



(21) 申请号 202111527022.X

A61K 47/20 (2006.01)

(22) 申请日 2021.12.15

审查员 陆悠玲

(65) 同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 114163360 A

(43) 申请公布日 2022.03.11

(73) 专利权人 天津师范大学

地址 300387 天津市西青区宾水西道393号
天津师范大学

(72) 发明人 陈俊屹 李春举

(74) 专利代理机构 天津市杰盈专利代理有限公司
12207

专利代理师 朱红星

(51) Int. Cl.

C07C 303/32 (2006.01)

C07C 309/11 (2006.01)

权利要求书1页 说明书10页 附图6页

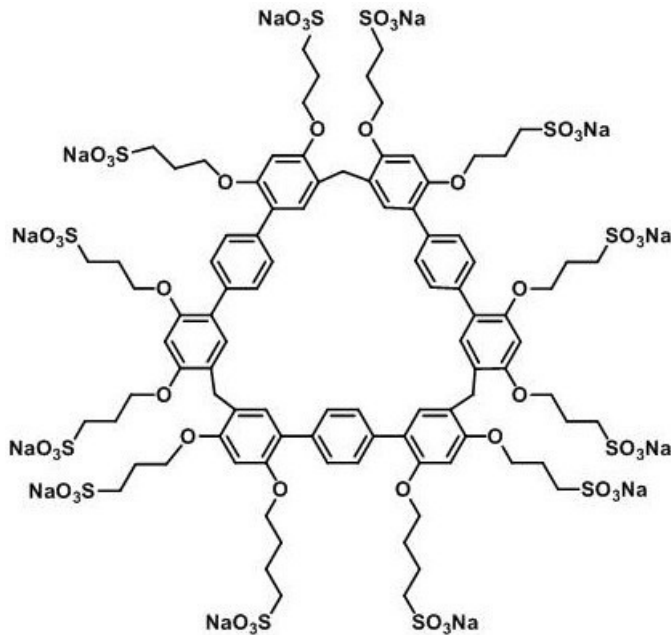
(54) 发明名称

一种水溶性联苯芳烃的合成与掩味应用

(57) 摘要

本发明涉及一种水溶性(拓展)联苯芳烃的合成及对苦味药效分子掩味的应用。本发明涉及的化合物通过超分子作用络合苦味药效分子形成复合物进行掩味,具有pH响应性有利于在胃肠道中定点释放,并且形成的复合物不会影响原药的生物活性。该化合物的合成条件温高效,适用于工业生产;具有良好的水溶性和生物相容性,适用于生物医药;与苦味药效分子形成复合物简单易行,兼具可控释放的特点,对改善苦味药效分子的味道及提高患者用药顺应性具有非常重要的意义。

1. 一种水溶性(拓展)联苯芳烃衍生物, 其特征在于水溶性(拓展)联苯芳烃为2,2'',4,4''-三联苯[3]芳烃磺酸钠,其结构式如下面的式IV所示:



式IV。

2. 权利要求1所述一种水溶性(拓展)联苯芳烃衍生物的合成方法, 其特征在于所述方法按如下步骤进行:

(1) 2,2'',4,4''-全羟基三联苯[3]芳烃的合成:

(2) 将步骤(1)得到的化合物在碱性条件下发生亲核取代反应得到2,2'',4,4''-三联苯[3]芳烃磺酸钠。

3. 根据权利要求1所述一种水溶性(拓展)联苯芳烃衍生物在针对苦味药效分子掩味方面的应用;其中用于如下药用活性分子的掩味:阿奇霉素、佐米曲普坦、头孢呋辛酯、西替利嗪、西地那非、昂丹司琼、氯雷他定、双氯芬酸钾、红霉素、罗红霉素、克拉霉素、氟氯西林钠、头孢泊肟、环丙沙星、左氧氟沙星、诺氟沙星、多西环素、阿司匹林、布洛芬、对乙酰氨基酚、苯海拉明、地氯雷他定、法莫替丁、氯苯那敏、溴丙胺太林、溴吡斯的明、奥芬溴铵、多奈哌齐、曲马朵、右美沙芬、阿普唑仑、利培酮、利多卡因、黄藤素、黄连素、秋水仙碱、阿托品、槟榔碱茶碱、维拉帕米、丙哌维林和二甲双胍;所述的应用包括如下步骤:

将一定摩尔比例的苦味药效分子和2,2'',4,4''-三联苯[3]芳烃磺酸钠的混合物直接溶于良性溶剂中,超声震荡,一段时间至客体药物完全溶解,然后将混合物溶液经孔径0.45 μ m的滤膜过滤,冷冻干燥或减压真空干燥得到固体粉末;其中苦味药效分子与2,2'',4,4''-三联苯[3]芳烃磺酸钠的摩尔比例为0.1 ~ 10。

4. 根据权利要求3所述应用,其中苦味药效分子与2,2'',4,4''-三联苯[3]芳烃磺酸钠的摩尔比例0.5-2。

5. 根据权利要求3所述应用,其中良性溶剂为水、磷酸缓冲液、碳酸缓冲液、甲醇、乙醇、异丙醇或它们的混合液。

一种水溶性联苯芳烃的合成与掩味应用

技术领域

[0001] 本发明涉及一种药物掩味技术,具体涉及一种水溶性(拓展)联苯芳烃的合成及对苦味药效分子掩味的应用,属于超分子化学及生物医药领域。

背景技术

[0002] 随着人民生活水平的不断提高,对疾病治疗过程中服药的依从性越发重视,其中药物口感问题尤为突出。苦味因具备持续时间长和感知阈低等特征被视为最厌恶的味觉。众多药用活性成分具有不同程度的苦味而致难以吞咽,严重限制了口服制剂的发展与临床应用,亟需开发新型掩味技术来解决此难题。诸如通过添加甜味剂混淆大脑味觉分辨能力,利用包衣隔离药物与味蕾的接触,使用苦味信号传导抑制剂麻痹味觉细胞从而提高苦味感受阈值等策略已被广泛研究并部分应用于药物剂型中。上述方案均存在一些弊端无法普适于各类患者,如糖尿病或蛀牙患者不适宜摄入甜味剂类辅料,服用传统的片剂对咀嚼困难人群(幼童或老人)具有潜在风险,受体阻滞剂麻痹味蕾效力较长影响患者正常饮食。

[0003] 使用纳米尺寸的合成大环化合物掩味有望解决上述难题,将苦味药效分子包裹进入大环化合物的空腔,通过竞争络合阻碍药效分子与苦味受体的结合从而减缓甚至消除不良味道。利用该策略,环糊精已成功应用于多种苦味药效分子的掩味,但环糊精与药物分子间的络合能力往往较弱,所以导致掩味效率欠佳,特别是针对高剂量药物难以起到良好的掩味效果。此外形成的复合物缺乏pH响应性,在胃肠道环境中无法实现可控释放,可能会导致药物生物利用度降低。因此,亟需开发新型大环化合物用于多类苦味药效分子的掩味。

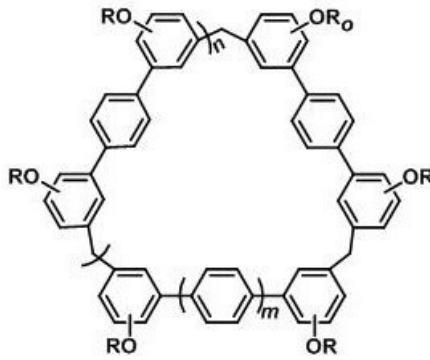
发明内容

[0004] 本发明提供了一种水溶性(拓展)联苯芳烃大环化合物,其中(拓展)联苯芳烃作为大环骨架具有纳米级的空腔结构且易于后修饰,可通过超分子作用高效识别多类苦味药用活性分子达到掩味的目的;修饰柔性侧链旨在延长空腔深度,扩大疏水相互作用的区域面积增强络合能力;末端引入阴离子结构单元则是为了提高化合物的水溶性和生物相容性,增添对阳离子客体静电作用位点,产生胃酸环境刺激响应性以实现药物控释。

