

抗坏血酸葡萄糖苷/ β -环糊精包合物的制备与表征

成银雏, 翁婧媛, 朱瀛奎, 李艳, 贾红华

(南京工业大学生物与制药工程学院, 江苏南京 211800)

摘要: 本文研究了抗坏血酸葡萄糖苷(2-O- α -D-glucopyranosyl-L-ascorbic acid, 简称 AA-2G)/ β -环糊精包合物的制备工艺, 以提高它在应用中的稳定性、生物利用度。选用 β -环糊精(β -cyclodextrin, β -CD)对 AA-2G 进行包合, 采用饱和水溶液法研究了 AA-2G- β -CD 包合物的制备工艺。以包合率为考察指标, 通过单因素试验考察了温度、时间、搅拌速度以及 β -环糊精和 AA-2G 的摩尔比对包合物制备效果的影响。进一步运用正交试验研究确定了 AA-2G- β -CD 包合物的最佳工艺条件为: AA-2G 与 β -CD 的摩尔比为 1:3, 温度为 60 $^{\circ}\text{C}$ 、搅拌速度为 200 r/min, 时间为 5 h 时, 包合率为 49.55%。影响包合率的因素顺序为: 时间>温度>转速>摩尔比。验证试验表明, 饱和水溶液法制备 AA-2G- β -CD 包合物工艺稳定。通过傅里叶红外光谱法对制备的 AA-2G- β -CD 包合物进行了鉴定, 证明了 AA-2G- β -CD 包合物的形成。通过抗氧化性实验发现, 包合物清除氧自由基能力高于 AA-2G 与 β -CD 混合物。综上, 采用饱和水溶液法制备 AA-2G- β -CD 包合物, 经验证 AA-2G- β -CD 包合物形成, 通过正交实验优化制备工艺后, 其包合率达到 49.55%, 同时包合物的抗氧化性能力高于 AA-2G 与 β -CD 混合物。

关键词: 抗坏血酸葡萄糖苷; β -环糊精; 包合物; 红外光谱; 自由基清除率

文章编号: 1673-9078(2019)09-204-209

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2019.9.026

Preparation and Characterization of 2-O- α -D-glucopyranosyl-L-ascorbic Acid Inclusion Compound

CHENG Yin-chu, WENG Jing-yuan, ZHU Yin-kui, LI Yan, JIA Hong-hua

(College of Biotechnology and Pharmaceutical Engineering, Nanjing University of Technology, Nanjing 211800, China)

Abstract: In order to improve the stability and bioavailability of 2-O- α -D-glucopyranosyl-L-ascorbic acid (AA-2G), the inclusion compound of AA-2G in beta-cyclodextrin (β -CD) was prepared. The preparation process of AA-2G- β -CD inclusion compound was studied by saturated aqueous solution method. The effects of temperature, time, stirring speed and the molar ratio of β -CD to AA-2G on the preparation of inclusion compound were investigated by single factor experiments. The optimized conditions for the preparation of AA-2G- β -CD inclusion compound were determined by orthogonal experiments listed as follows: the molar ratio of AA-2G to β -CD as 1:3, temperature as 60 $^{\circ}\text{C}$, the stirring speed as 200 r/min, time as 5 h, and the resulting inclusion rate was 49.55%. The order of factors affecting inclusion ratio was time>temperature>speed>molar ratio. The validation test showed that the preparation of AA-2G- β -CD inclusion compound by saturated aqueous solution method was stable. The AA-2G- β -CD inclusion compound was identified by FT-IR, proving the formation of AA-2G- β -CD inclusion compound. It was found that the free radical scavenging ability of the inclusion compound was higher than that of the AA-2G and β -CD mixture. In summary, AA-2G inclusion compound was prepared by saturated aqueous solution method. The formation of AA-2G- β -CD inclusion compound was confirmed. The inclusion rate of AA-2G- β -CD inclusion compound reached 49.55% after optimizing the preparation process by orthogonal experiments. At the same time, the antioxidant ability of the inclusion compound was higher than that of the AA-2G and β -CD mixture.

