

氟苯尼考纳米结晶的制备及其药剂学性质的考察

方宇奇¹ 高崇凯² 易军¹ 李晓芳¹ 吴芳² 刘佳华² 刘钰佳² 陈钰轩² 郭波红^{1,*}

(1 广东药科大学, 药学院, 广州 510006; 2 广东润华药业有限公司, 揭阳 515500)

摘要: **目的** 增加氟苯尼考 (FF) 的水溶性, 制备氟苯尼考纳米结晶 (FF-NC) 并对其药剂学性质进行体外评价。**方法** 采用微型化介质研磨法, 以西林瓶为研磨室, 氧化锆珠子为研磨介质, 磁力搅拌器为动力装置制备 FF-NC, 以粒径和多分散系数 (PDI) 为指标, 正交试验得到的优化处方及工艺参数, 进一步放大处方, 采用喷雾干燥法固化 FF-NC, 以差式扫描量热分析, X 射线衍射分析, 傅里叶红外光谱分析对所得纳米结晶进行表征, 并考察其饱和溶解度及体外累积溶出度。**结果** 正交试验最优处方制备得到的 FF-NC, 其粒径为 (189.6±3.44)nm, PDI 为 (0.192±0.021); 等比例放大研磨固化, 复溶后 FF-NC 粒径与喷雾干燥前基本相同; X 射线衍射图谱和差式扫描量热分析结果均表明氟苯尼考制备成纳米结晶后呈无定型状态; 饱和溶解度试验及体外溶出结果表明制备的 FF-NC 的饱和溶解度和体外累积溶出度明显高于 FF 原粉。**结论** 微型化介质研磨法为 FF-NC 制备工艺的筛选提供了简单有效的途径, 为放大化制备提供了依据, 制备得到的 FF-NC 速释、高效, 值得进一步研究。

关键词: 氟苯尼考; 纳米结晶; 微型化介质研磨; 正交优化; 体外评价

中图分类号: R944 **文献标志码:** A

Preparation of florfenicol nanocrystals and investigation of its pharmaceutical properties

Fang Yu-qi¹, Gao Chong-kai², Yi Jun¹, Li Xiao-fang¹, Wu Fang², Liu Jia-hua², Liu Shuo-jia², Chen Yu-xuan² and Guo Bo-hong¹

(1 School of Pharmacy, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006;

2 Guangdong Run Hua Pharmaceutical Co., Ltd., Jieyang 515500)

Abstract Objective To prepare florfenicol nanocrystals (FF-NC) and evaluate its pharmaceutical properties *in vitro* by increasing water solubility of florfenicol (FF). **Methods** The miniaturized medium grinding method was adopted, with the vial as the grinding chamber, the zirconia beads as the grinding medium, and the magnetic stirrer as the power device to construct the FF-NC, with the particle size and polydispersity index (PDI) as the index. The optimized formulation and process parameters obtained from the test were further amplified and spray-dried to cure FF-NC (FF-NC). The obtained nanocrystals were characterized by differential scanning calorimetry, X-ray diffraction and Fourier transform infrared spectroscopy. The saturated solubility and cumulative release *in vitro* were evaluated. **Results** The FF-NC prepared by the optimal formulation and process of orthogonal test had a particle size of (189.6±3.44)nm and a PDI of (0.192±0.021). The particle size of FF-NC after redissolution was basically the same as that before spray drying. X-ray diffraction pattern and differential scanning calorimetry results showed that FF was amorphous after being prepared into nanocrystals. The results of *in vitro* dissolution showed that the prepared FF-NC had significantly higher saturation solubility and cumulative dissolution *in vitro* than FF. **Conclusion** The miniaturization media grinding method provides a simple and effective way for the screening of FF-NC, and provides a basis for the preparation of bulk release. The rapid release and high efficiency of FF-NC obtained from the preparation are worthy of further study.

Key words Florfenicol; Nanocrystal; Miniaturized media grinding; Orthogonal optimization; *In vitro* evaluation

收稿日期: 2018-12-12

基金项目: 广东省“扬帆计划”引进创新创业团队项目 (No. 2017YT05S137)

