

白藜芦醇纳米结构脂质载体的 制备与体外抗肿瘤细胞活性研究

付淑凤

(咸阳职业技术学院, 陕西 咸阳 712046)

摘要: 采用热熔乳化-高压均质法制备白藜芦醇纳米结构脂质载体, 并使用Box-Behankn效应面法优化其处方。评价了足叶白藜芦醇纳米结构脂质载体的粒径分布、PDI、Zeta电位和微观形态, 考察了白藜芦醇纳米结构脂质载体体外释放行为, 比较了白藜芦醇纳米结构脂质载体与白藜芦醇溶液对人肺癌Calu-1细胞的抑制效果。结果表明, 通过优化得到白藜芦醇纳米结构脂质载体的最佳处方为: 鲸蜡醇棕榈酸酯用量为5.14 mg/mL, Miglyol[®] 812用量为3.50 mg/mL, 大豆磷脂用量为2.50 mg/mL, 制备的纳米结构脂质载体呈淡蓝色透明状液体, 粒径大小为(121.4±27.6) nm, PDI为(0.168±0.031), Zeta电位为(-9.4±0.4) mV; 纳米结构脂质载体可延缓白藜芦醇的体外释放; 白藜芦醇纳米结构脂质载体对人肺癌Calu-1细胞的抑制作用显著高于白藜芦醇溶液(P<0.05)。

关键词: 白藜芦醇; 纳米结构脂质载体; 抗肿瘤细胞活性

中图分类号: R285

文献标识码: A

文章编号: 94047-(2018)02-041-07

白藜芦醇(Resveratrol)属于多酚类化合物, 主要存在于花生、葡萄、虎杖等植物中, 近年来药理学研究表明白藜芦醇通过调节细胞内信号传导抑制肿瘤细胞侵袭转移与增殖, 促进肿瘤细胞凋亡, 可有效抑制肝癌、胃癌、乳腺癌、结肠癌等肿瘤细胞的分裂与生长^[1-2]。尽管白藜芦醇药物活性显著, 但其水溶性较差^[3], 临床应用受到限制。

纳米结构脂质载体(Nanostructured lipid carriers, NLC)是在固体脂质纳米粒(Solid lipid nanoparticles, SLN)的基础上通过处方改进而制成的新一代脂质纳米给药系统^[4], 它是以一定比例的固态和液态脂质材料作为载体, 通过高剪切-超声分散法、溶剂乳化-蒸发法、热融乳化-高压均质法和微乳法^[5]等工艺制备而成的粒径在10-1000 nm的纳米脂质给药体系。纳米结构脂质载体具有生物相容性好、载药量高、稳定性好等优势, 并且可提高药物与肿瘤细胞的亲和性, 达到良好的抑制肿瘤细胞生长和分裂作用^[6-8]。为此, 本研究将白藜芦醇制备成纳米结构脂质载体, 以改善白藜芦醇的溶解性和对肿瘤细胞的亲和性, 提高药物治疗效果, 为早

日实现白藜芦醇临床应用奠定理论基础。

1 材料

1.1 仪器

Essentia LC-15C岛津高效液相色谱系统(LC-15C送液单元, SPD-15C紫外可见双波长检测器, SIL-10AF自动进样器, CTO-15C柱温箱, 日本岛津公司); SAIH-2型实验室乳化机(上海壹维机电设备有限公司); APV-1000实验型高压均质机(上海顺仪实验设备有限公司); JEM-ARM200F透射电子显微镜(日本电子公司); Master-sizer 2000激光粒度分析仪(英国马尔文公司); Zetasizer nano-zs90电位分析仪(英国马尔文公司); ZRS-8ST智能溶出试验仪(天津市旭阳仪器设备有限公司); FA1004电子天平(上海京孚仪器有限公司); DF-101S集热式恒温加热磁力搅拌器(巩义市英峪予华仪器厂); TG18G台式离心机(海赫田科学仪器有限公司); 透析袋(截留分子量: 10,000道尔顿, 北京瑞达恒辉科技发展有限公司); 二氧化碳细胞培养箱(上海杰涵实验设备有

