

文章编号 : 1004 - 7271( 2006 ) 01 - 0025 - 05

## 恩诺沙星微胶囊的制备及其抗紫外、 热稳定性的研究

胡 鲲, 杨先乐, 龚幼兰, 孙 晶

( 上海水产大学农业部渔业动植物病原库, 上海 200090 )

**摘 要** : 采用冷冻干燥法, 分别以羧甲基纤维素和淀粉为壁材, 制备恩诺沙星微胶囊制剂。抗紫外和热稳定性试验表明 : 以羧甲基纤维素和淀粉为壁材的恩诺沙星微胶囊均有抗紫外和热稳定性能。其中, 羧甲基纤维素与恩诺沙星、淀粉与恩诺沙星包埋质量比为 1:1、1:2 时, 微胶囊表现出显著的抗紫外作用(  $P < 0.05$  ), 羧甲基纤维素与恩诺沙星、淀粉与恩诺沙星包埋质量比为 2:1、1:1、1:2 时, 微胶囊表现出极显著的热稳定性(  $P < 0.01$  ), 羧甲基纤维素的抗紫外和热稳定性均优于淀粉, 但差异不显著。

**关键词** : 恩诺沙星, 微胶囊, 抗紫外, 热稳定性

中图分类号 S 948 文献标识码 : A

## Preparation of microencapsulation of enrofloxacin and analysis of anti-ultraviolet character & thermal stability

HU Kun, YANG Xian-le, GONG You-lan, SUN Jing

( Aquatic Pathogen Collection Center of Ministry of Agriculture, Shanghai Fisheries University, Shanghai 200090, China )

**Abstract** : By the freezing-drier, the microencapsulation of enrofloxacin enveloped by cellulose CM and starch were prepared. The anti-ultraviolet character and thermal stability of the microencapsulation were analyzed. The results showed that : the microencapsulation of enrofloxacin enveloped by both cellulose CM and starch had the potential to avoid being decomposed under the ultraviolet rays and the high temperature. Furthermore, the microencapsulation of enrofloxacin with cellulose CM and enrofloxacin in the mass ratio of 1:1 and 1:2 showed us the distinct diversity in anti-ultraviolet characters(  $P < 0.05$  ) while those with cellulose CM and starch in the ratio of 2:1, 1:1 and 1:2 showed us the particularly distinct diversity in the thermal stability(  $P < 0.01$  ). The anti-ultraviolet ability and the thermal stability of cellulose CM are superior to starch, in which the diversity is not distinctive.

**Key words** : enrofloxacin ; microencapsulation ; anti-ultraviolet ; thermal stability

相比农药、兽药丰富多样的剂型, 目前我国渔药剂型不但种类单一, 而且还停留在以传统的粉剂、水剂第一代剂型为主的阶段。这些渔药剂型在生产中暴露出一系列的缺陷 : 释放不稳定、易损失、利用率不高及抗逆性差( 比如光、热等 ) 等<sup>[1]</sup>。微胶囊( microencapsulation ) 是将分散均匀的固体颗粒、液滴或气体完全封装在囊壁壁材中的一项新型技术, 通过形成直径约为 5 - 500 微米的微小胶囊<sup>[1,2]</sup>。微胶囊具有良好的溶解分散、缓释、抗外界干扰等性能, 成为备受关注的三大控释系统之一<sup>[2-4]</sup>, 被广泛地应用

收稿日期 2005-07-21

基金项目 : 上海市教委青年基金项目( 03 - 129 ), 上海市重点学科建设项目( Y1101 )

作者简介 : 胡 鲲( 1976 - ) 男, 湖北沙市人, 讲师, 在读博士, 主要从事微生物、水产品质量等方面的研究。E-mail : khu@shfu.edu.cn

于医药、化工、生物、食品和饲料等众多领域。目前微胶囊制剂在水产养殖领域主要应用于水产饲料<sup>[5]</sup>和渔用疫苗<sup>[6]</sup>上,关于渔药微胶囊的研究报道极少,也未见商品化的渔药微胶囊制剂<sup>[1]</sup>。恩诺沙星(enrofloxacin,简称ENR)是一种吡酮酸衍生物(pyridonecarboxylic acid),通过抑止细菌DNA螺旋酶而达到抑菌的效果<sup>[7]</sup>。ENR在水产和畜牧中广泛使用。QNs类药物对外界环境(光、热等)敏感,易被降解<sup>[8-10]</sup>。本文采取冷冻干燥的方法,以淀粉和羧甲基纤维素(CMC)为壁材,制备ENR微胶囊制剂,并对其抗紫外性能和热稳定性进行了评价。期望通过本研究,对渔药新型微胶囊新剂型的开发作出尝试,并通过微胶囊制剂控制渔药稳定释放、提高药物利用效率、降低药物使用量,从而独辟蹊径地达到保障水产品安全的目的。

