

doi:10.11751/ISSN.1002-1280.2022.05.06

环糊精修饰的氟苯尼考 PLGA 纳米粒的制备及其体外释放评价

何怡娇¹, 李姝琪¹, 高崇凯², 易军¹, 李晓芳¹, 吴芳²,
林博璇¹, 邓洵¹, 黄智龙¹, 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, 广东 揭阳 515500)

[收稿日期] 2021-10-19 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2022) 05-0045-08 [中图分类号] R943

[摘要] 制备了环糊精修饰的氟苯尼考 PLGA 纳米粒(FF-2-HP- β -CD-PLGA NPs), 筛选出其最优处方并进行评价。采用乳化溶剂挥发法制备 FF-2-HP- β -CD-PLGA NPs, 通过单因素考察, 以乳化剂浓度、药脂比、药物浓度和 2-HP- β -CD 浓度为考察因素, 包封率为考察指标, 正交试验筛选最优处方, 并对其进行体外释放试验。结果表明, 制备 FF-2-HP- β -CD-PLGA NPs 的最佳工艺为 PVA 浓度 2%, 药物与 PLGA 用量比 1:15, 药物浓度 2.0 mg·mL⁻¹, 2-HP- β -CD 浓度为 1.5%。测得平均包封率为 (82.02 ± 0.82)%, 处方的重现性较好且工艺稳定可行。在体外药物释放试验中, FF-2-HP- β -CD-PLGA NPs 释放速率明显较 FF 慢且平稳 (P < 0.05), 后期可持续平稳释放至 72 h, 累积释放率为 (82.08 ± 1.71)%。结论表明, 制备的 FF-2-HP- β -CD-PLGA NPs 具有较高的包封率, 体外释药具有缓释行为。

[关键词] 氟苯尼考; 2-羟丙基- β -环糊精; 纳米粒; 体外释放

Preparation of Cyclodextrin - modified Florfenicol PLGA Nanoparticles and Its Release Evaluation *in vitro*

HE Yi-jiao¹, LI Shu-qi¹, GAO Chong-kai², YI Jun¹, LI Xiao-fang¹, WU Fang²,
LIN Bo-xuan¹, DENG Xun¹, HUANG Zhi-long¹, GUO Bo-hong^{1*}

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

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

Corresponding author: GUO Bo-hong, E-mail: guobohong@gdpu.edu.cn

基金项目: 广东药科大学“创新强校工程”资助项目[广东省大学生创新创业训练计划项目(S202110573003)]; 广东省“扬帆计划”引进创新创业团队项目(2017YT05S137)

作者简介: 何怡娇, 从事药物制剂方向研究。

通讯作者: 郭波红. E-mail: guobohong@gdpu.edu.cn

Abstract: The cyclodextrin - modified florfenicol PLGA nanoparticles (FF - 2 - HP - β - CD - PLGANPs) were prepared, and their optimal formulations were selected and evaluated. FF - 2 - HP - β - CD - PLGANPs were prepared by emulsifying solvent evaporation. The optimal formulation was screened by orthogonal test with emulsifier concentration, drug - to - lipid ratio, drug concentration and 2 - HP - β - CD concentration as factors, and the encapsulation index was investigated. The optimal formulation was selected by orthogonal test, and its in vitro release test was performed. In results, the optimum preparation process of FF - 2 - HP - β - CD - PLGA NPs were as follows: PVA concentration 2%, drug to PLGA dosage ratio 1:15, drug concentration 2.0 mg · mL⁻¹, 2 - HP - β - CD concentration 1.5%. The average encapsulation was (82.02 ± 0.82)%, and the reproducibility of the formulation was good and the process was stable and feasible. In the in vitro drug release assay, the release rate of FF - 2 - HP - β - CD - PLGA NPs was significantly slower and more stable than that of FF ($P < 0.05$), and the release could continue and be stable until 72 hours at a later stage, with a cumulative release of (82.08 ± 1.71)%. The results show that the prepared FF - 2 - HP - β - CD - PLGA NPs have high entrapment efficiency and sustained release behavior in vitro.

