



## 新型大豆素苯磺酸酯的细胞吸收利用与构性关系研究

彭游<sup>1</sup>, 熊小伟<sup>2</sup>, 胡华南<sup>1</sup>, 黄华南<sup>1</sup>

(1. 九江学院 江西省生态化工工程技术研究中心, 江西 九江 332005; 2. 南昌大学 药学院, 江西 南昌 330000)

**摘要:** 为了提高大豆素衍生物的抗动脉粥样硬化等功效, 利用药动团变换原理对大豆素进行结构修饰, 合成了大豆素磺酸酯衍生物(D1、D2)。采用 HPLC 和软件 ChemAxon 对目标衍生物的药学性质进行考察和计算, 利用人主动脉血管平滑肌细胞 HAVSMCs 和 HPLC 考察大豆素及其衍生物的吸收利用率。结果表明: 大豆素(DD)、衍生物 D1、D2 在主动脉血管平滑肌细胞吸收率最大, 分别为 20.3%、29.4% 和 71.7%, 最大吸收率表现为 D2 > D1 > DD。构性关系研究表明, 药物的吸收利用与药物的理化性质密切相关, 只有脂溶性和水溶性适宜, 药物的细胞吸收利用才会得以提高。

**关键词:** 大豆素; 苯磺酸酯; 细胞吸收; 脂溶性; 水溶性; 构性关系

## Study on Apssorption of Daidzein Sulfonic Acid Ester on HAVSMCs and the Relationship Between Pharmaceutical Properties and Structure

PENG You<sup>1</sup>, XIONG Xiao-wei<sup>2</sup>, HU Hua-nan<sup>1</sup>, HUANG Hua-nan<sup>1</sup>

(1. Jiangxi Province Engineering Research Center of Ecological Chemical Industry, Jiujiang University, Jiujiang 332005, China; 2. School of Pharmacy, Nanchang University, Nanchang 330000, China)

**Abstract:** To improve the effect of daidzein inhibiting the atherosclerosis, its structure was modified using the principle of pharmacokinetic group and its sulfonate derivatives(D1, D2) were synthesized. The pharmacological properties of the target derivatives were investigated by HPLC and ChemAxon. The absorptivity of daidzein and its derivatives were investigated by HAVSMCs and HPLC. The results showed that absorptivity on HAVSMCs of DD, its derivatives D1, D2 were maxmum with 20.3%、29.4% and 71.7% respectively and the maximum absorptivity were D2 > D1 > DD. The study on relationship of structure and properties showed that the absorption and utilization of drugs were closely related to the physicochemical properties of the drugs, and the absorption and utilization of the drugs on cells were optimal only with moderate liposolubility and water solubility.

**Keywords:** Daidzein; Benzene sulfonate; Cell absorption; Liposolubility; Water solubility; Structure properties relationship

大豆异黄酮是大豆中的一类重要次生代谢产物, 主要有大豆素、染料木素、黄豆黄素及其苷类<sup>[1]</sup>。其中大豆素(daidzein, DD)具有重要的生理活性, 近年来研究表明 DD 具有抗氧化<sup>[2-3]</sup>、抗炎<sup>[3]</sup>、预防癌症<sup>[4]</sup>、降血糖<sup>[5]</sup>、预防心血管疾病<sup>[6]</sup>、抗动脉粥样硬化<sup>[6]</sup>、脑缺血损伤保护<sup>[7-8]</sup>等重要生理功能。但 DD 含有两个极性基团 OH, 分子间形成氢键, 亲脂亲水性均较差, 生物利用度低。Yasuda 等<sup>[9]</sup>报道 DD 经口服自小肠吸收后, 在肝脏 UDP-葡萄糖苷酸转移酶和硫酸转移酶的作用下与葡萄糖苷酸和硫酸发生结合代谢, 生成的葡萄糖苷酸和硫酸结合

