

以不同嵌段比例mPEG-PLA为载体制备番茄红素胶束及其对番茄红素各异构体的增溶控释作用研究

李传天, 高鹏, 朱金芳, 刘婷, 马雪红, 孙秋菊, 麦合丽娅·伊卜拉伊木, 陈丽

Preparation of Lycopene Micelles with Different Block Ratios of mPEG-PLA as Carriers and the Solubilization and Controlled Release of Lycopene Isomers

LI Chuantian, GAO Peng, ZHU Jinfang, LIU Ting, MA Xuehong, SUN Qiuju, Makliya · Ebrayim, and CHEN Li

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2022090018>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

不同食用油对番茄红素抗氧化活性的影响

Effects of different edible oils on antioxidant activity of lycopene

食品工业科技. 2018, 39(4): 49-53 <https://doi.org/>

番茄红素对人体血清自由基的清除作用

Scavenging Effect of Lycopene on Free Radical of Human Serum

食品工业科技. 2018, 39(24): 309-312,317 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2018.24.052>

响应面优化二阶段法粗糙脉孢菌发酵产番茄红素工艺

Fermentation Conditions Optimization of a Two-stage Culture for Enhancing Production of Lycopene by *Neurospora crassa* Using Response Surface Methodology

食品工业科技. 2019, 40(17): 142-147 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2019.17.023>

番茄红素提取纯化及稳定性改善技术的研究进展

Research progress in extraction and purification of lycopene and techniques of improving its stability

食品工业科技. 2017(21): 307-313 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2017.21.060>

不同来源异戊烯基焦磷酸异构酶(IDI)和脱氧木酮糖磷酸合成酶(DXS)对重组大肠杆菌番茄红素产量的影响

Effects of Different Isopentenyl Diphosphate Isomerase (IDI) and 1-Deoxyxylulose-5-phosphate Synthase (DXS) on Lycopene Production in Engineering *Escherichia coli* Strains

食品工业科技. 2018, 39(18): 131-136 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2018.18.024>

响应面法优化粗糙脉孢菌番茄红素的皂化提取工艺及其抗氧化活性

Optimization of Saponification Extraction Process of Lycopene from *Neurospora crassa* by Response Surface Methodology and Its Antioxidant Activities

食品工业科技. 2020, 41(11): 207-213,220 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020.11.032>



关注微信公众号，获得更多资讯信息

李传天, 高鹏, 朱金芳, 等. 以不同嵌段比例 mPEG-PLA 为载体制备番茄红素胶束及其对番茄红素各异构体的增溶控释作用研究 [J]. 食品工业科技, 2023, 44(17): 18–26. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2022090018

LI Chuantian, GAO Peng, ZHU Jinfang, et al. Preparation of Lycopene Micelles with Different Block Ratios of mPEG-PLA as Carriers and the Solubilization and Controlled Release of Lycopene Isomers[J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(17): 18–26. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2022090018

· 研究与探讨 ·

以不同嵌段比例 mPEG-PLA 为载体制备番茄红素胶束及其对番茄红素各异构体的增溶控释作用研究

李传天¹, 高鹏², 朱金芳^{1,*}, 刘婷², 马雪红², 孙秋菊², 麦合丽娅·伊卜拉伊木², 陈丽²

(1.新疆农业大学化学化工学院, 新疆乌鲁木齐 830052;

2.新疆农业大学食品科学与药学院, 新疆乌鲁木齐 830052)

摘要:以三种不同嵌段比例的聚乙二醇单甲醚-聚乳酸 (mPEG-PLA) 共聚物为载体, 通过乳化-溶剂挥发法制备了番茄红素胶束 (M-LYC), 采用高效液相色谱法 (HPLC) 测定 M-LYC 中番茄红素 (LYC) 各异构体的含量, 计算其包封率 (EE) 和载药量 (DL), 采用动态光散射纳米粒径分析仪测定粒径及 Zeta 电位, 并通过透析法测定 M-LYC 在不同释放介质中的体外释放度, 以筛选包载 LYC 的最佳嵌段比例的 mPEG-PLA 共聚物。结果表明, mPEG₄₅-PLA₃₆-M-LYC、mPEG₁₁₄-PLA₉₀-M-LYC、mPEG₁₁₄-PLA₁₈₀-M-LYC 中总 LYC 的 EE 分别为 65.04%、71.73%、23.62%, DL 分别为 3.96%、4.43%、1.39%, 粒径分别为 164.6、190.1、210.3 nm, Zeta 电位分别为 -15.38、-9.43、-10.96 mV。mPEG₁₁₄-PLA₉₀-M-LYC 中各异构体及总 LYC 的 EE 最高, 其次为 mPEG₄₅-PLA₃₆-M-LYC, 三种胶束中各顺式异构体包封率大小顺序均为 5Z>9Z>13Z; mPEG₄₅-PLA₃₆-M-LYC 在三种胶束中粒径最小且 Zeta 电位绝对值最大, 说明其稳定性最好。LYC 原料在不同释放介质中均未检测到 LYC 释放出来, 三种胶束中, mPEG₄₅-PLA₃₆-M-LYC 的总 LYC 在不同释放介质中 72 h 累积释放百分率均最高, 分别为 42.35% (pH6.8) 和 60.82% (pH7.4); 三种胶束在 pH7.4 释放介质中的累积释放百分率均高于 pH6.8; 三种胶束中全反式番茄红素 (All-E) 72 h 累积释放百分率比总 LYC 略高, 5Z 在初期无释放, 经过 72 h 后累积释放百分率高于 All-E。综上所述, mPEG₄₅-PLA₃₆ 对 LYC 的包载效果较佳, 以其为载体制备的 M-LYC 在三种胶束中粒径最小、Zeta 电位绝对值最大、稳定性最好, 且 72 h 总 LYC 的累积释放百分率最高, 是一种极具潜力的包载 LYC 的高分子聚合物载体材料, 并有望提高脂溶性营养物质在体内的生物利用度。

关键词:番茄红素, 胶束, 聚乙二醇单甲醚-聚乳酸, 体外释放度

中图分类号: TS264.4

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2023)17-0018-09

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2022090018



本文网刊:

Preparation of Lycopene Micelles with Different Block Ratios of mPEG-PLA as Carriers and the Solubilization and Controlled Release of Lycopene Isomers

LI Chuantian¹, GAO Peng², ZHU Jinfang^{1,*}, LIU Ting², MA Xuehong²,
SUN Qiuju², Makliya·Ebrayim², CHEN Li²

(1.College of Chemical Engineering, Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830052, China;

2.College of Food Science and Pharmaceutical Science, Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830052, China)

收稿日期: 2022-09-05

基金项目: 国家自然科学基金 (31960476); 新疆农业大学校级大学生创新项目 (dxscx2022355)。

作者简介: 李传天 (1994-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 食药天然产物研究, E-mail: lct5909@163.com。

* 通信作者: 朱金芳 (1976-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 食药天然产物研究, E-mail: zjf7619@126.com。

