

DOI:10.3724/SP.J.1008.2015.00507

光谱法研究 γ -环糊精及其两种衍生物与罗库溴铵和维库溴铵的相互作用

陈梦心¹, 张文婷¹, 闻俊¹, 赵鑫¹, 范国荣^{1*}, 漆又毛², 揭清²

1. 第二军医大学药学院药物分析学教研室, 上海市药物(中药)代谢产物研究重点实验室, 上海 200433

2. 杭州奥默医药股份有限公司, 杭州 310011

[摘要] **目的** 研究 γ -环糊精(γ -CD)及其两种衍生物与罗库溴铵、维库溴铵的相互作用。**方法** 采用等温滴定量热法研究 γ -CD 及其衍生物奥美克松钠 Aom0498-16(HS-7)、舒更葡糖(Sugammadex)与罗库溴铵、维库溴铵的相互作用,测定其热力学常数及结合常数。采用紫外-可见分光光度法测定 γ -CD 与罗库溴铵、维库溴铵的包合比与结合常数,并采用核磁共振谱二维相关谱和氢谱表征 γ -CD 及其两种衍生物与罗库溴铵、维库溴铵的结合力大小。**结果** 等温滴定量热法结果显示 Sugammadex 与 HS-7 均以 1:1 结合罗库溴铵、维库溴铵, γ -CD 以 2:1 结合罗库溴铵;HS-7 与罗库溴铵的结合常数 $k=(3.44\pm 2.18)\times 10^7$ L/mol、与维库溴铵的结合常数 $k=(5.80\pm 1.83)\times 10^6$ L/mol,Sugammadex 与罗库溴铵的结合常数 $k=(1.04\pm 0.34)\times 10^7$ L/mol、与维库溴铵的结合常数 $k=(2.53\pm 1.07)\times 10^6$ L/mol, γ -CD 与罗库溴铵的结合常数 $k=(2.84\pm 3.41)\times 10^4$ L/mol。紫外-可见分光光度法结果表明 γ -CD 以 2:1 结合罗库溴铵、维库溴铵, γ -CD 与罗库溴铵的结合常数 $k=6.93\times 10^4$ L/mol,与维库溴铵的结合常数 $k=5.17\times 10^4$ L/mol。核磁共振法结果显示 HS-7 对罗库溴铵、维库溴铵的包合作用强于 Sugammadex 和 γ -CD。**结论** HS-7 包合肌松药的能力大于 Sugammadex 及 γ -CD。等温滴定量热法、紫外-可见分光光度法和核磁共振谱二维相关谱和氢谱法 3 种方法从不同的侧面表征了包合物的性质。

[关键词] γ -环糊精类;罗库溴铵;维库溴铵;磁共振波谱学;等温滴定量热法;紫外光谱法

[中图分类号] R 917.4

[文献标志码] A

[文章编号] 0258-879X(2015)05-0507-06

Spectroscopy study on the interaction of γ -cyclodextrin and its two derivatives with rocuronium and vecuronium

CHEN Meng-xin¹, ZHANG Wen-ting¹, WEN Jun¹, ZHAO Xin¹, FAN Guo-rong^{1*}, QI You-mao², JIE Qing²

1. Department of Pharmaceutical Analysis, School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai Key Laboratory for Pharmaceutical (Chinese Materia Medica) Metabolite Research, Shanghai 200433, China