[0005] 为实现上述目的本发明公开了如下的技术内容:

[0006] 一种水溶性(拓展)联苯芳烃衍生物,其结构式如下面的式I所示:

[0007]



式 I

[0008]

其中,

[0009]

n为1-4, 优选的n为1或2, 最优的n为1; m为1-4, 优选的m为1或2, 最优的m为1;

[0010]

R结构通式如下面式II所示:

[0011]



式 II

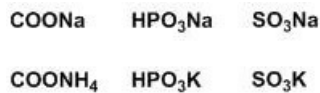
[0012]

其中, a为0-6, 优选的a为0或1, 最优的a为1;

[0013]

阴离子结构单元X如下面式III所示;

[0014]



[0015]

式III

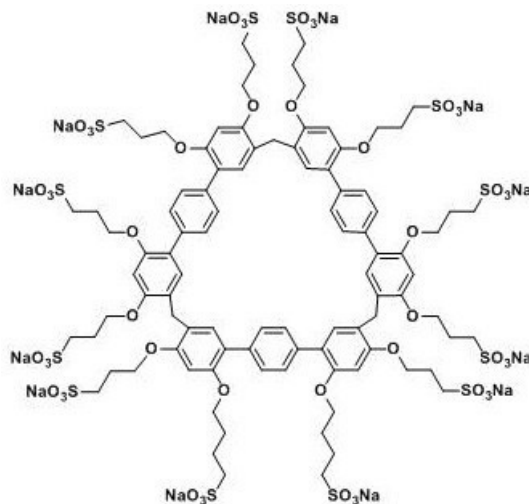
[0016]

其中, 最优的阴离子结构单元为磺酸钠基团。

[0017]

本发明所述水溶性(拓展)联苯芳烃衍生物, 其特征在于典型的水溶性(拓展)联苯芳烃为2,2'',4,4''-三联苯[3]芳烃磺酸钠, 其结构式如下面的式IV所示;

[0018]



[0019]

式IV。

[0020]

本发明进一步公开了水溶性(拓展)联苯芳烃衍生物的合成方法, 其特征在于所述方法包括如下步骤:

[0021]

(1) 2,2'',4,4''-全羟基三联苯[3]芳烃的合成;

[0022]

(2) 将步骤(1)得到的化合物在碱性条件下发生亲核取代反应得到2,2'',4,4''-三

联苯[3]芳烃磺酸钠。

[0023] 其中良性溶剂为水、缓冲溶液、甲醇、乙醇、异丙醇或者它们的混合物。

[0024] 水溶性(拓展)联苯芳烃衍生物其药学上可接受的盐包括:铵盐、钠盐和钾盐,优选的为钠盐。

[0025] 本发明更进一步公开了水溶性(拓展)联苯芳烃衍生物在针对苦味药效分子掩味方面的应用,实验结果显示水溶性(拓展)联苯芳烃通过超分子作用识别苦味药效分子,可以降低电子舌对药效分子的苦味响应,缓解Ba1b/c小鼠对苦味药物溶液的厌恶。与此同时,水溶性(拓展)联苯芳烃衍生物具有较好的生物相容性,在掩味的同时维持了原药的生理活性。

[0026] 本发明所述的应用,其方法包括如下步骤:

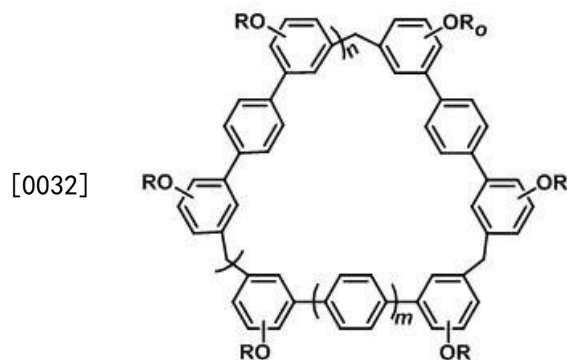
[0027] 将一定摩尔比例的苦味药效分子和2,2'',4,4''-三联苯[3]芳烃磺酸钠的混合物直接溶于良性溶剂中,超声震荡,一段时间至客体药物完全溶解,然后将混合物溶液经孔径0.45 μm 的滤膜过滤,冷冻干燥或减压真空干燥得到固体粉末;其中苦味药效分子与2,2'',4,4''-三联苯[3]芳烃磺酸钠的摩尔比例为0.1~10。优选苦味药效分子与2,2'',4,4''-三联苯[3]芳烃磺酸钠的摩尔比例0.5~2,最优的为1。其中良性溶剂为水、磷酸缓冲液、碳酸缓冲液、甲醇、乙醇、异丙醇或它们的混合液。

[0028] 用于如下药用活性分子的掩味:阿奇霉素、佐米曲普坦、头孢呋辛酯、西替利嗪、西地那非、昂丹司琼、氯雷他定、双氯芬酸钾、红霉素、罗红霉素、克拉霉素、氟氯西林钠、头孢泊肟、环丙沙星、左氧氟沙星、诺氟沙星、多西环素、阿司匹林、布洛芬、对乙酰氨基酚、苯海拉明、地氯雷他定、法莫替丁、氯苯那敏、溴丙胺太林、溴吡斯的明、奥芬溴铵、多奈哌齐、曲马朵、右美沙芬、阿普唑仑、利培酮、利多卡因、黄藤素、黄连素、秋水仙碱、阿托品、槟榔碱茶碱、维拉帕米、丙哌维林和二甲双胍。

[0029] 优选掩味药物为:黄藤素、黄连素、秋水仙碱、阿托品、槟榔碱和茶碱,最优的为黄藤素。

[0030] 本发明更加详细的描述如下:

[0031] 本发明所述(拓展)联苯芳烃的结构通式如下面的式I所示:



[0033] 式I

[0034] 其中,n为1、2、3或4,优选的n为1或2,最优的n为1;m为1、2、3或4,优选的m为1或2,最优的m为1;

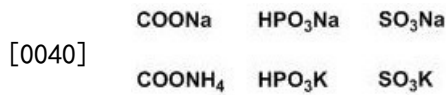
[0035] R结构通式如下面式II所示:



[0037] 式II

[0038] 其中, a为0、1、2、3、4、5或6, 优选的a为0或1, 最优的a为1;

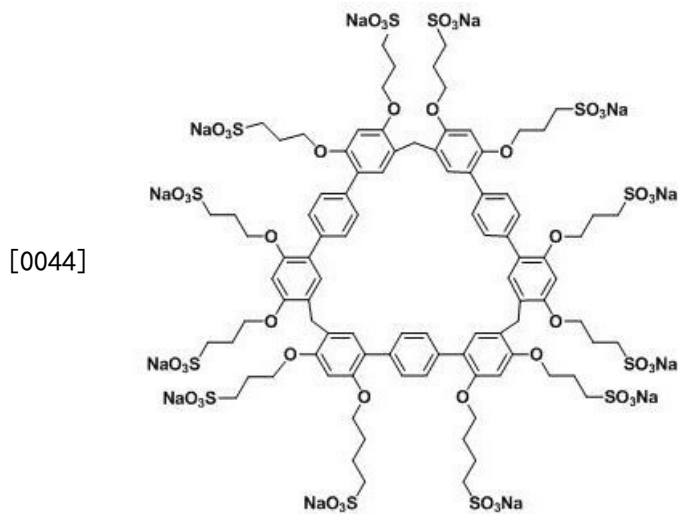
[0039] 阴离子结构单元X如下面式III所示;



[0041] 式III

[0042] 其中, 最优的阴离子结构单元为磺酸钠基团;

[0043] 本发明所述的最优水溶性(拓展)联苯芳烃为2,2'',4,4''-三联苯[3]芳烃磺酸钠, 其结构式如下面的式IV所示;



