虾青素纳米制剂研究进展及其策略分析

况 燕，苏文婧，苏为科*，许文灏*
（浙江工业大学长三角绿色制药协同创新中心，浙江杭州 310014）

摘要：虾青素作为一种脂溶性的类胡萝卜素，具有强大的抗氧化性能，但因水溶性差，对温度、光、氧等外界环境敏感，生物利用度低等问题而限制了应用。新型纳米给药系统对于改善上述缺陷具有优势。该文就目前基于脂质、多糖和蛋白的虾青素新型纳米递送系统的研究现状和应用进行综述，并归纳与思考了虾青素纳米递送系统的研究方向，期望为虾青素的临床应用提供帮助。

关键词：虾青素；纳米递送系统；基于脂质的递送系统；基于多糖的递送系统；基于蛋白的递送系统
中图分类号：R944.9 **文献标志码**：A **文章编号**：1001-8255(2023)10-1411-09
DOI：10.16522/j.cnki.cjph.2023.10.002

Research Progress and Strategy Analysis of Astaxanthin Nano Preparations

KUANG Yan, SU Wenjing, SU Weike*, XU Wenhao*
(*Collaborative Innovation Center of Yangtze River Delta Region Green Pharmaceuticals, Zhejiang University of Technology, Hangzhou 310014*)

ABSTRACT: Astaxanthin, as a fat-soluble carotenoid, has strong antioxidant properties. However, its application is limited due to the poor water solubility, extreme sensitivity to temperature, light and oxygen, and low bioavailability. Nowadays, new nano drug delivery systems have advantages in improving the aforementioned defects. In this paper, the current research status and application of astaxanthin nano preparations based on lipid, polysaccharide and protein are reviewed. Then, the directions of research on astaxanthin nano delivery systems are generalized and contemplated, hoping to provide references for the future clinical application of astaxanthin.

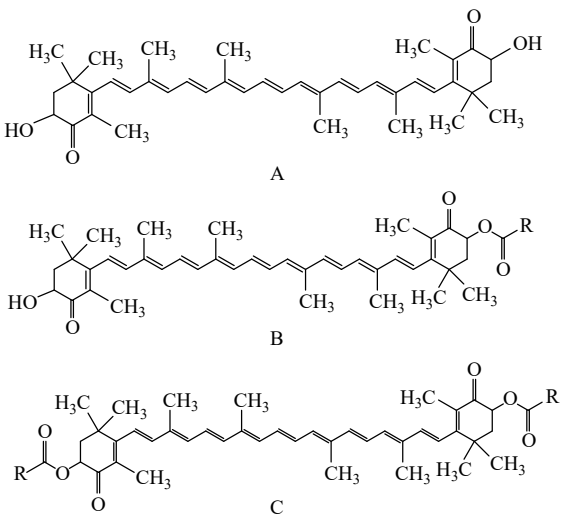
Key Words: astaxanthin; nano delivery system; lipid-based delivery system; polysaccharide-based delivery system; protein-based delivery system

虾青素（astaxanthin，**1**）又名变胞藻黄素或虾红素，化学名为（3,3'- 二羟基 -4,4'- 二酮 -β,β'- 胡萝卜素），是一种叶黄素类胡萝卜素[1]，主要以游离态和酯化态 2 种形式存在，如图 1 所示。**1** 多存在于各种微生物（如红法夫酵母）和海洋动物（如微藻、三文鱼、磷虾），以及一些复杂植物和鸟类中[2]，是类胡萝卜素含氧衍生物中抗氧化能力较强的物质。在阻止紫外线光氧化方面，**1** 比 β- 胡萝卜素和叶黄素更有效，抗氧化活性比玉米黄质和角黄素等类胡萝卜素高 10 倍，比维生素 E 高 100 ～ 500 倍[3]。

天然 **1** 分子中含有一条长链不饱和共轭双键和紫罗酮结构，这些共轭双键含有不成对的电子，具有活跃的电子效应，不仅可以为自由基提供电子，还可以与自由基作用形成加合物[4]，从而抑制单线态氧、清除自由基、抑制脂质过氧化、调节氧化应激相关基因的表达，以此发挥抗氧化的作用[5]。

1 较强的抗氧化活性不仅因为结构中存在共轭双键，还与其结合到细胞膜上占据的优越位置有关[6]。**1** 分子上的长链烯烃可以捕获细胞膜磷脂双分子层上的自由基，而两端的羟基和羰基可以清除

收稿日期：2023-02-10
作者简介：况 燕(1999—)，女，硕士研究生，专业方向：机械化学及绿色制药。
E-mail：ky19825980570@163.com
通信作者：苏为科(1961—)，男，教授，从事绿色制药技术开发与应用的研究。
E-mail：suweike@zjut.edu.cn
许文灏(1986—)，男，讲师，从事机械化学技术开发与应用的研究。
E-mail：xuwenhao@shut.edu.cn



