

Box-Behnken 响应面法优化姜黄素氧化锌纳米粒的制备工艺

赵莹莹¹, 李强², 赵学玲², 王柳婷¹, 李鑫^{1*} (1.哈尔滨商业大学药学院, 哈尔滨 150076; 2.黑龙江大学化学化工与材料学院, 哈尔滨 150080)

摘要: 目的 优化姜黄素氧化锌纳米粒(ZnO-Curcumin nanoparticles, ZnO-Cur NPs)的制备工艺。方法 利用姜黄素分子上的基团可以与氧化锌纳米粒(ZnO nanoparticles, ZnO NPs)表面的羟基形成氢键及配位键, 来制备 ZnO-Cur NPs, 通过单因素考察后, 以载药量为指标, 以制备温度、pH、空白 ZnO NPs 与姜黄素的投料比为响应因子, 采用 Box-Behnken 响应面法优化 ZnO-Cur NPs 的制备工艺。结果 ZnO-Cur NPs 的优化制备工艺为温度 90.3 °C, pH=8.93, ZnO NPs 与姜黄素的投料比为 1 : 2。在此工艺条件下制备的 ZnO NPs 载药量可达 29.33%, 与预测值 30.15% 的相对误差为 0.60%。结论 优化所得 ZnO-Cur NPs 制备工艺稳定、可行, 适用于该制剂的制备, 同时也说明建立的回归模型合理。

关键词: 姜黄素; 氧化锌纳米粒; 制备工艺; Box-Behnken 响应面法

中图分类号: R283.6 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2020)19-2349-07

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2020.19.009

引用本文: 赵莹莹, 李强, 赵学玲, 等. Box-Behnken 响应面法优化姜黄素氧化锌纳米粒的制备工艺[J]. 中国现代应用药学, 2020, 37(19): 2349-2355.

Optimization of Preparation Process of ZnO-Curcumin Nanoparticles by Box-Behnken Response Surface Methodology

ZHAO Yingying¹, LI Qiang², ZHAO Xueling², WANG Liuting¹, LI Xin^{1*} (1.School of Pharmaceutical, Harbin University of Commerce, Harbin 150076, China; 2.School of Chemistry and Materials Science, Heilongjiang University, Harbin 150080, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To optimize the preparation process of ZnO-Curcumin nanoparticles(ZnO-Cur NPs). **METHODS** The groups on the curcumin molecule could form hydrogen bonds and coordination bonds with the hydroxyl groups on the surface of zinc oxide nanoparticles, which be used to prepare ZnO-Cur NPs. Based on the results of the single-factor tests, the preparation process of ZnO-Cur NPs was optimized by Box-Behnken response surface methodology with drug loading efficiency as the indicator, and temperature, pH and ratio of blank ZnO NPs to curcumin as the response factors. **RESULTS** The optimized preparation process of ZnO-Cur NPs included preparation temperature of 90.3 °C, pH=8.93, and ratio of ZnO NPs to curcumin was 1 : 2. Under this process condition, the drug loading efficiency of ZnO-Cur NPs was 29.33%, and the relative error with the predicted value(30.15%) was 0.60%. **CONCLUSION** The optimized preparation process of ZnO-Cur NPs is stable and feasible, and it is suitable for the preparation of ZnO-Cur NPs. Meanwhile, the established regression model is reasonable. **KEYWORDS:** curcumin; ZnO nanoparticles; preparation process; Box-Behnken response surface methodology

氧化锌纳米粒(ZnO nanoparticles, ZnO NPs)由于其稳定性、生物相容性^[1]和安全性^[2]而被广泛应用于纳米载体^[3]领域, 递送各种物质, 包括药物、基因、蛋白质和成像剂等^[4-6]。由于 ZnO NPs 本身所特有的被动靶向功能和对 pH 的敏感性可以改变药物在体内的分布, 所以它已被用作优异的抗肿瘤靶向药物传递载体^[7-9]。

姜黄素是从姜黄中提取出来的一种邻甲氧基苯酚衍生物^[10], 广泛的临床试验表明, 姜黄素对各种人类疾病包括癌症、心血管疾病、炎症性肠炎、阿尔茨海默病^[11-13]等具有高度的治疗潜力,

剂量递增试验表明, 姜黄素的安全剂量高达每天 12 g^[14], 然而姜黄素作为生物药剂学分类系统中典型的 4 类药物, 其低水溶性和低生物利用度, 体内代谢快速等原因, 使得姜黄素在实际应用中受到限制。因此, 开发一种有效的药物传递系统, 使姜黄素以活性形式靶向于肿瘤部位, 并克服药动学的局限性, 能极大地提高姜黄素的抗肿瘤疗效和它的临床应用价值。

本研究拟开发一种由 ZnO NPs 负载姜黄素的纳米制剂(ZnO-Curcumin nanoparticles, ZnO-Cur NPs), 增强姜黄素的溶解度和稳定性, 以及 ZnO

