

# 红景天苷前体脂质体的制备与性质研究

夏书芹, 范明辉, 许时婴\*, 张晓鸣

(食品科学与技术国家重点实验室, 江南大学食品学院, 江苏 无锡 214122)

**摘要:** 为提高红景天苷脂质体的稳定性, 采用冷冻干燥法制备了红景天苷前体脂质体。通过研究复水前后红景天苷脂质体的形态、粒径分布和包封率, 比较冷冻干燥保护剂种类及用量对脂质体的保护作用。优选冷冻干燥保护剂为甘露醇, 甘露醇与卵磷脂质量比 20:1, 红景天苷前体脂质体外观饱满、致密, 复水水合之后的包封率达到 40% 以上, 包封率的保留率达到 90%, 平均粒径为 223.9nm, 与冻干前的粒径较为接近。红景天苷前体脂质体的红外光谱分析显示, 卵磷脂极性头基和甘露醇形成氢键, 起到了保护脂质体膜完整性的作用。

**关键词:** 红景天苷; 前体脂质体; 冷冻干燥; 冷冻保护剂

## Preparation and Characterization of Salidroside Proliposomes

XIA Shu-qin, FAN Ming-hui, XU Shi-ying\*, ZHANG Xiao-ming

(State Key Laboratory of Food Science and Technology, School of Food Science and Technology,  
Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

**Abstract:** To enhance the stability of salidroside liposomes, freeze-drying method was used to prepare salidroside proliposomes. The particle morphology, size distribution and encapsulation efficiency of salidroside liposomes before freeze-drying and after rehydration were studied in order to evaluate the protective effects of cryoprotectants. Mannitol was the optimal cryoprotectant to prepare salidroside proliposomes. Salidroside proliposomes prepared with the mass ratio of mannitol to phospholipids of 20:1 looked plumpy and compact, the encapsulation efficiency reached above 40% after rehydration, its retention rate was higher than 90%, and the average particle size of salidroside liposomes after rehydration was 223.9 nm, which was similar to that of samples before freeze-drying. Fourier transform infrared (FTIR) spectral analysis indicated that mannitol and polar group of lipid formed hydrogen bonds which could protect the integrality of liposome membrane from being destroyed during freeze-drying.

**Key words:** salidroside; proliposomes; freeze-drying; cryoprotectant

中图分类号: TS201.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2009)16-0035-06

红景天苷是重要保健药源植物红景天(*Rhodiola sachalinensis* A. Bor.)的主要功能性成分, 具有抗疲劳、抗微波辐射、抑制血糖升高、抗过氧化等保健功效<sup>[1-2]</sup>。红景天类的保健品已广泛被宇航员、登山运动员、司机等特殊行业的从业人员服用。但市售的红景天苷保健品存在许多问题, 诸如在体内浓度忽高忽低、没有缓释功效、服用次数频繁、生物利用度低等<sup>[3]</sup>。采用纳米脂质体技术将其包埋更有利于人体吸收, 在保健食品领域有着广阔的应用前景。但普通脂质体为液态, 在贮存过程中易发生粒子聚集、沉降、融合、磷脂氧化、包封物渗漏等稳定性问题。前体脂质体由 Payne 等首次

提出, 将构成脂质体的膜材、药物及支撑剂用适当方法制成颗粒状、冻干状等干燥形式, 用前加水水化后即可形成脂质体<sup>[4]</sup>。目前前体脂质体的制备方法主要有喷雾干燥法、冷冻干燥法、真空膜板法、直接喷雾法等。喷雾干燥法不适用于热敏性的功能性成分, 而且高温条件下很难做到避免磷脂氧化。而冷冻干燥法制备前体脂质体有可能实现工业化生产, 制造能长期保存的商品<sup>[5]</sup>。但是脂质体在冻干过程中, 冰晶的形成、生长及升华均会对脂质体囊泡产生破坏作用, 囊泡之间的接触、附着、融合都会影响脂质体的粒径, 使粒径及其分布范围增大<sup>[6]</sup>。为了保持脂质体冻干前的结构和功

收稿日期: 2009-02-14

基金项目: 国家“863”计划重点项目(2007AA100403); 教育部博士点新教师基金项目(200802951037);

