

论 著

(药 学 研 究)

响应面法优化制备蓝萼甲磺丁醚- β -环糊精包合物及体外活性研究

王 娟, 夏 超

【摘要】 目的 采用包合物的制剂手段,改善蓝萼甲素 A (GLA) 水溶性,同时提高 GLA 抑制癌细胞增值的效果。**方法** 采用超声波法将 GLA 包封在磺丁基醚 β -环糊精 (SBE- β -CD) 中形成包合物 (GLA-SBE- β -CD),采用 Box-Behnken 设计优化 GLA-SBE- β -CD 包合物的制备工艺,并且通过差示扫描量热法 (DSC)、X 射线衍射 (XRD) 和扫描电子显微镜 (SEM) 对制备的包合物进行表征。最后,使用 MTT 法检测 GLA 和 GLA-SBE- β -CD 包合物对人宫颈癌细胞 HeLa、人肺癌细胞 A549、人肝癌细胞 HepG2 和人宫颈鳞癌细胞 SiHa 的抑制作用。**结果** 一系列物理表征结果证实了 GLA-SBE- β -CD 包合物被成功制备,在 Box-Behnken 优化的基础上获得 87.28% 的包合率;确定了 SBE- β -CD 浓度为 18.5%,包合温度为 35℃,包合时间为 42 min。在最佳工艺条件下进行制备,平均产率为 87.28%,相对标准偏差 (RSD) 为 1.02%;同时人源癌细胞抑制实验中 GLA-SBE- β -CD 对 HeLa、A549、HepG2 和 SiHa 这 4 种肿瘤细胞的抑制率比纯 GLA 更高。**结论** 通过超声波法可成功制备 GLA-SBE- β -CD 包合物,该包合物在抑制肿瘤细胞生长方面明显高于原料药 GLA,说明通过制剂手段能够很好地提高原料药的药效作用,为能早日帮助患者摆脱病痛带来有价值的参考和制剂依据。

【关键词】 蓝萼甲素 A;磺丁基醚 β -环糊精;包合物;溶解度;抑制癌细胞

【中图分类号】 R944.9 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1672-271X(2021)06-0627-06

【DOI】 10.3969/j.issn.1672-271X.2021.06.015

Optimization of preparation and *in vitro* bioactivity study of blue calyx mesylate- β -cyclodextrin inclusion complex by response surface methodology

WANG Juan, XIA Chao

(1. Department of Anesthesia and Perioperative Medicine, Jiangsu Provincial People's Hospital, Nanjing 210009, Jiangsu, China; 2. Preparation Room of Pharmacy Department, Jiangsu Provincial Institute of Materia Medica, Nanjing 210002, Jiangsu, China)

【Abstract】 Objective To improve the poor water solubility of glaucocalysins A (GLA) and enhance the inhibitory effect of GLA on the proliferation of cancer cells by means of inclusion compound. **Methods** GLA was encapsulated in sulfobutyl ether by ultrasonic method. β -Cyclodextrin (sulfobutyl ether) β -Cyclodextrin, SBE- β -Forming inclusion complex (GLA-SBE) in CD- β -GLA-SBE was optimized by Box-Behnken design. The inclusion complex was characterized by differential scanning calorimetry (DSC), X-ray diffraction (XRD) and scanning electron microscopy (SEM). Finally, GLA and GLA-SBE- β -CD were detected by MTT method. The inhibitory effect of CD inclusion complex on HeLa, A549, HepG2 and SiHa human cancer cells was studied. **Results** A series of physical characterization results confirmed GLA-SBE- β -CD on the basis of Box-Behnken optimization. The inclusion rate was 87.28%. The concentration of GLA-SBE- β -CD was 18.5%. The inclusion temperature was 35℃, and the inclusion time was 42 min. The average

yield was 87.28%, and the relative standard deviation (RSD) was 1.02%. At the same time, GLA-SBE- β -CD was detected in the inhibition test of human cancer cells. The inhibition rate of GLA-SBE- β -CD on these four kinds of tumor

作者单位:210009 南京,江苏省人民医院麻醉与围术期医学科
(王 娟);210002 南京,江苏省药物研究所有限公司
(夏 超)

通信作者:夏 超,Email:963757754@qq.com

cells was higher than that of pure GLA. **Conclusion** GLA-SBE- β -CD is successfully prepared by ultrasonic method. The inclusion complex of GLA-SBE- β -CD can significantly inhibit the growth of cancer cells, which is higher than that of GLA, which does not form the inclusion complex. It shows that the drug efficacy of the drug can be improved by means of preparation, which can provide valuable reference and preparation basis for helping patients get rid of pain as soon as possible.