Key words: 2-O- α -D-glucopyranosyl-L-ascorbic acid; beta-cyclodextrin; inclusion compound; FT-IR; free radical scavenging rate

收稿日期: 2019-03-18

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(21878155); 江苏省先进生物制造协同创新中心项目; 江苏省品牌专业建设工程项目; 江苏省优势学科建设工程项目, 江苏高校“青蓝工程”计划项目; 江苏省“六大人才高峰”高层次人才计划项目

作者简介: 成银雏(1993-), 女, 硕士, 硕士研究生, 研究方向: 生物活性物质制备与应用药剂学

通讯作者: 贾红华(1979-), 男, 博士, 研究员, 研究方向: 生物催化与转化、生物系统工程分子

维生素 C (Vitamin C, Vc) 又称 L-抗坏血酸 (L-ascorbic acid, L-AA), 是一种常见的水溶性维生素及人体的必需营养元素。由于人体无法自身合成, 因此只能通过食物或药物获得^[1,2]。Vc 可促进胶原蛋白的合成、清除人体内氧自由基以及参与芳香氨基酸代谢等, 也可增强人体皮肤细胞中胶原的合成, 以此来增强皮肤的弹性, 还可以预防和治疗由紫外线照射引发的急性病症^[3-5]。此外, 作为防晒霜的成分, 可以用来防止由日晒过度造成的黑色素沉积、老年斑等^[6]。但由于它的烯二醇式结构, C2、C3 位上的原子极易失去, 具有很强的还原性, 容易被光、热、氧化剂、金属离子等氧化^[7,8], 加上其不易透皮吸收等特点限制了其外用^[9,10]。因此, 如何增强 Vc 的稳定性, 更好地发挥 Vc 的生理功能是国内外学者比较关心的问题。糖基化 Vc 由于其安全性高、稳定性强、在体内易释放等优点, 且能更好地被人体和动物吸收、利用, 因此, 糖基化 Vc 是一种性能较好的衍生物, 可作为 Vc 的替代品。抗坏血酸葡萄糖苷 (2-O- α -D-glucopyranosyl-L-ascorbic acid, AA-2G) 是将糖基通过 α -1,4 糖苷键连接于 L-AA 的 C2 原子上进行修饰的抗坏血酸衍生物^[11]。由于 C2 位上有葡萄糖分子的掩蔽, 该类化合物稳定性极好, 对热、氧化剂、金属离子具有显著的抗性。在人体内酶系的综合作用下, 可分解为 D-葡萄糖和 Vc, 分解得到的 Vc 和 D-葡萄糖均可被人体吸收^[9,12], 因此, AA-2G 的生物安全性极高。

环糊精 (Cyclodextrin, 简称 CD), 分子结构由 6 个以上葡萄糖通过 α -1,4 糖苷键连接而成, 可形成疏水性空腔, 吸收疏水性小分子物质或基团, 形成稳定的非共价复合物, 主要分为 α -CD, β -CD, γ -CD。 β -CD 是效果较好的包合材料, 在三种类型中应用最为广泛, 而且已得到美国食品药品监督管理局的认可^[13-17]。目前工业制造和应用以 β -CD 为主, 它的毒性低、水溶性小, 两端和外部为亲水性, 内部为疏水性, 可将一些大小和形状合适的药物分子包合于筒状结构中, 形成超微囊状包合物。

在制药领域 β -CD 可用来改善某些药物的特性, 例如溶解性、稳定性和生物利用度, 也可促进药物吸收, 减轻药物对机体的刺激等^[18,19]。本文利用溶解性好、热稳定性高的 β -CD 作为包合材料, 采用饱和水溶液法制备 AA-2G- β -CD 包合物, 通过单因素、正交实验优化制备工艺, 以提高 AA-2G 的水溶性、稳定性和生物利用度。

1 材料与方法

1.1 原料

β -环糊精 (纯度大于 99.8%), 北京奥博星生物技术责任有限公司; 抗坏血酸葡萄糖苷 (标准品, 纯度 98%), 上海麦克林生化科技有限公司; 抗坏血酸葡萄糖苷样品 (纯度 97%), 毕得医药; 2,2-联苯基-1-苦基肼基 (96%), 上海麦克林生化科技有限公司; 无水乙醇、冰醋酸、溴化钾等均为分析纯试剂, 国药集团化学试剂有限公司。