作者简介: 方宇奇, 男, 生于 1995 年, 在读硕士研究生, 从事药物制剂研究工作, E-mail: 1500050487@qq.com

* 通讯作者, E-mail: bohong-g@163.com

氟苯尼考 (floxenicol, FF, 氟甲砜霉素) 是美国先灵 - 宝雅 (Schering-Plough) 公司于 70 年代末研制的广谱兽用抗菌药^[1], 对革兰阳性菌和革兰阴性菌均有作用, 其抗菌机制与同类氯霉素和甲砜霉素相似, 抗菌活性明显优于氯霉素^[2]。但是氟苯尼考水溶性较低, 机体吸收慢, 且药物残留比重大, 易产生耐药菌株^[3]。针对氟苯尼考生物利用度低的问题, 国内外科研工作者进行了大量的探索和研究。有学者^[4]采用水溶液搅拌法制备氟苯尼考- β -环糊精包合物, 水溶性提高了 6.67 倍, 然而羟丙基- β -环糊精水中的溶解性有限并有溶血性, 在实际应用中还有待开发。还有学者采用化学方法在氟苯尼考结构中引入亲水基团, 将其制成无活性的前体药物进入动物体内代谢成原药发挥作用。另有文献报道^[5], 采用磷酸化系统三氯氧磷 (POCl_3)/吡啶/乙腈 (CH_3CN) 制成水溶性的氟苯尼考磷酸酯, 并且进行了小规模的放大试验。此方法对于氟苯尼考的生物利用度有很大提高, 但对产品合成要求高, 所需试剂昂贵且不易得, 对工业化生产有很大的限制。因此, 有必要通过一定的技术手段, 寻找和开发低成本的氟苯尼考制剂。

纳米结晶是采用少量表面活性剂或聚合物稳定的亚微米胶体分散体系, 能显著提高难溶性药物的溶解度, 改善药物的生物利用度, 为解决难溶性药物制剂的制备问题提供了新思路和新方法^[6-10]。因此, 本实验通过微型化介质研磨法制备 FF-NC 并进行小规模的放大化制备, 改善其溶解度和溶出速度, 以期达到速释, 高效的目的。

1 仪器与材料

1.1 仪器

DF-101S 集热式恒温加热磁力搅拌器 (巩义市予华仪器责任有限公司); KQ2200DE 型数控超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司); PRACTUM124-1CN 电子天平 (德国 Sartorius 科学仪器有限公司); PHN Labstar 0.5CE 纳米砂磨机 (广东派勒智能纳米科技股份有限公司); DelsaTM Nano C 粒径分析仪 (美国 Beckman Coulter 公司); PKZ-1 电热恒温振荡水槽 (上海精密实验设备有限公司); Spectrum 100 傅里叶红外光谱仪 (美国 PerkinElmer 仪器有限公司); Aglient 1200 高效液相色谱仪 (Aglient 公司); ESCALAB 250 X 射线光电子能谱仪 (美国赛默飞世尔科技有限公司); SD-06AG 喷雾干燥机 (英国 Labplant 公司)。

1.2 试药

FF 对照品 (含量: 99.90%, 批号: K0301703, 中国兽医药品监察所); FF 原粉 (含量: 99.50%, 批号: 18103-6, 山东国邦药业股份有限公司); 氧化锆珠子 (直径为 0.2mm, 湖南瑞辰陶瓷有限公司); 羟丙甲纤维素 (HPMC E5, 安徽山河药用辅料股份有限公司, 批号: 170808); 十二烷基硫酸钠 (SDS, 安徽山河药用辅料有限公司, 批号: 170901); 聚维酮 $\text{K}_{29/32}$ (Povidone $\text{K}_{29/32}$, PVP $\text{K}_{29/32}$, 德国亚什兰公司, 批号: 25000240379); 泊洛沙姆 188 (Poloxamer 188, F68, 巴斯夫中国有限公司, 批号: F271527); 羧甲基纤维素钠 (CMC-Na, 安徽山河药用辅料股份有限公司, 批号: 170901); 大豆卵磷脂 (PC, 上海源聚生物科技有限公司, 批号: 171013); 水为蒸馏水; 甲醇、乙腈为色谱纯, 其余试剂均为市售分析纯。

2 方法

2.1 FF 含量测定

2.1.1 色谱条件

色谱柱: Dikma C_{18} (250mm \times 4.6mm, 5 μm), 流动相: 乙腈: 水 = 35:65 (V/V), 检测波长: 224nm, 柱温: 30 $^{\circ}\text{C}$, 进样量: 20 μL 。

2.1.2 线性关系的考察

精密称取干燥至恒重的 FF 对照品 5mg, 置于 10mL 容量瓶中, 用流动相溶解定容, 得 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的标准贮备液。分别量取上述贮备液 0.1、0.3、0.5、0.8 和 1.0mL 于 5mL 容量瓶中, 加入流动相稀释至刻度, 摇匀, 精密吸取 20 μL 进行 HPLC 测定。以峰面积 (A) 对浓度 (C , $\mu\text{g}/\text{mL}$) 进行线性回归, 得回归方程: $A=41.211C+1.553$ ($R^2=0.9999$)。说明 FF 在 10~100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度范围内与峰面积线性关系良好。方法学考察表明: 在本色谱条件下, 高中低浓度的平均回收率为 99.96%, RSD 为 0.52% ($n=9$), 日内精密度 RSD=0.73% ($n=6$), 日间精密度 RSD=0.27% ($n=3$)。

2.2 FF-NC 的制备

参考文献 [11] 采用微型化介质研磨法制备 FF-NC。称取 15mg 的 FF 原粉和适量的稳定剂置于 10mL 西林瓶中, 加入 3mL 蒸馏水及 18g 直径为 0.2mm 的氧化锆珠子, 将西林瓶置于磁力搅拌器上, 照设定转速和时间进行研磨, 除去氧化锆珠子, 即得 FF-NC。

