

## 恩诺沙星纳米混悬注射剂的制备及在猪体内药动学研究

余鹏灵<sup>1</sup>,陈良柱<sup>2</sup>,潘志坤<sup>2</sup>,周巧仪<sup>1</sup>,王 琴<sup>1</sup>,方炳虎<sup>1\*</sup> (1.华南农业大学 国家残留基准实验室,广东 广州 510642;2.广东温氏大华农生物科技有限公司,广东 新兴 527400)

**摘要:**采用高压均质法制备恩诺沙星纳米混悬注射剂并对其制备工艺和质量进行考察、评价;采用高效液相色谱法测定猪血浆中恩诺沙星的浓度,以拜有利注射剂为参照考察恩诺沙星纳米混悬注射剂在猪体内的药动学。结果显示:制备的恩诺沙星纳米混悬注射剂,恩诺沙星的含量为97.9%,平均粒径为(613.21±5.78) nm,PDI(0.22±0.02)、Zeta 电位为-2.02 mV。恩诺沙星纳米混悬注射剂和拜有利注射剂在猪体内的达峰浓度(C<sub>max</sub>)分别为(0.32±0.12)、(0.67±0.09) mg/L,达峰时间(T<sub>max</sub>)分别为(2.88±0.96)、(0.79±0.26) h,消除半衰期(t<sub>1/2ke</sub>)分别为(5.99±1.37)、(4.49±1.25) h,AUC<sub>last</sub>分别为每小时(4.63±1.30)、(4.40±0.45) mg/L,MRT<sub>last</sub>分别为(9.59±2.34)、(5.41±1.10) h;与拜有利注射剂相比,恩诺沙星纳米混悬注射剂相对生物利用度为105.2%。结论:高压均质法制备的恩诺沙星纳米混悬注射剂操作简单、不易沉降、再分散性好,理化性质较稳定;与拜有利注射剂相比其T<sub>max</sub>、t<sub>1/2k</sub>明显增加(P<0.01),MRT显著延长(P<0.01)表明恩诺沙星纳米混悬注射剂具有明显缓释作用且消除缓慢。

**关键词:**高压均质法;恩诺沙星;纳米混悬注射液;药动学

中图分类号:S859.79 文献标志码:A 文章编号:1005-4545(2017)08-1534-06

DOI:10.16303/j.cnki.1005-4545.2017.08.18

## Preparation of enrofloxacin nanosuspension injection and its pharmacokinetics in swine

YU Peng-ling<sup>1</sup>, CHEN Liang-zhu<sup>2</sup>, PAN Zhi-kun<sup>2</sup>, ZHOU Qiao-yi<sup>1</sup>, WANG Qin<sup>1</sup>, FANG Bing-hu<sup>1\*</sup>  
(1. National Reference Laboratory of Veterinary Drug Residues, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China; 2. Guangdong Wens Dahuanong Biotechnology Co., Ltd., Xinxing, Guangdong 527400, China)

**Abstract:** The aim of the study was to prepare enrofloxacin nanosuspension injection and evaluate its pharmacokinetics after giving a single intramuscular injection. The high pressure homogeneous technique was used to prepare enrofloxacin nanosuspension injection and preliminary evaluation of the quality was done. The high performance liquid chromatography (HPLC) method was used to determinate content of enrofloxacin in pig plasma. And the pharmacokinetic characteristics of enrofloxacin nanosuspension injection were compared with Baytril injection. The content of enrofloxacin in this preparation is 97.9%. The average particle size of enrofloxacin nanosuspension injection was (613.21±5.78) nm, PDI was (0.22±0.02) and the potential was -2.02 mV. Maximal plasma concentrations were (0.32±0.12) and (0.67±0.09) mg/L after i.m administration with enrofloxacin nanosuspension injection and Baytril injection. The peak times were (2.88±0.96) and (0.79±0.26) hours, respectively. Mean elimination half-lives were (5.99±1.37) and (4.49±1.25) hours, respectively. Areas under concentration-time curve were (4.63±1.30) and (4.40±

收稿日期:2017-03-02

基金项目:国家自然科学基金资助项目(31372479)

作者简介:余鹏灵(1990-),女,硕士。

\* 通讯作者, E-mail: fangbh@scau.edu.cn

0.45) mg/L·h, respectively. Mean residence times were (9.59±2.34) and (5.41±1.10) hours, respectively. The relative bioavailability of enrofloxacin nanosuspension injection was 105.2%. The preparation method of high pressure homogeneous was simple and good reproducibility. Enrofloxacin nanosuspension injection was characterized by non-sedimentation, easy-redispersion, relatively stable. Comparing with Baytril injection, enrofloxacin nanosuspension injection had a certain slow-release effect, showing slower elimination than enrofloxacin injection.

