

杜仲叶提取物自组装纳米载体的筛选、鉴定及其对姜黄素的包埋应用

耿汝意¹, 李超男¹, 李倩倩¹, 王宇慧¹, 张璐璐^{1,2}, 马超^{1,2*}

(1. 北京林业大学生物科学与技术学院, 林业食品加工与安全北京市重点实验室, 北京 100083)

(2. 森林食物资源可持续利用与开发河北省重点实验室, 河北雄安 070001)

摘要: 该研究为了从杜仲 (*Eucommia ulmoides* Oliv.) 叶中分离纯化富含小分子自组装纳米载体材料 (SMSN) 的提取物 (EuNE), 以此替代高纯度 SMSN, 降低生产成本并推动其产业化应用。研究方法采用以自组装性能为导向的分部分离工艺, 筛选并确定 EuNE 组分, 通过色谱法对其核心成分进行鉴定, 并考察 EuNE 组装形成的纳米颗粒 (EuNE NPs) 对姜黄素的包载性能及稳定性的影响。结果表明, 经甲醇提取、石油醚分部萃取和乙醇沉淀工艺得到的 EuNE 组分具有优良的自组装性能, EuNE NPs 粒径为 232.79 nm, 表面电荷为 -30.13 mV; EuNE 中的主要载体成分为齐墩果酸 (38.56 mg·g⁻¹) 和熊果酸 (68.35 mg·g⁻¹), 两者通过氢键-静电协同作用组装成纳米颗粒。EuNE NPs 对姜黄素的包载率可达 77.40%, 显著提升了姜黄素在紫外辐照、高温、不同 pH 值及离子强度条件下的稳定性; 在模拟胃液中 3 h 释放率为 69.34%, 在模拟肠液中 3 h 累计释放率为 44.60%, 表现出良好的缓释特性。该研究证实, SMSN 的自组装无需依赖于高纯度的单体成分, 这为杜仲叶等资源的高值化利用和高性能载体成分的开发提供了新思路。

关键词: 自组装纳米材料; 天然小分子; 杜仲叶; 生物活性化合物递送

文章编号: 1673-9078(2026)5-203-212

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2026.5.0298

Isolation and Identification of Self-assembled Nanocarriers from *Eucommia ulmoides* Leaf Extract for Curcumin Encapsulation

GENG Ruyi¹, LI Chaonan¹, LI Qianqian¹, WANG Yuhui¹, ZHANG Lulu^{1,2}, MA Chao^{1,2*}

(1.Beijing Key Laboratory of Forestry Food Processing and Safety, College of Biological Sciences and Biotechnology, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China)(2.Hebei Provincial Key Laboratory for Sustainable Utilization and Development of Forest Food Resources, Xiongan 070001, China)

Abstract: A small-molecule self-assembled nanomaterial (SMSN)-enriched extract from *Eucommia ulmoides* Oliv. leaves (EuNE) was isolated and purified as an alternative to high-purity SMSNs, with the aim of reducing production costs and facilitating industrial application. A self-assembly performance-guided fractionation strategy was applied to screen and identify functional EuNE components, which were further characterized using chromatographic techniques. The encapsulation efficiency and stability of

引文格式:

耿汝意,李超男,李倩倩,等.杜仲叶提取物自组装纳米载体的筛选、鉴定及其对姜黄素的包埋应用[J].现代食品科技,2026,42(5):203-212.

GENG Ruyi, LI Chaonan, LI Qianqian, et al. Isolation and identification of self-assembled nanocarriers from *Eucommia ulmoides* leaf extract for curcumin encapsulation [J]. Modern Food Science and Technology, 2026, 42(5): 203-212.

收稿日期: 2025-03-04; 修回日期: 2025-05-12; 接受日期: 2025-05-16

基金项目: 中央大学基本科研业务费专项 (QNTD202302); 国家自然科学基金项目 (31770614; 31901236); 北京林业大学 5·5 工程科研创新团队项目 (BLRC2023A01)

作者简介: 耿汝意 (2000-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 森林药食资源质量评价, E-mail: gengruiyi5553@163.com

通讯作者: 马超 (1979-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 森林药食资源质量评价与功能开发, E-mail: machao@bjfu.edu.cn

curcumin loaded into EuNE self-assembled nanoparticles (EuNE NPs) were systematically evaluated. The EuNE fraction obtained via methanol extraction, petroleum ether fractionation, and ethanol precipitation exhibited excellent self-assembly capability. The resulting EuNE NPs showed an average particle size of 232.79 nm and a surface charge of -30.13 mV. Oleanolic acid ($38.56 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$) and ursolic acid ($68.35 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$) were identified as the major carrier components, forming nanoparticles through synergistic hydrogen-bonding and electrostatic interactions. Curcumin encapsulation efficiency in EuNE NPs reached 77.40%, accompanied by markedly improved stability under ultraviolet irradiation, elevated temperatures, different pH conditions, and varying ionic strengths. In simulated gastric fluid, 69.34% of curcumin was released within 3 h, while cumulative release in simulated intestinal fluid reached 44.60% over the same period, demonstrating sustained-release behavior. These results indicate that SMSN self-assembly can be achieved without high-purity monomeric components and highlight the potential of *Eucommia* leaf extracts for the development of cost-effective, high-performance natural nanocarrier systems.

Key words: self-assembled nanomaterials; natural small molecules; *Eucommia* leaves; bioactive compound delivery

近年来,小分子自组装纳米材料(SMSNs)因其独特的载体性能和协同生物活性而受到广泛关注。Bag等^[1,2]自2005年首次证实天然三萜及其衍生物可形成稳定自组装凝胶以来,已揭示桦木酸、甘草酸、齐墩果酸(OA)、熊果酸(UA)等30余种天然小分子可通过分子间作用力自组装为纤维状凝胶、纳米棒或纳米球等形态^[3-6]。研究进一步表明,某些SMSNs可以共组装聚集形成具有不同形状的纳米结构。例如,OA和白桦酸聚集成均匀的纳米棒,而甘草酸与OA^[5]、白桦酸^[7]、白桦素或羽豆醇结合时形成纳米球^[8,9]。在过去的20年里,在100多种植物中发现了30多种具有自组装能力的SMSNs^[10]。

随着健康产业对天然生物活性物质需求的增长,SMSNs在解决活性成分递送瓶颈方面凸显独特优势。天然活性成分(如黄酮、萜类)常因亲脂性强、化学稳定性差、口服生物利用度低等问题限制其应用^[11]。SMSNs通过自组装形成的纳米载体可显著改善上述缺陷:其一,其低毒性、高生物相容性与可降解性^[12]降低了合成材料的潜在风险;其二,其优异的包封能力可提升载药效率,例如OA纳米颗粒对 β -胡萝卜素的包封量可达 $300 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 并显著增强其水分散性及胃肠液中的缓释特性^[13];其三,协同组装体系可发挥增效减毒作用,如OA与姜黄素共组装纳米颗粒通过协同调控肿瘤微环境增强抗肿瘤活性^[14],而紫杉醇与格列本脲联用体系则能降低肝毒性等副作用^[15]。然而,高纯度的载体成分分离纯化依赖复杂工艺,成本高昂,严重制约其商业化应用。因此,开发可替代高纯度载体的多组分天然提取物成为突破这一瓶颈的关键方向。