## 1 材料与方法

### 1.1 仪器和试剂

SAVANT Novalyph-NL150型冷冻干燥机,Agilent 1100高效液相色谱仪,MICROSON超声波破碎仪,SANYO烘箱。ENR原料药纯度高于99%,购自浙江新昌国邦兽药厂。柠檬酸、醋酸铵、三乙胺、可溶性淀粉、CMC为国产化学纯试剂,甲醇为国产色谱纯试剂。

### 1.2 ENR微胶囊的制备

将ENR分别与淀粉、羧甲基纤维素按照一定比例混合,配制成40%的水溶液,振荡15 min, -40℃抽真空冷冻干燥,制备ENR微胶囊样品。

### 1.3 ENR的测定

配置不同浓度梯度的ENR标准溶液,上高效液相色谱仪(HPLC),以浓度( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )为横坐标,以峰面积为纵坐标制作ENR标准曲线。色谱条件为:RP-ODS C18柱(15 cm  $\times$  4.6 mm, 5  $\mu\text{m}$ );流动相:0.05 mol/L柠檬酸+0.01 mol/L醋酸铵(三乙胺调pH4.5):甲醇=75:25(v/v);波长:278 nm;流速1.5 mL/min,柱温40℃,进样量为10  $\mu\text{L}$ 。

### 1.4 抗紫外效果试验

以ENR原料药剂为对照组(CK),ENR微胶囊制剂为实验组。样品置于40 W紫外灯(垂直距离60 cm)下照射。将样品溶于蒸馏水,超声波破碎仪处理10 min。利用1.3方法测定ENR浓度变化。重复三次。

### 1.5 热稳定性试验

样品置于60℃恒温烘箱中处理后,溶于蒸馏水,超声波破碎仪处理10 min。利用1.3方法测定ENR浓度变化。重复三次。

## 2 结果

### 2.1 ENR微胶囊的制备

以CMC为壁材,ENR与CMC的质量比分别为2:1、1:1和1:2,制备ENR微胶囊制剂:样品A、样品B、样品C。以淀粉为壁材,ENR与淀粉的质量比分别为2:1、1:1和1:2,制备ENR微胶囊制剂:样品D、样品E、样品F。ENR微胶囊呈乳白色,粉末细腻均匀,溶解性能良好。

### 2.2 ENR标准曲线的制作

HPLC法测定ENR,基线走势平稳,ENR的保留时间约为9.4 min,药峰与杂质峰分离良好(图1),其标准曲线方程为 $y = 0.0923x + 0.0238$ ,相关系数为0.9788。

### 2.3 ENR 微胶囊抗紫外性能

根据 ENR 微胶囊中囊心和壁材的混合比例换算 ENR 浓度。随着紫外光处理时间的增加,ENR 被降解,CK、以 CMC 为壁材的 ENR 微胶囊(图 2)和以淀粉为壁材的 ENR 微胶囊(图 3)中 ENR 浓度越来越低。当紫外光处理样品 480 min,CK 中 ENR 浓度下降到 62.4 μg/mL,样品 A、样品 B 和样品 C 中 ENR 的浓度分别下降到 71.2 μg/mL、75.9 μg/mL 和 84.3 μg/mL;样品 D、样品 E 和样品 F 中 ENR 的浓度分别下降到 74.1 μg/mL、72.9 μg/mL 和 80.3 μg/mL。与 CK 相比,样品 B、样品 C、样品 E 和样品 F 抗紫外作用显著( $P < 0.05$ )。其中样品 C 和样品 F 抗紫外作用极其显著( $P < 0.01$ )。样品 A 和样品 D 有抗紫外作用但差异不显著。样品 C 比样品 F 抗紫外效果好,但差异不显著。