[Key words] glaucocalysin A; sulfobutyl ether β -cyclodextrin; inclusion complex; solubility; inhibition of cancer cells

0 引言

冬凌草在民间处方中用作抗炎、解热和胃药^[1-2]。蓝萼甲素 A (glaucocalysin A, GLA) 作为从冬凌草叶中提取的二萜类化合物^[3], 研究表明其具有抗菌、抗氧化、抗凝血和 DNA 保护活性^[4-5]。GLA 对癌细胞和肿瘤的生长也有不同程度的抑制作用^[6]。由于 GLA 的疏水结构, 水溶性较差^[7], 已成为临床抗肿瘤治疗的重要障碍。环糊精可以改善难溶性药物的溶解性, 同时环糊精原料廉价易得, 制备方法简单, 易于操作, 成为了改善药物溶解度的首选方法^[8]。本研究通过环糊精制备成包合物来改善 GLA 的溶解度, 从而发挥其抗肿瘤活性。

环糊精 (cyclodextrin, CDS) 是一类由 α -1, 4-连接的吡喃葡萄糖单元组成的晶体环状低聚糖^[8-9]。近年来, 它们作为有益的分子螯合剂广泛应用于食品、医药、化妆品等领域^[9]。 β -环糊精 (β -cyclodextrin, β -CD) 由于价格低廉, 在其庞大的家族中使用最频繁, 其空腔大小使其有可能包括大多数常见的客体化合物^[9]。然而, β -CD 水溶性差、溶血性强、肾毒性大, 阻碍了其实际应用^[10-11]。因此, 羟丙基- β -环糊精 (hydroxypropyl- β -cyclodextrin, HP- β -CD) 和磺丁基醚 β -环糊精 (sulfobutyl ether β -cyclodextrin, SBE- β -CD) 等人工修饰的 β -CD 应运而生^[11]。修饰后的 β -CD 比未修饰的 β -CD 水溶性更好, 毒性更小^[12]。可能的原因如下: ①SBE- β -CD 中的磺酸基等取代基改变了 β -CD 表面的性质, 从而提高了其水溶性。②随着修饰的 β -CD 分子量的增加, 肾小管的重吸收减少, 这会降低肾毒性。研究证实, SBE- β -CD 在水溶性、毒性和增溶方面表现出比 HP- β -CD 更好的性能^[12]。有研究报道制备了 GLA 与 HP- β -CD 的包合物, 结果显示包合物后的水溶解度增加了 13 倍^[13]。

本研究通过超声波法制备 GLA 在 SBE- β -CD 中的包合物, 并对实验条件进行优化, 以获得最高的包合效率。并研究 GLA-SBE- β -CD 对肿瘤生长的

影响, 采用 MTT 法检测 GLA-SBE- β -CD 对 4 种肿瘤细胞的体外抑制效果, 为 GLA 在抗肿瘤的临床应用上提供有价值的剂型参考。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器 GLA (批号: 20180908) 由苏州大学药学院 (中国江苏) 提供。5-氟尿嘧啶购自 TCI 上海有限公司 (中国上海)。SBE- β -CD (南京巨环医疗科技有限公司, 平均相对分子质量 $M_w = 2.24$ kD, 平均取代度为 7), 牛血清 (上海洛神生物技术有限公司), 胰蛋白 (上海碧云天生物技术有限公司), 甲基叔丁基醚 (南京巨环医药科技有限公司), 冬凌草甲素 (中国药品生物制品检定所), 3-(4, 5-二甲基-2-噻唑基)-2, 5-二苯基-2-H-四唑溴化物 (Sigma-Aldrich Saint Louis, MO)。甲醇为色谱级, 本实验中使用的水为超纯水。除非另有说明, 所有其他材料均为分析级。细胞: 人宫颈癌细胞 Hela、人肺癌细胞 A549、人肝癌细胞 HepG2 和人宫颈鳞癌细胞 SiHA 的细胞株均来自上海细胞所。液相色谱 [(HPLC LC-20A, 岛津 (日本) 仪器有限公司)], 超声仪 (上海科导超声仪器有限公司), 冷冻干燥机 (上海继谱电子科技有限公司), 差示扫描仪 (DSC, 美国 TA 仪器有限公司), 粉末 X 射线衍射 (XRD, 北京新源志勤科技开发有限责任公司), 扫描电子显微镜 (S-4800, Hitachi, Tokyo, Japan), 日立离子溅射机 (E-1030, Hitachi, Japan)。