江南大学校预研究基金项目(2008LXY022)

作者简介: 夏书芹(1979—), 女, 副教授, 博士, 研究方向为功能性食品配料与添加剂。E-mail: sqxia@jiangnan.edu.cn

\* 通讯作者: 许时婴(1940—), 女, 教授, 研究方向为功能性食品配料与添加剂。E-mail: syxu2008@gmail.com

能, 冻干保护剂的种类和浓度是首要考虑的因素。

本研究拟在普通脂质体的基础上, 采用冷冻干燥法除去水分, 制成红景天苷前体脂质体, 考察各种糖类保护剂对冻干效果的影响, 以包封率和平均粒径为指标对红景天苷前体脂质体复水后的性质进行研究。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

优质高山红景天 吉林长白山地区; 红景天苷标准品 中国药品生物制品检定所; 红景天苷溶液 实验室自制。

卵磷脂(生化试剂) 上海华东师范大学化工厂; 海藻糖(食品级) 日本林原株式会社; 乳糖(分析纯) 上海恒信化学试剂有限公司; 蔗糖、甘露醇、葡萄糖、麦芽糖(以上均为分析纯)、吐温 80(化学纯) 国药集团(上海)化学试剂有限公司。

### 1.2 仪器与设备

722 可见分光光度计 上海精密仪器三厂; VCX50 超声处理器 美国 Sonics & Materials 公司; FreeZone 6 升立式冷冻干燥机 美国 Labconco 公司; Nano-ZS90 型粒径分析仪 英国 Malvern 公司; CSPM 4000 扫描探针显微镜 广州本原纳米仪器有限公司; CSCII 型硅探针 UMASCH 公司; Nexus 傅里叶变换红外光谱仪 (FTIR) 美国 Nicolet 公司。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 红景天苷纳米脂质体的制备

采用乙醇注入-超声法。经过部分纯化得到的红景天苷溶于 0.05mol/L、pH7.0 的 PBS 缓冲液中, 配制红景天苷溶液浓度为 1mg/ml。准确吸取 20ml、1mg/ml 的红景天苷溶液, 将适量的吐温 80 溶于其中, 加热至 60℃, 并保持恒温, 强力搅拌。将质量比 4:1 的磷脂和胆固醇溶于 60℃ 的热无水乙醇中, 使用注射器以一定速度注入到上述保持恒温的红景天苷溶液中, 水相立即变成乳化的脂质体悬浮液。体系 60℃ 恒温搅拌 30min。将得到的脂质体悬浮液转移至 100ml 圆底烧瓶, 40℃ 低压旋转蒸发 10min, 挥尽残留乙醇。为了获得粒径大小均一的小单层脂质体, 脂质体采用 1s 开、1s 停的循环操作进行超声处理 1min, 超声强度 50%。

#### 1.3.2 红景天苷前体脂质体的制备

红景天苷的水相溶液中溶解不同浓度的各种冷冻保护剂(糖类), 其余操作均同 1.3.1 节, 制备得到红景天苷纳米脂质体悬浮液。准确吸取脂质体 1ml, 转移装于 5ml 的安培瓶中。样品首先预冻至 -60℃, 进行一次干燥过程, 样品温度保持低于 -40℃, 时间 48h, 直到样品中升华界面全部消失。升温至 20℃, 进行二次干燥过程, 时间 10h, 冻干过程结束。冻干样品避光,

常温保存于干燥器中。

#### 1.3.3 红景天苷前体脂质体的重建水合

往红景天苷前体脂质体中加入 0.05mol/L、pH 7.0 的 PBS 缓冲液, 进行重建水合, 轻轻振荡即得重建脂质体悬浮液。

#### 1.3.4 红景天苷含量及红景天苷脂质体包封率的测定

参照文献[7]采用比色法测定。

#### 1.3.5 红景天苷含量及红景天苷脂质体包封率的测定

参照文献[7]采用透析法测定。

#### 1.3.6 红景天苷脂质体粒径分布的测定

采用配有 He/Ne 激光器( $\lambda=633\text{nm}$ )的 Nano-ZS90 粒径分析仪, 散射角为 90°。将待测样品装入聚苯乙烯比色皿中(折光指数 1.33), (25 ± 0.1)℃ 下保温 3min, 测定, 记录平均粒径(the Z-average diameter,  $D_z$ )和表征粒径分布情况的多分散指数(polydispersity index, PDI)。