Key words: florfenicol; 2 - hydroxypropyl - β - cyclodextrin; nanoparticles; *in vitro* release

氟苯尼考 (florfenicol, FF) 是一种硫代苯酚的氟化物类似物, 是一种对革兰氏阳性和革兰氏阴性细菌均有效的广谱兽用抗生素, 具有无潜在再生障碍性贫血作用等优点^[1], 被广泛应用。但是, FF 的水溶性差, 生物利用度低, 血浆半衰期缩短, 给药后迅速释放, 这些缺点给临床应用带来很多不便^[2-3]。因此, 采用聚乳酸 - 羟基乙酸共聚物 [poly (lactic - co - glycolic acid), PLGA] 作为载体材料来改善氟苯尼考成药性缺陷, PLGA 纳米粒可以提高药物在体内的稳定性, 延长药物体内作用时间, 减小药物的副作用, 提高药物溶解度和生物利用度。

因材料本身的局限性, 单一的纳米载体材料往往会产生稳定性较差, 突释效果明显, 靶向作用较弱等缺点^[4]。将亲水性包覆材料与疏水性纳米材料相结合可避免这种缺点, 疏水性的纳米材料作为内核可以装载药物, 提升药物的溶解度, 亲水性物质进行包覆的外层可保护内部的药物, 可以延长药物半衰期, 控制药物的释放, 提高药效以达到期望的治疗效果^[5-7]。环糊精 (Cyclodextrins, CDs) 是一种外表面亲水、内腔疏水的环状低聚糖, 可通过疏水侧链与药物相互作用形成包合物, 从而提高药物的溶解度^[8]。它与 PLGA 结合形成的共聚物,

可以减少初始爆破释放, 延长药物在体内的停留时间来达到长循环的目的, 通过不断释放活性物质发挥药物储层的作用, 提高亲水性和稳定性, 可以提高其载药能力来提高药效, 显示出在药物输送系统方面的巨大潜力^[9-11]。

选用生物相容性好的 PLGA 作为制备纳米粒的载体材料, 采用亲水性包覆材料 2 - 羟丙基 - β - 环糊精 (2 - hydroxypropyl - β - cyclodextrin, 2 - HP - β - CD) 对纳米粒进行修饰, 利用简单易行的乳化溶剂挥发法, 单因素试验考察及正交设计优化 FF - 2 - HP - β - CD - PLGA NPs, 并研究 2 - HP - β - CD 对纳米粒粒径与电位、包封率、体外释放等的影响。

1 材料与方法

1.1 仪器 安捷伦 1200 高效液相色谱仪 (安捷伦科技有限公司); DF - 101S 集热式恒温加热磁力搅拌器 (巩义市予华仪器有限公司); KQ2200DE 型超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司); PRAC - TUM124 - 1CN 电子天平 (德国赛多利斯科学仪器有限公司); SCIENTZ - II D 超声波细胞粉碎仪 (宁波新芝生物科技股份有限公司); 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); 旋转蒸发仪 (上海亚荣生化仪器厂)。

1.2 材料 FF 原粉(99.50%, 山东国邦药业股份有限公司); FF 对照品(含量 99.90%, 批号: K0301703, 中国兽药药品监察所); 聚乳酸-羟基乙酸共聚物(PLGA, LA/GA = 50/50, 相对分子量: 10000/20000; LA/GA = 75/25, 相对分子量: 10000/20000, 山东省医疗器械研究所); 聚乙烯醇(PVA, 德国 Sigma-Aldrich 公司); 2-HP- β -CD(美国 Sigma Aldrich 公司); 葡聚糖凝胶(Sephadex G-50, 北京索莱宝科技有限公司); 透析袋, MWCO: 8000~14000(广州市齐云生物技术有限公司); 乙腈、甲醇(色谱纯, Dikma 公司); 二氯甲烷、丙酮(分析纯, 国药集团化学试剂有限公司); 蒸馏水(广州屈臣氏食品饮料有限公司)。

1.3 FF-2-HP- β -CD-PLGA NPs 的制备采用改进的乳化-溶剂挥发法^[12], 精密称取一定量的 FF 和 PLGA, 溶解于适量的丙酮: 二氯甲烷(3:2)的混合溶剂中构成有机相, 探头超声(超声功率为 380 W)作用下将上述溶液缓慢滴加到含有 PVA 和 2-HP- β -CD 的水相中, 继续超声一定时间得白色乳液, 旋转蒸发除去有机溶剂, 然后经 0.22 μm 微孔滤膜过膜整粒, 即得 FF-2-HP- β -CD-PLGA NPs。

1.4 FF-2-HP- β -CD-PLGA NPs 制备工艺的单因素试验

1.4.1 乳化剂浓度筛选 固定其他制备条件保持不变, 改变处方中的 PVA 浓度, 将 PVA 浓度依次设置为 1%、2%、3%、4%, 根据“1.3”项下制备方法, 测定 FF-2-HP- β -CD-PLGA NPs 包封率的情况。

