

维生素 C 脂质体的制备研究

刘亚文, 曹光群, 陈婷婷

(江南大学化学与材料工程学院, 无锡 214036)

摘要 优化制备维生素 C 脂质体的配方, 采用薄膜分散—超声乳化法制备。以包封率为考察指标, 经正交优化选择, 确定脂质体的最佳配方: 卵磷脂/胆固醇/维生素 E 的摩尔比为 4: 2: 0.34; 维生素 C 的浓度为 3.3 mg/mL; PBS 缓冲液的 pH 值为 7.93; 成膜时所用氯仿的量为 30 mL, 此时包封率可达 58.32%。用扫描电子显微镜观察脂质体的结构, 平均粒径为 310 nm。

关键词 维生素 C; 脂质体; 薄膜分散法; 包封率

中图分类号 TS224.4 文献标识码 A 文章编号 1000-9841(2007)02-0270-03

STUDY ON PREPARATION OF VITAMIN C LIPOSOME

LIU Ya-wen, CAO Guang-qun, CHEN Ting-ting

(School of Chemical and Material Engineering, Southern Yangtze University, Wuxi 214036)

Abstract To optimize the preparation formulation of vitamin C liposomes, the liposomes were prepared by film dispersion-ultrasonic emulsify method, taking entrapment efficiency as index, and designing an orthogonal experiment. The optimal formulation were: phosphatidylcholine / cholesterol / vitamin E (molar ratio) 4: 2: 0.34; vitamin C concentration; 3.3 mg/mL; PBS buffer pH value; 7.93; chloroform for film forming ;30 mL. Under the formulation the entrapment efficiency was 58.32%. The structure of liposome was observed under the scan electronic microscope. The main diameter of the liposome particles was 310 nm.

Key words Vitamin C; Liposome; Film dispersion method; Entrapment efficiency

维生素 C (Vitamin C) 是最早用在美白化妆品中有代表性的添加剂之一, 它的主要作用有两个: 一是将深色的氧化性黑色素还原成浅色的还原性黑色素; 二是抑制中间体多巴醌氧化生成黑色素 (多巴色素)。维生素 C 安全性很好, 但是其水溶液不稳定, 容易变色、且不易被皮肤吸收。经脂质体包封后, 可增加维生素 C 的稳定性, 并使其具有较长的功效, 在化妆品工业、医药工业等方面能够得到更为广泛的应用^[1~4]。

本文以大豆卵磷脂、胆固醇为膜材, 添加少量维生素 E 作为抗氧化剂^[5], 对维生素 C 进行包封, 利用薄膜分散—超声乳化法制备出维生素 C 脂质体^[6]。通过正交试验设计, 以包封率为考察指标, 对卵磷脂、胆固醇、维生素 E 的摩尔比, 磷酸盐 (PBS) 缓冲液的用量, 磷酸盐缓冲液的 pH 值, 以及成膜时氯仿的用量等进行了研究, 选择包封率最高的配方作为制备脂质体的最佳配方, 并对脂质体进行了电镜观察鉴定以及测定粒径分布等。

1 材料与amp;方法

1.1 主要仪器与amp;试剂

R-201 旋转蒸发仪,上海申顺科技有限公司; ML-902 定时恒温磁力搅拌器,上海浦江分析仪器制造厂;UDE-400 型超声分散乳化仪,无锡轻大南丰精细化工有限公司;515 高效液相色谱, Waters; ALV-5000 激光光散射仪,德国 ALV 公司; Quanta-200 型扫描电子显微镜,荷兰 FEI 公司。

维生素 C(试剂级),无锡威康生化试剂有限公司;卵磷脂(食品级),北京美亚斯磷脂有限公司;胆固醇(分析纯),国药集团化学试剂有限公司。透析袋(截流分子量 3500),上海绿鸟科技发展有限公司;其它所用无机及有机药品与amp;试剂如无特别说明均为分析纯,试验过程所用水为去离子水。

1.2 试验方法

1.2.1 脂质体的制备 采用薄膜分散-超声乳化法制备脂质体,将卵磷脂、胆固醇、维生素 E 按照一定的比例溶于氯仿中,手动振摇使加速溶解。在旋转蒸发仪上减压除去氯仿,在茄形瓶壁上形成均匀坚固的薄膜。将维生素 C 溶解在配制好的 PBS 缓冲液中,在减压的条件下洗膜 15 min。转移至小烧杯中,在超声仪上进行超声乳化,得到均匀的白色脂质体乳浊液。

以包封率为考察指标,筛选包封维生素 C 的最佳配方。

1.2.2 脂质体的微观形态观察及粒径测定 将脂质体用缓冲液稀释,用扫描电镜观察其形态及粒径。

将脂质体以缓冲液稀释后,用激光光散射仪测定其粒径及粒径分布。测试角度 90°,测试温度为 25(±0.1)°C,测试光波长为 632.8 nm。

1.2.3 包封率的测定 采用透析法分离游离的维生素 C 和脂质体。由于维生素 C 在 50~250 μg/mL 的浓度下,峰面积与浓度成良好的线性关系,所以我们采用外标法利用 HPLC 测定维生素 C 的包封率。