Abstract: By applying three different block ratios of polyethylene glycol monomethyl ether-poly(lactic acid) (mPEG-PLA) copolymers as carriers, the lycopene micelles (M-LYC) were created by emulsification-solvent evaporation method. The content of each isomer of lycopene (LYC) in M-LYC was determined by high performance liquid chromatography (HPLC), and the encapsulation rate (EE) and drug loading capacity (DL) of micelles were calculated. To screen the mPEG-PLA copolymers for the ideal block ratio of encapsulating LYC, the particle size and zeta potential were evaluated using a dynamic light scattering nano-particle size analyzer, and the *in vitro* release of M-LYC in different release media was assessed using dialysis method. The results showed that the EE of Total LYC in mPEG₄₅-PLA₃₆-M-LYC, mPEG₁₁₄-PLA₉₀-M-LYC, and mPEG₁₁₄-PLA₁₈₀-M-LYC were 65.04%, 71.73% and 23.62%, respectively, with DL of 3.96%, 4.43% and 1.39%, particle sizes of 164.6, 190.1 and 210.3 nm, and zeta potential of -15.38, -9.43 and -10.96 mV, respectively. The EE of each isomer and Total-LYC in mPEG₁₁₄-PLA₉₀-M-LYC was the highest, followed by mPEG₄₅-PLA₃₆-M-LYC. The order of encapsulation rate of each *cis*-isomer in the three micelles was 5Z>9Z>13Z. The mPEG₄₅-PLA₃₆-M-LYC had the smallest particle size and the largest absolute value of zeta potential among the three micelles, indicating that it had the best stability. The release of LYC in LYC feedstock was not detected in different release media. Among the three micelles, the mPEG₄₅-PLA₃₆-M-LYC had the highest cumulative release percentage of Total LYC within 72 h in different release media, with 42.35% (pH6.8) and 60.82% (pH7.4), respectively. The cumulative release percentages of all three micelles in the pH7.4 release medium were higher than those in the pH6.8 condition, and the cumulative release percentages of all-trans lycopene (All-E) were slightly higher than those of Total LYC within 72 h. 5Z had the higher cumulative release percentages than All-E after 72 h, with no initial release. In conclusion, the mPEG₄₅-PLA₃₆ has a better effect on the encapsulation of LYC than other copolymers. The M-LYC prepared with its carrier has the smallest particle size, the largest absolute zeta potential, the best stability and the highest cumulative release percentage of 72 h Total LYC among the three micelles, which is a promising polymeric carrier material for encapsulating LYC and is expected to improve the *in vivo* bioavailability of fat-soluble nutrients.

Key words: lycopene; micelles; polyethylene glycol monomethyl ether-poly(lactic acid); *in vitro* release

番茄红素(Lycopene, LYC)是一种类胡萝卜素,分子式为 C₄₀H₅₆^[1],相对分子质量为 536.85,属于异戊二烯类不饱和烃化合物,在甲醇、乙醇等极性溶剂中几乎不溶,但溶于二氯甲烷、乙醚等非极性溶剂^[2],其抗氧化活性是 α -生育酚的 10 倍^[3]。LYC 还具有降血脂^[4]、防癌抗癌^[5]、提高机体免疫力^[6]、保护心血管^[7] 等功能,因而被广泛应用于保健食品及医用药品中。

由于 LYC 含有多个不饱和键,导致其具有多种几何异构体^[8],而实际上能检测到的主要异构体包括全反式(All-E)和顺式异构体(5Z、9Z、13Z、15Z 等)。LYC 在自然界中主要以全反式构型存在,而人体组织中大部分为顺式构型^[9]。LYC 稳定性很差,容易在光、氧、热、酸条件下被氧化降解^[10]和发生顺反异构转化^[11],进一步影响到 LYC 产品的保存和生物利用度,这使其应用受到了很大的限制。研究表明,将 LYC 包载于聚合物胶束中,可明显提高 LYC 的水溶性、稳定性和生物利用度^[10]。

聚合物胶束是指两亲性聚合物在水溶液中自组装形成的具有核壳结构的一种热力学稳定系统,其疏水内核可以装载难溶性药物,提高难溶性药物的水溶性,亲水外壳可保护胶束内部的药物分子不被外界吸附或降解^[12]。聚乙二醇单甲醚-聚乳酸(mPEG-PLA)是一种具有良好生物相容性的两亲性聚合物,其中 PEG 嵌段无毒、无刺激性,可有效延长被修饰物在体内的半衰期,其性能已得到了美国食品和药物管理局的认可^[13];PLA 嵌段毒性低,可生物降解,在体内代谢为二氧化碳和水,不会在体内蓄积^[14],近年来 mPEG-

PLA 被广泛用作制备胶束载体。王丽等^[15]制备柚皮素-mPEG-PLA 聚合物胶束,考察其体外释放行为,发现同时时间点聚合物胶束累积释放度均高于原料,柚皮素-mPEG-PLA 聚合物胶束增加了柚皮素的释放量,改善了其生物利用度。mPEG-PLA 的嵌段组成比例和相对分子质量不同,其对难溶性物质的增溶控释作用也不同^[16]。因此选择合适嵌段比例 mPEG-PLA 包载 LYC,可以更好提升其水溶性和生物利用度。鉴于此,本研究以三种不同嵌段比例的 mPEG-PLA(mPEG₄₅-PLA₃₆、mPEG₁₁₄-PLA₉₀、mPEG₁₁₄-PLA₁₈₀)为载体,以脂溶性番茄红素为原料,制备番茄红素胶束(M-LYC),比较三种 M-LYC 中 LYC 各异构体的载药量、包封率、粒径和 Zeta 电位。同时测定 M-LYC 和 LYC 原料在 pH1.2、pH6.8、pH7.4 条件下各异构体的累积释放百分率,筛选最佳比例 mPEG-PLA 载体,以期增加 LYC 水溶性并提高其生物利用度。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

全反式 LYC 对照品(批号:039M4100V,纯度 99.5%) Sigma 公司;番茄红素原料(纯度 64.88%)

本实验室提取纯化;mPEG₄₅-PLA₃₆、mPEG₁₁₄-PLA₉₀、mPEG₁₁₄-PLA₁₈₀ 本实验室依据文献方法^[17]合成;大豆磷脂 上海太伟药业有限公司;油酸聚乙二醇甘油酯(PEG-OA₂) 上海源叶生物科技有限公司;乙腈、甲基叔丁基醚 色谱纯,阿拉丁试剂公司;丙酮 天津市致远化学试剂有限公司;二氯甲烷、磷酸二氢钾 天津永晟精细化工有限公司;氢氧化钠

天津市光复科技发展有限公司;三氯甲烷 成都市科隆化学品有限公司;无水乙醚 国药集团化学试剂有限公司;无水乙醇 天津市鑫铂特化工有限公司;所有试剂如未特殊标明均为分析纯;水 蒸馏水。

LC-16 高效液相色谱仪(配有光电二极管阵列检测器和 LabSolutions 色谱工作站) 岛津仪器(苏州)有限公司;YMC Carotenoid S-5(4.6 mm×250 mm, 5 μm)色谱柱 日本 YMC 公司;BSA-124S 型电子天平 赛多利斯科学仪器北京有限公司;90Plus PALS Zeta 电位及粒度分析仪 美国布鲁克海文仪器公司;XHF-DY 型高速分散器 宁波新芝生物科技股份有限公司;RE-52B 旋转蒸发器 上海亚荣生化仪器厂;ZWF-200D 气浴恒温振荡器 上海智城分析仪器制造有限公司;TG16B 医用离心机 盐城市凯特实验仪器有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 M-LYC 的制备 M-LYC 的制备在本课题组之前研究的基础上稍加修改^[10]。分别称取 mPEG₄₅-PLA₃₆、mPEG₁₁₄-PLA₉₀、mPEG₁₁₄-PLA₁₈₀ 各 50 mg,每份中加入 LYC 原料 5 mg,注射级大豆磷脂 5 mg,溶于 1 mL 二氯甲烷和 2 mL 无水乙醚中,同时分别加入 0.7 mL 无水乙醇,继续加入 9 mL 蒸馏水,用高速剪切机 13000 r/min 乳化 1 min,迅速转移至旋转蒸发器中,在 35 ℃ 条件下旋转蒸发除尽有机溶剂,经 0.22 μm 微孔滤膜过滤,制得 mPEG₄₅-PLA₃₆-M-LYC、mPEG₁₁₄-PLA₉₀-M-LYC、mPEG₁₁₄-PLA₁₈₀-M-LYC。