1.4.2 药脂比筛选 固定其他制备条件保持不变, 改变药脂比分别为 1:2、1:5、1:10、1:20, 根据“1.3”项下制备方法, 测定 FF-2-HP- β -CD-PLGA NPs 的包封率的情况。

1.4.3 药物浓度筛选 固定其他制备条件保持不变, 改变处方中 FF 浓度依次为 1.5 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、2.0 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、2.5 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、3.0 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, 根据“1.3”项下制备方法, 测定 FF-2-HP- β -CD-PLGA NPs 包封率的情况。

1.4.4 2-HP- β -CD 浓度筛选 固定其他制备条件保持不变, 改变处方中 2-HP- β -CD 浓度依次为 1%、1.5%、2%、2.5%, 根据“1.3”项下制备方法, 测定 FF-2-HP- β -CD-PLGA NPs 包封率的情况。

1.5 正交试验设计优化 在单因素试验考察的基础上, 本试验选取 PVA 浓度(A)、药物与 PLGA 用量比(B)、FF 浓度(C)、2-HP- β -CD 浓度(D)四个因素, 固定有机相与水相体积比为 1:8, 采用 $L_9(3^4)$ 正交设计表进行正交试验, 进一步优选出 FF-2-HP- β -CD-PLGA NPs 制备处方。

表 1 正交试验水平因素表

Tab 1 Orthogonal test level factors table

水平 Levels	A/PVA 浓度(%) PVA concentration	B/FF:PLGA Amount of FF: Amount of PLGA	C/FF 浓度($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) FF concentration	D/2-HP- β -CD 浓度(%) 2-HP- β -CD concentration
1	1	1:5	1.5	0.5
2	2	1:10	2.0	1
3	3	1:15	2.5	1.5

1.6 FF 含量测定

1.6.1 色谱条件 色谱柱: DIKMA Diamonsil[®] C18 柱(4.6 mm \times 250 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈: 水 = 35:65 (V/V); 检测波长: 224 nm; 流速: 1 mL/min; 柱温: 30 $^{\circ}\text{C}$; 进样体积: 20 μL 。

1.6.2 方法学考察 精密称定干燥的 FF 对照品适量置于 10 mL 容量瓶中, 用流动相配制成浓度为

500 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的 FF 对照品储备液。精密量取 FF 对照品储备液适量, 用流动相稀释配制成 10、30、50、80、100 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的标准溶液, 按“1.6.1”项下条件进行分析测定(进样经 0.22 μm 微孔滤膜过滤)。配制低、中、高浓度 FF 对照溶液, 一天内重复测定 6 次, 连续测定 3 d, 计算日内和日间精密密度及 RSD 值, 另取空白纳米粒分别加入低、中、高浓度

FF 对照溶液,加适量乙腈充分振摇破乳,用流动相定容后经微孔滤膜过滤测定,计算回收率。

1.7 包封率测定方法 精密吸取 FF-2-HP- β -CD-PLGA NPs 胶体溶液 0.5 mL,加样于 Sephadex G-50 柱(1.3 cm × 25 cm),用蒸馏水洗脱,弃去前 10 mL,收集游离药物部分 20 mL,60 °C 水浴挥干,残渣用流动相溶解,定容至 10 mL,微孔滤膜过滤后取 20 μ L,进样测定,代入回归方程计算 $W_{\text{游离}}$ 。另取 0.5 mL 置 10 mL 量瓶中,加入适量乙腈充分振摇破乳,用流动相定容,微孔滤膜过滤后取 20 μ L 进样测定,代入标准曲线计算 $W_{\text{总}}$,计算 FF-2-HP- β -CD-PLGA NPs 的包封率。

$$\text{包封率} = (1 - W_{\text{游离}}/W_{\text{总}}) \times 100\%$$

$W_{\text{总}}$:总药物量, $W_{\text{游离}}$:游离药物量

1.8 FF-2-HP- β -CD-PLGA NPs 的粒径与 Zeta 电位观察与测定 取适量 FF-2-HP- β -CD-PLGA NPs 胶体溶液置于 Delsa™ Nano C 激光粒度分析仪,测定粒径,多分散指数(polydispersity index, PDI)和 Zeta 电位。