2. Hangzhou Adamerck Pharmed Inc., Hangzhou 310011, Zhejiang, China

[Abstract] **Objective** To study the interaction of γ -cyclodextrin (γ -CD) and its two derivatives with rocuronium and vecuronium. **Methods** The interactions of γ -CD and its two derivatives HS-7, Sugammadex with rocuronium and vecuronium were characterized by Isothermal Titration Calorimetry (ITC), and the thermodynamic constant and the binding constant was determined. The binding constant and inclusion ratio of γ -CD with rocuronium and vecuronium was observed by ultraviolet-visible spectrophotometry; the binding ability of three cyclodextrins with rocuronium and vecuronium was analyzed by nuclear magnetic resonance spectroscopy COSY and ¹HNMR. **Results** The results of ITC showed that HS-7, Sugammadex combined with rocuronium and vecuronium in a 1:1 molar ratio, and γ -CDs combined with rocuronium in a 2:1 molar ratio, with the binding constant of HS-7 and rocuronium being $(3.44\pm 2.18)\times 10^7$ L/mol, HS-7 and vecuronium being $(5.80\pm 1.83)\times 10^6$ L/mol, Sugammadex and rocuronium being $(1.04\pm 0.34)\times 10^7$ L/mol, Sugammadex and vecuronium being $(2.53\pm 1.07)\times 10^6$ L/mol, and γ -CD and rocuronium being $(2.84\pm 3.41)\times 10^4$ L/mol. The results of ultraviolet-visible spectrophotometry revealed that γ -CDs combined with rocuronium and vecuronium in a 2:1 molar ratio, with the binding constant of γ -CD and rocuronium being 6.93×10^4 L/mol, and of γ -CD and vecuronium being 5.17×10^4 L/mol. The results of nuclear magnetic resonance spectroscopy suggested that the binding ability of HS-7 with rocuronium and vecuronium was stronger than that of Sugammadex and γ -CD. **Conclusion** The binding ability of HS-7 with rocuronium and vecuronium is stronger than that of Sugammadex and γ -CD, and the three methods used in this study (ITC, ultraviolet-visible spectrophotometry and nuclear magnetic resonance spectroscopy) can characterize the inclusion complex from different perspectives.

[收稿日期] 2015-04-01 **[接受日期]** 2015-04-20

[作者简介] 陈梦心, 硕士生. E-mail: welkinemx@126.com

* 通信作者 (Corresponding author). Tel: 021-81871263, E-mail: guofan@163.com

[Key words] gamma-cyclodextrins; rocuronium; vecuronium; magnetic resonance spectroscopy; isothermal titration calorimetry; ultraviolet-visible spectrophotometry

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2015, 36(5): 507-512]

罗库溴铵和维库溴铵是非去极化神经肌肉阻滞剂,它们起效较慢,作用持续时间却长,因此药物一旦使用过量,则会造成肌肉无力、急性呼吸衰竭,甚至导致永久性脑损伤。环糊精(cyclodextrins, CD)是直链淀粉在由芽孢杆菌产生的环糊精葡萄糖基转移酶作用下所生成的一系列环状低聚糖的总称^[1]。由于环糊精的外缘亲水而内腔疏水,因此它最显著的分子特征是能够提供一个疏水空腔,作为主体包含各种适当的客体^[2]。药物作为客体分子经包含后,溶解度增大,稳定性提高,释药速率得到改变,进一步提高药物的生物利用度,降低药物毒副作用等。 γ -环糊精(γ -CD)分子具有较大的孔洞空隙,能包含较大的客体分子。奥美克松钠 Aom0498-16 (HS-7)和舒更葡糖(Sugammadex)是 γ -CD的衍生物,目前临床上已采用 Sugammadex 对肌松药进行包含,但 Sugammadex 仅在欧盟国家上市,并且其昂贵的价格限制了它的广泛应用。本研究拟考察这3种 γ -CD与罗库溴铵、维库溴铵的相互作用,并为环糊精与药物之间的相互作用研究提供可行的技术方法。

环糊精包含常数的测定方法主要有紫外-可见分光光度法、荧光法、核磁共振法、毛细管电泳法、高效液相色谱法、相溶解度法以及等温滴定热法(ITC)等,它们具有各自的优缺点和适用范围^[3]。等温滴定热法对被研究体系的溶剂性质、光谱性质和电学性质等没有任何限制条件,具有样品用量小、方法灵敏度和准确度高的优点,是鉴定分子间相互作用的首选方法^[4-6]。紫外-可见分光光度法适用于测定 k 值范围为 $10^2 \sim 10^5$ L/mol的药物,并且该药物必须具有较强的紫外吸收^[3],实验操作同样快速、简便、成本低。核磁共振波谱法准确度高、重现性好、可利用数据多,但由于仪器昂贵而受到限制^[7]。本研究采用等温滴定热法、紫外-可见分光光度法和核磁共振谱二维相关谱和氢谱法3种方法从不同的侧面对 γ -CD及其2种衍生物进行表征。

1 材料和方法

1.1 仪器与试剂 仪器:MicroCal iTC200型等温

滴定热仪(通用电气医疗集团);CARY 50 Conc型紫外-可见分光光度计(美国瓦里安公司);AVANCE II 600型核磁共振波谱仪(瑞士布鲁克公司);SPD121P型离心浓缩仪(美国赛默飞世尔科技);Fresco 17型 Heraeus®微量离心机(美国赛默飞世尔科技)。

