DOI:10.12441/spyswjs.20240329001 [文章编号] 1673-1689(2025)11-0030-09

载咖啡酸苯乙酯纳米颗粒构建及抗氧化性研究

陈雅琼[1,2] 李雨萌[2] 吴 慧[2] 宋洪东[1] 管 骁[1*]

(1. 上海理工大学健康科学与工程学院,上海 200093; 2. 上海健康医学院药学院,上海 201318)

摘要:【目的】改善咖啡酸苯乙酯(caffeic acid phenethyl ester,CAPE)在水溶液中的分散度和利用度。**【方法】**以反溶剂分散法构建载CAPE大麦醇溶蛋白(CAPE-HD)纳米颗粒,对其理化性能进行表征,并考察其在Caco-2细胞内的抗氧化性能。**【结果】**CAPE-HD纳米颗粒中各组分之间通过氢键等非共价作用相互结合,并在形成纳米颗粒后,CAPE的存在状态发生了变化。CAPE-HD纳米颗粒呈近球形颗粒,平均粒径为193.93 nm,平均PDI为0.26,平均Zeta电位为14.50 mV,并在28 d内保持稳定。纳米颗粒具有良好的包封率和载药率,以及优越的生物相容性。抗氧化试验显示,CAPE-HD纳米颗粒在DPPH自由基清除能力和Caco-2细胞内均表现出良好的抗氧化活性。**【结论】**该纳米体系为提高CAPE等难溶性药物的生物利用度和临床使用率提供了一个新的平台和思路。

关键词:咖啡酸苯乙酯;大麦醇溶蛋白;纳米颗粒;抗氧化

Fabrication and Antioxidant Property Characterization of Caffeic Acid Phenethyl Ester-loaded Nanoparticles

CHEN Yaqiong[1,2] *LI Yumeng*[2] *WU Hui*[2] *SONG Hongdong*[1] *GUAN Xiao*[1*]

(1. School of Health Science and Engineering, University of Shanghai for Science and Technology, Shanghai 200093, China; 2. School of Pharmacy, Shanghai University of Medicine and Health Sciences, Shanghai 201318, China)

Abstract: [**Objective**] This study aims to improve the dispersion and utilization of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) in aqueous solutions. [**Method**] CAPE-loaded hordein (CAPE-HD) nanoparticles were constructed *via* an anti-solvent precipitation method. The physicochemical properties of the nanoparticles were characterized, and the antioxidant properties of the nanoparticles within Caco-2 cells were investigated. [**Result**] The components within the CAPE-HD nanoparticles interacted through non-covalent bonds, such as hydrogen bonding, resulting in an altered state of CAPE upon nanoparticle formation. The CAPE-HD nanoparticles exhibited near-spherical morphology with an average particle size of 193.93 nm, an average polydispersity index (PDI) of 0.26, and average Zeta potential of 14.50 mV. These nanoparticles remained stable over 28 days and demonstrated favorable encapsulation efficiency, drug loading capacity, and biocompatibility. Antioxidant assays revealed that the CAPE-HD nanoparticles exhibited remarkable antioxidant activity, in terms of both DPPH free radical scavenging ability and within the Caco-2 cell model. [**Conclusion**] This nano-delivery system provides a promising platform and strategy for enhancing the bioavailability and clinical application of poorly water-soluble drugs such as CAPE.

Keywords: caffeic acid phenethyl ester; hordein; nanoparticle; antioxidant

基金项目:国家自然科学基金项目(32172247);上海市自然科学基金项目(23ZR1444500)。

通信作者:管骁(1979—),男,博士,教授,博士研究生导师,主要从事食品功能与营养、食品资源深加工、食品生物纳米材料、食品安全监测与控制方面的研究。E-mail: gnxo@163.com

收稿日期:2024-03-29 **修回日期:**2024-06-11

咖啡酸苯乙酯（CAPE）是从蜂胶中提取的重要活性成分之一，因其低毒性和高生物活性等特点而被广泛应用[1-3]。Grunberger等[4]研究表明，CAPE在抗炎、抗病毒、抗癌等方面具有良好表现。Li等[5]研究了CAPE与人血清蛋白的结合，证明了CAPE比蜂胶中其他成分具有更高的亲和力，且在血浆中具有更好的转运特性。王秀芳等[6]介绍了CAPE在肝损伤、缺血再灌注和抑菌等方面的作用机制。尽管CAPE的生物活性已被广泛报道，但由于其在水中的溶解度较差，生物利用度比较低，且苯环上的酚羟基容易氧化等特性，极大地限制了其应用。

近年来，随着纳米技术的快速发展，纳米载体已被应用于食品、药品等领域，许多分散性差、生物利用度低的药物可以通过纳米载体在体内有效递送[7-9]。研究发现，通过制备纳米包埋体系可以改善疏水活性因子的功能特性，同时还可以保护其化学结构的完整性[10-12]。另有研究表明，蛋白质基纳米载体具有良好的生物相容性、生物可降解性、低抗原性、高稳定性及高载药性，能够提高小分子活性物质的溶解性和生物利用度[8, 13-14]。大麦醇溶蛋白是从大麦粉中提取的食品来源蛋白质，其安全性高、容易制备、具有良好的生物相容性[15-16]。目前，有关CAPE与大麦醇溶蛋白2种材料的有机结合鲜有报道。研究拟通过构建载CAPE-大麦醇溶蛋白纳米体系来改善CAPE在水中的分散度，分析纳米体系的形成机理，并进一步考察其抗氧化性能，旨在提高CAPE的生物利用度，同时探索大麦醇溶蛋白作为药物递送载体的潜力，为提高难溶性药物的临床使用率提供一定的理论依据。