**Keywords:** enrofloxacin; nanosuspension injection; pharmacokinetics

\* Corresponding author, E-mail: fangbh@scau.edu.cn

恩诺沙星(enrofloxacin, 乙基环丙氟哌酸)是首个畜禽专用氟喹诺酮类药物,具有抗菌谱广、杀菌活性强、体内分布广泛、与其他抗菌药物无交叉耐药性等特点<sup>[1-2]</sup>,因此被广泛应用于畜禽细菌性疾病治疗。目前,恩诺沙星主要有注射剂、粉剂、混悬剂、溶液剂等剂型。普通口服制剂由于难掩恩诺沙星苦味,直接投喂给猪易拒食,导致药物摄入量降低而影响药效。此外,当动物患重症细菌性疾病时,往往食欲下降,混饲、饮水给药都很难奏效,此时注射给药是首选,由于恩诺沙星半衰期较短,临床多采用多次、连续给药<sup>[3]</sup>,但频繁给药不仅耗费人力和时间,还会对动物造成较大应激刺激。

纳米混悬剂是以少量表面活性剂为稳定剂,将纳米尺度的药物粒子分散在水中形成的稳定胶体分散体系。与微米粒子系统相比,纳米混悬剂具有以下优点:纳米混悬剂的药物粒子粒径小、载药量高,能增加药物的溶出速率和饱和溶解度;纳米粒子使体内黏膜组织黏附性增加,因此可延长药物在体内的滞留时间,提高药物的生物利用度<sup>[4]</sup>;增加药物分子的物理稳定性,很大程度上可避免 Ostwald 陈化<sup>[5]</sup>。可将纳米混悬剂通过冷冻干燥或喷雾干燥等后处理工艺进行固化,使得纳载药量增加,从而减少治疗用药量,不仅节约了药物制作成本,且能达到相同甚至更优的疗效,甚至效果更优;处方中表面活性剂含量很少,大大降低了注射给药时附加成分所造成的刺激性和毒副作用。

本试验采用高压均质法制备恩诺沙星纳米混悬注射剂,方法简单,重现性好,粒径分布均匀,较稳定。同时对纳米混悬注射剂在猪体内的药动学进行研究,考察其在猪体内的吸收、分布和消除规律等药动学特征,为纳米混悬新制剂的研发和使用提供依据。

## 1 材料与方法

**1.1 仪器** NanoGenizer实验型高压均质机,苏州微流纳米生物技术有限公司; Nicomp380 Z3000激光粒度仪,苏州微流纳米生物技术有限公司; 恒温磁力加热搅拌器,上海梅颖浦仪器仪表制造有限公司; 1525型高效液相色谱仪(包括 Empower系统和2475型检测器),美国 Waters公司; AG204型精密电子分析天平,瑞士 Mettler公司。

**1.2 试剂** 恩诺沙星标准品(含量为99.5%,批号:H0080807),购自中国兽医药品监察所;恩诺沙星原料药(干燥品含量为97.0%,批号:20100802),购自浙江园邦药业有限公司;拜有利注射液(2.5%,含量为99.3%,批号:4607023120102),购自上海育播宠物用品有限公司;恩诺沙星纳米混悬注射剂(2.7%,含量为97.9%),自制;泊洛沙姆188,购自北京索莱宝科技有限公司;大豆卵磷脂,购自上海源聚生物科技有限公司;丙三醇(分析纯)乙腈(色谱级)、甲醇(色谱级),均购自美国 Thermo Fisher公司;试验用水由 Milli-Q超纯水系统制造。其他试剂为国产分析纯或化学纯试剂;

**1.3 实验动物** 健康杜长大三元杂交猪12头,购于广东从化某猪场,平均体质量(23.0±4.5)kg,公母各半。给药前正常饮食、饮水,并保证饲料和饮水中不含有任何药物,临床观察2周,表现正常进入试验。试验前16h及给药后4h内禁食,仅自由饮水。

