

芒柄花素 2-羟丙基- β -环糊精包合物的制备及其包合行为探讨

郭波红¹, 廖灿城¹, 吴秀君², 许丹翹¹, 刘晓红¹, 李胜斌¹, 黄泽贤¹, 易 军¹

1. 广东药科大学药学院, 广东 广州 510006

2. 广东省妇幼保健院, 广东 广州 510010

摘要: **目的** 制备芒柄花素-2-羟丙基- β -环糊精 (FMN-2-HP- β -CD) 包合物, 并对其包合行为进行初步探讨。**方法** 通过对比研磨法、酸碱中和搅拌法和超声法, 筛选 FMN-2-HP- β -CD 包合物制备方法; 以 HPLC 法测定芒柄花素 (FMN) 的量; 以载药量为指标, 以正交试验设计法优化 FMN-2-HP- β -CD 包合物的制备处方及工艺; 采用扫描电子显微镜 (SEM)、X 射线衍射分析 (XRD) 验证包合物的形成; 通过相溶解度法考察包合物中主客体分子之间的包合物物质的量之比, 并通过分子对接法与相关热力学参数的计算对其包合行为进行探讨。**结果** 选用酸碱中和搅拌法, 在 FMN 与 2-羟丙基- β -环糊精 (2-HP- β -CD) 物质的量之比为 1:1、温度 50 °C、2-HP- β -CD 质量浓度为 5 g/L 的条件下制备 FMN-2-HP- β -CD 包合物, 经验证其载药量达 (9.42±0.25)%; 相溶解度曲线呈 A_L 型, 包合稳定常数随着温度升高而减小; 热力学参数显示, FMN 与 2-HP- β -CD 包合是一个以焓变作为主要驱动力的放热、熵减小的过程; 分子模拟表明 FMN 是以 7-OH 部分从 2-HP- β -CD 的大口端进入内腔, 与 2-HP- β -CD 上的氧原子形成 1 个氢键。**结论** 制备的 FMN-2-HP- β -CD 包合物重复性好, 能提高 FMN 的溶解度; 分子模拟 FMN 与 2-HP- β -CD 包合行为与相关热力学参数结果相符合。

关键词: 芒柄花素; 2-羟丙基- β -环糊精; 包合物; 包合行为; 研磨法; 搅拌法; 超声法; HPLC; 正交试验; 相溶解度法; 分子对接法; 热力学

中图分类号: R283.6

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2017)14-2877-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2017.14.012

Preparation of formononetin-2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin inclusion complex and study of its inclusion behavior

GUO Bo-hong¹, LIAO Can-cheng¹, WU Xiu-jun², XU Dan-qiao¹, LIU Xiao-hong¹, LI Sheng-bin¹, HUANG Ze-xian¹, YI Jun¹

1. School of Pharmacy, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China

2. Guangdong Women and Children Hospital and Health Institute, Guangzhou 510010, China

Abstract: **Objective** To prepare formononetin-2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin (FMN-2-HP- β -CD) inclusion complex and to explore its inclusion behavior. **Methods** The preparation method of FMN-2-HP- β -CD inclusion complex was optimized by comparing kneading method, stirring method, and ultrasonic method. The content of FMN was assayed by HPLC. The preparation technology of FMN-2-HP- β -CD inclusion complex was optimized by orthogonal design taking drug loading capacity as index. The inclusion complex was characterized by scanning electronic microscopy (SEM) and X-ray diffractometry (XRD). Phase solubility method was used to calculate the molar ratio between host and guest molecules and the related thermodynamic parameter. The molecular simulation was processed to investigate the inclusion behavior of FMN and 2-HP- β -CD. **Results** Using acid-base neutralization agitation method, the optimum inclusion conditions were: the molar ratio of FMN with 2-HP- β -CD 1:1, inclusion temperature 50 °C, and 2-HP- β -CD concentration 5 g/L. The drug loading capacity was (9.42±0.25)%. The phase solubility curve was A_L type and the stability constants decrease with the increasing temperature. The thermodynamic parameters showed that the inclusion of FMN and 2-HP- β -CD is a process of exothermic and entropy decreasing with enthalpy change as the main driving force. Molecular simulation showed that the 7-OH of the FMN takes the lead from the wider rim of 2-HP- β -CD into the cavity, and forms a hydrogen bond with the oxygen atom on the 2-HP- β -CD. **Conclusion** The FMN-2-HP- β -CD inclusion complex prepared by the optimum