A—游离态 **1**；B—**1** 单酯；C—**1** 双酯

图 1　1 及其酯的化学结构

Fig.1　Chemical Structures of **1** and Its Esters

细胞膜内外的自由基[7]。相关研究表明，**1** 具有清除体内自由基、抗衰老[8]、改善认知功能[9]、通过多种分子机制介导抗肿瘤作用[10]、改善心脏功能[11]、降低炎症反应[12]、改善运动功能等作用。而且 **1** 作为唯一能透过血脑屏障的类胡萝卜素类活性物质，在中枢神经系统中所发挥的抗氧化与自由基清除作用是其他抗氧化剂难以达到的[13]。因此 **1** 在阿尔茨海默病等神经退行性疾病的预防与治疗中受到了广泛关注[14]。

1　市售 1 产品存在的问题

1 具有多种生理活性，但因自身特性严重阻碍了产品的开发。

1.1　溶解度

1 是一种脂溶性类胡萝卜素，在水溶液中溶解度极低[15]，在体内只能通过脂肪吸收途径进行吸收，而人体能消化并吸收的脂肪量有限，这大幅限制了 **1** 的吸收。市售的 **1** 口服产品，每日最大吸收量超过 12 mg 便会出现吸收不佳的情况，发生红便现象，导致 **1** 在体内的剂量不足，难以发挥抗氧化作用。这是目前制约 **1** 产品发展的瓶颈之一。此外，由于 **1** 分子极性较低、水溶性较差，在大多数水性基质中难以溶解，阻碍其发挥清除自由基、活性氧和活性氮的作用，从而不能抑制活性氧对真皮层胶原蛋白、弹力蛋白的破坏，以及黑色素的合成与沉着[16]。因此，提高 **1** 的水溶性成为产品开发中亟待解决的问题。

1.2　稳定性

由于长链不饱和共轭双键的结构特性，使 **1** 在加工和贮存过程中会受到外界环境中光、热、金属离子、氧气或自由基等因素的影响而被氧化，进而失去原有的生物活性[17]。此外，**1** 是油状液体，稳定性差，大幅限制了生产和应用。

1.3　生物利用度

因为 **1** 的水溶性和分散性较差，进入体内后在胃肠液中的溶解量有限，会影响肠上皮细胞的吸收。溶解在胃肠液中的 **1** 可自由扩散通过磷脂双分子层，被肠黏膜细胞部分吸收后与乳糜微粒结合，转运进入血液中，被脂蛋白脂肪酶消化后储存在肝脏中，然后在肝脏中与极低密度脂蛋白（VLDL）、低密度脂蛋白（LDL）和高密度脂蛋白（HDL）结合，最终通过体循环运输到皮肤、肌肉和性腺等组织中。由于肝脏是类胡萝卜素的主要代谢器官，储存在肝脏的 **1** 会被分解成其他色素或不含色素的代谢物，后随胆汁分泌到肠道，进行重吸收；而未被代谢的 **1** 则重新与 VLDL 结合进入肝脏，最后经肾脏排出。**1** 高剂量时会与胆汁形成胶束，进一步抑制吸收，从而导致生物利用度降低[18]。同样，由于体内溶解度的变化，**1** 的制剂处方还具有较大的个体差异，限制了其在食品、化妆品和生物医学领域的应用。

1.4　其他

由于人工合成的 **1** 均为游离态，稳定性以及在体内的吸收率和沉积率均低于天然产品，而且因不能以酯化形式存在，合成产物颜色多变。人工合成的 **1** 还可能因混入各种杂质或副产物等引起生物利用安全性问题。

新型纳米给药系统可解决 **1** 溶解性差、在外部环境的影响下不稳定、生物利用度低、在消化道内分散性差的问题[19]。以下将综述 **1** 纳米递送系统的研究进展，对其研究方向进行总结、归纳与思考，以期为今后 **1** 的理论研究和实际应用提供参考。

2 基于脂质的递送系统

基于脂质的递送系统具有可生物降解和生物相容的特点[20]，且可以与疏水性成分形成胶束、靶向传递生物活性成分或控制疏水性成分的释放[21]，因此成为疏水性生物活性分子的优良运载体[22]。基于脂质的递送系统可进一步划分为纳米乳、纳米脂质体、固体脂质纳米粒（SLNs）和纳米结构脂质载体（NLCs）等[23]。

2.1 纳米乳

纳米乳平均粒径为 50 ～ 500 nm[24]，与粗分散体系相比具有更高的动力学稳定性[25]，能提高疏水性成分的溶解性和生物利用度。纳米乳的制备方法包括微流化、超声和均质化等技术。根据介质中分散相和连续相的分布和比例，可将纳米乳分为单乳（O/W 型或 W/O 型）和复乳（W/O/W 型或 O/W/O 型等）[26]。