$$\text{包封率}(\%) = 100 \times (1 - W_1/W_2)$$

其中, W_1 为透析液中维生素 C 的质量, W_2 为理论称量的维生素 C 的质量。

HPLC 条件为:柱:lichrospher C18;流动相:乙腈:水(25:40);流速:0.65 mL/min;检测波长:265

nm(根据维生素 C 的紫外吸收波长确定);进样量:20 μL;运行时间:10 min;检测温度:室温。

2 结果与amp;讨论

2.1 制备脂质体的最佳配方与amp;重现性试验

经过初步试验后,设计主要考察 4 种因素,3 种水平,正交 $L_9(3^4)$ 实验,结果见表 1。

表 1 正交试验结果

Table 1 The results of orthogonal experiment

实验号 No.	A (PC/Cholesterol/VE)	B (维生素 C 浓度 mg/mL) Vitamin C Concentration		C (PBS pH)	D (氯仿 mL) Chloroform	包封率 Entrapment rate
1	1(1:2:0.34)	1(5)	1(5.93)	1(15)		10.54
2	1	2(4)	2(6.93)	2(20)		5.40
3	1	3(3.3)	3(7.93)	3(25)		56.90
4	2(2:2:0.34)	1	2	3		12.34
5	2	2	3	1		43.31
6	2	3	1	2		38.65
7	3(4:2:0.34)	1	3	2		26.39
8	3	2	1	3		51.81
9	3	3	2	1		12.64
$K_1/3$	24.28	16.42	33.67	23.83		
$K_2/3$	33.10	35.17	10.13	23.48		
$K_3/3$	30.28	36.03	43.87	40.38		
R(极差)	8.82	19.64	33.74	16.90		

表 1 的结果表明:维生素 C 脂质体制备的四个因素中,影响因素最大的是 PBS 的 pH 值。维生素 C 脂质体制备的最佳配方是 $A_2B_3C_3D_3$,即卵磷脂、胆固醇、维生素 E 的摩尔比为 4:2:0.34,维生素 C 的浓度为 3.3 mg/mL,PBS 的 pH 值为 7.93,成膜时氯仿的用量为 25 mL。

采用最佳配方做重现性实验。测得的包封率分别为 57.99,56.85,60.12。重现性结果表明:按照最佳配方制备的 3 个脂质体包封率较为接近,重现性较好,说明脂质体的制备方法和包封率测定方法都较为准确可靠。包封率也较其它配方高,平均达到 58.32%。

2.2 维生素 C 脂质体电镜观察和粒径测定结果

2.2.1 电镜观察 从图 1 可以看出,薄膜分散-超声乳化法制得的维生素 C 脂质体结构,粒径在 300~400 nm 之间。

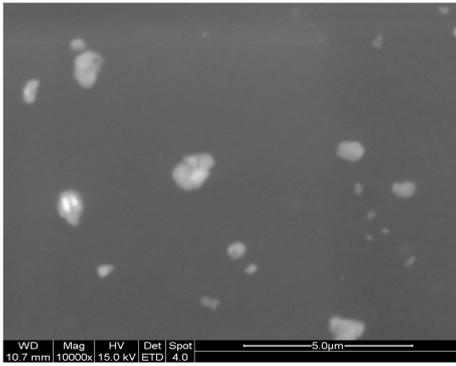


图1 脂质体扫描电镜观察(×10000)

Fig.1 Liposomes observed under the scan electron microscope(×10000)

2.2.2 粒度大小及分布 用激光光散射仪测得维生素C脂质体的平均粒径为310 nm,粒径分布如图2所示。

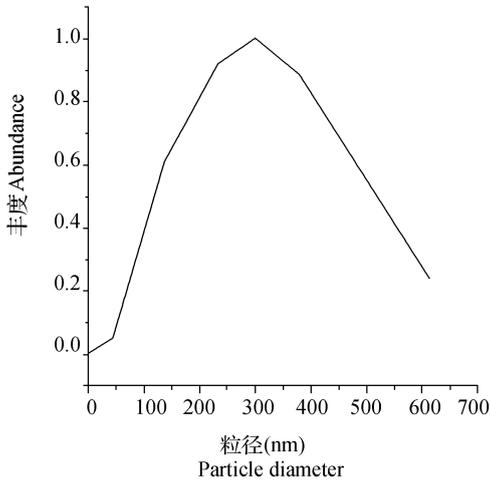


图2 维生素C脂质体的粒径分布

Fig.2 Particle diameters distribution of Vitamin C liposomes

3 结论

以大豆磷脂、胆固醇为膜材采用薄膜分散-超声乳化法制备维生素C脂质体,方法简单,操作方便、可靠,可适用于包封水溶性的物质。

采用透析的方法将游离的维生素C分离出脂质体乳浊液,利用HPLC测定脂质体的包封率,精度高,重复性好。

通过电子显微镜观察到脂质体的形态,用激光光散射仪测得平均粒径为310 nm,粒径范围为300~400 nm。

参 考 文 献

- [1] 裘炳毅. 化妆品化学与工艺技术大全[M]. 北京:中国轻工业出版社,1997:629-630.
- [2] Yannis L. Loukas. Experimental studies for screening the factors that influence the efficiencies of new multicomponent and protective liposomes[J]. *Analytica chimica Acta*,1998,361(3):241-251.
- [3] Elizabeth A. Offord, Jean Charles Gautier, Ornella Avanti, et al. Photoprotective potential of lycopene, β -carotene, vitamin E, vitamin C and carnosic acid in UVA-irradiated human skin fibroblasts[J]. *Free Radical Biology and Medicine*,2002,32(12):1293-1303.
- [4] Ntei Abudu, James J. Miller, Mohammed Attaelmannan, et al. Vitamins in human arteriosclerosis with emphasis on vitamin C and vitamin E[J]. *Clinica Chimica Acta*,2004,339(1):11-25.
- [5] 旷英姿、马全红. 茶多酚脂质体的制备研究[J]. *中国生化药物杂志*,2006,27(1):28-31.
- [6] 张灵芝. 脂质体制备及其在生物医学中的应用[M]. 北京:北京医科大学、中国协和医科大学联合出版社,1998:18-52.