收稿日期: 2017-03-24

基金项目: 国家自然科学基金项目 (81403111)

作者简介: 郭波红 (1976—), 女, 博士研究生, 从事药物制剂研究工作。Tel: (020)39352117 E-mail: guobohong@gdpu.edu.cn

process conditions has good repeatability, which can improve the solubility of FMN. Molecular simulation of FMN and 2-HP- β -CD inclusion behavior was consistent with the relevant thermodynamic parameters.

Key words: formononetin; 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin; inclusion complex; inclusion behavior; kneading method; stirring method; ultrasonic method; HPLC; orthogonal design; phase solubility method; molecular docking method; thermodynamic

芒柄花素(formononetin, FMN)别名7-羟基-4'-甲氧基异黄酮,是黄芪、鸡血藤、红车轴草等中药中含有的异黄酮类化合物^[1-4],具有较好的抗肿瘤作用,已被应用于乳腺癌、前列腺癌、结肠癌、肺癌等治疗^[5-8],此外还有治疗骨质疏松、改善妇女更年期症状等用途,因而备受关注^[9-10]。但FMN在水中几乎不溶,这极大地制约了其临床应用。本研究采用水溶性较好且毒副作用低的2-羟丙基- β -环糊精(2-HP- β -CD)^[11-12]制备FMN-2-HP- β -CD包合物,增大其水溶性,进行包合物制备工艺的优化,并对其包合机制进行初步探讨。

1 仪器与材料

安捷伦1200高效液相色谱仪,安捷伦科技有限公司;SZCL-2型数显智能恒温磁力搅拌器,巩义予华仪器有限公司;LGJ-18A冷冻干燥机,北京四环科学仪器厂有限公司;PKZ-1电热恒温振荡水槽,上海精密实验设备有限公司;Sartorius BS110S电子天平,北京赛多利斯天平有限公司;LEO 1430VP扫描电子显微镜(SEM),德国里奥公司;Smart 1000 CCD型X-射线单晶衍射仪,德国Bruker公司。

FMN对照品,批号111703-201504,中国食品药品检定研究院,供HPLC定量测定用;FMN,质量分数 $\geq 98\%$,批号C-018-150728,成都瑞芬思生物科技有限公司;2-HP- β -CD, $M_w=1\ 460$,美国Sigma-Aldrich公司;甲醇,色谱纯,北京迪马公司;水为蒸馏水,其余试剂为市售分析纯。

2 方法与结果

2.1 FMN定量分析方法的建立

2.1.1 对照品溶液的制备 精密称取适量FMN对照品,加甲醇使之溶解,制成质量浓度为30 $\mu\text{g/mL}$ 的对照品储备液。从对照品储备液中精密移取2 mL于10 mL量瓶中,用流动相定容至刻度,摇匀,得到质量浓度为6 $\mu\text{g/mL}$ 的对照品溶液。

2.1.2 供试品溶液的制备 精密称取适量FMN-2-HP- β -CD包合物,加适量乙醇超声30 min,用流动相定容至10 mL,过0.45 μm 微孔滤膜,制成FMN质量浓度为6 $\mu\text{g/mL}$ 的供试品溶液。

2.1.3 色谱条件^[13] 色谱柱为Dikma Diamonsil C₁₈柱(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm);保护柱(10 mm $\times$

4.0 mm, 5 μm);流动相为甲醇-0.1%磷酸水溶液(体积比70:30);体积流量为1 mL/min;柱温为30 $^{\circ}\text{C}$;检测波长为249 nm;进样量为20 μL ;外标法定量。

2.1.4 线性关系考察 分别从对照品储备液中精密移取0.25、0.5、1、2、4、8 mL于10 mL量瓶中,用流动相定容至刻度,摇匀,得到质量浓度为0.75、1.5、3、6、12、24 $\mu\text{g/mL}$ 的系列对照品溶液,过0.45 μm 微孔滤膜,进样测定。由FMN峰面积(Y)对质量浓度(X)进行线性回归,得回归方程 $Y=130.71X+16.272$, $r=0.999\ 7$,表明FMN在0.75~24 $\mu\text{g/mL}$ 线性关系良好。