#### 1.3.7 红景天苷脂质体的原子力显微镜分析

原子力显微镜(atomic force microscopy, AFM)是一种高分辨率的扫描探针显微镜, 能够观察微小粒子在自然环境下的形态, 而且无需对样品进行特殊处理<sup>[8]</sup>。吸取脂质体 100μl, 用磷酸盐缓冲液(0.05mol/L、pH7.0)稀释 50 倍, 轻轻混匀。吸取稀释的样品 40μl, 滴在新解理的云母片表面并铺展, 用滤纸吸去多余的液体, 室温静置约 20min, 待云母片表面干燥。采用硅探针, 为了尽量降低摆动噪音的敏感性, 悬臂共振频率设定 32kHz, 弹性常数为 0.35N/m, 接触模式进行探针扫描。

#### 1.3.8 红景天苷前体脂质体傅里叶变换红外光谱分析

取一定量红景天苷前体脂质体, 与干燥的 KBr 混合充分研磨, 压片后进行红外光谱分析。扫描波数范围 400~4000cm<sup>-1</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 冻干保护剂的选择

表 1 各类冻干保护剂对红景天苷前体脂质体性质的影响  
Table 1 Effects of cryoprotectants on the characteristics of salidroside proliposomes

保护剂	外观形态	复水重建	1周内稳定性(20℃)
无	较差, 干缩现象严重	困难	干缩现象严重
葡萄糖	一般, 结构松散	较难	第 3 天发生干缩、空洞
果糖	一般, 结构松散	较难	第 3 天发生干缩、塌陷
蔗糖	好, 颜色均匀, 松散, 粗糙有皱	容易	第 7 天出现干缩, 颜色变黄
麦芽糖	好, 颜色均匀, 致密, 粗糙有皱	容易	无变化
乳糖	好, 颜色均匀, 致密, 粗糙有皱	容易	无变化
海藻糖	很好, 颜色均匀, 致密, 粗糙有皱	容易	无变化
甘露醇	很好, 颜色均匀, 致密, 平整饱满	容易	无变化

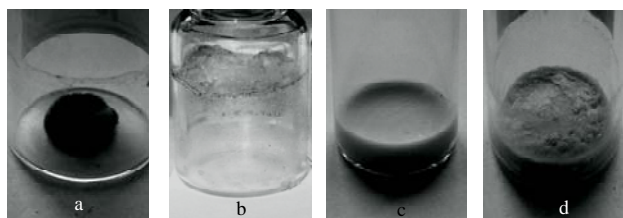
脂质体在冻干过程中必须尽可能保护脂质体膜不致

受到结晶的机械破坏作用。合理选用保护剂对红景天苷纳米脂质体冻干粉的质量有非常显著的影响,它不仅起到冻干制剂的骨架作用,还能促进前体脂质体在水中的再分散<sup>[4]</sup>。

由表1可见,葡萄糖和果糖的冻干保护效果一般,在冻干结束的时候样品表面结构松散,而且在常温下保存2d后,会发生严重的干缩、塌陷现象。使用蔗糖、麦芽糖、乳糖、海藻糖等冻干保护剂的冻干样品的颜色均匀,孔隙致密,表面饱满,复水重建效果好。添加甘露醇的脂质体冻干效果最佳。所以,冻干保护剂的添加与否对红景天苷前体脂质体的质量有显著影响。没有添加任何冻干保护剂的红景天苷脂质体发生干缩、结构塌陷,主要是由于在干燥阶段脂质体膜受到结晶的机械破坏作用导致的。双糖和甘露醇保护剂可将玻璃化转变温度提高至冷冻干燥温度之上,所以得到的冻干粉不会发生塌陷<sup>[9]</sup>。研究表明,在冷冻干燥过程中,如果温度高于脂质体的玻璃化温度,脂质体黏度迅速降低,表面萎缩,结构破坏,使冻干脂质体发生塌陷现象<sup>[10]</sup>。