作者简介: 赵莹莹, 女, 硕士 Tel: (0451)84866910 E-mail: 15645151062@163.com *通信作者: 李鑫, 男, 硕士, 副教授 Tel: (0451)84866910 E-mail: 15645151062@163.com

NPs 固有的肿瘤靶向性可以改善姜黄素的治疗适用性。并采用 Box-Behnken 响应面法优化 ZnO-Cur NPs 的制备工艺,为后续的研究提供参考。

1 仪器与试剂

岛津 LC-10A 型高效液相色谱仪 (SPD-10A 检测器、N2000 工作站, 岛津); DF-101S 集热式恒温加热磁力搅拌器 (上海力辰邦西仪器科技有限公司); 万分之一天平 (德国 Sartorius); 悬臂式搅拌器 (IKA 集团); KQ-250B 型超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司); 低速台式大容量离心机 (无锡市瑞江分析仪器有限公司)。

姜黄素原料药 (西安凌丰生物技术有限公司, 批号: 20180806; 纯度: 98.0%); 姜黄素对照品 (中国食品药品检定研究院, 批号: 110823-201706; 纯度: 98.7%); 硝酸锌 (天津市风船试剂有限公司); 其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 ZnO-Cur NPs 的制备

2.1.1 空白 ZnO NPs 的制备及表征 准确称取 5 g ZnNO₃ 于 100 mL 烧杯中, 加入 50 mL 的 50% 丙三醇水混合溶剂溶解, 用 2 mol·L⁻¹ NaOH 溶液缓慢滴定至 pH=11, 滴定的同时超声并搅拌制备 Zn(OH)₂ 胶体, 然后将制备好的 Zn(OH)₂ 胶体于 125 °C 加热 30 min, 冷却至室温静置过夜后, 倾析上清液, 即得空白 ZnO NPs 混悬液。

2.1.2 ZnO-Cur NPs 的制备及表征 取制备好的空白 ZnO NPs 混悬液于 100 mL 三颈瓶中, 加入适量的用特定溶剂溶解的姜黄素饱和溶液, 一定温度下反应一段时间后, 2 000 r·min⁻¹ 离心 5 min, 弃上清液, 用 2 mL 的 DMSO 洗涤 2 次, 2 mL 乙醇洗涤 1 次后, 即得 ZnO-Cur NPs。

采用透射电镜 (transmission electron microscope, TEM)、动态光散射 (dynamic light scattering, DLS) 表征 2 种纳米粒子的表面形态和粒径, 见图 1、表 1。多数 ZnO-Cur NPs 呈不规则的类球形, 且均匀分布, 平均粒径约为 50 nm。此外, ZnO-Cur NPs 的 TEM 图上呈现出清晰的核/壳结构。推测 ZnO 为内层核, 姜黄素为外层壳。姜黄素能钝化每个纳米粒的表面, 从而成功合成粒径极小的球形纳米粒, 并防止纳米粒聚集。

DLS 测定纳米粒在水中的流体力学直径, 结果见表 1。因为纳米粒的表面积很大, 表面能很高, 所以裸露的 ZnO NPs 非常容易聚集, 故流体力学

直径较大。

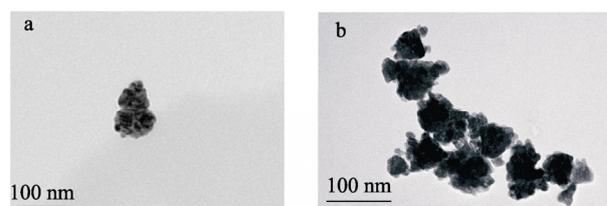


图 1 ZnO NPs(a)、ZnO-Cur NPs(b) 的 TEM 图
Fig. 1 TEM of ZnO NPs(a) and ZnO-Cur NPs(b)

表 1 样品的 ζ 电位和水化粒径

Tab. 1 ζ potentials and hydrodynamic sizes of the samples

样品	ζ 电位/mV	水化粒径/nm	多分散指数
ZnO NPs	+18	354	0.429
ZnO-Cur NPs	-22	89	0.188

2.2 ZnO-Cur NPs 载药量的测定

2.2.1 色谱条件 采用 HPLC 测定姜黄素的含量。Diamonsil C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm×250 mm, 5 μ m); 流动相: 乙腈-pH 2.8 冰醋酸水溶液 (90:10); 流速: 0.8 mL·min⁻¹; 柱温: 30 °C; 检测波长: 430 nm; 进样量: 20 μ L。

2.2.2 溶液的制备 对照品溶液的制备: 精密称取姜黄素对照品 0.02 g 于 100 mL 量瓶中, 加乙腈定容至刻度制成每 1 mL 含 200 μ g 的对照品溶液, 即得。

供试品溶液的制备: 精密称取 ZnO-Cur NPs 0.02 g, 置 100 mL 量瓶中, 用冰醋酸溶解后, 加流动相稀释至刻度, 摇匀, 即得。

2.2.3 标准曲线的制备 精密吸取“2.2.2”项下对照品溶液, 稀释至 0.5, 1, 2, 4, 8, 16, 32 μ g·mL⁻¹, 在 430 nm 下测吸光度, 以对照品浓度为横坐标 (x), 峰面积为纵坐标 (y), 进行线性回归。得回归方程为 $y=123\ 706x+22\ 174 (r^2=0.999\ 9)$ 。

