

负载染料木素纳米脂质体的制备 及其体外抗炎活性研究

闫慧佳^{1,2}, 李燕飞^{1,2}, 李思慧^{1,2}, 胡蒋宁^{1,2}

(1. 大连工业大学 食品学院, 辽宁 大连 116034; 2. 国家海洋食品工程技术研究中心, 辽宁 大连 116034)

摘要:为了提高染料木素(Gen)的生物利用率以及为脂溶性生物活性物质在新型功能食品中的开发提供参考,采用薄膜分散法,以大豆卵磷脂和胆固醇为原料,制备了负载 Gen 的纳米脂质体(Gen@Lip),并对其基本指标、结构、储存稳定性、体外释放特性和抗炎活性进行分析。结果表明:制备的 Gen@Lip 的 Gen 负载量为 36%, Gen@Lip 的平均粒径为 (242.73 ± 2.03) nm, 多分散指数为 0.32, Zeta - 电位为 (-16.33 ± 1.16) mV; 结构表征结果证实 Gen 被有效包埋在 Gen@Lip 中; Gen@Lip 具有良好的储存稳定性; Gen@Lip 能够有效地通过胃进入到肠道实现缓释作用; 相较于游离的 Gen, Gen@Lip 对 Raw 264.7 细胞有更强的抑炎效果, 且在使用范围 ($<100 \mu\text{mol/L}$) 内无毒副作用。综上, 所制备的 Gen@Lip 可提高 Gen 的生物利用率, 并具有明显的抗炎效果。

关键词:染料木素; 脂质体; 缓释; 抗炎

中图分类号: TS202.1; TS218

文献标识码: A

文章编号: 1003-7969(2024)06-0076-06

Preparation and *in vitro* anti-inflammatory activity of genistein-loaded nanoliposomes

YAN Huijia^{1,2}, LI Yanfei^{1,2}, LI Sihui^{1,2}, HU Jiangning^{1,2}

(1. School of Food Science and Technology, Dalian Polytechnic University, Dalian 116034, Liaoning, China;

2. National Engineering Research Center of Seafood, Dalian 116034, Liaoning, China)

Abstract: To improve the bioavailability of genistein (Gen) as well as to provide a reference for the development of lipid-soluble bioactive substances in novel functional foods, nanoliposomes loaded with Gen (Gen@Lip) were prepared by film dispersion method using soy lecithin and cholesterol as raw materials, and their basic indexes, structure, storage stability, *in vitro* release characteristics and anti-inflammatory activity were investigated. The results showed that the Gen loading, average particle size, polydispersity index, and Zeta potential of the prepared Gen@Lip was 36%, (242.73 ± 2.03) nm, 0.32 and (-16.33 ± 1.16) mV, respectively. The structural characterization results confirmed that Gen was effectively embedded in Gen@Lip, and Gen@Lip had good storage stability. Gen@Lip was able to efficiently pass through the stomach to enter into the intestines to achieve a slow release effect. Compared with free Gen, Gen@Lip had a stronger anti-inflammatory effect on the Raw 264.7 cells and had no toxic side effects within the range of use ($<100 \mu\text{mol/L}$). In conclusion, the Gen@Lip prepared can improve the bioavailability of Gen and has significant anti-inflammatory effects.

Key words: genistein; liposomes; slow release; anti-inflammatory

收稿日期: 2023-03-31; 修回日期: 2024-02-27

基金项目: 国家自然科学基金(32172208); 中央财政地方科技发展引导基金(2020JH6/10500002)

作者简介: 闫慧佳(1998), 女, 在读硕士, 研究方向为食品营养与健康(E-mail) 1324826638@qq.com。

通信作者: 胡蒋宁, 教授(E-mail) 5103725@qq.com。

脂质体是由磷脂和胆固醇等成分形成的具有类似生物膜的双分子层球形结构, 其对亲水性和亲脂性的活性物质都具有良好的包埋效果。脂质体可以保护被包埋物质免受外界环境的影响, 增强其在体内的稳定性, 延长其半衰期。同时, 脂质体也可以提