2.3 FF-NC 制备工艺单因素考察

2.3.1 稳定剂种类的考察

本研究选择常用的高分子聚合物 PVP_{K29/32}(A)、HPMC E5(B)、CMC-Na(C)、表面活性剂 F68(D)、PC(E) 以及 SDS(F) 作为稳定剂来进行单一稳定剂的筛选, 浓度均为 0.1%。根据初步筛选结果, 以表 1 进行实验安排, 以粒径及多分散系数 PDI 为评价指标, 进一步筛选出适合 FF-NC 的稳定剂组合。

2.3.2 研磨速度的考察

按“2.2”项下方法, 将 15mg FF 原粉分散到 3mL 蒸馏水中(含 HPMC 及 SDS 各 0.1%), 加入研磨介质(直径为 0.2mm)研磨, 考察不同研磨速度对 FF-NC 性质的影响。

2.3.3 研磨时间的考察

按“2.2”项下方法, 称取 15mg FF 原粉及 3mg 稳定剂(以上述 HPMC+SDS 作为稳定剂)置于容积为 10mL 的西林瓶中, 加入 3mL 蒸馏水, 搅拌子及适量 0.2mm 氧化锆珠子, 在 900r/min 转速下搅拌研磨, 考察研磨时间对 FF-NC 性质的影响。

2.3.4 正交试验优化制备工艺

制剂制备的各处方工艺之间存在交互影响, 在单因素考察的基础上, 以 A: 稳定剂浓度(W/V, %), B: 转速(r/min), C: 研磨时间(h)3 个因素进行正交试验设计, 采用 L₉(3⁴) 正交表(表 2), 以 Span 值^[12]为综合考察指标, 筛选出制备 FF-NC 的最优处方。

$$\text{Span}=(D_{90}-D_{50})/D_{10}$$

其中 D_{90} 、 D_{50} 和 D_{10} 分别表示粒径分布中占 90%、50% 和 10% 的粒子所对应的粒径。Span 值越小表示粒径分布越窄, 粒子越均匀。

2.3.5 FF-NC 制备工艺的验证

以粒径及 PDI 为指标, 根据正交试验优化筛选

表 1 稳定剂的筛选

Tab. 1 The screening of stabilizers

高分子聚合物 / 表面活性剂	A	B	C
D	A+D	B+D	C+D
E	A+E	B+E	C+E
F	A+F	B+F	C+F

表 2 因素水平表

Tab. 2 Factor and level of the experiments

水平	因素		
	A/%	B/(r/min)	C/h
1	HPMC 0.1%+SDS 0.1%	600	1
2	HPMC 0.5%+SDS 0.1%	900	8
3	HPMC 1.0%+SDS 0.1%	1200	16

出的最优处方及工艺条件重复制备 3 份 FF-NC 以验证工艺重现性。

2.3.6 FF-NC 的固化

根据正交试验优化所得到的最优处方, 采用 PHN Labstar 0.5CE 纳米砂磨机, 将处方量等比例放大的稳定剂及 FF 原粉(投料量共 100g)加至含 2L 水的搅拌室中, 预搅拌 30min 使混合均匀。随后将混合后的物料泵入研磨腔中, 研磨一定时间得到 FF-NC, 采用喷雾干燥固化得到 FF-NC 固体粉末(共得固体 61.5g, 收率为 61.5%), 进行体外性质的考察。喷雾干燥条件为: 进风温度 195℃, 出风温度 84℃, 进液速度为 7.0mL/min, 风量为 0.5m³/min。

2.4 FF-NC 的体外评价

2.4.1 差示扫描量热分析(DSC)

对 FF 原粉、物理混合物、FF-NC 进行 DSC 分析。分别称取约 5mg 于瓷坩锅中, 以氮气为保护气, 扫描范围从 30~280℃, 升温速度 10℃/min。

2.4.2 X 射线衍射分析(XRD)

分别取适量 FF 原粉、物理混合物、FF-NC, 采用 X 射线衍射仪进行分析, 得到 X 射线衍射图谱。电流电压为 40kV, 30mA, 2θ 测试范围 5~55°, 扫描步距 0.02°, 扫描速率为 4°/min。

2.4.3 傅里叶红外光谱分析(FTIR)

分别取适量 FF 原粉、物理混合物、FF-NC, KBr 将其分别压片, 测试各样品的红外吸收图谱。扫描波长为 400~4000cm⁻¹; 分辨率为 4cm⁻¹, 每个样品平均扫描 3 次。

2.4.4 溶解度的测定

采用摇瓶法测定样品的饱和溶解度^[13]。分别取适量 FF 原粉、物理混合物、FF-NC 于 50mL 具塞锥形瓶中, 加入 20mL 的蒸馏水进行溶解, 超声 15min 后置于 (25±0.5)℃ 恒温摇床中, 振摇速度为 100r/min。48h 后取出, 取上清液过 0.22μm 水系微孔滤膜, 以蒸馏水稀释一定倍数, 采用 HPLC 法测定 FF 含量, 计算饱和溶解度。