2.2.4 方法学考察 仪器精密度 RSD 为 1.89%; 0.5, 4, 32 μ g·mL⁻¹ 的对照品日内 RSD 分别为 1.57%, 1.28%, 1.01%, 日间 RSD 分别为 1.53%, 1.39%, 1.39%; 供试品 24 h 内吸光度稳定, 测定应在 24 h 内完成; 重复性试验 RSD 为 2.88% (n=6); ZnO-Cur NPs 加样回收率为 101.21%, RSD 为 1.46% (n=9)。

2.2.5 载药量的测定 取“2.2.2”项下供试品溶液, 按“2.2.1”项下色谱条件进样 20 μ L, 按下述公式计算载药量^[15]。载药量=纳米粒中的姜黄素质量/ZnO-Cur NPs 总质量×100%。

2.3 单因素试验

在预试验的基础上,分别对 ZnO-Cur NPs 的制备过程中影响载药量的 5 个主要影响因素(不同溶剂的姜黄素饱和溶液、空白 ZnO NPs 与姜黄素的投料比、制备温度、制备 pH、制备时间)进行逐一考察。

2.3.1 不同溶剂制备的姜黄素饱和溶液对载药量的影响 精密移取空白 ZnO NPs 混悬液 5 mL(约含 ZnO NPs 0.4 g),共 5 份,按“2.1.2”项下方法制备 ZnO-Cur NPs,其中制备温度为 70 °C,制备 pH 为 11,制备时间为 60 min,用乙醇、丙三醇、DMSO、三氯甲烷、pH=11 的 NaOH 水溶液制备姜黄素饱和溶液,分别取上述饱和溶液并按与空白 ZnO NPs 1:1 的投料比制备 ZnO-Cur NPs,再按“2.2.5”项下方法测定载药量。当溶剂为 DMSO 时,载药量最大。由此分析可能是由于姜黄素在 DMSO 中饱和浓度最高所致。故确定制备姜黄素饱和溶液的溶剂为 DMSO 来进行后续的试验优化。结果见图 2。

2.3.2 空白 ZnO NPs 与姜黄素的投料比对载药量的影响 精密移取空白 ZnO NPs 混悬液 5 mL(约含 ZnO NPs 0.4 g),共 5 份,按“2.1.2”项下方法制备 ZnO-Cur NPs,其中姜黄素饱和溶液的溶剂为 DMSO,制备温度为 70 °C,制备 pH 为 11,制备时间为 60 min,空白 ZnO NPs 与姜黄素的投料比分别为 3:1,2:1,1:1,1:2,1:3。再按“2.2.5”项下方法测定载药量。在空白 ZnO NPs 与姜黄素的投料比为 3:1~1:2 时,载药量随体系中姜黄素质量的增加而升高,当姜黄素质量为 ZnO NPs 的 2 倍时,载药量达到最大并趋于稳定。由此分析可能是,随着姜黄素质量增大,吸附与解吸附在 1:2 时达到动态平衡。故选择 1:1~1:3 为投料比进行后续的试验优化。结果见图 2。

2.3.3 制备温度对载药量的影响 精密移取空白 ZnO NPs 混悬液 5 mL(约含 ZnO NPs 0.4 g),共 5 份,按“2.1.2”项下方法制备 ZnO-Cur NPs,其中姜黄素饱和溶液的溶剂为 DMSO,空白 ZnO NPs 与姜黄素的投料比为 1:2,制备 pH 为 11,制备时间为 60 min,制备温度分别为 30,50,70,90,120 °C。再按“2.2.5”项下方法测定载药量。在 30~90 °C 时,载药量随着温度的升高而升高,当温度升高至 90 °C 时,载药量达到最大,当温度继续升高时,载药量降低。由此分析可能是由于温度

升高,药物分子的热运动加强,温度越高,分子的热运动越快,越有利于配位键和氢键的形成,载药量就越高,但当升温至 120 °C 时,高温导致姜黄素不稳定,结构被破坏,也有可能高温导致 ZnO NPs 团聚,比表面积减小,载药量降低。故选择制备温度为 85~95 °C 进行后续的试验优化。结果见图 2。

2.3.4 制备 pH 对载药量的影响 精密移取空白 ZnO NPs 混悬液 5 mL(约含 ZnO NPs 0.4 g),共 5 份,按“2.1.2”项下方法制备 ZnO-Cur NPs,其中姜黄素饱和溶液的溶剂为 DMSO,空白 ZnO NPs 与姜黄素的投料比为 1:2,制备温度为 90 °C,制备时间 60 min,制备 pH 分别为 7,8,9,10,11,12。再按“2.2.5”项下方法测定载药量。在 pH=7~9 时,载药量随着 pH 的升高而升高,当 pH 增至 9 时,载药量达到最大,并逐渐趋于稳定。由此分析可能是由于姜黄素分子两端具有 2 个羟基,在碱性条件下发生电子云偏离的共轭效应,更有利于 ZnO NPs 与姜黄素分子上的羟基形成氢键或配位键,载药量增大。故选择制备 pH 为 8~10 进行后续的试验优化。结果见图 2。