1.2.2 LYC 各异构体的含量测定及 M-LYC 中 LYC 的包封率和载药量计算

1.2.2.1 色谱条件 色谱柱:YMC Carotenoid S-5(4.6 mm×250 mm, 5 μm);流动相 A:乙腈, B:甲基叔丁基醚;线性梯度洗脱:流动相 B 在 5 min 内由 0% 增加至 40%, 5~15 min 由 40% 增加至 50%, 15~25 min 由 50% 增加至 60%, 25~35 min 内由 60% 增加至 65%, 35~40 min 由 65% 减少至 0%, 40~45 min 保持 0% 不变;流速:1 mL/min;检测波长:472 nm;PDA 检测器光谱收集范围:200~800 nm;进样量:20 μL;柱温:30 ℃。

1.2.2.2 用于含量测定的全反式 LYC 标准曲线绘制

精密称取全反式 LYC 对照品 1 mg,用三氯甲烷溶解并定容至 10 mL,摇匀,即得全反式 LYC 对照品储备液。精密吸取一定量的全反式 LYC 对照品储备液,置于 10 mL 棕色容量瓶中,用丙酮定容,配制成浓度分别为 0.52、1.04、1.73、2.08、3.46 和 6.93 μg/mL 的全反式 LYC 对照品溶液,通过 HPLC 测定,以对照品浓度为横坐标(x, μg/mL),以峰面积为纵坐标(y),得到标准曲线 $y=14518x+1370.5(R^2=0.9991)$ 。

1.2.2.3 LYC 原料供试液的配制 精密称取 LYC 原料 5 mg,用三氯甲烷溶解,定容至 10 mL。精密吸

取上述溶液 100 μL,置于 10 mL 棕色容量瓶中,用丙酮定容,在 13000 r/min 条件下离心 15 min,即得。

1.2.2.4 M-LYC 供试液的配制 精密量取“1.2.1”项下 M-LYC 溶液 100 μL,置于 10 mL 棕色容量瓶中,加入 1 mL 三氯甲烷充分振摇以提取胶束中的 LYC,用丙酮定容,在 13000 r/min 条件下离心 15 min 即得。

1.2.2.5 LYC 原料及 M-LYC 中 LYC 各异构体的鉴别

参照文献[18-19]的方法,从 LYC 原料及 M-LYC 含量测定 HPLC 图中提取各异构体在 300~550 nm 特征区域的全波长光谱图,对 LYC 各异构体进行定性鉴别,计算其在顺式特征吸收峰(360~362 nm)与最大吸收波长处主吸收峰(472 nm 左右)吸光度的比值,即 Q 值。根据单峰保留时间、特征吸收峰位置及 Q 值鉴定番茄红素各异构体。

1.2.2.6 LYC 原料及 M-LYC 中 LYC 各异构体含量的计算

通过标准曲线法计算全反式番茄红素的含量,采用峰面积归一化法计算 LYC 各顺式异构体的含量^[19-20],各异构体的含量总和为 Total LYC 含量。M-LYC 中各异构体包封率和载药量的计算分别按公式(1)、(2)计算 M-LYC 中各异构体及 Total LYC 的包封率(EE)和载药量(DL)。

$$EE(\%) = \frac{M_1}{M_2} \times 100 \quad \text{式(1)}$$

$$DL(\%) = \frac{M_1}{M_3} \times 100 \quad \text{式(2)}$$

式中: M_1 为胶束中测得的各异构体或 Total LYC 的量; M_2 为制备过程中加入的原料中含各异构体或 Total LYC 的量; M_3 为制备过程中加入的载体材料、LYC 原料及大豆磷脂的总量。

1.2.3 番茄红素胶束粒径及 Zeta 电位的测定 采用动态光散射纳米粒径分析仪测定番茄红素胶束的平均粒径、多分散指数(PDI)和 Zeta 电位,测定温度为 25 ℃。

1.2.4 LYC 原料及 M-LYC 中 LYC 的体外释放度测定

1.2.4.1 不同释放介质的配制 a.含 0.1% PEG-OA₂ 的 pH6.8 缓冲溶液的配制:按照《中国药典》(2020 版)^[21]配制 pH6.8 的 PBS 缓冲液。取 250 μL PEG-OA₂,置于 250 mL 容量瓶中,用 pH6.8 的 PBS 缓冲液定容,摇匀备用。b.含 0.1% PEG-OA₂ 的 pH7.4 缓冲溶液的配制:按照《中国药典》(2020 版)^[21]配制 pH7.4 的 PBS 缓冲液。取 250 μL PEG-OA₂,置于 250 mL 容量瓶中,用 pH7.4 的 PBS 缓冲液定容,摇匀备用。c.含 0.1% PEG-OA₂ 的 pH1.2 溶液的配制:按照《中国药典》(2020 版)^[21]配制 pH1.2 的 PBS 缓冲液。取 250 μL PEG-OA₂,置于 250 mL 容量瓶中,用 pH1.2 的 PBS 缓冲液定容,摇匀备用。

1.2.4.2 LYC 原料油溶液的配制 称取 LYC 原料 4 mg,用大豆油溶解并定容至 10 mL,摇匀备用。

1.2.4.3 用于释放度测定的全反式 LYC 标准曲线绘

制 按照“1.2.2.2”的方法, 配制浓度分别为 0.17、0.35、0.52、0.69、1.04、1.73 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的全反式 LYC 对照品溶液, 通过 HPLC 测定, 以对照品浓度为横坐标 (x, $\mu\text{g}/\text{mL}$), 以峰面积为纵坐标 (y), 得到标准曲线 $y=15342x+465.53 (R^2=0.9997)$ 。

1.2.4.4 M-LYC 中 LYC 的体外释放度测定 分别精密量取三种 mPEG-PLA 材料制备的 M-LYC (即 $\text{mPEG}_{45}\text{-PLA}_{36}\text{-M-LYC}$, $\text{mPEG}_{114}\text{-PLA}_{90}\text{-M-LYC}$, $\text{mPEG}_{114}\text{-PLA}_{180}\text{-M-LYC}$) 和 LYC 原料油溶液各 1 mL 注入透析袋 (MWCO: 8000~14000 Da) 中, 再置于 10 mL 释放介质中, 在 37 $^{\circ}\text{C}$, 100 r/min 条件下进行体外释放实验。分别于 0.5、2、4、6、8、24、48、72 h, 取出 1 mL 释放液, 同时补充 1 mL 37 $^{\circ}\text{C}$ 预热的空白释放介质, 用丙酮将取出的释放液稀释至一定倍数, 在 13000 r/min 条件下离心 15 min。按“1.2.2”方法测定并计算释放介质中 LYC 各异构体的含量, 并按公式(3)计算每个时间点的累积释放率。

$$Q_n(\%) = \frac{C_n V_0 + (C_1 + C_2 + C_3 + \dots + C_{n-1}) \times V}{C_0 V_a} \times 100 \quad \text{式 (3)}$$

式中: Q_n 为第 n 个取样点时 LYC 的累积释放百分率; C_0 为 LYC 的初始浓度; C_n 为第 n 个取样点时 LYC 的浓度; V_0 为释放介质体积; V 为每次取样体积; V_a 为 M-LYC 体积。

1.3 数据处理

实验均平行测定三份, 结果用平均值 \pm 标准差 ($\bar{X} \pm \text{SD}$) 表示。使用 Excel 2019、Origin 2021 软件进行图形绘制, 通过 IBM SPSS Statistics 27 进行数据处理, 利用 Duncan 法进行统计差异比较。