**1.4 恩诺沙星纳米混悬注射剂的制备** 采用高压均质法制备恩诺沙星纳米混悬注射剂,以大豆卵磷脂及泊洛沙姆188作为表面活性剂,将处方量的恩诺沙星原料药分散于含有表面活性剂的溶液中。采用高速分散机(转速:12.0×1000 r/min),粉碎15 min,得到粗混悬液;将制备好的粗混悬液通过高压均质机进行均质(压力及循环次数依次为:300

bar 循环 3 次,600 bar 循环 3 次,1 000 bar 循环 15 次)即可获得恩诺沙星纳米混悬剂。

### 1.5 处方筛选及工艺优化

**1.5.1 表面活性剂的初步筛选** 按照原料药与表面活性剂的常用比例(1:20~20:1)考察羟丙甲纤维素,司盘 80,泊洛沙姆 188,407,聚乙烯醇 1788,AH26,聚乙二醇 4000,6000,阿拉伯树胶,大豆卵磷脂,EL-40,RH-40,吐温 80,异辛酸甘油酯,十二烷基硫酸钠,十二烷基磺酸钠等常用表面活性剂对恩诺沙星纳米混悬注射剂的质量及稳定性影响。将初步筛选的表面活性剂复配使用,考察纳米混悬注射剂粒径,均一状态;与表面活性剂单独使用时进行比较,优化处方。

**1.5.2 工艺优化** 将优化后的处方分别在 300,600,1 000 bar 压力下高压均质制备恩诺沙星纳米混悬注射剂,循环次数为 3,5,10,15,20,25 时取样,以粒径与多分散系数为指标,考察不同均质压力与均质次数对纳米粒制备结果的影响。

### 1.6 质量评价

**1.6.1 外观性状及 pH 值测定** 眼观纳米混悬注射剂外观性状,并用 PHS-2C 型数字酸度计测定纳米混悬注射剂的 pH 值。

**1.6.2 沉降体积比测定** 参照《中国兽药典》(2000 版)附录 12 进行观察。沉降体积比  $F=H/H_0$  ( $H_0$  为混悬物开始的高度, $H$  为静置一段时间后混悬物的高度)。

**1.6.3 重分散性试验** 将混悬剂置于 100 mL 量筒内,放置沉降,堵塞,量筒倒置后再翻正过来(一反一正算 1 次,翻动时用力均匀),观察量筒底部的沉降物是否消失。

**1.6.4 粒径、Zeta 电位的测定** 取恩诺沙星纳米混悬注射剂适量,用蒸馏水稀释 20 倍后利用马尔文 Mastersizer 2000E 激光粒度仪测定其平均粒径、多分散系数(PDI)、粒径分布情况及 Zeta 电位。

### 1.7 稳定性试验

**1.7.1 高温试验** 按处方制备 3 批供试品,将其置密封洁净容器中,在 40℃、RH(90%±5%)(25℃)放置 10 d,于 0,5,10 d 取样检测。

**1.7.2 强光照射试验** 按处方制备 3 批供试品(置于棕色瓶),将其置有日光灯的光照箱内,于强度(4 500±500)lx 条件下放置 10 d,于 0,5,10 d 取样检测。

**1.7.3 加速试验** 取拟上市包装 3 批供试品在(40±2)℃、RH(75±5)%条件下放置 6 个月,于试验后第 0,1,2,3,6 个月末取样,检测外观、pH 值、含量

是否发生显著变化。

### 1.8 恩诺沙星纳米混悬注射剂在猪体内的药动学

**1.8.1 HPLC 条件** 色谱条件 色谱柱:Phenomenex C18(250 mm×4.6 mm,5 μm);流动相: $V_{乙腈}:V_{甲醇}:V_{水溶液}$ (含 0.4%三乙胺和 0.4%磷酸)=16:3:81,流速:0.8 mL/min,柱温:25℃。荧光检测器:激发波长( $\lambda_{ex}$ ):280 nm,发射波长( $\lambda_{em}$ ):450 nm。进样量:10 μL。在此色谱条件下,各辅料对恩诺沙星的测定无干扰。