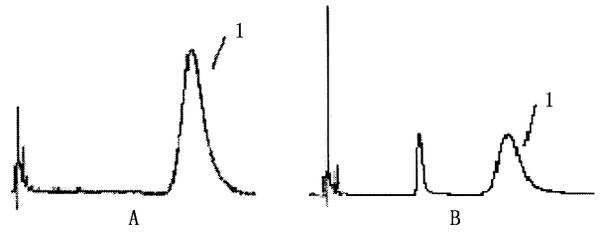


图 1 恩诺沙星色谱图

Fig.1 The chromatography of ENR

A. ENR 原料药; B. 部分降解的 ENR; 峰 1 为 ENR 药物峰

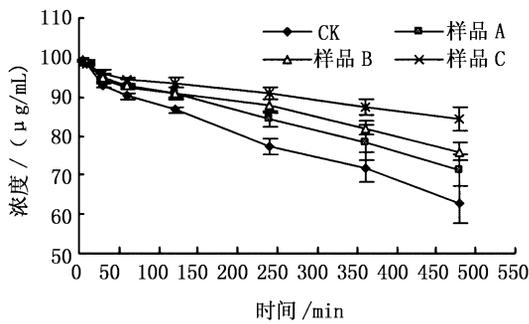


图 2 CMC 微胶囊抗紫外效果

Fig.2 The anti-ultraviolet character of ENR microencapsulation enveloped by CMC

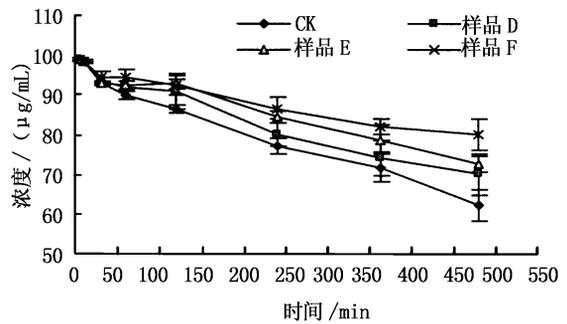


图 3 淀粉微胶囊抗紫外效果

Fig.3 The anti-ultraviolet character of the ENR microencapsulation enveloped by starch

### 2.4 ENR 微胶囊的热稳定性

随着热处理时间的增加,ENR 被降解,CK、以 CMC 为壁材的微胶囊(图 4)和以淀粉为壁材的微胶囊(图 5)中 ENR 浓度越来越低。当 ENR 微胶囊在 60 °C 处理 240 min,CK 中 ENR 浓度下降到 42.9 μg/mL,样品 A、样品 B 和样品 C 中 ENR 的浓度分别下降到 61.9 μg/mL、69.0 μg/mL 和 73.2 μg/mL;样品 D、样品 E 和样品 F 中 ENR 的浓度分别下降到 56.9 μg/mL、62.5 μg/mL 和 69.4 μg/mL。与 CK 相比,样品 A、样品 B、样品 C、样品 D、样品 E 和样品 F 均表现出极其显著的热稳定性( $P < 0.01$ )。样品 C 比样品 F 热稳定性好,但差异不显著。

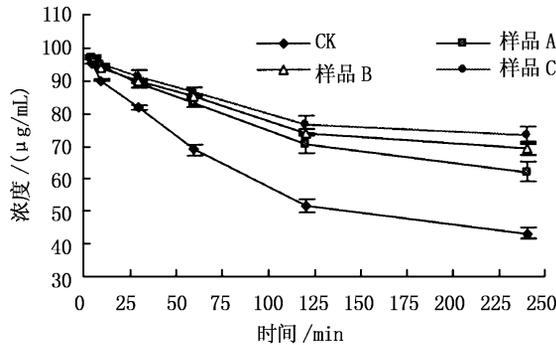


图 4 CMC 微胶囊热稳定性

Fig.4 The thermal stability of ENR microencapsulation enveloped by CMC

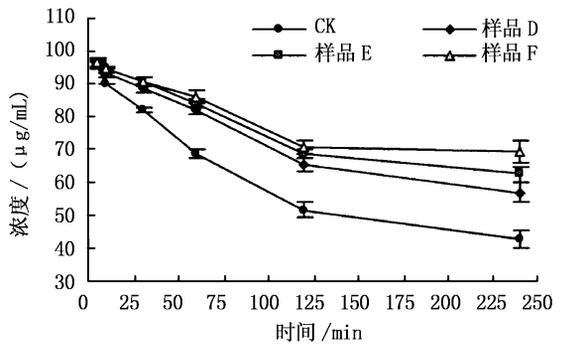


图 5 淀粉微胶囊热稳定性

Fig.5 The thermal stability of ENR microencapsulation enveloped by starch

## 3 讨论

### 3.1 渔药微胶囊制剂的前景

不同于粉剂、水剂等传统的一元剂型,微胶囊作为新型的二元剂型具有缓释、保护囊心(药物)等作用,特别适合水产养殖实践环境中使用。但目前微胶囊制剂应用于渔药中尚鲜有大规模的应用的报道。祝万菊等<sup>[11]</sup>发现恩诺沙星缓释剂能显著提高药物在猪体内的生物利用度。通过药物缓释达到提高药物的生物利用度和抗逆性等成为人们的共识。在人们越来越关注包括水产品在内的食品安全的今天,通过开发渔药新剂型达到提高药效、降低药物用量对保障水产品安全显现出特别的意义。

