

维生素 E、维生素 C 和 BHT 对大豆磷脂脂质体的抗氧化作用^{*}

穆筱梅¹ 钟振声²

(1. 仲恺农业技术学院化学与化工系, 广州 510225; 2. 华南理工大学化学学院, 广州 510640)

摘要 用共轭二烯法和硫代巴比妥酸法, 研究了维生素 E 对大豆磷脂脂质体的抗氧化作用, 以及维生素 C 和 BHT 对维生素 E 抗氧化作用的影响。结果表明, 维生素 E 可抑制大豆磷脂脂质体的氧化, 其抑制作用随着加入量的增加而增强。维生素 C 和 BHT 对维生素 E 的抗氧化作用具有明显的协同作用, BHT 的协同作用强于维生素 C。因此以大豆磷脂为原料制备脂质体的最佳抗氧化剂是维生素 E 和 BHT, 最佳用量是 $x(\text{维生素 E}) = 5\%$, $x(\text{BHT}) = 4\%$ 。

关键词 维生素 E; 维生素 C; BHT; 大豆磷脂; 脂质体; 抗氧化剂

中图分类号 S565.1 **文献标识码** A **文章编号** 1000-9841(2006)04-0434-04

0 前言

脂质体(liposome)是将物质包封于类脂质双分子层中而形成的一种超微型球状载体, 作为药物载体具有靶向性、缓释性和易降解的特点, 目前主要被用作缓释性靶向给药的载体^[1]。

大豆磷脂常用来制备脂质体, 由于其脂肪酸含量高并且脂肪链高度的不饱和, 因此以大豆磷脂为原料制得的脂质体具有很好的流动性和渗透性, 不仅有利穿透表面屏障, 而且有利于引发细胞之间生化反应。

但是大豆磷脂易氧化^[2], 因此以大豆磷脂为原料制备脂质体时必须使用抗氧化剂。维生素 E 因其氧杂萘满环上 6-位羟基氢可提供氢自由基, 给过氧化物自由基, 使其失活, 可终止脂肪酸过氧化反应, 是一种常用的脂质体抗氧化剂。除 V_E 之外, 有文献指出 BHT 和 V_C 也可用作抗氧化剂^[3,4], 在本研究中我们利用共轭二烯法和硫代巴比妥酸法, 研究维生素 E 对大豆磷脂脂质体的抗氧化作用, 以及维生素 C 和 BHT 对维生素 E 抗氧化作用的影响, 并确定最佳的抗氧化剂。

1 试剂与仪器

1.1 试剂

维生素 C、维生素 E(上海伯奥生物科技有限公司), 丁基化羟基甲苯(上海益民食品厂), 大豆磷脂(94.98%, 自制), 胆固醇(分析纯(进口分装), 上海伯奥生物科技有限公司)。

1.2 实验仪器

ZFQ81 旋转蒸发仪(上海医疗器械厂); DL-180 超声仪(浙江象山石浦海天电子仪器厂); SHZ-D 循环水式真空泵(河南巩义市予华仪器厂); 紫外分光光度计(Spectrum lab 52, 上海棱光技术有限公司)。

2 实验方法

2.1 大豆磷脂氧化性的测定

磷脂氧化过程会生成一些物质, 在最初阶段形成共轭二烯, 然后形成环状的过氧化物, 最后形成丙二醛及其它短链的醛酸等, 因此我们用以下两种方法测定大豆卵磷脂的氧化程度。

2.1.1 共轭二烯法

* 收稿日期: 2005-12-28

基金项目: 广东省科技攻关项目(2KM02801G)

作者简介: 穆筱梅(1973-), 女, 讲师, 从事大豆磷脂的精制以及脂质体的研究。

取 80mg 磷脂至 50 mL 量瓶中, 用 95% 乙醇溶解至刻度, 分别在放置了 0, 10h, 20h, 40h, 60h, 80h 时, 以 95% 乙醇作为对照, 在 233 nm 处测定的吸光度。

2.1.2 硫代巴比妥酸法

取 20mg 磷脂, 加 TCA - TBA - HCL 29mL, 在 100℃ 下反应 30min, 冷却放置, 在 0, 10h, 20h, 40h, 60h, 80h 时, 以 TCA - TBA - HCL 为空白试剂, 在 532nm 处测定其吸光度。