1　材料与方法

1.1　材料与试剂

大麦粉：市售；咖啡酸苯乙酯（CAPE）、2，7-二氯二氢荧光素二乙酸酯（DCFH-DA）：上海阿拉丁生化科技股份有限公司；1，1-二苯基-2-三硝基苯肼（DPPH）、2，2’-偶氮二异丁基脒二盐酸盐（ABAP）：上海麦克林生化科技股份有限公司；胰酶（含EDTA）、胎牛血清、青霉素-链霉素双抗试剂：美国Gibco公司；DMEM高糖培养基、CCK-8试剂盒：碧云天生物技术有限公司；正己烷、异丙醇、盐酸、氢氧化钠、氯化钠等：均为国产分析纯。

1.2　仪器与设备

蠕动泵：BT100-2J型，保定兰格恒流泵有限公司；透射电子显微镜：JEM2100型，日本Jeol公司；扫描电子显微镜：Regulus8100型，日本Hitachi公司；红外光谱仪：Nicolet iS10型，美国Thermo Fisher科技公司；粒度仪：Zetasizer Nano ZS90型，英国马尔文公司；多功能酶标仪：SpectraMax i3X型，美谷分子仪器（上海）有限公司。

1.3　试验方法

1.3.1　CAPE-HD纳米颗粒的制备与表征

1）蛋白质的提取：参照文献[17]的方法并稍加修改。取过60目筛的大麦粉50 g，加入300 mL正己烷，常温搅拌脱脂2 h，4 000 r/min离心10 min，沉淀晾干。将所得脱脂大麦粉先后加入300 mL浓度为1 mol/L的NaCl溶液和去离子水，混匀，55 ℃搅拌1 h，4 000 r/min离心。沉淀中加入体积分数为55%的异丙醇，55 ℃搅拌1 h，离心，取上清液，旋蒸浓缩至原体积的1/6，于4 ℃冰箱过夜，低温离心20 min，收集沉淀，冷冻干燥，得大麦醇溶蛋白粉末。

2）纳米颗粒的制备：参照文献[18-19]的方法并稍加修改。采用反溶剂分散法制备CAPE-HD纳米颗粒。取30 mg大麦醇溶蛋白，加至5 mL体积分数70%乙醇溶液中。取20 mg CAPE溶于1 mL无水乙醇中作为CAPE母液。取100 μL CAPE母液加至大麦醇溶蛋白乙醇溶液中，混匀，4 000 r/min离心10 min，取上清液3 mL，使用蠕动泵，以0.9 r/min的速度滴入10 mL pH为3.0的水中（用HCl调节），得到载CAPE的大麦醇溶蛋白纳米颗粒（CAPE-HD）。CAPE-HD纳米颗粒制备过程示意图如图1所示。

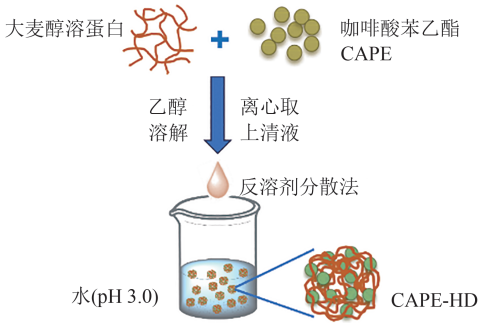


图1　CAPE-HD纳米颗粒制备过程示意图

Fig. 1　Schematic diagram of the CAPE-HD nanoparticle preparation process

3）CAPE-HD纳米颗粒粒径、PDI和Zeta电位测定：取制备好的CAPE-HD纳米颗粒，分别用0.45、0.22 μm滤膜各过滤一次，用动态光散射粒度分析仪（DSL）测试样品的粒径、PDI和Zeta电位。

4）CAPE-HD纳米颗粒SEM形貌观察：取冻干的CAPE-HD纳米颗粒样品铺至导电胶上，真空喷金90 s后通过SEM进行纳米颗粒微观形态观察并拍照，电压为10 kV。

5）CAPE-HD纳米颗粒TEM检测：取适量纳米颗粒混悬液滴加至铜网上，室温晾干后用TEM观察微观形态并拍照，电压为80 kV。

6）CAPE-HD纳米颗粒FTIR检测：将CAPE和冻干CAPE-HD纳米颗粒分别与溴化钾混合研磨并压成片状，于傅里叶红外光谱仪上进行测试，频率范围4 000~400 cm^{-1}，分辨率4 cm^{-1}。

7）CAPE-HD纳米颗粒DSC检测：分别称取5 mg CAPE和冻干CAPE-HD纳米颗粒置于铝盘中，连续以20 mL/min的速度通入氮气，以10 ℃/min的速度从50 ℃升至300 ℃，并使用空密封铝盘作为基线，得到CAPE和CAPE-HD纳米颗粒的DSC谱图。

8）CAPE-HD纳米颗粒XRD检测：使用X射线仪在Cu靶和40 mA的电流条件下测量CAPE和冻干CAPE-HD纳米颗粒的晶体结构。扫描范围2θ=5°~60°，扫描速度0.02（°）/s。