收稿日期: 2018-04-11

作者简介: 付淑凤(1982—), 女, 河北人, 硕士, 讲师。主要从事病理学教学及恶性肿瘤调查研究工作。

限公司)；B16-414酶标仪(上海皓庄仪器有限公司)。

1.2 试药

白藜芦醇原料药(西安金绿生物工程技术有限公司,批号:20170122,含量:98.4%);白藜芦醇对照品(中国食品药品检定研究院,批号:111535-201703,含量:99.4%);辛酸/癸酸甘油酯(Miglyol[®]812,北京凤礼精求医药股份有限公司,批号:183728);鲸蜡醇棕榈酸酯(巴斯夫中国有限公司,批号:W382916);大豆卵磷脂(海纳洛捷生物科技有限公司,批号:482081);泊洛沙姆188(巴斯夫中国公司,批号:R318432);0.25%胰蛋白酶(上海千曦生物科技有限公司,批号:9002077);DMEM培养基(上海博升生物科技有限公司,批号:71480014);3-(4,5-二甲基噻唑-2)-2,5-二苯基四氮唑溴盐(MTT)(西安鼎国生物技术有限公司,批号:20160411)。

人肺癌Calu-1细胞(上海赛齐生物工程有限公司)。

2 方法与结果

2.1 方法

2.1.1 色谱条件^[9] 色谱柱: Hypersil-C18(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-水(60:40); 检测波长: 303 nm; 柱温: 25 ℃; 流速: 1.0 mL/min; 进样量: 20 μL。

2.1.2 含量测定 精密称取白藜芦醇对照品10.0 mg加入到50 mL量瓶中,加入少量甲醇,水浴超声溶解,再加入流动相定容,摇匀,作对照品贮备液(200 μg/mL),备用。精密白藜芦醇移取对照品贮备液,加入流动相依次稀释成0.5, 1.0, 2.0, 5.0, 10.0, 20.0 μg/mL的标准溶液,摇匀,过滤,精密吸取20 μL按“2.1.1”色谱条件测定。以白藜芦醇浓度(C, μg/mL)对峰面积(A)作线性回归,得回归方程为: A=54117C-2768.2 (r=0.9999)。结果表明:白藜芦醇在0.5~20.0 μg/mL浓度范围内线性关系良好。方法学考察表明:日内精密RSD为0.68% (n=6),高、中、低3个浓度的平均回收率为99.8%, RSD为0.97% (n=9)。

2.2 白藜芦醇纳米结构脂质载体包封率的测定

白藜芦醇纳米结构脂质载体的包封率采用超滤法^[10]。精密移取1.0 mL白藜芦醇纳米结构脂质载体溶液加入到超滤管上口端,下口端接到离心管上并放置到高速离心机中离心处理,离心速度为4500 rpm,离心10 min结束,精密吸取离心管中液体0.5 mL加入到10 mL容量瓶中,加入流动相定容,得到游离药物含量待测液(W_{游离});另精密移取1.0 mL白藜芦醇纳米结构脂质载体溶液加入到50 mL容量瓶中,加入甲醇溶解至澄清,再加流动相定容,得到总药物含量待测液(W_总),取上述两种待测溶液采用HPLC法测定白藜芦醇含量。按下式计算包封率:

$$EE(\%)=(1-W_{\text{游离}}/W_{\text{总}})\times 100\%$$

其中:W_{游离}为白藜芦醇纳米结构脂质载体中游离的白藜芦醇含量;

W_总为白藜芦醇纳米结构脂质载体中白藜芦醇总量。

2.3 白藜芦醇纳米结构脂质载体的制备工艺

采用热熔乳化-高压均质法制备白藜芦醇纳米结构脂质载体^[11],实验操作如下:处方量的白藜芦醇溶解到无水乙醇中备用,处方量的Miglyol[®]812加入到鲸蜡醇棕榈酸酯中在75℃下加热熔融,将白藜芦醇乙醇溶液加入到上述混合脂质溶液中,搅拌分散均匀,形成油相;将处方量的大豆卵磷脂和泊洛沙姆188加入到纯化水中,加热至75℃,通过高速剪切机将其分散均匀,形成水相;油相保持在75℃水浴中,开启高速剪切机,使用7号注射针头将水相缓慢滴加到油相中,水相加完后继续剪切10 min,75℃减压挥干乙醇,得到乳白色混悬液;将上述溶液通过高压均质机均质5次,均质压力为800 bar后迅速放入到冰水浴中,即制备得到白藜芦醇纳米结构脂质载体。