杜仲(*Eucommia ulmoid* Oliver)作为传统药用植物,其叶片富含类黄酮、木脂素及三萜类化合物^[16],其中萜类成分因兼具自组装能力与药理活性备受关

注^[17]。因此,该研究旨在对杜仲叶中SMSNs进行提取、分离和鉴定,并优化杜仲纳米载体提取物的提取和富集工艺,以有效克服单组分分离带来的挑战 and 成本问题。该研究不仅拓展了杜仲叶资源开发利用研究的新视角,也为杜仲叶中的载体材料在药物递送研究中的进一步应用提供了可能。

1 材料与方法

1.1 原料

杜仲叶,在北京林业大学试验苗圃采集;OA、UA(纯度均 $>98\%$),购自成都阿尔法生物科技有限公司;姜黄素(Cur,纯度 $>98\%$),购自南京春秋生物科技有限公司;其他试剂包括甲醇、乙醇、丙酮、二氯甲烷、乙酸乙酯、聚乙烯醇(PVA)、氯仿、浓盐酸、磷酸氢二钠(NaH_2PO_4)、磷酸二氢钠(Na_2HPO_4)、无水氯化钠、胃蛋白酶、胰酶及猪胆盐均为分析纯,购自北京蓝弋化工品有限公司。

1.2 主要仪器设备

YB-300A多功能电动药材粉碎机,永康市速锋工贸有限公司;KW-1000DC数显恒温水浴锅,江苏金坛亿通电子有限公司;N-1300V-W东京理化旋转蒸发器,东京理化器械株式会社;Scientz-IIID超声波乳化机,宁波新芝生物科技有限公司;HJ-6B磁力搅拌器,北京恒奥德仪器有限公司;VORTEX 1 S026涡旋混合器,德国艾卡仪器设备有限公司;DHG-9050A电热鼓风干燥箱,上海恒科学仪器有限公司;J-24SXP落地式高速冷冻离心机,美国贝克曼库尔特有限公司;S-4800场发射扫描电子显微镜,日本日立公司;LC-20A高效液相色谱仪,岛津(中国)有限公司;ZS-90激光粒度分析仪,马尔文仪器公司;HT7800透射电镜,日本日立

公司; Nicolet iS50 傅里叶变换红外光谱仪, 赛默飞世尔公司; D8Advance 型 X 射线衍射仪, 德国布鲁克公司。

1.3 杜仲叶提取物的提取与分步分离

采用回流提取法提取杜仲叶^[18], 初步筛选纳米载体的提取溶剂。各称量 5 g 干燥的杜仲叶粉, 分别用 50 mL 甲醇、乙醇、二氯甲烷和乙酸乙酯回流提取 45 min (65 °C), 重复 3 次。将滤液混合, 用旋转蒸发器回收有机溶剂, 得到杜仲叶粗提取物进行筛选。提取物得率 (Y_1) 计算如下:

$$Y_1 = \frac{m_1}{m_2} \times 100\% \quad (1)$$

式中:

Y_1 ——提取物得率, %;

m_1 ——提取物质量, g;

m_2 ——杜仲叶原料质量, g。

取 50 g 杜仲叶粉, 以 500 mL 甲醇为溶剂, 65 °C 回流提取 3 次, 每次 45 min, 合并滤液, 旋蒸浓缩。向浓缩物加 150 mL 水悬浮, 300 mL 石油醚萃取 8 h, 重复 3 次, 合并萃取液 (Fr 1) 并浓缩回收溶剂; 剩余水层添加 150 mL 体积分数为 60% 乙醇溶液, 60 °C 加热 30 min, 8 000 r·min⁻¹ 离心 30 min, 分离上清 (Fr 2) 与沉淀 (Fr 3, 即 EuNE); Fr 1~3 分别浓缩挥干, 供后续分析。

1.4 纳米颗粒的制备

纳米颗粒通过超声乳化-溶剂挥发法制备^[19]。取 50 mg 提取物, 溶于 2 mL 甲醇后超声分散, 滴加 5 mL 质量分数 2.5% PVA 溶液, 冰浴超声处理 90 s。乳化液转移至 70 mL 质量分数为 0.3% PVA 溶液中, 磁力搅拌 12 h 使甲醇完全挥发。取所有溶液在 4 °C、12 000 r·min⁻¹ 离心 30 min, 沉淀 (EuNE NPs) 以去离子水复分散。纳米分散液经 -40 °C 预冻 6 h 后真空冻干 24 h, 获得纳米颗粒粉末; 结合 SEM 成像与得率分析, 筛选最优载体材料。提取物 (Y_2) 和杜仲叶 (Y_3) 的纳米颗粒得率计算如下:

$$Y_2 = \frac{m_3}{m_1} \times 100\% \quad (2)$$

$$Y_3 = Y_1 \times Y_2 \quad (3)$$

式中:

Y_2 ——提取物的纳米颗粒得率, %;

Y_3 ——杜仲叶的纳米颗粒得率, %;

m_1 ——提取物质量, mg;

m_3 ——纳米颗粒质量, mg。

为了制备负载 Cur 的 EuNE NPs (Cur@EuNE NPs), 称量适量 EuNE, 加入甲醇, 超声处理 10 min

得到 100 mg·mL⁻¹ 的溶液。同时, 将 10 mg 的 Cur 在 10 mL 的有机溶剂混合物二氯甲烷: 甲醇 (9:1, V/V) 中超声处理, 形成原液。然后将各 1.0 mL 的 EuNE 溶液和 Cur 原液均匀混合, 并按照上述方案进行乳化。

1.5 EuNE的定性与定量分析

为初步鉴定 EuNE 主要成分, 采用薄层色谱法 (TLC) 和高效液相色谱法 (HPLC) 对杜仲叶已知成分 OA、UA 进行分析。TLC 分析中, 样品与 OA、UA 标准品经石油醚: 丙酮 (5:1, V/V) 展开后, 通过体积分数 5% 硫酸/乙醇在 105 °C 下加热显斑; HPLC 定量分析使用 C₁₈ 色谱柱, 以乙腈: 水 (90:10, V/V) 为流动相, 流量为 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长为 205 nm, 柱温为 30 °C, 标准品与样品均经甲醇溶解、0.45 μm 过滤后进样, 进样体积为 10 μL, 通过峰面积与标准曲线对比确定含量。

1.6 纳米颗粒表征

1.6.1 形貌分析

采用扫描电镜观察纳米颗粒形貌。具体操作如下: 将纳米颗粒分散于去离子水中, 取少量分散液滴加至方形单抛硅片表面, 室温自然干燥后置于样品仓, 在加速电压 5 kV、工作距离 8 mm 条件下进行形貌表征。采用透射电镜观察纳米颗粒微观结构: 取一滴约 5.0 μL 样品于碳膜铜网上静置 2 min 后, 用干净的滤纸在侧边吸取未干样品液, 用 2% 磷钨酸负染, 于透射电镜下观察其形貌。