1.9 体外释放行为研究 体外释放研究在磷酸盐缓冲液(PBS, pH7.4)中通过透析法进行^[13],具体方法如下:将含有游离 FF 或 FF-2-HP- β -CD-PLGA NPs(相当于 FF 2 mg)的样品溶液加入截留分子量为 8000 ~ 14000 的透析袋中,将透析袋两端密封,放入含有 PBS 释放介质的锥形瓶中,并放入电热恒温振荡水槽中 37 °C 恒温振荡。按预定的时间间隔,吸取 2 mL 释放介质按照“1.6.1”方法进行分析,并添加 2 mL 新鲜 PBS 缓冲液。测定 FF 累积释放量,并且计算累积释放率。结果一式三份,以累积释药百分率(%)为纵坐标对时间(h)为横坐标作图。

为进一步阐明 FF-2-HP- β -CD-PLGA NPs 的释药特性,对 FF-2-HP- β -CD-PLGA NPs 分别采用零级动力学方程、一级动力学方程、Higuchi 方程、Ritger-peppas 方程和 Weibull 方程进行拟合。具体方程如下:

$$\text{零级动力学方程: } Q = Kt$$

$$\text{一级动力学方程: } \ln(1 - Q) = -Kt/M$$

$$2.303 + \ln M$$

$$\text{Higuchi 方程: } Q = Kt^{1/2}$$

$$\text{Ritger-peppas 方程: } Q = Kt^n$$

$$\text{Weibull 方程: } \ln \ln(1/(1 - Q/100)) = m \ln t - \ln t_0$$

其中 Q 为累计释放百分数, K 为释放速率常数, t 为时间, M 为常数, n 为扩散系数, m 为形状参数, t_0 为尺寸参数。

1.10 数据统计与分析 所有试验至少重复 3 次,数据以“平均数 ± 标准差”表示,使用 SPSS13.0 统计软件进行统计分析,组间比较采用单因素方差分析。 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 乳化剂浓度筛选 结果表明,当 PVA 浓度由 1% 增加到 2% 时,纳米粒的包封率由 37.23% 逐渐升高至 61.07%,但继续增加 PVA 浓度至 4% 时,其包封率下降至 36.48%。原因可能是在一定范围内 PVA 浓度的升高提升了乳化效果,使纳米粒产率增加;但当 PVA 浓度继续增大,会使药物更容易扩散到水相,致使包封率开始下降。因此可选择 PVA 浓度范围为 1.5% ~ 2.5%。

2.2 药脂比筛选 结果表明,当药脂比由 1:2 增加至 1:10 时,纳米粒的包封率由 29.48% 逐渐升高至 59.75%,但继续增加药脂比至 1:20 时,其包封率下降至 53.75% 可能是当 PLGA 浓度逐渐提高时,纳米粒的产率也逐渐增加,使包封率提高;其浓度过高会导致胶体溶液黏度过高,形成团聚,导致包封率减小。因此可选择药脂比范围为 1:10 ~ 1:20。

2.3 药物浓度筛选 结果表明,随着药物浓度由 1.0 mg · mL⁻¹ 增加至 1.5 mg · mL⁻¹ 时,纳米粒的包封率由 43.39% 升高至 64.47%,但当继续增加药物浓度至 2.5 mg · mL⁻¹ 时,其包封率下降至 35.25%。原因可能是当药物浓度较小时,溶液中药物含量低,不利于药物被包封。随着药物浓度的升高,溶液药物含量也逐渐增大,包封率也随之逐渐升高。但当药物浓度超过一定量之后,有机相的黏度也增大,在水中难以分散,导致包封率下降。

因此选择药物浓度范围为 $1.0 - 2.0 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

2.4 2-HP- β -CD 浓度筛选 结果表明,随着 2-HP- β -CD 浓度由 1.0% 升高至 2.5% 时,FF-2-HP- β -CD-PLGA NPs 的包封率呈逐渐下降的趋势。这可能是因为当 FF 为一定浓度时,2-HP- β -CD 的存在有利于提高 FF 的溶解度,使其更容易向水相中分散,而难以被疏水性的 PLGA 包封。因此选择 2-HP- β -CD 浓度范围为 1% ~ 1.5%。

2.5 正交试验设计及结果 正交试验结果(表 2)表明,药脂比对包封率影响最为显著,其次为 PVA 浓度,而药物浓度对包封率影响相对较小,4 个因素对包封率的影响程度由大至小可排列为: $B > A > D > C$ 。

进一步将影响因素最小的 C 组作为误差组进行方差分析(表 3),发现 B 因素不同水平间存在显著性差异($P < 0.05$),为主要影响因素;A、D 因素不存在显著性影响,为次要影响因素。综合直观分析与方差分析结果,本试验确定最优处方为 $A_2B_3C_2D_3$,即处方中 PVA 浓度 2%,药物与 PLGA 用量比 1:15,药物浓度 $2.0 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$,2-HP- β -CD