1.2 色谱条件 用配备 LC-20A 泵和紫外 (PDA) 检测器的岛津高效液相色谱测定 GLA 的浓度。色谱柱为 Kromasil 反相 C18 柱 (4.6 mm \times 150 mm, 5 μ m)。流动相为蒸馏水: 甲醇 (1:1; V/V), 流速为 1.0 mL/min 进行等量洗脱。柱温 25 $^{\circ}$ C, 检测波长 231 nm。

1.3 方法

1.3.1 制备 GLA-SBE- β -CD 包合物 采用超声法和冻干法制备 GLA-SBE- β -CD 包合物^[14-16]。将一定量的 SBE- β -CD 的水溶液在超声机中的烧瓶中恒温制备, 然后在丙酮中慢慢滴加越来越多的 GLA (GLA 与 SBE- β -CD 的摩尔比在 1:5 至 1:1 之间)

到不同的烧瓶中。所得溶液在超声下络合一段时间,直到达到平衡,然后在环境温度下放置 2 h 以冷却。之后,将冷却后的溶液在真空干燥器中冷冻干燥,通过 0.45 μm 膜过滤后,冷冻干燥得到固体复合物。准确称取一定量的 GLA-SBE-β-CD,溶解于流动相中,将所得溶液约 20 μL 注入 HPLC 中,分析 GLA 的浓度。通过测定包合效率来选择得到的包合复合物。

1.3.2 GLA-SBE-β-CD 制备条件优化 在确定 GLA 与 SBE-β-CD 的摩尔比为 1:3 为包合物制备的最佳组成基础上,考察 SBE-β-CD 水溶液的温度、时间、浓度等实验条件对包合效率的影响。因此,对这 3 个因素进行单因素检验,确定各因素的总体水平。然后采用响应面方法(RSM)等统计方法,通过对温度(A)、SBE-β-CD 浓度(B)和包合时间(C)等操作因素的优化,使包合物的产量最大化,设定结果见表 1。在本研究中根据试验设计结果,采用 Box-Behnken 设计(BBD)进行拟合,建立数学模型(Box-Behnken 设计的三因素三水平的响应面模型图。响应曲面图可以反映各变量与包合效率的关系;曲面越陡,响应变量对变量变化越敏感。等高线图的形状可以清楚地反映两个变量之间的交互作用是否显著;椭圆形等高线表示两个因素之间的交互作用显著,反之,等高线的圆度表示两个因素之间的交互作用不显著),且生成相应的多项式方程,便于计算 GLA-SBE-β-CD 的实际包封率(Y),计算公式如下:

$$Y = \beta_0 + \beta_1 A + \beta_2 B + \beta_3 C + \beta_4 AB + \beta_5 AC + \beta_6 BC + \beta_7 A^2 + \beta_8 B^2 + \beta_9 C^2$$

其中 Y:响应变量即为包封率; β_0 :表示 17 个随机实验的所有定量结果的算术平均值的截距; β_1 - β_9 :根据 Y 的观测实验值计算的系数;A、B 和 C:表示实验因子;AB、AC、BC:因子交互作用; A^2 、 B^2 和 C^2 :代表二次项。

表 1 Box-Behnken 检验的三因素和三水平正交实验设计表

水平	因素		
	A 温度(℃)	B SBE-β-CD 浓度 (M/V)	C 包合时间(min)
-1	30	10%	20
0	40	20%	40
1	50	30%	60