物通过尿和胆汁排泄, 并经历较强的肝肠循环, 结合代谢是其主要代谢途径。徐海燕等<sup>[10]</sup>发现多次灌胃给药 DD 后大鼠血浆中主要以大豆素-7-葡萄糖醛酸结合物和大豆素-7-硫酸结合物和大豆素-7-葡萄糖醛酸-4'-硫酸结合物等形式存在。Kulling 等<sup>[11]</sup>发现 DD 在人体肝脏氧化代谢为 DD 的单羟基化和二羟基化产物。仇峰<sup>[12]</sup>发现在大鼠灌胃给予 DD 溶液后迅速吸收, 并经代谢转化为大豆素-7-O-葡萄糖苷酸, 以游离 DD 计算的绝对生物利用度为 12.8%。以上研究发现, DD 进入体内迅速被吸收并代谢而失活, 生物利用度不理

想,难以在临床上广泛运用<sup>[13]</sup>。为了提高其脂溶性,提高生物利用度,本课题组以 DD 为先导物,根据药动团变换原理以改善它的药学性质的角度来进行修饰,合成其磺酸酯类衍生物,以期结构上的改变能够从根本上改善其药学性质,增加其抗动脉粥样硬化等生物活性<sup>[14-16]</sup>。本文利用人主动脉血管平滑肌细胞 HAVSMCs 考察 DD 及衍生物 D1、D2 (图 1)的细胞吸收利用率,综合试验结果对衍生物的药代性质和活性进行预测以及初步讨论构性关系。

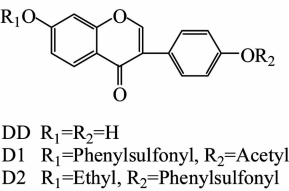


图 1 大豆素 DD 与衍生物 D1、D2 的化学结构  
Fig. 1 Structural formula of daidzein DD and its derivatives D1 and D2

1 材料与方法

1.1 材料

大豆素 DD(纯度 >98%)购于陕西慧科植物开发有限公司;大豆素苯磺酸酯衍生物 D1、D2 由本实验室合成<sup>[14-16]</sup>;青霉素链霉素混合液购自 Solarbio;生物级 DMSO 购自 Sigma;南美胎牛血清购自 Excell;DMEM 高糖培养基购自 Hyclone;人主动脉血管平滑肌细胞 HVSMCs 购自北纳创联生物技术有限公司。其余试剂为化学纯或分析纯。

1.2 仪器

HPLC 使用 Agilent 1260 自动进样器(G7129A), EC-C18 柱(1500 × 4.6 mm, 5 μm), TG18-WS 型湘立台式高速离心机, Hair 超低温冰箱, DN-24A 型氮吹仪, 美国 ESCO CO<sub>2</sub> 培养箱, 日本 Olympus 倒置生物相差显微镜。

1.3 方法

1.3.1 生物样品中药物浓度测定的液相色谱法的建立

(1) 色谱条件

流动相为 CH<sub>3</sub>OH/磷酸溶液(0.4%)(1:1, v/v), 流速为 0.5 mL·min<sup>-1</sup>, 进样量为 10 μL。检测波长 λ 为 230 或 254 nm, 柱温 25℃。

(2) 细胞样品预处理

取 -80℃ 冷冻的空白细胞上清液, 常温解冻, 涡旋 1 min, 取细胞上清液 50 μL, 加入甲醇 50 μL, 涡流混匀, 加入 1 mL CH<sub>3</sub>COOC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, 涡流 3 min, 3 000 r·min<sup>-1</sup> 冷冻离心分离 CH<sub>3</sub>COOC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, N<sub>2</sub> 吹干, 残余物用 500 μL 甲醇溶解后进样分析。

(3) 标准曲线、线性范围、定量下限

取空白细胞上清液 25 μL, 分别加入 25 μL 不同浓度的 DD 和 D1、D2 的系列标准溶液, 涡流混合, 其它方法同上。以待测物浓度为横坐标, 待测物的峰面积为纵坐标, 用加权最小二乘法进行回归运算, 求得标准曲线的直线回归方程。

选取浓度为 293 ng·mL<sup>-1</sup> 的 DD 的色谱图中基线比较平稳的 0 ~ 2 min 区间作为噪音的时间范围, 由 HPLC 给出的信噪比 S/N 值, 由 S/N 及测定方法的精密密度与准确度判定 DD 的定量检出下限 LLOQ (lowest limit of quantification)。制备含 DD 的浓度为 293 ng·mL<sup>-1</sup> 的样品, 对该样品进行 5 个样本分析, 并根据标准曲线计算求得每一样本的浓度。测定该浓度下各成分的日内精密密度 RSD (relative standard deviation) 与准确度 RE (relative error)。D1、D2 的 LLOQ 的测定方法同 DD。