2 结果与分析

2.1 LYC 各异构体的含量测定及 M-LYC 中 Total LYC 的 EE 和 DL 计算

2.1.1 LYC 各异构体的鉴别 从全反式 LYC 对照品、LYC 原料和 M-LYC 的 HPLC 色谱图(图 1、图 2 和图 3)中提取各色谱峰最高点处的 300~500 nm 波长光谱图, 对 LYC 各异构体进行定性鉴别。将 HPLC 色谱图中出现的四个峰按照出峰顺序命名为 a、b、c、d 峰。由图 1 可以看出, a、b、c、d 四个峰的光谱图在波长 400~550 nm 区段的峰形与全反式番茄红素对照品光谱图(图 4(5))基本相同, 其特征为在 472 nm 左右均出现了“山字”峰形的主吸收峰, 且在 472 nm 左右有最强吸收峰; 图 2 和图 3 峰 c 的光谱图与图 4(5)相同, 故判断峰 c 为全反式 LYC; 图 4(1)(2)(4)不仅在 472 nm 左右均出现了“山字”峰形的主吸收峰, 且在 360~362 nm 处均有一个明显的特征吸收峰, 依据文献 [22] 可初步判断其为顺式 LYC; 通过计算得到峰 a、b、d 的 Q 值分别为 0.53、0.22、0.10, 与文献报道 13Z、9Z、5Z 的 Q 值(0.5、0.2、0.11)基本一致^[18-19]。综合光谱图及 Q 值结果可以判断 HPLC

色谱图上的 a、b、c、d 峰分别为 LYC 异构体 13Z、9Z、All-E、5Z 的色谱峰。

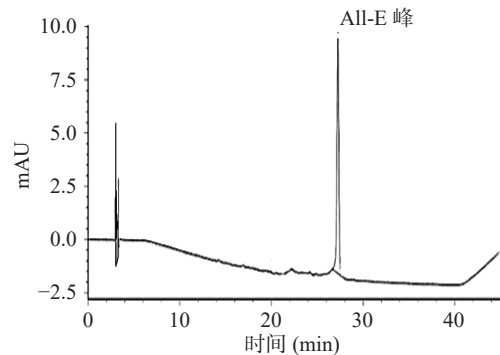


图 1 全反式 LYC 对照品的 HPLC 图谱
Fig.1 HPLC spectrum of all-trans LYC control

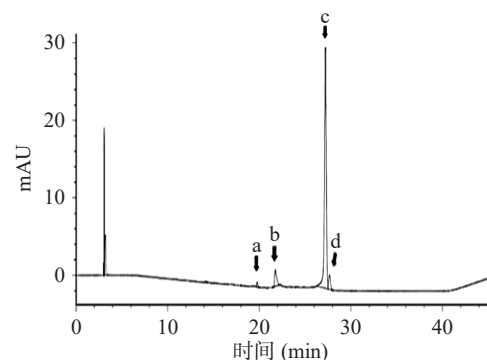


图 2 LYC 原料的 HPLC 图谱
Fig.2 HPLC spectrum of LYC raw material

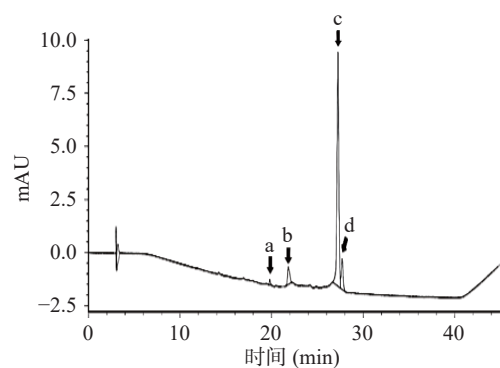


图 3 M-LYC 的 HPLC 图谱
Fig.3 HPLC spectrum of M-LYC

2.1.2 M-LYC 中 LYC 含量测定及 LYC 的 EE 和 DL 计算 EE 和 DL 是评价纳米胶束包封效果及质量的重要指标, 本研究以此为评价指标之一, 筛选合适的 mPEG-PLA 嵌段比例, 分别如表 1、表 2、表 3 所示。在三种材料制备的 M-LYC 中各 LYC 异构体含量、EE 和 DL 差异较大。一般来说, PLA 链分子量越大越易包封 LYC^[23], 因此, $\text{mPEG}_{114}\text{-PLA}_{90}\text{-M-LYC}$ 中各异构体及 Total-LYC 的 EE 均高于 $\text{mPEG}_{45}\text{-PLA}_{36}\text{-M-LYC}$ 。但研究发现, 拥有最长 PLA 链的 $\text{mPEG}_{114}\text{-PLA}_{180}\text{-M-LYC}$ 的各异构体及 Total-LYC 包封率却最低(23.62%), 其原因为过长的 PLA 链使其水溶性变差, 易发生聚集而沉降, 在用微孔滤膜过滤时部分被

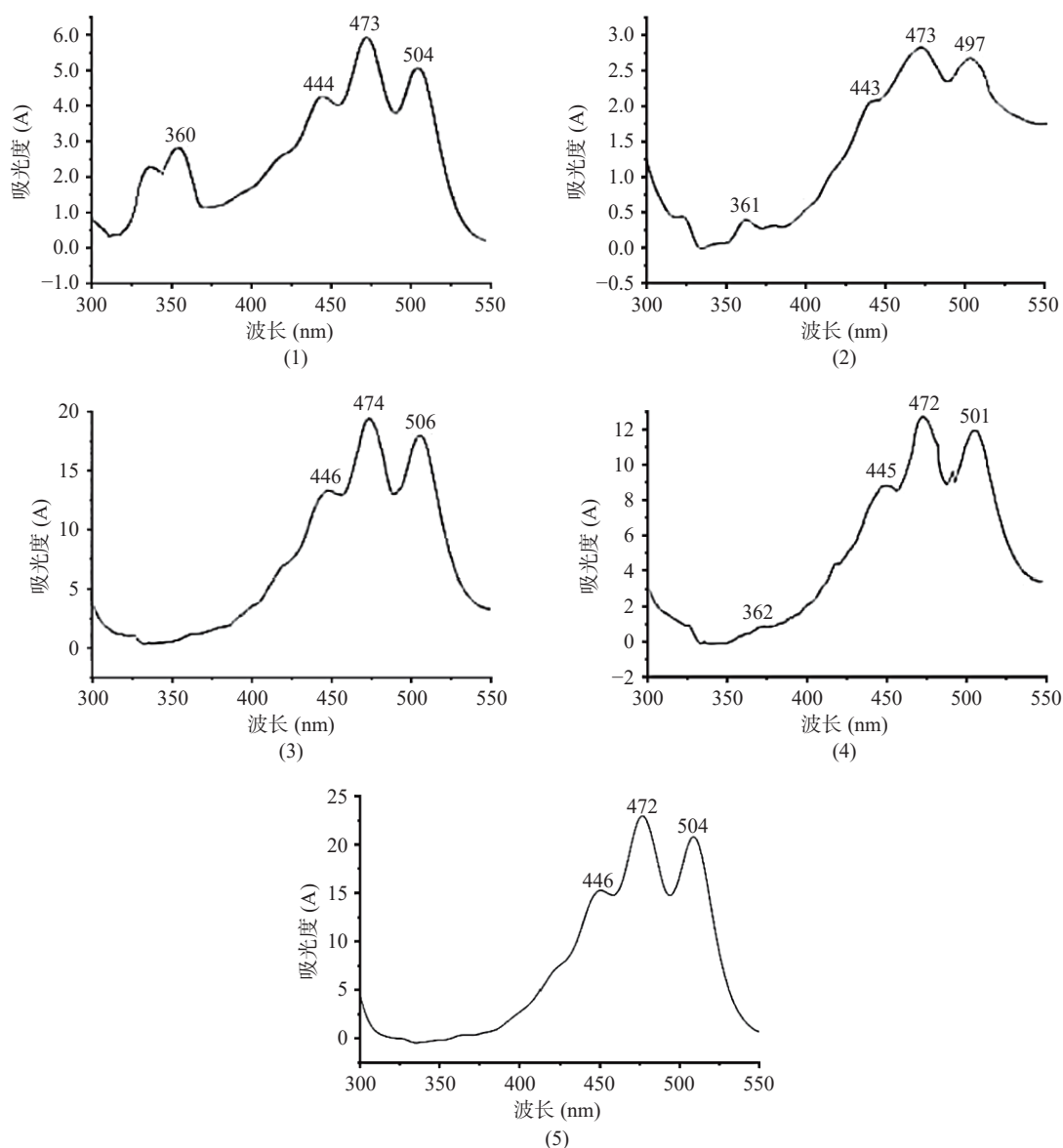


图4 峰 a(1), b(2), c(3), d(4)和全反式 LYC 对照品(5)的光谱图
Fig.4 Spectra of peaks a (1), b (2), c (3), d (4) and all-trans LYC control (5)