1.6.2 粒径与电位分析

通过激光粒度分析仪测定纳米颗粒的流体动力学粒径、多分散指数 (PDI) 及 Zeta 电位。检测条件: 将制备好的纳米分散液用去离子水稀释 20 倍, 然后取适量装入四通光比色皿中, 设定温度为 25 °C, 平衡 2 min 后, 用粒径仪检测样品的平均粒径和 PDI, 测定次数为 30 次。为评估颗粒表面电荷特性, 另取稀释液注入 U 型电解池, 通过电泳光散射法完成 20 次 Zeta 电位重复测量。

1.6.3 红外光谱分析

采用红外光谱分析样品的官能团特征。具体方法: 取 1.0 mg 冻干样品与 100 mg 溴化钾均匀混合并压片, 于波数 4 000~500 cm⁻¹ 范围内进行 64 次扫描, 分辨率 4 cm⁻¹, 扣除背景后采集光谱。

1.6.4 X射线衍射分析

使用 XRD 分析样品的晶体结构, 并采用 Cu 靶 (40 kV, 40 mA) 作为衍射源。测试前将样品置于样品

池中铺满并将表面抹平。随后,以 5°/min 的扫描速率,0.04° 的步长在 5~50° 的衍射角 (2θ) 范围内进行扫描。

1.7 姜黄素定量分析

采用 HPLC 测定 Cur 含量,色谱条件如下:流动相为体积分数 0.5% 的磷酸水:乙腈 (20:80, V/V),流量为 1.0 mL·min⁻¹。检测波长为 425 nm,柱温为 30 °C,进样量为 10 μL。将游离 Cur 溶解于甲醇中,用 0.45 μm 滤膜过滤。Cur 在 Cur@EuNE NPs 中的包封率 (Encapsulation Efficiency, EE) 按以下公式计算:

$$E = \frac{c_1 \times v_1}{m_1} \times 100\% \quad (4)$$

式中:

E —Cur 在 Cur@EuNE NPs 中的包封率, %;

c_1 —Cur@EuNE NPs 溶液中姜黄素质量浓度, mg·mL⁻¹;

v_1 —Cur@EuNE NPs 溶液总体积, mL;

m_1 —Cur@EuNE NPs 制备过程中 Cur 投放量, mg。

1.8 姜黄素稳定性评估

为系统评价姜黄素负载杜仲叶提取物纳米颗粒 Cur@EuNE NPs 的稳定性:将 Cur@EuNE NP 分散液和游离 Cur 在 50 °C 至 90 °C 的黑暗环境中静置 1 h 来测定温度稳定性;通过将样品暴露在紫外灯下 6 h 来评估光稳定性;将样品与不同 pH 值 (1.2、3.6、6.8、7.4、9.0) 的缓冲液混合,避光保存 24 h,检测 pH 值稳定性;通过将样品与不同浓度的氯化钠溶液 (50、100、250、500 和 1 000 mmol·L⁻¹) 混合,并在黑暗中保存 24 h,检测离子强度稳定性。另外,通过对 Cur@EuNE NP 纳米分散液进行冷冻干燥,观察其在蒸馏水中的二次溶解,对冻干粉稳定性进行评价。在这些不同条件下处理后, Cur@EuNE NP 分散液在 4 °C 下以 12 000 r·min⁻¹,离心 15 min。沉淀物溶解于色谱甲醇中,稀释至特定浓度。保留率 (Preservation Rate, PR) 计算公式如下:

$$P = \frac{c_2}{c_1} \times 100\% \quad (5)$$

式中:

P —Cur 在 Cur@EuNE NPs 中的保留率, %;

c_1 —Cur@EuNE NPs 溶液中 Cur 质量浓度, mg·mL⁻¹;

c_2 —处理后的 Cur@EuNE NPs 溶液中 Cur 质量浓度, mg·mL⁻¹。

1.9 姜黄素体外释放分析

采用模拟胃液 (SGF, pH 值 1.2) 和肠液 (SIF, pH 值 7.0) 研究 Cur@EuNE NPs 中 Cur 的体外释放:

各取 6.0 mL Cur@EuNE NPs 溶液于 6 mL SGF 和 SIF 中,在 37 °C、120 r·min⁻¹ 振荡 180 min,每 30 min 取样离心 (12 000 r·min⁻¹, 15 min) 后用 HPLC 检测 Cur 浓度,并按公式计算释放率 (Release Rate, RE)。

$$R = \frac{1 - c_t}{c_0} \times 100\% \quad (6)$$

式中:

R —Cur 在 Cur@EuNE NPs 中的释放率, %;

c_t —不同时间间隔 Cur@EuNE NPs 中保留的 Cur 的质量浓度, mg·mL⁻¹;

c_0 —新制备的 Cur@EuNE NPs 中 Cur 的质量浓度, mg·mL⁻¹。

1.10 分子动力学模拟

采用 Materials Studio 2020 软件探究纳米颗粒形成机制:首先通过 Forcite 模块的 Smart 算法优化 OA、UA 及 Cur 分子结构,构建含 17 个 OA、31 个 UA 和 6 个 Cur 的非晶胞模型,在 NVT 系综 (298 K) 下进行 1 000 ps 分子动力学模拟,使用 COMPASS II 力场,静电与范德华作用截断半径 12.5 Å,样条宽度 1 Å。

1.11 数据分析

所有的指标检测均进行了 3 次重复取平均值,采用 SPSS Statistics 26.0 进行差异显著性分析 ($P < 0.05$ 为显著),并通过 Microsoft Excel 2019 完成数据计算、分析,Origin 进行图表绘制。

2 结果与讨论

2.1 纳米载体提取的溶剂筛选

为筛选杜仲叶纳米载体材料的最佳提取溶剂,基于提取率评估甲醇、乙醇等四种溶剂。如图所示,甲醇得率最高 ($Y_1=19.00\%$, 图 1a),但甲醇提取物的纳米颗粒生成量最低 ($Y_2=18.00\%$, 图 1b);乙醇提取物生成纳米颗粒最多 ($Y_2=30.00\%$),但以原料量为基准时,甲醇作为溶剂时纳米颗粒得率最高 ($Y_3=3.42\%$, 图 1c),二氯甲烷次之 ($Y_3=3.38\%$),乙酸乙酯最低 ($Y_3=1.10\%$)。

采用 SEM 观察不同溶剂提取的纳米颗粒形貌 (图 1d):甲醇提取物纳米颗粒呈均匀球形,粒径约为 234 nm,分散性好;乙醇提取物颗粒虽为球形但易聚集;二氯甲烷提取物颗粒少且尺寸较大 (约 1 200 nm);乙酸乙酯提取物含纤维状与球状混合结构。结合得率与形貌特征,甲醇为最优提取溶剂。