## 2.2 红景天苷前体脂质体外观形态

高质量的前体脂质体在外观上应饱满、致密,形成完整的块状,有足够的强度支撑以避免发生结构塌陷。图1为红景天苷前体脂质体在常温下放置1周以后的外观状况。不添加任何保护剂的脂质体干缩至瓶底,添加葡萄糖的脂质体也发生了干缩,使本来就松散的结构变得塌陷,添加甘露醇和海藻糖的脂质体在常温保存一周之后在外观上基本没有变化。蔗糖、乳糖和麦芽糖与海藻糖有相似的现象。这可能与“玻璃化”假说有关,高浓度的糖溶液会诱导脂质体膜玻璃态的形成,一旦形成玻璃态,水分子的流动减小,溶液的黏度增加,玻璃态的糖溶液包围脂质体膜,使得链段运动受阻,分子的伸展和聚集受到抑制,从而保护其结构不会发生塌陷<sup>[11-13]</sup>。



a. 无冻干保护剂; b. 添加卵葡萄糖; c. 添加甘露醇; d. 添加海藻糖; 冻干保护剂与卵磷脂的质量比均为20:1。

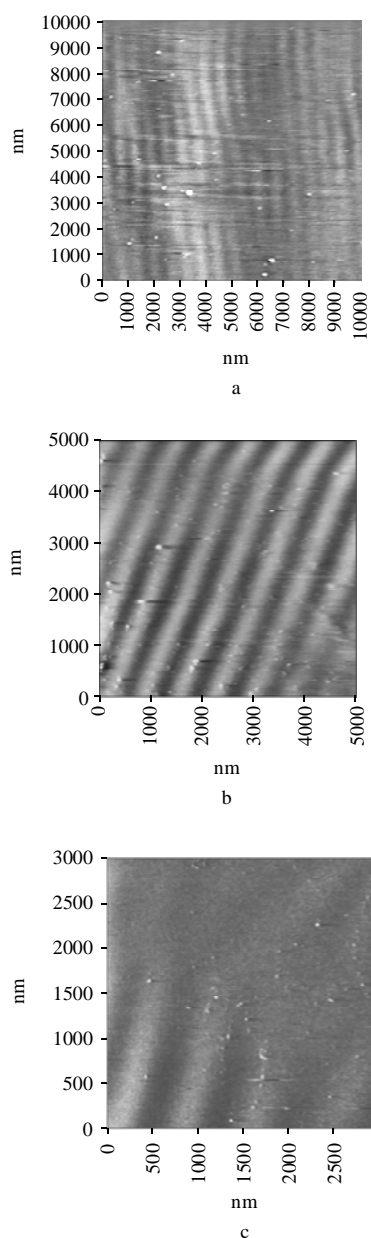
图1 红景天苷前体纳米脂质体20℃下保存1周的外观变化

Fig.1 Appearance change of salidroside proliposomes prepared with various cryoprotectants after storage at 20℃ for one week

通过红景天苷前体脂质体进行复水,发现不添加任何冻干保护剂和以葡萄糖、果糖为保护剂的脂质体复水

均困难,溶液混浊,肉眼可见大量的沉淀物。以各类双糖和甘露醇为保护剂的脂质体冻干粉水化分散容易进行,1min之内即可形成具有乳光的脂质体悬浮液。图2为红景天苷前体脂质体复水后的AFM扫描图像。

由图2可见,许多小而均匀的脂质体囊泡,与冻干前脂质体相比,外观形态上基本相似。说明以甘露醇和海藻糖为冻干保护剂制备的红景天苷前体脂质体的结构得到了很好的保护。



a. 冻干之前; b. 冻干之后复水,甘露醇为冻干保护剂; c. 冻干之后复水,海藻糖为冻干保护剂。冻干保护剂与卵磷脂的质量比均为20:1。

图2 红景天苷前体脂质体复水后的原子力显微镜扫描影像

Fig.2 AFM scanning images of salidroside liposomes before freeze-drying (a) and salidroside proliposomes prepared with various cryoprotectants after rehydration: b. mannitol; c. trehalose