取空白细胞上清液 25 μL, 加入 DD 及衍生物 D1、D2 的标准溶液 25 μL, 制备样品的低、中、高 3 个浓度的质量控制 QC 样品, 每一浓度进行 6 个样本分析, 连续测定 3 d, 计算 QC 样品的浓度, 与配制浓度对照, 求算各成分测定方法的精密密度与准确度。

1.3.2 细胞体内吸收研究 取人主动脉血管平滑肌细胞冻存管复苏, 取传代 3 ~ 10 代的血管平滑肌细胞于 10<sup>5</sup> 密度分种于 6 孔板, 每孔 2 mL, 置 37℃、5% CO<sub>2</sub> 培养箱培养 24 h, 使细胞贴壁; 换成无血清的 DMEM 培养液继续培养 24 h, 使细胞同步化; 小心吸去上清液, 分别加入不同浓度的药物溶液于 10% 血清的 DMEM 培养液中, 每组设 3 个复孔, 继续培养, 分别在 0.5, 1, 6, 12, 24, 48 h 不同时间点终止培养, 分别收集细胞培养上清液于 -80℃ 冷冻保存至分析测定。

取 -80℃ 冷冻的加药细胞上清液, 常温解冻, 涡旋 1 min, 取细胞上清液 50 μL。

以细胞系统培养液中药物浓度的减少作为细胞对药物的吸收量, 计算 DD 及 D1、D2 的吸收及其吸收利用率。

1.3.3 数据分析 根据每个分析批建立的标准曲线,计算细胞上清液中药物浓度。试验数据使用 SPSS 22.0 软件,采用 t 检验进行统计学分析。

2 结果与分析

2.1 生物样品中药物浓度测定的液相色谱法

求得 DD 标准曲线的直线回归方程为: $y = 103.7x - 434.2, R^2 = 0.993$ ,线性范围: $0.293 \sim 11.7 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。D1 的标准曲线的的直线回归方程为: $y = 72.008x + 17.572, R^2 = 0.999$ ,线性范围: $0.3 \sim 12.0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。D2 的标准曲线的的直线回归方程为: $y = 62.448x - 14.177, R^2 = 0.998$ ,线性范围: $0.305 \sim 12.200 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

由 HPLC 给出的信噪比 S/N 为 10,测定该浓度下各成分的日内精密度 RSD 与准确度 RE(表 1),结果表明 RSD 与 RE 均符合要求,DD 的定量检出下限 LLOQ 为  $293 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

DD、D1 和 D2 的质量控制 QC 样品的浓度、配

制浓度、各成分测定方法的精密度与准确度结果如表 2 所示,DD 和衍生物 D1,D2 的日内精密度均在 14% 以内,它们的日间精密度小于 13%,准确度为  $-9.5\% \sim 5.2\%$ ,均在合理范围之内。

表 1 大豆素 DD 与衍生物 D1、D2 在定量下限浓度下的日内精密度和准确度

Table 1 Intraday relative standard deviation and relative error during validation period of DD, D1 and D2 from LLOQ samples for determination

化合物 Compounds	浓度 Concentration/( $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ )		精密度 RSD /%	准确度 RE /%
	添加值 Added	测定值 Found		
DD	293	271	8.7	-7.5
D1	300	305	11.7	1.7
D2	305	317	8.4	3.9