试剂: Sugammadex^[8]注射剂(含量:100 mg/mL,批号:439090,荷兰欧加农生物科技),HS-7(含量:91.7%,批号:ST130601,杭州奥默医药股份有限公司), γ -CD(含量:98.8%,批号:20130423,江苏丰园生物技术有限公司),罗库溴铵(含量:99.3%,批号:X1-130101,杭州奥默医药股份有限公司),维库溴铵(含量:100.5%,批号:X1-120902,杭州奥默医药股份有限公司);其余试剂均为国产分析纯试剂,实验用水为二次蒸馏水。

1.2 等温滴定热法

1.2.1 受试化合物溶液的制备 用去离子水溶解并配制3种环糊精及2种肌松药,使HS-7浓度为0.19 mmol/L时罗库溴铵、维库溴铵浓度为1 mmol/L, Sugammadex、 γ -CD浓度为0.16 mmol/L时罗库溴铵、维库溴铵浓度为1.6 mmol/L。

1.2.2 检测条件及操作过程 在样品池中注入500 μ L被滴定的环糊精溶液,肌松药40 μ L装入注射器,恒温至25 $^{\circ}$ C,控制搅拌速率为300 r/min,待仪器自动平衡后,记录60 s后分别开始滴定,各连续滴定25滴,首滴0.4 μ L,后24滴1.5 μ L,间隔时间为100 s;其中维库溴铵滴定 γ -CD时,连续滴定20滴,首滴0.4 μ L,后19滴2 μ L,间隔时间为120 s^[9]。

1.2.3 数据处理 使用Origin7.0软件中one binding site model对每组滴定数据分别进行拟合,得到每组滴定反应的结合常数及相关热力学常数。

1.3 紫外光谱法

1.3.1 储备液的配制 精密称取适量罗库溴铵、维库溴铵标准品及 γ -CD,置于10 mL容量瓶内,加入去离子水溶解并稀释到刻度,得到质量浓度为1 mg/mL的罗库溴铵、维库溴铵储备液及浓度为100 mmol/L的 γ -CD储备液,备用。

1.3.2 药物浓度和测定波长的选择 以二次蒸馏水为空白,在 200~400 nm 对药物溶液和 γ -CD 作紫外光谱扫描,结果表明在 207.0 nm 处罗库溴铵有最大吸收峰, γ -CD 无紫外吸收,故选择 207.0 nm 为罗库溴铵的测定波长。控制最大吸收峰对应的光密度值在 0.4~0.7,此时罗库溴铵的质量浓度 0.25 mg/mL 为测定浓度;维库溴铵的测定波长为 210.0 nm,测定浓度为 0.5 mg/mL。

1.3.3 结合比例测定 固定药物和 γ -CD 的总摩尔浓度,使二者摩尔比分别为 1:3、1:2、2:3、1:1、3:2、2:1、3:1。由于 γ -CD 在 207.0、210.0 nm 处无紫外吸收,以去离子水为空白,于 207.0、210.0 nm 处测定光密度值,计算 γ -CD 包合物与相同浓度的溶液光密度之差 ΔD , ΔD 最大处对应的摩尔比即为 γ -CD 与药物的结合比例^[10]。

1.3.4 γ -CD 与药物结合常数的测定 固定药物溶液浓度,取 γ -CD 的浓度为 0.01、0.012 5、0.016 7、0.02、0.025 mol/L。对各组溶液在 200~400 nm 作紫外扫描,测定其光密度的变化。

1.4 核磁共振法 称取罗库溴铵、维库溴铵、 γ -CD、HS-7 和 Sugammadex 各 0.01 mmol,分别置

于直径为 5 mm 的核磁管中,加入 500 μ L D_2O 溶解,测定一维氢谱(1H NMR)。

按照摩尔比 1:1 的比例,制备罗库溴铵、维库溴铵与 3 种环糊精的固体包合物,加入 500 μ L D_2O 溶解,测定 1H NMR。

称取 0.01 mmol 的 γ -CD、HS-7 和 Sugammadex 置于直径为 5 mm 的核磁管中,各加入 500 μ L 的 D_2O 溶解,测定其核磁共振二维相关谱(COSY)。