### 2.3 冻干保护剂对红景天苷前体脂质体复水后包封率的影响

脂质体在冻干过程中,大量水自内向外渗透(冷冻干燥阶段)或自外向内渗透(水化阶段)会引起药物或功能成分的泄漏。被包封的分子从脂质体中渗漏是由于冻干过程中脂质体膜的破坏造成的,而脂质体膜的破坏作用与膜的相转变温度有关<sup>[11-12]</sup>。脂质体膜的相转变温度随含水量的变化而变化,脂质体冻干后,水分(小分子增塑剂)的减少导致卵磷脂基团的活动自由体积变小,分子流动性降低,卵磷脂的相转变温度升高,即冻干态的相转变温度( $T_m$ )高于液态时的相转变温度。冻干后的脂质体室温时可能以胶态存在,而加水水化形成的脂质体混悬液在相同温度下则呈液晶态,脂质体经历了相转变,脂质体膜从原来紧密排列状态变得紊乱,膜的刚性和厚度降低,通透性增加,不可避免地引起了被包封物的渗漏<sup>[12]</sup>。

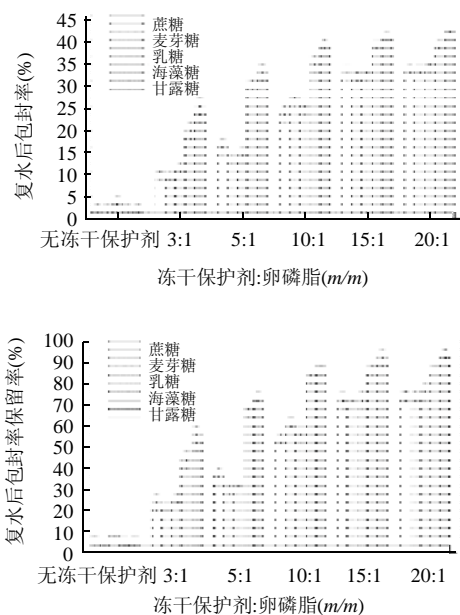


图3 冻干保护剂对红景天苷前体脂质体复水后包封率和保留率变化的影响

Fig.3 Effects of cryoprotectants on the encapsulation efficiency (EE) and EE retention ratio of salidroside proliposomes after rehydration

图3为冻干保护剂对红景天苷前体脂质体复水后包封率的影响,结果表明:双糖和甘露醇为较佳的保护剂,对红景天苷的保留极有效果,随着添加量的增加,包封率也相应增加,这说明冻干保护剂与卵磷脂作用,保护作用决定于其与构成脂质体的主要成分卵磷脂的比例。另一方面,甘露醇的保护效果要明显优于其他双糖物质,当甘露醇与卵磷脂质量比为20:1时,包封率为41.3%,复水后红景天苷包封率的保留率超过了90%。这可能是脂质体膜在失水后,甘露醇在失水位置

与卵磷脂极性基团以氢键结合代替失去的结构水,既阻止了膜之间的靠近,又增加了卵磷脂基团的自由体积,降低了冻干态的相转变温度,即冻干前后脂质体膜均是液晶态存在,复水水化过程无相转变发生,降低渗漏的发生<sup>[13]</sup>。

### 2.4 冻干保护剂对红景天苷前体脂质体复水后粒径分布的影响

脂质体冻干过程中形成的冰晶,造成外水相溶质浓度的升高。当冰晶生成,脂质体膜内外的渗透压随之产生。结晶的形成和渗透压的产生同时对脂质体膜造成了严重的机械破坏,最后导致脂质体膜破裂,失去原来的完整结构,产生脂质体的融合和脂质体膜的破裂<sup>[11]</sup>。在无冻干保护剂的情况下,脂质体的聚集、融合最为普遍,主要是冻干消除了膜之间的水化层屏障,另外冰晶的生长使脂质体的浓度升高,从而增加了膜之间相互附着聚集的机会。宏观上看,即表现为脂质体粒径的增大。