高活性物质在体内的生物利用率^[1]。目前,脂质体包埋技术已经成为研究功能食品营养增效技术的热点之一^[2]。

染料木素(Genistein, Gen)是一种黄酮类化合物,主要存在于大豆等植物中。Gen具有多种生理活性,如抗氧化、抗炎、调节免疫功能、改善心血管健康等^[3]。然而,Gen在胃肠道环境中溶解度很低,难以被机体直接吸收利用,生物利用率较低^[4],目前的研究还无法充分发挥其潜在的生理功效。因此,寻求提高Gen生物利用率的方法已成为当前的研究热点。其中,构建脂质体被认为是一种可行的方案,通过脂质体包埋技术可以改善Gen的溶解度,提高其在肠道中的吸收率,从而提高其生物利用率。

本研究设计了一种安全高效的Gen包埋体系,对体系的基本指标、结构、储存稳定性及缓释效果进行考察,从炎症细胞模型出发,对包埋前后Gen的抗炎活性进行评价,以期对脂溶性天然活性物质的活性研究和运载体系设计提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 原料与试剂

Gen(纯度 $\geq 97\%$)、胆固醇(99%生物技术级)、甲醇,上海麦克林生化科技有限公司;大豆卵磷脂,阿拉丁生物科技有限公司;氯仿,天津市大茂化学试剂厂;脂多糖(LPS)、磷酸盐缓冲液(PBS,细胞培养级)、二甲基亚砜(DMSO)和噻唑蓝(MTT),北京索莱宝科技有限公司;Raw 264.7细胞,中科院上海细胞库;Raw 264.7细胞专用培养基、DMEM高糖培养基,武汉普诺赛生命科技有限公司;胰蛋白酶,上海素尔生物科技有限公司;活性氧(ROS)测定试剂盒,南京建成科技有限公司。

1.1.2 仪器与设备

Zetasizer 3000HSA激光粒度仪,英国Malvern仪器公司;JEM-2100 UHR透射电子显微镜(TEM),日本电子株式会社;Frontier傅里叶变换红外光谱仪(FT-IR)、Lambda 35紫外分光光度计,美国铂金埃尔默公司;XRD-7000 X-射线衍射仪,日本岛津公司;Scientz-30ND真空冷冻干燥机,宁波新芝生物科技股份有限公司;SY-2000旋转蒸发仪,上海亚荣生化仪器厂;Tecan Infinite M200酶标定量测定仪,瑞士TECAN公司;Ti-S荧光倒置显微镜,日本尼康公司。

1.2 试验方法

1.2.1 负载Gen纳米脂质体(Gen@Lip)的制备

参考Zhang等^[5]的方法略有改动,采用薄膜分散法制备Gen脂质体。按质量比1:1:0.3称取

Gen、大豆卵磷脂和胆固醇,溶解于氯仿-甲醇溶剂(体积比6:2,溶剂体积不固定,充分溶解即可)中。在40℃旋转蒸发仪中旋蒸除去有机试剂,得到均匀的脂质薄膜。然后用PBS(pH 7.4)水合(PBS用量以全覆盖脂质薄膜即可),在37℃下超声30 min。所得分散液经0.45 μm滤膜过滤后制得Gen脂质体。所得脂质体用透析袋(截留分子质量为1 000 Da)透析处理,冻干后得到待测样品Gen@Lip。

1.2.2 Gen@Lip负载量的测定

配制质量浓度分别为0、0.25、0.5、1.0、2.0 mg/mL的Gen标准溶液,在254 nm处用紫外分光光度计测定其吸光度,以质量浓度(X)为横坐标,吸光度(Y)为纵坐标制作标准曲线,得回归方程为 $Y = 1.943 2X + 1.996 4$, $R^2 = 0.990 5$ 。移取0.008 g Gen@Lip,用1 mL甲醇溶解,在254 nm处测定吸光度,代入标准曲线方程计算Gen@Lip的负载量(以Gen@Lip中Gen的含量表示)。