2.4 白藜芦醇纳米结构脂质载体处方优化

2.4.1 Box-Behnken效应面法优化白藜芦醇纳米结构脂质载体处方 本文以鲸蜡醇棕榈酸酯用量(X₁), Miglyol[®]812用量(X₂),大豆磷脂用量(X₃)作为考察因素,以纳米结构脂质载体平均粒径(Y₁)和包封率(Y₂)作为评价指标,采用Box-Behnken效应面法优化白藜芦醇纳米结构脂质载体处方,并得到最佳处方配比。因素水平见表1,实验安排及结果见表2。

表1 Box-Behnken实验设计中的变量水平

因变量	level		
	Low (-1)	Medium (0)	High (+1)
X_1 : 鲸蜡醇棕榈酸酯 (mg/mL)	3.0	5.0	7.0
X_2 : Miglyol [®] 812 (mg/mL)	2.0	4.0	6.0
X_3 : 大豆磷脂 (mg/mL)	1.0	2.5	4.0
自变量		目标值	
Y_1 : 平均粒径 (nm)	最小值		
Y_2 : 包封率 (%)	最大值		

表2 实验设计中的自变量 (X) 和因变量 (Y)

No.	因变量			自变量	
	X_1 (mg/mL)	X_2 (mg/mL)	X_3 (mg/mL)	Y_1 /nm	Y_2 /%
1	3.0	6.0	2.5	99.6	81.5
2	7.0	4.0	1.0	259.7	70.6
3	5.0	4.0	2.5	104.3	81.1
4	3.0	4.0	1.0	102.4	81.5
5	7.0	6.0	2.5	212.6	81.9
6	5.0	2.0	4.0	142.8	62.3
7	3.0	4.0	4.0	114.8	79.6
8	5.0	2.0	1.0	151.0	60.4
9	5.0	4.0	2.5	98.6	83.2
10	5.0	4.0	2.5	113.4	84.1
11	5.0	6.0	1.0	103.8	82.6
12	5.0	6.0	4.0	101.2	85.5
13	7.0	4.0	4.0	223.5	76.4
14	7.0	2.0	2.5	334.2	53.8
15	3.0	2.0	2.5	93.5	72.6

2.4.2 数据方差分析 应用统计软件对表2中的实验数据进行方差分析, 统计结果见表3, 对“平均粒径”和“包封率”的统计模型的拟合方程P值

分别为0.0006和0.0002, 均小于0.05; 失拟项分别为0.1344和0.2941, 说明采该模型拟合可信度较好。

表3 拟合方程方差分析结果

因变量	来源	平方和	平均值	F值	P值
Y_1 : 平均粒径 (nm)	模型	74163.68	8240.41	33.91	0.0006
	X_1	48081.00	48081.00	197.84	<0.0001
	X_2	52.65	52.65	21.53	0.0056
	X_3	153.13	153.13	0.63	0.4633
	X_1X_2	4096.00	4096.00	16.85	0.0093
	X_1X_3	580.81	580.81	2.39	0.1828
	X_2X_3	7.84	7.84	0.032	0.8645
	X_1^2	15664.07	15664.07	64.45	0.0005
	X_2^2	790.65	790.65	3.25	0.1311
	X_3^2	79.27	79.27	0.33	0.5926
	残差	1215.14	243.03		
	失拟项	1103.70	367.90	6.60	0.1344
	纯误差	111.45	55.72		
	总和	75378.82			