CHEN 等[27]用天然乳化剂绞股蓝皂苷制备负载 **1** 的 O/W 型纳米乳，所得制品平均粒径为（125±2）nm，且在 5 和 25 ℃下贮存 30 d 期间可有效抑制 **1** 的降解，表明纳米乳可提高 **1** 的稳定性，保护其免受外界环境的影响。TAKEMOTO 等[28]以斑马鱼侧线系统为模型，研究 **1** 对新霉素损伤的毛细胞的保护作用。结果显示 **1** 纳米乳能保护毛细胞避免受到新霉素诱导凋亡的影响。DOMÍNGUEZ-HERNÁNDEZ 等[29]分别采用高能法和低能法制备 **1** 纳米乳，考察了油相和表面活性剂浓度对粒径的影响，并以大鼠为模型评价了 **1** 纳米乳的吸收动力学。结果显示，纳米乳化可使 **1** 的血浆浓度增加到 **1** 乙醇溶液试验组的 7.5 倍。SUN 等[30]采用高压均质法制得的 **1** 纳米乳乳滴呈球形、粒度分布均匀、包封率高［(98.4±0.3)％］，并能在 25 ℃贮存 4 周期间保护 **1** 不被降解。体外细胞试验表明，该纳米乳毒性较低，可保护细胞免受氧化应激损伤，证实了纳米乳可更好地发挥 **1** 抑制过氧化、清除自由基的作用。

综上所述，纳米乳是 **1** 的优良载体，不仅可以提高 **1** 的稳定性，口服后部分 **1** 纳米乳可经淋巴管吸收，避免肝脏首过效应，增强了疏水性 **1** 的吸收，提高了生物利用度，有利于增强 **1** 在体内清除自由基、抑制过氧化的能力。但体系中乳化剂和分散相的占比、贮存温度和时间、黏度和乳化温度等影响着纳米乳的稳定性，所以纳米乳的处方设计是一大挑战，未来需要探索出更优良的乳化剂或制备方法，以减少对制备条件的依赖与敏感性。

2.2 纳米脂质体

脂质体既可以包封亲脂性药物，又可以包封亲水性化合物。亲水性分子聚集在囊泡水相中或双分子层表面，而疏水性分子可在双分子层的非水区沉积[31]。脂质体具有无毒性、无免疫原性、可生物降解、非离子性和低环境兼容性等特点。纳米脂质体相较于一般的脂质体，具有渗透活性更强、化学稳定性更高和贮存时间更长的优势[32]；根据平均粒径大小可分为三类：小单室脂质体（粒径 10 ～ 100 nm）、大单室脂质体（粒径 100 ～ 3 000 nm）和多室脂质体[33]。

PAN 等[34]以大豆磷脂酰胆碱为原料，采用薄膜超声法制备负载 **1** 的纳米脂质体，所得制品在 4 ℃保存 15 d 后，**1** 的保留率为 82.29％；并且，纳米脂质体使 **1** 的还原力、1,1- 二苯基 -2- 三硝基苯肼（DPPH）自由基清除活性、脂质过氧化抑制能力等抗氧化活性明显提高。HAMA 等[35]采用脂质水合法制备 **1** 卵磷脂酰胆碱脂质体。结果表明，制品对水相中依赖化学发光的单线态氧具有较强的清除能力，可以防止紫外线引起的皮肤增厚，以及紫外线照射引起的胶原蛋白减少和黑色素的产生，因此 **1** 纳米脂质体可预防紫外线引起的皮肤损伤。SANGSURIYAWONG 等[36]采用 2 种不同比例的混合磷脂（其中磷脂酰胆碱含量为 23％或 70％）在不同浓度（0.8％、1.6％和 2.0％）下制备负载 **1** 的脂质体，并表征制品的包封率、抗氧化活性、形态和 **1** 稳定性。结果显示，所有的脂质体都可以保持 **1** 的抗氧化活性；并且，人结直肠腺癌细胞（Caco-2 细胞）对磷脂酰胆碱含量为 70％且混合磷脂浓度为 2.0％的 **1** 脂质体摄取率较高。

综上所述，**1** 纳米脂质体可改变 **1** 的体内分布，提高疗效、减轻不良反应，并延长 **1** 的作用时间。

但纳米脂质体会受到纤维细胞、肝细胞和胆囊细胞等的诱导而发生泄露，因此降低脂质体的泄漏率、提高其载药量与包封率，开发刺激响应性或靶向性纳米脂质体是未来发展的目标。

2.3　SLNs

SLNs 是由固态脂质（类固醇、脂肪酸、部分甘油酯、蜡、甘油三酯）、表面活性剂、药物组成的颗粒，如图 2A 所示。这些脂质在人体环境或室温下均保持其晶体结构 [37]。SLNs 能高效包封亲水性和亲脂性生物活性成分，具有稳定性好、能控制药物释放速率、生物安全性高、易于大规模生产等特点。SLNs 一般可采用均质、喷雾干燥、超声、乳化 - 溶剂蒸发等方法制备 [38]。

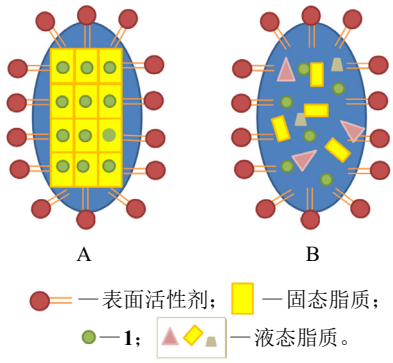


图 2　SLNs（A）和 NLCs（B）结构示意图

Fig.2　Structural Diagrams of SLNs (A) and NLCs (B)