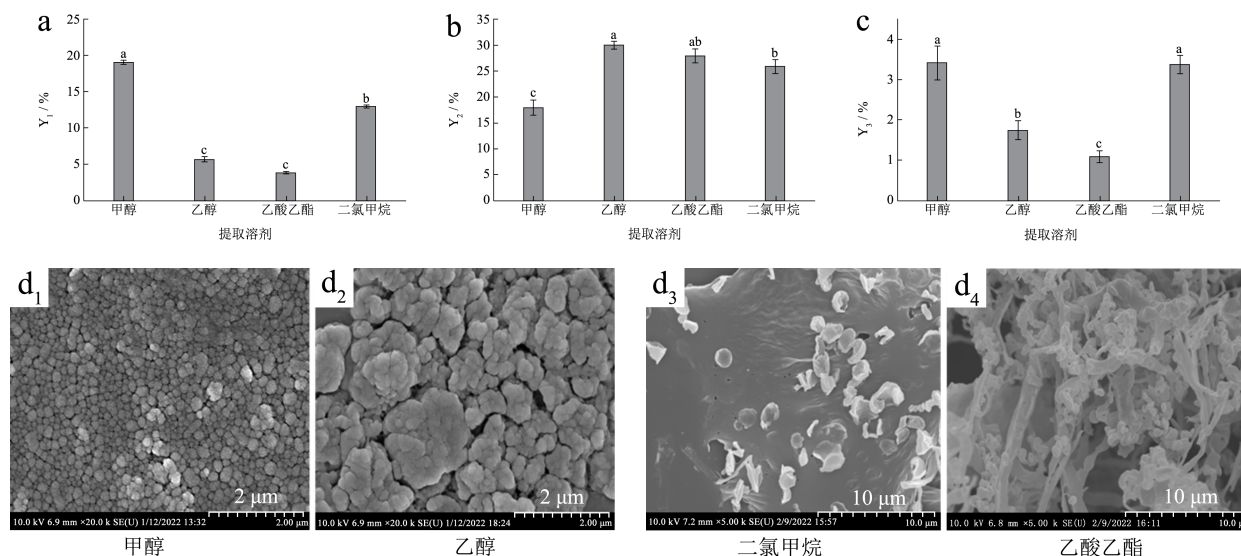


图1 不同有机溶剂提取物得率 (Y_1)、基于提取物计算的纳米颗粒得率率 (Y_2)、杜仲叶的纳米颗粒得率 (Y_3) 与不同溶剂提取物制备的纳米颗粒的 SEM

Fig.1 The extraction yield of different organic solvents (Y_1), the nanoparticle yield calculated based on the extract (Y_2), the nanoparticle yield of *Eucommia ulmoides* leaves (Y_3) and the SEM of nanoparticles prepared by different solvent extracts

注: 图中不同字母表示各组间具有显著性差异 ($P < 0.05$)。

2.2 自组装载体材料的分离与筛选

通过液-液萃取杜仲叶甲醇提取物 (Fr 0) 富集自组装成分的工艺流程如图 2a 所示: 首先用石油醚分离出色素富集的脂溶性部分 (Fr 1), 得率为 26.7%, 剩余水相经 60% 乙醇处理得乙醇可溶部分 (Fr 2) 与不溶部分 (Fr 3), 得率分别为 56.7% 和 16.6%。图 2b 的 SEM 分析显示, 仅 Fr 3 可形成均匀球形纳米颗粒 (直径约为 232.79 nm), 其 zeta 电位 -30.13 mV, PDI 0.42, 与粗提物纳米颗粒形态一致, 表明通过该萃取法可有效富集自组装活性成分。

2.3 TLC和HPLC鉴定结果

如图 3a 所示, 在显色过程后, 标准样品和 Fr 3 部分中对应的斑点均显示出紫红色斑块。萜类化合物在接触硫酸-乙醇显色试剂时会呈现紫红色^[20], 这表明纳米材料可能含有这两种化合物中的一种或两种。进一步的, 在优化的 HPLC 条件下, OA 和 UA 均显示出清晰可辨的色谱峰 (图 3b)。在保留时间 10.67 min 和 10.99 min 处观察到与载体材料相对应的色谱峰, 分别与 OA 和 UA 的洗脱时间一致。这证实了这两种化合物在载体材料中的存在。定量分析结果显示, OA 和 UA 的质量浓度分别为 $38.56 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 和 $68.35 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。这些结果表明, EuNE 中的自组装载体材料主要由 OA 和 UA 组成。

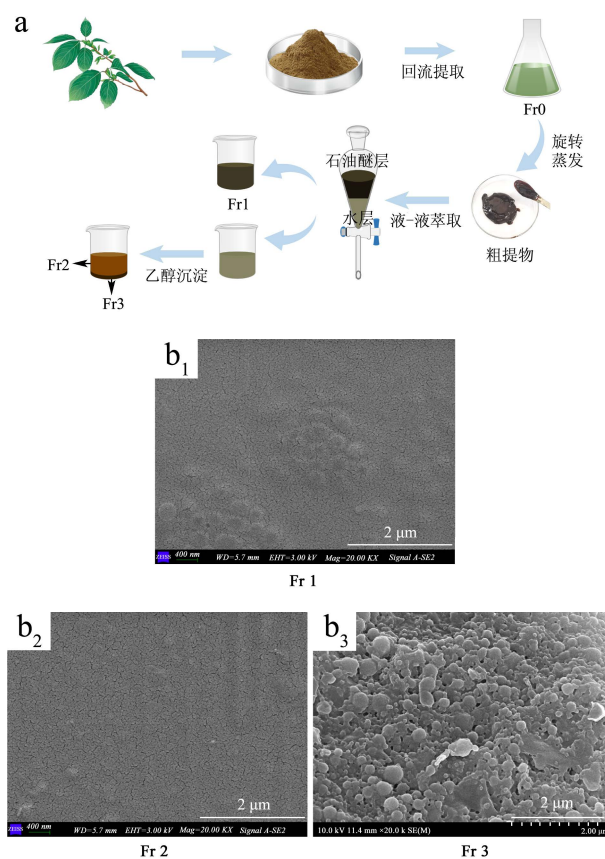


图2 提取分离流程图、不同组分制备的纳米颗粒的 SEM 图像
 Fig.2 Extraction and separation flow chart, SEM images of nanoparticles prepared with different components

通过 OA、UA 单一组分及以 1:2 质量比混合体系制备纳米颗粒 (图 3c), 结果显示三者均形成形态均匀、粒径分布一致的球形颗粒, 表明组合结构不影响其自组装能力。该结果证实组装过程对组成条件具有强适应性, 为纳米颗粒的灵活制备及规模化生产提供了新思路。