2 结果

2.1 等温滴定量热法测定结果 根据表 1 数据,可知 HS-7、Sugammadex 与罗库溴铵、维库溴铵均为 1:1 包合, γ -CD 与罗库溴铵为 2:1 包合,HS-7、Sugammadex 与罗库溴铵有非常强的结合,其结合常数 k 均大于 10^7 L/mol。对比 HS-7、Sugammadex 和 γ -CD,HS-7 对于维库溴铵和罗库溴铵的结合都是最强烈的。对比 HS-7、Sugammadex 与维库溴铵以及 HS-7、Sugammadex 与罗库溴铵的结合,两种环糊精与罗库溴铵的结合常数均大于两种环糊精与维库溴铵的结合常数^[11-12](γ -CD 与维库溴铵结合的拟合效果不佳,数据不准确,不予采纳)。

表 1 HS-7、Sugammadex 和 γ -CD 与维库溴铵、罗库溴铵结合相关热力学参数

Tab 1 Thermodynamic parameters of HS-7, Sugammadex, and γ -CD combined with vecuronium and rocuronium

	N (Sites), $\bar{x} \pm s$	k (L \cdot mol $^{-1}$), $\bar{x} \pm s$	ΔH (J \cdot mol $^{-1}$), $\bar{x} \pm s$	ΔS (J \cdot mol $^{-1} \cdot$ K $^{-1}$)
With vecuronium				
HS-7	0.617 \pm 0.004	(5.80 \pm 1.83) $\times 10^6$	-45 980 \pm 673.3	-24.7
Sugammadex	1.090 \pm 0.001	(2.53 \pm 1.07) $\times 10^6$	-38 760 \pm 832.5	-7.4
γ -CD	0.078 \pm 0.428	(6.72 \pm 3.86) $\times 10^3$	-116 600 \pm 65 700	-318.0
With rocuronium				
HS-7	0.661 \pm 0.004	(3.44 \pm 2.18) $\times 10^7$	-25 650 \pm 374.2	58.3
Sugammadex	1.040 \pm 0.005	(1.04 \pm 0.34) $\times 10^7$	-26 540 \pm 289.6	45.4
γ -CD	0.463 \pm 0.263	(2.84 \pm 3.41) $\times 10^4$	-11 130 \pm 8 178	48.0

HS-7: Amo0498-16; γ -CD: γ -Cyclodextrin

2.2 紫外光谱法测定结果 连续递变实验结果表明, γ -CD 与罗库溴铵或维库溴铵以 2:1 摩尔比包合时,光密度相差最大(表 2)。紫外扫描显示,药物在 200~400 nm 范围内有强吸收,可以用紫外光谱法测定包合物的结合常数 k 。 γ -CD 与药物在水溶液中的结合是一个平衡过程,形成 2:1 结合物时,其结合常数 k 可用下式求得:

$$1/D = (1/\epsilon k [G]_0) (1/[CD]_0^2) + 1/\epsilon [G]_0 \quad (1)$$

式中, D 是加入 γ -CD 后药物的紫外光密度值; $[CD]_0$ 是 γ -CD 的总浓度; $[G]_0$ 是药物的总浓度; ϵ 是 γ -CD 与药物形成包合物的摩尔吸收系数。以 $1/D$ 对 $1/[CD]_0^2$ 作图得一直线,其所得截距/斜率即为 γ -CD 与药物的结合常数 k ^[10]。

表2 一系列不同浓度的 γ -CD与药物包合物的光密度之差

Tab 2 Difference of absorption values in series of drugs/ γ -CD solutions

γ -CD : Drug	ΔD (Rocuronium)	ΔD (Vecuronium)
2 : 1	0.023 9	0.029 0
3 : 1	0.009 0	0.008 9
3 : 2	0.015 4	0.001 1
1 : 1	0.010 1	0.000 7
1 : 2	0.019 8	0.000 8
1 : 3	0.013 6	0.009 3
2 : 3	0.015 9	0.000 3

γ -CD: γ -Cyclodextrin; Drug: Rocuronium or vecuronium

随着 γ -CD浓度的增加, γ -CD与罗库溴铵的包合物光密度随之增大,根据公式(1),以 $1/D$ 对 $1/[CD]_0^2$ 回归,线性方程为: $y=0.000\ 04\ x+2.771\ 1$ ($r^2=0.986\ 1$), $k=6.93\times 10^4\ L/mol$ 。