SHAKERI 等 [39] 制备了负载 **1** 和香芹素的蜂蜡 SLNs。结果显示，蜂蜡固体脂质纳米粒能够保护 **1** 和香芹素免受酸、碱和氧化条件的影响；并且，在 4 ℃储存 1 个月后，没有观察到任何聚集体或附聚物的产生，提示 SLNs 能明显提高 **1** 的物理化学稳定性。文献 [40] 采用复乳 - 溶剂置换法制备了 **1** SLNs，并采用经鼻给药方式来改善脑靶向效率。经处方优化后，**1** SLNs 粒径为 213.23 nm、PDI 为 0.367。生物体内分布试验结果表明，脑部的 **1** 浓度较高，并且鼻腔给药可以最大限度保护神经免受氧化应激的影响。LI 等 [41] 采用高压均质法制备的 **1** SLNs 在 4 和 25 ℃下均表现出良好的长期稳定性，颗粒尺寸没有明显改变；与游离 **1** 相比，SLNs 中 **1** 的化学稳定性明显增强。体外释放试验表明，SLNs 可以延长 **1** SLNs 在模拟胃液和肠液中 **1** 的释放时间。

未来对 SLNs 的表面修饰将是一个新的研究方向，例如延长药物在血液循环系统中滞留时间的长循环 SLNs、表面修饰电荷的纳米粒、免疫纳米粒等，这将对 **1** 的药效发挥与推广应用起巨大作用。

2.4　NLCs

NLCs 由液态和固态脂质（内层）以及在水（外层）中的乳化剂组成，如图 2B 所示。SLNs 和 NLCs 之间的区别在于 NLCs 中存在 5%～ 40%的固相与液相交换 [21]。NLCs 对生物活性物质的负载能力更强，还能增强药物在胃肠道环境中的控释特性 [42]。NLCs 共有 3 种类型：复合型、非晶态性和不完美型 [43]。

TAMJIDI 等 [44] 以 α- 生育酚和乙二胺四乙酸为抗氧化剂、Tween-80 和卵磷脂为稳定剂制备 **1** NLCs，并考察了 pH 值、离子强度、热处理、模拟胃液和冻融循环对制品稳定性的影响。结果表明，pH 值、离子强度、热处理、模拟胃液对 **1** NLCs 的化学稳定性无显著影响，并且观察到甘油可防止冻融过程中 **1** NLCs 的聚集。RODRIGUEZ-RUIZ 等 [45] 以葵花籽油为液体脂质，采用绿色合成工艺制备 **1** NLCs。用 α- 生育酚等效抗氧化能力测定法检测制品的抗氧化活性，并与天然 **1** 和 α- 生育酚进行比较。结果表明，**1** NLCs 具有稳定 **1** 分子、保持和增强其抗氧化活性的作用。

NLCs 除了具有 SLNs 的优良特性外，还大幅提高了载药量，扩大了脂质成分和生物活性分子的选择范围。未来可以加强智能响应性 NLCs 的研究与设计，为更多的疏水性分子进入体内发挥疗效提供帮助。

3　基于多糖的递送系统

1- 多糖复合物纳米粒主要通过 2 种方法制备：第一种是传统的“液态”技术；第二种是“固态”复合制备方法，例如用机械化学法处理 **1** 与多糖晶体的混合物，无需使用任何有机溶剂，生产过程经济、省时、环保，且能形成水溶性更好、生物利用度更高的 **1** 复合物 [46]。

3.1 环糊精类载体

环糊精是淀粉降解产生的环状寡糖，能够改善生物活性分子的生物学、化学和物理性质，且价格低廉，对人类友好。环糊精分子与脂溶性的**1**分子通过范德华力、氢键或离子配对等作用力形成包合物后，能增大**1**的溶解度、提高稳定性、改善生物利用度[47]。

NALAWADE等[48]采用喷雾干燥法制备负载**1**的甲基-β-环糊精（Me-β-CD）包合物纳米粒。试验表明，Me-β-CD可使**1**的溶解度提高至0.012 mmol/L。45 min内，**1**与Me-β-CD的包合物纳米粒的溶解速率比**1**增加了10倍。人肝癌细胞（HepG2细胞）摄取试验表明，**1**包合物纳米粒的细胞摄取率增加，提示其增加了**1**的生物可及性。体外表征试验和分子模拟结果证实，**1**分子的六元环结构能部分结合到Me-β-CD的空腔中。这项研究为使用环糊精结合喷雾干燥技术开发可溶的和可生物利用的**1**口服制剂提供了借鉴。

YUAN等[49]采用冷冻干燥法制备负载**1**的羟丙基-β-环糊精（HP-β-CD）包合物纳米粒，体外表征试验结果同样表明，**1**分子的六元环结构部分结合到HP-β-CD的空腔中。此外，分子模拟建模测试结果表明主客体化学计量比为2∶1的包合物纳米粒具有最低的结合能（Δ*E*）值，即**1**分子的2个六元环分别插入到2个HP-β-CD空腔中，并且这种构型占据了主要地位。此外，该包合物纳米粒在4和25 ℃的环境中具有良好的贮存稳定性，并且其清除羟基自由基的活性比维生素C高数10倍，表明环糊精类载体能提高**1**的稳定性与生物活性[50]。