2.4.5 体外溶出度考察

按《中华人民共和国兽药典》2015 年版一部附录 160 第二法(浆法)测试 FF 原粉、物理混合物、FF-NC 的溶出速率。称取 FF 原粉、物理混合物、FF-NC 适量(相当于 FF 原粉 200mg), 以蒸馏水为溶出介质, 体积为 900mL, 转速为 100r/min, 温度为 (37±0.5)℃。分别于 5、10、20、30、45 和 60min 取

样 5mL, 同时补充相同体积的介质, 过孔径 0.22 μ m 水系微孔滤膜, 取续滤液, 采用 HPLC 法测定 FF 的含量, 计算 FF 的溶出度, 绘制溶出曲线。采用相似因子法对 FF-NC 的体外释放行为进行评价。

其中 R_1 和 T_1 分别为纳米结晶及药物与辅料的物理混合物在 t 取样时间点的累积释放度; f_2 的数值范围在 0~100, 而且 f_2 越大, 两条曲线的相似性越高, n 为取样次数。 f_2 越大, 拟合度越高, $f_2 \geq 50$, 即表示两者的释放行为相似, 若 $f_2 < 50$, 则表示两条曲线的释放行为不相似。

2.5 初步稳定性评价

分别取 FF 原粉、FF-NC 适量置于敞口玻璃皿中, 平摊成 < 5mm 的薄层, 放置在温度为 40 $^{\circ}$ C, 相对湿度为 75% 条件下, 于 0 和 30d 分别取样, 对其休止角、堆密度、含量、1h 溶出率、再分散性能 (粒径与 PDI) 进行考察, 初步评价储存稳定性。

3 结果与分析

3.1 单因素考察结果

单因素考察结果见图 1。从图 1(A) 可知, 单独使用一种稳定剂 (包括高分子聚合物、离子性表面活性剂、非离子型表面活性剂) 都不能有效降低纳米结晶的粒径和增加纳米粒子的稳定性, 分析其中原因, 在制备 FF 纳米结晶时, 上述单一稳定剂均不足以提

供足够的立体稳定使颗粒之间形成足够的空间或者是足够静电排斥作用。根据预实验结果, 选用复合稳定剂制备 FF 纳米结晶。图 1(B) 中复合稳定剂筛选结果表明, 将立体稳定型稳定剂如 HPMC、PVP、CMC-Na 与静电稳定型的离子型表面活性剂 SDS 联合使用对 FF-NC 粒径的减小和粒子稳定有显著作用。综合考虑下选用 HPMC+SDS 制备 FF-NC。图 1(C) 表明, 在考察的转速范围内, 当转速从 600r/min 升高至 900r/min 时, 粒径从 871nm 降低至 308nm, 可见 NC 的粒径大小受转速的影响较大。而随着转速的继续增加, 粒径反而有所增大, 原因可能是转速继续升高, 粒子间单位时间内碰撞程度增加, 加速聚集, 导致粒径增加。另外, 转速加快使得氧化锆珠之间的碰撞加剧, 导致温度上升, 对药物的稳定性产生不利影响, 影响仪器寿命。图 1(D) 表明, 随着研磨时间的增加, FF-NC 的粒径和 PDI 基本呈减小的趋势, 当研磨时间达一定时长, 继续增加研磨时间, FF-NC 的粒径及 PDI 基本不再减小。

3.2 正交试验优化结果

正交试验优化结果见表 3~4。由正交实验结果可知, 转速大小对粒径影响最为显著, 其次为研磨时间, 稳定剂浓度比例对粒径影响最小。方差分析结果表明, B 因素的影响具有显著性意义; A、C 因素的影