表 2 空白细胞上清液中药物分析方法的精密度和准确度

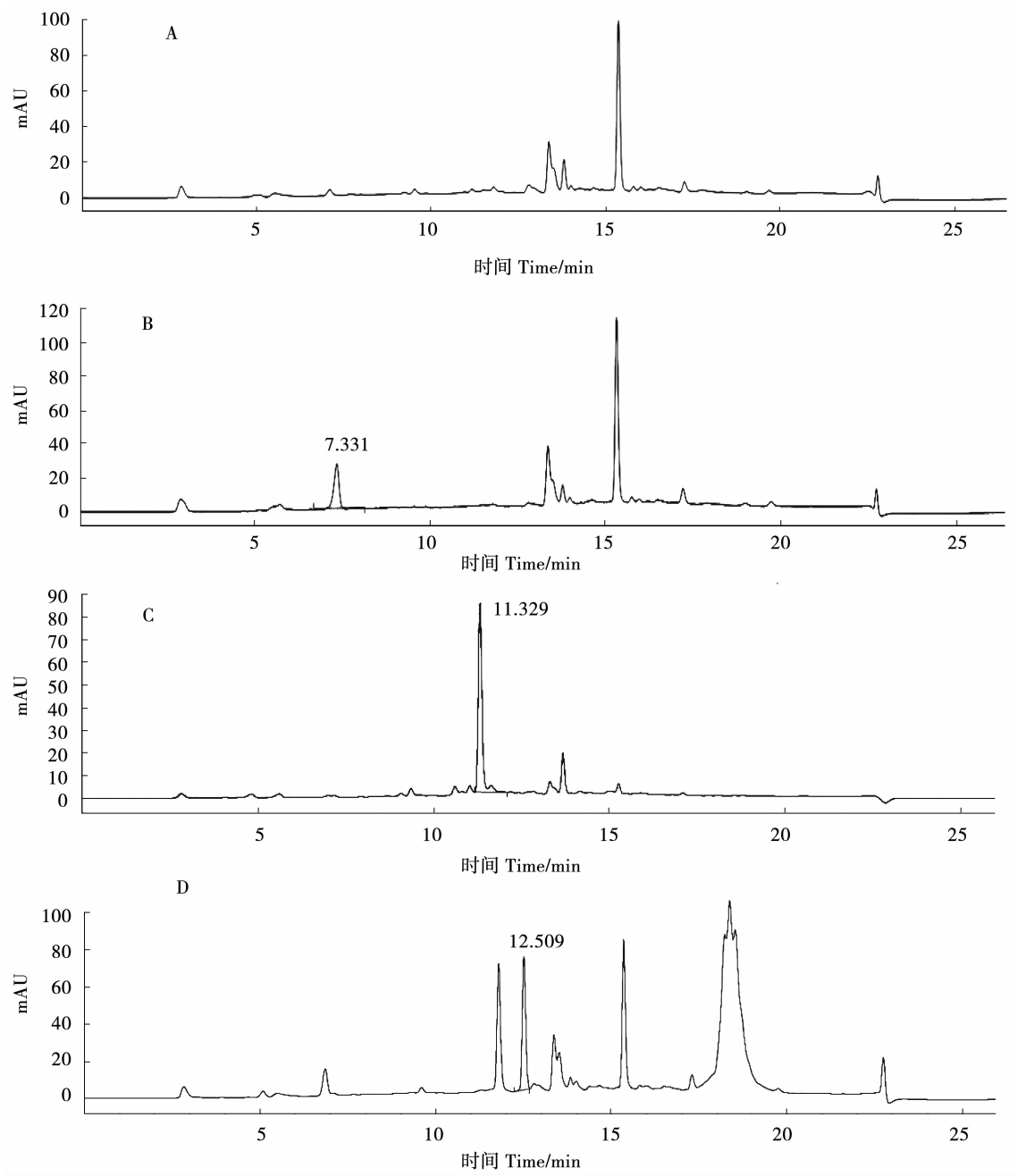
Table 2 Relative standard eviolion and relative error of the HPLC method of determining DD,D1 and D2 in blank cell supernatant

化合物 Compounds	浓度 Concentration/( $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ )		精密度 RSD/%		准确度 RE/%
	添加值 Added	测定值 Found	日内 Intra-day	日间 Inter-day	
DD	2.93	2.71	9.5	8.9	-7.5
	5.85	5.45	7.2	8.2	-6.8
	11.70	12.20	6.7	8.8	4.3
D1	3.00	3.06	6.1	8.9	2.0
	6.00	6.31	5.2	12.3	5.2
	12.00	11.44	9.8	10.7	-4.7
D2	3.05	3.19	3.2	9.4	4.6
	6.10	5.52	11.3	8.1	-9.5
	12.20	11.33	13.9	12.0	-7.1