1.2 仪器

电热恒温鼓风干燥箱 (DHG-9140A), 上海精宏试验设备有限公司; 电子分析天平 (BS 24S), 北京赛多利斯公司; 恒温磁力搅拌器 (TYXH-11), 姜堰新康医疗器械有限公司; 紫外可见分光光度计 (GENESYS 10S), Termo Scientific 公司; 数显恒温水浴锅 (HH-S2), 金坛市医疗仪器厂; 多用途台式恒温振荡器 (DDHZ-300A), 江苏太仓市试验设备厂; 傅里叶变换红外光谱仪 (Nicolet iS5), Termo Scientific 公司; 酶标仪 (SpectraMax 2.1), Molecular Devices 公司。

1.3 试验方法

1.3.1 AA-2G- β -CD 包合物的制备

制备一定温度下的 β -CD 的饱和水溶液, 然后缓慢加入 AA-2G 粉末搅拌使其溶解, 搅拌一定时间后, 冷却至室温, 将其混合溶液置于冰箱中冷却 24 h 析晶, 然后取出抽滤, 水洗。得到的包合物置烘箱中 50 °C 干燥, 取出后用电子分析天平称重, 测定 AA-2G 的含量, 并计算包合率。

包合率% = 包合物中 AA-2G 的质量 / AA-2G 投料量 $\times$ 100%

1.3.2 实验设计

按照 AA-2G- β -CD 包合物的制备方法, 分别对主 (β -CD) 客 (AA-2G) 分子摩尔比、温度、搅拌速度以及时间四个影响因素进行了考察。在此基础上, 以时间 (A)、温度 (B)、主客分子摩尔比 (C)、搅拌速度 (D) 4 个因素作为考察对象, 进行 $L_9(3^4)$ 正交试验, 每个试验水平重复 3 次, 计算包合率的平均值, 以 AA-2G 包合率为考察指标, 确定最佳包合工艺, 并对最佳工艺进行验证。

1.3.3 含量测定

1.3.3.1 紫外光谱最大吸收波长的确定^[20-22]

以 1% 的 HAc 溶液为标准空白, 采用 1 cm 石英比色皿, 在 200~400 nm 波长范围内扫描标准 AA-2G 溶液, 同时, 配制与 AA-2G 相同浓度的 β -CD 溶液, 在

200~400 nm 波长范围内测定最大吸收波长,测得最大吸收波长为 284 nm, β -CD 对 AA-2G 的吸收无干扰。

1.3.3.2 标准曲线的制备

准确移取 5、10、20、25、32.5 mL 浓度为 200 $\mu\text{g/mL}$ 的 AA-2G 贮备液,分别加水定容至 50 mL 刻度线处,摇匀,得系列浓度的溶液。以水为对照,在 284 nm 处测各浓度溶液的吸光值 A,以吸光值 A 对浓度 C 进行线性回归,结果见图 1,得回归方程为 $y=0.03481+0.00347C$,相关系数 $R^2=0.99816$ 。根据标准方程计算包合物中 AA-2G 的含量,从而计算 AA-2G 的包合率。

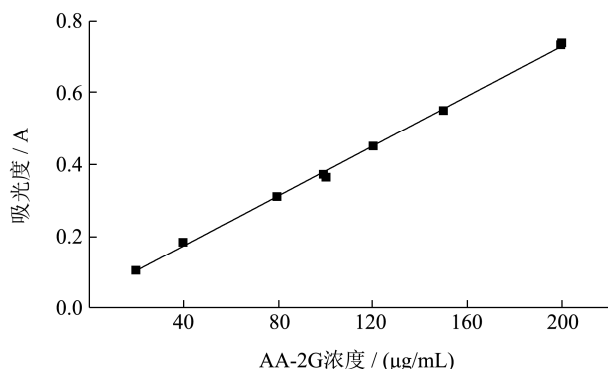


图 1 AA-2G 标准曲线

Fig.1 Standard curve of AA-2G

1.3.4 包合物的验证

将 AA-2G 包合物、 β -CD、AA-2G、 β -CD 与 AA-2G 的混合物采用 KBr 压片法,在 4000~400 cm^{-1} 下进行红外扫描。

1.3.5 抗氧化性试验

DPPH 法测定 AA-2G 清除自由基原理^[23,24]:二苯基苦味肼基自由基是一种稳定的以 N 为中心的自由基,在 517 nm 波长处有最大吸收。其乙醇溶液呈紫色,浓度与吸光度呈线性关系。在 DPPH 乙醇溶液中加入 AA-2G,AA-2G 可与 DPPH 自由基结合或发生替代,使溶液颜色变浅,表现为:其在 517 nm 波长处的吸光度不断减小,直至达到稳定。