浓度为 1.5%。按上述最优处方制备 3 批样品 FF-2-HP- β -CD-PLGA NPs,并以包封率为评价指标,按照“1.7”项下的包封率测定方法,测得平均包封率为 $(82.02 \pm 0.82)\%$,说明处方的重现性较好且工艺稳定可行。

表 2 正交试验结果及直观分析表

Tab 2 Orthogonal test results and visual analysis table

序号 Serial number	A	B	C	D	包封率/% Encapsulation/%
1	1	1	1	1	32.23
2	1	2	2	2	60.56
3	1	3	3	3	58.75
4	2	1	2	3	51.67
5	2	2	3	1	64.75
6	2	3	1	2	75.05
7	3	1	3	2	41.56
8	3	2	1	3	67.06
9	3	3	2	1	63.02
K1	50.51	41.82	58.11	53.33	
K2	63.82	64.12	58.42	59.06	
K3	57.21	65.61	55.02	59.16	
R13.31	23.79	3.40	5.83		

表 3 正交试验设计方差分析

Tab 3 Analysis of variance of orthogonal test design

因素 Factors	偏差平方和 Sum of squared deviations	自由度 Degrees of freedom	F 比 F ratio	F 临界值 F Cut-off value	显著性 Significant
A	265.738	2	12.536	19.000	
B	1065.444	2	50.262	19.000	$P < 0.05$
C	21.198	2	1.000	19.000	
D	66.717	2	3.147	19.000	
误差	21.20	2			

2.6 FF 含量测定结果 以峰面积(A)对浓度(C, $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)进行线性回归,得线性拟合回归方程: $A = 41.211 C + 1.553$,其中 $r = 0.9999$ 。根据数据说明 FF 在 $10 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1} \sim 100 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 浓度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,高中低三种浓度溶液的平均回收率为 99.96%,RSD 为 0.52% ($n = 9$),日内精密度

$RSD = 0.73\%$ ($n = 6$),日间精密度的 $RSD = 0.27\%$ ($n = 3$),均符合测定要求。

2.7 FF-2-HP- β -CD-PLGA NPs 的粒径与 Zeta 电位观察与测定 根据 DelsaTM Nano C 激光粒度分析仪的测定,FF-2-HP- β -CD-PLGA NPs 的粒径为 $(185.90 \pm 2.80) \text{ nm}$ (图 1A),PDI 值为 0.10 ± 0.05 ,Zeta 电位为 $(-5.92 \pm 1.80) \text{ mV}$ (图 1B),其电

位为负值,可能与粒子表面的环糊精上的羟丙基有关。其外貌形态如图 1A 所示,表现为半透明乳光状溶液。

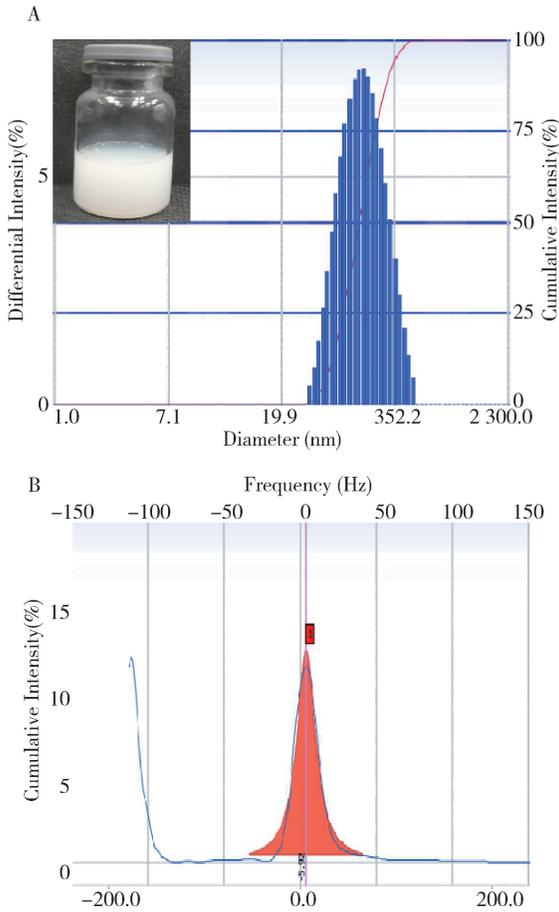


图 1 FF-2-HP-β-CD-PLGA NPs 外貌, 粒径及电位 (A 为粒径, B 为电位)