1.2.3 粒径、多分散指数(PDI)、Zeta-电位的测定

用去离子水将Gen@Lip稀释至3 mg/mL后,使用激光粒度仪测定粒径、PDI、Zeta-电位。所有样品均重复测定3次。

1.2.4 Gen@Lip结构表征

1.2.4.1 TEM表征

参照文献[6]的方法,将Gen@Lip稀释至合适浓度后,滴加约2 μL在铜网上晾干,滴加质量浓度为2 g/100 mL的磷钨酸对Gen@Lip进行负染,15 min后用滤纸吸取多余液体,然后用TEM观测Gen@Lip形貌。

1.2.4.2 红外光谱表征

取适量的Gen@Lip和溴化钾(质量比为3:97)充分研磨后压片,再采用傅里叶变换红外光谱仪进行测定(扫描范围400~4 000 cm^{-1})。

1.2.4.3 X-射线衍射(XRD)表征

取少许冻干后的Gen或Gen@Lip粉末于干净的样品台上,用载玻片压平,再用X-射线衍射仪进行测定。测定条件:Cu靶,电压40 kV,电流30 mA,扫描范围10°~60°。

1.2.5 Gen@Lip储存稳定性的测定

将Gen@Lip分散在PBS(10 mmol/L, pH 7.4)中,制成质量浓度为3 mg/mL的溶液,室温下测定样品的粒径和PDI,连续测定7 d。所有样品均重复测定3次。

1.2.6 Gen@Lip体外释放特性研究

1.2.6.1 模拟胃、肠液的配制

模拟人工胃液:取0.32 g胃蛋白酶、0.2 g氯化

钠、7 mL 浓盐酸于烧杯中,用 0.1 mol/L 稀盐酸调整溶液的 pH 至 1.2,再转移至容量瓶中定容到 100 mL。

模拟人工肠液:取 10.0 g 胰蛋白酶、6.8 g 磷酸二氢钾于烧杯中,用 0.5 mol/L 氢氧化钠调 pH 至 7.5 ± 0.1 ,再转移至容量瓶中定容到 100 mL。

1.2.6.2 模拟胃肠消化

参考马莉君^[7]的方法并稍作修改,采用截留分子质量为 1 000 Da 的透析袋来模拟胃肠道结构。提前将活化好的长度约为 5 cm 的透析袋一端扎紧。准确称量 0.1 g Gen@ Lip 于 EP 管中,加入 1 mL 去离子水制成悬浮液。将悬浮液装入提前准备好的透析袋中,扎紧另一端,分别放入装有 20 mL 模拟胃液和肠液的烧杯中。然后在 37 °C 的恒温振荡箱中进行振荡(100 r/min),在 0、1、2、4、6、12 h 和 24 h 内分别取 1 mL 透析袋外部消化液,取样后要立即添加 1 mL 消化液以保持体系体积不变。检测样品在 254 nm 处的吸光度,根据 1.2.2 中的标准曲线方程计算样品中 Gen 的含量,再根据体系体积计算 Gen 的释放量,按下式计算 Gen 的释放率(R)。

$$R = m_1/m_0 \times 100\% \quad (1)$$

式中: m_1 为 Gen 的释放量; m_0 为待消化物 Gen@ Lip 中 Gen 的总量。

1.2.7 Gen@ Lip 体外细胞试验

1.2.7.1 细胞培养

将 Raw 264.7 细胞于 Raw 264.7 细胞专用培养基[DMEM 高糖培养基(PM150210) + 10% 胎牛血清(164210-50) + 1% 青霉素/链霉素(PB180120)]中培养。培养条件为 37 °C、5% CO₂、20% O₂,待细胞长满后,用含有 EDTA 的胰蛋白酶消化传代^[8]。

1.2.7.2 细胞毒性测定

将 Raw 264.7 细胞以 10^5 个/孔的密度置于 96 孔板中,在 37 °C 培养箱中培养 24 h。接着将培养基吸出后用 PBS 清洗 3 次,每孔加入 200 μ L 含不同浓度的 Gen 和 Gen@ Lip (0、10、20、40、60、80、100 μ mol/L,以 0 μ mol/L 为空白对照)的无血清培养基进行孵育。孵育 24 h 后吸去培养基,每孔加入 100 μ L MTT,在 37 °C 培养箱中继续孵育 4 h。随后,吸去培养基,向每个孔中加入 50 μ L DMSO 后置于恒温摇床内振荡 15 min。最后在 490 nm 处测定其吸光度。按公式(2)计算细胞活力(C)。