**1.8.2 溶液的制备** 恩诺沙星标准储备液:准确称取恩诺沙星标准品 10.05 mg 置于 10 mL 棕色容量瓶中,加入适量 1 mol/L 氢氧化钠溶液溶解,甲醇定容至 10 mL 制备成 1 g/L 标准储备液,-20℃密封保存。临用前用流动相稀释成所需浓度。

**1.8.3 动物试验** 采用正交对照设计进行恩诺沙星在猪体内的药物动力学研究。健康杜长大三元杂交猪 12 头,平均体质量(23.0±4.5) kg,公母各半,随机分为两组。分别按 2.5 mg/kg b.w.单剂量颈部肌肉注射 2.7%恩诺沙星纳米混悬注射剂和 2.5%拜有利注射剂。给药后分别于 5,15,30,45 min 及 1,1.5,2,3,4,5,6,8,10,12,24,36,48 h 采集血液。每次采集血液约 3 mL,置于含肝素钠的离心管中混匀,4 000 r/min 离心 10 min,分离血浆,-20℃保存备用。

**1.8.4 样品处理** 准确吸取血浆样品 0.5 mL,加入 0.5 mL 甲醇,涡旋混合 1 min。12 000 r/min 离心 10 min,吸取上清液,过 0.22 μm 有机滤膜,经 HPLC 分析。

**1.8.5 标准曲线** 准确吸取空白血浆 0.5 mL,加入适量的恩诺沙星标准工作液,制得质量浓度为 0.025,0.05,0.1,0.2,0.5,1,2,5,10 mg/L 的系列添加样品,按照 1.8.4 方法处理,对其进行线性回归分析。

**1.8.6 数据处理** 采用药动学软件 Winnonlin5.2.1 的非房室模型对药动数据进行处理,计算出每头实验猪的药动学参数,然后计算  $\bar{x}$  及  $s$ 。

## 2 结果

**2.1 处方筛选** 经初步筛选,大豆卵磷脂,泊洛沙姆 188,407,异辛酸甘油酯,聚乙二醇 4000,6000,阿拉伯树胶制备的纳米混悬剂无絮凝现象,粒径相对较小,符合制备要求。将初步筛选的表面活性剂复配使用,结果发现纳米混悬注射剂质量及稳定性效果较表面活性剂单独使用好,其中大豆卵磷脂与泊

洛沙姆 188 复合制备的纳米混悬注射剂粒径最小, 状态均一, 放置 3 个月后观察, 仍可均匀分散。

**2.2 制备工艺优化** 采用逐步加压, 以提高粒径的均一性以及节约能源。经均质条件优化, 在低压 300 bar 循环 3 次, 中压 600 bar 循环 3 次, 高压 1 000 bar 循环 15 次制得的恩诺沙星纳米混悬注射剂, 粒径最小, 粒径分布较集中, 粒径约为 610 nm, 随着均质压力和均质次数的增加, 粒径无明显变化。