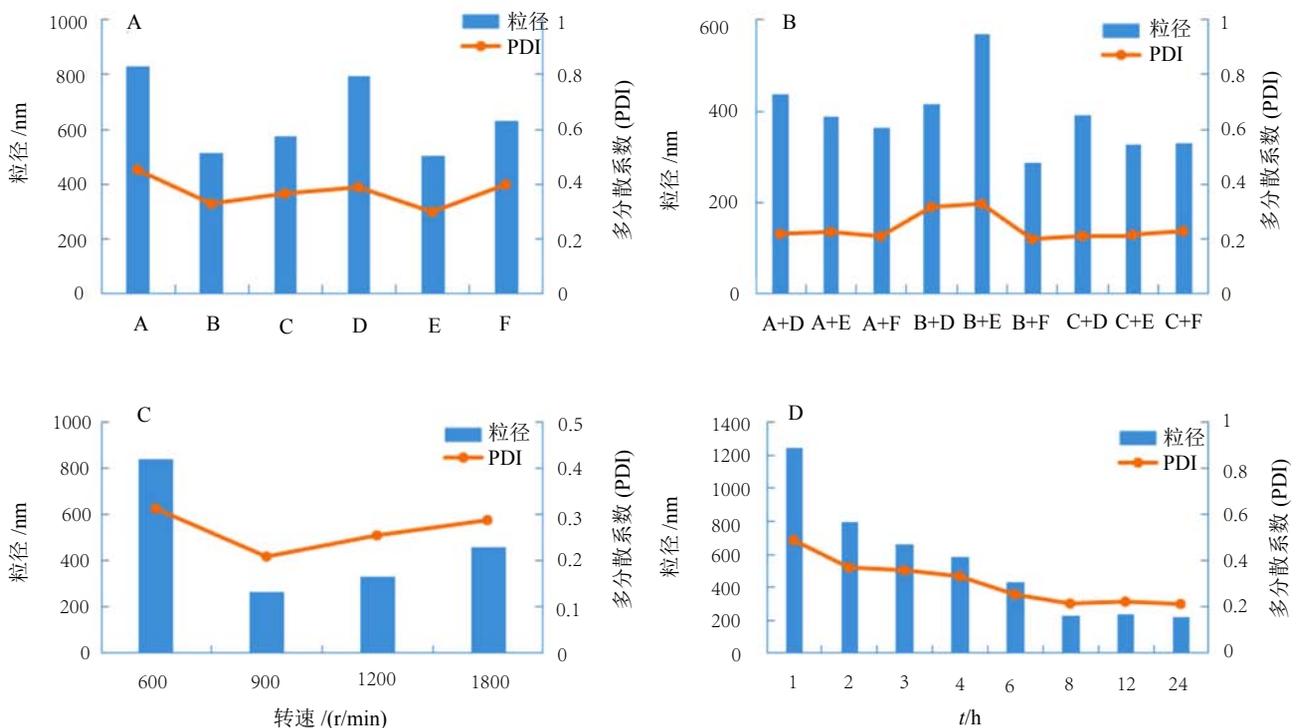


图 1 单一稳定剂 (A)、复合稳定剂 (B)、研磨速度 (C) 和研磨时间 (D) 对粒径大小和 PDI 的影响

Fig. 1 Effects of single stabilizer (A), compound stabilizer (B), grinding speed (C), grinding time (D) on particle size and PDI

表 3 正交试验结果

Tab. 3 Results of orthogonal test

序号	因素				Span 值
	A	B	C	D(空白)	
1	1	1	1	1	5.21
2	1	2	2	2	2.80
3	1	3	3	3	7.81
4	2	1	2	3	2.19
5	2	2	3	1	3.43
6	2	3	1	2	6.77
7	3	1	3	2	4.02
8	3	2	1	3	4.45
9	3	3	2	1	6.19
均值 1	5.273	3.807	5.477	4.943	
均值 2	4.130	3.560	3.727	4.530	
均值 3	4.887	6.923	5.087	4.817	
极差	1.143	3.363	1.750	0.413	

表 4 方差分析表

Tab. 4 Analysis of variance

方差来源	偏差平方和	自由度	F 值	显著性
A	2.029	2	7.543	
B	21.086	2	78.387	*
C	5.064	2	18.825	
D(误差)	0.27	2		

注: $F_{0.05}(2,2)=19.00$, “*” 表明 $P < 0.05$

响无显著性意义。最佳处方与工艺组成为 $A_2B_2C_2$, 即稳定浓度为 HPMC 0.5%+SDS 0.1%, 转速为 900r/min, 研磨时间为 8h。

3.3 FF-NC 制备工艺验证结果

图 2 结果表明, 重复制备 3 批次的 FF-NC 平均粒径, PDI 与前述优化过程所得结果基本一致, 表明微型化介质研磨法制备 FF-NC 的工艺稳定可行。

3.4 FF-NC 体外评价

3.4.1 复溶 FF-NC 粒径分布结果

图 3 结果表明, 经喷雾干燥固化后的 FF-NC, 在蒸馏水中复溶后, 粒径基本不变, 再分散性良好。

3.4.2 DSC 结果

图 4 DSC 结果表明, FF 原粉的特征吸热峰出现在 153°C, FF-NC 的 DSC 曲线图谱则显示, 药物原来的吸热峰已完全消失, 表明 FF-NC 中药物呈无定型状态。

3.4.3 XRD 结果

如图 5 所示, FF 原粉在衍射角 2θ 为 8.09° 、 16.22° 、 21.01° 、 24.42° 、 26.87° 、 31.82° 、 41.25° 和 43.49° 时衍射强度最大, 并在 $15\sim 30^\circ$ 有较强指纹性衍射