2.1.5 精密度试验 取低、中、高质量浓度分别为1.5、6、24 $\mu\text{g/mL}$ 的对照品溶液,按照“2.1.3”项下色谱条件,分别连续进样6次,测定峰面积,计算其RSD分别为0.35%、0.28%、0.39%。24、48、72 h后平行操作,得到日间精密度,相应的RSD分别为0.35%、0.12%、0.53%,表明仪器精密度良好。

2.1.6 回收率试验 分别精密吸取对照品溶液适量,加入到空白2-HP- β -CD溶液中制备得到1.5、6、24 $\mu\text{g/mL}$ 的低、中、高3个质量浓度的样品溶液,每个质量浓度配制3份,照“2.1.3”项下色谱条件,测定峰面积,代入标准曲线得到实际质量浓度,计算回收率。结果低、中、高浓度的平均回收率分别为 $(98.13\pm 1.34)\%$ 、 $(98.90\pm 1.07)\%$ 、 $(96.03\pm 0.79)\%$,回收率试验符合要求。

2.1.7 重复性试验 按“2.1.2”项方法平行制备6份供试品溶液,分别进样20 μL ,测定峰面积,计算得FMN质量分数的RSD为0.82%。

2.1.8 稳定性试验 取“2.1.2”项下供试品溶液,在0、4、8、12、24、36、48、72 h,分别进样20 μL ,测定峰面积,结果RSD为0.57%。表明供试品溶液在72 h内稳定。

2.2 制备方法筛选

据文献报道^[14-16],目前搅拌法、超声法、研磨法是包合物制备中最常使用的3种基本方法,因此本实验比较3种制备包合物常用的方法,以载药量(按下列公式计算)为评价指标,筛选出更为合适的制备方法。

载药量=包合物中药物质量/包合物总质量

2.2.1 研磨法^[14] 按物质的量之比 1 : 1, 精密称取 FMN 和 2-HP- β -CD 适量, 加适量水将 2-HP- β -CD 磨匀, 少量多次地加入 FMN 乙醇溶液, 置于研钵中充分研磨成糊状, 再加适量蒸馏水溶解, 0.45 μ m 微孔滤膜滤过除去未包合 FMN, 冷冻干燥。平行操作 3 次, 测得载药量为 $(0.35 \pm 0.08) \%$ ($n=3$)。

2.2.2 酸碱中和搅拌法^[15] 按药物 FMN 与 2-HP- β -CD 的物质的量之比为 1 : 1, 精密称取 2-HP- β -CD 溶于蒸馏水中, 形成 2-HP- β -CD 溶液; 精密称取 FMN, 添加到 2-HP- β -CD 溶液中, 再逐滴加入 1 mol/L NaOH 溶液调节其 pH 8~9, 50 $^{\circ}$ C 恒温下磁力搅拌 24 h, 接着用 1 mol/L 盐酸溶液调节使其 pH 值为 7, 再继续保持 50 $^{\circ}$ C 搅拌 8 h, 0.45 μ m 微孔滤膜滤过除去游离 FMN, 冷冻干燥, 得到 FMN-2-HP- β -CD 包合物。平行制备 3 份, 测得载药量为 $(5.72 \pm 0.14) \%$ ($n=3$)。

2.2.3 超声法^[16] 按药物 FMN 与 2-HP- β -CD 的物质的量之比为 1 : 1, 精密称取适量 2-HP- β -CD 和 FMN 分别溶于蒸馏水与无水乙醇中, 将 FMN 乙醇溶液逐滴加入 2-HP- β -CD 水溶液中, 滴加完毕, 50 $^{\circ}$ C 恒温下继续超声 3 h, 0.45 μ m 微孔滤膜滤过除去游离 FMN, 冷冻干燥。平行制备 3 份, 测得载药量为 $(0.55 \pm 0.05) \%$ ($n=3$)。

根据制备方法的筛选结果, 用酸碱中和搅拌法制备的包合物载药量最高, 且远远高于研磨法和超声法, 因此本实验选择酸碱中和搅拌法制备 FMN-2-HP- β -CD 包合物。