2.3.5 制备时间对载药量的影响 精密移取空白 ZnO NPs 混悬液 5 mL(约含 ZnO NPs 0.4 g),共 5 份,按“2.1.2”项下方法制备 ZnO-Cur NPs,其中姜黄素饱和溶液的溶剂为 DMSO,空白 ZnO NPs 与姜黄素的投料比为 1:2,制备温度为 90 °C,制备 pH 为 9,制备时间分别为 10,20,40,60,80 min。再按“2.2.5”项下方法测定载药量。在制备时间为 40 min 时,载药量达到最大,延长制备时间后载药量有下降趋势。故确定制备时间为 40 min 进行后续的试验优化。结果见图 2。

2.4 Box-Behnken 响应面法优化试验

2.4.1 方案设计及试验结果 参考文献及前期单因素试验结果,确定制备姜黄素饱和溶液的溶剂为 DMSO,制备时间为 20 min,以载药量为指标,制备温度(A)、制备 pH(B)、空白 ZnO NPs 与姜黄素的投料比(C)为因素,设置低、中、高 3 个水平(分别编码-1,0,1)进行试验,因素与水平见表 2。将表 2 数据输入 Design-Expert 8.0.6 软件,生成 17 组试验方案。Box-Behnken 设计与结果见表 3。

2.4.2 模型的建立及显著性检验 利用 Design-Expert.V8.0.6 软件对表 3 的数据进行分析,方差分析结果见表 4。

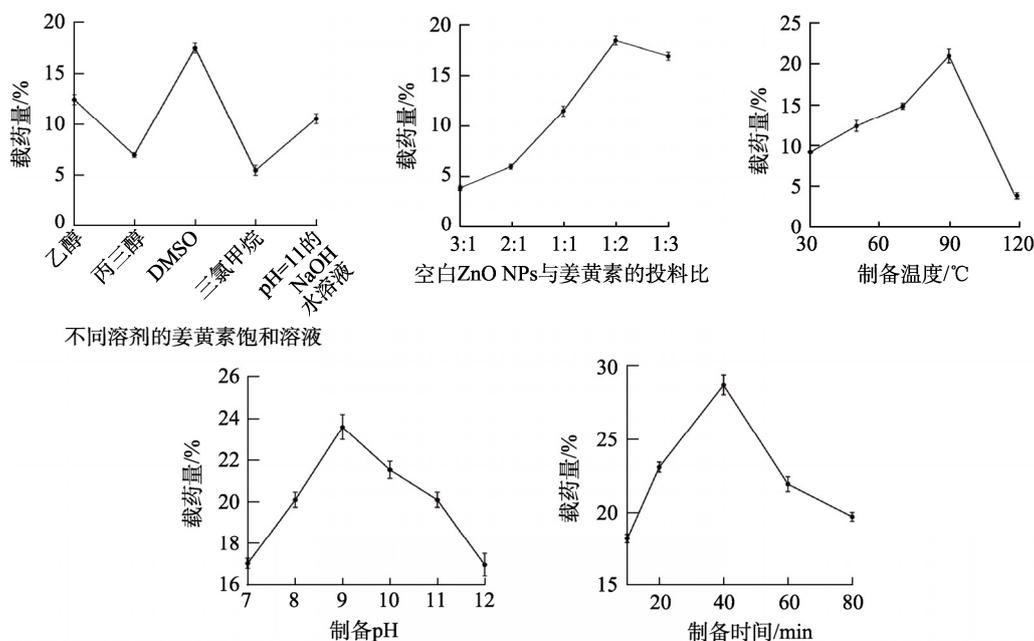


图2 各因素对 ZnO-Cur NPs 载药量的影响

Fig. 2 Efficiency of various factors on curcumin-loaded of ZnO-Cur NPs

表2 因素与水平

Tab. 2 Factors and levels

因素	水平		
	-1	0	1
A/°C	85	90	95
B	8	9	10
C	1:1	1:2	1:3

表3 Box-Behnken 设计与结果

Tab. 3 Box-Behnken design and results

试验号	A	B	C	载药量/%
1	1	-1	0	16.60
2	-1	-1	0	14.90
3	0	-1	-1	8.55
4	1	1	0	15.15
5	0	0	0	30.10
6	-1	0	1	13.65
7	0	0	0	29.30
8	0	0	0	29.80
9	0	0	0	30.50
10	0	1	-1	5.10
11	0	-1	1	15.15
12	0	1	1	12.60
13	1	0	-1	9.05
14	-1	1	0	13.05
15	0	0	0	30.00
16	-1	0	-1	5.60
17	1	0	1	14.45