Fig 1 FF-2-HP-β-CD-PLGANPs appearance, particle size and potential (A is particle size, B is potential)

2.8 体外释放行为的研究 体外释放研究在磷酸盐缓冲盐水 (PBS, pH 值 7.4) 中通过透析法进行,

结果如图 2 所示,FF 的累积释放率远高于 FF-2-HP-β-CD-PLGA NPs 组,约 4 h 即可完全释放,而 FF-2-HP-β-CD-PLGA NPs 组 4 小时内仅释放 (37.85 ± 1.36)%,FF-2-HP-β-CD-PLGA NPs 的释放速率明显较 FF 慢且平稳 (P < 0.05)。后期可持续平稳释放至 72 h,其累积释放率为 (82.08 ± 1.71)%。说明 2-HP-β-CD 的加入可作为纳米粒的保护层,阻碍了 FF 从内核向外扩散,有助于药物的缓慢释放。

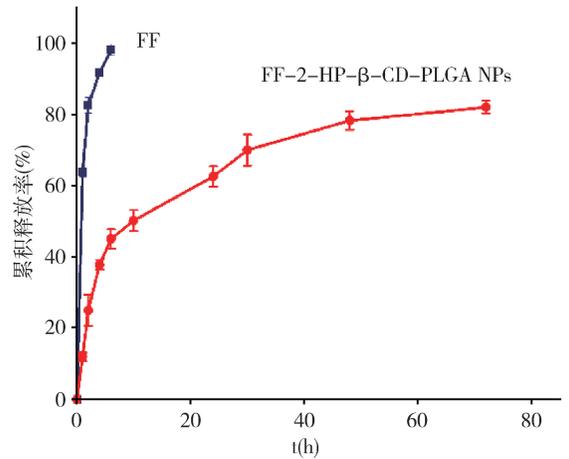


图 2 FF-2-HP-β-CD-PLGA NPs 体外释放曲线

Fig 2 FF-2-HP-β-CD-PLGANPs In Vitro Release Profile

体外释放拟合方程结果如表 4 所示,根据其相关系数判断,FF-2-HP-β-CD-PLGA NPs 拟合效果最符合 Ritger-peppas 方程,拟合方程为 $\ln Q = 0.417 \ln t + 2.794$, $R^2 = 0.9655$,其中 $n = 0.32$ (< 0.5),属于 Fick 扩散控制药物释放。

表 4 FF-2-HP-β-CD-PLGA NPS 的体外释放拟合方程及相关系数

Table 4 Fitting equation and correlation coefficient of in vitro release of FF-2-HP-β-CD-PLGANPS

模型 Model	方程 Equation	R ²
零级动力学方程 Zero-order kinetic equation	$Q = 1.180t + 27.368$	0.801 5
一级动力学方程 First-order kinetic equation	$\ln(1 - Q/100) = -0.021 5t - 0.377 4$	0.953 0
Higuchi 方程 Higuchi equation	$Q = 8.879t^{1/2} + 14.594$	0.919 7
Ritger-peppas 方程 Ritger-peppas equation	$\ln Q = 0.17 \ln t + 2.794$	0.965 5 (n = 0.32)
Weibull 方程 Weibull equation	$\ln \ln(1/(1 - Q/100)) = 0.555 9 \ln t - 1.703 9$	0.717 4

3 讨论与结论

3.1 包封率测定方法的选定 本文采用改进的乳化-溶剂挥发法,以 PLGA 作为载体材料,PVA 为乳化剂,脂溶性氟苯尼考为模型药物,利用 2-HP- β -CD 对其进行修饰,以包封率作为评价纳米粒制备工艺的主要指标,选用合适的方法对其进行准确测定。包封率常用的方法有透析法,低温高速离心法、超滤法、微柱离心法、葡聚糖凝胶柱色谱法^[14]等。采用葡聚糖凝胶柱色谱法,此法利用具有网状结构的葡聚糖凝胶的分子筛作用,可将纳米粒胶体溶液中的大分子量纳米粒与小分子量游离药物完全分离。

3.2 PLGA 种类对包封率的影响 试验前期,本文首先考察了 PLGA 种类对 FF-2-HP- β -CD-PLGA NPs 包封率的影响,分别选用 LA/GA 为 50/50 与 75/25,分子量分别为 10000 与 20000 的 PLGA 制备纳米粒,结果当 LA/GA 比值相同时,分子量越大,包封率越高^[15]。当分子量较高时(分子量:20000),提高 LA 的比例,会使体系黏度过高,反而不利于药物的包封,导致包封率降低,因此本文选用 LA/GA 为 50/50,分子量为 20000 的 PLGA 进行单因素试验考察和正交试验设计。