$$C = A_1/A_0 \times 100\% \quad (2)$$

式中: A_1 为试验组吸光度; A_0 为空白对照组吸光度。

1.2.7.3 Gen@ Lip 抗炎性能分析

将 Raw 264.7 细胞以 10^5 个/孔的密度接种于

96 孔板中,将孔板置于 37 °C 的培养箱中过夜。第二天,去掉 Raw 264.7 细胞专用培养基,依次添加 200 μ L 含不同浓度的 Gen 和 Gen@ Lip (0、10、20、40、60、80、100 μ mol/L) 的无血清培养基进行孵育。24 h 后,去掉培养基,每孔加入 200 μ L 无血清培养基(含 1 μ g/mL 的 LPS)孵育 24 h。然后吸去培养基,每孔添加 100 μ L MTT 孵育 4 h 后,移除 MTT,每孔添加 50 μ L DMSO 后置于恒温摇床内振荡 15 min。最后,在 490 nm 处测定每个孔的吸光度,按公式(2)计算细胞活力。以未添加样品而使用 LPS 处理的 Raw 264.7 细胞作为阳性对照,以未添加样品和未使用 LPS 处理的 Raw 264.7 细胞为空白对照。

1.2.7.4 Gen@ Lip 对 Raw 264.7 细胞内 ROS 水平的影响

将 Raw 264.7 细胞接种于 6 孔板中,在 37 °C 培养箱中培养 24 h,然后每孔添加 5 mL 无血清培养基(含一定浓度的 Gen 或 Gen@ Lip)在恒温培养箱中孵育 24 h。吸去培养基后,每孔添加 5 mL 无血清培养基(含 1 μ g/mL 的 LPS)继续孵育 24 h,根据 ROS 测定试剂盒方法评估细胞中 ROS 水平。以未添加样品(Gen 或 Gen@ Lip)的为模型组,以未添加样品和 LPS 的为空白组。

2 结果与讨论

2.1 Gen@ Lip 的负载量、粒径、PDI 和 Zeta - 电位

负载量是评价脂质体包埋效果的关键指标。经测定,所制备的 Gen@ Lip 平均负载量约为 36% ($n=3$)。脂质体的粒径与被包埋的营养物质在人体的吸收和释放有直接的关系^[9],窄而均匀的粒径分布是制备脂质体的关键。PDI 可以直观地反映粒径分布的均匀程度,PDI 越小往往意味着更均匀的粒径分布^[10]。Gen@ Lip 的粒径分布如图 1 所示。

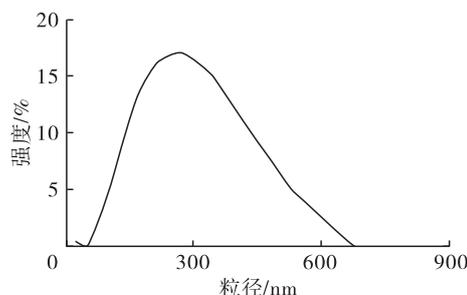


图 1 Gen@ Lip 的粒径分布

由图 1 可知,Gen@ Lip 粒径分布曲线呈单峰分布,说明所制备的 Gen@ Lip 具有良好的稳定性。Gen@ Lip 的平均粒径为 (242.73 ± 2.03) nm, PDI 为 0.32,说明 Gen@ Lip 粒径较小,分布均匀,较为稳定^[11]。表面电荷是脂质体发挥抗炎作用不可忽视

的参数之一。经测定,Gen@ Lip 的 Zeta - 电位为 (-16.33 ± 1.16) mV。一般来说,在炎症模型中,带负电的纳米粒子可通过静电作用与炎症区域内带正电的蛋白质相互作用,从而有助于其在炎症组织上的黏附,更好地在炎症部位发挥疗效^[12]。