表4 方差分析结果

Tab. 4 Results of variance analysis

方差来源	离均差平方和	自由度	均方	F值	P值
模型	1 305.29	9	145.03	576.38	<0.000 1
A	8.10	1	8.10	32.19	0.000 8
B	10.81	1	10.81	42.97	0.000 3
C	94.88	1	94.88	377.05	<0.000 1
AB	0.04	1	0.04	0.16	0.702 0
AC	1.76	1	1.76	6.98	0.033 4
BC	0.20	1	0.20	0.80	0.399 5
A ²	226.77	1	226.77	901.21	<0.000 1
B ²	248.10	1	248.10	986.01	<0.000 1
C ²	597.63	1	597.63	2 375.09	<0.000 1
残差	1.76	7	0.25		
失拟项	0.99	3	0.33	1.71	0.302 2
纯误差	0.77	4	0.19		
总离差	1 307.05	16			
标准偏差		0.50	决定系数		0.998 7
均值		17.27	校正拟合度		0.996 9
变异系数		2.90	预测拟合度		0.987 0
预测残差平方和	17.04	信噪比			63.476 9

模型的 $F=576.38$ 、 $P<0.000 1$ ，表明回归方程拟合度良好，失拟项 $P=0.302 2>0.05$ ，失拟项不显著，表明差异无统计学意义，说明数据中没有异常点，可以用于 ZnO-Cur NPs 的处方优化。以载药量为响应值时，一次项 C 对试验结果有极显著的影响 ($P<0.000 1$)；一次项 A, B 对试验结果有高

度显著的影响($P<0.01$); 交互项 AC 对试验结果有显著影响($P<0.05$), 二次项 A^2 、 B^2 、 C^2 对试验结果有极显著的影响($P<0.0001$)。决定系数达到 0.9987, 校正拟合度值和预测拟合度值分别为 0.9969 和 0.9870, 两者值接近且其差值处于有意义的范围内, 说明所得的回归方程能够显著地表示本次试验中各因素对载药量的影响。

根据试验结果, 以载药量(Y)为响应值对制备时间(A)、制备 pH(B)、空白 ZnO NPs 与姜黄素的投料比(C)进行多元线性回归和二次多项式方程拟合, 得回归方程: $Y=29.94+1.01A-1.16B+3.44C+0.10AB-0.66AC+0.22BC-7.34A^2-7.68B^2-11.91C^2$ 。见表 5。

表 5 二阶多项式回归系数

Tab. 5 Regression coefficients of the second-order polynomial equations

因素	估算系数	自由度	标准偏差	置信下限	置信上限	方差膨胀因子
截距	29.94	1	0.22	29.41	30.47	
A	1.01	1	0.18	0.59	1.43	1
B	-1.16	1	0.18	-1.58	-0.74	1
C	3.44	1	0.18	3.02	3.86	1
AB	0.10	1	0.25	-0.49	0.69	1
AC	-0.66	1	0.25	-1.26	-0.07	1
BC	0.22	1	0.25	-0.37	0.82	1
A^2	-7.34	1	0.24	-7.92	-6.76	1.01
B^2	-7.68	1	0.24	-8.25	-7.10	1.01
C^2	-11.91	1	0.24	-12.49	-11.34	1.01

载药量的实际值和预测值见图 3, 实际值与预测值具有高度相关性($R^2=0.9987$), 表明研究范围内的试验数据与模型吻合良好。另一方面, 进行残差分析以确认模型的充分性, 通过观察残差的正态概率和残差与预测响应完成。残差落在一条直线上, 表明误差是正常分布的。此外, 残差图与预测响应图中的无结构模式表明该模型是充分的, 并且模型没有显示任何违反独立性或恒定方差假设。

2.4.3 响应面分析 以 A、B、C 为自变量, Y 为因变量, 固定 1 个自变量, 改变另外 2 个自变量, 应用 Design-Expert 8.0.6 软件分析另外 2 个自变量与因变量对应的关系。A、B、C 对 Y 的响应面图及等高线图见图 4。

由图 4 可直观地看出各因素交互作用对载药量的影响, 3D 曲面图曲线越陡峭, 表明该因素对

载药量的影响越大, 则相应表现为响应值变化的大小, 从等高线图可看出存在极值的条件应在圆心处。从响应面 3D 图可以看出, 对载药量影响最大的是空白 ZnO NPs 与姜黄素的投料比和 pH, 其次是制备温度, 方差分析结果也正与此相吻合, 3 个因素相对应的 P 均 <0.05 , 均达到了显著水平。从等高线图可知, AC 的等高线图为椭圆形, 表示 AC 间交互作用显著, AB、BC 等高线图为圆形, 表示 AB、BC 间交互作用不显著, 与表 4 的方差分析结果相符。

