位为-14.07 mV, 平均包封率为 86.30%, 且体外缓释性良好。

参考文献

- [1] Niu J X, Guo H P, Gan H M, et al. Effect of luteolin on gene expression in mouse H22 hepatoma cells [J]. Genetic and Molecular Research, 2015, 14(4): 14448
- [2] Chi X, Man-Li X, Jue W, et al. Luteolin attenuates cardiac ischemia/reperfusion injury in diabetic rats by modulating Nrf2 antioxidative function [J]. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2019: 2719252
- [3] Sung J, Lee J. Anti-inflammatory activity of butein and luteolin through suppression of NF κ B activation and induction of heme oxygenase-1 [J]. Journal of Medicinal

- Food, 2015, 18(5): 557
- [4] Xu J, Wang H, Ding K, et al. Luteolin provides neuroprotection in models of traumatic brain injury via the Nrf2-ARE pathway [J]. *Free Radical Biology & Medicine*, 2014, 71: 186-195
- [5] Prakash A, Nithyanand P, Vadivel V. *In vitro* antibacterial activity of nut by-products against foodborne pathogens and their application in fresh-cut fruit model [J]. *Journal of Food Science and Technology*, 2018, 55(10): 4304-4310
- [6] Akbarzadeh A, Rezaei-Sadabady R, Davaran S, et al. Liposome: classification, preparation, and applications [J]. *Nanoscale Research Letters*, 2013, 8(1): 102
- [7] Wu G, Li J, Yue J, et al. Liposome encapsulated luteolin showed enhanced antitumor efficacy to colorectal carcinoma [J]. *Molecular Medicine Reports*, 2018, 17(2): 2456-2464
- [8] LV Xiao-yan, YIN Jun-jing, YANG Xiu-cheng, et al. Formulation and efficacy of liposome-encapsulated afatinib for therapy of non-small cell lung cancer [J]. *Chinese Journal of Lung Cancer*, 2018, 21(9): 663-669
- [9] Han H K, Jung I W, Lee B J. Effective mucoadhesive liposomal delivery system for risedronate: preparation and *in vitro/in vivo* characterization [J]. *International Journal of Nanomedicine*, 2014, 2014: 2299-2306
- [10] Harris J M, Martin N E, Modi M. PEGylation: a novel process for modifying pharmacokinetics [J]. *Clinical Pharmacokinetics*, 2001, 40(7): 539-551
- [11] Santos N D, Allen C, Doppen A M, et al. Influence of poly (ethylene glycol) grafting density and polymer length on liposomes: relating plasma circulation lifetimes to protein binding [J]. *Biochimica Et Biophysica Acta*, 2007, 1768(6): 1367-1377
- [12] 张壮丽,汪婉莹,赵璐丹,等.聚乙二醇修饰鱼腥草挥发油脂质体的制备与评价[J].*中药材*,2020,11:2763-2767
ZHANGN Zhuang-li, WANG Wan-ying, ZHAO Lu-dan, et al. Preparation and evaluation of polyethylene glycol modified volatile oil plastids from *Houttuynia cordata* [J]. *Journal of Chinese Medicinal Materials*, 2020, 11: 2763-2767
- [13] 徐焕普,裴朝阳,孙仕杰,等.响应面法优化西兰花种子萝卜硫素前体脂质体的制备工艺[J].*过程工程学报*,2021,21(3): 305-313
XU Huan-pu, PEI Chao-yang, SUN Shi-jie, et al. Optimization of preparation technology of sulforaphane precursor liposomes from broccoli seeds by response surface methodology [J]. *The Chinese Journal of Process Engineering*, 2021, 21(3): 305-313
- [14] 刘玉兰.肉桂醛脂质体的制备及理化性质研究[D].长春:吉林大学,2019
LIU Yu-lan. Study on preparation of cinnamaldehyde liposomes and its physicochemical properties [D]. Changchun: Jilin University, 2019
- [15] Li J, Cheng X, Chen Y, et al. Vitamin E TPGS modified liposomes enhance cellular uptake and targeted delivery of luteolin: an *in vivo/in vitro* evaluation [J]. *International Journal of Pharmaceutics*, 2016: 262-272
- [16] 赵静,李娜,李开玲,等.姜黄素脂质体的体外释放及在体胃肠吸收研究[J].*重庆医科大学学报*,2019,44(3):35-41
ZHAO Jing, LI Yuan, LI Kai-ling, et al. *In vitro* release and *in vivo* gastrointestinal absorption of curcumin ethosomes [J]. *Journal of Chongqing Medical University*, 2019, 44(3): 35-41
- [17] 张茹,元琳琳,孙凯玥,等.纳米白藜芦醇脂质体的制备及分配系数测定[J].*物理化学学报*,2020,36(6):70-76
ZHANG Ru, YUAN Lin-lin, SUN Kai-yue, et al. Preparation and partition coefficient determination of nano resveratrol liposomes [J]. *Acta Physico-Chimica Sinica*, 2020, 36(6): 70-76
- [18] 熊伟,李雄辉,胡居吾,等.薄膜-超声法制备二氢杨梅素脂质体的工艺研究[J].*食品工业科技*,2012,33(5):254-257
XIONG Wei, LI Xiong-hui, HU Ju-wu, et al. Study on the dihydromyricetin liposome preparation by membrane-ultrasonic method [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2012, 33(5): 254-257
- [19] 徐贤柱,魏允,饶华,等.绿原酸纳米脂质体制备与抑菌性分析[J].*食品科学*,2014,35(20):62-66
XU Xian-zhu, WEI Yun, RAO Hua, et al. Preparation and antibacterial effect of chlorogenic acid nanoliposome [J]. *Food Science*, 2014, 35(20): 62-66
- [20] 郝静梅,孙志高,盛冉,等.柠檬烯纳米脂质体的制备及其性质测定[J].*食品与发酵工业*,2018,44(4):173-179
HAO Jing-mei, SUN Zhi-gao, SHENG Ran, et al. Preparation and characterization of limonene nanoliposomes [J]. *Food and Fermentation Industry*, 2018, 44(4): 173-179
- [21] Paolino D, Accolla M L, Cilurzo F, et al. Interaction between PEG lipid and DSPE/DSPC phospholipids: An insight of PEGylation degree and kinetics of de-PEGylation [J]. *Colloids & Surfaces B-Biointerfaces*, 2017, 155: 266

(下转第 316 页)