随着 γ -CD浓度的增加, γ -CD与维库溴铵的包合物光密度随之增大,根据公式(1),以 $1/D$ 对 $1/[CD]_0^2$ 回归,线性方程为: $y=0.000\ 05\ x+2.586\ 64$ ($r^2=0.978\ 9$), $k=5.17\times 10^4\ L/mol$ 。

2.3 核磁共振法测定结果 结合二维相关谱与一维氢谱,可以判断环糊精的H3和H5位于空腔内,H2、H4位于空腔外^[13],并得到 γ -CD H1(d峰)、H2(dd峰)、H3(t峰)、H4(t峰)、H5(m峰)的化学位移。根据¹H NMR谱图(图1)可以看出H2、H3、H4发生了明显的位移变化,并且图2B中H3和H5重合在了一起,证明 γ -CD与罗库溴铵发生了包合作用。从表3可以看出 γ -CD与罗库溴铵包合时的H3、H5的化学位移变化比 γ -CD与维库溴铵的大,说明 γ -CD与罗库溴铵的包合作用略大于 γ -CD与维库溴铵;同样HS-7与罗库溴铵的包合作用略大于HS-7与维库溴铵; Sugammadex与罗库溴铵包合作用略大于Sugammadex与维库溴铵。HS-7和Sugammadex与肌松药的包合作用远大于 γ -CD,HS-7包合罗库溴铵时的H3化学位移变化略大于Sugammadex包合罗库溴铵,但H5的化学位移变化略小,因此无法准确判断HS-7与罗库溴铵的包合作用是否略大于Sugammadex与罗库溴铵的包合作用;同样HS-7、Sugammadex分别与维库溴铵的包合作用大小也无法准确比较。

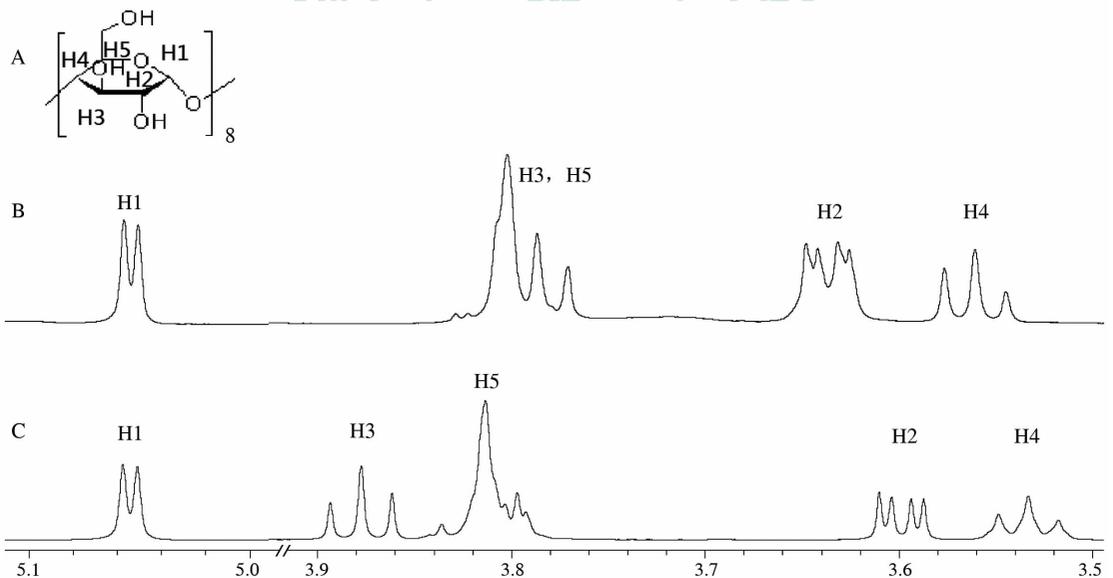


图1 γ -CD、 γ -CD与罗库溴铵包合物的一维氢谱图

Fig 1 ¹H NMR spectrum of γ -CD and the inclusion complex of γ -CD with rocuronium

A: Hydrogen peak position of γ -CD corresponding to its structure; B, C: ¹H NMR spectrum of the inclusion complexes of γ -CD with rocuronium (B) and γ -CD (C). γ -CD: γ -Cyclodextrin

3 讨论

本研究通过等温滴定量热法拟合所得结果分析

发现, γ -CD及其衍生物HS-7、Sugammadex与肌松药罗库溴铵、维库溴铵结合的 ΔH 均为负值, ΔS 均为正值,由于 $\Delta G = \Delta H - T\Delta S$ ^[10],因此 ΔG 均为负