1.3.2 CAPE-HD纳米颗粒包封率和载药率的测定

参照Zhang等[20]的方法。以CAPE乙醇母液分别配制4、6、8、10、12 μg/mL的CAPE乙醇溶液，使用紫外分光光度计测定323 nm处吸光度，并绘制标准曲线。取制备好的CAPE-HD纳米颗粒混悬液1 mL，4 ℃、15 000 r/min离心30 min，弃去上清液，用无水乙醇定容至10 mL，测定323 nm处吸光度，根据标准曲线和式（1）、式（2）分别计算CAPE-HD的包封率和载药率[21]。

$$E_E=\frac{m_i}{m_L}\times 100\% \quad (1)$$

$$C_L=\frac{m_i}{m_N}\times 100\% \quad (2)$$

式中：

E_E——CAPE-HD纳米颗粒对CAPE的包封率，%；

C_L——CAPE在CAPE-HD纳米颗粒中的载药率，%；

m_i——包封于纳米颗粒中CAPE质量，μg；

m_L——加入CAPE的总质量，μg；

m_N——CAPE-HD纳米颗粒质量，μg。

1.3.3 CAPE-HD纳米颗粒的贮藏稳定性分析

分别取10 mL新鲜制备的CAPE-HD纳米颗粒分别存放于4、25 ℃下，于第0、7、14、21、28天取样，分别测定不同贮藏条件下的粒径、Zeta电位和PDI值。

1.3.4 DPPH自由基清除能力测定

参照姬娜[22]的方法并稍加修改。避光称取DPPH粉末，用无水乙醇溶解，配制0.4 mmol/L的DPPH溶液，避光保存。取新鲜制备的CAPE-HD纳米颗粒配制成不同质量浓度的样品溶液，分别取1 mL样品溶液和0.2 mL DPPH混匀，避光静置30 min，6 000 r/min离心10 min。取上清液，测定517 nm处吸光度。以纯水替代纳米颗粒混悬液为对照液，以0.2 mL无水乙醇为空白液，按式（3）计算DPPH自由基清除率。

$$R=\left(1-\frac{A_y-A_f}{A_d}\right)\times 100\% \quad (3)$$

式中：

R——DPPH自由基清除率，%；

A_y——待测样品溶液吸光度；

A_d——对照液吸光度；

A_f——空白液吸光度。

1.3.5 细胞水平评价

1）细胞毒性试验：考察CAPE-HD纳米递送体系对Caco-2细胞是否具有细胞毒性，采用CCK-8法检测给药后细胞的存活能力[23]。将细胞按5×10^3个/孔的密度接种于96孔板中，每孔加入100 μL细胞悬液，于37 ℃、体积分数5% CO_2培养箱中培养24 h。弃去旧培养基，用PBS缓冲溶液洗涤细胞3次。加入100 μL不同质量浓度新鲜制备的CAPE-HD纳米颗粒样品溶液（样品用DMEM高糖培养基梯度稀释，含纳米颗粒质量浓度分别为0、1、5、10、50、100、200 μg/mL），每组设置5个平行复孔，于37 ℃、体积分数5% CO_2培养箱中孵育24 h。弃去样品，用PBS缓冲溶液洗涤细胞3次，每孔加入100 μL不含血清的完全培养基（体积分数为1%的双抗溶液、99%的DMEM高糖培养基），加入10 μL CCK-8溶液，于37 ℃、体积

分数5% CO_2培养箱中孵育1 h。细胞操作完毕后，用酶标仪测定450 nm处吸光度，并按式（4）计算细胞存活率。

$$V_c=\frac{A_s-A_b}{A_c-A_b}\times 100\% \quad (4)$$

式中：

V_c——细胞存活率，%；

A_s——待测样品吸光度；

A_c——对照组吸光度；

A_b——空白组吸光度。

以CAPE-HD纳米颗粒质量浓度为横坐标，细胞存活率为纵坐标，绘制细胞存活率曲线，考察CAPE-HD纳米颗粒的细胞毒性。与对照组相比，CAPE-HD纳米颗粒使细胞存活率降低>10%时，认为其对细胞有毒性。

2）CAPE-HD纳米颗粒抗氧化能力（CAA）测定：参照文献[24]的方法并修改。将Caco-2细胞以5×10^3个/孔的密度接种于96孔板中，每孔含100 μL完全培养基溶液，于37 ℃、体积分数5% CO_2培养箱中培养24 h。弃去旧培养基，用PBS溶液洗涤细胞3次。分别将不同质量浓度的CAPE-HD纳米颗粒加至100 μL DMEM高糖培养基（含25 μmol/L DCFH-DA）中，于37 ℃、体积分数5% CO_2培养箱中孵育1 h。弃去样品，用PBS溶液洗涤3次。每孔加入100 μL浓度为600 μmol/L的ABAP溶液（用PBS溶液配制）中。设置多功能酶标仪激发波长为485 nm，发射波长为538 nm，每隔5 min测定荧光强度，共持续测定1 h。对照组细胞用DCFH-DA、ABAP以及PBS溶液进行处理。按式（5）计算细胞CAA值。