1.3.3 GLA-SBE-β-CD 增溶效果的研究 将过量

的 GLA 和 GLA-SBE-β-CD 分别加入 10 mL 蒸馏水中,然后放入恒温振荡器(25 ℃)中 24 h,之后将得到的混合物通过 0.45 μm 膜过滤,并使用 HPLC 方法分别测定饱和溶液中的 GLA 的含量,计算其溶解度。

1.3.4 DSC 分析 差示扫描量热法(DSC)研究 GLA-SBE-β-CD 包合物(a)及其物理混合物(b)的热性能,并记录 GLA(c)和 SBE-β-CD(d)的 DSC 曲线,以验证 GLA 在 SBE-β-CDs 空腔中的包结或部分包结。使用差示热扫描仪对 GLA、SBE-β-CD、物理混合物以及 GLA-SBE-β-CD 在氮气吹扫条件下进行了热分析。将 3~5 mg 样品放在坩埚上,加热温度为 50~350 ℃,升温速率为 10 ℃/min。

1.3.5 XRD 表征 在 PW1720 型 X 射线发生器和 PW1710 型衍射仪上研究 GLA、SBE-β-CD、其物理混合物和 GLA-SBE-β-CD 的粉末 X 射线衍射图谱。工作电压为 40 mA,电流为 40 mA,由铜的 $K\alpha$ 辐射产生。对 GLA、SBE-β-CD、其物理混合物和 GLA-SBE-β-CD 粉末进行扫描,扫描步长为 0.04°~35°,扫描速度为 0.02°/s,用 Jade6.0 XRD 图形处理软件(Materials Data, Inc, Irvine, CA)对样品进行 X 射线分析。

1.3.6 SEM 表征 用扫描电子显微镜对 GLA、SBE-β-CD 和 GLA-SBE-β-CD 的表面形貌进行研究。在日立离子溅射机上,用双胶带将粉末样品粘在试样台面上,涂上导电铂膜,观察样品并记录照片。

1.3.7 人源癌细胞的抑制研究 选用临床诊断中最为常见且致死率较高的 4 种人癌细胞,初步研究 GLA-SBE-β-CD 包合物和 GLA 对人源癌细胞的抑制效果。以含 10% 胎牛血清的 RPMI-1640 为培养基,采用梯度稀释法制备不同浓度的 GLA 和 GLA-SBE-β-CD(1、10、100 μg/mL)。将 4 种对数生长的癌细胞悬液接种到 96 孔板中(细胞密度调整为 1×10^4 个/孔),分别加入不同浓度的 GLA 或 GLA-SBE-β-CD。空白组不给予培养液。对照组只给予不含药的培养液。在 37 ℃,5%CO₂条件下培养 24 h 后,用 10 μL MTT(3-[4,5-二甲基噻唑-2-基]-2,5-二苯基四氮唑溴化铵)和 90 μL 新鲜培养基取代 RPMI-1640 培养基,继续培养 4 h,每孔加入 100 μL 二甲基亚砷(DMSO),在摇床中络合 10 min,直至甲醛结晶完全溶解。用 StatFax-2100 酶联免疫吸附仪在 490 nm 波长处检测二甲基亚砷-细胞混合液的吸光度,平行检测一式三份,取平均值计算癌细胞抑制

率(IR):

$$IR = [1 - (OD_{drug} - OD_{blank}) / (OD_{control} - OD_{blank})] 100\%$$

其中 OD_{drug} 表示药物组的光密度, OD_{blank} 表示空白组的光密度, $OD_{Control}$ 表示对照组的光密度。

2 结 果

2.1 GLA-SBE-β-CD 包合物的制备 随着 SBE-β-CD 的加入,包合效率提高,当 GLA 与 SBE-β-CD 的比例达到1:3时,包合效率超过 80%。当比例从 1:3 继续增加时,包合效率未见明显提高。考虑到辅料、原料药的浪费和加工难度的增加,确定 GLA 与 SBE 的比例为 1:3 为包合物的最佳比例。见表 2。

表 2 不同摩尔比下蓝萼甲素 A 在磺丁基醚 β-环糊精中的包合率

序号	GLA 与 SBE-β-CD 的摩尔比	包封率(%)
1	1:1	64.91
2	1:2	72.77
3	1:3	81.23
4	1:4	83.76
5	1:5	84.45