Y ₂ : 包封率 (%)	模型	1349.69	149.97	52.48	0.0002
	X ₁	132.03	132.03	46.21	0.0010
	X ₂	846.66	846.66	296.29	<0.0001
	X ₃	11.52	11.52	4.03	0.1009
	X ₁ X ₂	92.16	92.16	32.25	0.0024
	X ₁ X ₃	14.82	14.82	5.19	0.0718
	X ₂ X ₃	0.20	0.20	0.071	0.8007
	X ₁ ²	42.06	42.06	14.72	0.0122
	X ₂ ²	206.31	206.31	72.20	0.0004
	X ₃ ²	31.05	31.05	10.87	0.0216
	残差	14.29	2.86		
	失拟项	11.33	3.78	2.55	0.2941
	纯误差	2.96	1.48		
总和	1363.97				

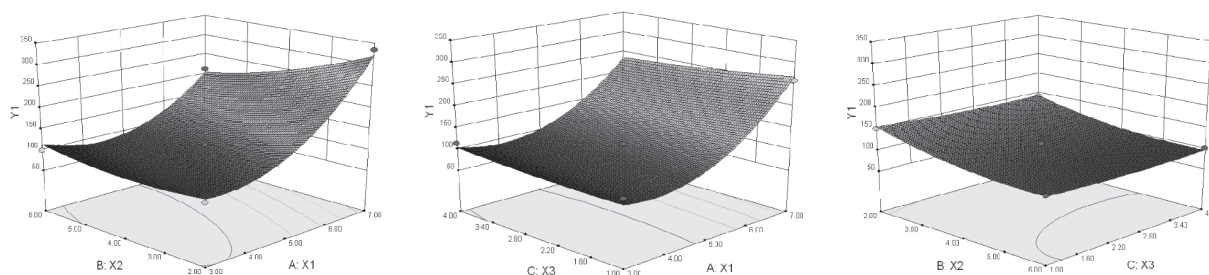


图2 鲸蜡醇棕榈酸酯、Miglyol[®] 812和大豆磷脂用量对白藜芦醇纳米结构脂质载体平均粒径的效应面图

由方差分析结果可知，鲸蜡醇棕榈酸酯用量和 Miglyol[®] 812用量对白藜芦醇纳米结构脂质载体的平均粒径具有显著影响 ($P < 0.05$)，而大豆磷脂用量对纳米结构脂质载体的平均粒径影响不显著

($P > 0.05$)；由效应面图可知，随着鲸蜡醇棕榈酸酯用量和 Miglyol[®] 812用量的增加，白藜芦醇纳米结构脂质载体的粒径显著增加。

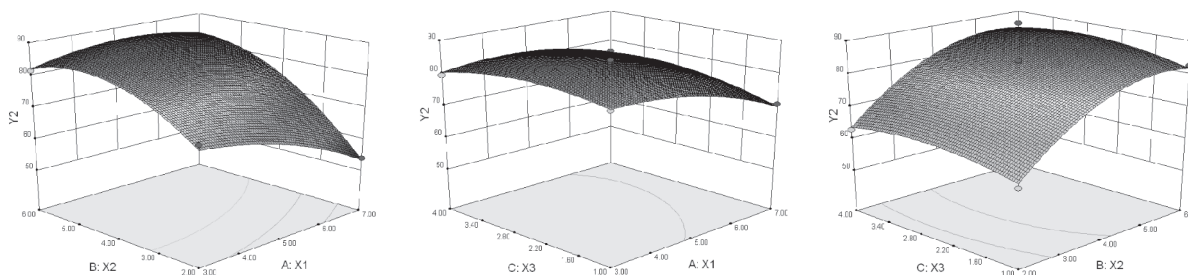


图3 鲸蜡醇棕榈酸酯、Miglyol[®] 812和大豆磷脂用量对白藜芦醇纳米结构脂质载体包封率的效应面图

由方差分析结果可知，鲸蜡醇棕榈酸酯用量和 Miglyol[®] 812用量对白藜芦醇纳米结构脂质载体的包封率具有显著影响 ($P < 0.05$)，而大豆磷脂用量对纳米结构脂质载体的包封率影响不显著 ($P > 0.05$)；由效应面图可知，随着鲸蜡醇棕榈酸酯用量的增加包封率先增加后降低，而随着 Miglyol[®] 812用量的增加包封率出现降低趋势。