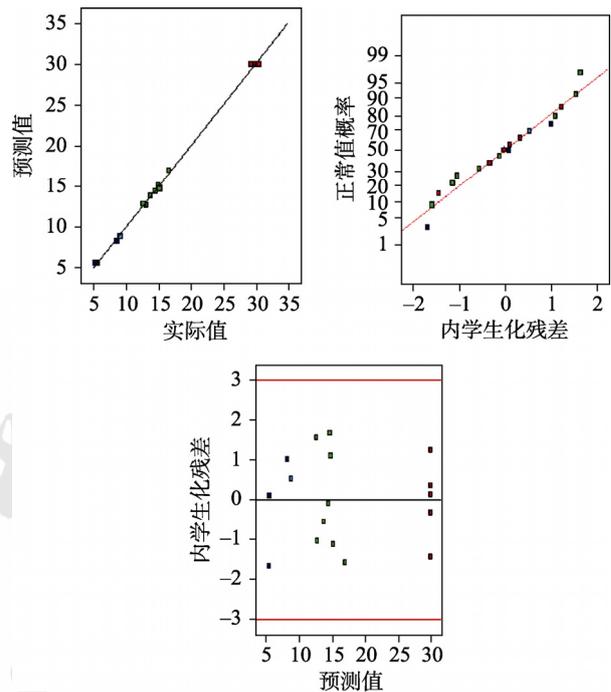


图 3 残差分析图

Fig. 3 Residual analysis diagram

2.4.4 验证试验 通过 Design-Expert.V 8.0.6 软件对模型求解方程, 得到最优工艺条件: 取制备好的空白 ZnO NPs 混悬液 5 mL 于 100 mL 三颈瓶中, 加入 10 mL 的姜黄素饱和 DMSO 溶液, pH=9(最优 pH 为 8.93, 根据实际情况调整为 9), 90.3 °C 下反应 20 min 后, 2 000 $r \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 5 min, 弃上清液, 用 2 mL 的 DMSO 洗涤 2 次, 2 mL 乙醇洗涤 1 次后, 即得 ZnO-Cur NPs。在该条件下 ZnO-Cur NPs 的载药量达到最大值 30.15%。按最优处方制备 3 批 ZnO-Cur NPs, 分别测定其载药量, 计算相对误差, 结果显示, ZnO-Cur NPs 的载药量平均值为 29.33%($RSD=1.58\%$, $n=3$), 与模型预测值 30.15% 的相对误差为 0.60%, 表明该工艺条件稳定、可靠, 同时也说明建立的回归模型合理。