2.2 Gen@ Lip 的结构表征

2.2.1 形貌

Gen@ Lip 的 TEM 图如图 2 所示。

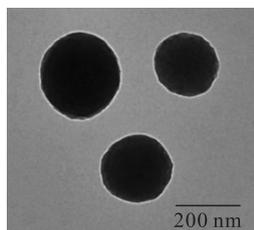


图 2 Gen@Lip 的 TEM 图

由图 2 可知,Gen@ Lip 微观形态近似球形,且分散性较好,粒径大小在 200 nm 左右,与激光粒度仪测定结果基本一致。

2.2.2 红外光谱图

Gen@ Lip 的红外光谱图如图 3 所示。

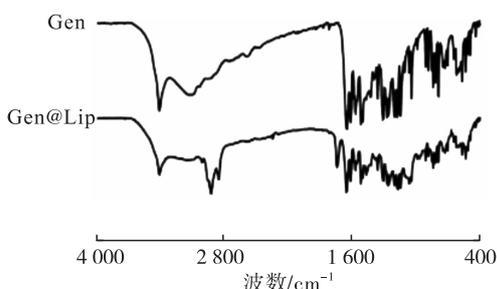


图 3 Gen 和 Gen@Lip 的红外光谱图

如图 3 所示,Gen 的特征吸收峰 $3\ 409\ \text{cm}^{-1}$ 为 $-\text{OH}$ 的伸缩振动, $2\ 500 \sim 3\ 200\ \text{cm}^{-1}$ 为 $-\text{OH}$ 与 $\text{C}=\text{O}$ 形成的分子内氢键的伸缩振动, $1\ 652\ \text{cm}^{-1}$ 为 $\text{C}=\text{O}$ 的伸缩振动。而在 Gen@ Lip 的红外光谱图中,基本保留了 Gen 的所有特征吸收峰,但峰的形状和宽度有所改变,说明 Gen 的一些官能团与大

豆卵磷脂和胆固醇的某些部分发生了相互作用^[13]。对于 Gen@ Lip, $1\ 740\ \text{cm}^{-1}$ 的峰为酯键的 $\text{C}=\text{O}$ 拉伸振动,其以肩部结构出现,表明卵磷脂极性头端(由碳氢链形成)变得狭窄,证明了脂质体结构的形成^[14]。

2.2.3 XRD 谱图

Gen@ Lip 的 XRD 谱图如图 4 所示。

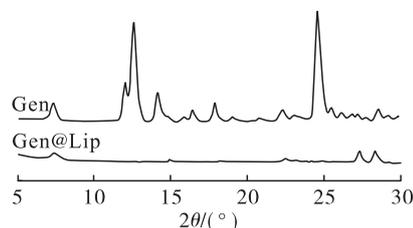


图 4 Gen 和 Gen@Lip 的 XRD 谱图

由图 4 可知,Gen 在 2θ 为 $10^\circ \sim 30^\circ$ 之间有很多尖锐的峰,说明 Gen 以晶体形式存在,而 Gen@ Lip 没有明显的特征峰,这表明 Gen 已经以分子形态分散在了载体基质中,已经被有效包埋^[15-16]。

2.3 Gen@ Lip 的储存稳定性

Gen@ Lip 的储存稳定性如图 5 所示。

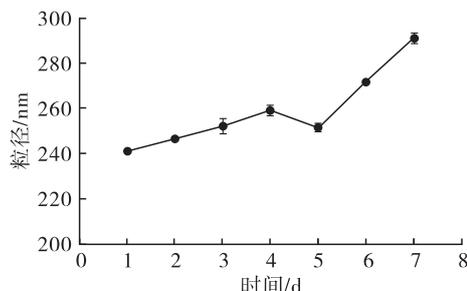


图 5 Gen@Lip 的储存稳定性

由图 5 可知,储存期间 Gen@ Lip 的粒径略有上升,但经计算其 PDI 始终保持在 0.3 左右,说明 Gen@ Lip 仍为均匀稳定的分散体系,且稳定性良好。