2.3 正交试验设计优化包合物制备处方及工艺

根据文献资料^[17]及预试验的结果, 以载药量为评价指标, 选取 FMN 与 2-HP- β -CD 物质的量之比 (A)、2-HP- β -CD 质量浓度 (B)、搅拌温度 (C) 为考察因素, 每个因素选取 3 个水平, 选用 $L_9(3^4)$ 正交设计安排试验, 结果见表 1, 方差分析结果见表 2。

根据直观分析及方差分析结果可得, 3 个因素对 FMN-2-HP- β -CD 包合物载药量的影响大小分别为 $A > C > B$, 即 FMN 与 2-HP- β -CD 物质的量之比 $>$ 搅拌温度 $>$ 2-HP- β -CD 质量浓度。A 因素不同水平间存在极显著性差异 ($P < 0.01$), 为最重要影响因素; C 因素不同水平间存在显著性差异 ($P < 0.05$), 为主要影响因素; B 因素不存在显著性影响, 为次要影响因素。综合成本、收益等方面的考虑, 因此确定优化的制备工艺为 $A_1B_1C_3$, 即以 FMN 与 2-HP- β -CD 物质的量之比为 1 : 1, 2-HP- β -CD 质量

表 1 正交试验设计与结果

试验号	A	B/(g·L ⁻¹)	C/ $^{\circ}$ C	D (空白)	载药量/%
1	1 : 1 (1)	5 (1)	30 (1)	(1)	7.51
2	1 : 1 (1)	10 (2)	40 (2)	(2)	6.84
3	1 : 1 (1)	50 (3)	50 (3)	(3)	8.07
4	1 : 1.5 (2)	5 (1)	40 (2)	(3)	4.81
5	1 : 1.5 (2)	10 (2)	50 (3)	(1)	5.52
6	1 : 1.5 (2)	50 (3)	30 (1)	(2)	2.58
7	1 : 2 (3)	5 (1)	50 (3)	(2)	4.57
8	1 : 2 (3)	10 (2)	30 (1)	(1)	2.29
9	1 : 2 (3)	50 (3)	40 (2)	(3)	2.17
K_1	22.42	16.89	12.38	15.20	
K_2	12.91	14.65	13.82	13.99	
K_3	9.03	12.82	18.16	15.17	
R	13.39	4.07	5.78	1.21	

表 2 方差分析

误差来源	偏差平方和	自由度	F 值	显著性
A	31.643	2	99.820	$P < 0.01$
B	2.770	2	8.738	
C	6.035	2	19.038	$P < 0.05$
D (误差)	0.317	2		
$F_{0.05}(2, 2) = 19.00$ $F_{0.01}(2, 2) = 99.00$				

浓度为 5 g/L, 以及搅拌温度为 50 $^{\circ}$ C 进行 FMN 包合物的制备。并对此工艺进行了验证, 采用优化的工艺与方法平行制备了 3 批 FMN-2-HP- β -CD 包合物, 按照“2.1”项方法测定 FMN 的量, 结果载药量为 $(9.42 \pm 0.25) \%$ ($n=3$), 说明该制备工艺稳定可行。

2.4 FMN-2-HP- β -CD 包合物表征

2.4.1 SEM 观察 取适量 FMN、FMN-2-HP- β -CD 包合物, 用导电胶带粘结固定后喷金, 并固定在样品台上, 对准架台的槽沟送入到停止点为止, 然后抽真空观察粉末形态。SEM 照片如图 1 所示, FMN 呈现柱状型晶体 (图 1-a), FMN-2-HP- β -CD 包合物则是无定形固体 (图 1-b)。

2.4.2 X 射线衍射分析 (XRD) 检测条件: Cu 靶 K α 射线, 电压 40 kV, 电流 40 mA, 衍射角 (2θ) 测定范围: $3^{\circ} \sim 50^{\circ}$, 分别对 FMN、2-HP- β -CD、FMN 与 2-HP- β -CD 的物理混合物及 FMN-2-HP- β -CD 包合物进行 XRD, 结果如图 2 所示。FMN 的 XRD 图谱 (图 2-a) 显示 FMN 有明显的特征衍射峰 ($2\theta =$