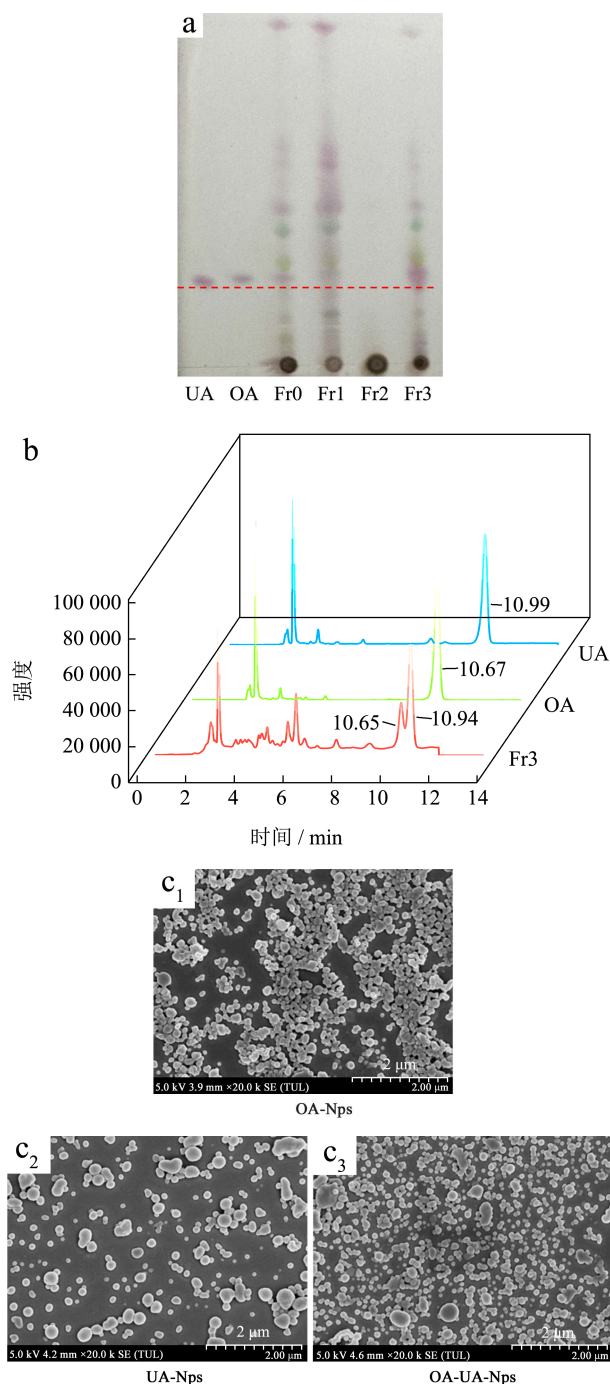
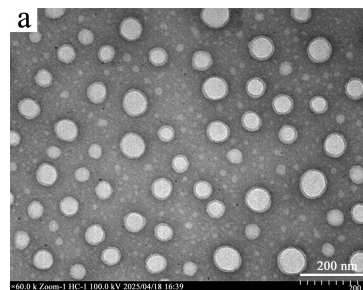


图 3 Fr 3 薄层色谱 (TLC)、高效液相色谱 (HPLC) 鉴定, OA 和 UA 自组装和共组装纳米颗粒的 SEM 图像
Fig.3 Identification by Fr 3 thin layer chromatography (TLC), high performance liquid chromatography (HPLC), SEM images of OA and UA self-assembled and co-assembled nanoparticles

2.4 纳米颗粒形成的机制

采用 TEM 对 EuNE NPs 的微观结构进行观察, 结果如图 4a 所示。EuNE NPs 呈现球状纳米结构, 具有清晰的核壳分层特征。揭示了纳米颗粒的均一球球形貌及内部高度有序的排列, 进一步验证了多组分协同驱动有序组装的假设。XRD 谱图 (图 4b) 显示, OA 与 UA 的 XRD 谱图中具有多个尖锐的衍射峰, 说明它们本身是高度结晶的物质, 这与之前的报道一致。但是, 在形成纳米颗粒后所有属于 OA 的特征衍射峰全部消失, UA 的特征衍射峰部分消失, 取而代之的是一个宽峰, 表明纳米颗粒主体为有序的无定型形态。但在 $2\theta=21.18^\circ$ 处存在明显衍射峰, 残留峰可能源于 UA 分子间氢键网络的局部有序区域。因此推测 EuNE 中的 OA 与 UA 在自组装后晶体结构发生了变化^[21]。图 4c 展示了 OA、UA、EuNE 和 EuNE NPs 的 FT-IR 图谱。在 UA 和 OA 的谱图中, 3400 cm^{-1} 处的吸收峰归属于羟基的 O-H 伸缩振动, 而 1692 cm^{-1} 处的吸收峰对应于羧基羰基的 C=O 伸缩振动。 2920 cm^{-1} 处的吸收峰代表 C-O 伸缩振动, 其中也包含了 CH、CH₂ 和 CH₃ 基团的影响^[22]。在 EuNE NPs 的谱图中, O-H 伸缩振动峰移至 3367 cm^{-1} , 并伴随着显著的增宽, 这是氢键形成的特征^[23]。C=O 伸缩振动峰移至 1732 cm^{-1} , 表明由于氢键的形成, 羰基的电子环境发生了变化。此外, CH₂ 基团的对称和反对称伸缩振动分别在 2917 cm^{-1} 和 2849 cm^{-1} 处被观察到, 其强度相比游离的 OA/UA 有所增强。这些变化表明, OA 和 UA 共组装成 EuNE NPs 后, 某些峰的强度减弱或消失, 并影响了 C-O 和 O-C-O 的振动模式, 支持了羟基和羰基参与氢键形成。观察到的光谱变化为氢键网络的形成提供了有力证据, 而这种氢键网络在稳定球形纳米颗粒结构中起着关键作用。

通过分子动力学模拟探究 EuNE NPs 的共组装机制: 初始分散的 OA 与 UA 在 1000 ps 模拟后形成紧凑结构 (图 4d), 其静电相互作用能达 $-12674.3\text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$, 并形成两个氢键 ($1.91\text{ \AA}$ 和 $2.32\text{ \AA}$, 对应 -C-O-H $\cdots$ H-O- 及 -O-H $\cdots$ O-H 作用, 图 4e), 与 FT-IR 中 O-H 峰红移的结果一致。表明静电作用与氢键是驱动 OA/UA 共组装成稳定纳米结构的关键因素。