2.2 HAVSMCs 对大豆素及其衍生物的吸收利用率

空白血管平滑肌细胞上清夜的高效液相色谱图如图 2A 所示,DD、D1 和 D2 培养血管平滑肌细胞 0.5 h 后细胞上清液的高效液相色谱图分别如图

2B、C、D 所示,DD 的保留时间为 7.331 min,D1 的保留时间为 11.329 min,D2 的保留时间为 12.509 min。发现在化合物 D1、D2 的细胞上清液中未见到原药 DD 的出现,表明衍生物 D1、D2 在细胞培养基中比较稳定。



A:空白血管平滑肌细胞上清液的高效液相色谱图;B、C、D 分别为 DD、D1 和 D2 培养血管平滑肌细胞 0.5 h 后细胞上清液的高效液相色谱图。

A: High performance liquid chromatography of the blank supernatant of vascular smooth muscle cell; B,C and D: High performance liquid chromatography of the supernatant of vascular smooth muscle cells cultured with DD, D1 and D2 for 0.5 h.

图2 大豆素 DD 及衍生物 D1、D2 的细胞上清液高效液相色谱图  
Fig. 2 HPLC of cell supernatant of daidzein and its derivatives

结果表 3 所示,DD 在 0.5 h 达到最大吸收,此时吸收率为 20.29%,随着时间增加,吸收达到饱和,吸收率维持在 20% 左右。D1 吸收率在 0.5 h 达

到最大,随着时间增加,吸收达到饱和,吸收率维持在 29% 左右。D2 吸收率在 48 h 达到最大,为 71.71%,细胞上清液药物浓度降低了 79.90  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

表 3 大豆素及其衍生物的吸收利用

Table 3 The absorptions of daidzein and its derivatives by HUVSMCs

时间 Time/h	DD		D1		D2	
	吸收量	吸收率	吸收量	吸收率	吸收量	吸收率
	Absorption/( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )	Absorption rate/%	Absorption/( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )	Absorption rate/%	Absorption/( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )	Absorption rate/%
0.5	19.29 $\pm$ 4.73	20.29	3.08 $\pm$ 0.40	3.65	34.17 $\pm$ 2.87	30.67
1	19.12 $\pm$ 1.93	20.12	24.57 $\pm$ 1.12	29.36	35.79 $\pm$ 4.16	32.12
6	14.05 $\pm$ 2.98	14.78	17.63 $\pm$ 4.44	21.07	63.15 $\pm$ 8.63	56.68
12	17.50 $\pm$ 7.68	18.41	24.35 $\pm$ 5.63	29.10	71.54 $\pm$ 9.18	64.21
24	15.64 $\pm$ 0.68	16.46	16.18 $\pm$ 3.23	19.33	49.36 $\pm$ 1.56	44.30
48	15.06 $\pm$ 4.73	15.84	22.81 $\pm$ 6.33	27.25	79.90 $\pm$ 3.67	71.71

2.3 构性关系

大豆素 DD 与衍生物 D1、D2 的化学结构式如图 1 所示,结构特征与药学性质如表 4 所示,结构特征数据参见文献<sup>[16]</sup>。适宜的相对分子质量 Mr 对药物的口服吸收性是重要因素,由表 4 可知,衍生物 D1、D2 分子量分别为 436,422,均小于 500,符合“Lipinski 五倍率法则法则”<sup>[15]</sup>。衍生物 D1、D2 的熔点均较原药 DD 大幅度下降,处在适宜的药物熔点范围 100~200℃。熔点过高,晶格能也过高,从而降低了水溶性,这也解释了脂溶性衍生物 D1 较 DD 水溶性增加的原因。