2.4.3 效应面优化与预测 本研究的目标是以制备的

白藜芦醇纳米结构脂质载体的平均粒径为最小值、包封率为最大值，采用“Design-Expert 10.0”软件优化得到最佳处方为：鲸蜡醇棕榈酸酯用量为5.14 mg/mL，Miglyol[®] 812用量为3.50 mg/mL，大豆磷脂用量为2.50 mg/mL，软件预测得到的纳米结构脂质载体的平均粒径为117.5 nm、包封率为79.9%。按照最优处方制备3批白藜芦醇纳米结构脂质载体，测定平均粒径为 (123.9 ± 24.1) nm，包封率为

(81.2 ± 1.0)%，并与预测值比较，实验观察值和模型预测值比较接近，说明模型预测性良好。

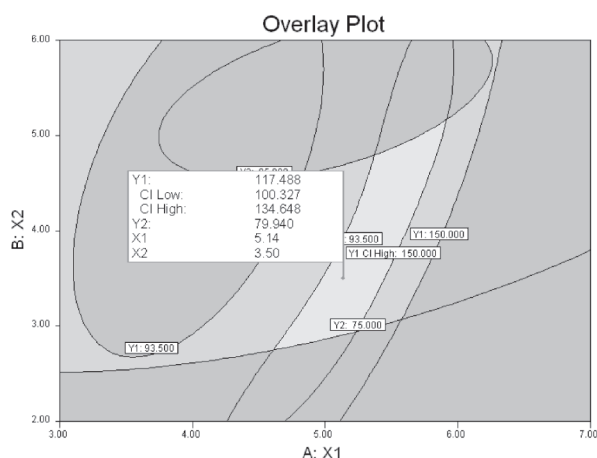


图4 鲸蜡醇棕榈酸酯、Miglyol® 812和大豆磷脂用量对白藜芦醇纳米结构脂质载体粒径分布和包封率的综合评价叠加图

2.5 白藜芦醇纳米结构脂质载体表征

2.5.1 粒径分布和Zeta电位测定 移取少量白藜芦醇纳米结构脂质载体溶液，用蒸馏水稀释30倍，吸取适量样品溶液加入到Master-sizer 2000 激光粒度分析仪和Zetasizer nano-zs90电位分析仪中测定粒径分布、PDI和Zeta电位。

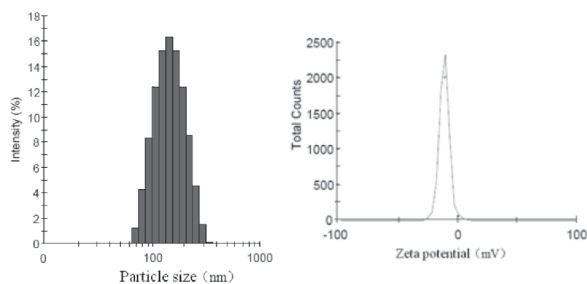


图5 白藜芦醇纳米结构脂质载体的粒径分布和Zeta电位

经过3次平行测定白藜芦醇纳米结构脂质载体的粒径分布、PDI和Zeta电位，平均粒径为(121.4 ± 27.6) nm，PDI为(0.168 ± 0.031)，Zeta电位为(-9.4 ± 0.4) mV。

2.5.2 微观形态观察 移取少量白藜芦醇纳米结构脂质载体溶液，用蒸馏水稀释30倍，吸取少量样品溶液加到铜丝网表面，滴加5.0%磷钨酸染液10 min，待水分自然会干，将样品放到透射电子显微镜下观察并拍摄电镜照片。

电镜照片显示白藜芦醇纳米结构脂质载体外观较为圆整、光滑，呈球形或类球形分布，粒径大小大部分在100 nm左右。

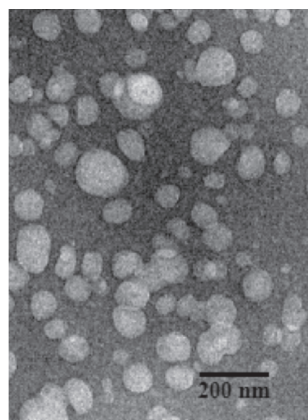


图4 白藜芦醇纳米结构脂质载体透射电镜图($\times 20\,000$)