2.2 Box-Behnken 设计法优化 GLA-SBE-β-CD 制备条件 实际拟合方程式为:

$$Y = -173.65 + 9.42A + 2.34B + 0.974C + 9.89 \times 10^{-3} AB - 2.687 \times 10^{-3} AC - 3.67 \times 10^{-3} BC - 0.139A^2 - 0.0685B^2 - 0.011C^2$$

BBD 矩阵及响应值见表 3。三维响应面和等高线图见图 1。响应面二次模型的方差分析(ANOVA)显示见表 4。结果表明,该模型具有较高的 F 值(33.34)和极低的 P 值(<0.0001),表明该模型具有统计学意义。“拟合不足”的 P 值为 0.0666(>0.05),表明实际结果与拟合模型无显著性差异。 R^2 和调整后的 R^2 分别为 0.9772 和 0.9479,表明实验因素与响应变量之间有很好的相关性。温度(A)、SBE-β-CD 浓度(B)、包合时间(C)的 F 值分别为 1.57、5.86、0.91,表明包合效率受 SBE-β-CD 浓度(B)的影响最大,受包合时间(C)的影响最小。变异系数(CV)为 3.47%($<15\%$),结果均在正常标准范围内。由响应曲面图可见,SBE-β-CD(B)的浓度对包合效率的影响最大。由等高线图可见,AB 和 AC 之间的交互作用是显著的,而 BC 之间的交互作用不显著。

根据 STATEASE 公司的 Design Expert 软件(MN 55413,美国)的计算结果,可以得到最佳的实验参数和理论上的最大包合效率。结合实际试验条件,确定 SBE-β-CD 浓度为 18.5%,包合温度为 35 ℃,包合时间为 42 min。在最佳工艺条件下进行制备,平均产率为 87.28%,相对标准偏差(RSD)为 1.02%。这一包合率略低于理论值(87.40%),但在误差范围内。

表 3 Box-Behnken 设计的三因素三水平矩阵拟合结果和响应值(R)

序号	温度(A)	SBE-β-CD 浓度(B)	包合时间(C)	R
1	1	0	0	72.32
2	-1	0	0	76.19
3	0	0	0	86.79
4	0	0	0	85.85
5	0	0	0	85.25
6	0	0	-1	84.28
7	1	-1	1	65.53
8	-1	-1	-1	65.45
9	1	1	1	58.92
10	1	1	-1	60.21
11	0	-1	0	80.32
12	-1	1	-1	57.82
13	-1	1	1	60.41
14	1	-1	-1	60.22
15	-1	-1	1	67.31
16	0	0	1	83.42
17	0	1	0	82.21

表 4 Box-Behnken 设计的三因素三水平响应面二次模型的方差分析(方差)

参数	数值	参数	数值
Std. Dev	2.52	R-Squared	0.9972
Mean	72.50	Adj R-Squared	0.9479
C. V. %	3.47	Pred R-Squared	0.7868
Press	414.69	Adeq Precisor	13.975

2.3 GLA-SBE-β-CD 增溶效果的研究 实验结果表明 GLA 的在水介质中的溶解度为 0.213 mg/mL,而 GLA-SBE-β-CD 的溶解度为 17.96 mg/mL,已经达到 GLA 的 84.3 倍,说明 GLA-SBE-β-CD 包合物的成功制备大大提高了 GLA 在水介质中的溶解度。

2.4 DSC 分析 GLA 曲线在 225 ℃处有一个尖锐的吸热峰,与其熔点相对应。SBE-β-CD 在 300 ℃出现一个不规则的峰,是降解过程的结果。与纯 GLA 和 SBE-β-CD 相比,物理混合物中 GLA 在 225 ℃的

吸热峰减弱, SBE-β-CD 的吸热峰增强。GLA-SBE-β-CD 的热图显示, 纯 GLA 的原始吸热峰消失, 表明 GLA 完全包含在 SBE-β-CD 中。见图 2。