D2 的血管平滑肌细胞吸收率大幅提高,相对于原药 DD 最大吸收率提高 4.5 倍(表 3),说明通过化学修饰,在 DD 的 7 位上引入乙基,在 4'-引入苯

磺酸酯基,D2 脂溶性大幅度提高(表 4),提高 5.76 $\times 10^4$ ,非常有利于药物的吸收。脂水分配系数 LgP 高的衍生物意味着脂溶性强,容易穿越细胞膜,利于分子吸收<sup>[17]</sup>,D2 的脂溶性最高,D1 次之,DD 最小,最大吸收率与脂溶性一致,表明药物的细胞吸收起决定作用的是药物的脂溶性。衍生物 D1 的细胞吸收率维持在 30% 左右,相比原药 DD 吸收率提高 1.5 倍,表明药物适宜水溶性的重要性。结果表明大豆素的苯磺酸酯修饰物的药学性质得以明显优化。对衍生物 D1、D2 而言,适中的分子量、增加的亲脂亲水性、适宜的脂水分配系数,预示衍生物可能有相对较好的过膜吸收性转运分布性,良好的口服生物利用度和生物活性。

表 4 衍生物 D1、D2 与原药 DD 的结构特征和药学性质对比

Table 4 Structural characteristics and pharmaceutical properties of DD, D1 and D2

		DD	D1	D2
分子量 Mr		254	436	422
熔点 m. p./℃		315~323	181~182	167~169
晶型 CS		晶状粉末	块状	晶状粉末
溶解度(水)Sol. (H <sub>2</sub> O)/( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )		—	0.130 $\pm$ 0.067	—
溶解度(乙酸乙酯)Sol. (EtOAc)/( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )		0.13 $\pm$ 0.11	2209 $\pm$ 158	7488 $\pm$ 274
脂水分配系数 LgP	计算值 Cal. val.	2.73	4.25	4.16
	测定值 Found	—	1.67 $\pm$ 0.22	2.02 $\pm$ 0.13

3 讨论

为改善大豆素的溶解度、优化药学性质、提高生物利用度,从而提高生物活性,国内外学者做了

大量的工作。国内外研究者主要围绕提高 DD 的水溶性做了一系列工作,Borghetti 等<sup>[18]</sup>制备了 DD/HP $\beta$ -CD/PVP(大豆素/羟丙基 $\beta$ -环糊精/聚乙烯吡咯烷酮)等复合物,发现 DD/HP $\beta$ -CD/PVP 三元复

合物的水溶性相对于 DD 提高 12.7 倍。姜铁夫等<sup>[19]</sup>为了提高 DD 的溶解度,合成 4-氧代乙酸-7-羟乙氧基-大豆素,在 pH7.8 的水中溶解度达到  $54.28 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。邓颖慧等<sup>[20]</sup>制备了 DD 的单-6-氨基- $\beta$ -环糊精(NCD)和单-6-乙二胺基- $\beta$ -环糊精(ENCD)的固体包合物,发现 25℃ 下 DD 在水中的溶解度分别提高了约 1 800 和 1 500 倍。张尊听等<sup>[21]</sup>利用磺化反应合成了衍生物大豆素磺酸钠,易溶于水,大豆素磺酸钠的抗缺氧缺血作用明显优于 DD,但大豆素磺酸钠盐的脂溶性不大,成药性依然不容乐观。以上研究均从提高 DD 的水溶性出发,制备了其水溶性包合物或者衍生物,没有考虑到衍生物的脂溶性,药物只有适宜的脂溶性和水溶性,其吸收利用才可能会得以改善。本课题组长期以来,从改善 DD 的脂溶性出发,合成了 DD 的苯磺酸酯系列衍生物,药学性质研究发现,衍生物的脂溶性大幅提高,部分化合物水溶性也明显改善<sup>[15-16,22]</sup>。本研究主要从改善大豆素异黄酮的生物活性出发,对 DD 酯化修饰,改善脂溶性,使其易于穿越细胞膜,从而更利于提高药物的口服生物利用度和生物活性。衍生物 D1 在水中的溶解度提高为  $0.130 \pm 0.067 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ,而 DD 在水中的溶解度不能测定,同时 D1、D2 在乙酸乙酯中的溶解度分别相对于 DD 提高了  $1.7 \times 10^4$  和  $5.8 \times 10^4$  倍<sup>[16]</sup>。药学性质研究发现,D1、D2 的熔点、脂水溶性的改善、适宜的脂水分配系数、较低的解离常数、适中的分子量、恰当的分子的极性表面积、增强的氢键成键能力,预示该类分子可能有较好的过膜吸收与转运分布性,本文的细胞吸收试验得以进一步证实。可见,优化 DD 的药学性质可以从两个方面出发,提高 DD 的脂溶性或水溶性,但是药物的吸收性与药物的脂溶性或水溶性均有关系,只有适宜的脂溶性和水溶性,药物的生物利用度才可能得以改善,今后的研究需要综合考虑。