表1 mPEG₄₅-PLA₃₆-M-LYC 中各异构体含量和 Total-LYC 包封率及载药量 ($\bar{x} \pm SD, n=3$)

Table 1 Content of each isomer in mPEG₄₅-PLA₃₆-M-LYC and Total-LYC encapsulation rate and drug loading capacity ($\bar{x} \pm SD, n=3$)

| | 13Z | 9Z | All-E | 5Z | Total Z | Total-LYC |
|-----------------|------------|------------|-------------|------------|------------|-------------|
| M-LYC 含量(μg/mL) | 10.26±0.11 | 4.75±0.05 | 206.50±1.60 | 13.40±0.17 | 28.41±0.11 | 234.91±1.71 |
| 包封率(%) | 50.08±0.41 | 60.71±0.62 | 64.89±0.91 | 85.30±1.14 | 67.09±1.04 | 65.04±0.79 |
| 载药量(%) | 0.21±0.05 | 0.09±0.02 | 3.41±0.27 | 0.24±0.03 | 0.55±0.09 | 3.96±0.16 |

表2 mPEG₁₁₄-PLA₉₀-M-LYC 中各异构体含量和 Total-LYC 包封率及载药量 ($\bar{x} \pm SD, n=3$)

Table 2 Content of each isomer in mPEG₁₁₄-PLA₉₀-M-LYC and Total-LYC encapsulation rate and drug loading capacity ($\bar{x} \pm SD, n=3$)

| | 13Z | 9Z | All-E | 5Z | Total Z | Total-LYC |
|-----------------|------------|------------|-------------|------------|------------|-------------|
| M-LYC 含量(μg/mL) | 11.38±0.28 | 5.05±0.07 | 238.30±0.80 | 14.15±0.18 | 30.58±0.53 | 268.88±0.52 |
| 包封率(%) | 57.79±0.19 | 65.78±0.92 | 72.22±1.40 | 89.76±0.63 | 69.08±1.26 | 71.73±0.62 |
| 载药量(%) | 0.24±0.02 | 0.10±0.01 | 3.85±0.16 | 0.26±0.05 | 0.58±0.08 | 4.43±0.25 |

滤除^[24]。综合三种胶束的 EE 和 DL 值,选择 mPEG₄₅-PLA₃₆、mPEG₁₁₄-PLA₉₀ 作为包载 LYC 较佳的嵌段

共聚物。另外,在三种胶束中,13Z 的包封率均最低,这可能是由于 13Z 旋转障碍小,极易发生异构转化,

表 3 mPEG₁₁₄-PLA₁₈₀-M-LYC 中各异构体含量和 Total-LYC 封装率及载药量($\bar{x} \pm SD, n=3$)
Table 3 Content of each isomer in mPEG₁₁₄-PLA₁₈₀-M-LYC and Total-LYC encapsulation rate and drug loading capacity ($\bar{x} \pm SD, n=3$)

| | 13Z | 9Z | All-E | 5Z | Total Z | Total-LYC |
|-------------------------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| M-LYC 中含量($\mu\text{g/mL}$) | 5.74±0.27 | 4.04±0.22 | 64.88±1.07 | 9.28±0.20 | 18.99±1.01 | 83.87±1.23 |
| 封装率(%) | 29.15±0.26 | 53.16±0.52 | 20.97±1.45 | 54.38±0.83 | 36.04±0.73 | 23.62±0.61 |
| 载药量(%) | 0.10±0.01 | 0.07±0.01 | 1.13±0.17 | 0.14±0.02 | 0.29±0.04 | 1.39±0.10 |

故在胶束制备过程中发生了异构转化, 导致封装率降低, Knockaert 等^[25]也发现在一定温度下 13Z 的异构转化程度在几种顺式异构体中最高。有研究表明^[26]相比于 13Z, 9Z 需要在更高温度下才能发生异构转化, 这是因为 9Z 异构转化所需要的能量高于 13Z, 故三种胶束中 9Z 的封装率均高于 13Z。5Z 为常见的 LYC 中最稳定的顺式异构体^[27], 在三种胶束中 5Z 的封装率均高于其他异构体, 甚至高于 Total-LYC。

2.2 番茄红素胶束的粒径及 Zeta 电位分析

文献报道^[28]胶束分子量的大小是影响胶束粒径的主要原因, 胶束的分子量越小其粒径则越小。三种胶束的粒径、PDI、Zeta 电位值如表 4 所示, 可以看出分子量最小的 mPEG₄₅-PLA₃₆-M-LYC 粒径最小(164.63 nm), 分子量最大的 mPEG₁₁₄-PLA₁₈₀-M-LYC 的粒径最大(210.33 nm), 该结果与文献报道^[28]一致。三种胶束的 PDI 均未超过 0.17, 说明三种胶束粒径分布均比较集中。一般 Zeta 电位的绝对值越大, 胶束粒子之间排斥性越强, 越不易絮凝, 体系越稳定^[29], mPEG₄₅-PLA₃₆-M-LYC 的 Zeta 电位绝对值最大(15.38 mV), 说明其在三种胶束中稳定性最好。

表 4 三种胶束的粒径、PDI、Zeta 电位值($\bar{x} \pm SD, n=3$)
Table 4 Particle size, PDI, and Zeta potential values of the three micelles ($\bar{x} \pm SD, n=3$)

| 胶束名称 | mPEG ₄₅ -PLA ₃₆ -M-LYC | mPEG ₁₁₄ -PLA ₉₀ -M-LYC | mPEG ₁₁₄ -PLA ₁₈₀ -M-LYC |
|-------------|----------------------------------------------|-----------------------------------------------|------------------------------------------------|
| 粒径(nm) | 164.63±1.03 ^c | 190.05±1.45 ^b | 210.33±0.26 ^a |
| PDI | 0.148±0.025 ^{ab} | 0.167±0.006 ^a | 0.133±0.003 ^b |
| Zeta 电位(mV) | -15.38±0.20 ^c | -9.43±0.12 ^a | -10.96±0.13 ^b |

注: 同行不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$), 表 5 同。

2.3 LYC 原料及 M-LYC 中 LYC 的体外释放度测定

由于体内生物利用度与体外释放度具有正相关性, 本实验以 0.1% PEG-OA₂ 的不同 pH(1.2、6.8、7.4) 溶液作为释放介质, 考察 LYC 原料和 M-LYC 中 LYC 的体外释放行为。