环糊精作为一种传统的多糖类载体，具有生物相容好、价格低廉的优势，且结合新型制备方法如机械化学法等可实现绿色、经济、环保、量化生产。因此，开发出更高效的制备方法和性能优良的环糊精类衍生物是该类载体未来的研究方向，还应解决环糊精类包合物纳米粒在胃肠道中的降解问题，实现控释与靶向递送的目标。

3.2 壳聚糖类载体

壳聚糖是一种天然多糖，在自然界的分布仅次于纤维素；作为一种载体，具有提高药物溶解度和稳定性，增强生物利用度并降低毒性，以及缓控释的优点。

WANG等[42]报道，与3.35 nmol/L的游离**1**相比，**1**-壳聚糖聚合物体系对过氧化氢诱导的细胞氧化损伤有较强的保护作用，细胞存活率可由49.9%提高到61.9%；**1**-壳聚糖聚合物体系对活性氧的清除效率高达54.3%，是游离**1**的2倍。此外，**1**-壳聚糖体系能在短时间内被Caco-2细胞吞噬，这说明被包裹的**1**可以通过内吞作用被肠上皮细胞吸收。LIU等[18]将**1**包裹在PLGA纳米粒中，再用壳聚糖包覆。结果表明，制品对**1**的包封率（>85%）和负载能力（>15%）较高，且在水溶液中具有良好的分散性和稳定性，同时细胞相容性也较高。

壳聚糖作为一种可生物降解载体，其控释特性与靶向递送是制药领域关注的焦点。因此，合成不同相对分子质量的壳聚糖以实现药物的精准控制释放，或在壳聚糖上连接特定的功能基团将成为壳聚糖载体系统的新兴发展方向。

3.3 海藻酸盐类载体

海藻酸盐是一种天然的阴离子聚合物，具有生物相容性良好、毒性低、成本相对较低，以及可通过添加二价阳离子（如Ca^{2+}）进行温和凝胶化的特点，已被广泛应用于生物医药研究领域中。

ZHANG等[51]报道负载**1**的海藻酸钙纳米囊比游离**1**具有更高的贮存稳定性、抗氧化活性、溶解度、细胞抑制活性和包封率，证明海藻酸钙可作为**1**的优良载体。NIIZAWA等[52]通过温和、经济的封装方法（外部凝胶法）成功制备了负载天然**1**油性树脂的海藻酸钠纳米囊。释放动力学模型拟合结果表明，在模拟肠道条件下，氯化钙浓度、藻酸盐与油性树脂的比例和表面活性剂浓度对该纳米囊的表面溶蚀具有显著影响。

海藻酸盐作为一种遇水膨胀的载体材料可使药物实现速释效果，但易吸湿的特性制约了其作为不稳定生物活性分子载体材料的应用。因此，开发具有更优良特性的海藻酸盐衍生物成为该类载体系统研究的重点。

4 基于蛋白的递送系统

基于蛋白类的药物运载体常用于包封脂肪酸、油、脂肪和其他生物活性分子[53]。常见的动物蛋白包括乳清蛋白、酪蛋白、明胶、胶原蛋白、白蛋白等，植物蛋白包括大豆蛋白、谷类蛋白、玉米蛋白、胶质蛋白[54]。

ZANONI 等[55]以乳清蛋白为稳定剂，采用乳化 - 溶剂蒸发法制备 **1** 纳米粒，通过模拟胃肠道环境研究制品中 **1** 的释放情况。结果表明 **1** 的生物可及性最大为 76%，且 75%的 **1** 被转化为生物可及性较高的游离形态。SHEN 等[56]以乳清蛋白分离物和聚合乳清蛋白为原料，采用乳化 - 溶剂蒸发法制备 **1** 纳米分散体，并使用 Caco-2 细胞单层模型对 **1** 的转运进行了评价。结果表明，乳清蛋白稳定的纳米分散体是递送亲脂性生物活性化合物（如 **1**）并提高其生物利用度的良好载体。EDELMAN 等[57]探究了以马铃薯蛋白为载体保护 **1** 和改善其溶解度、生物可及性和生物利用度方面的潜力。经模拟胃肠液消化后，78%微囊化的 **1** 被保留，而游离 **1** 仅被保留了 23%；利用 Caco-2 细胞模型的研究结果表明，微囊化 **1** 的体外生物利用度比游离 **1** 高 7 倍。

蛋白类纳米递送系统因可生物降解、非抗原性等特点受到药学工作者的关注。但蛋白类产品易受外界环境的影响而变性，在贮存、运输及体内环境中可能不利于维持生物活性分子的稳定性，且动物来源的蛋白可能受到环保主义者的控诉。因此，寻找具有更优良特性且患者依从性良好的蛋白类产品成为此类递送系统未来的研究方向。

5 结论

中枢神经系统退行性疾病、肿瘤、心脑血管系统疾病以及机体的炎症反应都与组织、细胞的过度氧化有关。**1** 的抗氧化性毋庸置疑，因此研发新型纳米剂型来发挥 **1** 的治疗优势，规避其水不溶性、不稳定、生物利用度低的缺点，应是药学研究中的工作重点。