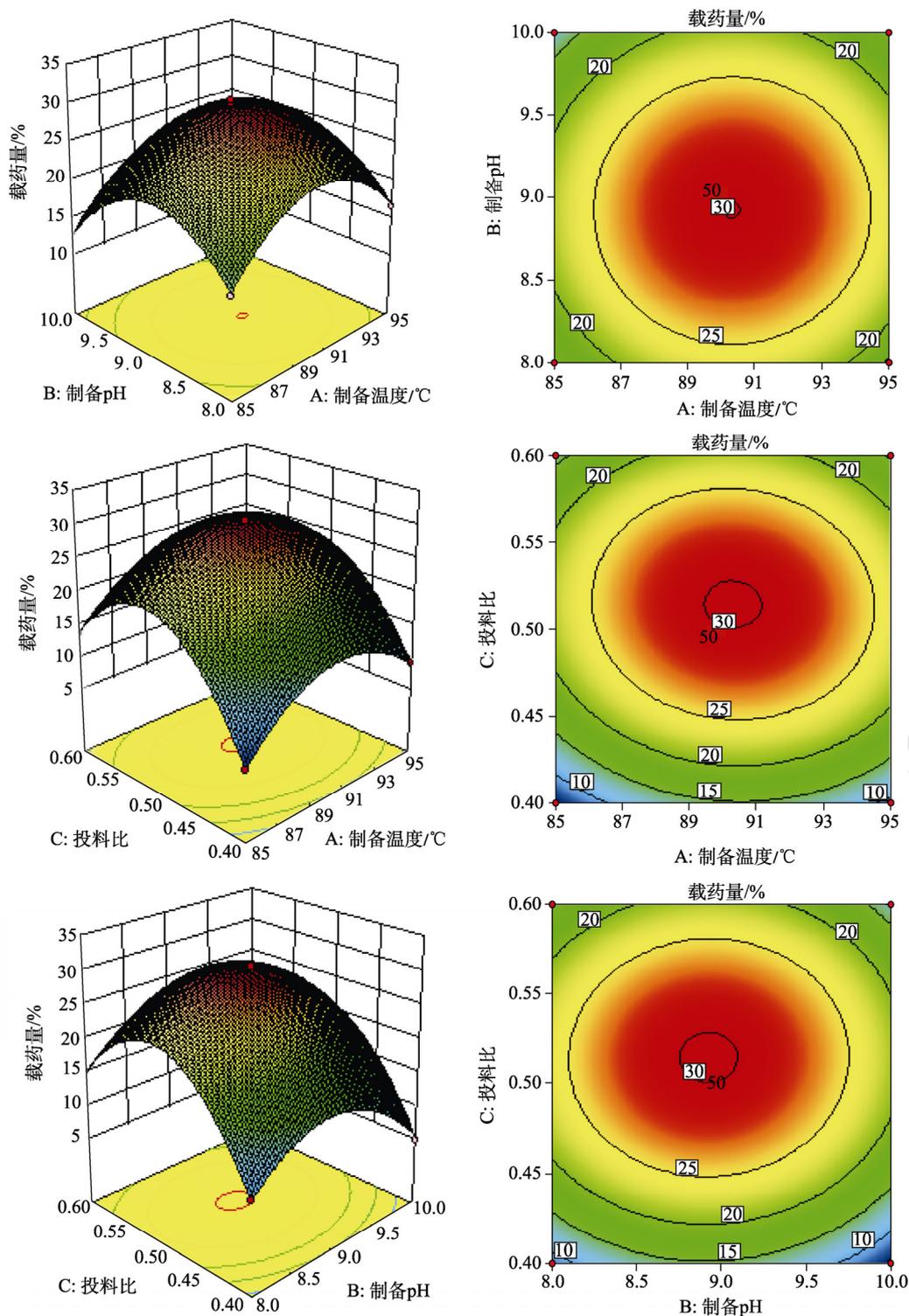


图 4 响应面及等高线图

Fig. 4 Response surface and contour diagrams

3 讨论

在制备空白 ZnO NPs 时,溶剂种类对空白 ZnO NPs 的形态及粒径影响很大,醇类溶剂由于羟基的存在可以抑制氧化锌晶体的生长^[16],相较于乙醇^[17],丙三醇具有较多的羟基,在与 ZnO NPs 作用时,有更大的作用力,Zn(OH)₂ 胶体表面被丙三

醇分子中的烷基基团所覆盖,更有效地降低 Zn(OH)₂ 的聚合速率,抑制 ZnO 粒子的生长^[18]。同时由于高温更有助于 Zn(OH)₂ 胶体快速、完全形成 ZnO NPs,因此选择高沸点、多羟基的丙三醇作为反应溶剂。本研究制备的 ZnO-Cur NPs,除了静电吸附作用及范德华力外,姜黄素分子上的

羰基和酚羟基还可以同 ZnO NPs 表面的羟基形成氢键，而酚羟基还可以与锌离子形成配位键，使姜黄素与 ZnO NPs 牢牢地结合在一起。本研究制备的 ZnO-Cur NPs 相较于其他的姜黄素制剂而言，ZnO 对于肿瘤细胞选择性使 ZnO-Cur NPs 表现出更高的抗癌性和抗菌活性。

对于多元线性回归，普通的试验设计与优化方法^[19-20]，都未能给出直观的图形，因而也不能凭直觉观察其最优点，虽然能找出最优值，但难以直观地判别优化区域。而响应面分析法^[21-23]可以将体系的响应作为一个或多个因素的函数，建立连续变量曲面模型，对影响试验指标的各因子水平及其交互作用进行优化和评价，可快速有效地确定多因子系统的最佳条件。

在 ZnO-Cur NPs 的工艺优化中，选择 Box-Behnken 设计^[24]而不是中心复合设计^[25]，一方面，在同样可以高效估计一阶和二阶系数的前提下，Box-Behnken 设计的设计点通常较少，运行成本比具有相同数量因子的中心复合设计的运行成本低；另一方面，可以确保所有因子不会同时设置在高水平。因此采用 Box-Behnken 响应面法对 ZnO-Cur NPs 的制备工艺进行设计优化更合理。

REFERENCES

- [1] WU J M, TSAY L Y. ZnO quantum dots-decorated ZnO nanowires for the enhancement of antibacterial and photocatalytic performances [J]. *Nanotechnology*, 2015, 26(39): 395704.
- [2] CHOPRA M, BERNELA M, KAUR P, et al. Alginate/gum *Acacia* bipolymeric nanohydrogels: Promising carrier for Zinc oxide nanoparticles [J]. *Int J Biol Macromol*, 2015, 72: 827-833.
- [3] ZHANG W Z, HUANG H Y, SUN Z M, et al. A novel stellerite-based photocatalytic composite and its enhanced disinfection application [J]. *J Photochem Photobiol B: Biol*, 2018, 182: 27-34.
- [4] WANG J, LEE J S, KIM D, et al. Exploration of zinc oxide nanoparticles as a multitarget and multifunctional anticancer nanomedicine [J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2017, 9(46): 39971-39984.
- [5] TRIPATHY N, AHMAD R, AH KO H, et al. Multi-synergetic ZnO platform for high performance cancer therapy [J]. *Chem Commun*, 2015, 51(13): 2585-2588.
- [6] GAO B, SUN C S, ZHI Z Z, et al. Preparation of two poor water soluble drugs-nanoporous ZnO solid dispersions and the mechanism of drug dissolution improvement [J]. *Acta Pharmaceutica Sinica(药学报)*, 2011, 46(11): 1399-1407.
- [7] MISHRA P K, MISHRA H, EKIELSKI A, et al. Zinc oxide nanoparticles: A promising nanomaterial for biomedical applications [J]. *Drug Discov Today*, 2017, 22(12): 1825-1834.
- [8] HANLEY C, LAYNE J, PUNNOOSE A, et al. Preferential killing of cancer cells and activated human T cells using ZnO nanoparticles [J]. *Nanotechnology*, 2008, 19(29): 295103.
- [9] AHAMED M, AKHTAR J, KUMAR, et al. Zinc oxide nanoparticles selectively induce apoptosis in human cancer cells through reactive oxygen species [J]. *Int J Nanomed*, 2012,

7: 845-857.