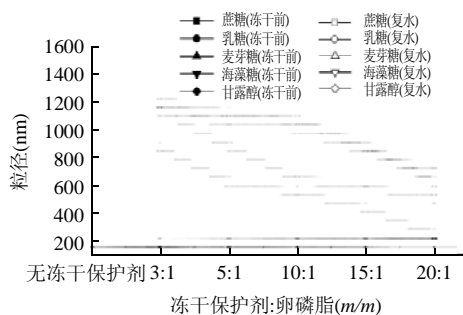
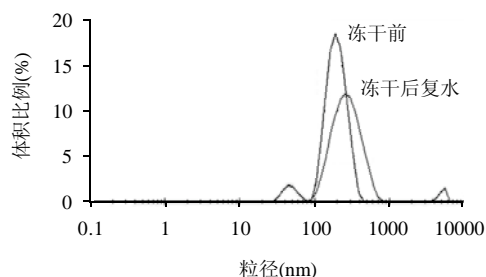


图4 冻干保护剂对红景天苷前体脂质体复水后平均粒径的影响  
Fig.4 Effects of cryoprotectants on the average particle size of salidroside proliposomes after rehydration



甘露醇为冻干保护剂,甘露醇与卵磷脂质量比为20:1。

图5 红景天苷脂质体冻干前和冻干后复水的粒径分布

Fig.5 Comparison of particle size distribution of salidroside liposomes and proliposomes after rehydration

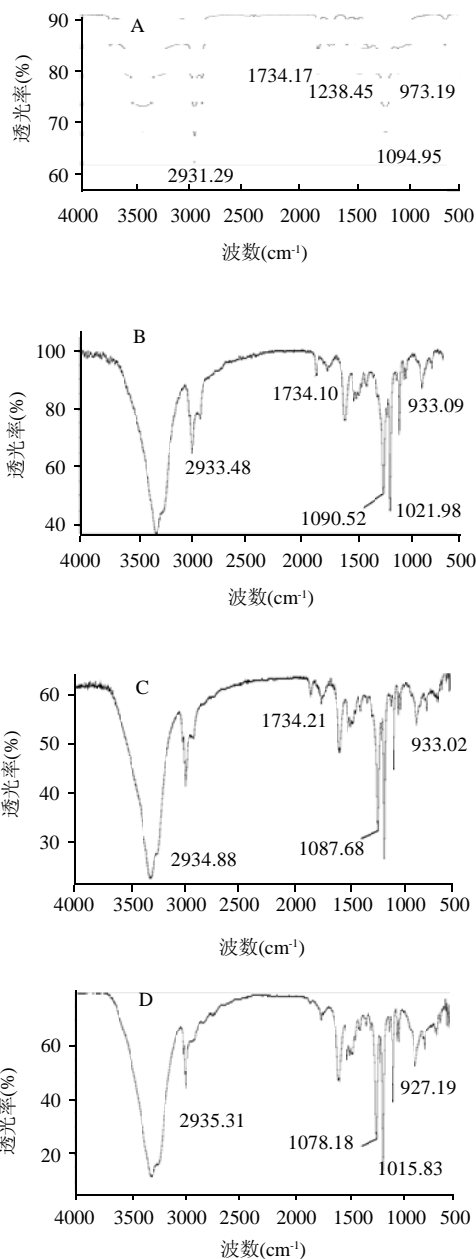
图5是使用甘露醇为冻干保护剂,红景天苷脂质体冻干前和冻干粉复水后的粒径分布情况,两种状态下脂质体的平均粒径较为接近,分别为190.1nm和223.9nm。这可能是甘露醇更易于和卵磷脂基团作用,代替水分子成为膜之间的水化层屏障,有效的阻止脂质体膜之间的相互聚集和融合。

### 2.5 红景天苷前体脂质体的FTIR分析

傅里叶变换红外光谱(FTIR)是研究分子结构的有力手段之一。针对卵磷脂双亲性大分子形成的双分子层结构, FTIR 可通过对卵磷脂中特征基团的对称或不对称伸展振动谱带的变化, 表征其他物质对双分子层的相互作用机理<sup>[14]</sup>。卵磷脂极性头部基团的主要谱带包括 C=O 伸缩振动模式、磷酸基团的  $\text{PO}_2^-$  反对称和对称伸缩振动模式、以及  $(\text{CH}_3)_3\text{N}$  的伸缩振动模式, 通过测定甘露醇对这些基团红外光谱的影响, 可以分析甘露醇对红景天苷前体脂质体的保护作用机理。