在诸多纳米给药系统中，基于脂质的递送系统具有可生物降解和生物相容的特点，且可与疏水性成分形成胶束，靶向递送生物活性成分或控制疏水性成分的释放[21]。基于多糖的递送系统，载体材料来源广泛，其中的环糊精具有生物相容良好和价格低廉的优势，且结合新型制备方法如机械化学法等可实现绿色、经济、环保、量化生产。如能解决环糊精类纳米粒在胃肠道中的降解问题，将实现 **1** 环糊精包合物纳米粒在体内的控释与靶向传递；此外，通过控制壳聚糖的相对分子质量也可实现药物的精准控制释放。

目前对于 **1** 递送系统的大多数研究还处于初步阶段，在体内的吸收、分布、代谢与排泄的机制还有待揭开。如何通过制剂手段提高 **1** 在胃肠道内的稳定性，如何将 **1** 运载到脑部发挥针对中枢神经系统疾病的治疗作用又不产生对机体损害等问题，都还需要制剂工作者的研究与完善，并且也需要各个学科（如药理学、人工智能、药物化学等）工作者之间相互协作。

参考文献：

[1] GAO J, FANG C, LIN Y, *et al*. Enhanced extraction of astaxanthin using aqueous biphasic systems composed of ionic liquids and potassiumphosphate [J]. *Food Chem*, 2020, **309**: 125672.

[2] AZIZI M, MOTESHAFI H, HASHEMI M. Distinctive nutrient designs using statistical approach coupled with light feeding strategy to improve the Haematococcus pluvialis growth performance and astaxanthin accumulation [J]. *Bioresour Technol*, 2020, **300**: 122594.

[3] LÓPEZ-CERVANTES J, SÁNCHEZ-MACHADO D I. Chapter 2. 2 - astaxanthin, lutein, and zeaxanthin [M]// NABAVI S M, SILVA A S. Nonvitamin and nonmineral nutritional supplements. [s. l.]: Academic Press, 2019: 19-25.

[4] FUKUTA T, HIRAI S, YOSHIDA T, *et al*. Enhancement of antioxidative activity of astaxanthin by combination with an antioxidant capable of forming intermolecular interactions [J]. *Free Radic Res*, 2020, **54**(11/12): 818-828.

[5] DOSE J, MATSUGO S, YOKOKAWA H, *et al*. Free radical scavenging and cellular antioxidant properties of astaxanthin [J]. *Int J Mol Sci*, 2016, **17**(1): 103.

[6] ABDOL WAHAB N R, MEOR MOHD AFFANDI M M R, FAKURAZI S, *et al*. Nanocarrier system: state-of-the-art

in oral delivery of astaxanthin [J]. *Antioxidants* (Basel), 2022, **11**(9): 1676.

[7] ZHAO T, YAN X, SUN L, *et al*. Research progress on extraction, biological activities and delivery systems of natural astaxanthin [J]. *Trends Food Sci Technol*, 2019, **91**: 354-361.

[8] PENG J, YUAN J P, WANG J H. Effect of diets supplemented with different sources of astaxanthin on the gonad of the sea urchin *Anthocidaris crassispina* [J]. *Nutrients*, 2012, **4**(8): 922-934.

[9] NOUCHI R, SUIKO T, KIMURA E, *et al*. Effects of lutein and astaxanthin intake on the improvement of cognitive functions among healthy adults: a systematic review of randomized controlled trials [J]. *Nutrients*, 2020, **12**(3): 617.

[10] FARAONE I, SINISGALLI C, OSTUNI A, *et al*. Astaxanthin anticancer effects are mediated through multiple molecular mechanisms: a systematic review [J]. *Pharmacol Res*, 2020, **155**: 104689.

[11] ZHANG J, WANG Q Z, ZHAO S H, *et al*. Astaxanthin attenuated pressure overload-induced cardiac dysfunction and myocardial fibrosis: partially by activating SIRT1 [J]. *Biochim Biophys Acta Gen Subj*, 2017, **1861**(7): 1715-1728.

[12] CHEN J T, KOTANI K. Astaxanthin as a potential protector of liver function: a review [J]. *J Clin Med Res*, 2016, **8**(10): 701-704.

[13] CHE H, LI Q, ZHANG T, *et al*. Effects of astaxanthin and docosahexaenoic-acid-acylated astaxanthin on Alzheimer's disease in APP/PS1 double-transgenic mice [J]. *J Agric Food Chem*, 2018, **66**(19): 4948-4957.

[14] WANG X, ZHANG T, CHEN X, *et al*. Simultaneous inhibitory effects of all-trans astaxanthin on acetylcholinesterase and oxidative stress [J]. *Mar Drugs*, 2022, **20**(4): 247.

[15] KHALID N, SHU G, HOLLAND B J, *et al*. Formulation and characterization of O/W nanoemulsions encapsulating high concentration of astaxanthin [J]. *Food Res Int*, 2017, **102**: 364-371.

[16] WANG H D, CHEN C C, HUYNH P, *et al*. Exploring the potential of using algae in cosmetics [J]. *Bioresour Technol*, 2015, **184**: 355-362.

[17] FOCSAN A L, POLYAKOV N E, KISPERT L D. Supramolecular carotenoid complexes of enhanced solubility and stability-the way of bioavailability improvement [J]. *Molecules*, 2019, **24**(21): 3947.