2.2 脂质体混悬液的制备

以大豆磷脂 33 μ mol 和胆固醇 33 μ mol 为原料,

用反相蒸发法制备脂质体。

2.3 抗氧化剂对大豆磷脂脂质体氧化程度的影响

在大豆磷脂中加入 VE、VC、BHT, 按照 2.2 制备脂质体混悬液, 然后分别按照共轭二烯测定法和硫代巴比妥酸法进行测定。

3 结果与讨论

3.1 维生素 E 对大豆卵磷脂脂质体氧化程度的影响

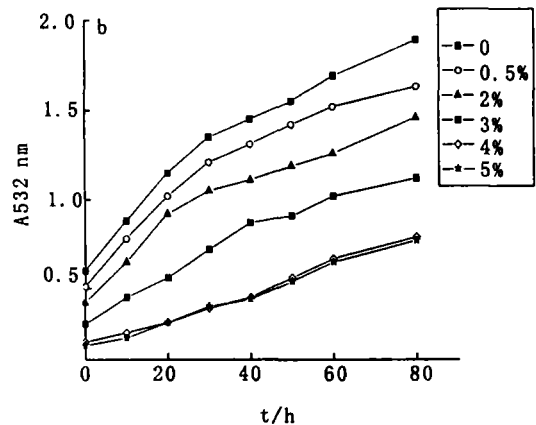
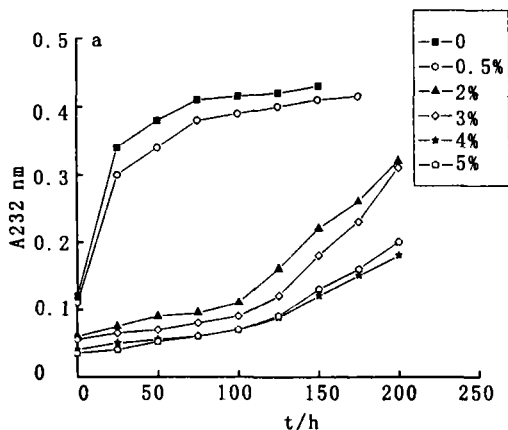


图1 VE 对大豆磷脂脂质体氧化性的影响(a 共轭二烯法, b 硫代巴比妥酸法)

Fig. 1 The effect of V_E on oxidation of soybean phospholipid liposome

从图 1a 可知, 未加 V_E 的脂质体的乙醇溶液在 232nm 处的吸光度在最初的阶段增加很快, 刚制备好脂质体的吸光度是 0.12, 当放置时间为 100h 时, 吸光度增加为 0.42, 当放置时间超过 100h 后, 吸光度趋于平稳。但是硫代巴比妥酸法测定结果显示, 吸光度随着氧化时间的增加而不断增加(图 1b)。这表明共轭二烯的生成仅仅只能反映大豆磷脂氧化初期阶段的情况, 它不能反映氧化产物的进一步增加, 而硫代巴比妥酸法的测定可以反映氧化后期的情况。同时由测定结果可以看出, 大豆磷脂脂质体容易在室温下氧化。

从图 1a 可以看到, 当 V_E 的加入量为 $x(V_E) = 0.5\%$ 时, 测得吸光度曲线与未加 V_E 时的曲线形状相似, 吸光度值变化很小, 说明 $x(V_E) = 0.5\%$ 的 V_E 加入量对大豆磷脂脂质体的氧化没有起到抑制作用。当 $x(V_E) = 2\%$ 时, 脂质体的吸光度曲线与未加维生素 E 时的曲线形状不同, 在放置 100h 时脂质体的吸光度只有 0.11, 并且在 100h 内脂质体的吸光度增加很少, 随着时间的延长, 脂质体吸收度逐渐增大, 这表明维生素 E 的存在 100h 内对大豆磷脂

的脂质体的氧化起到了抑制的作用。

图 1b 所示为硫代巴比妥酸法测定 V_E 对大豆卵磷脂脂质体中氧化性的影响结果。从图中可以看到, V_E 的加入有效的抑制了磷脂的氧化。

由两种测定结果可以看到, V_E 的加入量越大, 它抑制脂质体氧化作用就越强, 但是比较 $x(V_E) = 4\%$ 和 $x(V_E) = 5\%$, V_E 对大豆卵磷脂脂质体的抗氧化性的增加不明显。因此 V_E 最佳加入量应为 $x(V_E) = 4\%$ 。