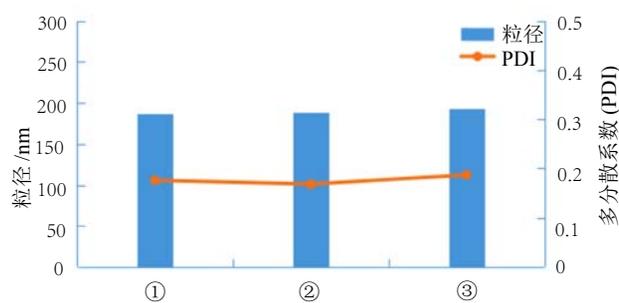


图 2 最优处方验证结果

Fig. 2 The result of optimal prescription verification

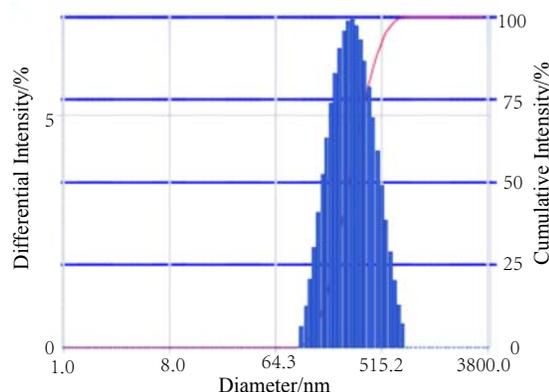
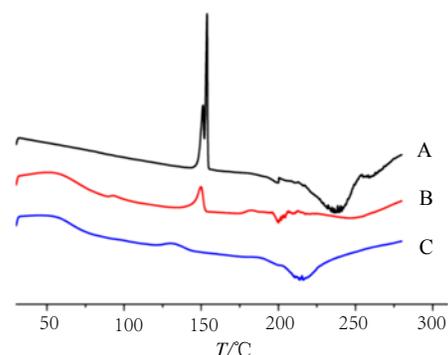


图 3 复溶 FF-NC 粒径分布

Fig. 3 Size distribution of FF-NC after redissolution



A: FF 原粉; B: 物理混合物; C: FF-NC

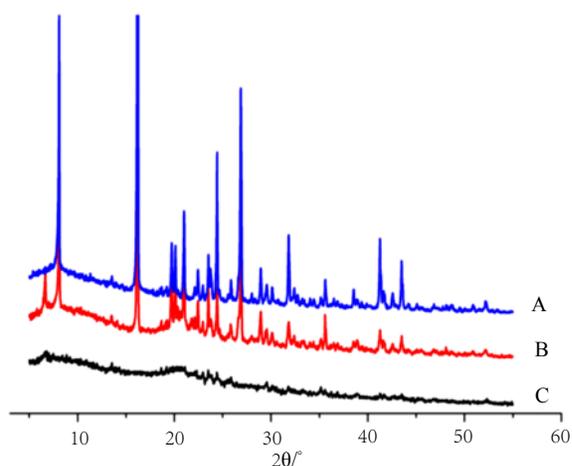
图 4 差式扫描量热分析结果

Fig. 4 Results of differential scanning calorimetry analysis

图谱, 表明氟苯尼考原药具有特定的晶体形态。在物理混合物中, 氟苯尼考原粉主要的特征峰得到保留, 存在晶态的尖峰, 特别是 2θ 为 8.09° 、 16.22° 和 21.01° 。分析结果表明, 药物和稳定剂的物理混合物中含有原药的特征衍射峰, 表明辅料的存在不会影响药物的结晶型态; 在 FF-NC 的 XRD 图谱中 FF 的特征衍射峰消失, 表明经研磨和干燥过程后药物呈无定型状态。

3.4.4 FTIR 结果

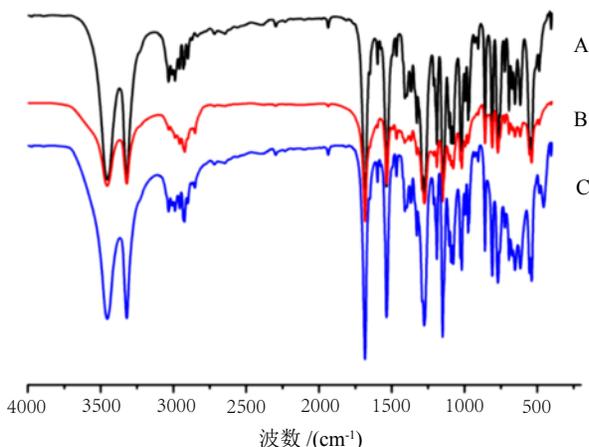
图 6 红外光谱图及数据表明, FF 在 3452cm^{-1} 处为 -OH 的伸缩振动峰, 1683cm^{-1} 处为 -C=O 的伸缩



A: FF 原粉; B: 物理混合物; C: FF-NC

图 5 X-射线衍射图谱

Fig. 5 X-Ray diffraction patterns of different samples



A: FF 原粉; B: 物理混合物; C: FF-NC

图 6 红外光谱图结果

Fig. 6 IR spectra of the samples

振动峰, 1532cm⁻¹ 处为 -NH 的弯曲振动和 -CN 的伸缩振动峰。1276cm⁻¹ 处有 -CN 的弯曲振动和 -NH 的伸缩振动吸收峰, 500~800cm⁻¹ 为 C-Cl 伸缩振动峰。FF 纳米结晶干燥粉与物理混合物的红外光谱图基本一致, 并且氟苯尼考的特征吸收峰还存在, 说明在制备过程中氟苯尼考自身的化学结构没有发生变化。