2.4 Gen@ Lip 的体外释放特性

体外模拟胃肠消化过程 Gen@ Lip 中 Gen 的释放率如图 6 所示。

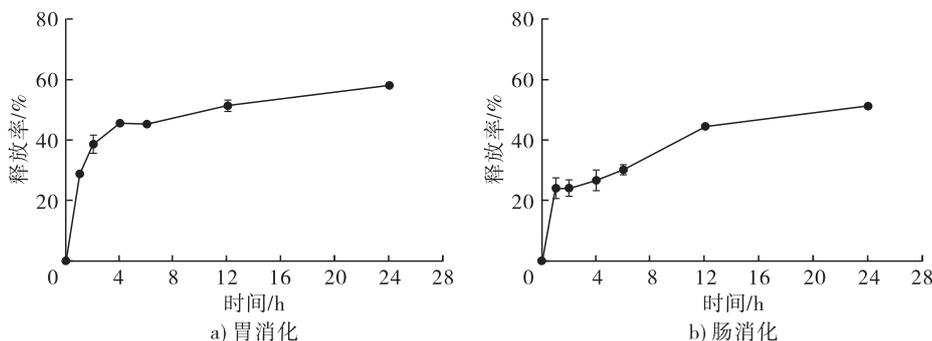


图 6 体外模拟胃肠消化过程 Gen@Lip 中 Gen 的释放率

由图6可知,Gen@Lip进入胃部后快速释放了Gen,且释放速率较快,在4h时Gen释放率就高达45.49%,随着消化过程的继续,释放率上升趋势减缓,最后变化较小,说明Gen@Lip可以有效地抵抗胃部恶劣的消化环境,起到胃部缓释作用。Gen@Lip在模拟肠液中的1~12h范围内,Gen的释放率从24.08%增加至44.63%。随着消化时间的继续延长,Gen的释放率增加缓慢,到24h时释放率达到51.36%,实现了Gen在肠液中的缓释作用,有利于机体对其的充分吸收。

2.5 Gen@Lip的细胞毒性

不同浓度的Gen和Gen@Lip对Raw 264.7细胞活力的影响如图7所示。

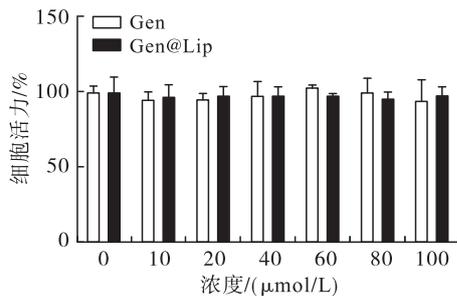


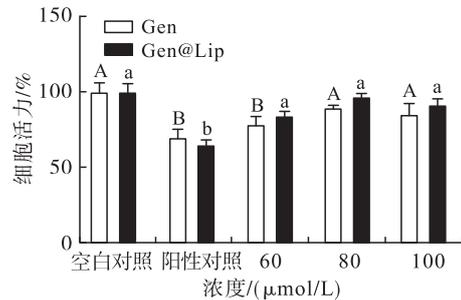
图7 不同浓度的Gen和Gen@Lip对Raw 264.7细胞活力的影响

由图7可知,不同浓度的Gen和Gen@Lip处理的Raw 264.7细胞均表现出和空白对照组相似的细胞活性,细胞活力均不低于95%,说明浓度为0~100 μmol/L的Gen和Gen@Lip对Raw 264.7细胞几乎没有毒性。

2.6 Gen@Lip的抗炎性能

LPS是一种内毒素和重要群特异性抗原,其与

宿主细胞上的Toll样受体4结合,导致免疫细胞释放促炎因子,这些促炎因子的增加会诱导宿主发生强烈的免疫反应,进而诱发炎症反应^[7]。不同浓度的Gen和Gen@Lip的抗炎性能如图8所示。



注:10、20、40 μmol/L的Gen和Gen@Lip处理组与阳性对照组无显著差异,未在图中列示;同一指标不同字母表示组间差异显著

图8 不同浓度的Gen和Gen@Lip的抗炎性能

由图8可知,阳性对照组的细胞活力要明显低于空白对照组,表明LPS成功地诱导了细胞炎症。用较高浓度的Gen或Gen@Lip处理后细胞活力明显高于阳性对照组,表明Gen或Gen@Lip有良好的抑炎效果。另外,在不同浓度下,所有Gen@Lip组的细胞活力都高于Gen组的,且当Gen@Lip浓度为80 μmol/L时,细胞活力最高。因此,后续细胞试验选择Gen@Lip和Gen浓度为80 μmol/L。