[0045] 式IV

[0046] 在本发明所述的苦味药用活性分子包括阿奇霉素、佐米曲普坦、头孢呋辛酯、西替利嗪、西地那非、昂丹司琼、氯雷他定、双氯芬酸钾、红霉素、罗红霉素、克拉霉素、氟氯西林钠、头孢泊肟、环丙沙星、左氧氟沙星、诺氟沙星、多西环素、阿司匹林、布洛芬、对乙酰氨基酚、苯海拉明、地氯雷他定、法莫替丁、氯苯那敏、溴丙胺太林、溴吡斯的明、奥芬溴铵、多奈哌齐、曲马朵、右美沙芬、阿普唑仑、利培酮、利多卡因、黄藤素、黄连素、秋水仙碱、阿托品、槟榔碱茶碱、维拉帕米、丙哌维林和二甲双胍, 其中掩味效果优选的为黄藤素、黄连素、秋水仙碱、阿托品、槟榔碱和茶碱。

[0047] 本发明中药物分子掩味技术涉及到2,2'',4,4''-三联苯[3]芳烃磺酸钠和生物碱类客体形成的复合物, 其复合物具体制备方法为:

[0048] 将一定摩尔比例的黄藤素(黄连素、秋水仙碱、阿托品、槟榔碱或茶碱)和2,2'',4,4''-三联苯[3]芳烃磺酸钠的混合物直接溶于良性溶剂中(优选为40—60 °C)超声震荡(优选为80—120 KHz)一段时间(优选为10—20min)至客体药物完全溶解, 然后将混合物溶液经孔径0.45μm的滤膜过滤, 冷冻干燥或减压真空干燥得到复合物样品。

[0049] 本发明中所述的复合物制备中良性溶剂指的是水、缓冲液(磷酸缓冲液、碳酸缓冲液等)、甲醇、乙醇、异丙醇或它们的混合液。

[0050] 术语“超分子作用”指的是分子间的相互作用,包括静电作用、氢键、范德华力、 π - π 堆积和疏水作用等,是研究超分子化学的基础。

[0051] 术语“识别”指的是两个或两个以上的分子之间通过非共价键结合相互作用,产生某种特定功能的过程。

[0052] 有益效果

[0053] 本发明设计合成了一种水溶性2,2'',4,4''-三联苯[3]芳烃磺酸钠,反应条件温和高效,适用于工业生产;具有良好的水溶性、生物相容性及pH响应性,可用于多类药物的口服剂型,掩盖苦味药效分子的不良味道,提高患者的顺应性。

附图说明

[0054] 图1:2,2'',4,4''-三联苯[3]芳烃磺酸钠的¹H NMR图谱;

[0055] 图2:2,2'',4,4''-三联苯[3]芳烃磺酸钠的¹³C NMR图谱;

[0056] 图3:10 mM磷酸缓冲溶液中(pH = 6.8)黄藤素与2,2'',4,4''-三联苯[3]芳烃磺酸钠竞争荧光滴定拟合图;

[0057] 图4:盐酸溶液中(pH = 1.2)黄藤素与2,2'',4,4''-三联苯[3]芳烃磺酸钠竞争荧光滴定拟合图;

[0058] 图5:2,2'',4,4''-三联苯[3]芳烃磺酸钠对正常胃粘膜上皮细胞的细胞毒性;

[0059] 图6:摄入2,2'',4,4''-三联苯[3]芳烃磺酸钠溶液后Balb/c小鼠体重变化情况图;

[0060] 图7:摄入2,2'',4,4''-三联苯[3]芳烃磺酸钠溶液后Balb/c小鼠胃、肠组织病理学切片结果;

[0061] 图8:双瓶喝水偏好比例图;

[0062] 图9:黄藤素及黄藤素复合物抑制金黄色葡萄球菌增殖情况图。

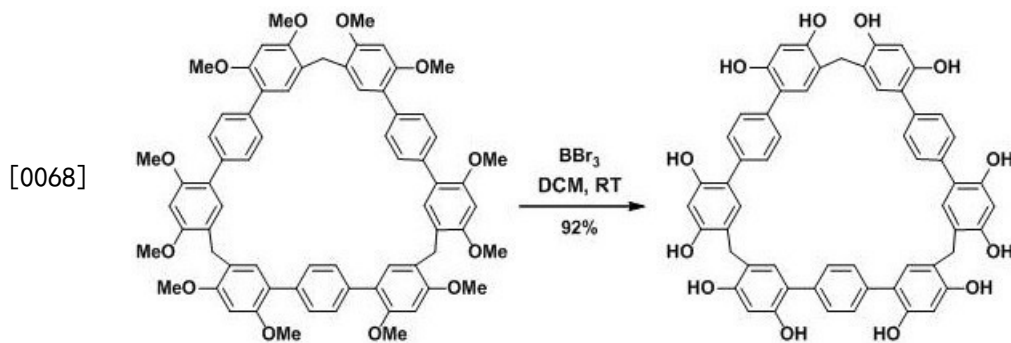
[0063] 具体实施方法

[0064] 下面详细描述本发明的实施例,描述的实施例是示例性的,仅用于解释本发明,而不能理解为对本发明的限制。实施例中未注明具体条技术或条件的,按照本领域内文献所描述的常规技术或条件和制造商建议的技术或条件进行。所用试剂或仪器未注明生产厂商者,均为可以通过市购获得的常规产品。所用试剂的来源、商品名以及有必要列出其组成成分者,均在首次出现时标明,其后所用相同试剂如无特殊说明,均以首次标明的内容相同。其中2,2'',4,4''-甲氧基三联苯[3]芳烃的合成方法见国际专利WO 2021/073456 A1。

[0065] 实施例1

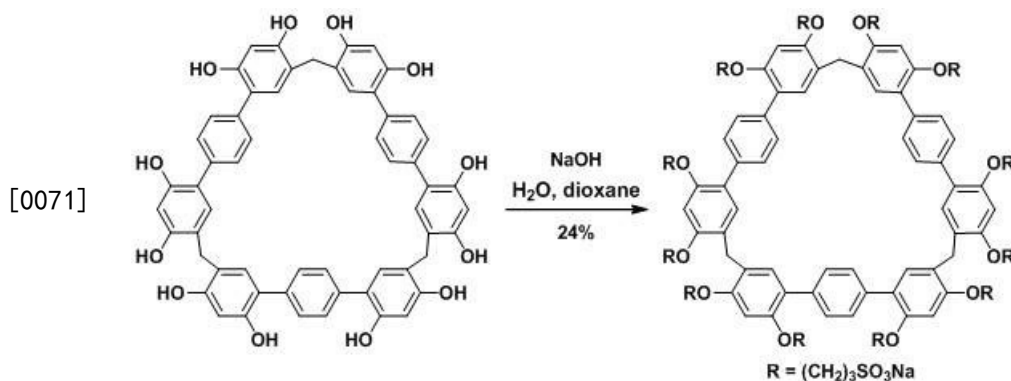
[0066] 2,2'',4,4''-三联苯[3]芳烃磺酸钠的合成:

[0067] 1,2,2'',4,4''-全羟基三联苯[3]芳烃的合成:



[0069] 氮气保护下,将2,2'',4,4''-甲氧基三联苯[3]芳烃(1.00 g, 0.92 mmol)溶于50 mL的二氯甲烷中,低温搅拌并缓慢滴加三溴化硼(5.53g, 22.08 mmol),之后继续常温反应2天。反应结束后将反应液逐滴加入到冰水中,会有大量白色沉淀产生,抽滤并用冰水反复冲洗,真空干燥后得到棕色固体2,2'',4,4''-全羟基三联苯[3]芳烃(0.78g, 0.85 mmol, 产率:92%)。

[0070] 2,2'',4,4''-三联苯[3]芳烃磺酸钠的合成:



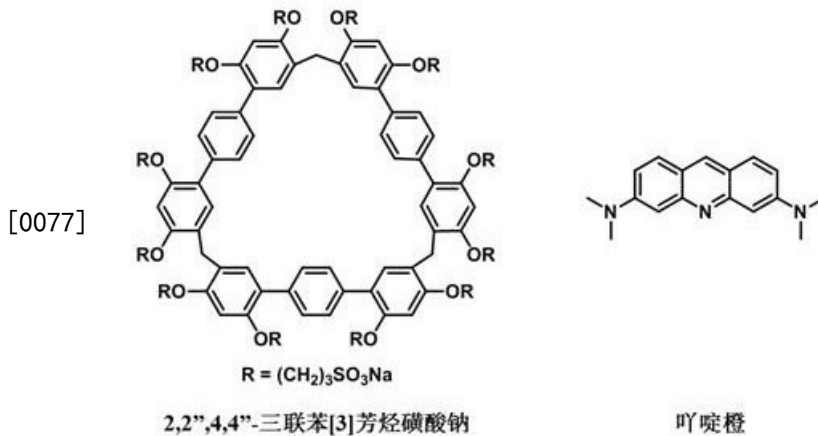
[0072] 氮气保护下,将2,2'',4,4''-全羟基三联苯[3]芳烃(0.200g, 0.218 mmol)溶于5 mL的氢氧化钠溶液(10%)中,缓慢滴加丙烷磺酸内酯(0.479g, 3.924 mmol)的二氧六环溶液(5 mL),搅拌加热回流反应5天。反应结束后减压除去溶剂,将粗产物复溶于10 mL的蒸馏水中,经RP-HPLC纯化冻干得到棕色固体2,2'',4,4''-三联苯[3]芳烃磺酸钠(0.138g, 0.052 mmol, 产率:24%),结果如图1和2所示。

[0073] 实施例2

[0074] 2,2'',4,4''-三联苯[3]芳烃磺酸钠和生物碱类客体间络合常数的定量测定

[0075] 1、实验样品

[0076] 生物碱类对2,2'',4,4''-三联苯[3]芳烃磺酸钠的荧光会造成干扰,故采用荧光竞争滴定的方法进行定量检测,所选用的荧光指示剂为吡啶橙。将2,2'',4,4''-三联苯[3]芳烃磺酸钠滴加到吡啶橙溶液中,其特征发射荧光会被淬灭;配制2,2'',4,4''-三联苯[3]芳烃磺酸钠和吡啶橙复合物溶液,滴加生物碱类竞争客体可观测到荧光恢复。2,2'',4,4''-三联苯[3]芳烃磺酸钠由实施例1合成得到,吡啶橙和生物碱类客体均由北京伊诺凯有限公司购得。



[0078] 2、实验方法

[0079] 分别配制10 mM pH 6.8的磷酸缓冲溶液和pH 1.2的盐酸溶液(模拟口腔和胃酸环境),之后用上述溶剂分别精准配制1 μM 的吖啶橙溶液,再用此吖啶橙溶液溶解一定量的2,2'',4,4''-三联苯[3]芳烃磺酸钠,向1 μM 的吖啶橙中滴加含有2,2'',4,4''-三联苯[3]芳烃磺酸钠的吖啶橙溶液,荧光光谱检测其荧光强度的变化,通过非线性拟合即可得到2,2'',4,4''-三联苯[3]芳烃磺酸钠和吖啶橙间的络合常数;配制1 μM 的吖啶橙和一定摩尔比例的2,2'',4,4''-三联苯[3]芳烃磺酸钠的溶液,并用此溶液溶解一定量的生物碱类竞争客体,将后者溶液滴加到前者中,荧光光谱检测其荧光强度的变化,通过非线性拟合即可得到2,2'',4,4''-三联苯[3]芳烃磺酸钠和生物碱类竞争客体间的络合常数。

[0080] 3、实验结果

[0081] 将2,2'',4,4''-三联苯[3]芳烃磺酸钠滴加到吖啶橙溶液中,其特征发射荧光明显降低,通过非线性拟合得到2,2'',4,4''-三联苯[3]芳烃磺酸钠和吖啶橙间的络合常数为 $(6.31 \pm 0.90) \times 10^6 \text{ M}^{-1}$ (pH = 6.8) 和 $(3.50 \pm 0.74) \times 10^6 \text{ M}^{-1}$ (pH = 1.2)。进一步将生物碱类竞争客体滴加到吖啶橙/2,2'',4,4''-三联苯[3]芳烃磺酸钠溶液中,吖啶橙的特征发射荧光又会恢复,通过非线性拟合得到2,2'',4,4''-三联苯[3]芳烃磺酸钠和生物碱类竞争客体间的络合常数如下面的表1所示,其中2,2'',4,4''-三联苯[3]芳烃磺酸钠与黄藤素间的络合常数最大,pH 6.8的磷酸缓冲液中的值为 $(4.44 \pm 0.41) \times 10^6 \text{ M}^{-1}$ 及pH 1.2的盐酸溶液中的值为 $(5.57 \pm 0.47) \times 10^5 \text{ M}^{-1}$,如图3和图4所示。结果表明2,2'',4,4''-三联苯[3]芳烃磺酸钠与下列生物碱类客体均具有强的络合能力,且存在pH响应性,在pH 1.2的酸性环境下络合常数显著减小有利于药物在胃肠道中定点释放。

[0082] 表1

生物碱类客体	络合常数 (M^{-1})	
	pH 6.8	pH 1.2
黄藤素	$(4.44 \pm 0.41) \times 10^6$	$(5.57 \pm 0.47) \times 10^5$
黄连素	$(1.49 \pm 0.42) \times 10^6$	$(4.19 \pm 0.38) \times 10^5$
秋水仙碱	$(9.65 \pm 0.39) \times 10^4$	—
阿托品	$(2.06 \pm 0.19) \times 10^4$	$(9.04 \pm 0.28) \times 10^2$
槟榔碱	$(8.75 \pm 0.44) \times 10^2$	—
茶碱	$(2.50 \pm 0.16) \times 10^2$	$(7.41 \pm 0.87) \times 10$

[0084] 实施例3

[0085] 2,2'',4,4''-三联苯[3]芳炔磺酸钠生物安全性评价

[0086] 1、实验样品

[0087] 2,2'',4,4''-三联苯[3]芳炔磺酸钠有实施例1合成得到,人胃粘膜上皮细胞GES-1由北京中生奥邦生物科技有限公司购得,六周龄的Balb/c小鼠由北京斯贝福生物科技有限公司购得,细胞增殖检测试剂盒CCK-8由上海东仁化学科技有限公司购得。

[0088] 2、试验方法

[0089] 使用含有10%胎牛血清的,1%青霉素和1%链霉素的DMEM培养基培养人胃粘膜上皮细胞(GES-1)至稳定传代,取对数生长期的细胞接种到96孔板中(8000细胞/孔),置于培养箱(5% CO₂,37°C)中培养24小时,之后每个孔更换新鲜培养基90μL和10μL不同浓度的2,2'',4,4''-三联苯[3]芳炔磺酸钠培养基溶液,其浓度分别为320、160、80、40、20、10和5 μM,每个浓度平行5个复孔,同时设置对照组,混合均匀后置于培养箱中继续孵育。24小时后,配制10%的CCK-8培养基溶液,更换含有2,2'',4,4''-三联苯[3]芳炔磺酸钠培养基溶液置于孵育箱中再次培养0.5小时,然后在全自动酶标仪450 nm处测定各副孔的OD值。

[0090] 购买20只六周龄的Balb/c小鼠正常饲养一周来适应环境,之后随机分成两组(每组10只),一组正常饲养,一组摄入50μM的2,2'',4,4''-三联苯[3]芳炔磺酸钠水溶液,48小时后更换正常水瓶,并在第0、2、4、6、8、10、12和14天记录每只鼠的体重变化情况。此外,另外一批小鼠在摄入50μM的2,2'',4,4''-三联苯[3]芳炔磺酸钠水溶液48小时后脱颈处死,收集其胃肠组织固定于4%的甲醇溶液中,石蜡包埋切片后进行H&E染色,最后使用数字扫描系统成像拍照。