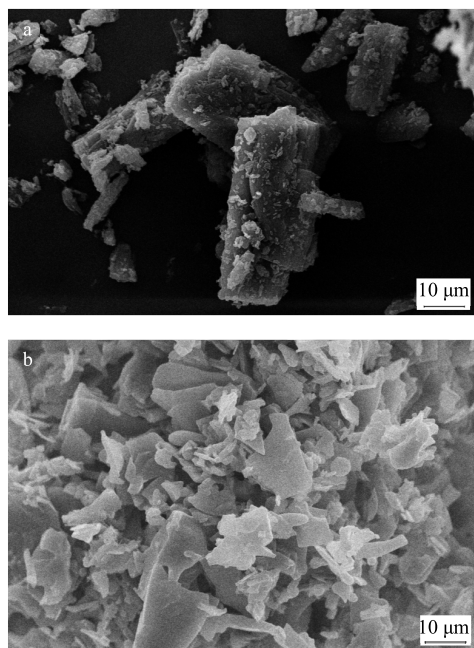


图 1 FMN (a) 和 FMN-2-HP-β-CD 包合物 (b) 的 SEM 图 (× 1 000)

Fig. 1 SEM of formononetin (a) and FMN-2-HP-β-CD inclusion complex (b) (× 1 000)

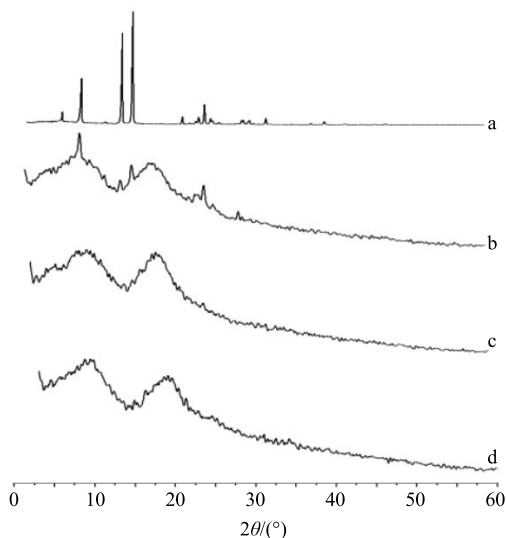


图 2 FMN (a)、2-HP-β-CD (b)、FMN 与 2-HP-β-CD 物理混合物 (c) 及 FMN-2-HP-β-CD 包合物 (d) 的 XRD 图

Fig. 2 XRD spectra of FMN (a), 2-HP-β-CD (b), physical mixture (c), and FMN-2-HP-β-CD inclusion complex (d)

9.79°、14.86°、16.20°、25.12°), 证明 FMN 以晶体的形式存在。2-HP-β-CD (图 2-b) 没出现明显的特征衍射峰, 只是存在极小的衍射峰 ($2\theta=10.05^\circ$ 、 18.66° 、 24.41°), 可推断其以无定形状态存在; FMN 与 2-HP-β-CD 的物理混合物 (图 2-c) 的 XRD 图谱存在明显的 FMN 的特征衍射峰; 比较 FMN-2-HP-

β-CD 包合物 (图 2-d) 与 FMN 与 2-HP-β-CD 的物理混合物图谱 (图 2-c), 发现包合物中没有出现 FMN 的特征衍射峰, 其形状与 2-HP-β-CD 类似, 因此推测 FMN 被包合进入了 2-HP-β-CD 内腔中, 即形成 FMN-2-HP-β-CD 包合物。

2.5 包合物包合行为的初步探讨

2.5.1 相溶解度试验^[18] 采用相溶解度法测定不同温度下 FMN 与 2-HP-β-CD 包合物的稳定常数 (K_C)。分别将过量 FMN 加入一系列浓度为 0~10 mmol/L 的 2-HP-β-CD 水溶液中, 超声 30 min, 于 25 °C 恒温振荡器中振荡 (120 r/min) 48 h, 取上清液用 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 滤液稀释适当倍数, HPLC 测定, 外标法计算其浓度。将振荡温度改为 30、40、50 °C, 再进行平行操作 3 次。以 FMN 浓度 (Y) 对 2-HP-β-CD 溶液的浓度 (X) 进行线性回归分析, 判断其在不同温度下的包合类型并计算其 K_C , 结果见表 3。