1.3.5.1 标准曲线的绘制

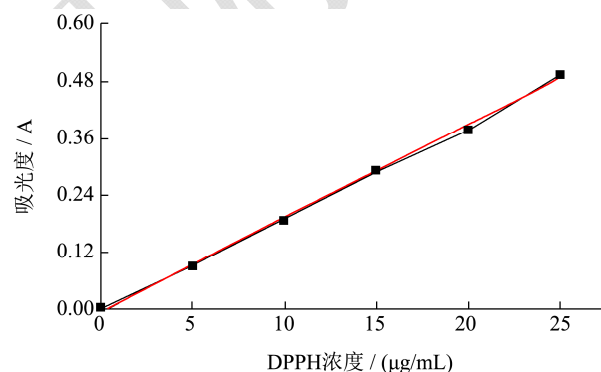


图 2 DPPH 标准曲线

Fig.2 Standard curve of DPPH

1.3.5.2 DPPH 自由基清除能力的测定

用 50%乙醇水溶液分别将 AA-2G 与 β -CD 的混合物 (1:3)、AA-2G 包合物配成 $1.5 \times 10^{-2} \text{ mg/mL}$ 浓度样液备用,取 0.2 mL 上述配制好的样液以及 3.8 mL 的 25 $\mu\text{g/mL}$ DPPH 溶液,摇匀,立即在 517 nm 波长处测吸光值(A),吸光值记为 A_i ,室温下避光静置 30 min 后测吸光值,记为 A_j ,对照试验为只加 DPPH 的乙醇溶液,其吸光值记为 A_c 。在 517 nm 波长下测定吸光度。每份样品平行操作 3 次,取平均值,按下式计算自由基清除率 (K):

$$K(\%)=[1-(A_i-A_j)/A_c] \times 100\%$$

1.3.6 数据统计分析

所有试验重复三次,采用 Excel、Origin 进行数据处理及分析,正交实验设计及分析采用正交设计助手 3.1。

2 结果与讨论

2.1 单因素实验结果

2.1.1 时间对 AA-2G 包合率的影响

按照 AA-2G- β -CD 包合物的制备方法,在搅拌温度为 50 $^{\circ}\text{C}$ 下,制备 β -CD 的饱和水溶液,按照主客分子的摩尔比为 2:1 加入 AA-2G 粉末,测定 AA-2G 的包合率。

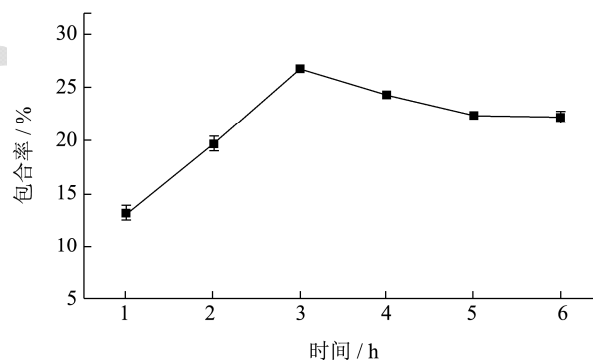


图 3 时间对 AA-2G 包合率的影响

Fig.3 Effect of time on the inclusion rate of AA-2G

时间对 β -CD 包合 AA-2G 的影响如图 3 所示,随着时间的增加,AA-2G 包合率快速升高,在 3 h 时 AA-2G 包合率最高,之后包合率开始降低。这可能是因为包合过程是一个动态平衡的过程,初始阶段适当延长有利于提高包合率,但包合过程达到平衡时,搅拌时间过长,使得生成的包合物又被破坏,从而降低了其包合率,故选取 3、4、5 h 为实验水平。王瑞红^[25]等在制备维生素 A 包合物时,用乙醇作为溶剂最适的搅拌时间为 2 h,若时间过长乙醇蒸发速度加快,不利于包合物形成。冯强等^[26]采用溶液法制备维生素

E- β -CD 包合物时, 搅拌 3 h 时, 包含率达到最高。

2.1.2 投料摩尔比对 AA-2G 包含率的影响

按照 AA-2G- β -CD 包合物的制备方法, 在搅拌速度为 50 $^{\circ}\text{C}$ 时, 制备 β -CD 的饱和水溶液, 搅拌 2.5 h, 测定 AA-2G 的包含率。