实验结果显示(图 5), LYC 原料在不同释放介质中均未检测到 LYC 释放出来, 其原因主要为 LYC 的脂溶性很强, 在水性释放介质及体液中很难溶解释放。三种不同嵌段共聚物加载的 M-LYC 在含 0.1% PEG-OA₂ 的 pH1.2 释放介质中, 均未检测到 LYC 各异构体, 分析其原因可能与 LYC 在酸性介质中不稳定易被降解有关, 这与朱金芳等^[10]的研究相符。在含 0.1% PEG-OA₂ 的 pH6.8 和 pH7.4 的释放介质中, LYC

原料及三种 M-LYC 中 Total LYC 的体外累积释放百分率见图 5(1)和(2)。结果显示在含 0.1% PEG-OA₂ 的两种释放介质中, 72 h 累积释放百分率最高的为 mPEG₄₅-PLA₃₆-M-LYC, 分别为 42.35%(pH6.8)、60.82%(pH7.4), 这是由于低分子量的 mPEG 具有更高的亲水性, 即含有 mPEG₄₅ 的胶束比含有 mPEG₁₁₄ 的胶束亲水性更强, 水分子更易渗入胶束内部^[30], 此外, 其粒径最小(164.63 nm), 能够与水分子接触充分, 因此可以通过溶胀机理释放更多的药物^[31]。但在最初 24 h, Total LYC 累积释放百分率最高的却为 mPEG₁₁₄-PLA₉₀-M-LYC, 分别是 19.13%(pH6.8)、22.92%(pH7.4), 这可能与 EE 和 DL 最高有关。当药物包载量较高时, 部分药物会进入疏水端边缘, 甚至到疏水端与亲水端交界处, 在载体材料溶胀的过程中, 这部分药物更易扩散, 进而很快地释放出来^[32]。Musumeci 等^[24]也发现高封装率会导致药物在初始阶段的快速释放。通过比较 pH7.4 和 pH6.8 条件下三种 M-LYC 在 72 h 的累积释放百分率发现, pH7.4 条件下的累积释放百分率均高于 pH6.8, 表明 pH7.4 条件更有利于 LYC 的释放。《中国药典》(2020 版)中规定药物在微粒制剂中 0.5 h 的释放度不得超过 40%^[21], 由图 5(1)和(2)可知, 三种 M-LYC 中 Total LYC 在含 0.1% PEG-OA₂ 不同 pH 的释放介质中 0.5 h 的累积释放百分率最高为 4.30%, 远小于 40%, 符合此标准规定, 说明三种 M-LYC 胶束均不存在突释现象。

在含 0.1% PEG-OA₂ 的 pH6.8 和 pH7.4 的释放介质中, 三种 M-LYC 中 LYC 全反式和 5Z 的体外累积释放百分率见图 5(3)~(6)。13Z 和 9Z 在释放液中均未检出, 这可能因为其含量较少且易发生异构转化^[25-26]。在含 0.1% PEG-OA₂ 的两种释放介质中, All-E 72 h 累积释放百分率比 Total LYC 略高。mPEG₄₅-PLA₃₆-M-LYC、mPEG₁₁₄-PLA₉₀-M-LYC 中 5Z 在 24 h 后才在释放介质中被检测到, 而 mPEG₁₁₄-PLA₁₈₀-M-LYC 中 5Z 在 48 h 后才在释放介质中被检测到, 这可能是由于 5Z 在胶束中的含量较低, 那么释放出来的量更低, 导致仪器未检出, 此外, 5Z 拥有更强的疏水性, 可能会与载体材料 PLA 核心接触更紧密^[33], 不易释放。而经过 72 h 后, 5Z 在两种释放介质中的累积释放百分率均高于 All-E, 这可能是由于载体材料 mPEG-PLA 在 72 h 后已经充分溶胀, 5Z 溶解在渗入胶束核心的溶液中, 在浓度梯度的驱使下, 穿过溶胀的载体材料释放出来^[31], 同时也可能与 All-E 部分异构化为 5Z 有关^[11]。

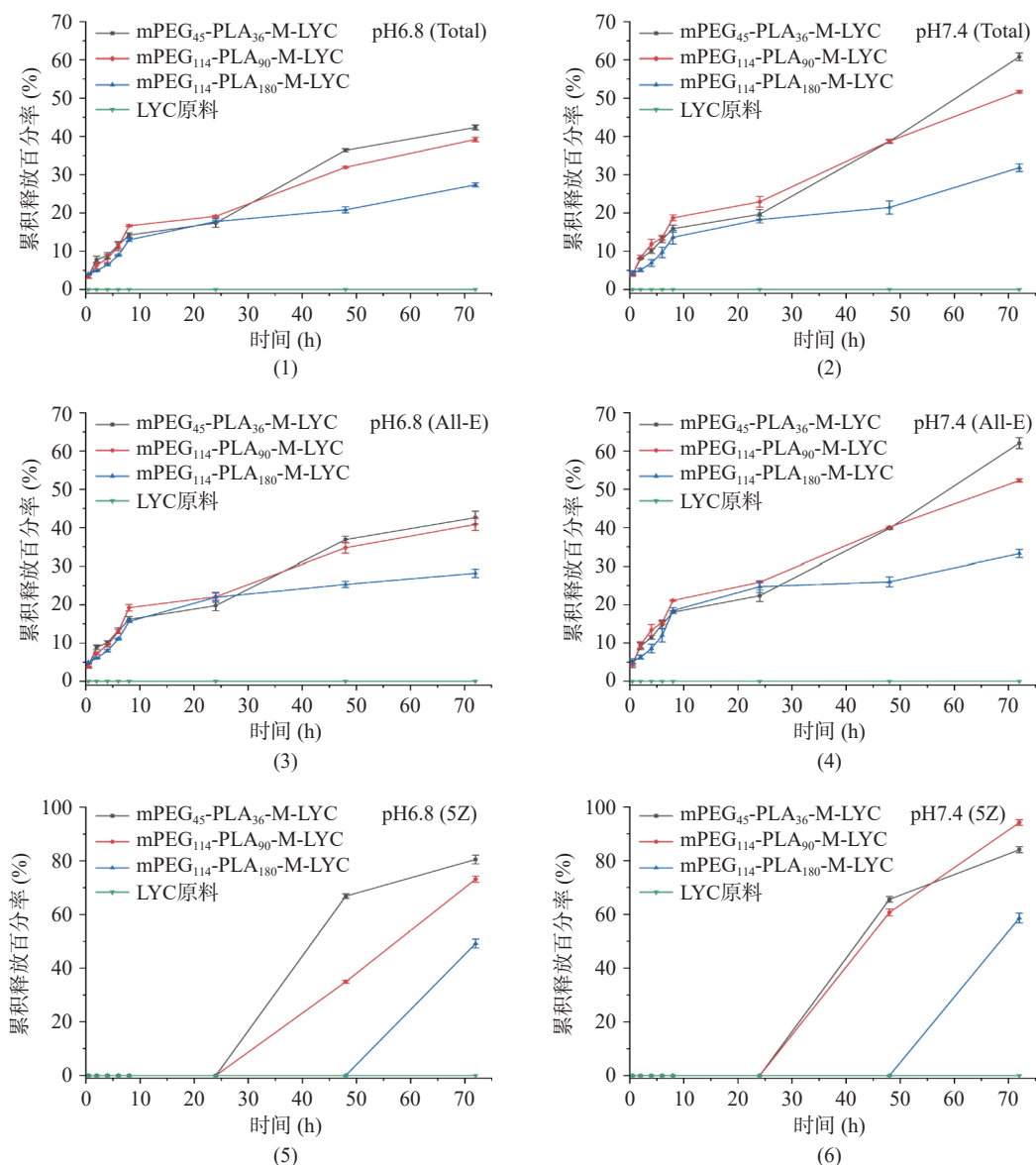


图5 含0.1% PEG-OA₂的不同释放介质中三种 M-LYC 及 LYC 原料中 LYC 异构体的体外释放($\bar{x} \pm SD, n=3$)