3.3 2-HP- β -CD 加入方法对包封率的影响 在前面试验的基础上,考察了 2-HP- β -CD 的加入方法对包封率的影响。方法 1:先制备 FF/2-HP- β -CD 包合物,再与乳化剂混合作为水相^[16];方法 2:将 2-HP- β -CD 直接加入含有乳化剂的水相中混匀。结果发现方法 2 制备的纳米粒包封率较高,可能的原因是 2-HP- β -CD 与乳化剂的共同作用,提高了体系的稳定性和包封率^[17]。方法 1 中 FF 进入环糊精内腔形成包合物后,增强了 FF 在水中的分散性,难以进入疏水性载体材料中,造成其包封率偏低。随着 2-HP- β -CD 浓度的升高,FF-2-HP- β -CD-PLGA NPs 的包封率呈逐渐下降的趋势。这可能是因为当体系中 FF 为一定量时,2-HP- β -CD 的存在起到了助溶作用,用量越高,助溶效果越好,使其更容易向水相中分散^[8]。

3.4 体外释放结果 体外释放结果表明 FF-2-HP- β -CD-PLGA NPs 较 FF 原药有明显的缓释作用,且可持高浓度平稳释放。可能是由于纳米粒外层有 2-HP- β -CD 的保护,所以 FF 没有那么快从孔道中释放出来,这与文献中描述结果相符^[18]。所以当载体材料表面包覆一层亲水性物质如 2-HP- β -CD,可以避免纳米粒子的吸附或降解,延长了药物的循环时间,提高药物的溶解度与稳定性,控制药物的释放,达到更好的治疗效果。

3.5 结论 本试验选用亲水性材料环糊精修饰氟苯尼考 PLGA 纳米粒,通过单因素试验,正交试验优化筛选出最优处方为:PVA 浓度 2%,药物与 PLGA 用量比 1:15,药物浓度 2.0 mg·mL⁻¹,2-HP- β -CD 浓度为 1.5%。该处方制备的纳米粒的平均包封率为(82.02±0.82)%,体外释药具有缓释行为。

参考文献:

- [1] Graham R, Palmer D, Pratt B, *et al.* In vitro activity of florfenicol [J]. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 1998, 7 (5): 691-694.
- [2] 萧志梅. 氟苯尼考的临床应用及市场状况[J]. *中国兽药杂志*, 2000, 05: 53-54.
Xiao Z M. Clinical Application and Market Status of Florfenicol [J]. *Chinese Journal of Veterinary Drug*, 2000 (05): 53-54.
- [3] 王志霞,黎欣,武梦茹,等. 基于制剂新技术提高氟苯尼考溶解性的研究进展[J]. *动物医学进展*, 2020, 41(10): 91-95.
Wang Z X, Li X, Wu M R, *et al.* Progress on Improving the Solubility of Florfenicol Based on New Preparation Technology [J]. *Progress in Veterinary Medicine*, 2020, 41 (10): 91-95.
- [4] 周莉莉,邹蔓姝,乔勇,等. 多种材料共修饰纳米载体的研究进展[J]. *中国医药工业杂志*, 2018, 49(01): 38-44.
Zhou L L, Zou M S, Qiao Y, *et al.* Research Development of Co-modified Nanocarriers with Different Materials [J]. *Chinese Journal of Pharmaceuticals*, 2018, 49 (01): 38-44.
- [5] 李晶晶,郭曼曼,韩顺平,等. 共修饰冰片和叶酸的阿霉素聚酰胺-胺纳米给药系统的制备及体外评价[J]. *药学报*, 2015, 50(07): 899-905.
Li J J, Guo M M, Han S P, *et al.* Preparation and in vitro evaluation of borneol and folic acid co-modified doxorubicin loaded