$$A=100-\frac{\int SA}{\int CA}\times 100 \quad (5)$$

式中：

A——CAA值；

$\int SA$——样品的荧光与时间关系曲线下的积分区域；

$\int CA$——对照组荧光与时间关系曲线下的积分区域。

1.3.6　统计学方法

所有试验至少重复3次，结果以平均值±标准偏差表示。组间差异性采用t检验分析（P<0.05为差异显著）。

2　结果与讨论

2.1　CAPE-HD纳米颗粒表征结果

根据Guan等[17]的方法成功提取出大麦醇溶蛋白，平均产率为2.47%。由表1可知，新鲜制备的CAPE-HD平均粒径为193.93 nm，平均PDI为0.26，平均Zeta电位为14.50 mV。制备纳米颗粒时，pH对颗粒粒径、PDI和Zeta电位以及包封效率等理化性质有重要影响。当pH为6.0~7.0时，可能因接近蛋白质的等电点而导致蛋白质之间疏水相互作用增强，使得粒径增大，甚至部分聚集[25-26]。He等[19]研究表明，蛋白质纳米颗粒在较高pH下倾向于聚集和沉淀，趋于不稳定，且随着pH的不断增大，复合纳米粒子的包封率和负载效率逐渐降低。因此，采用pH 3.0作为CAPE-HD纳米颗粒的制备条件。郝晓丽等[27]研究表明，递送系统中颗粒尺寸<500 nm可完全穿过黏液层，颗粒尺寸越小越容易通过小肠上皮细胞被吸收。CAPE-HD的粒径值为193.93 nm，说明该纳米颗粒容易被吸收。一般来说，PDI>0.5说明体系为多分散系；PDI<0.5被认为是纳米分散系的最佳分布；PDI值接近0，则认为系统为单分散系[16]。多分散系会有较大的聚集倾向，CAPE-HD的PDI值为0.26，说明该纳米颗粒具有良好的分散性和系统稳定性。

CAPE-HD纳米颗粒的平均包封率为55.34%，平均载药率为3.45%。制备过程中，由于CAPE与大麦醇溶蛋白溶解于乙醇后，离心时CAPE损失较大导致包封率不高。而在制药工业生产中，离心沉淀的药物和载体材料可进入下一环节被重新利用，无材料浪费，各组分材料均可得到较好利用率。

表1　CAPE-HD的表征结果

Table 1　Characterization results of CAPE-HD nanoparticles

粒径/nm	PDI	Zeta电位/mV	包封率/%	载药率/%
193.93±5.18	0.26±0.04	14.50±0.89	55.34±5.08	3.45±0.32

2.2　CAPE-HD纳米颗粒的微观形貌分析

CAPE难溶于水，以大颗粒聚集状态存在，而CAPE-HD纳米颗粒混悬液澄清透明，无大颗粒物存在，表明CAPE-HD纳米颗粒在水溶液中均匀分散不聚集，大大提高了CAPE在水溶液中的溶解

度。由图 2 可知，CAPE-HD 纳米颗粒为形态规则的近球形颗粒，表面光滑，粒径约为 200 nm，相对均匀。各颗粒之间有轻微黏附，可能是大麦醇溶蛋白本身分子间作用力较大[19]。综上，CAPE-HD 纳米颗粒成功制备。

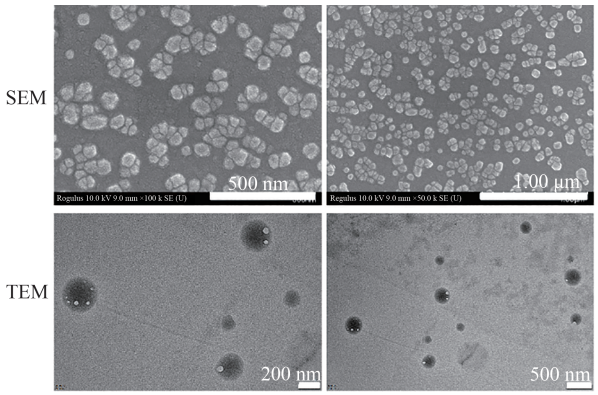


图 2　CAPE-HD 纳米颗粒的 SEM 和 TEM 观察图

Fig. 2　SEM and TEM observations of CAPE-HD nanoparticles

2.3　CAPE 和 CAPE-HD 纳米颗粒的 FTIR、DSC、XRD 谱图分析

由图 3（a）可知，CAPE 在 3 479、3 324 cm^{-1} 处特征峰由 CAPE 中苯酚上的—OH 伸缩振动产生，1 100、1 600 cm^{-1} 附近特征峰分别为苯酚芳香环中的 C═C 和 C—O 的伸缩振动，1 682 cm^{-1} 处吸收峰来自 CAPE 酯结构中的 C═O 伸缩振动[28-29]。CAPE-HD 纳米颗粒在 1 444、1 523 cm^{-1} 处吸收峰为蛋白质酰胺结构的特征峰，分别由酰胺中 C═O 的伸缩振动和 N—H 的变形振动产生[29]。而 CAPE-HD 中的—OH 峰红移至 3 306 cm^{-1} 处，表明—OH 在分子间氢键的作用下处于缔合状态。综上，CAPE-HD 纳米颗粒各组分之间通过氢键等非共价作用相互结合。

由图 3（b）可知，CAPE 在 128.59 ℃处出现一个吸热熔融峰，为 CAPE 的特征熔融峰[28]，而在 CAPE-HD 中此特征峰消失，且未出现明显的特征熔融峰。由图 3（c）可知，CAPE 在 6.12°、12.34°、18.55°、22.61°、26.53°处均有衍射峰，表明 CAPE 呈现晶体结构，而 CAPE-HD 纳米颗粒的 XRD 曲线为一条平滑的曲线。综上，纳米颗粒中 CAPE 的存在状态发生了变化，与大麦醇溶蛋白结合形成了新的复合产物，表明大麦醇溶蛋白成功负载 CAPE 生成了纳米颗粒。