从图 6 的 FTIR 光谱图可以看出,  $\text{CH}_2$  谱带的频率、带宽、峰高等参数并没有随着甘露醇的用量变化而变化, 均在  $2931.29\text{cm}^{-1}$  附近, 表明甘露醇对脂质体双分子层内的结构没有影响, 这与亚甲基是磷脂分子疏水尾链结构的特征基团有关。图 6A 中显示 C=O 的伸缩振动频率为  $1734.17\text{cm}^{-1}$ , 这与文献报道的结果是一致的<sup>[15]</sup>。当甘露醇与卵磷脂的质量比为 5:1 和 10:1 时, C=O 的伸缩振动频率仍为  $1734\text{cm}^{-1}$ , 谱带位置没有发生变化。但从谱带峰形可见, 随着甘露醇与卵磷脂的质量比提高, C=O 谱带强度变小, 当甘露醇的用量达到 20:1 时, C=O 谱带则完全消失。这表明随着甘露醇用量的增加, 甘露醇与 C=O 的相互作用增强, 导致 C=O 的特征吸收减弱。图 6A 中结果显示  $\text{PO}_2^-$  的反对称和对称伸缩振动频率分别为  $1238.45\text{cm}^{-1}$  和  $1094.95\text{cm}^{-1}$ , 通过比较发现随着甘露醇与卵磷脂质量比从 5:1 变化到 10:1、20:1,  $\text{PO}_2^-$  的对称伸缩谱带随之增宽并导致峰形劈裂出现双峰,  $\text{PO}_2^-$  的对称伸缩振动则相应的变为  $1090.52\text{cm}^{-1}$  和  $1021.98\text{cm}^{-1}$ 、 $1087.68\text{cm}^{-1}$  和  $1018.00\text{cm}^{-1}$ 、 $1078.18\text{cm}^{-1}$  和  $1015.83\text{cm}^{-1}$ , 结果呈现向低波数方向移动。根据文献<sup>[16]</sup>报道,  $(\text{CH}_3)_3\text{N}$  的伸缩振动频率为  $970\text{cm}^{-1}$ , 本研究结果显示其伸缩振动频率为  $973.19\text{cm}^{-1}$ (图 6A), 实验结果发现甘露醇加入红景天苷前体脂质体中导致其变化至  $930\text{cm}^{-1}$  左右。

“水代替”假说认为<sup>[13]</sup>, 生物体中的大分子均被一层水膜包围保护着, 这是维持其结构和功能必不可少的物质基础。干燥时水膜的消失将导致这些大分子物质发生不可逆变化, 但甘露醇由于拥有许多羟基, 干燥过程中能够替代水和磷脂头部发生氢键结合, 取代失去的结合水, 维持着膜表面“水化”状态, 使其在缺水条件下仍能保持原有结构。综上所述, C=O 谱带的减弱、 $\text{PO}_2^-$  和  $(\text{CH}_3)_3\text{N}$  谱带向低波数移动等现象表明卵磷脂极性头部基团和甘露醇的确发生了相互作用, 通过其羟基形成了氢键, 降低了卵磷脂极性头部基团的键力常数, 从而避免脂质体膜结构塌陷, 达到保护脂质体膜完整性的作用。



A. 对照(无甘露醇); B. 甘露醇与卵磷脂质量比为 5:1; C. 甘露醇与卵磷脂质量比为 10:1; D. 甘露醇与卵磷脂质量比为 20:1。

图 6 甘露醇不同用量对红景天苷前体脂质体 FTIR 光谱的影响  
Fig.6 FTIR spectra of salidroside proliposomes prepared with various mass ratios of mannitol to phospholipids