## 4 结 论

在对大豆素衍生物的药学性质研究中,尽管以大豆素的亲脂性修饰出发,但意外地发现部分修饰物的水溶性相对于原药大豆素也有显著的提高。大豆素经苯磺酸酯化修饰后,药学性质得以全面优化,特别是衍生物的细胞吸收性得以根本性地改善,预示着该类衍生物可能有相对较好的体内吸收

转运特性和生物活性。

## 参考文献

- [1] 彭游,余盛禄. 大豆异黄酮提取研究最新进展[J]. 大豆科学, 2012,31(2):320-323. (Peng Y, Yu S L. Advances in extraction of soy isoflavones[J]. Soybean Science, 2012,31(2):320-323.)
- [2] Antonella G, Imperatrice C, Angela C, et al. Antioxidant activity induced by main polyphenols present in edible artichoke heads: Influence of *in vitro* gastro-intestinal digestion[J]. Journal of Functional Foods, 2014,10: 456-464.
- [3] Peng Y, Shi Y N, Zhang H, et al. Anti-inflammatory and anti-oxidative activities of daidzein and its sulfonic acid ester derivatives[J]. Journal of Functional Foods, 2017, 35: 635-640.
- [4] Dong X, Xu W Q, Sikes R, et al. Combination of low dose of genistein and daidzein has synergistic preventive effects on isogenic human prostate cancer cells when compared with individual soy isoflavone[J]. Food Chemistry, 2013,141:1923-1933.
- [5] 黄进,罗琼,李晓莉,等. 大豆异黄酮的降血糖活性研究[J]. 食品科学, 2004, 25(1): 166-170. (Huang J, Luo Q, Li X L, et al. Hyperglycemia lowering effect of soybean isoflavone(SI) on alloxan-induced diabetic mice[J]. Food Science, 2004, 25(1): 166-170.)
- [6] 韩晓乐,滕晓涵,许怡,等. 大豆苷元防治心脑血管疾病的研究进展[J]. 国际药学研究杂志, 2017, 44(12):1093-1124. (Han X L, Teng X H, Xu Y, et al. Prevention and treatment of cardio-cerebrovascular diseases by daidzein: Research advances[J]. Journal International Pharmacy Research, 2017, 44(12): 1093-1124.)
- [7] 黎晓,刘瑞珍,林彧夫,等. 大豆苷元通过抑制炎症反应对大鼠脑缺血再灌注损伤保护作用的研究[J]. 时珍国医国药, 2014, 25(1): 6-8. (Li X, Liu R Z, Lin Y F, et al. The protective effects of daidzein on cerebral ischemia-reperfusion injury through inhibition inflammatory response[J]. Lishizhen Medicine and Materia Medica, 2014, 25(1): 6-8.)
- [8] Knapp A N, Stout J M, Grisley E D, et al. Effects of subcutaneous daidzein on recovery of function in the rat after ischemic stroke[J]. FASEB Journal, 2013, 27(7):1093-1093.
- [9] Ysuda T, Kano Y, Saito K, et al. Urinary and biliary metabolites of daidzin and daidzein in rats[J]. Biological & Pharmaceutical Bulletin, 1994, 17(10): 1369-1374.
- [10] 徐海燕,苏芳铭,蒋唤,等. 大鼠体内大豆苷元及其代谢物分布影响因素研究[J]. 沈阳药科大学学报, 2017, 34(9):768-775. (Xu H Y, Su F M, Jiang H, et al. Influences of dosing frequency and gender of animals on the plasma distribution of daidzein and its metabolites in rats[J]. Journal of Shenyang Pharmaceutical University, 2017, 34(9):768-775.)
- [11] Kulling S E, Honig D M, Metzler M. Oxidative metabolism of the soy isoflavones daidzein and genistein in humans *in vitro* and *in vi-*

vo[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2001, 49 (6): 3024-3033.