2.7 Gen@Lip处理后细胞中的ROS水平

细胞中ROS的异常积累是触发炎症的一个关键因素^[17]。因此,探讨了Gen或Gen@Lip是否能抑制Raw 264.7细胞中ROS的产生,结果如图9所示。

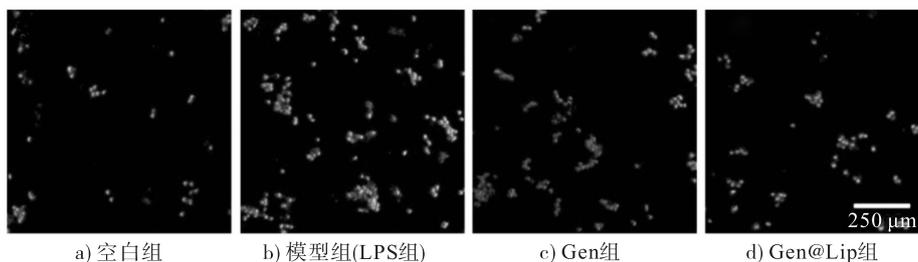


图9 不同处理方式对细胞中ROS水平的影响

由图9可知,用LPS刺激24h后,Raw 264.7细胞表现出相当高的ROS水平。相反,在Gen或Gen@Lip处理24h后再用LPS处理,ROS荧光信号明显减少,特别是经过Gen@Lip处理后,说明Gen@Lip可以有效减少LPS诱导Raw 264.7细胞的ROS水平。这可能是由于Gen@Lip的细胞渗透性比游离的Gen更好所致。

3 结论

本文利用大豆卵磷脂和胆固醇为原料,构建了负载Gen的纳米脂质体(Gen@Lip),并对其基本指标、结构表征、缓释性能及体外抗炎性能进行了研究。结果表明,所制备的Gen@Lip中的Gen负载量为36%,Gen@Lip的平均粒径为(242.73 ± 2.03) nm, PDI为0.32, Zeta-电位为(-16.33 ± 1.16)

mV。TEM 形态学表征结果显示 Gen@ Lip 呈球状且分布均匀;XRD 表征证明 Gen 被有效包埋在 Gen@ Lip 中;体外消化试验表明,脂质体保护了 Gen 在胃部的消化过程,很大程度将 Gen@ Lip 输送到肠道,而小肠是 Gen 的主要分解场所;体外抗炎试验证明 Gen@ Lip 具有良好的抗炎效果,且安全无毒。因此,采用大豆卵磷脂和胆固醇制备的 Gen@ Lip 是提高脂溶性 Gen 稳定性和体内生物活性的有效手段之一,在 Gen 功能食品的开发和应用等方面具有较大的发展潜力。

参考文献:

- [1] ANTIMISIARIS S G, MARAZIOTI A, KANNAVOU M, et al. Overcoming barriers by local drug delivery with liposomes[J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2021, 174: 53–86.
- [2] ESPOSTO B S, JAUREGI P, TAPIA – BLÁCIDO D R, et al. Liposomes vs. chitosomes: Encapsulating food bioactives [J]. *Trends Food Sci Tech*, 2021, 108: 40–48.
- [3] TULI H S, TUORKEY M J, THAKRAL F, et al. Molecular mechanisms of action of genistein in cancer: Recent advances [J/OL]. *Front Pharmacol*, 2019, 10: 1336[2023–03–31]. <https://doi.org/10.3389/fphar.2019.01336>.
- [4] TANG J, XU N, JI H, et al. Eudragit nanoparticles containing genistein: Formulation, development, and bioavailability assessment [J]. *Int J Nanomed*, 2011, 6: 2429–2435.
- [5] ZHANG X, LYU Y, LIU Y, et al. Artificial apoptotic cells/VEGF – loaded injectable hydrogel united with immunomodification and revascularization functions to reduce cardiac remodeling after myocardial infarction [J/OL]. *Nanotoday*, 2021, 39: 101227[2023–03–31]. <https://doi.org/10.1016/j.nantod.2021.101227>.
- [6] UZUN S, KIM H, LEAL C, et al. Ethanol – induced whey protein gels as carriers for lutein droplets [J]. *Food Hydrocolloid*, 2016, 61: 426–432.
- [7] 马莉君. 靶向纳米药物在炎症性肠病和结肠癌治疗中的应用[D]. 重庆: 西南大学, 2018.
- [8] 张志锋. 金雀异黄酮通过 PI3K/AKT 信号通路对人脐静脉内皮细胞一氧化氮合成的影响[D]. 南昌: 南昌大学, 2016.
- [9] PAN L, WANG H, GU K. Nanoliposomes as vehicles for astaxanthin: Characterization, *in vitro* release evaluation and structure[J/OL]. *Molecules*, 2018, 23(11): E2822 [2023–03–31]. <https://doi.org/10.3390/molecules23112822>.
- [10] 常振刚, 潘丽, 张新, 等. 植物甾醇油酸酯的制备及其在负载虾青素的脂质体中的应用[J]. *中国油脂*, 2022, 47(11): 92–97.
- [11] 王策. 大麻二酚递送载体的构建、稳定性及生物利用率研究[D]. 长春: 吉林大学, 2022.
- [12] TANG J, LI L, HOWARD C B, et al. Preparation of optimized lipid – coated calcium phosphate nanoparticles for enhanced *in vitro* gene delivery to breast cancer cells [J]. *J Mater Chem B*, 2015, 3(33): 6805–6812.
- [13] 罗娅君, 张琦, 李辉容, 等. 染料木素磷脂复合物的制备及其光谱性质研究[J]. *中国药学杂志*, 2010, 45(20): 1562–1566.
- [14] 刘玮琳. 脂质体的结构和消化稳定性及其形成机理[D]. 南昌: 南昌大学, 2013.
- [15] MOHANTY C, SAHOO S K. The *in vitro* stability and *in vivo* pharmacokinetics of curcumin prepared as an aqueous nanoparticulate formulation [J]. *Biomaterials*, 2010, 31(25): 6597–6611.
- [16] KUMAR S S, MAHESH A, MAHADEVAN S, et al. Synthesis and characterization of curcumin loaded polymer/lipid based nanoparticles and evaluation of their antitumor effects on MCF – 7 cells [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2014, 1840(6): 1913–1922.
- [17] FAN W, ZHANG S, WU Y, et al. Genistein – derived ROS – responsive nanoparticles relieve colitis by regulating mucosal homeostasis [J]. *ACS Appl Mater Inter*, 2021, 13(34): 40249–40266.
- [18] 何春梅, 陈冠林, 俞憬, 等. 核桃壳多酚的提取、含量测定及其抗氧化活性研究[J]. *广东药学院学报*, 2016, 32(2): 153–158.
- [19] 彭清. 芥酸减轻 LPS 致肝原代细胞炎症损伤的研究[D]. 湖北 宜昌: 三峡大学, 2022.
- [20] 刘颖, 刘晓谦, 梁曜华, 等. 11 种植物油的脂肪酸组成与抗氧化活性比较[J]. *中国油脂*, 2020, 45(10): 52–56, 61.
- [21] 穆同娜, 孙婷, 吴燕涛, 等. 三种食用植物油中不饱和脂肪酸含量调查[J]. *粮油食品科技*, 2011, 19(3): 36–38.
- [22] 王新红. 植物油脂的热分析及动力学研究[J]. *食品工业科技*, 2010, 31(3): 151–152, 154.
- [23] 何春梅, 陈冠林, 俞憬, 等. 核桃壳多酚的提取、含量测定及其抗氧化活性研究[J]. *广东药学院学报*, 2016, 32(2): 153–158.
- [24] 苏悦, 杨晶晶, 刘云, 等. 橡胶籽油的不皂化物组分及抗氧化活性[J]. *中国油脂*, 2021, 46(12): 118–122.
- [25] 周振宇, 杨成, 蔡春辉. 油茶籽油不皂化物的提取与抗氧化性研究[J]. *日用化学工业*, 2018, 48(6): 330–335.
- [26] 李雪, 张玉, 王君虹, 等. 樟树籽油抗氧化能力及物质基础研究[J]. *中国粮油学报*, 2022, 37(6): 119–124.

(上接第 57 页)