### 2.3 质量评价

**2.3.1 外观性状及酸碱度** 恩诺沙星纳米混悬注射剂外观呈乳白色, 均匀分散。用酸度计测定其

pH 为 7.01, 在注射剂要求的 pH 范围内(4~9)。

**2.3.2 沉降体积比** 恩诺沙星纳米混悬注射剂放置 45 min 未见分层, 放置 3 h 后, 沉降体积比为 0.96, 24 h 后沉降体积比为 0.90。

**2.3.3 重分散性试验** 将 100 mL 恩诺沙星纳米混悬注射剂置于 100 mL 量筒内, 放置沉降, 密塞。24 h 后, 均匀翻动 2 次, 底部沉降物即消失。

**2.3.4 粒径、Zeta 电位** 粒度分析结果表明: 恩诺沙星纳米混悬注射剂的平均粒径为 613 nm(图 1), PDI 为 0.22, 粒径分布范围较窄, 基本呈正态分布; Zeta 电位为 -2.02 mV(图 2)。

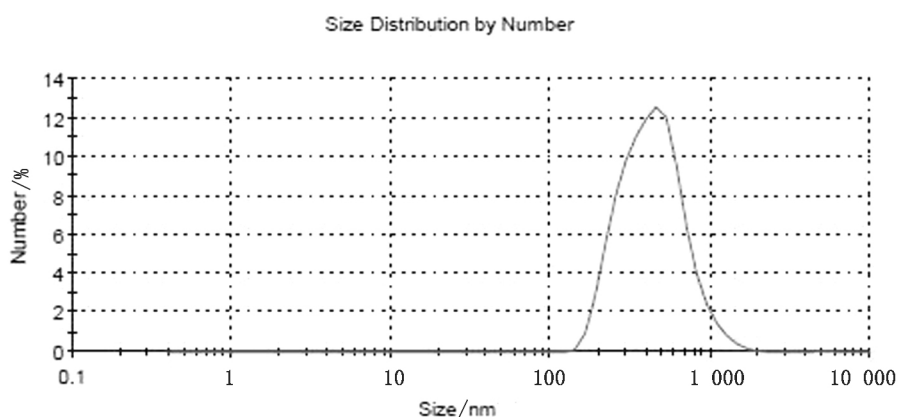


图 1 恩诺沙星纳米混悬注射剂平均粒径分布

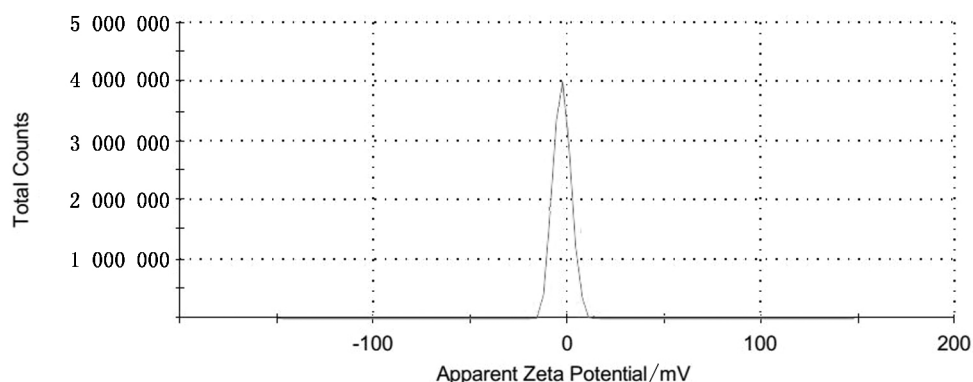


图 2 恩诺沙星纳米混悬注射剂 Zeta 电位

**2.4 稳定性试验** 高温试验结果显示, 在 40℃ 条件下, 3 批样品外观均未见异常、含量无明显变化(含量变化 < 5%);

强光照射试验结果显示, 在 (4 500 ± 500) lx 的强光下, 3 批样品(置于棕色瓶)外观均未见异常、含量无明显变化(含量变化 < 5%);

经加速试验后, 3 批样品外观均无明显变化, 恩

诺沙星的含量分别下降 0.9%, 1.3%, 2.1%, 无明显变化(含量变化 < 5%);

### 2.5 恩诺沙星纳米注射混悬剂在猪体内的药动学

**2.5.1 标准曲线** 恩诺沙星在 0.025~10 mg/L 范围内, 线性关系良好, 相关系数均大于 0.999 ( $r = 0.9995 \sim 0.9997$ )。在方法 1.8.1 条件下测定, 恩诺沙星的检测限为 0.025 mg/L, 定量限为 0.05 mg/L

L。

2.5.2 恩诺沙星在猪血浆中药时曲线及药动参数  
单剂量肌肉注射恩诺沙星纳米混悬注射剂和拜有利注射剂后,药时曲线见图3,药动学参数见表2。

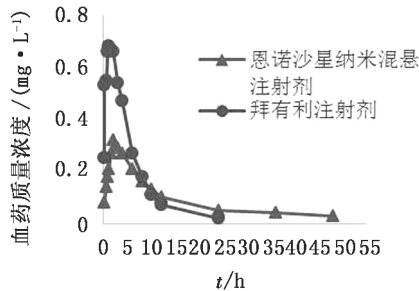


图3 猪肌注恩诺沙星纳米混悬注射剂和拜有利注射剂血药浓度—时间曲线图

表2 猪肌注恩诺沙星纳米混悬注射剂和拜有利注射剂(2.5 mg/kg)的主要药动学参数

参数	参数值( $\bar{x} \pm s, n=12$ )		t 检验 P
	纳米混悬注射剂	拜有利注射剂	
Tmax/h	2.88 ± 0.96	0.79 ± 0.26	**
Cmax/ (mg · L <sup>-1</sup> )	0.34 ± 0.12	0.67 ± 0.09	*
AUCall/ (mg/L · h)	4.63 ± 1.30	4.40 ± 0.45	
t1/2ke/h	5.99 ± 1.37	4.49 ± 1.25	**
MRTlast/h	9.59 ± 2.34	5.41 ± 1.10	**
F/%	105.2	—	