值,由此可判断环糊精与药物的反应是自发进行的^[14];若 $|\Delta H| > T|\Delta S|$,则该反应为焓驱动反应,即为化学反应,因此可推断出3种环糊精与药物均发生了化学反应,其物质基础发生了改变^[10]。这种

较强的结合在小分子相互作用中非常少见,能达到这种结合的通常是生物大分子的结合,如蛋白与其配体。

表3 3种环糊精包合罗库溴铵、维库溴铵前后的位移变化

Tab 3 Chemical shift changes of rocuronium and vecuronium before and after inclusion in three cyclodextrins

Type	γ -CD combined rocuronium			HS-7 combined rocuronium			Sugammadex combined rocuronium		
	Before	After	Change	Before	After	Change	Before	After	Change
H-1	5.053 8	5.053 2	0.000 6	5.120 1	5.094 8	0.025 3	5.135 8	5.091 2	0.044 6
H-2	3.598 4	3.636 4	-0.038 0	3.589 1	3.653 8	-0.064 7	3.575 3	3.645 7	-0.070 4
H-3	3.877 1	3.786 3	0.090 8	3.870 5	3.682 8	0.187 7	3.894 9	3.714 2	0.180 7
H-4	3.532 8	3.560 4	-0.027 6	3.563 1	3.445 6	0.117 5	3.601 6	3.476 8	0.124 8
H-5	3.811 5	3.786 3	0.025 2	3.952 3	3.682 8	0.269 5	4.002 7	3.714 2	0.288 5

Type	γ -CD combined vecuronium			HS-7 combined vecuronium			Sugammadex combined vecuronium		
	Before	After	Change	Before	After	Change	Before	After	Change
H-1	5.054 5	5.056 0	-0.001 5	5.118 9	5.107 1	0.011 8	5.139 1	5.106 6	0.032 5
H-2	3.599 2	3.633 1	-0.033 9	3.588 3	3.659 0	-0.070 7	3.578 5	3.668 6	-0.090 1
H-3	3.894 4	3.826 5	0.067 9	3.870 4	3.690 9	0.179 5	3.898 2	3.721 9	0.176 3
H-4	3.534 1	3.542 9	-0.008 8	3.562 3	3.433 7	0.128 6	3.604 6	3.490 6	0.114 0
H-5	3.830 2	3.826 5	0.003 7	3.952 4	3.690 9	0.261 5	4.005 7	3.721 9	0.283 8

γ -CD: γ -Cyclodextrin; HS-7: Amo0498-16

根据¹H NMR 及 COSY 结果分析,在环糊精与药物发生包合作用时,H2、H4 向低场移动,可能是由于肌松药部分裸露在空腔外,从而外表面的空间结构发生变化并产生了局部屏蔽效应^[15];环糊精的H3 和 H5 向高场移动可能是由于肌松药结构中的苯环在 CD 空腔内表面产生了较强的 π - π 电子流,从而对 H3 和 H5 产生了较强的屏蔽作用^[16]。当 γ -CD 与肌松药形成包合物后,根据 $\Delta H_3 > \Delta H_5$ 可推断药物分子是从环糊精的小口端进入;HS-7、Sugammadex 与肌松药形成包合物后,根据 $\Delta H_3 > \Delta H_5$ 可推断药物分子是从环糊精的大口端进入^[17]。

综上所述,3种环糊精均与两种肌松药发生了包合作用,HS-7、Sugammadex 以 1:1 包合、 γ -CD 以 2:1 包合罗库溴铵和维库溴铵。比较等温滴定量热法和紫外光谱法的结果可知, γ -CD 均以 2:1 包合罗库溴铵,紫外光谱法测得 γ -CD 包合罗库溴铵的结合常数 k 与等温滴定量热法所测相近,两种方法所得结果基本一致。比较等温滴定量热法和核