### 3 结论

选择甘露醇为较佳的冻干保护剂, 成功制备红景天苷前体脂质体。甘露醇与卵磷脂质量比 20:1, 红景天苷前体脂质体外观饱满、致密, 复水水合之后的包封率达到 40% 以上, 红景天苷包封率的保留率达到 90%, 粒径为  $223.9\text{nm}$ , 与冻干前红景天苷脂质体粒径  $190.1\text{nm}$  的结果较为接近。FTIR 分析显示, 随甘露醇用量的提高,



卵磷脂极性头部基团中 C=O 谱带减弱、PO<sub>2</sub> 和(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>N 谱带向低波数移动, 表明卵磷脂极性头部基团和甘露醇的确发生了相互作用, 形成氢键, 起到了保护脂质体膜完整性的作用。

#### 参考文献:

- [1] 明海泉, 夏光成, 张瑞均, 等. 红景天研究进展[J]. 中草药, 1998, 19(5): 229-231.
- [2] ABIODOV M, CRENDAL F, GRACHEV S, et al. Effect of extracts from *Rhodiola rosea* and *Rhodiola crenulata* (*Crassulaceae*) roots on ATP content in mitochondria of skeletal muscles[J]. Bulletin of Experimental Biology and Medicine, 2003, 136(6): 585-587.
- [3] 赵奇武. 红景天苷缓释微囊技术及其优化研究[D]. 长春: 吉林大学, 2004.
- [4] 陈建明, 张仰眉, 高中. 维生素 A 前体脂质体的研制及其特性考察[J]. 第二军医大学学报, 2003, 24(2): 207-209.
- [5] HINRICHS W L J, MANCENIDO F A, SANDERS N N. The choice of a suitable oligosaccharide to prevent aggregation of PEGylated nanoparticles during freeze thawing and freeze drying[J]. International Journal of Pharmaceutics, 2006, 311(1/2): 237-244.
- [6] 丁丽燕, 杨春, 李学明, 等. 乙醇注入法制备司帕沙星脂质体[J]. 南京工业大学学报, 2007, 29(1): 32-35.
- [7] 范明辉, 许时婴. 胆固醇对红景天苷脂质体的制备及物化稳定性的影响[J]. 食品科学, 2008, 29(2): 59-63.
- [8] RUOZI B, TOSI G, FORNI F, et al. Atomic force microscopy and photon correlation spectroscopy: two techniques for rapid characterization of liposomes[J]. European Journal of Pharmaceutical Sciences, 2005, 25(1): 81-89.
- [9] JOHNSON R E, KIRCHHOFF C F, GAUD H T. Mannitol-sucrose mixtures: versatile formulations for protein lyophilization[J]. Journal of Pharmaceutical Sciences, 2002, 91(4): 914-922.
- [10] 刘占杰, 华泽钊, 陈建明, 等. 药品冷冻干燥过程中的玻璃化作用[J]. 中国医药工业杂志, 2000, 31(8): 380-383.
- [11] MOBLEY W C, SCHREIER H. Phase transition temperature reduction and glass formation in dehydroprotected lyophilized liposomes[J]. Journal of Controlled Release, 1994, 31(1): 73-87.
- [12] van WINDEN E C A, ZHANG W, CROMMELIN D J A. Effect of freezing rate on the stability of liposomes during freeze-drying and rehydration[J]. Pharmaceutical Research, 1997, 14(9): 1151-1160.
- [13] 张玉华, 凌沛学, 籍保平, 等. 糖类在生物活性物质冷冻干燥中的保护作用及其作用机制[J]. 中国生化药物杂志, 2006, 27(4): 247-249.
- [14] 王玮, 李来明, 席时权. 红外光谱法在双亲性化合物水溶液体系研究中的应用[J]. 分析化学, 1994, 22(12): 1273-1281.
- [15] CASAL H L, MANTSCH H H. Polymorphic phase behaviour of phospholipid membranes studied by infrared spectroscopy[J]. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Reviews on Biomembranes, 1984, 779(4): 381-401.
- [16] UMEMURA J, CAMERON D G, MANTSCH H H. A Fourier transform infrared spectroscopic study of the molecular interaction of cholesterol with 1, 2-dipalmitoyl-sn-glycero-3-phosphocholine[J]. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes, 1980, 602(1): 32-44.