注:P<0.01 差异极显著(\*\*),0.01<P<0.05 差异显著(\*), P>0.05 差异不显著

### 3 讨论

3.1 制备工艺 纳米粒子比表面积较大,同时粒子间存在较强的相互吸引力,粒子很容易发生不可逆聚集以降低其表面能<sup>[6-7]</sup>,故选择合适的稳定剂十分重要。李学明等<sup>[8]</sup>在紫杉醇纳米混悬剂的制备中选取泊洛沙姆 188 作为稳定剂,制得的纳米混悬剂粒径较小且分散均匀。本试验通过对常用稳定剂进行筛选,最终确定以复配的大豆卵磷脂和泊洛沙姆 188 作为稳定剂,能够很好的分散恩诺沙星纳米粒子。本试验采用高压均质法制备恩诺沙星纳米混悬注射剂,并经高压均质机 1 000 bar 下均质 15 次之后,平均粒径为 613 nm,且分布较均匀。通过对 3 批样品进行考察,证实该制备方法的稳定性和重现性较好。LANGGUTH 等<sup>[9]</sup>使用高压均质技术制备的螺内酯纳米混悬剂提高了药物的饱和溶解度和

溶出率,使药物的渗透性得到增强。制备纳米混悬剂的常用方法有高压均质法、介质研磨法<sup>[10]</sup>、乳化法等。高压均质法制备纳米混悬剂的方法又称 DissoCube★R 技术,由 MÜLLER 等<sup>[11]</sup>发明,将微粉化药物混悬于含有表面活性剂的水溶液中,再将该粗分散体系经过高压均质多次循环后得到纳米级的药物粒子。高压均质法不仅适用于一些水溶性差的药物,还适用于水溶性和脂溶性均差的药物,且得到的纳米混悬剂的粒径分布范围窄。该法方便、高效、可控性强、重现性好、可工业化生产<sup>[12]</sup>。除此之外,高压均质法还可避免介质研磨法中因研磨介质磨损而导致的有毒物质进入及乳化法中有机溶剂残留、污染等问题。

3.2 肌注恩诺沙星纳米混悬注射剂在猪体内药动学特征 按 2.5 mg/kg 的剂量给猪肌注恩诺沙星纳米混悬注射剂后,血浆中 Cmax 为 0.34 mg/L, Tmax 为 2.88 h,与拜有利注射剂(Cmax 为 0.67 mg/L, Tmax 为 0.79 h)相比,达峰时间显著延长(P<0.01)。说明恩诺沙星纳米混悬注射剂在猪体内释放缓慢,药物进入血液循环的速率降低,表明恩诺沙星纳米混悬注射剂在猪体内具有一定的缓释作用,避免了因药物浓度瞬间升高而引起的毒性反应<sup>[13]</sup>。AUClast 为每小时 4.63 mg/L,稍高于拜有利注射剂(AUClast 为每小时 4.60 mg/L),相对生物利用度为 105.2%,具有相对较好的吸收程度。t1/2ke 为 5.99 h, MRTlast 为 9.59 h,显著高于拜有利注射剂(t1/2ke 为 4.49 h, MRTlast 为 5.41 h)(P<0.01),表明恩诺沙星纳米混悬注射剂在猪体内消除缓慢,体内存留时间更长。分析原因可能是粒径的改变使得药物在体内组织黏附性增加导致药物滞留。