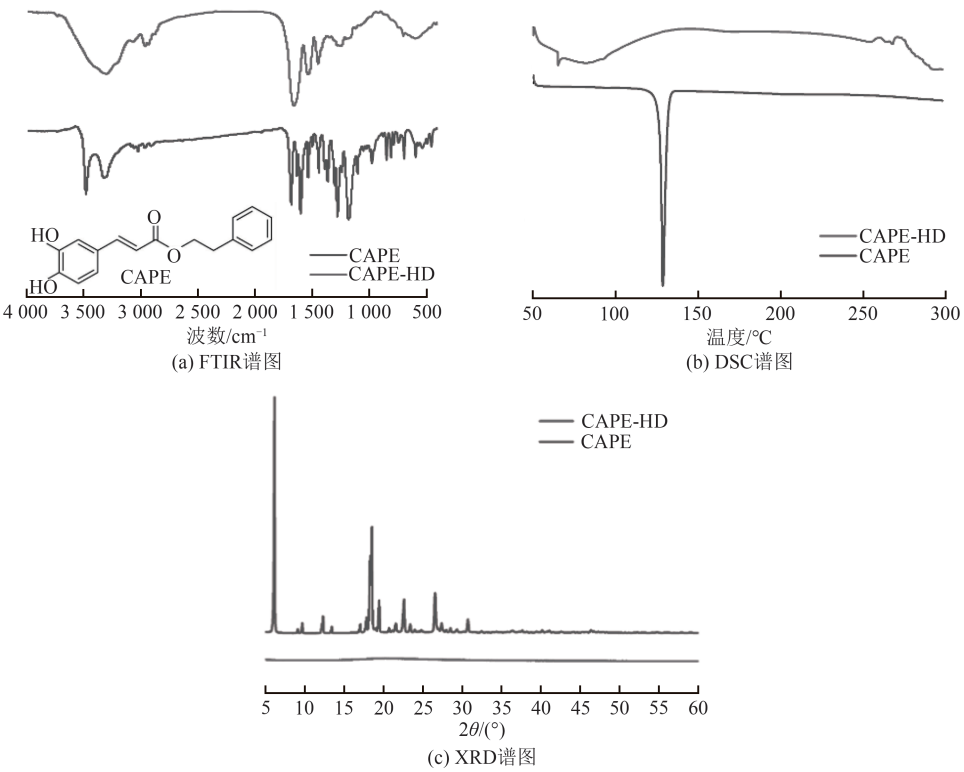


图 3　CAPE、CAPE-HD 的 FTIR、DSC、XRD 谱图

Fig. 3　FTIR, DSC, and XRD profiles of CAPE and CAPE-HD nanoparticles

2.4　CAPE-HP纳米颗粒的贮藏性能分析

由图4可知，贮藏28 d内，CAPE-HD纳米颗粒在4、25 ℃下的平均粒径为200 nm，与初制备时无显著性变化。纳米颗粒粒径的PDI则始终<0.5，表明纳米粒子在长期贮藏中一直处于稳定分散状态，未产生明显的聚集。此外，不同温度下贮藏的CAPE-HD纳米颗粒的Zeta电位基本处于较高正电荷状态，这也是CAPE-HD纳米颗粒长期稳定、未聚集的内在原因之一。

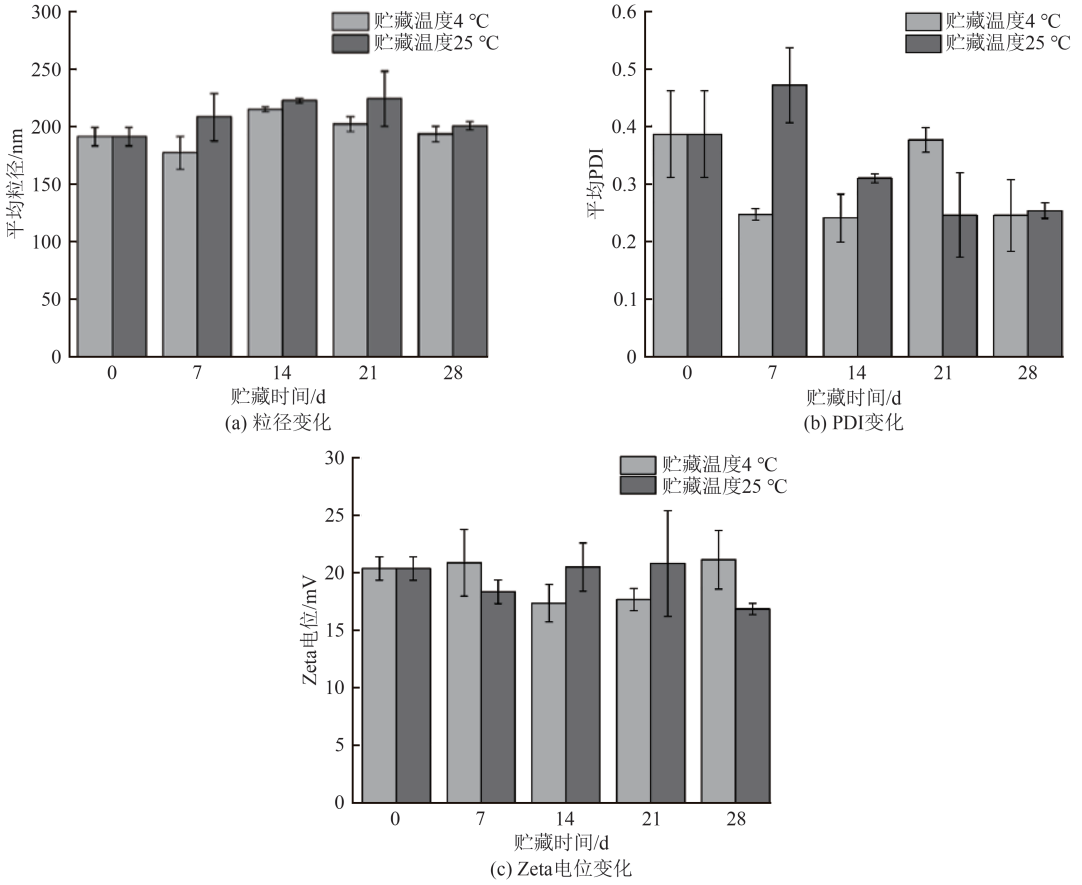


图4　贮藏期间CAPE-HD颗粒的粒径、PDI和Zeta电位

Fig. 4　Particle size, PDI, and Zeta potential of CAPE-HD nanoparticles in storage