[18] LIU C, ZHANG S, MCCLEMENTS D J, *et al*. Design of astaxanthin-loaded core-shell nanoparticles consisting of chitosan oligosaccharides and poly(lactic-*co*-glycolic acid): enhancement of water solubility, stability, and bioavailability [J]. *J Agric Food Chem*, 2019, **67**(18): 5113-5121.

[19] ZHU Y, GU Z, LIAO Y, *et al*. Improved intestinal absorption and oral bioavailability of astaxanthin using poly(ethylene glycol)-graft-chitosan nanoparticles: preparation, *in vitro* evaluation, and pharmacokinetics in rats [J]. *J Sci Food Agric*, 2022, **102**(3): 1002-1011.

[20] AKHAVAN S, ASSADPOUR E, KATOUZIAN I, *et al*. Lipid nano scale cargos for the protection and delivery of food bioactive ingredients and nutraceuticals [J]. *Trends Food Sci Technol*, 2018, **74**: 132-146.

[21] KATOUZIAN I, ESFANJANI A F, JAFARI S M, *et al*. Formulation and application of a new generation of lipid nano-carriers for the food bioactive ingredients [J]. *Trends Food Sci Technol*, 2017, **68**: 14-25.

[22] FATHI M, VARSHOSAZ J, MOHEBBI M, *et al*. Hesperetin-loaded solid lipid nanoparticles and nanostructure lipid carriers for food fortification: preparation, characterization, and modeling [J]. *Food Bioprocess Tech*, 2013, **6**(6): 1464-1475.

[23] RAFIEE Z, NEJATIAN M, DAEIHAMED M, *et al*. Application of different nanocarriers for encapsulation of curcumin [J]. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2019, **59**(21): 3468-3497.

[24] REHMAN A, AHMAD T, AADIL R M, *et al*. Pectin polymers as wall materials for the nano-encapsulation of bioactive compounds [J]. *Trends Food Sci Technol*, 2019, **90**: 35-46.

[25] SINGH Y, MEHER J G, RAVAL K, *et al*. Nanoemulsion: concepts, development and applications in drug delivery [J]. *J Control Release*, 2017, **252**: 28-49.

[26] GHAREHBEGLOU P, JAFARI S M, HAMISHEKAR H, *et al*. Pectin-whey protein complexes vs. small molecule surfactants for stabilization of double nano-emulsions as novel bioactive delivery systems [J]. *J Food Eng*, 2019, **245**: 139-148.

[27] CHEN Z, SHU G, TAARJI N, *et al*. Gypenosides as natural

emulsifiers for oil-in-water nanoemulsions loaded with astaxanthin: insights of formulation, stability and release properties [J]. *Food Chem*, 2018, **261**: 322-328.

[28] TAKEMOTO Y, HIROSE Y, SUGAHARA K, *et al*. Protective effect of an astaxanthin nanoemulsion against neomycin-induced hair-cell damage in zebrafish [J]. *Auris Nasus Larynx*, 2018, **45**(1): 20-25.

[29] DOMÍNGUEZ-HERNÁNDEZ C R, GARCÍA-ALVARADO M A, GARCÍA-GALINDO H S, *et al*. Stability, antioxidant activity and bioavailability of nano-emulsified astaxanthin [J]. *Rev Mex Ing Quim*, 2016, **15**(2): 457-468.

[30] SUN R, XIA N, XIA Q. Non-aqueous nanoemulsions as a new strategy for topical application of astaxanthin [J]. *J Dispers Sci Technol*, 2020, **41**(12): 1777-1788.

[31] MOGHASSEMI S, HADJIZADEH A. Nano-niosomes as nanoscale drug delivery systems: an illustrated review [J]. *J Control Release*, 2014, **185**: 22-36.

[32] LI H, LI X, SHI X, *et al*. Effects of magnetic dihydroartemisinin nano-liposome in inhibiting the proliferation of head and neck squamous cell carcinomas [J]. *Phytomedicine*, 2019, **56**: 215-228.

[33] FIDAN-YARDIMCI M, AKAY S, SHARIFI F, *et al*. A novel niosome formulation for encapsulation of anthocyanins and modelling intestinal transport [J]. *Food Chem*, 2019, **293**: 57-65.

[34] PAN L, ZHANG S, GU K, *et al*. Preparation of astaxanthin-loaded liposomes: characterization, storage stability and antioxidant activity [J]. *CYTA J Food*, 2018, **16**(1): 607-618.

[35] HAMA S, TAKAHASHI K, INAI Y, *et al*. Protective effects of topical application of a poorly soluble antioxidant astaxanthin liposomal formulation on ultraviolet-induced skin damage [J]. *J Pharm Sci*, 2012, **101**(8): 2909-2916.

[36] SANGSURIYAWONG A, LIMPAWATTANA M, SIRIWAN D, *et al*. Properties and bioavailability assessment of shrimp astaxanthin loaded liposomes [J]. *Food Sci Biotechnol*, 2018, **28**(2): 529-537.