Fig.5 *In vitro* release of LYC isomers from three M-LYC and LYC feedstocks in different release media containing 0.1% PEG-OA₂ ($\bar{x} \pm SD, n=3$)

表5 含0.1% PEG-OA₂的不同释放介质中三种 M-LYC 及 LYC 原料中 LYC 异构体的72 h 累积释放百分率($\bar{x} \pm SD, n=3$)

Table 5 Cumulative 72 h release percentages of LYC isomers from three M-LYC and LYC feedstocks in different release media containing 0.1% PEG-OA₂ ($\bar{x} \pm SD, n=3$)

| pH | LYC种类 | mPEG ₄₅ -PLA ₃₆ -M-LYC(%) | mPEG ₁₁₄ -PLA ₉₀ -M-LYC(%) | mPEG ₁₁₄ -PLA ₁₈₀ -M-LYC(%) |
|-----|-----------|-------------------------------------------------|--------------------------------------------------|---------------------------------------------------|
| 6.8 | Total LYC | 42.35±0.64 ^a | 39.22±0.58 ^b | 27.34±0.52 ^c |
| | All-E | 42.61±1.67 ^a | 40.83±1.62 ^b | 28.20±1.10 ^c |
| | 5Z | 80.53±1.62 ^a | 73.18±1.16 ^b | 49.21±1.67 ^c |
| 7.4 | Total LYC | 60.82±1.01 ^a | 51.66±0.33 ^b | 31.83±1.01 ^c |
| | All-E | 62.07±1.45 ^a | 52.30±0.41 ^b | 33.22±1.05 ^c |
| | 5Z | 84.07±1.12 ^b | 94.20±1.05 ^a | 58.64±1.82 ^c |

3 讨论与结论

3.1 讨论

本研究采用了乳化-溶剂挥发法制备胶束,故乳化效果的好坏对其胶束的性质有直接的影响, mPEG-PLA 既是 M-LYC 的载体材料,又可作为非离子型乳化剂使用。但由于乳液中静电液滴排斥力不足,不

能有效防止絮凝的发生,导致乳滴发生聚集。Aveyard 等^[23] 研究发现其制备的仅有非离子表面活性剂的 O/W 型乳液存在易于絮凝和分层等不稳定现象,在加入阴离子表面活性剂十八烷基硫酸钠或阳离子表面活性剂十八烷基三甲基溴化铵后可有效防止絮凝。因此本研究通过添加少量两性离子型乳化剂大

豆磷脂来改善乳化效果,以提高乳液的稳定性。

载体材料的相对分子量大小、亲/疏水链段的比例及 M-LYC 各异构体与载体材料的相互作用等因素均可造成三种 M-LYC 中各异构体的包封率有所不同;同一载体材料制备的 M-LYC 各异构体的包封率也有差异,这是由于在制备过程中溶剂、温度变化等因素可能使 LYC 发生异构转化而导致各异构体的包封率产生差异,其包封率大小顺序为 5Z>9Z>13Z。Yu 等^[27]也发现 LYC 易于发生异构转化,且在 LYC 的顺式异构体中,5Z 比 13Z 和 9Z 具有更高的稳定性,相对不易发生异构转化。

LYC 是一种高度疏水性的物质,难溶于胃肠液中,因此人体对摄入的番茄红素利用率很低^[34]。通过比较 LYC 原料与 M-LYC 的体外释放度,证明胶束可以提高 LYC 的体外释放度,从而预测其有望提高 LYC 的生物利用度,这与 Zhao 等^[35]的研究相符。同时也发现载体材料的相对分子量大小、亲/疏水链段的比例均会影响 LYC 的释放,Sunoqrot 等^[36]使用 mPEG_{5K}-PLA_{3K}、mPEG_{5K}-PLA_{7.8K} 为载体制备鞣皮素胶束,结果发现两种胶束具有明显不同的释放速率。也有文献报道,在以不同 mPEG-PLA 为载体包载生长激素时,PLA 链段的比例增加会降低生长激素的释放速率^[37]。因此,选择合适嵌段比例的聚合物包载 LYC 对于 LYC 增溶控释作用的发挥至关重要。人体摄入 M-LYC 后,通常以被动扩散、胞吞等方式被直接吸收,最后由血液转运到全身器官^[38-39]。因此本实验测定了 M-LYC 在模拟胃液、肠液、血液环境下(pH1.2、pH6.8、pH7.4)的体外释放度。结果显示三种 M-LYC 在 pH7.4 环境下更易释放,同时也发现在 pH1.2 条件下释放液中未检出 LYC,这可能与 LYC 在强酸性条件下不稳定易被破坏有关^[10],建议将来可将 M-LYC 制成肠溶制剂以避免其被胃酸破坏。

3.2 结论

以三种不同嵌段比例的 mPEG-PLA 共聚物为载体材料制备了 M-LYC,并对番茄红素各异构体的理化性质及其增溶控释作用进行了研究,其中 mPEG₁₁₄-PLA₉₀-M-LYC 中各异构体及 Total-LYC 的 EE 最高(71.73%),其次为 mPEG₄₅-PLA₃₆-M-LYC(65.04%),三种胶束中各顺式异构体包封率大小顺序均为 5Z>9Z>13Z;mPEG₄₅-PLA₃₆-M-LYC 粒径最小(164.63 nm)且 Zeta 电位绝对值最大(-15.38 mV)。LYC 原料在不同释放介质中均未检测出释放,三种胶束在 pH7.4 释放介质中的累积释放百分率均高于 pH6.8,且 mPEG₄₅-PLA₃₆-M-LYC 的 Total LYC 在不同释放介质中 72 h 累积释放百分率均最高;三种胶束中全反式番茄红素(All-E)72 h 累积释放百分率比 Total LYC 略高,5Z 在初期无释放,经过 72 h 后累积释放百分率高于 All-E。mPEG₄₅-PLA₃₆-M-LYC 表现出良好的增溶效果和体外释放特性,为番茄红素胶束进一步研究提供依据。