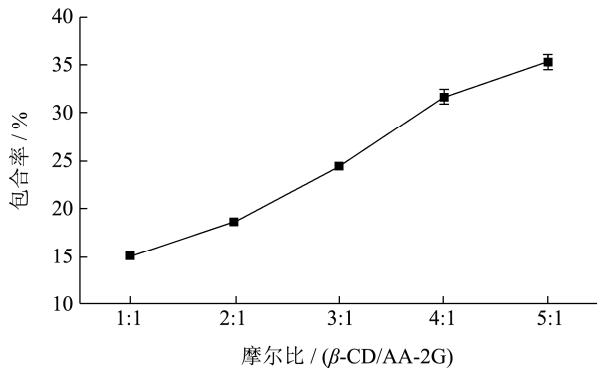


图4 摩尔比对 AA-2G 包含率的影响

Fig.4 Effect of mole ratio on the inclusion rate of AA-2G

投料摩尔比对 β -CD 包含 AA-2G 的影响如图 4 所示, 包含率随着投料摩尔比的增加而增加, 可能是因为 AA-2G 相对于 β -CD 较少, 当 β -CD 比例增大时, AA-2G 分子被包含的机率相对增大, 故选取 3:1、4:1、5:1 为实验水平。包合物中主客体比例一般为非化学计量关系^[27], 孙伟张等^[28]研究 β -CD 对维生素 E 的包合条件时发现: V_E 和 β -CD 的最适摩尔比为 1:3; 当摩尔比为 1:1 时, 因 β -CD 分子数量有限, 大部分 V_E 未被包含, V_E 利用率低, 原料浪费较大。因此, 投料比例的选取应考虑到包合效果、原料利用率等因素。

2.1.3 温度对 AA-2G 包含率的影响

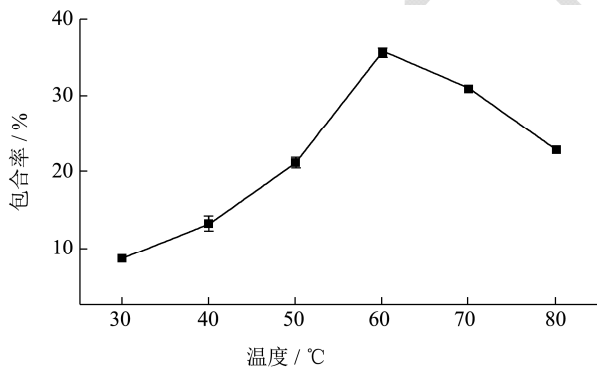


图5 温度对 AA-2G 包含率的影响

Fig.5 Effect of temperature on the inclusion rate of AA-2G

按照 AA-2G- β -CD 包合物的制备方法, 制备 β -CD 的饱和水溶液, 按照摩尔比为 2:1 加入 AA-2G 粉末, 分别搅拌 2.5 h, 测定 AA-2G 的包含率。

温度对 β -CD 包含 AA-2G 的影响如图 5 所示, 随着温度的升高, 包含率不断增加, 表明温度的升高, 分子运动加快, 有利于超分子包合物形成; 当温度到达 60 $^{\circ}\text{C}$ 时, 包含率最高, 但之后温度越高, 包含率

反而降低, 这可能是因为^[28]温度过高, 包合物溶解度增大, AA-2G 易从分子中逸出。温度低, 分子运动较慢, 相互间接触少, 包含机会少; 同时包埋是个放热过程^[29], 过高的温度可能使生成的包合物易解离, 同时包埋逆向进行, 包埋率下降。故选取 60、70、80 $^{\circ}\text{C}$ 为实验水平。

2.1.4 搅拌速度对 AA-2G 包含率的影响

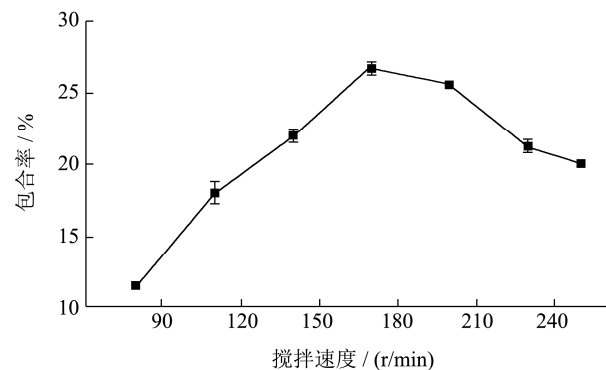


图6 搅拌速度对 AA-2G 包含率的影响

Fig.6 Effect of agitation speed on the inclusion rate of AA-2G

按照 AA-2G- β -CD 包合物的制备方法, 制备 50 $^{\circ}\text{C}$ 下 β -CD 的饱和水溶液, 按照摩尔比为 2:1 加入 AA-2G 粉末, 分别搅拌 2.5 h, 测定 AA-2G 包含率。