3.4.5 溶解度的测定结果

表 5 溶解度实验结果表明, 将 FF 制备成无定型的纳米结晶之后, 饱和溶解度较 FF 原粉提升近 2 倍。在 48h 内未观测到 FF-NC 出现明显的重结晶现象。说明制成无定型纳米结晶对 FF 有一定的增溶作用, 其水溶性有所提高。

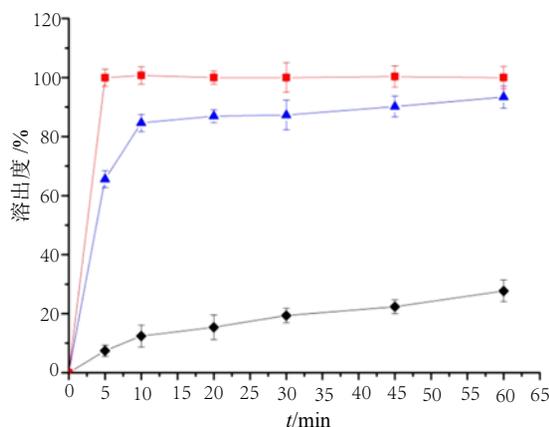
3.4.6 体外溶出度结果

图 7 体外溶出结果表明, FF-NC 显著提高了 FF 在水中的溶出速度, 在 5min 时 FF-NC 和物理混合物

表 5 溶解度实验结果

Tab. 5 Results of solubility test ($\bar{x}\pm s, n=3$)

类型	饱和溶解度 / (mg/mL)
FF 原粉	1.159±0.080
物理混合物	1.255±0.017
FF-NC	2.316±0.060



A: FF 原粉; B: 物理混合物; C: FF-NC

图 7 FF 体外溶出度实验结果

Fig. 7 Result of *in vitro* dissolution test ($\bar{x}\pm s, n=6$)

的溶出度分别为 96.89% 和 65.54%, 将 FF-NC 及物理混合物各点溶出数据代入“2.4.5”项下公式, 计算得到 $f_2=39 < 50$, 说明 FF-NC 与物理混合物的释放行为不相似。而 FF 原粉溶出速度缓慢, 在 60min 时累积溶出百分率 < 30%, 而 FF-NC 未见重结晶析出。以上结果说明将 FF 制备成纳米结晶可以显著提高 FF 的溶出速率。

3.5 初步稳定性考察结果

初步稳定性考察结果见表 6~7。结果发现 FF-NC 的各项考察指标均未发生显著变化, 表明在此条件下该 FF-NC 性质稳定。

4 讨论

合适的稳定剂是保证纳米结晶稳定的前提。稳定剂的稳定机制主要有以下 3 种: 立体稳定、静电稳定以及静电-立体稳定。其中常用的立体稳定剂主要是一些高分子聚合物, 通过吸附水中悬浮的固体粒子, 使粒子间架桥形成足够的空间。静电稳定主要是通过离子间的静电作用减少颗粒之间的斥力。

表 6 FF 原粉初步稳定性考察结果

Tab. 6 preliminary stability investigation results of FF raw powder ($n=3$)

储存时间 / d	休止角 / °	堆密度 / (g/cm ³)	1h 溶出率 / %	吸湿增重 / %
0	48.01±1.09	0.3048±0.0184	27.71±3.69	-
30	51.34±1.08	0.3218±0.0031	28.77±2.73	0.0146±0.0021

表 7 FF-NC 初步稳定性考察结果

Tab.7 Preliminary stability investigation results of FF-NC(n=3)

储存时间/d	休止角 [°]	堆密度/(g/cm ³)	含量/%	1h 溶出率/%	粒径/nm	PDI	吸湿增重/%
0	28.84±0.779	0.2783±0.0173	67.55±2.78	100±3.75	211.3±10.57	0.126±0.033	-
30	29.74±0.895	0.2815±0.0389	67.59±1.34	99.34±4.73	240.1±12.35	0.167±0.025	0.293±0.074

注：“-”表明无吸湿增重

在 FF-NC 的稳定剂筛选中, 将立体稳定剂与静电稳定剂联用取得了比较好的效果, 这是因为立体稳定剂的空间位阻和静电稳定剂的电荷斥力的协同作用使得纳米粒子的稳定效果相较于单独使用效果大大提升^[14]。当 HPMC 与 SDS 联用时, 稳定效果最令人满意。推测其原因, 可能是 HPMC 和 SDS 在水中相互作用, HPMC 提供成核的位点, SDS 沿着其主链发生胶束化, 增强 HPMC 在纳米粒子表面的吸附作用以提高 FF-NC 的稳定性。

本研究在正交优化过程中采用了粒径跨度 (Span 值) 作为评价指标, Span 值包含 D_{90} 、 D_{50} 和 D_{10} 3 个参数, 数值越小表示粒子分布越均匀。相较于单独使用粒径作为评价指标更具有代表性。