参考文献

- [1] 龙海涛,薛利新,张志霞,等. 固定化混合酶提取番茄红素的工艺研究[J]. *食品工业科技*, 2014, 35(4): 189-193. [LONG H T, XUE L X, ZHANG Z X, et al. Extraction of lycopene from tomato paste with immobilized pectinase and cellulase[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2014, 35(4): 189-193.]
- [2] SHI J, LE MAGUER M, BRYAN M. Lycopene from tomatoes[J]. *Functional Foods: Biochemical and Processing Aspects*, 2002(2): 135-167.
- [3] ONO M, TAKESHIMA M, NAKANO S. Mechanism of the anticancer effect of lycopene (Tetraterpenoids)[J]. *The Enzymes*, 2015, 37: 139-166.
- [4] UGWOR E I, UGBAJA R N, JAMES A S, et al. Inhibition of fat accumulation, lipid dysmetabolism, cardiac inflammation, and improved NO signalling mediate the protective effects of lycopene against cardio-metabolic disorder in obese female rats[J]. *Nutrition Research*, 2022, 104: 140-153.
- [5] SONG X Y, LUO Y H, MA L J, et al. Recent trends and advances in the epidemiology, synergism, and delivery system of lycopene as an anti-cancer agent[J]. *Seminars in Cancer Biology*, 2021, 73: 331-346.
- [6] LUO C, WU X G. Lycopene enhances antioxidant enzyme activities and immunity function in N-Methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine-induced gastric cancer rats[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2011, 12(5): 3340-3351.
- [7] SAINI R K, RENGASAMY K R R, MAHOMOODALLY F M, et al. Protective effects of lycopene in cancer, cardiovascular, and neurodegenerative diseases: An update on epidemiological and mechanistic perspectives[J]. *Pharmacological Research*, 2020, 155: 104730.
- [8] NOBRE B P, PALAVRA A F, PESSOA F, et al. Supercritical CO₂ extraction of trans-lycopene from Portuguese tomato industrial waste[J]. *Food Chemistry*, 2009, 116(3): 680-685.
- [9] HONDA M, KAGEYAMA H, HIBINO T, et al. Efficient and environmentally friendly method for carotenoid extraction from *Paracoccus carotinifaciens* utilizing naturally occurring Z-isomerization-accelerating catalysts[J]. *Process Biochemistry*, 2020, 89: 146-154.
- [10] 朱金芳,王莹,胡强,等. 番茄红素胶束与番茄红素原料稳定性对比研究[J]. *新疆医科大学学报*, 2017, 40(4): 503-508. [ZHU J F, WANG Y, HU Q, et al. Contrastive study on stabilities of lycopene micelles and lycopene[J]. *Journal of Xinjiang Medical University*, 2017, 40(4): 503-508.]
- [11] MURAKAMI K, HONDA M, TAKEMURA R, et al. Effect of thermal treatment and light irradiation on the stability of lycopene with high Z-isomers content[J]. *Food Chemistry*, 2018, 250: 253-258.
- [12] PEER D, KARP J M, HONG S, et al. Nanocarriers as an emerging platform for cancer therapy[J]. *Nano-Enabled Medical Applications*, 2007, 2(12): 751.
- [13] TURECEK P L, BOSSARD M J, SCHOETENS F, et al. PEGylation of biopharmaceuticals: A review of chemistry and nonclinical safety information of approved drugs[J]. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2016, 105(2): 460-475.
- [14] TYLER B, GULLOTTI D, MANGRAVITI A, et al. Polylactic acid (PLA) controlled delivery carriers for biomedical applications[J]. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2016, 107: 163-175.
- [15] 王丽,黄一聆,房伟. 柚皮素-mPEG-PLA 聚合物胶束的制备

- 及其体内药动学研究[J]. *中成药*, 2022, 44(4): 1052–1057. [WANG L, HUANG Y L, FANG W. Preparation and *in vivo* pharmacokinetics of naringenin-loaded mPEG-PLA polymeric micelles[J]. *Chinese Traditional Patent Medicine*, 2022, 44(4): 1052–1057.]
- [16] HUANG S, JIANG S. Structures and morphologies of biocompatible and biodegradable block copolymers[J]. *Rsc Advances*, 2014, 4(47): 24566–24583.
- [17] 朱金芳. DOX 和 CA4P 共载 mPEG-PLA 聚合物囊泡的制备及其肿瘤抑制作用研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2014. [ZHU J F. Preparation and evaluation of mPEG-PLA polymersomes co-encapsulating DOX and CA4P to inhibit cancer growth[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2014.]
- [18] MELÉNDEZ-MARTÍNEZ A J, PAULINO M, STINCO C M, et al. Study of the time-course of cis/trans (Z/E) isomerization of lycopene, phytoene, and phytofluene from tomato[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2014, 62(51): 12399–12406.
- [19] HONDA M, TAKAHASHI N, KUWA T, et al. Spectral characterisation of Z-isomers of lycopene formed during heat treatment and solvent effects on the E/Z isomerisation process[J]. *Food Chemistry*, 2015, 171: 323–329.
- [20] TAKEHARA M, NISHIMURA M, KUWA T, et al. Characterization and thermal isomerization of (all-E)-lycopene[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2014, 62(1): 264–269.
- [21] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 四部. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 475. [Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China[S]. Four parts. Beijing: The Medicine Science and Technology Press of China, 2020: 475.]
- [22] LIN C H, CHEN B H. Determination of carotenoids in tomato juice by liquid chromatography[J]. *Journal of Chromatography A*, 2003, 1012(1): 103–109.
- [23] AVEYARD R, BINKS B P, ESQUENA J, et al. Flocculation transitions of weakly charged oil-in-water emulsions stabilized by different surfactants[J]. *Langmuir*, 2002, 18(9): 3487–3494.
- [24] MUSUMECI T, VENTURA C A, GIANNONE I, et al. PLA/PLGA nanoparticles for sustained release of docetaxel[J]. *International journal of Pharmaceutics*, 2006, 325(1-2): 172–179.
- [25] KNOCKAERT G, PULISSERY S K, LEMMENS L, et al. Carrot β -carotene degradation and isomerization kinetics during thermal processing in the presence of oil[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2012, 60(41): 10312–10319.
- [26] GUO W H, TU C Y, HU C H. Cis-trans isomerizations of β -carotene and lycopene: A theoretical study[J]. *The Journal of Physical Chemistry B*, 2008, 112(38): 12158–12167.
- [27] YU J, GLEIZE B, ZHANG L, et al. Heating tomato puree in the presence of lipids and onion: The impact of onion on lycopene isomerization[J]. *Food Chemistry*, 2019, 296: 9–16.
- [28] PHAM D T, CHOKAMONSIRIKUN A, PHATTARAVORAKARN V, et al. Polymeric micelles for pulmonary drug delivery: A comprehensive review[J]. *Journal of Materials Science*, 2021, 56(3): 2016–2036.
- [29] CHAUDHURI A, RAMESH K, KUMAR D N, et al. Polymeric micelles: A novel drug delivery system for the treatment of breast cancer[J]. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 2022: 103886.
- [30] GUERRA A S, HOYOS C G, MOLINA-RAMÍREZ C, et al. Extraction and preservation of lycopene: A review of the advancements offered by the value chain of nanotechnology[J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2021, 116: 1120–1140.
- [31] KIM K S, PARK S J. Effect of porous silica on sustained release behaviors of pH sensitive pluronic F127/poly (acrylic acid) hydrogels containing tulobuterol[J]. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2010, 80(2): 240–246.
- [32] MORADKHANNEJHAD L, ABDOUSS M, NIKFARJAM N, et al. The effect of molecular weight and content of PEG on *in vitro* drug release of electrospun curcumin loaded PLA/PEG nanofibers[J]. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 2020, 56: 101554.
- [33] ZHANG K, TANG X, ZHANG J, et al. PEG-PLGA copolymers: Their structure and structure-influenced drug delivery applications[J]. *Journal of Controlled Release*, 2014, 183: 77–86.
- [34] MAPELLI-BRAHM P, MARGIER M, DESMARCHELIER C, et al. Comparison of the bioavailability and intestinal absorption sites of phytoene, phytofluene, lycopene and β -carotene[J]. *Food Chemistry*, 2019, 300: 125232.
- [35] ZHAO W, SU L, YU Z, et al. Improved stability and controlled release of lycopene via self-assembled nanomicelles encapsulation[J]. *LWT*, 2022, 155: 112878.
- [36] SUNOQROT S, ALSADI A, TARAWNEH O, et al. Polymer type and molecular weight dictate the encapsulation efficiency and release of quercetin from polymeric micelles[J]. *Colloid and Polymer Science*, 2017, 295(10): 2051–2059.
- [37] WEI Y, WANG Y X, WANG W, et al. Microcosmic mechanisms for protein incomplete release and stability of various amphiphilic mPEG-PLA microspheres[J]. *Langmuir*, 2012, 28(39): 13984–13992.
- [38] BU X, JI N, DAI L, et al. Self-assembled micelles based on amphiphilic biopolymers for delivery of functional ingredients[J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2021, 114: 386–398.
- [39] ALAI M S, LIN W J, PINGALE S S. Application of polymeric nanoparticles and micelles in insulin oral delivery[J]. *Journal of Food and Drug Analysis*, 2015, 23(3): 351–358.