搅拌速度对 β -CD 包含 AA-2G 的影响如图 6 所示, 随着转速的逐渐增加, 包含率不断升高, 但达到 170 r/min 以上时, 包含率反而降低, 这可能是因为搅拌速度过快, 破坏了包合物的形成。所以搅拌速度选取 140、170、200 r/min 为实验水平。

2.2 正交实验结果

表1 正交实验因素表

Table 1 Factors and levels of the orthogonal experiments

水平	A 时间	B 温度	C 摩尔比	D 搅拌速度
1	3 h	50	3:1	140
2	4 h	60	4:1	170
3	5 h	70	5:1	200

为了确定饱和水溶液法包含 AA-2G 的最佳工艺, 根据单因素实验的结果为依据, 选取 4 因素 3 水平 $L_9(3^4)$ 来设计正交实验表, 以包含率为考察指标, 对正交实验结果进行分析, 确定用饱和水溶液法包含 AA-2G 的最佳工艺条件。正交试验因素与水平设计见表 1, 正交实验结果见表 2。观察极差 R 可得, 4 个影响因素对包含率的影响顺序为: 时间(A) > 温度(B) > 转速(D) > 摩尔比(C); 结合均值 K 分析得最佳工艺条件为: A3B2C1D3, 即在摩尔比 (β -CD/AA-2G) 为 3:1、60 $^{\circ}\text{C}$ 、200 r/min 下搅拌 5 h 的时候, 包含率最高。为了验证正交实验法包含 AA-2G 的最佳工艺,

根据得出的最佳工艺条件: 在摩尔比 (β -CD/AA-2G) 为 3:1、60 °C、200 r/min 下搅拌 5 h, 进行三组实验, 以包合率为考察指标, 实验结果分别为 50.12%、49.13%、48.13%, 确定了用饱和水溶液法包合 AA-2G 的最佳工艺条件。

表 2 正交实验结果

Table 2 Results of the orthogonal experiments

编号	A	B	C	D	包合率/%
1	1	1	1	1	26.62
2	1	2	2	2	36.22
3	1	3	3	3	34.06
4	2	1	2	3	29.09
5	2	2	3	1	28.59
6	2	3	1	2	25.08
7	3	1	3	2	32.89
8	3	2	1	3	49.55
9	3	3	2	1	20.19
K ₁	32.300	29.533	33.750	31.800	
K ₂	27.587	38.120	35.167	31.397	
K ₃	40.877	33.110	31.847	37.567	
R	13.290	8.587	3.320	6.170	

2.3 包合物的验证

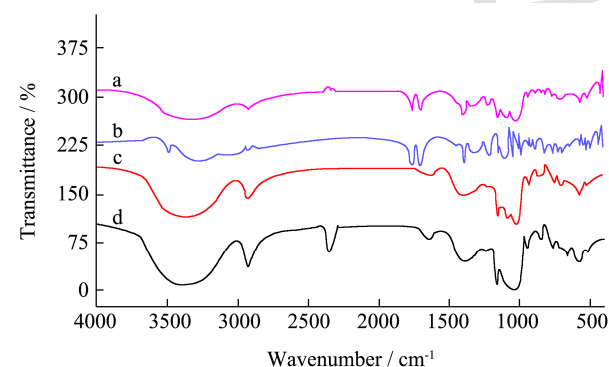


图 7 红外光谱

Fig.7 FT-IR spectra

注: a: AA-2G 和 β -CD 机械混合物; b: AA-2G; c: β -CD; d: AA-2G 包合物。

由图 7 可知, β -CD 在 3387 cm^{-1} 、2928 cm^{-1} 、1646 cm^{-1} 、1038 cm^{-1} 分别出现了 4 个较强峰, 为 O-H 伸缩振动峰, C-H 伸缩振动, C-O-C 的伸缩振动和-CH₂OH 中的 C-O 伸缩振动吸收峰。AA-2G 在 3490 cm^{-1} 、1777 cm^{-1} 、1709 cm^{-1} 分别出现了特征吸收峰, AA-2G 与 β -CD 机械混合物在 3363 cm^{-1} 、2927 cm^{-1} 、1770 cm^{-1} 、1700 cm^{-1} 出现了特征吸收峰, 可见两者的机械混合物的红外图谱基本上显示两种物质红外吸收图谱的叠加。包合物的红外图谱整体显示 β -CD 的红外图谱的