[37] SHI S, HAN L, DENG L, *et al*. Dual drugs (microRNA-34a and paclitaxel)-loaded functional solid lipid nanoparticles for synergistic cancer cell suppression [J]. *J Control Release*, 2014, **194**: 228-237.

[38] PALIWAL R, PALIWAL S R, KENWAT R, *et al*. Solid lipid nanoparticles: a review on recent perspectives and patents [J]. *Expert Opin Ther Pat*, 2020, **30**(3): 179-194.

[39] SHAKERI M, RAZAVI S H, SHAKERI S. Carvacrol and astaxanthin co-entrapment in beeswax solid lipid nanoparticles as an efficient nano-system with dual antioxidant and anti-biofilm activities [J]. *LWT*, 2019, **107**: 280-290.

[40] BHATT P C, SRIVASTAVA P, PANDEY P, *et al*. Nose to brain delivery of astaxanthin-loaded solid lipid nanoparticles: fabrication, radio labeling, optimization and biological studies [J]. *RSC Adv*, 2016, **6**(12): 10001-10010.

[41] LI M, ZAHI M R, YUAN Q, *et al*. Preparation and stability of astaxanthin solid lipid nanoparticles based on stearic acid [J]. *Eur J Lipid Sci Technol*, 2016, **118**(4): 592-602.

[42] WANG Q, ZHAO Y, GUAN L, *et al*. Preparation of astaxanthin-loaded DNA/chitosan nanoparticles for improved cellular uptake and antioxidation capability [J]. *Food Chem*, 2017, **227**: 9-15.

[43] TAMJIDI F, SHAHEDI M, VARSHOSAZ J, *et al*. Nanostructured lipid carriers (NLC): a potential delivery system for bioactive food molecules [J]. *Innov Food Sci Emerg Technol*, 2013, **19**: 29-43.

[44] TAMJIDI F, SHAHEDI M, VARSHOSAZ J, *et al*. Stability of astaxanthin-loaded nanostructured lipid carriers in beverage systems [J]. *J Sci Food Agric*, 2018, **98**(2): 511-518.

[45] RODRIGUEZ-RUIZ V, SALATTI-DORADO J Á, BARZEGARI A, *et al*. Astaxanthin-loaded nanostructured lipid carriers for preservation of antioxidant activity [J]. *Molecules*, 2018, **23**(10): 2601.

[46] FATHI M, MARTÍN Á, MCCLEMENTS D J. Nanoencapsulation of food ingredients using carbohydrate based delivery systems [J]. *Trends Food Sci Technol*, 2014, **39**(1): 18-39.

[47] GAO Q, QIAO X, YANG L, *et al*. Effects of microencapsulation in dairy matrix on the quality characteristics and bioavailability of docosahexaenoic acid astaxanthin [J]. *J Sci Food Agric*, 2022, **102**(13): 5711-5719.

[48] NALAWADE P, GAJJAR A. Assessment of *in-vitro* bio accessibility and characterization of spray dried complex of astaxanthin with methylated betacyclodextrin [J]. *J Incl Phenom Macrocycl Chem*, 2015, **83**: 63-75.

[49] YUAN C, JIN Z, XU X. Inclusion complex of astaxanthin

with hydroxypropyl-β-cyclodextrin: UV, FTIR, ^{1}H NMR and molecular modeling studies [J]. *Carbohydr Polym*, 2012, **89**(2): 492-496.

[50] YUAN C, DU L, JIN Z, *et al*. Storage stability and antioxidant activity of complex of astaxanthin with hydroxypropyl-β-cyclodextrin [J]. *Carbohydr Polym*, 2013, **91**(1): 385-389.

[51] ZHANG X, YIN W, QI Y, *et al*. Microencapsulation of astaxanthin in alginate using modified emulsion technology: preparation, characterization, and cytostatic activity [J]. *Can J Chem Eng*, 2017, **95**(3): 412-419.

[52] NIIZAWA I, ESPINACO B Y, ZORRILLA S E, *et al*. Natural astaxanthin encapsulation: use of response surface methodology for the design of alginate beads [J]. *Int J Biol Macromol*, 2019, **121**: 601-608.

[53] PATHAKOTI K, MANUBOLU M, HWANG H M. Nanostructures: current uses and future applications in food science [J]. *J Food Drug Anal*, 2017, **25**(2): 245-253.

[54] TARHINI M, GREIGE-GERGES H, ELAISSARI A. Protein-based nanoparticles: from preparation to encapsulation of active molecules [J]. *Int J Pharm*, 2017, **522**(1/2): 172-197.

[55] ZANONI F, VAKARELOVA M, ZOCCATELLI G. Development and characterization of astaxanthin-containing whey protein-based nanoparticles [J]. *Mar Drugs*, 2019, **17**(11): 627.

[56] SHEN X, ZHAO C, LU J, *et al*. Physicochemical properties of whey-protein-stabilized astaxanthin nanodispersion and its transport via a Caco-2 monolayer [J]. *J Agric Food Chem*, 2018, **66**(6): 1472-1478.

[57] EDELMAN R, ENGELBERG S, FAHOUM L, *et al*. Potato protein-based carriers for enhancing bioavailability of astaxanthin [J]. *Food Hydrocoll*, 2019, **96**: 72-80.