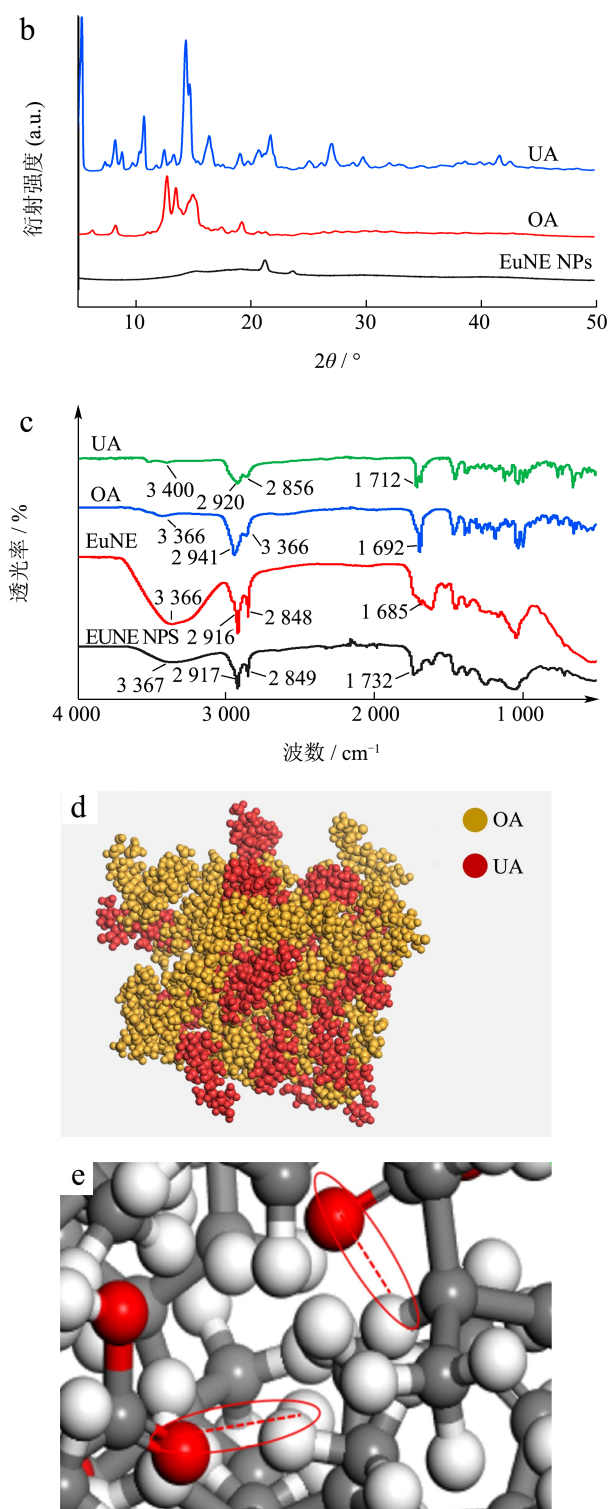


图4 EuNE NPs的TEM、XRD、OA、UA、EuNE和EuNE NPs的FT-IR光谱, EuNE NPs的立体构象

Fig.4 FT-IR spectra of EuNE NPs, TEM, XRD, OA, UA, EuNE and EuNE NPs, stereo conformation of EuNE NPs

2.5 EuNE作为纳米载体对姜黄素的包载

如图5a所示, EuNE成功将疏水性Cur包载形成

黄色多孔固体。SEM显示Cur@EuNE纳米颗粒呈均匀球形(图5b), 平均粒径148.90 nm, 较空载颗粒粒径显著减小, 包载效率达77.4%。FT-IR分析(图5c)表明Cur的特征峰如 $1\,627\text{ cm}^{-1}$ 、 $1\,509\text{ cm}^{-1}$ 在复合颗粒中消失或减弱, 证实Cur被有效包埋于颗粒内部^[24]; 同时EuNE NPs的O-H峰由 $3\,367\text{ cm}^{-1}$ 红移至 $3\,345\text{ cm}^{-1}$, 这是因为Cur与载体成分OA/UA通过氢键相互作用, 增强了稳定性, 凸显EuNE作为高效递送系统的潜力。

图5d所示, 初始分散的OA、UA与Cur经1 000 ps模拟后形成紧凑结构, Cur被包载于OA/UA基质中。模拟识别出氢键长度为 $2.048\text{ \AA}$ 的 $\text{-C=O}\cdots\text{H-O-}$ 和 $2.731\text{ \AA}$ 的 $\text{-O-H}\cdots\text{O-H}$ (图5e), 与FT-IR中羟基峰蓝移($3\,403\rightarrow 3\,345\text{ cm}^{-1}$)结果一致, 表明氢键是OA、UA包载Cur的主要驱动力。

2.6 Cur@EuNE NPs的稳定性结果

Cur易受温度、光照、pH值及盐浓度影响而降解^[25], 该研究评估了EuNE NPs对其稳定性的保护效果: 包载后Cur@EuNE NPs在 $90\text{ }^\circ\text{C}$ 加热1 h保留率达71.41%, 而游离Cur为52.88%(图6a), 这一发现与海藻酸钠-壳聚糖/姜黄素纳米颗粒的结果相当^[26]。紫外线暴露6 h保留率为61.22%, 游离Cur为17.96%(图6b), 因为纳米颗粒包载可以屏蔽紫外线对姜黄素的有害影响, 类似的保护效果也曾在包载在不饱和甘露糖寡糖中的姜黄素中报道过^[27]。pH值为6.8时保留率显著高于游离Cur(图6c), 这归因于纳米颗粒之间较大的负电荷和更强的静电排斥力, 从而防止了沉淀和降解^[28]。且在 $1\,000\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{ Na}^+$ 浓度下仍保持90%以上保留率(图6d)。EuNE NPs通过防御紫外、增强静电排斥及疏水保护等机制, 显著提升Cur在极端温度、光照、酸碱及高盐环境中的稳定性。

2.7 EuNE纳米颗粒包载对姜黄素在胃肠道中的释放特性

研究通过模拟胃肠道条件考察Cur@EuNE纳米颗粒中姜黄素的释放特性如图7所示, 在模拟胃液(SGF)中180 min释放达69.34%, 而模拟肠液(SIF)中180 min仅释放44.60%, 显示缓释特性。连续释放实验表明, SGF阶段释放42.30%后转入SIF, 360 min总释放达73.90%, 呈现胃肠道缓释特性。这种缓释机制可延长药物在胃肠道的滞留时间, 靶向递送至吸收效率更高的小肠, 有望通过维持有效浓度减少给药频率并提升生物利用度^[29]。

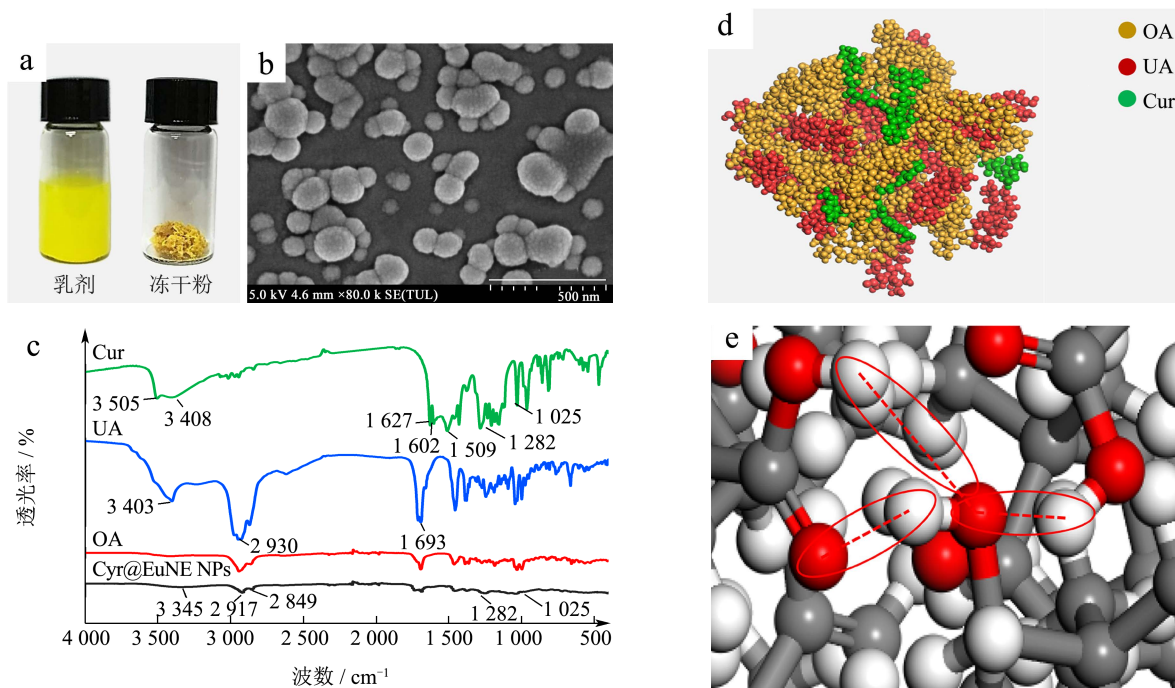


图5 Cur@EuNE NP 乳剂和冻干粉、SEM 图像、立体构象；OA、UA、Cur 和 Cur@EuNE NPs 的 FT-IR 光谱

Fig.5 Cur@EuNE NP emulsion and lyophilized powder, SEM image, stereoscopic conformation;