3.2 BHT 对维生素 E 抗氧化作用的影响

在大豆磷脂中加入 $x(V_E) = 4\%$ 和不同量的 BHT 制备脂质体。图 2a 是脂质体放置 150h 时用共轭二烯法测定结果。从图中可以看到, BHT 的加入使脂质体的吸光度减小, 只含有 V_E 的脂质体在放置 150h 时的吸光度是 0.13, 当同时加入 $x(BHT) = 4\%$ 时, 脂质体的吸光度为 0.07, 说明 BHT 有协同抗氧化的作用。图 2b 是硫代巴比妥酸法的测定结果, 随着 BHT 加入量增加, 其抑制脂质体氧化作用就越强, 图 2a 表明 $x(BHT) = 4\%$ 和 $x(BHT) = 5\%$ 的协同抗氧化作用是相当的, 但是图 2b

的结果显示 $x(\text{BHT}) = 5\%$ 的协同抗氧化作用是最强的, 因此 BHT 的最佳用量 $x(\text{BHT}) = 5\%$ 。

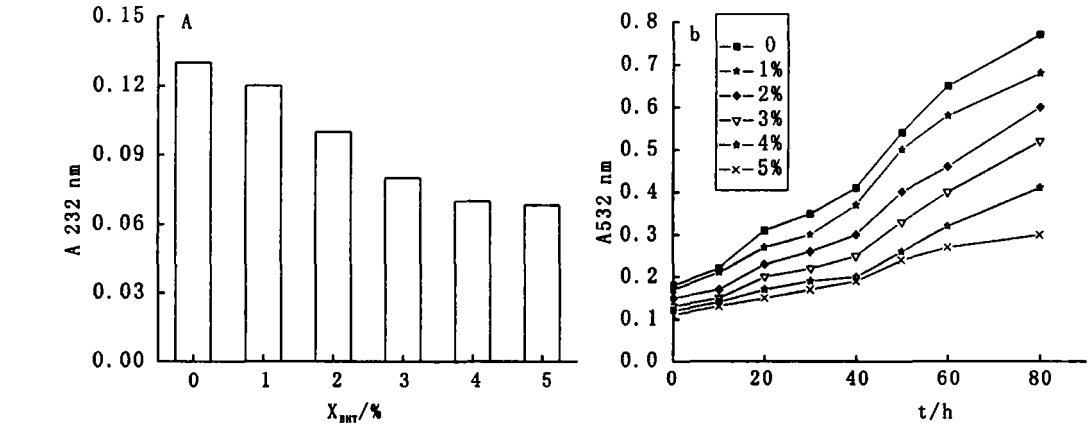


图2 BHT 的协同抗氧化作用(a 共轭二烯法, b 硫代巴比妥酸法)

Fig. 2 The effect of BHT on oxidation of soybean liposome in the presence of V_E

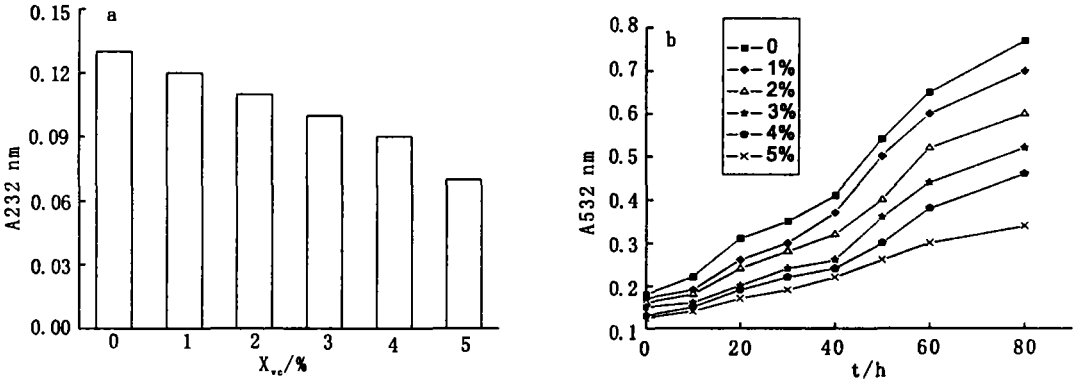


图3 维生素 C 的协同抗氧化作用(a 共轭二烯法, b 硫代巴比妥酸法)

Fig. 3 The effect of V_C on antioxidant of soybean phospholipid liposome in the presence of V_E

3.3 维生素 C 对维生素 E 抗氧化作用的影响

在大豆磷脂中加入 $x(V_E) = 4\%$ 和不同量的 V_C 制备脂质体。图 3a 是脂质体放置 150h 时用共轭二烯法测定结果。从图中可以看到随着 V_C 加入量的增加, 脂质体的吸光度随之减小, 只含有 V_E 的脂质体在放置 150h 时的吸光度是 0.13, 当同时加入 $x(V_C) = 4\%$ 时, 吸光度降为 0.09。图 3b 是硫代巴比妥酸法的测定结果, 结论与图 3a 是一致的, 说明 V_C 也有协同抗氧化的作用, 其最佳用量为 5%。