电镜照片显示白藜芦醇纳米结构脂质载体外观较为圆整、光滑，呈球形或类球形分布，粒径大小大部分在100 nm左右。

2.5.3 释药行为考察 采用透析法^[12]考察白藜芦醇纳米结构脂质载体的体外药物释放情况，精密移取2.0 mL白藜芦醇纳米结构脂质载体加入到透析袋(截留分子量10,000道尔顿)中，扎紧袋口，固定在搅拌桨上。以pH 7.4磷酸盐缓冲液(加入0.5%吐温80)作为释放介质，体积为250 mL，水浴温度到达为37℃时开启溶出仪，搅拌桨转速为50 rpm，分别在0.25、0.5、1、2、3、4、6、8、10、12、16、24、48 h各取释放介质3 mL(同时补加同温、同体积释放介质)经0.22 μm微孔滤膜过滤，取续滤液按照“2.1.1”项下色谱条件测定白藜芦醇含量，绘制释放曲线。另取白藜芦醇原料药加入到上述释放介质中，同法进行释放度测定并绘制释放曲线。

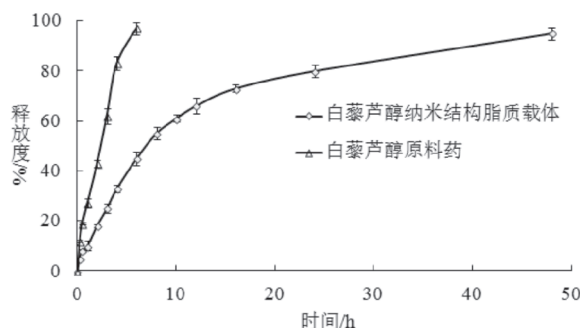


图5 白藜芦醇纳米结构脂质载体与白藜芦醇原料药体外释放曲线($n=6$)

由药物释放曲线可知，白藜芦醇原料药在6 h内即可接近完全释放；而白藜芦醇在纳米结构脂质载体中前8 h累积释放了55.7%，随后药物释放比较缓慢，在48 h时药物释放完全，可以推断在释放前期吸附在纳米结构脂质载体表面的药物快速释放，而

包裹在纳米结构脂质载体内部的药物则通过扩散或者载药脂质溶蚀药物逐渐缓慢释放^[13]。

2.6 体外抗肿瘤作用研究

从-80℃冰箱中取出人肺癌 Calu-1 细胞株在 37℃ 恒温水浴中, 迅速解冻、复苏细胞, 将细胞接种到 10% DMEM 培养基 (含有 10% 胎牛血清) 中, 在 37℃ 恒温细胞培养箱 (湿度为 95%, CO₂ 浓度为 5%) 中传代培养, 取对数生长细胞接种到 96 孔板上 (每孔加入 1×10^4 个细胞), 放入到 37℃ 恒温细胞培养箱中孵育过夜, 分别加入生理盐水 (空白对照组) 以及含白藜芦醇浓度为 5、10、20、30、40、50 $\mu\text{g/mL}$ 的药物溶液组和纳米结构脂质载体组, 孵育 72 h, 每孔再加入 10 mg/mL MTT 溶液, 孵育 4 h, 使用酶标仪测定吸光度值, 通过下列公式计算细胞抑制率。

$$\text{细胞抑制率} = (A_{\text{空白对照组}} - A_{\text{实验组}}) / A_{\text{空白对照组}} \times 100\%$$