2.5　细胞毒性试验结果分析

以Caco-2细胞为模型细胞，采用CCK-8法测定了纳米载体负载CAPE后对细胞存活率的影响，考察了CAPE-HD对细胞的毒性，结果如图5所示。以细胞存活率90%为衡量标准，由图5可知，在0~200 μg/mL时，纳米颗粒对Caco-2细胞均无明显毒性，细胞存活能力良好，表明此纳米载体在考察质量浓度范围内具有良好的生物相容性，这与CAPE和大麦醇溶蛋白均来源于食品材料有关。

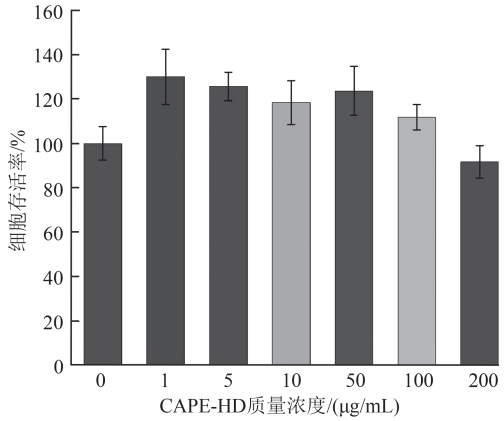


图5　不同质量浓度CAPE-HP纳米颗粒的Caco-2细胞毒性

Fig. 5　Caco-2 cytotoxicity of CAPE-HP nanoparticles at different mass concentrations

2.6　CAPE-HP纳米颗粒的抗氧化能力

2.6.1　DPPH自由基清除能力

DPPH法被广泛应用于生物试样、酚类物质和

活性食物组分的抗氧化测定[30-31]。由图6可知，DPPH自由基清除能力与体系中含有的CAPE-HD质量浓度呈正相关，随着CAPE-HD质量浓度的增加，DPPH自由基清除率逐渐增大。DPPH是一种疏水性自由基，水溶液中的疏水氨基酸和肽比亲水氨基酸和肽更容易清除DPPH自由基[28, 32]，大麦醇溶蛋白的疏水结构有利于进一步优化CAPE-HD的DPPH自由基清除能力，提高其抗氧化性。

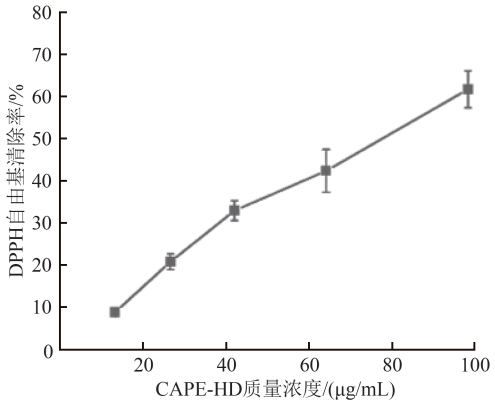
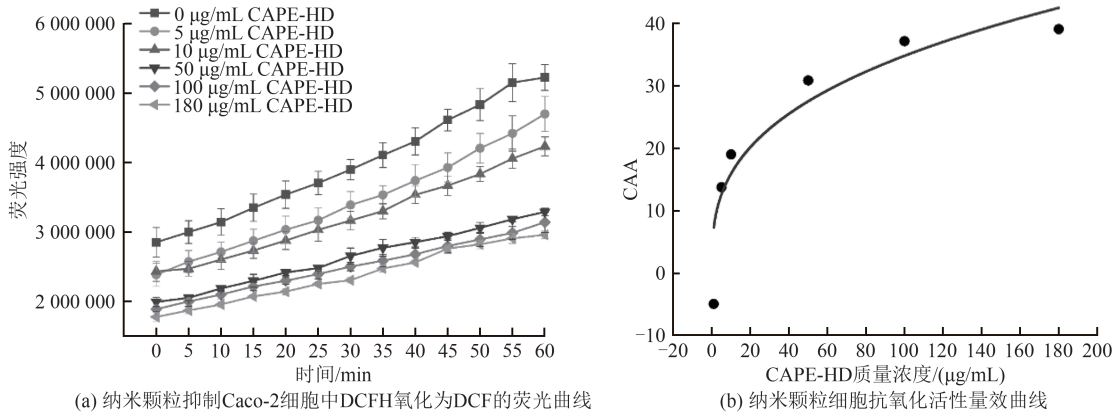


图6 CAPE-HD的DPPH自由基清除率曲线

Fig. 6 DPPH scavenging curve of CAPE-HD nanoparticles

2.6.2 细胞抗氧化能力(CAA)

探针DCFH-DA被Caco-2细胞吸收并发生脱乙酰化生成DCFH。ABAP产生过氧自由基会使DCFH氧化成荧光的二氯荧光素(DCF)，因此在荧光激发时，DCF的荧光强度与氧化水平呈正相关。而具有抗氧化能力的活性物质能使过氧自由基被淬灭并抑制DCF的产生。由图7(a)可知，DCF的形成导致荧光强度增加，而CAPE-HD纳米颗粒的存在抑制了荧光强度的增加，并随着CAPE-HD纳米颗粒质量浓度的升高，荧光强度逐渐降低。由图7(b)可知，随着纳米颗粒质量浓度的升高，CAA值不断增加，证明了CAPE-HD纳米颗粒在细胞中的抗氧化活性良好。