$$K_C = k/S_0(1-k)$$

S_0 为不同温度下不存在 2-HP-β-CD 时 FMN 溶解度 (即截距), k 为斜率

表 3 相溶解度结果

Table 3 Results of phase solubility

温度/°C	相溶解度回归方程	R^2	$K_C/(\text{L}\cdot\text{mol}^{-1})$
25	$Y=0.006X+0.002$	0.998	3 018
30	$Y=0.005X+0.002$	0.998	2 512
40	$Y=0.006X+0.004$	0.999	1 509
50	$Y=0.010X+0.011$	0.999	918

由相溶解度实验可知, 随着环糊精浓度的增加, 药物的溶解度呈线性提高, 因此可以判定相溶解度曲线为 A_L 型, 二者以物质的量比 1:1 进行包合。在不同的温度下, FMN 与 2-HP-β-CD 包合的 K_C 不同, 随着包合过程的温度升高, 包合的 K_C 会减小, 这可能提示温度的升高, 被包合进入 2-HP-β-CD 内腔的 FMN 分子运动更加剧烈而脱离主分子内腔返回至水相中^[19]。

2.5.2 FMN-2-HP-β-CD 包合物相关热力学参数的计算^[20] 上述相溶解度实验测定了不同温度下 FMN-2-HP-β-CD 包合物的 K_C 。温度的变化会引起 K_C 的变化, 且二者存在以下热力学函数关系。

$$\Delta G^0 = -RT \ln K_C$$

$$\Delta G^0 = \Delta H^0 - T\Delta S^0$$

$$\ln K_C = -(\Delta H^0 - T\Delta S^0)/RT = -\Delta H^0/RT + \Delta S^0/R$$

测得包合物 K_C ，以 $\ln K_C$ 对 $1/T$ 进行回归得线性方程： $\ln K_C = 4\,446/T - 6.948$ 。综合上述 4 个公式得到的结果，相关热力学参数见表 4。热力学函数 ΔG^θ 、 ΔH^θ 、 ΔS^θ 均为负值，说明 FMN 与 2-HP- β -CD 包合是一个放热、熵函数减小的过程，且以焓变作为主要驱动力。熵减小可能是由于包合物形成后，FMN 被限制在 2-HP- β -CD 空穴周围，自由度减小，因而熵为负值。

表 4 FMN-2-HP- β -CD 包合物相关热力学参数
Table 4 Relative thermodynamic parameter of FMN-2-HP- β -CD inclusion complex

T/K	$\ln K_C$	$\Delta G^\theta/(kJ \cdot mol^{-1})$	$\Delta H^\theta/(kJ \cdot mol^{-1})$	$\Delta S^\theta/(J \cdot mol^{-1})$
298	8.012	-19.74		
303	7.829	-19.46		
313	7.320	-18.88	-36.96	-57.77
323	6.822	-18.30		

2.5.3 分子模拟 FMN-2-HP- β -CD 包合行为^[21-22]采用分子对接法在分子水平上模拟 FMN 与 2-HP- β -CD 包合行为。应用 Autodock4.0 程序，基于经验自由能函数和拉马克遗传算法，对 FMN 和 2-HP- β -CD 进行分子对接。对接时 2-HP- β -CD 作为刚性分子，而允许药物分子柔性扭转。程序自动搜索构象，并计算 FMN 与 2-HP- β -CD 可能的结合位置，并给出 FMN 与 2-HP- β -CD 结合能最低为 -5.84 kcal/mol 的构象（图 3），结合能越低亲和力越大，构象越稳定。FMN 与 2-HP- β -CD 最大的相互作用是二者间形成的氢键以及范德华力，二者最佳的结合模式是 FMN 以 7-OH 部分从 2-HP- β -CD 的大口端进入空腔内，与 2-HP- β -CD 上的氧原子形成 1 个氢键。