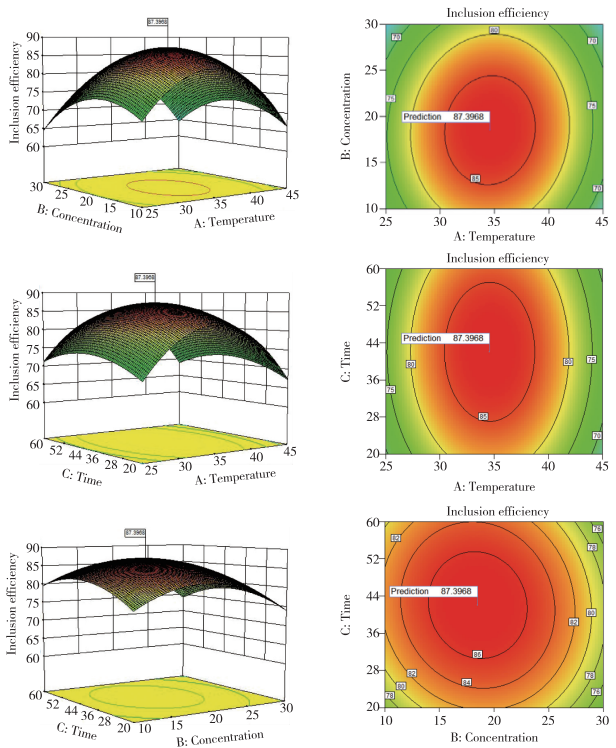


图 1 Box-Behnken 设计的三因素三水平的响应面模型图

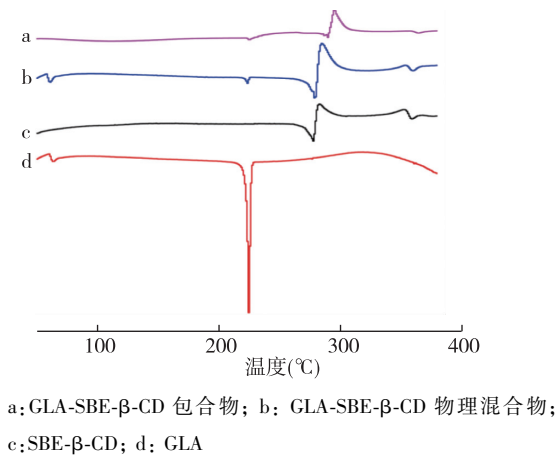


图 2 不同制备方法下的混合物和蓝萼甲素 A 的差示扫描图

2.5 XRD 表征 GLA 图谱显示多个清晰的峰, 表明 GLA 以典型的晶线形式存在。相反, SBE-β-CD 表现为一条平坦的曲线, 在扫描范围内只有一次微弱的上升, 表明其为非晶态。在其物理混合物的衍射图中观察到了 GLA 的主要特征峰, 但强度较低。从 GLA-SBE-β-CD 图谱可以看出, GLA 的大部分特征结晶峰已经消失。这一现象表明, GLA 不再以

晶态存在, 而是包含在 SBE-β-CD 空腔中。见图 3。

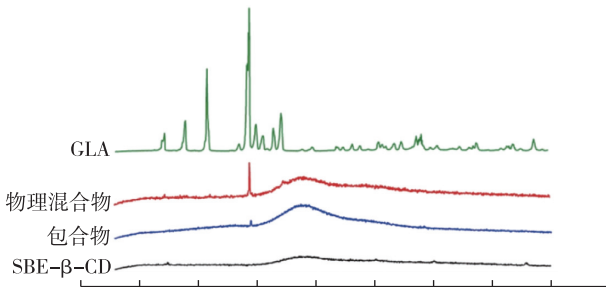
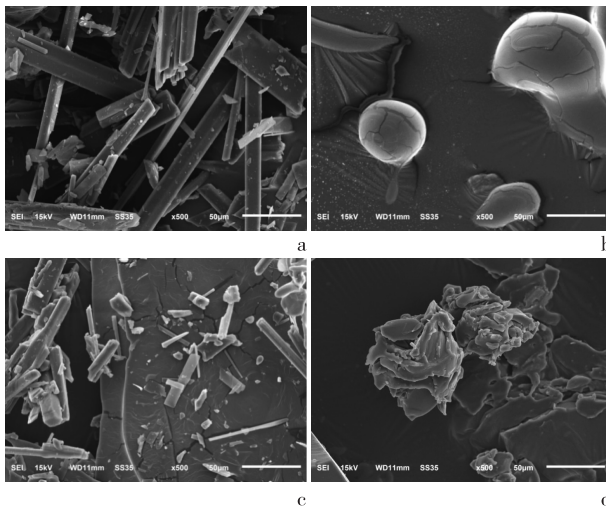