(a) 纳米颗粒抑制Caco-2细胞中DCFH氧化为DCF的荧光曲线 (b) 纳米颗粒细胞抗氧化活性量效曲线

图7 CAPE-HD纳米颗粒在Caco-2细胞内的抗氧化能力

Fig. 7 Antioxidant capacity of CAPE-HD nanoparticles with different mass concentrations in Caco-2 cells

3 结论

研究制备了新型咖啡酸苯乙酯-大麦醇溶蛋白(CAPE-HD)纳米颗粒。结果表明，CAPE-HD纳米颗粒粒径为193.93 nm，PDI为0.26，Zeta电位为14.50 mV，包封率为(55.34±5.08)%，载药率为(3.45±0.32)%。SEM、TEM观察到CAPE-HD为表面光滑、形态规则、近球形的纳米颗粒。FTIR、DSC、XRD谱图结果显示，CAPE-HD纳米颗粒中各组分之间通过氢键等分子间非共价作用力相互结合，且CAPE-HD纳米颗粒中咖啡酸苯乙酯的存在状态发生了变化，形成了新的复合物。CAPE-HD纳米颗粒显示出良好的贮藏稳定性，并对Caco-2细胞无细胞毒性，表现出优越的生物相容性。抗氧化试验表明，CAPE-HD可有效清除DPPH自由基，并在Caco-2细胞内抑制二氯荧光素的增长，且呈剂量依赖性，抗氧化能力值也随CAPE-HD质量浓度的增大而增大，表明CAPE-HD纳米颗粒具有良好的抗氧化能力。

参考文献

[1] 龚频，崔丹丹，常相娜，等. 咖啡酸苯乙酯对糖尿病小鼠心脏的保护作用[J]. 现代食品科技，2019，35(10)：1-5，195.

GONG P，CUI D D，CHANG X N，et al. Protective

effect of caffeic acid phenylethyl ester on heart of diabetic mice[J]. Modern Food Science and Technology, 2019, 35(10): 1-5, 195.(in Chinese)

[2] ARMUTCU F, AKYOL S, USTUNSOY S, et al. Therapeutic potential of caffeic acid phenethyl ester and its anti-inflammatory and immunomodulatory effects (Review)[J]. Experimental and Therapeutic Medicine, 2015, 9(5): 1582-1588.

[3] LIU Y Q, LIU K K, WANG X L, et al. Co-assembling nanoparticles of asiatic acid and caffeic acid phenethyl ester: characterization, stability and bioactivity *in vitro*[J]. Food Chemistry, 2023, 402: 134409.

[4] GRUNBERGER D, BANERJEE R, EISINGER K, et al. Preferential cytotoxicity on tumor cells by caffeic acid phenethyl ester isolated from propolis[J]. Experientia, 1988, 44(3): 230-232.

[5] LI H L, WU F, TAN J, et al. Caffeic acid phenethyl ester exhibiting distinctive binding interaction with human serum albumin implies the pharmacokinetic basis of propolis bioactive components[J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2016, 122: 21-28.

[6] 王秀芳，翟嵩，党双锁. 咖啡酸苯乙酯的药理作用及机制研究进展[J]. 国外医学(医学地理分册)，2010，31(3)：187-190.
WANG X F, ZHAI S, DANG S S. Review of the pharmacological action and mechanism of caffeic acid phenethyl ester[J]. Foreign Medical Sciences (Section of Medgeography), 2010, 31(3): 187-190.(in Chinese)

[7] 王晓，张忠，袁莉. 食物黄酮异荭草素及其银纳米颗粒的保肝活性[J]. 食品与生物技术学报，2023，42(5)：102-111.
WANG X, ZHANG Z, YUAN L. Hepatoprotective effect of isoorientin and its silver nanoparticle[J]. Journal of Food Science and Biotechnology, 2023, 42(5): 102-111.(in Chinese)

[8] 陈杨玲，焦叶，崔波，等. 蛋白基植物多酚纳米输送载体研究进展[J]. 食品与机械，2022，38(4)：8-14.
CHEN Y L, JIAO Y, CUI B, et al. Research progress of protein-based plant polyphenol nano-delivery carriers[J]. Food & Machinery, 2022, 38(4): 8-14.(in Chinese)

[9] 闫馨月，贾亦佳，孙诗艳，等. 火麻油复合纳米乳液的制备及稳定性研究[J]. 食品与生物技术学报，2022，41(6)：84-90.
YAN X Y, JIA Y J, SUN S Y, et al. Preparation and stability of hemp seed oil composite nano-emulsion[J]. Journal of Food Science and Biotechnology, 2022, 41(6): 84-90.(in Chinese)

[10] WANG G Y, YU B, WU Y Q, et al. Controlled preparation and antitumor efficacy of vitamin E TPGS-functionalized PLGA nanoparticles for delivery of paclitaxel[J]. International Journal of Pharmaceutics, 2013, 446(1/2): 24-33.

[11] ZENG Q, ZENG W H, JIN Y G, et al. Construction and evaluation of ovalbumin-pullulan nanogels as a potential delivery carrier for curcumin[J]. Food Chemistry, 2022, 367: 130716.

[12] HUANG X X, HUANG X L, GONG Y S, et al. Enhancement of curcumin water dispersibility and antioxidant activity using core-shell protein-polysaccharide nanoparticles[J]. Food Research International, 2016, 87: 1-9.