特征,但在具体位置处有明显差异。在 2306 cm^{-1} 、2341 cm^{-1} 处出现的吸收峰, 通常是由于环境空气中的二氧化碳引起的。包合物的特征吸收峰由 3387 cm^{-1} 、2928 cm^{-1} 、1646 cm^{-1} 位移到 3393 cm^{-1} 、2928 cm^{-1} 、1652 cm^{-1} , 发生这种现象的原因是由于 AA-2G 进入 β -CD 腔体结构内, 使其空间结构发生改变, 从而导致吸收光谱发生移动。同时, 包合物中属于 AA-2G 的两个特征吸收峰 1777 cm^{-1} 、1770 cm^{-1} 消失不见, 证明 AA-2G 被包合到 β -CD 中。

2.4 抗氧化性试验

实验结果表明, AA-2G 与 β -CD 混合物、AA-2G- β -CD 有着良好的清除 DPPH 自由基能力。1.5 $\times 10^{-2}$ mg/mL AA-2G- β -CD 清除 DPPH 自由基能力达到 49.1%, 高于 AA-2G 的 36.9%, 表明包合物的抗氧化能力高于混合物。可能是因为 β -CD 的包合作用, AA-2G 分子进入 β -CD 空腔内不直接与其他物质接触, 从而减少了被氧化的几率。

3 结论

本研究采用饱和水溶液法制得了 AA-2G- β -CD 包合物。以包合率为考察指标, 确定出了最佳包合条件, 即主客分子摩尔比为 3:1、温度为 60 °C、搅拌速度为 200 r/min, 搅拌 5 h。采用红外色谱法对包合物进行了验证, 证明了 AA-2G 被包合, 且 AA-2G 的化学成分没有改变。同时抗氧化性试验结果表明包合物的抗氧化的能力高于混合物。故 AA-2G 与 β -CD 所形成的包合物可应用于药物制剂领域, 对于药物的稳定性、生物利用度都有一定的提高。

参考文献

- [1] Rumsey S C, Levine M. Absorption, transport, and disposition of ascorbic acid in humans. [J]. Nutr Biochem, 1998, 9(3): 116-130
- [2] Mandl J, Szarka A, G BÄinhegyi. Vitamin C: Update on physiology and pharmacology [J]. British Journal of Pharmacology, 2009, 157(7): 1097-1110
- [3] 李诚让,朱文元.维生素 C 衍生物研究进展[J].临床皮肤科杂志,2005,34(7):487-488
- LI Cheng-rang, ZHU Wen-yuan. Research progress of vitamin C derivatives [J]. Journal of Clinical Dermatology, 2005, 34 (7): 487-488
- [4] Jacob Fra, Msph G S. Vitamin C function and status in chronic disease [J]. Nutrition in Clinical Care, 2002, 5(2): 66-74