[0091] 3、实验结果

[0092] 如图5 ~ 7所示。

[0093] CCK-8法考察2,2'',4,4''-三联苯[3]芳炔磺酸钠对人胃粘膜上皮细胞GES-1的细胞毒性结果表明,在2,2'',4,4''-三联苯[3]芳炔磺酸钠相对高的浓度(320 μM)下,GES-1细胞仍有较好的细胞活力(>95%),表明2,2'',4,4''-三联苯[3]芳炔磺酸钠对GES-1细胞的毒性小。

[0094] 口服摄取2,2'',4,4''-三联苯[3]芳炔磺酸钠,监控小鼠的体重变化情况来反映其系统毒性情况。较饮用正常蒸馏水组小鼠而言,实验组小鼠展现出相似的体重增长曲线,在此期间也未出现明显的行为学异常。进一步通过胃和肠组织的病理学切片可以看到,较对照组,实验组中并未观测到明显的坏死、炎症等病理学异常。结合上述体外体内实验结果,

可以初步证明2,2",4,4"-三联苯[3]芳烃磺酸钠具有较好的生物相容性。

[0095] 实施例4

[0096] 复合物掩味效果评定

[0097] 1、实验样品

[0098] 2,2",4,4"-三联苯[3]芳烃磺酸钠有实施例1合成得到,生物碱类客体均由北京伊诺凯有限公司购得,复合物样品是将一定摩尔比例的黄藤素(黄连素、秋水仙碱、阿托品、槟榔碱或茶碱)和2,2",4,4"-三联苯[3]芳烃磺酸钠的混合物直接溶于良性溶剂中(优选为40—60 °C)超声震荡(优选为80—120 KHz)一段时间(优选为10—20min)至客体药物完全溶解,然后将混合物溶液经孔径0.45μm的滤膜过滤,冷冻干燥或减压真空干燥得到,电子舌为日本INSENT公司的味觉分析系统TS-5000Z,六周龄的Balb/c小鼠由北京斯贝福生物科技有限公司购得。

[0099] 2、试验方法

[0100] 用蒸馏水分别配制50μM的2,2",4,4"-三联苯[3]芳烃磺酸钠溶液、黄藤素溶液、黄连素溶液、秋水仙碱溶液、阿托品溶液、槟榔碱溶液、茶碱溶液及复合物样品溶液进行电子舌苦味测定。电子舌的参比溶液为氯化钾的酒石酸溶液,负极清洗液为含有盐酸的乙醇/水溶液,正极清洗液为含有氢氧化钾和氯化钾的乙醇/水溶液。首先测定参比溶液的电势作为基准电势 V_r ,然后测定不同样品的电势 V_s ,用参比溶液简单清洗再次测定参比溶液电势,最后用专用洗净溶液彻底清洗传感器,分析软件通过 V_s 和 V_r 的差值解析综合味觉情报。

[0101] 选取掩味效果最优的黄藤素进行双瓶饮水偏好实验,购买30只六周龄的Balb/c小鼠正常饲养一周来适应环境,之后随机分成三组(每组10只),一组放置一个装有250 mL的蒸馏水瓶和装有250 mL 50μM的2,2",4,4"-三联苯[3]芳烃磺酸钠水溶液,一组放置一个装有250 mL的蒸馏水瓶和装有250 mL 50μM的黄藤素水溶液,一组放置一个装有250 mL的蒸馏水瓶和装有250 mL 50μM的复合物样品水溶液。每组两个水瓶放置的角度保持一致,为了避免放置位置引起的干扰,24时对调一次位置,48小时后统计两个水瓶中消耗的溶液量。

[0102] 3、实验结果

[0103] 电子舌苦味响应值如下面的表2所示。

[0104] 表2

生物碱类客体	电子舌苦味响应值	
	游离药物	复合物
黄藤素	6.74 ± 0.38	0.58 ± 0.90
黄连素	7.36 ± 0.69	0.99 ± 0.76
秋水仙碱	4.21 ± 1.13	1.70 ± 0.35
阿托品	1.10 ± 0.83	0.80 ± 0.75
槟榔碱	3.72 ± 1.28	3.53 ± 1.19
茶碱	1.00 ± 0.49	0.94 ± 0.13

[0106] 首先排除2,2",4,4"-三联苯[3]芳烃磺酸钠的苦味影响,电子舌结果显示其响应值只有0.01。上列游离的生物碱药物均能引起较强的电子舌响应,表明这些分子均具有严

重的苦味,而复合物样品溶液较游离药响应值显著降低,证明2,2",4,4"-三联苯[3]芳炔磺酸钠可以有效地掩盖上列生物碱类药物的苦味。以最优的黄藤素为例,电子舌的响应值从 6.74 ± 0.38 降低到了 0.58 ± 0.90 ,掩味效率达到了91.39%。

[0107] 双瓶饮水偏好实验结果如图8所示,首先还是排除2,2",4,4"-三联苯[3]芳炔磺酸钠的苦味影响,结果其偏好率达到了 $(49.71 \pm 2.23)\%$ 与蒸馏水相当,表明小鼠对2,2",4,4"-三联苯[3]芳炔磺酸钠并未产生厌恶反馈。游离的药物组中黄藤素的摄取率只有 $(13.07 \pm 8.59)\%$,反映出50 μM 的黄藤素溶液具有浓郁的不良味道。通过添加2,2",4,4"-三联苯[3]芳炔磺酸钠,可以看到复合物样品组的摄取率明显提高。结合以上体外体内实验证明了2,2",4,4"-三联苯[3]芳炔磺酸钠基本不具有不良的苦味,通过2,2",4,4"-三联苯[3]芳炔磺酸钠络合形成复合物样品可以有效掩盖上述生物碱客体的苦味。

[0108] 实施例5

[0109] 黄藤素复合物对金黄色葡萄球菌的抑制效果研究

[0110] 1、实验样品

[0111] 2,2",4,4"-三联苯[3]芳炔磺酸钠有实施例1合成得到,黄藤素由北京伊诺凯有限公司购得,金黄色葡萄球菌(ATCC 25922)甘油冻存液由北京中生奥邦生物科技有限公司购得。

[0112] 2、试验方法

[0113] 营养肉汤的配制:准确称取3 g牛肉粉、10 g蛋白胨,10 g琼脂粉和5 g氯化钠溶于1 L的蒸馏水中,用NaOH调节pH到7.4,放置于加热器上搅拌加热煮沸2小时。趁热倒入广口瓶中,用牛皮纸包裹瓶口放入高压灭菌锅中灭菌15分钟,盖盖冷却后放于4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中保存。

[0114] 将金黄色葡萄球菌甘油冻存液在水浴锅中迅速解冻,用营养肉汤按1:2000的比例稀释菌液,置于37 $^{\circ}\text{C}$ 的恒温摇床中培养过夜,再用营养肉汤按1:200的比例稀释菌液让密度达到 $2 \times 10^6 \text{ CFU} \cdot \text{mL}^{-1}$ 备用。使用营养肉汤配制8 μM 的黄藤素溶液及复合物样品溶液,以倍稀的方法在96孔板中稀释系列浓度,每个浓度平行5个复孔,每个复孔100 μL 溶液。然后将1 μL 稀释好的菌液加入到每个复孔中,然后继续置于37 $^{\circ}\text{C}$ 的恒温摇床中培养过夜。最小抑菌浓度由直接观察结合酶标仪 OD_{600} 的读数得出。