- PAMAM drug delivery system[J]. *Acta Pharmaceutica Sinica*, 2015, 50 (07): 899-905.
- [6] 赵瑾, 袁泉, 蔡伟惠, 等. PEG 修饰小分子抗肿瘤药的研究进展[J]. *中国医药工业杂志*, 2015, 46(09): 1027-1033.
Zhao J, Yuan Q, Cai W H, *et al.* Research Progress in PEGylated Small Molecule Antitumor Drugs[J]. *Chinese Journal of Pharmaceutics*, 2015, 46 (09): 1027-1033.
- [7] Kirby stephanie M, Anna shelley L, Walker lynn M. Effect of surfactant tail length and ionic strength on the interfacial properties of nanoparticle - surfactant complexes [J]. *Soft matter*. 2017, 14(1): 1-38.
- [8] Loftsson T, Hreinsdottir D, Masson M. Evaluation of cyclodextrin solubilization of drugs[J]. *International Journal of Pharmaceutics*. 2005, 302(1-2): 18-28.
- [9] Zhang K, Tang X, Zhang J, *et al.* PEG - PLGA copolymers: Their structure and structure - influenced drug delivery applications[J]. *Journal of Controlled Release*. 2014, 183: 77-86.
- [10] 马骏一, 刘婷, 吕邵娃, 等. 丁香苦苷单体与丁香苦苷 PEG-PLGA 纳米粒在大鼠体内药动学比较研究[J]. *中医药信息*, 2015, 32(02): 27-31.
Ma J Y, Liu T, Lv S W, *et al.* Comparative Study on Pharmacokinetics on SYR and PEG - PLGA Nanoparticles of SYR in Rats [J]. *Information on Traditional Chinese Medicine*, 2015, 32 (02): 27-31.
- [11] 李木生, 王婴, 蒋梦玥, 等. 星点设计 - 效应面法优化羟基喜树碱长循环纳米粒的制备工艺[J]. *中药新药与临床药理*, 2018, 29(01): 85-90.
Li M S, Wang Y, Jiang M Y, *et al.* Optimization of Hydroxycamptothecin Long - circulation Nanoparticles Preparation by Central Composite Design - Response Surface Methodology [J]. *Traditional Chinese Drug Research and Clinical Pharmacology*, 2018, 29 (01): 85-90.
- [12] Li F, Wen Y, Zhang Y, *et al.* Characterisation of 2 - HP - beta - cyclodextrin - PLGA nanoparticle complexes for potential use as ocular drug delivery vehicles [J]. *Artificial Cells Nanomedicine and Biotechnology*. 2019, 47(1): 4097-4108.
- [13] 靳雯臻, 檀华进, 汪凯康, 等. 苦参碱固体脂质纳米粒的构建及包封率测定方法研究 [J]. *中国药理学杂志*, 2020, 55 (12): 1015-1020.
Jin W Z, Tan H J, Wang K K, *et al.* Construction of Matrine Solid Lipid Nanoparticle and Determination of Entrapment Efficiency [J]. *Chinese Pharmaceutical Journal*, 2020, 55 (12): 1015-1020.
- [14] 陈丽萍, 吴智敏, 杨畅, 等. 广藜香酮传递体包封率测定方法的筛选研究 [J]. *中南药学*, 2019, 17(11): 1864-1868.
Chen L P, Wu Z M, Yang C, *et al.* Screening of determination methods of encapsulation efficiency of pogostone transfersomes [J]. *Central South Pharmacy*, 2019, 17 (11): 1864-1868.
- [15] 邵晓婷, 张瑜, 郭择邻, 等. 载穿心莲二萜内酯有效部位的透明质酸 - 苯硼酸纳米粒的制备 [J]. *中成药*, 2019, 41 (11): 2553-2560.
Shao X T, Zhang Y, Guo Z L, *et al.* Preparation of hyaluronic acid - phenylboronic acid nanoparticles loaded with effective parts of *Andrographis paniculate* diterpene lactone [J]. *Chinese Traditional Patent Medicine*, 2019, 41 (11): 2553-2560.
- [16] 邓利斌, 欧阳五庆, 景俊年, 等. 氟苯尼考 - 2 - 羟丙基 - β - 环糊精包合物制备工艺 [J]. *武汉工业学院学报*, 2005, 24(01): 10-12, 15.
Deng L B, Ouyang W Q, Jing J N, *et al.* Optimization of the Preparative of inclusion compound of Florfenicol - 2 - hydroxypropyl - β - cyclodextrin and Identification of the Compound [J]. *Journal of Wuhan Polytechnic University*, 2005, 24 (01): 10-12, 15.
- [17] Vaidya B, Parvathaneni V, Kulkarni NS, *et al.* Cyclodextrin modified erlotinib loaded PLGA nanoparticles for improved therapeutic efficacy against non - small cell lung cancer [J]. *International Journal of Biological Sciences*. 2019, 122: 338-347.
- [18] Flores - Fernandez G M, Griebenow K. Glycosylation improves α - chymotrypsin stability upon encapsulation in poly (lactic - co - glycolic) acid microspheres [J]. *Results in Pharma Sciences*. 2012, 2: 46-51.

(编辑:陈希)