图 3 不同制备方法下的混合物和蓝萼甲素 A 的 X-衍射图

2.6 SEM 分析 SBE-β-CD 为边界光滑的球形, 而 GLA 为尖角状和光滑的柱状晶体。在它们的物理混合物照片中, 明显观察到 SBE-β-CD 的球形和 GLA 的柱状晶体。在 GLA-SBE-β-CD 的照片中, SBE-β-CD 和 GLA 的特殊形态特征已不存在。GLA-SBE-β-CD 颗粒呈无定形, 略大于 GLA 和 SBE-β-CD。GLA-SBE-β-CD 的表面形貌明显不同于物理混合物、GLA 和 SBE-β-CD, 已形成了一种新的物相。见图 4。



a; GLA 原料药; b; SBE-β-CD; c: GLA 原料药和 SBE-β-CD 物理混合物; d: GLA-SBE-β-CD 包合物

图 4 不同制备方法下的混合物和蓝萼甲素 A 的扫描电镜图

2.7 人源癌细胞抑制作用研究 不同浓度的 GLA 和 GLA-SBE-β-CD 对 A549、Hela、HepG2、SiHA 细胞的抑制率见图 5。GLA 及其包合物对这 4 种肿瘤细胞均有明显的抑制作用, GLA-SBE-β-CD 对这 4 种肿瘤细胞的抑制率明显高于 GLA。浓度为 10 μg/mL GLA-SBE-β-CD 组对 A549 和 HepG2 的抑制率为 (84.18±4.26)% 和 (76.29±1.29)%, 略低于对 Hela (88.02±2.90)% 和 SiHA (90.38±4.1)%

的抑制率,也说明了 GLA 在抑制癌细胞上具有一定的选择性,且具有浓度依赖性。

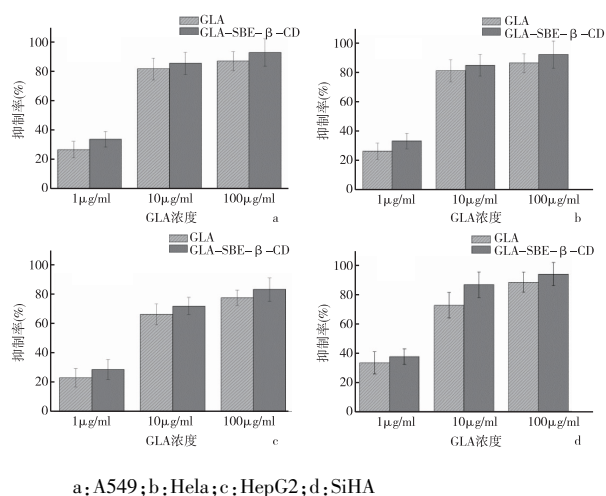


图 5 蓝萼甲素 A 及磺丁醚-β-环糊精包合物对 A549、HeLa、HepG2、SiHA 细胞抑制作用

3 讨 论

本研究采用超声波法制备了 GLA-SBE-β-CD 包合物,在制备过程中考察了 GLA 和 SBE-β-CD 的比例对包封率的影响,同时通过 Box-Behnken 设计法优化了制备中温度、SBE-β-CD 浓度和包合时间等条件对包封率的影响,筛选出包封率最高时的制备条件,确定了最佳制备工艺,然后又通过 XRD、SEM 和 DSC 对 GLA-SBE-β-CD 包合物进行表征,结果表明 GLA 与 SBE-β-CD 形成包合物。最后选取 4 种常见的致死率较高的癌细胞,初步考察 GLA-SBE-β-CD 包合物对其增值的抑制效果。实验表明 GLA-SBE-β-CD 包合物的制备改善了 GLA 的水溶性,且 GLA-SBE-β-CD 包合物的包封率达到 87%。GLA-SBE-β-CD 包合物的抑制癌细胞生长效果明显高于未被包合的 GLA,表明该方法制备的 GLA-SBE-β-CD 包合物能够有效提高 GLA 的溶解度,加速了癌细胞的凋亡。同时本研究选用的 4 种癌细胞均属于临床诊断中较为常见的癌细胞,所制备的 GLA-SBE-β-CD 包合物为以后 GLA 活性成分的临床用药提供了一定理论依据。