[0115] 3、实验结果

[0116] 实验结果如图9所示。

[0117] 首先排除2,2",4,4"-三联苯[3]芳炔磺酸钠的抑菌效果干扰,结果表明其不具有抗菌活性。将游离的黄藤素与金黄色葡萄球菌共培养,可以观察到明显的细菌抑制情况,最小抑菌浓度为1 mM;同样将黄藤素复合物样品与金黄色葡萄球菌共培养,其抑菌效果并未发生明显改变,最小抑菌浓度仍可达到1 mM。

[0118] 尽管本发明的具体实施方式已经得到详细的描述,本领域技术人员将会理解。根据已经公开的方法和数据,可以对细节进行各种修改和替换,这些改变均在本发明的保护范围之内。本发明的全部范围由所附权利要求及其任何等同物给出。

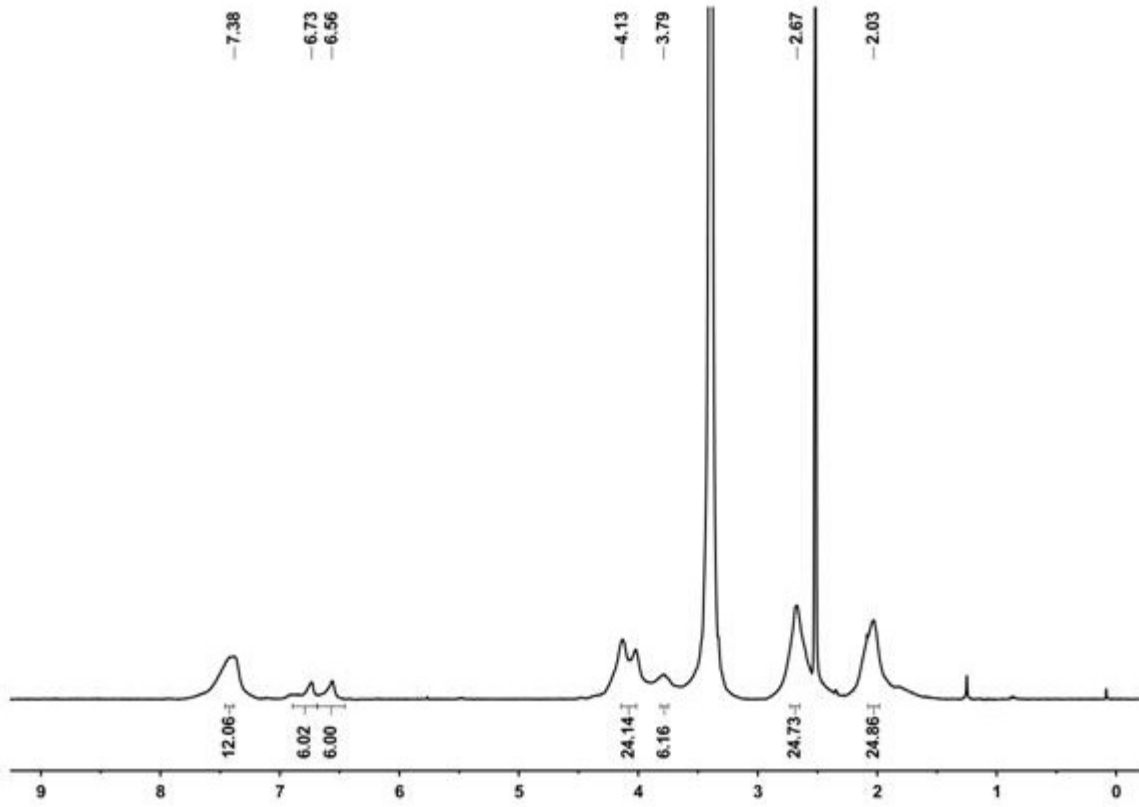


图1

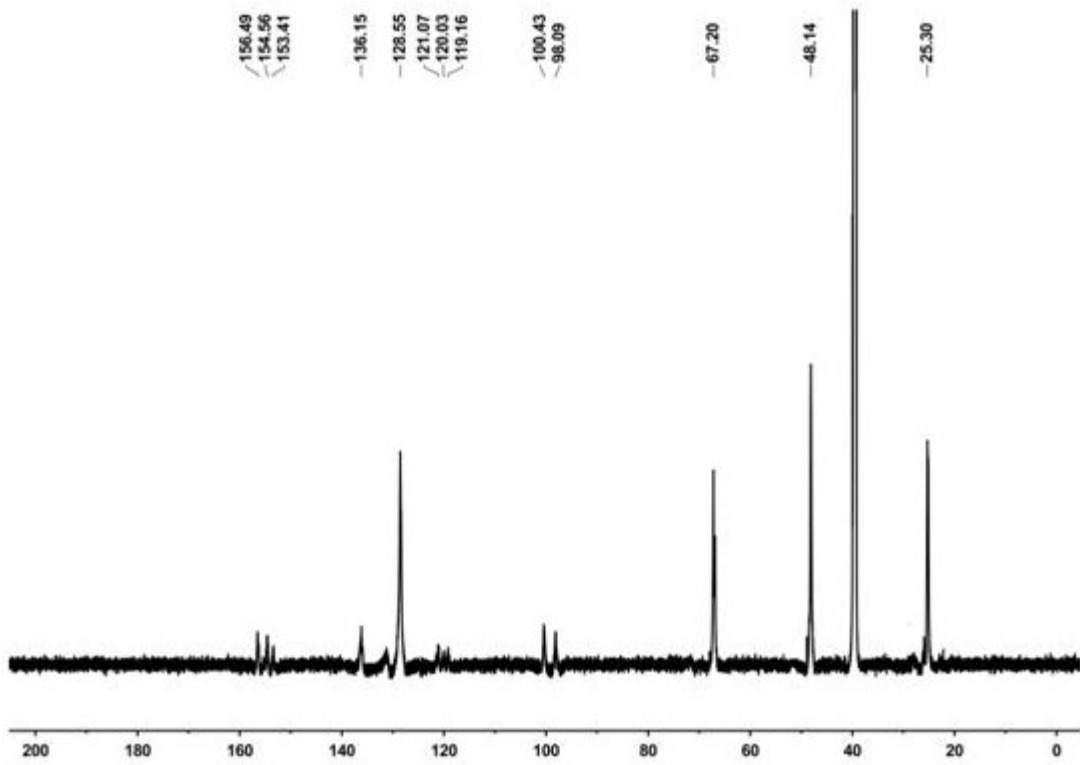


图2

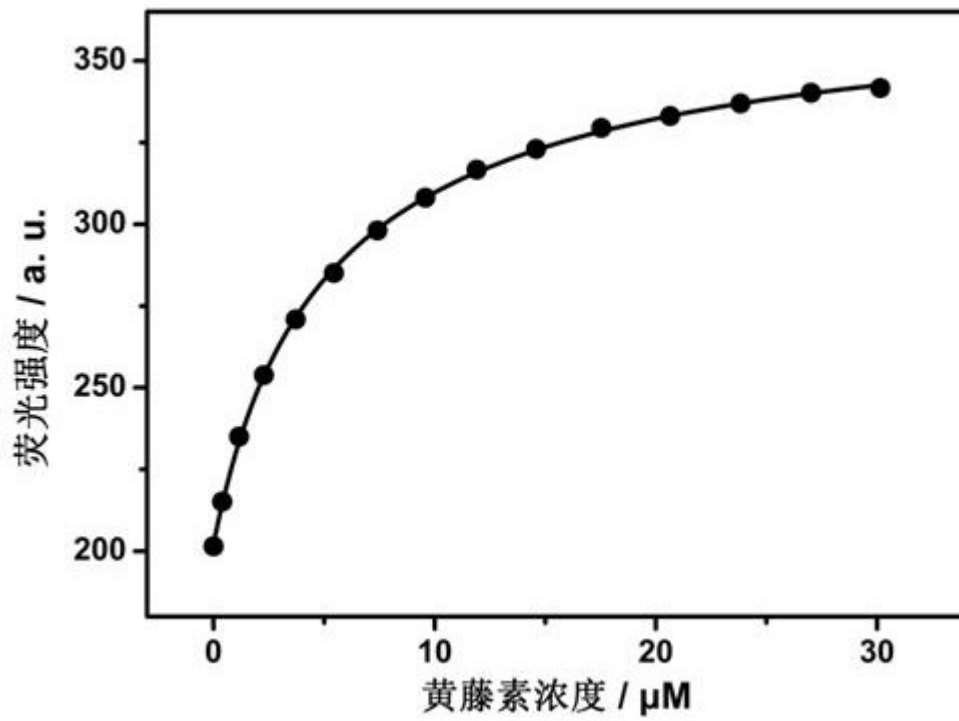


图3

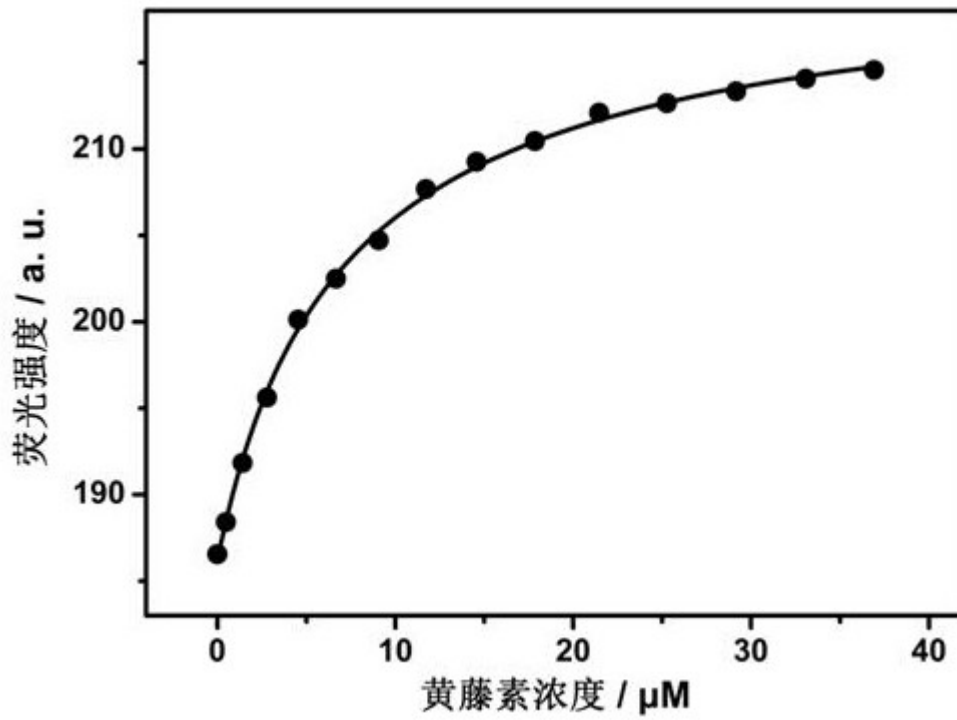