3 讨论

包合材料 HP- β -CD 生物相容性好，几乎无溶血性和肾毒性，是 FDA 批准的第 1 个可以静脉注射的 β -CD 衍生物。实验表明，酸碱中和搅拌法能够提高 FMN-2-HP- β -CD 包合物的载药量，其原因可能是 FMN 在蒸馏水中呈弱酸性，当溶液 pH 调至弱碱性时，FMN 溶解度增大，增加 FMN 与 2-HP- β -CD 接触几率，从而增加载药量。相溶解度实验证明 FMN-2-HP- β -CD 包合物的形成能提高 FMN 的溶解度，本研究也对 2-HP- β -CD 包合 FMN 的行为机制作了初步探讨，发现 FMN 是以 7 位羟基从 2-HP- β -CD 的大口端进入，FMN 分子部分或全部进入 2-HP- β -CD 的内腔当中，因此 FMN-2-HP- β -CD 包合物的

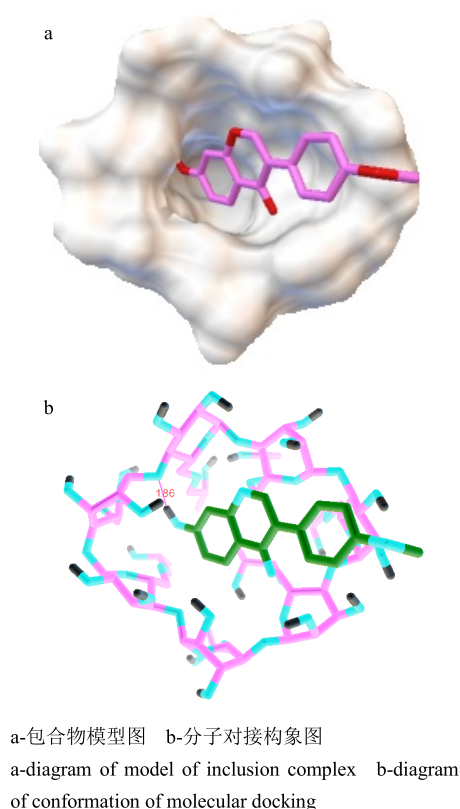


图 3 FMN 与 2-HP- β -CD 的最佳构象图
Fig. 3 Optimized conformation between FMN and 2-HP- β -CD

形成也会增加药物的稳定性和溶解性，从理论上讲，药物进入 2-HP- β -CD 内腔，并形成氢键结合，也会对药物的释放有一定的缓释作用。包合过程本身是一种物理过程，本研究过程中对 FMN-2-HP- β -CD 包合物的制备工艺进行考察优化，可以有效地保证包合物载药量。包合物的生物利用度及药理学活性等有待进一步实验研究。

本实验采用正交设计方法优化了 FMN-2-HP- β -CD 包合物的制备工艺，选用酸碱中和搅拌法、在 FMN 与 2-HP- β -CD 投料物质的量比为 1:1，包合温度为 50 ℃ 以及 2-HP- β -CD 质量浓度为 5 g/L 的条件下进行包合物的制备，提高包合物的载药量。通过 SEM 与 XRD 方法对制备的包合物进行表征，验证了二者形成了包合物。运用相溶解度法与分子对接法确定了 FMN 与 2-HP- β -CD 在不同温度下的包合稳定常数和热力学参数，推测 FMN 与 2-HP- β -CD 的结合主要是以焓变为主要驱动力的放热、熵减小的过程，且 FMN 以 7-OH 从 2-HP- β -CD 的大口端进入空腔内，与 2-HP- β -CD 上的氧原子形成 1 个氢键。

本实验没有采用包合率或者包合率与载药量二者综合为指标,是因为制备的包合物需进一步制备成包合物纳米粒(因该药物直接制备纳米粒的话,包封率很低,制成包合物纳米粒可以提高其包封率),载药量高的包合物更适合进一步制备纳米粒,所以只考虑了载药量1个指标。