FT-IR spectra of OA, UA, Cur and Cur@EuNE NPs

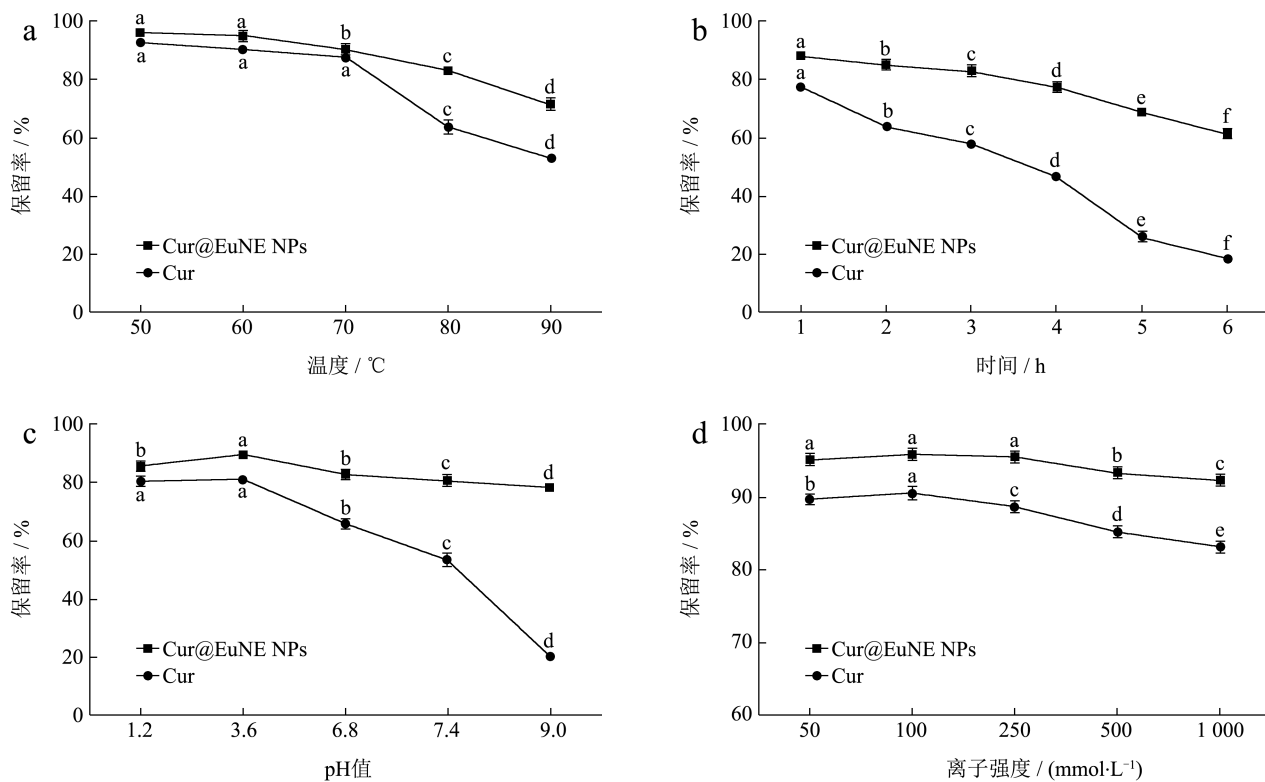


图6 不同温度、辐照时间、pH 值、离子强度对游离 Cur 和 Cur@EuNE NPs 的保存率的影响

Fig.6 The influence of different temperature, radiation time, pH value and ionic strength on the retention rate of free Cur and Cur@EuNE NPs

注：图中不同字母表示各组间具有显著性差异 ($P < 0.05$)。下图同。

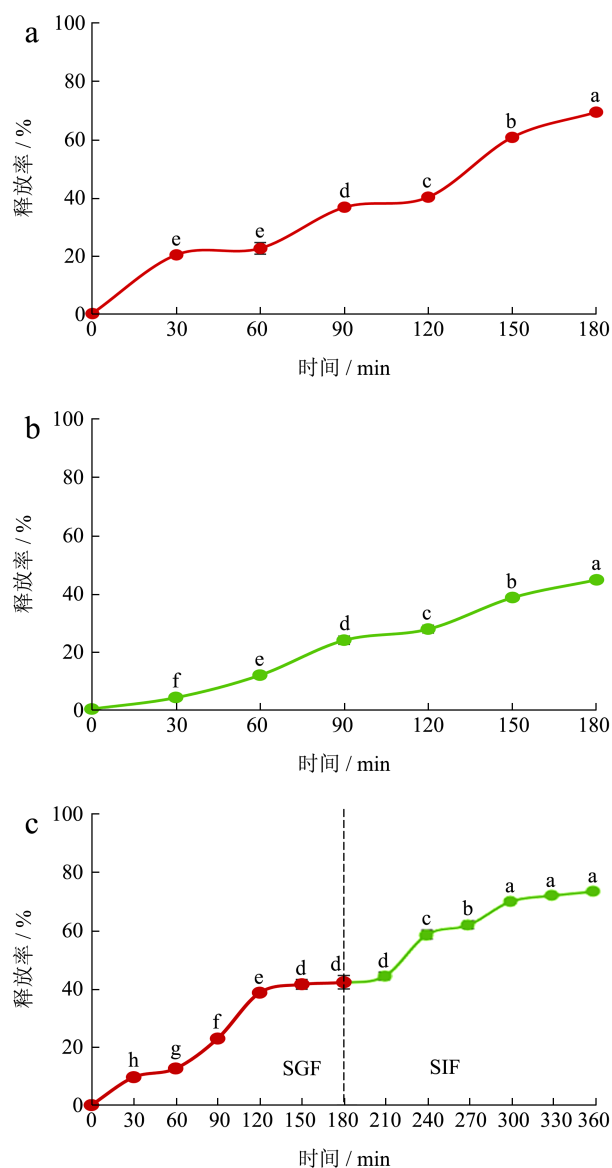


图7 Cur@EuNE NPs在模拟胃液、模拟肠液、胃肠液中的释放率

Fig.7 Cur@EuNE Release rate of NPs in simulated gastric fluid, simulated intestinal fluid and gastroenteric fluid