### 3.2 微胶囊的制备

微胶囊制剂的制备方法种类繁多,大致分为三类:化学法、物理法和物理化学法。化学法主要利用单体小分子发生聚合反应生成高分子包埋药物,比如界面聚合法、原位聚合法等;物理法利用物理和机械原理的方法制备微胶囊,如喷雾干燥法、空气悬浮法、冷冻干燥法等;物理化学法是通过改变温度、pH值、电解质等使溶解状态的壁材从溶液中聚沉下来,并包埋药物形成微胶囊,如复凝聚法、水相分离法、油相分离法等<sup>[2,4]</sup>。

选择微胶囊制备方法,需要综合考虑目标药物的理化性质(如分子极性、分子量、聚合度等)适用对象、经济成本等多方面因素,选择合适的微胶囊壁材和制备方法,而不能一概而论。其中,壁材的性质、制备方法的参数(比如制备温度、流速、真空度等)对微胶囊颗粒大小、缓释性能、抗逆性能等关键指标具有决定性的影响作用<sup>[3]</sup>。

本文借鉴食品、化工等行业较为成熟的微胶囊技术平台,选取具有代表性和特殊意义的 ENR 为模式药物,在实验室条件下以制备效率高的冷冻干燥法制备 ENR 微胶囊制剂,并成功取得产品。试验结果表明:该制备方法稳定可靠、安全(不需高温、强电流等)、可控性强(只需控制冷冻温度和真空度两个参数)、制备效率较高,制备得到的 ENR 微胶囊制剂细腻均匀,可溶性好,且具有较强的抗紫外和热稳定性,达到了试验的目的,符合水产实践生产中对渔药的应用要求。

### 3.3 微胶囊壁材的选择

微胶囊壁材的选择关系到微胶囊产品的主要性能指标,常用的微胶囊壁材可以分为天然型、半成型和合成型三类<sup>[2]</sup>。本文选择 CMC 和淀粉分别属于半成型的纤维素类衍生物和天然型的多糖,两者均无毒、对光热稳定,其高分子的聚合空间构造使其有良好的吸附、包埋性能,具有提高溶解性、控制缓释和抗逆的作用,因而作为剂型添加剂被广泛使用<sup>[12]</sup>。另外,两种均来源极为广泛、成本低廉:前者可以由木屑<sup>[13]</sup>、豆腐渣、棉花杆<sup>[14]</sup>等农产品废料加工而来,成本低廉,后者可为农产品废料。更为重要的是,CMC 和淀粉能在天然环境下降解且无二次污染,不会对水产品产生潜在的安全性问题,适于在水产生产中大规模使用<sup>[15]</sup>。

### 3.4 检测方法的选择

对 ENR 等 QNs 类药物的常用检测方法有紫外分光光度法、HPLC 法和酶联免疫法(ELISA)等。QNs 类药物在光热等条件下的降解产物均为同系物<sup>[9,16]</sup>,它们具有相同或相近的紫外特征吸收峰,因此在紫外分光光度法中降解产物会干扰对目标药物的分析;此外考虑到便捷性和经济性的因素,本文采取 HPLC 方法定性定量检测 ENR,实践该测定方法能够满足测定要求。

### 3.5 微胶囊制剂的抗逆(抗紫外和热稳定性)

提高渔药的抗逆性,特别是对光热的影响是提高渔药药效的关键。在光热等条件下,QNs 类药物容易降解<sup>[9,16]</sup>。ENR 作为一种新型的 QNs 类药物,其在光热等条件下降解的尚未见报道。本研究显示:ENR 不论作为原料药还是在微胶囊制剂中均对光热敏感,且降解程度与处理时间成正相关。这与其它 QNs 类药物的稳定性性质一致<sup>[9,16]</sup>。

### 3.5.1 微胶囊与粉剂比较

本研究结果证明 ENR 的微胶囊制剂与其原料药粉剂相比,能明显地降低 ENR 对紫外线和热的敏感性,具有缓解 ENR 降解的目的。其中制备的部分样品差异显著。其原因是 ENR 微胶囊通过壁材包埋囊心(ENR),微胶囊壁材通过反射、散射、折射、溶解等物理作用,有效地减少了光热等外界环境因素对囊心(ENR)的直接作用,保护了囊心,减少了 ENR 降解的损失。另外,这些壁材的聚合空间结构也是降低药物对外界环境敏感性的重要原因之一。