图4

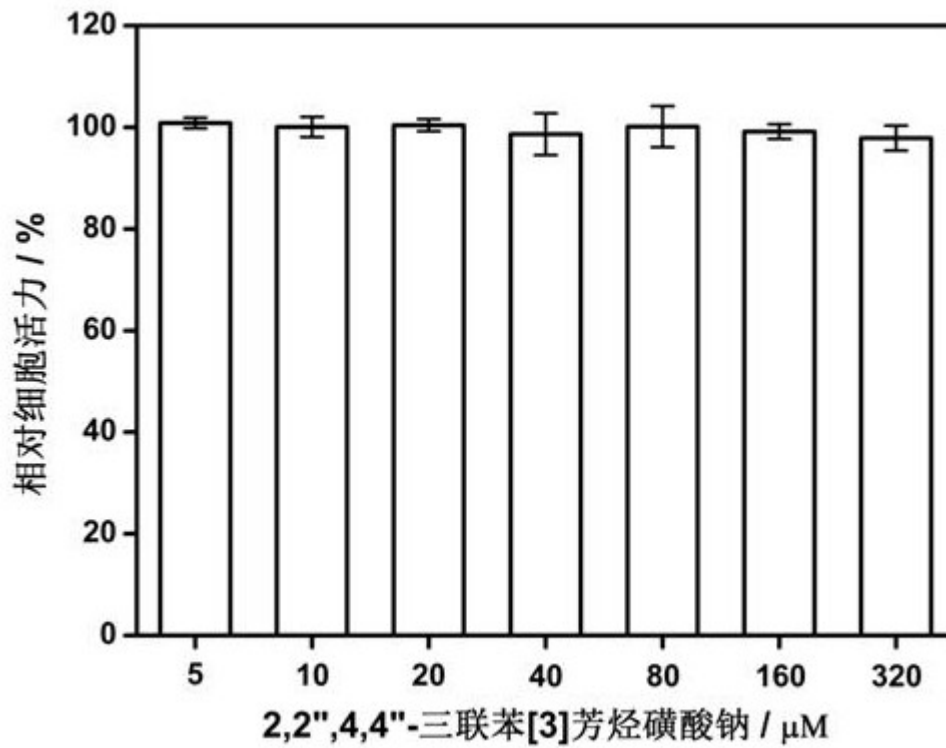


图5

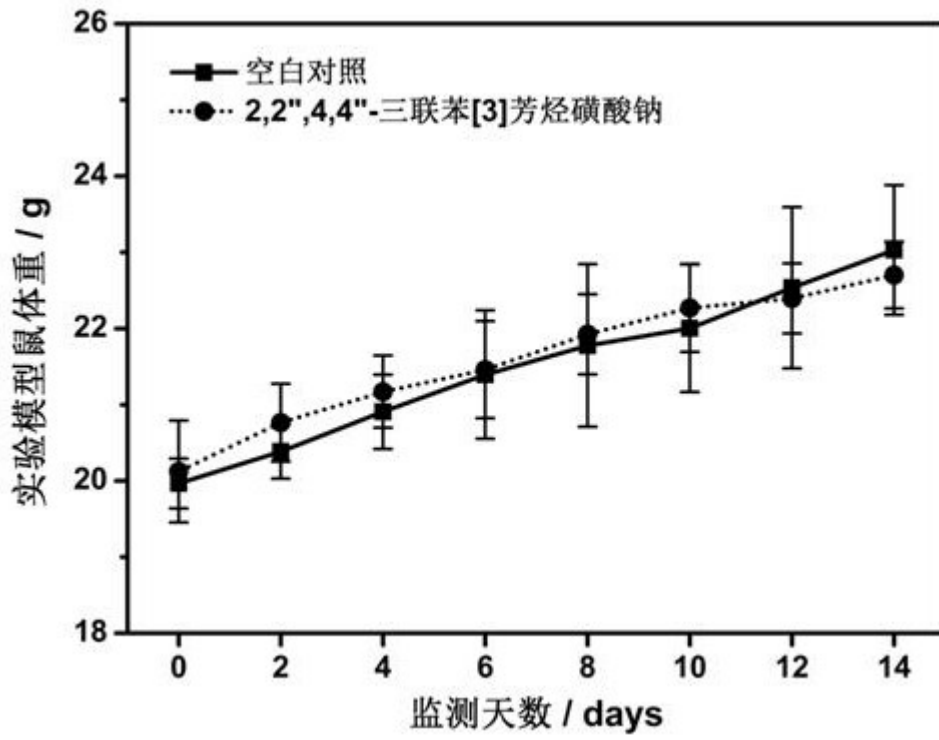


图6

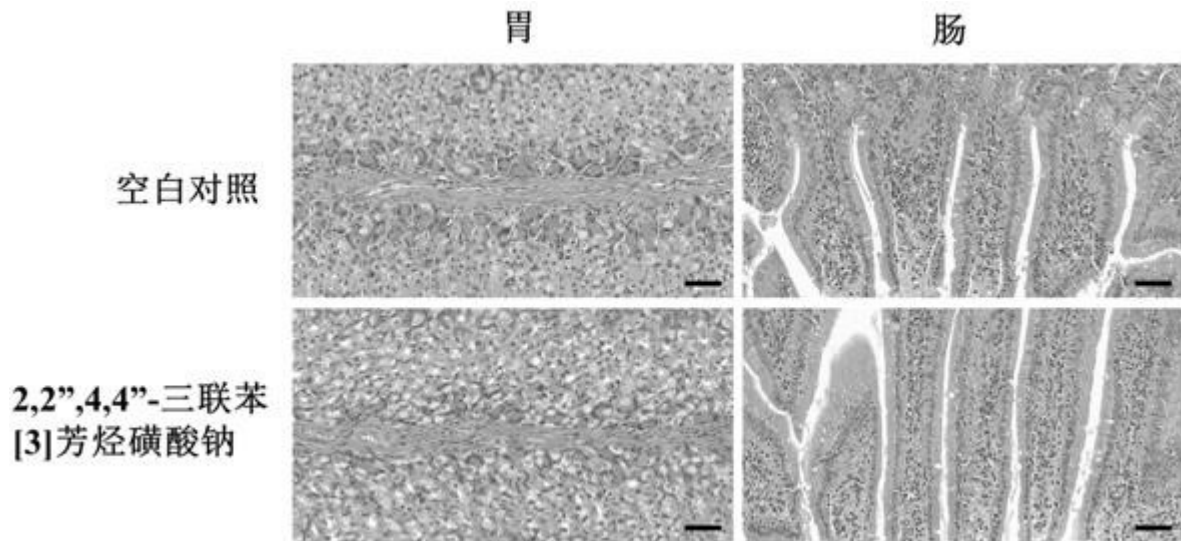


图7

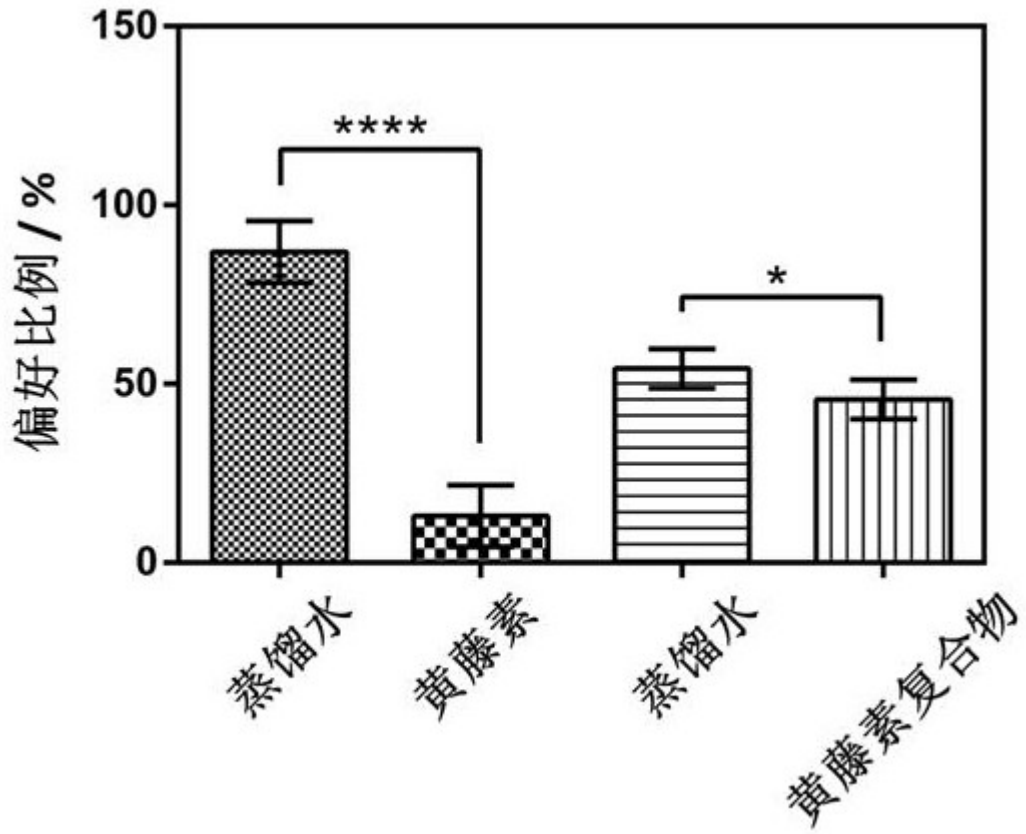


图8

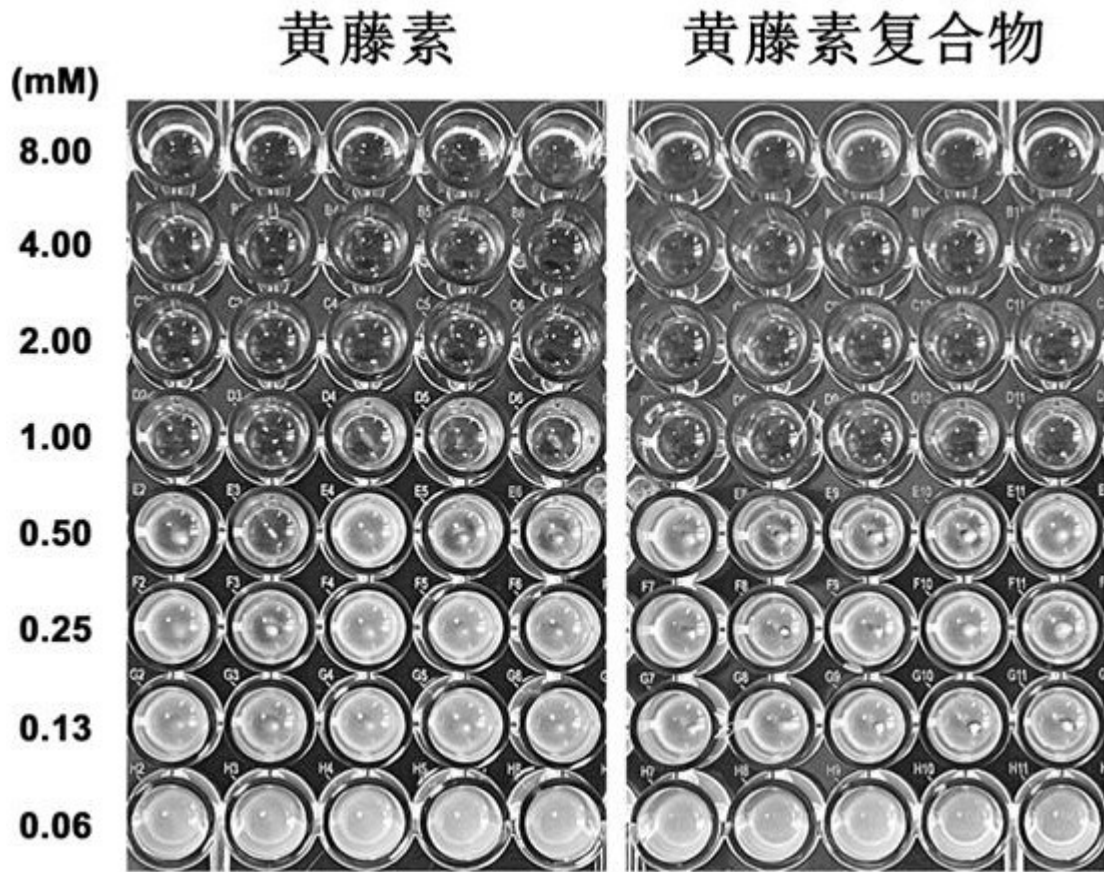


图9