3 结论

该研究借助甲醇提取和石油醚萃取的提取分离方法,从杜仲叶中分离筛选出具有自组装能力的SMSN,其主要成分为齐墩果酸与熊果酸,可以通过氢键-静电协同作用形成稳定的窄分布纳米颗粒体系。包载姜黄素后的Cur@EuNE NPs包埋率高达77.4%,显著增强了极端温度、光照、酸碱及高盐环境中的稳定性;且在胃肠模拟均表现出缓释特性,360 min总释放达73.90%。因此,该研究开发了基于低纯度粗提物的自组装载体材料,通过非纯化原料替代高成本单一组分,从而将农业副产物转化为功能性纳米材料,契合可持

续资源利用目标。未来还需探索EuNE与包载化合物的协同活性,优化环境相容性及经济可行性验证,推动低成本、高效益纳米载体技术的开发。

参考文献

- [1] BAG B G, PRAMANIK S R, MAITY G C. Arjunolic acid in molecular recognition: First synthesis and cation binding studies of a novel arjuna-18-crown-6 [J]. *Supramolecular Chemistry*, 2005, 17(4): 297-302.
- [2] BAG B G, PAUL K. Vesicular and fibrillar gels by self-assembly of nanosized oleanolic acid [J]. *Asian Journal of Organic Chemistry*, 2012, 1(2): 150-154.
- [3] LIU S Q, LIU Y X, LI Q Q, et al. Oleanolic acid nanoparticles-stabilized W/O Pickering emulsions: Fabrication, characterization, and delivery application [J]. *Food Chemistry*, 2024, 444: 138598.
- [4] WANG Y H, LIU S Q, ZHANG L L, et al. Formation, characterization, and application of natural bioactive phytosterol-based oleogels: A review [J]. *Food Chemistry*, 2024, 454: 139821.
- [5] BAG B G, MAJUMDAR R. Self-assembly of a renewable nano-sized triterpenoid 18 β -glycyrrhetic acid [J]. *Rsc Advances*, 2012, 2(23): 8623-8626.
- [6] BAG B G, HASAN S N, GHORAI S, et al. First self-assembly of dihydroxy triterpenoid maslinic acid yielding vesicles [J]. *ACS Omega*, 2019, 4(4): 7684-7690.
- [7] BAG B G, DASH S S. First self-assembly study of betulinic acid, a renewable nano-sized, 6-6-6-6-5 pentacyclic monohydroxy triterpenic acid [J]. *Nanoscale*, 2011, 3(11): 4564-4566.
- [8] BAG B G, DAS S, HASAN S N, et al. Nanoarchitectures by hierarchical self-assembly of ursolic acid: entrapment and release of fluorophores including anticancer drug doxorubicin [J]. *Rsc Advances*, 2017, 7(29): 18136-18143.
- [9] BAG B G, BARAI A C, WIJESEKERA K, et al. First vesicular self-assembly of crotonic acid, a nano-sized fourteen membered macrocyclic diterpenic acid [J]. *Chemistryselect*, 2017, 2(17): 4969-4973.
- [10] DASH S K, CHATTOPADHYAY S, GHOSH T, et al. Self-assembled betulinic acid protects doxorubicin induced apoptosis followed by reduction of ROS-TNF- α -caspase-3 activity [J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2015, 72: 144-57.
- [11] LEE M H, KIM H D, JANG Y J. Delivery systems designed to enhance stability and suitability of lipophilic bioactive compounds in food processing: A review [J]. *Food Chemistry*, 2024, 437(2): 137910.
- [12] HOU Y, ZOU L J, LI Q L, et al. Supramolecular assemblies based on natural small molecules: Union would be effective [J]. *Materials Today Bio*, 2022, 15: 100327.
- [13] LIU S Q, ZHANG J, FU R, et al. Improved stability and aqueous solubility of β -carotene via encapsulation in self-assembled bioactive oleanolic acid nanoparticles [J]. *Food Chemistry*, 2022, 373: 131498.
- [14] YAN L L, LIU H, WANG Y H, et al. Fabrication of polysaccharide-coated oleanolic acid-curcumin-coassembled nanoparticles (OA/Cur

- NPs): Enhancement of colloidal stability and water solubility [J]. Food Chemistry, 2024, 451: 139482.
- [15] WANG J C, ZHAO H T, ZHI K K, et al. Exploration of the natural active small-molecule drug-loading process and highly efficient synergistic antitumor efficacy [J]. Acs Applied Materials & Interfaces, 2020, 12(6): 6827-6839.
- [16] LIU J D, RONG Q, ZHANG C X, et al. The mechanism of mori folium and Eucommiae cortex against cyclophosphamide-induced immunosuppression integrating network pharmacology, Molecular docking, Molecular dynamics simulations, and experimental validation [J]. Metabolites, 2023, 13(11): 1151.
- [17] LI Q, LIANGHAO Y, SHIJIE G, et al. Self-assembled nanodrug delivery systems for anti-cancer drugs from traditional Chinese medicine [J]. Biomaterials Science, 2024, 12(7): 1662-1692.
- [18] 陆梅元,李杉,杨梦霞,等.中药杜仲皮总黄酮提取工艺及抗氧化活性研究[J].中南农业科技,2023,44(8):57-61.
- [19] SHAH P A, SYED H K, SOHAIL A R, et al. Comparison of solvent evaporation and ultrasonic-assisted production methods in the development of nimesulide nanosponges and their characterization [J]. Tropical Journal of Pharmaceutical Research, 2022, 21(6): 1139-1145.
- [20] 秦友文,李月,张雨情,等.经典名方玉女煎物质基准的薄层鉴别方法学研究[J].山东化工,2024,53(11):172-174,94.
- [21] WANG S J, LIU G Q. Controlled volatile release from fi-sitosterol-based oleogels based on different self-assembly mechanisms [J] Food Chemistry, 2023, 425: 136506.
- [22] 张倩倩.灵芝子实体三萜的红外光谱分析与研究[D].合肥:中国科学技术大学,2020.
- [23] 杨新周,杨兰芬,田孟华,等.不同产地白花蛇舌草傅里叶红外光谱识别[J].江苏农业科学,2019,47(15):212-219.
- [24] WANG N, WANG W N, ZHANG H R, et al. Self-assembly embedding of curcumin by alkylated rice bran protein [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2024, 262: 129627.
- [25] KERAMAT M, GOLMAKANI M T. Antioxidant potency and inhibitory mechanism of curcumin and its derivatives in oleogel and emulgel produced by linseed oil [J]. Food Chemistry, 2024, 445: 138754.
- [26] LU Y Q, AN D, LV W X, et al. Fucoidan extracted by different methods and bound to zein loaded curcumin nanoparticles: Preparation, physicochemical stability, and *in vitro* functions [J]. Food Bioscience, 2023, 53: 102576.
- [27] DA SILVA-BUZANELLO R A, FERRO A C, BONA E, et al. Validation of an ultraviolet-visible (UV-Vis) technique for the quantitative determination of curcumin in poly(L-lactic acid) nanoparticles [J]. Food Chemistry, 2015, 172: 99-104.
- [28] DAI L, ZHOU H L, WEI Y, et al. Curcumin encapsulation in zein-rhamnolipid composite nanoparticles using a pH-driven method [J]. Food Hydrocolloids, 2019, 93: 342-350.
- [29] 岳强,尹艳,董梓炯,等.Zein/konjac glucomannan复合颗粒制备的 Pickering乳液稳定性研究[J].惠州学院学报,2020,40(3):31-35.