[13] 魏雪林，钟艳，刘雪，等. 疏水性功能性因子纳米包埋体系研究进展[J]. 食品与发酵工业，2021，47(14)：300-306.
WEI X L, ZHONG Y, LIU X, et al. Review of hydrophobic functional factor nano-embedding system[J]. Food and Fermentation Industries, 2021, 47(14): 300-306.(in Chinese)

[14] 刘烨，彭雅琦，邹艳，等. 负载白藜芦醇的玉米醇溶蛋白-果胶纳米粒抗氧化活性及其对急性炎症小鼠的抗炎作用[J]. 现代食品科技，2020，36(5)：7-13.
LIU Y, PENG Y Q, ZOU Y, et al. Antioxidant activity and anti-inflammatory effect on acute inflammatory mice of resveratrol-loaded zein-pectin nanoparticles[J]. Modern Food Science and Technology, 2020, 36(5): 7-13.(in Chinese)

[15] SONG H D, WANG Q Y, HE A J, et al. Antioxidant activity, storage stability and *in vitro* release of epigallocatechin-3-gallate (EGCG) encapsulated in hordein nanoparticles[J]. Food Chemistry, 2022, 388: 132903.

[16] SONG H D, HE A J, GUAN X, et al. Fabrication of chitosan-coated epigallocatechin-3-gallate (EGCG)-hordein nanoparticles and their transcellular permeability in Caco-2/HT29 cocultures[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2022, 196: 144-150.

[17] GUAN X, LV X L, HUANG K, et al. Adsorption of Cu(Ⅱ) ion by a novel hordein electrospun nanofiber modified by β-cyclodextrin[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 135: 691-697.

[18] DAI L, LI R R, WEI Y, et al. Fabrication of zein and rhamnolipid complex nanoparticles to enhance the stability and *in vitro* release of curcumin[J]. Food Hydrocolloids, 2018, 77: 617-628.

[19] HE A J, GUAN X, SONG H D, et al. Encapsulation of (−)-epigallocatechin-gallate (EGCG) in hordein nanoparticles[J]. Food Bioscience, 2020, 37: 100727.

[20] ZHANG Y H，ZHAO M M，NING Z X，et al. Development of a sono-assembled，bifunctional soy peptide nanoparticle for cellular delivery of hydrophobic active cargoes[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry，2018，66(16)：4208-4218.

[21] 靳祖珑，冯思怡，胡亚雯，等. 燕麦耐消化肽纳米载体的制备表征及其对咖啡酸苯乙酯的包埋作用研究[J]. 食品与发酵工业，2022，48(15)：169-175.
JIN Z L，FENG S Y，HU Y W，et al. Preparation and characterization of oat digestive resistant peptide nanocarrier and its embedding effect on caffeic acid phenethyl ester[J]. Food and Fermentation Industries，2022，48(15)：169-175.(in Chinese)

[22] 姬娜. 淀粉基口服胰岛素纳米复合物的制备及性能研究[D]. 无锡：江南大学，2019.

[23] LI S，LV H Y，CHEN Y，et al. N-trimethyl chitosan coated targeting nanoparticles improve the oral bioavailability and antioxidant activity of vitexin[J]. Carbohydrate Polymers，2022，286：119273.

[24] WOLFE K L，LIU R H. Cellular antioxidant activity (CAA) assay for assessing antioxidants，foods，and dietary supplements[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry，2007，55(22)：8896-8907.

[25] PODARALLA S，PERUMAL O. Influence of formulation factors on the preparation of zein nanoparticles[J]. AAPS PharmSciTech，2012，13(3)：919-927.

[26] BOOSTANI S，HOSSEINI S M H，GOLMAKANI M T，et al. The influence of emulsion parameters on physical stability and rheological properties of Pickering emulsions stabilized by hordein nanoparticles[J]. Food Hydrocolloids，2020，101：105520.

[27] 郝晓丽，吉日木图，何静. 利用纳米载体口服递送生物活性肽的研究进展[J]. 食品科学，2021，42(11)：341-348.
HAO X L，JI Rimutu，HE J. Recent progress of nanocarriers for the oral delivery of bioactive peptides[J]. Food Science，2021，42(11)：341-348.(in Chinese)

[28] QIN J J，YANG M，WANG Y C，et al. Interaction between caffeic acid/caffeic acid phenethyl ester and micellar casein[J]. Food Chemistry，2021，349：129154.

[29] WEI X L，DAI J，DU Y W，et al. Caffeic acid phenethyl ester loaded in a targeted delivery system based on a solid-in-oil-in-water multilayer emulsion：characterization，stability，and fate of the emulsion during *in vivo* digestion[J]. Food Research International，2022，161：111756.

[30] 孟繁玲，张宇，徐少博，等. 南瓜中游离叶黄素的制备及抗氧化活性[J]. 食品与生物技术学报，2020，39(8)：81-88.
MENG F L，ZHANG Y，XU S B，et al. Manufacture process and antioxidant activity of free lutein from *Cucurbita moschata* duch[J]. Journal of Food Science and Biotechnology，2020，39(8)：81-88.(in Chinese)

[31] 方嘉沁，董宇豪，潘振辉，等. 甘蔗糖浆中酚类提取物的抗氧化、降血糖活性及其在低GI月饼中的应用[J]. 现代食品科技，2023，39(10)：271-277.
FANG J Q，DONG Y H，PAN Z H，et al. Antioxidant and hypoglycemic activities of polyphenol extracts from sugarcane molasses and their application in low-GI mooncakes[J]. Modern Food Science and Technology，2023，39(10)：271-277.(in Chinese)

[32] SARABANDI K，SADEGHI MAHOONAK A，HAMISHEKAR H，et al. Microencapsulation of casein hydrolysates：physicochemical，antioxidant and microstructure properties[J]. Journal of Food Engineering，2018，237：86-95.