3.3 临床给药方案 曾振灵等<sup>[14]</sup>报道的恩诺沙星对大肠杆菌的 MIC 为 0.05 mg/L,本试验中恩诺沙星纳米混悬注射剂对大肠杆菌的 MIC 为 0.0125~0.03 mg/L。表明,恩诺沙星纳米混悬注射剂对大肠杆菌的杀菌效果增强,分析原因可能是药物粒径的改变使得药物更易渗透到细菌细胞中。单剂量肌注恩诺沙星纳米注射混悬剂 24 h 后血药质量浓度为(0.05 ± 0.02) mg/L,仍能达到其 MIC 值。且已有研究表明,氟喹诺酮类药物具有产生较长的抗菌药后效应(2~6 h)<sup>[15-16]</sup>。因此,建议按照 1 次/2 d,每次 2.5 mg/kg 体质量单剂量肌肉注射给药。

采用高压均质技术,按照恩诺沙星:大豆卵磷脂:泊洛沙姆 188(m/m)=19:1:1 成功制备了恩诺沙星纳米混悬注射剂。按照恩诺沙星 2.7 g/100 mL

配方配制的恩诺沙星纳米混悬注射剂,载药量高,较稳定。

本试验通过肌注给药研究对比了恩诺沙星纳米混悬注射剂与拜有利注射剂在猪体内的药动学,结果显示恩诺沙星纳米混悬注射剂在猪体内具有缓释、消除缓慢的特点。对该制剂进行系统的稳定性研究和药动学研究,可望获得适合兽医临床应用的长效新制剂。

#### 参考文献:

- [1] BROWN S A. Fluoroquinolones in animal health[J]. *J Vet Pharmacol Therap*, 1996, 19(1): 1-14.
- [2] VANCUTSEM P M, BABISH J G, SCHWARK W S. The fluoroquinolones antimicrobial structure, antimicrobial activity, pharmacokinetics, clinical use in domestic animals and toxicity[J]. *Cornell Vet*, 1990, 80(2): 173-186.
- [3] 于 莲, 董 宇, 李爱臣, 等. 恩诺沙星微囊的制备[J]. *黑龙江医药科学*, 2008, 31(6): 30-31.
- [4] DUCHENE D, PONCHEL G. Bioadhesion of solid oral dosage form, why and how [J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 1997, 44(1): 15-23.
- [5] MULLER R H, JACOBS C. Buparvaquone mucoadhesive nanosuspension: preparation, optimisation and long-term stability[J]. *Int J Pharm*, 2002, 237(1/2): 151-161.
- [6] WONG J, BRUGGER A, KHARE A, et al. Suspensions for intravenous (IV) injection: a review of development, preclinical and clinical aspects[J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2008, 60(8): 939-954.
- [7] 李学明, 程晓丹, 王永禄, 等. 紫杉醇纳米混悬剂的制备及其在动物体内药动学与组织分布研究[J]. *中国药理学杂志*, 2011, 46(9): 680-685.
- [8] KESISOGLU F, PANMAI S, WU Y. Nanosizing-oral formulation development and biopharmaceutical evaluation[J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2007, 59(7): 631-644.
- [9] LANGGUTH P, HANAFY A, FRENZEL D, et al. Nanosuspension formulations for low-soluble drugs: pharmacokinetic evaluation using spironolactone as model compound[J]. *Drug Dev Ind Pharm*, 2005, 31(3): 319-329.
- [10] LIVERSIDGE E M, LIVERSIDGE G G, COOPER E R. Nanosizing: a formulation approach for poorly-water-soluble compounds[J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2003, 18(2): 113-120.
- [11] MÜLLER R H, BECKER R, KRUSS B, et al. Pharmaceutical nanosuspensions for medicament administration as systems with increased saturation solubility and rate of solution; US, 5,858,410[P]. 1999-01-12.
- [12] GRAU M J, KAYSER O, MÜLLER R H. Nanosuspensions of poorly soluble drugs-reproducibility of small scale production[J]. *Int J Pharm*, 2000, 196(2): 155-159.
- [13] MÜLLER R H, JACOBS C, KAYSER O. Nanosuspensions as particulate drug formulations in therapy: Rationale for development and what we can expect for the future[J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2001, 47(1): 3-19.
- [14] 曾振灵, 冯淇辉. 恩诺沙星对大肠杆菌感染猪的药动学及药效学研究[J]. *中国农业科学*, 1997, 30(6): 10-15.
- [15] 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.
- [16] 胡公政, 冯淇辉. 恩诺沙星及其活性代谢产物在鸡体内的药物动力学[J]. *中国兽医学报*, 1999, 19(2): 171-174.