磁共振法数据可知,HS-7 和 Sugammadex 的结合常数远大于 γ -CD,等温滴定量热法所测结合常数是 HS-7 略大于 Sugammadex,而核磁共振法所得结果表明 HS-7 与 Sugammadex 的包合能力无法准确判断。比较3种方法结果可知,3种环糊精包合罗库溴铵的能力都大于包合维库溴铵,而3种环糊精包合肌松药能力大小为 $HS-7 \geq Sugammadex > \gamma$ -CD。3种方法所得结果基本相同,互相佐证。但等温滴定量热法在拟合效果不佳的情况下,数据偏差较大并不可靠;紫外光谱法须在药物有较强的紫外吸收^[3]而环糊精无紫外吸收的条件下才能测定结合常数,限制了 HS-7 及 Sugammadex 的研究;一维核磁共振法虽能判断包合物的形成,但无法测定结合常数。每种方法从不同侧面表征了包合物,结合多种方法能更全面地研究环糊精与药物的包合作用。

[参考文献]

- [1] 姚虹,魏太保,徐维霞,张有明. β -环糊精与二苯硫脲、二苯脲包结作用的紫外光谱研究[J]. 光谱学与光谱分析,2006,26:1664-1667.

- [2] 余晓东,邱燕子,黄宗华,陈玉,宋发军. 羟丙基- β -环糊精与青霉素酶的相互作用[J]. 华中师范大学学报:自然科学版,2014,48:532-537.
- [3] 王亚娜,孙俊梅,余丽丽,陆亚鹏,任勇. 环糊精及衍生物/药物包合常数的测定方法及其应用[J]. 药学进展,2004,28:23-28.
- [4] Karima N, Kidokoro S. Precise and continuous observation of cellulase-catalyzed hydrolysis of cello-oligosaccharides using isothermal titration calorimetry[J]. *Thermochim Acta*, 2004, 412:91-96.
- [5] Todd M J, Gomez J. Enzyme kinetics determined using calorimetry: a general assay for enzyme activity[J]. *Anal Biochem*, 2001, 296:179-187.
- [6] 宋熙熙,邵爽,雷群芳,方文军,林瑞森. 等温滴定量热法测定脲酶催化尿素水解反应动力学[J]. 浙江大学学报:理学版,2009,36:175-179.
- [7] 李香,林秀丽. 环糊精包合物表征手段的研究进展[J]. 食品与药品,2007,9(7A):35-39.
- [8] 杨卫红,闻大翔,杭燕南. Sugammadex 拮抗肌松药神经肌肉阻滞作用的临床研究进展[J]. 国际麻醉学与复苏杂志,2007,28:548-551.
- [9] 鄢丹,陈龙虎,冯雪,邱玲玲,闫谈,张萍,等. 基于等温滴定量热技术的清开灵注射液临床联合用药相互作用表征研究[J]. 中草药,2012,43:2217-2221.
- [10] 王亚娜,任勇,陆亚鹏,杨星昊,涂荣华,周灿,等. 苯丙醇/ β -环糊精包合作用研究[J]. 中国药科大学学报,2005,36:13-17.
- [11] Illapakurthy A C, Wyandt C M, Stodghill S P. Isothermal titration calorimetry method for determination of cyclodextrin complexation thermodynamics between artemisinin and naproxen under varying environmental conditions [J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2005, 59:325-332.
- [12] di Cagno M, Stein P C, Skalko-Basnet N, Brandl M, Bauer-Brandl A. Solubilization of ibuprofen with β -cyclodextrin derivatives: energetic and structural studies [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2011, 55:446-451.
- [13] 施介华,徐艳. 光谱法研究辅酶 Q10 与环糊精衍生物的相互作用[J]. 浙江工业大学学报,2013,41:490-494.
- [14] 李月生,夏详翔,李新怀,吕小婉,李耀会,李小定. 微量热技术在生命科学研究中的应用[J]. 化工时刊,2007,21:64-67.
- [15] 郑美青,赵淑锐,吴英婷,王耀楠,王玉记. β -环糊精和 3-羧基四氢异喹啉包合物的核磁共振研究[J]. 波谱学杂志,2013,30:264-268.
- [16] Ribeiro L, Carvalho R A, Ferreira D C, Veiga F J. Multicomponent complex formation between vinpocetine, cyclodextrins, tartaric acid and water-soluble polymers monitored by NMR and solubility studies [J]. *Eur J Pharm Sci*, 2005, 24:1-13.
- [17] de Araujo M V, Macedo O F, Nascimento Cda C, Conegero L S, Barreto L S, Almeida L E, et al. Characterization, phase solubility and molecular modeling of alpha-cyclodextrin/pyrimethamine inclusion complex [J]. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*, 2009, 72:165-170.

[本文编辑] 孙岩