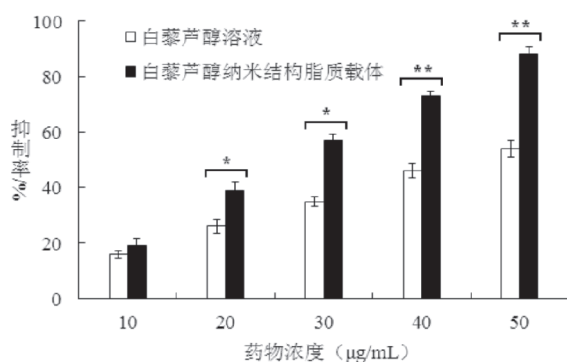


图6 人肺癌 Calu-1 细胞生长抑制图

由细胞毒性结果可知, 与白藜芦醇溶液相比, 白藜芦醇纳米结构脂质载体对人肺癌 Calu-1 细胞具有较强的抑制作用, 且随着药物浓度的增加, 对细胞的抑制率增强; 这可能是由于纳米结构脂质载体粒径较小, 具有较强的吸附性, 当与肿瘤细胞接触时, 可以吸附到细胞表面, 并通过主动转运机制进入细胞内, 提高了细胞内药物浓度, 增强了对肿瘤细胞的杀伤力^[14]。

3 讨论

国内外文献报道了通过多种新型给药系统来提高难溶性药物的溶解性, 例如: 脂质体、胶束、自乳化释药系统、纳米混悬剂、固体脂质纳米粒、纳米结构脂质载体等, 每种剂型均有各自优势。当将难溶性药物制备成注射剂给药, 需要考虑药物进入体内是否会析出, 阻塞肺毛细血管, 导致肺栓塞;

另外, 制剂中所用辅料需要具备生物相容性好、可生物降解的特点, 且制备的制剂具有粒径较小、载药量较高, 在进入体内后具有主动或被动靶向性等特性。纳米结构脂质载体是药剂科学发展的最新成果, 对增加难溶性药物的溶解度、提高药物靶向性具有显著优势, 它可有效增加药物在肿瘤部位蓄积, 提高药物治疗效果, 为难溶性抗癌药物的临床应用提供一种新途径。

本研究在预实验时筛选了热熔乳化-超声分散法和热熔乳化-高压均质法制备白藜芦醇纳米结构脂质载体, 通过比较了两种制备工艺对纳米结构脂质载体的粒径分布、包封率、稳定性等指标的影响, 结果显示, 热熔乳化-高压均质法所制备的纳米结构脂质载体粒径较小, 明显小于热熔乳化-超声分散法, 且包封率较高, 稳定性较好。另外, 在水相滴加到油相过程中温度控制也尤为重要, 通过实验考察, 水浴温度控制在 75℃ 时所制备的纳米结构脂质载体理化性质均较优, 温度过高或过低均会导致粒径增加、包封率降低。

参考文献

- [1] 张利祥, 刘毅敏, 赵先英. 白藜芦醇抗肿瘤作用及机理研究进展[J]. 实用肿瘤学杂志, 2013, 27(4): 377-380.
- [2] 高倩. 白藜芦醇抗肿瘤作用机制研究进展[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2016, 30(9): 845-847.
- [3] 李佳, 朱嘉, 赵秀丽. 白藜芦醇载药胶束的制备与体外评价[J]. 沈阳药科大学学报, 2014, 31(12): 927-934.
- [4] 宋春晓, 何书莲, 曹春风. 固体脂质纳米粒和纳米结构脂质载体在药物传递中的研究进展[J]. 药学研究, 2016, 35(4): 234-237.
- [5] 陈锋, 金日显, 陈燕军. 纳米结构脂质载体的研究进展[J]. 中国新药杂志, 2008, 17(6): 456-460.
- [6] Zhang S, Lu C, Zhang X, Fernandes RS, Silva J, Monteiro LOF. Targeted delivery of etoposide to cancer cells by folate-modified nanostructured lipid drug delivery system[J]. Drug Deliv, 2016, 23(5): 1838-1845.
- [7] Wang F, He Z, Dai W. The role of the vascular endothelial growth factor/vascular endothelial growth factor receptors axis mediated angiogenesis in curcumin-loaded nanostructured lipid carriers induced human HepG2 cells apoptosis[J]. J Cancer Res Ther, 2015, 11(3): 597-605.
- [8] Jiang H, Pei L, Liu N. Etoposide-loaded nanostructured lipid carriers for gastric cancer therapy[J]. Drug Deliv, 2016, 23(4): 1379-1382.