### 3.5.2 微胶囊壁材之间的比较

壁材的极性、分子量、空间构象及其与囊心包埋的比例等因素决定了微胶囊制剂的理化性能。本文以具有代表性的淀粉和 CMC 为壁材,按照不同的包埋比例制备微胶囊。研究表明,淀粉和 CMC 为壁材的 ENR 微胶囊具有不同的抗紫外和热稳定性效果,其中 CMC 的效果好于淀粉,但差异不显著。CMC 是一种半合成的高分子聚合物,空间结构均匀统一,具有明显的缓释作用;淀粉是一种天然的高分子聚合物,有直链和支链两种空间构形,是一种常用的药物包埋剂。邓岳松<sup>[5]</sup>就利用 CMC 制备微胶囊饲料提高鳊鱼仔鱼存活率。

微胶囊中的包埋的囊心(药物)通过溶解、渗透或扩散等过程,透过囊壁释放出来,其释放速度通过囊壁壁材的化学成分、厚度、硬度、孔径大小等加以控制<sup>[2-4]</sup>。微胶囊囊心的释放分为三个阶段,即初始释放阶段、过渡释放阶段和平衡阶段<sup>[3]</sup>,囊心的释放速度越来越慢。ENR 作为囊心被释放后才被紫外光或热降解。本研究结果表明微胶囊的抗紫外性能和热稳定性与囊心和壁材的比例有关:在一定的比例范围内,随着囊心与壁材的比例的降低,囊心释放的速度越慢,抗紫外和热稳定效果也越好。这一点也符合张健等<sup>[8]</sup>提出的胶囊制剂能有效阻碍 QNs 热氧化降解的报道。该结论能为我们制备渔药微胶囊制剂的工艺设计提供参考。

### 参考文献：

- [1] 窦海鸽,刘彦,明召华.微胶囊技术在水产养殖上的应用[J].饲料与营养,2004,3(18):20.
- [2] 田云,卢向阳,何小解,等.微胶囊制备技术及其应用研究[J].科学技术与工程,2005,5(1):44-47.
- [3] 谈金辉,刘文涵,单胜艳.药物微胶囊技术及其应用[J].天津化工,2003,17(6):4-7.
- [4] 李志强,任彦荣.微胶囊技术及其应用研究进展[J].化学推进剂与高分子材料,2004,2(6):19-31.
- [5] 邓岳松.鳊鱼仔鱼微型胶囊饲料的初步研究[J].水产科技,2001,20(5):8-10.
- [6] 余俊红,纪伟尚.鲈鱼口服生物胶囊疫苗的研究[J].高技术通讯,2001,11(3):15-18.
- [7] 杨先乐.新编渔药手册[M].北京:中国农业出版社,2005.
- [8] 张健,陈栋华,袁誉洪,等.喹诺酮类药物的热稳定性及春热分解非等温动力学研究[J].药学学报,2000,35(6):445-450.
- [9] 胡昌勤,谷道昭,常桂兰,等.喹啉羧酸类喹诺酮抗生素的光促反应特性[J].药学学报,1999,34(11):848-853.
- [10] 饶春意.氟罗沙星溶液光降解反应机理的探讨[J].中国药品标准,2003,4(6):39-41.
- [11] 祝万菊,邓旭明,张艳萍,等.恩诺沙星缓释溶液在猪体内的药物动力学及生物利用度[J].吉林农业大学学报,2003,25(3):335-338.
- [12] 邓岳松.鱼用含鞣酐的明胶-羧甲基纤维素钠微囊制剂[J].吉首大学学报,2001,22(4):23-28.
- [13] 夏士册.用木屑制备羧甲基纤维素[J].淮阴师范学院学报(自然科学版),2004,3(3):236-239.
- [14] 赵龙涛,李入林.用棉花杆制备羧甲基纤维素[J].河南化工,2002,(4):18-20.
- [15] 杨芳,黎钢,宋晓峰,等.羧甲基纤维素-丙烯酰胺接枝共聚最佳条件的研究[J].纤维素科学与技术,2004,12(2):28-34.
- [16] 白政忠,张球生,盛龙生.喹诺酮类抗菌药光降解动力学及光降解物研究进展[J].中国药事,2000,14(5):322-325.