微型化介质研磨可用于制备纳米结晶时多种稳定剂同时多批量筛选研究, 大大节省了研究时间, 同时为放大化生产提供了参考依据。本研究中采用微型化介质研磨法, 进行单因素试验, 正交优化制备了粒径较小的 FF-NC, 采用 PHN Labstar 0.5CE 纳米砂磨机, 将筛选出最优处方等比例放大, 并进行喷雾干燥固化得到 FF-NC 固体粉末, 复溶后粒径基本不变, 并且再分散性良好。体外溶出结果中, FF-NC 的累积溶出度在 5min 内即可达 90% 以上, 分析原因如下: 一是药物在经过研磨之后呈无定形态, 药物饱和溶解度随结晶程度的降低而增大^[15]; 二是 FF-NC 的晶格能减小, 溶解需要的能量变小, 这也是 FF-NC 溶解度增加与溶解速度加快的原因。FF-NC 的体外溶出度明显优于 FF 原粉, FF 原粉 60min 内最大累积溶出度仅在 30% 以下。

纳米结晶能有效改善难溶性药物的溶解度问题, 但其属于液体制剂, 稳定性差, 不易携带, 固化是相关研究的新方向。固化后得到的粉体作为一种中间制剂, 其粉体流动性对后续颗粒剂、片剂、胶囊剂的成型, 装量均有重要影响^[16]。将本实验固化得到的 FF-NC 置于温度 40℃, 相对湿度 75% 的条件下, 发现其粉体学流动性及考察的各项指标均无显著变化, 说明其物理稳定性良好, 可较长时间储存, 但长期稳定性仍有待考察。

微型化介质研磨法制备 FF-NC 可在短时间内完

成, 且装置易得, 研磨效率高, 为处方的筛选提供了极大的便利。虽然装置体积及动力有限, 但对于放大化制备纳米结晶具有一定的指导意义。本实验中等比例放大化制备 FF-NC 并固化后, 改善了 FF 的水溶性, 有利于提高其生物利用度。

参考文献

- [1] 魏海涛, 黄显会. 氟苯尼考药剂学研究进展 [J]. 中国兽药杂志, 2010, 44(7): 44-46.
- [2] 王小乔, 王龙龙, 李亚军, 等. 氟苯尼考对呼吸道常见病原菌的体外抑菌试验 [J]. 中兽医医药杂志, 2018, 37(4): 36-38.
- [3] 刘洋, 赵修华, 祖元刚, 等. 氟苯尼考 PEG6000 固体分散体的无溶剂熔融法制备与分析 [J]. 中国兽药杂志, 2012, 46(4): 40-43.
- [4] 罗娟. 氟苯尼考溶液的稳定性及其 β - 环糊精包合物研究 [D]. 重庆: 西南大学, 2015.
- [5] Gu S X, Du J W, Ju X L, *et al.* A scalable one-pot process for the synthesis of florfenicol phosphodiester[J]. *Org Prec Res Dev*, 2014, 18(4): 552-554.
- [6] Liu Y, Xie P C, Zhang D R, *et al.* A mini review of nanosuspension development[J]. *J Drug Target*, 2012, 20(3): 209-223.
- [7] Rao G C, Kumar M S, Mathivanan N, *et al.* Nanosuspensions as the most promising approach in nanoparticulate drug delivery systems[J]. *Pharmazie*, 2004, 59(1): 5-9.
- [8] 曾沈彪, 廖云飞, 张军东, 等. 介质研磨法制备尼莫地平纳米混悬剂 [J]. 中国医药工业杂志, 2014, 45(10): 941-945.
- [9] 申宝德, 连王权, 沈成英, 等. 微型化介质研磨法制备难溶性黄酮类化合物纳米混悬剂 [J]. 中草药, 2017, 48(21): 4413-4417.
- [10] 程智博, 胡靖琼, 孙帅, 等. 湿法研磨结合液相层积技术制备咪喃妥因缓释微丸 [J]. 沈阳药科大学学报, 2017, 34(2): 109-115.
- [11] Gregori B, Cornelia M K, Rainer H M. Simple low-cost miniaturization approach for pharmaceutical nanocrystals production [J]. *Int J Pharm*, 2016, 501(1-2): 236-244.
- [12] 郭奇喆, 黄浩, 何海冰, 等. 喷雾干燥法固化姜黄素纳米混悬剂工艺及体外溶出度研究 [J]. 沈阳药科大学学报, 2018, 35(5): 340-343.
- [13] 胡程耀, 黄培. 固体溶解度测定方法的近期研究进展 [J]. 药物分析杂志, 2010, 30(4): 761-766.
- [14] Owen H, Graham S, Erling J, *et al.* Anion effects on electrostatic charging of sterically stabilized, water insoluble drug particles[J]. *Int J Pharm*, 2009, 368(1-2): 154-159.
- [15] Zhang X, Xia Q, Gu N. Preparation of all-trans retinoic acid