- [9]舒薇,杨帝顺,吴建华.用RP-HPLC法测定白藜芦醇纳米乳凝胶中白藜芦醇的含量[J].药学服务与研究,2012,12(3):202-204.
- [10]王坤,杨磊,王艳.奥扎格雷纳米结构脂质载体包封率的测定方法[J].中国新药杂志,2012,(22):2693-2696.
- [11]姜雪,周艺,徐兵.阿托伐他汀钙纳米结构脂质载体对大鼠心肌缺血/再灌注损伤的保护作用研究[J].中国药师,2016,19(12):2212-2217.
- [12]周恺,姚亮,戴浩志.超滤离心法测定银杏内酯B纳米结构脂质载体包封率[J].安徽中医药大学学报,2015,34(2):78-81.
- [13]Kaithwas V,Dora CP,Kushwah V.Nanostructured lipid carriers of olmesartan medoxomil with enhanced oral bioavailability[J].Colloids Surf B Biointerfaces,2017,154:10-20.
- [14]Taratula Q,Kuzmov A,Shah M.Nanostructured lipid carriers as multifunctional nanomedicine platform for pulmonary co-delivery of anticancer drugs and siRNA [J].J Control Release, 2013,171(3):349-357.

[责任编辑:王军利]

Research on the Preparation of Nanostructured Lipid Carrier and Antitumor Activity

FU Shu-feng

(Medical College, Xianyang Vocational & Technical College, Xianyang, Shaanxi 712000)

Abstract: in the process of the experiment, The resveratrol nanostructured lipid carrier was prepared by hot melt emulsification and high pressure homogenization, and its formulation was optimized by Box-Behankn surface response methodology. In this paper, size distribution, PDI, Zeta potential and microscopic morphology of resveratrol nanostructured lipid carrier were evaluated; the in vitro release behavior of resveratrol nanostructured lipid carrier was investigated; the inhibitory effect of resveratrol nanostructured lipid carrier and resveratrol on human lung cancer Calu-1 cells was also compared. It is finally shown in the result that the optimum formulation of resveratrol nanostructured lipid carrier was optimized by using cetyl palmitate at 5.14 mg/mL, Miglyol?812 at 3.50 mg/mL and soybean lecithin at 2.50 mg/mL; the prepared nanostructured lipid carrier was a light blue transparent liquid with a particle size of (121.4 ± 27.6) nm, a PDI of (0.168 ± 0.031) and a Zeta potential of (-9.4 ± 0.4) mV; Nanostructured lipid carriers could delay the in vitro release of resveratrol; the resveratrol nanostructured lipid carrier inhibited Calu-1 cells significantly higher than that of resveratrol solution ($P < 0.05$).

Key words: Resveratrol, Nanostructured lipid carrier, Anti-tumor cell activity

(上接第40页)

参考文献

- [1]牟宏.使用上面发酵菌种生产小麦啤酒的应用研究[D].济南:山东大学,2003.
- [2]左永泉.黑啤酒酿制方法的改进[J].食品科学,2002,23(3):89-91.
- [3]王志坚.啤酒中有机酸及其对啤酒风味的影响[J].酿酒科技,2006(9):121-122.
- [4]胡进松.黑啤发酵液发酵度偏低原因的分析及改进办法[J].啤酒科技,2016(10):29-30.
- [5]史幼新.也谈干啤的发酵度[J].酿酒科技,1998(3):50-50.
- [6]常宗明.提高干啤发酵度的探讨[J].啤酒科技,2003(2):22-23.
- [7]贺昇.高浓干啤如何提高发酵度[J].啤酒科技,2010,(5):51-52.
- [8]毕春红.高浓度黑啤发酵工艺综述[J].黑龙江科技信息,2013(24):71-71.
- [9]杨红,李廉,陈飞飞,张洁,孔瑞.黑啤中浑浊和泡沫蛋白性质初探[J].合肥学院学报(自然科学版),2016(1):100-104.
- [10]张强.小麦酿造黑啤酒工艺研究[D].合肥:合肥工业大学,2007.

[责任编辑:王军利]