- [5] Darr D. Topical vitamin C protects porcine skin from ultraviolet radiation-induced damage [J]. *Br J Dermatol*, 1992, 127:247-253
- [6] Kumano Y, Sakamoto T, Egawa M, et al. *In vitro* and *in vivo* prolonged biological activities of novel vitamin C derivative, 2-O- α -D-Glucopyranosyl-L-Ascorbic acid (AA-2G) in cosmetic fields [J]. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 1998, 44(3): 345-359
- [7] Yamamoto I, Muto N. Bioavailability and biological activity of L-ascorbic acid 2-O- α -glucoside [J]. *Journal of Nutritional Science & Vitaminology*, 1992, 38(Special): 161-164
- [8] 韩瑞枝.环糊精葡萄糖基转移酶的分子改造及合成糖基化 L-抗坏血酸[D].无锡:江南大学,2013
HAN Rui-zhi. Molecular modification of cyclodextrin glucosyltransferase and synthesis of glycosylated L-ascorbic acid [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2013
- [9] 张瑞芳.红景天甙和 Vc 糖苷生物催化合成的研究[D].太原:山西大学,2008
ZHANG Rui-fang. Study on the biocatalytic synthesis of salidroside and Vc glycoside [D]. Taiyuan: Shanxi University, 2008
- [10] Padayatty S J, Sun A Y, Chen Q, et al. Vitamin C: Intravenous use by complementary and alternative medicine practitioners and adverse effects [J]. *Plos One*, 2010, 5
- [11] Han R, Liu L, Li J, et al. Functions, applications and production of 2-O-D-glucopyranosyl-l-ascorbic acid [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2012, 95(2): 313-320
- [12] 李标,唐双焱.2-O- α -D-吡喃葡萄糖基抗坏血酸研究进展 [J].*广西科学*,2017,24(1):48-53
LI Biao, TANG Shuang-yan. Current progress in biosynthesis 2-O- α -D-pyran glucosyl ascorbic acid [J]. *Guangxi Sciences*, 2017, 24(1): 48-53
- [13] 李文超. β -环糊精及其衍生物对异槲皮苷的包合作用研究 [D].太原:山西大学,2009
LI Wen-chao. A inclusion study of beta-cyclodextrin and its derivatives on isoquercetin. [D]. Taiyuan: ShanXi University, 2009
- [14] 陈亮,何凤慈,孟德胜.右旋酮洛芬- β -环糊精包合物的研究 [J].*中国新药杂志*,2004,13(2):136-138
CHEN Liang, HE Feng-ci, MENG De-sheng. Study on inclusion compounds of dexketoprofen- β -cyclodextrin [J]. *Chin J New Drugs*, 2004, 13(2): 136-138
- [15] Rezende Ba, Cortes Sf, Sousa Fbd, et al. Complexation with β -cyclodextrin confers oral activity on the flavonoid dioclein [J]. *Int J Pharm*, 2009, 367(1): 133-139
- [16] Liu H, Huang Z, Ding Q, et al. A Study of β -CD Inclusion complex by DTA and NMR [J]. *Modern Scientific Instruments*, 2006, 16(4): 81-82
- [17] Luís Cunha-Silva, Isabel S Gonçalves, Pillinger M., et al. Synthesis and characterization of the inclusion compound of a methyltrioxorhenium(VII) adduct of 4-ferrocenylpyridine with β -cyclodextrin [J]. *Journal of Organometallic Chemistry*, 2002, 656(1): 281-287
- [18] 丁海云.维生素-环糊精超分子的包合作用表征及分析应用 [D].太原:山西大学,2004
DING Hai-yun. Characterization and analysis of vitamin-cyclodextrin supramolecules [D]. Taiyuan: Shanxi University, 2004
- [19] Maria Esperanza Cortés, Rubén Dario Sinisterra, Mario Julio Avila-Campos, et al. The chlorhexidine: Beta-cyclodextrin inclusion compound: Preparation, characterization and microbiological evaluation [J]. *Journal of Inclusion Phenomena & Macrocyclic Chemistry*, 2001, 40(4): 297-302
- [20] 贺澎,王文丽.维生素 C 片 3 种含量测定方法的比较[J].*中国药品标准*,2018,19(2):36-38
HE Peng, WANG Wen-li. Comparison of three determination methods for vitamin C Tablets [J]. *Drug Standards of China*, 2018, 19(2): 36-38
- [21] 李野,尹利辉,高尚.等.食品和药品中维生素 C 含量测定方法的研究进展[J].*药物分析杂志*,2016,5:756-764
LI Ye, YING Li-hui, GAO Shang, et al. Advances in determination of vitamin C in food and medicine. [J]. *Chinese Journal of Pharmaceutical Analysis*, 2016, 5: 756-764
- [22] Tai A, Gohda E. Determination of ascorbic acid and its related compounds in foods and beverages by hydrophilic interaction liquid chromatography [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2007, 853(1): 214-220
- [23] 熊双丽,卢飞,史敏娟.等.DPPH 自由基清除活性评价方法在抗氧化剂筛选中的研究进展[J].*食品工业科技*,2012, 33(8):380-383
XIONG Shuang-li, LU Fei, SHI Min-juan, et al. Advances in the evaluation of DPPH free radical scavenging activity in antioxidant screening [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2012, 33(8): 380-383

(下转第 257 页)