3.4 维生素 C 和 BHT 的协同抗氧化作用的比较

图 4 是 V_C 与 BHT 的协同抗氧化作用的比较。从图中可以看到, BHT 比 V_C 可以更有效的抑制大豆磷脂的氧化。 V_C 具有的抗氧化作用是因为它可以将维生素 E 的自由基还原, 再生出维生素 E, 从而提高溶液中的维生素 E 的有效浓度, 增大了维生素 E 的抗氧化能力。而 BHT 通过保护维生素 E, 阻止其氧化而达到协同氧化的作用。实验结果显示 BHT 的协同氧化作用强于维生素 C, 这可能是因为

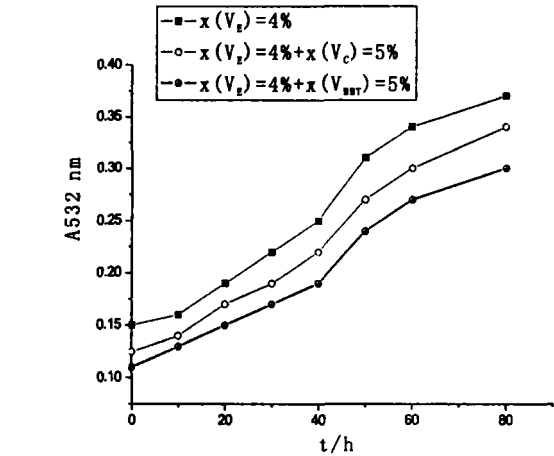


图4 V_C 与 BHT 的协同抗氧化作用的比较

Fig. 4 The comparison between V_C and BHT on anti oxidation of soybean liposome in the presence of V_E BHT 是脂溶性的, 可以更有效的阻止磷脂的过氧化。因此我们认为大豆磷脂在脂质体的制备中应该以维生素 E 和 BHT 为抗氧化剂。

4 结 论

4.1 通过共轭二烯法和硫代巴比妥酸法研究大豆磷脂的氧化性, 结果表明大豆磷脂在不使用抗氧化剂时, 很容易氧化。

4.2 研究了结果表明, 维生素 E 可抑制磷脂脂质体的氧化。维生素 C 和 BHT 对维生素 E 的抗氧化作用具有明显的协同作用, 但是 BHT 的协同抗氧化作用要强于维生素 C。因此以大豆卵磷脂为膜材制备脂质体时的最佳抗氧化剂是维生素 E 和 BHT,

最佳用量是 $x(\text{维生素 E})=5\%$, $x(\text{BHT})=4\%$ 。

参 考 文 献

- 1 Lasic DD. Novel applications of liposome[J]. TIBTECH, 1998, 16(6): 307-318.
- 2 王长虹, 孙殿甲. 脂质体的物理化学稳定性研究进展[J]. 中国药学杂志, 1998, 2: 65-68
- 3 胥传来, 乐国伟, 姚惠源. 不同组分对 PST 脂质体化学稳定性的影响[J]. 中国油脂, 2002, 3: 6-9.
- 4 纪俊敏, 谢文磊. 生物体系中脂质过氧化及抗氧化剂抗氧化活性的检测与评价[J]. 中国油脂, 2004, 7: 3-7.

ANTIOXIDATION EFFECTS OF VITAMIN E, VITAMIN C AND BHT ON THE SOYBEAN PHOSPHOLIPID LIPOSOME

Mu Xiaomei¹ Zhong Zhensheng²

(1 Department of Chemistry & Chemical Engineering, Zhongkai University of Agriculture and Technology, Guangzhou 510225; 2 College of Chemistry, South China University of Technology, Guangzhou, 510640)

Abstract The antioxidation effects of Vitamin E on the soybean phospholipid liposome were systemic investigated by measured conjugated diene and the formation of thiobarbituric acid. The influence of Vitamin C and BHT on the effects of V_E were also studied. The results showed that the oxidation of soybean phospholipid liposome was inhibited by Vitamin E. The inhibition period was prolonged with the increase amount of V_E . BHT and V_C had synergic effect on the antioxidation of V_E , but BHT was better than V_C . So the best antioxidants of soybean phospholipid liposome were V_E and BHT, the amount of them were $x(V_E)=5\%$, $x(\text{BHT})=4\%$.

Key words Vitamin E; Vitamin C; BHT; Soybean; Liposome; Antioxidant