[12] 仇峰. 大豆苷元及其前体药物的药物动力学研究[D]. 沈阳: 沈阳药科大学, 2005. (Chou F. Pharmacokinetics of daidzein and its precursors[D]. Shenyang: Shenyang Pharmaceutical University, 2005.)

[13] 彭游, 钟婵娟. 植物雌激素大豆苷元的药物动力学研究进展[J]. 安徽农业科学, 2011, 39 (7): 3796-3797. (Peng Y, Zhong C J. Research progress in pharmacokinetics of phytoestrogen daidzein[J]. Journal of Anhui Agricultural Science, 2011, 39(7): 3796- 3797.)

[14] 彭游, 邓泽元, 叶兴琳. 异黄酮衍生物的设计、合成与抗肿瘤活性[J]. 天然产物研究与开发, 2009, 21: 796-799. (Peng Y, Deng Z Y, Ye X L. Design, synthesis and anticancer activity of isoflavone derivatives[J]. Natural Products Research and Development, 2009, 21: 796-799.)

[15] 彭游. 植物黄酮的微波辅助提取, 苯磺酸酯修饰与药物动力学研究[D]. 南昌: 南昌大学, 2009. (Peng Y. Extraction of flavones with microwave radiation, benzenesulfonate modification and pharmacokinetics experiments[D]. Nanchang: Nanchang University, 2009.)

[16] 黄春勇, 彭游, 柏杨, 等. 大豆异黄酮苯磺酸酯的微波合成与药学性质研究[J]. 九江学院学报(自然科学版), 2017(2): 11-15. (Huang C Y, Peng Y, Bai Y, et al. Study on microwave synthesis and pharmaceutical properties of soybean isoflavone benzene sulfonic acid ester[J]. Journal of Jiujiang University (Natural Science Edition), 2017(2): 11-15.)

[17] van de Waterbeemd H, Lennernas H, Artursson P. 药物生物利用度[M]. 何仲贵, 钟大放, 等译. 北京: 化工出版社, 2007: 18-21. (van de Waterbeemd H, Lennernas H, Artursson P. Drug bioavailability[M]. He Z G, Zhong D F, et al. translated. Beijing: Chemical Industry Press, 2007:18-21.)

[18] Borghetti G S, Pinto A P, Lula I S, et al. Daidzein/cyclodextrin/hydrophilic polymer ternary systems[J]. Drug Development and Industrial Pharmacy, 2011, 37(8): 886-893.

[19] 姜铁夫, 康万军, 杜妙, 等. 葛根黄豆苷元衍生物的合成及理化性质研究[J]. 解放军药学学报, 2006, 22 (3): 228-230. (Jiang T F, Kang W J, Tu M, et al. Synthesis and study of daidzeiderivative DZ18[J]. Pharmacy Journal of Chinese PLA, 2006, 22(3): 228-230.)

[20] 邓颖慧, 苏丽娜, 庞艳华, 等. 大豆苷元与氨基修饰 $\beta$ -环糊精包合物的制备、表征及水溶性[J]. 分析化学, 2017, 45 (5): 648- 653. (Deng Y H, Su L N, Pang Y H, et al. Preparation, characterization and water solubility of inclusion complexes of daidzein with amino-modified  $\beta$ -Cyclodextrins[J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2017, 45(5): 648- 653.)

[21] 张尊听, 刘谦光, 郁开北, 等. 单甲基化大豆苷元磺酸盐的合成、晶体结构及活性研究[J]. 化学学报, 2002, 60: 1846-1853. (Zhang Z T, Liu Q G, Yu K B, et al. Synthesis, crystal structure and biological activity of monomethylated daidzein sulfonates[J]. Acta Chimica Sinica, 2002, 60: 1846-1853.)

[22] 彭游, 邓泽元. 高效液相色谱法对新型大豆异黄酮磺酸酯的前药研究[J]. 药物分析杂志, 2011, 31 (5): 810-815. (Peng Y, Deng Z Y. HPLC studies for prodrug of isoflavones sulphonic acid ester[J]. Chinese Journal of Pharmaceutical Analysis, 2011, 31(5):810-815.)