综上所述,本研究通过使用包合物的制剂手段使 GLA 活性成分在临床抗肿瘤中具备一定的应用潜力和开发价值,此外还有待进一步对其体内的药代动力学进行研究,为临床用药提供剂量参考。

【参考文献】

- [1] 李昌辉, 孟 玲, 桂 霞, 等. 一种提取与分离冬凌草甲素的方法[J]. 化工学报, 2018, 69(S2): 250-255.
- [2] 纠 敏, 闫 鹏, 李晶晶, 等. 冬凌草甲素对金黄色葡萄球菌生物膜的抑制机制[J]. 微生物学通报, 2020, 47(5): 250-256.
- [3] 代丽萍, 赵 猛, 时 博, 等. 一种从毛叶香茶菜中制备冬凌草甲素的方法[P]. 中国专利: CN105732653B, 2017-12-15.
- [4] 姚 士, 褚纯隽, 韩海燕, 等. 蓝萼甲素抗血栓作用研究[J]. 辽宁中医药大学学报, 2012, 14(11): 61-65.
- [5] Yang F, Cao Y, Zhang J, et al. Glaucocalyxin A improves survival in bleomycin-induced pulmonary fibrosis in mice [J]. Biochem Biophys Res Comm, 2017, 482(1): 147-153.
- [6] 朱 庆, 曹燕丽, 徐云燕, 等. 酸变性法构建转铁蛋白-姜黄素纳米粒子及其肿瘤靶向性[J]. 东南国防医药, 2019, 21(3): 262-266.
- [7] 李云森, 陈子珺, 邓世平, 等. 蓝萼甲素衍生物及其药学上可接受的盐的剂型[P]. 中国, CN104887652A, 2015-09-09.
- [8] 郝淑燕, 郝 莹, 刘宗建, 等. 环糊精聚合物及其生物医学应用的研究进展[J]. 化学学报, 2020, 78(3): 48-60.
- [9] Amin OM, Ammar A, Eladawy SA. Febuxostat loaded β-cyclodextrin based nanosponge tablet: an in vitro and in vivo evaluation [J]. J Pharm Investig, 2020, 50(4): 399-411.
- [10] 郝彬彬, 王 芹, 任 勇, 等. 羟丙基-β-环糊精包合物中尼非韦罗含量测定和稳定性考察[J]. 医学研究生学报, 2011, 24(6): 565-568.
- [11] 徐 康, 林 正. 自由基对转录因子 NF-κB 活性的调节[J]. 医学研究生学报, 2004, 17(7): 654-656.
- [12] Zhou X, Kong L, Jing Z, et al. Facile synthesis of superparamagnetic β-CD-MnFe₂O₄ as a peroxymonosulfate activator for efficient removal of 2,4-dichlorophenol: Structure, performance, and mechanism [J]. J Hazard Mater, 2020, 394: 122528. doi: 10.1016/j.jhazmat.2020.122528.
- [13] 王学文. 抗肿瘤治疗新药蛋白酶体抑制剂 Bortezomib 的临床应用[J]. 东南国防医药, 2016, 8(6): 473-478.
- [14] Pan H, Wang HB, Yu YB, et al. Original research paper. A superior preparation method for daidzein-hydroxypropyl-β-cyclodextrin complexes with improved solubility and dissolution: Supercritical fluid process [J]. Acta Pharm, 2017, 67(1): 85-96.
- [15] Zarandona I, Barba C, Guerrero P, et al. Development of chitosan films containing β-cyclodextrin inclusion complex for controlled release of bioactives [J]. Food Hydr, 2020, 104(12): 105720-105733.
- [16] Esmailpour D, Shityakov S, Tamaddon AM, et al. Comparative chemical examination of inclusion complexes formed with β-cyclodextrin derivatives and basis amino acids [J]. Carbohydr Polym, 2021, 262: 117868. doi: 10.1016/j.carbpol.2021.117868.

(收稿日期: 2021-01-08; 修回日期: 2021-04-28)

(责任编辑: 叶华珍; 英文编辑: 朱一超)