- [10] XUE B J, ZHANG Y L, XU M, et al. Curcumin-silk fibroin nanoparticles for enhanced anti-*Candida albicans* activity *in vitro* and *in vivo* [J]. *J Biomed Nanotechnol*, 2019, 15(4): 769-778.
- [11] MOUSSAWI R N, PATRA D. Nanoparticle self-assembled grain like curcumin conjugated ZnO: Curcumin conjugation enhances removal of perylene, fluoranthene and chrysene by ZnO [J]. *Sci Rep*, 2016, 6(1): 24565.
- [12] ZHANG Z W, CHEN H T, XU C, et al. Curcumin inhibits tumor epithelial-mesenchymal transition by downregulating the Wnt signaling pathway and upregulating NKD2 expression in colon cancer cells [J]. *Oncol Rep*, 2016, 35(5): 2615-2623.
- [13] WANG Y, RISHI A K, WU W J, et al. Curcumin suppresses growth of mesothelioma cells *in vitro* and *in vivo*, in part, by stimulating apoptosis [J]. *Mol Cell Biochem*, 2011, 357(1/2): 83-94.
- [14] GUPTA S C, PATCHVA S, AGGARWAL B B. Therapeutic roles of curcumin: Lessons learned from clinical trials [J]. *AAPS J*, 2013, 15(1): 195-218.
- [15] CAI X L, LUO Y N, YAN H Y, et al. pH-responsive ZnO nanocluster for lung cancer chemotherapy [J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2017, 9(7): 5739-5747.
- [16] STANKOVIĆ A, DIMITRIJEVIĆ S, USKOKOVIĆ D. Influence of size scale and morphology on antibacterial properties of ZnO powders hydrothermally synthesized using different surface stabilizing agents [J]. *Colloids Surfaces B: Biointerfaces*, 2013, 102: 21-28.
- [17] VALLEJOS S, PIZÚROVÁ N, ČECHAL J, et al. Aerosol-assisted chemical vapor deposition of metal oxide structures: Zinc oxide rods [J]. *JoVE*, 2017(127): 56127. Doi: 10.3791/56127.
- [18] YANG X X, ZHANG C, LI A X, et al. Red fluorescent ZnO nanoparticle grafted with polyglycerol and conjugated RGD peptide as drug delivery vehicles for efficient target cancer therapy [J]. *Mater Sci Eng: C*, 2019(95): 104-113.
- [19] WANG P, LI M Q, ZHAO L Y, et al. Uniform and orthogonal designs on experimental design and optimization of micellar electrokinetic capillary chromatographic method for the simultaneous analysis of three nucleoside antiviral drugs in disinfectant and anti/bacteriostatic products [J]. *Chin J Chromatogr*, 2018, 36(9): 931.
- [20] YE J S, WANG Q, ZHOU X F, et al. Injectable actaril-loaded solid lipid nanoparticles as passive targeting therapeutic agents for rheumatoid arthritis [J]. *Int J Pharm*, 2008, 352(1/2): 273-279.
- [21] DARVISHI CHESHMEH SOLTANI R, JORFI S, SAFARI M, et al. Enhanced sonocatalysis of textile wastewater using bentonite-supported ZnO nanoparticles: Response surface methodological approach [J]. *J Environ Manag*, 2016(179): 47-57.
- [22] BAZRAFESHAN A A, GHAEDI M, HAJATI S, et al. Synthesis of ZnO-nanorod-based materials for antibacterial, antifungal activities, DNA cleavage and efficient ultrasound-assisted dyes adsorption [J]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2017(142): 330-337.
- [23] JIN W, QU W W, SRINIVASAKANNAN C, et al. Process optimization of preparation of ZnO-porous carbon composite from spent catalysts using one step activation [J]. *J Nanosci Nanotechnol*, 2012, 12(8): 6231-6239.
- [24] SAFARI M, ROSTAMI M H, ALIZADEH M, et al. Response surface analysis of photocatalytic degradation of methyl tert-butyl ether by core/shell Fe₃O₄/ZnO nanoparticles [J]. *J Environ Health Sci Engineer*, 2014, 12(1): 1.
- [25] MAHDAVI R, ASHRAF TALESH S S. Enhancement of ultrasound-assisted degradation of Eosin B in the presence of nanoparticles of ZnO as sonocatalyst [J]. *Ultrason Sonochem*, 2019(51): 230-240.

收稿日期: 2019-09-26
(本文责编: 沈倩)