参考文献

- [1] 李自全, 孟祥娇. 芒柄花素对人非小细胞肺癌细胞增殖、凋亡的影响及相关机制探讨 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(20): 138-142.
- [2] 刘德旺, 龚苏晓, 朱雪瑜, 等. 蒙古黄芪药材、生饮片及其炮制品质量差异性研究 [J]. 中草药, 2016, 47(6): 905-910.
- [3] 梁永枢, 安冉, 刘军民, 等. 不同产地鸡血藤药材中染料木素及芒柄花素的含量测定 [J]. 时珍国医国药, 2013, 24(7): 1655-1657.
- [4] 于海涛. 红车轴草有效部位化学成分及活性研究 [D]. 济南: 济南大学, 2016.
- [5] Zhou R, Xu L, Ye M, *et al.* Formononetin inhibits migration and invasion of MDA-MB-231 and 4T1 breast cancer cells by suppressing MMP-2 and MMP-9 through PI3K/AKT signaling pathways [J]. *Horm Metab Res*, 2014, 46(11): 753-760.
- [6] 盛佳钰, 陈红风. 芒柄花素联合 MK2206 对不同亚型乳腺癌细胞增殖和凋亡的影响 [J]. 中华肿瘤防治杂志, 2015, 22(13): 998-1003.
- [7] Li T Y, Zhao X G, Mo Z N, *et al.* Formononetin promotes cell cycle arrest via downregulation of Akt/Cyclin D1/CDK4 in human prostate cancer cells [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2014, 34(4): 1351-1358.
- [8] Yang Q, Chen G, Yang Y, *et al.* Formononetin ameliorates DSS-induced ulcerative colitis in mice through induction of Nrf2 in colons [J]. *J Chin Pharm Sci*, 2016, 25(3): 178-188.
- [9] 胡昆, 徐华金, 辛文群, 等. 刺芒柄花素氮芥衍生物的合成及抗肿瘤活性 [J]. 中国药科大学学报, 2012, 43(2): 113-119.
- [10] 赵培, 杨媛, 徐扬, 等. 芒柄花素调节血脂代谢及改善动脉粥样硬化病变的实验研究 [J]. 中国新药杂志, 2009, 18(10): 925-929.
- [11] 戚勋, 苑永辉, 钟红珊, 等. 2-羟丙基- β -环糊精促进小鼠下肢缺血模型血管新生的作用研究 [J]. 兰州大学学报: 医学版, 2015, 41(2): 20-24.
- [12] 戚勋, 苑永辉, 钟红珊, 等. 2-羟丙基- β -环糊精对人脐静脉血管内皮细胞增殖和迁移的影响 [J]. 山东医药, 2015, 55(18): 4-6.
- [13] 刘亚丽, 熊贤兵, 苏丹, 等. 丰城鸡血藤中刺芒柄花素的大鼠肠吸收研究 [J]. 中国中药杂志, 2013, 38(20): 3571-3575.
- [14] 宋洪涛, 郭涛, 颜秀涛, 等. 肉桂油 β -环糊精包合物的制备工艺研究 [J]. 中草药, 2000, 31(11): 818-820.
- [15] Chen Y, Chen C, Xiao Y Y, *et al.* Liposomes encapsulating 10-hydroxycamptothecin-cyclodextrin complexes and their *in vitro* anti-tumor activities [J]. *J Nanosci Nanotechnol*, 2015, 15(5): 3786-3795.
- [16] 廖正根, 平其能, 邹红, 等. 丹皮酚 β -环糊精包合物的制备工艺研究 [J]. 中草药, 2005, 36(6): 842-846.
- [17] 祝国强, 刘庆欧. 医药数理统计方法 [M]. 北京: 高等教育出版社, 2009.
- [18] Yano H, Kleinebudde P. Improvement of dissolution behavior for poorly water-soluble drug by application of cyclodextrin in extrusion process: Comparison between melt extrusion and wet extrusion [J]. *AAPS PharmSciTech*, 2010, 11(2): 885-893.
- [19] 李香, 林秀丽. 多西他赛与 β -环糊精及羟丙基- β -环糊精包合作用的研究 [J]. 药学实践杂志, 2008, 26(2): 129-133.
- [20] 苏德森, 王思玲. 物理药剂学 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2004.
- [21] 吕述权, 石国宗, 许远杰, 等. 键合 β -环糊精琼脂凝胶微球分离纯化大豆苷元及其色谱机制研究 [J]. 中草药, 2016, 47(15): 2627-2634.
- [22] Cavalcanti I M, Mendonca E A, Lira M C, *et al.* The encapsulation of β -lapachone in 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin inclusion complex into liposomes: A physicochemical evaluation and molecular modeling approach [J]. *Eur J Pharm Sci*, 2011, 44(3): 332-340.