

载药微乳液相行为的研究*

陆杨燕^{1,2} 夏强¹ 夏勇¹ 马全红^{1,2} 顾宁¹¹ 东南大学分子与生物分子电子学教育部重点实验室, 纳米科学与技术研究中心;² 东南大学化学化工系, 南京 210096)

摘要 提出了一种基于相图研究实现纳米药物载体可控制备的方法. 采用微乳液控温相图绘制装置绘制了硬脂酸聚羟(40)酯(S-40)/聚氧乙烯聚氧丙烯醚嵌段共聚物(F-68)/单硬脂酸甘油酯(GMS)/水体系的拟三元相图, 基于电导率测定值确定了微乳液的结构(W/O、双连续相和 O/W), 该体系同时存在液晶区域. 乳化剂 S-40/F-68 的质量比为 7:3. 研究了脂溶性药物维甲酸(RA)对微乳液相行为的影响, 结果表明 RA 的加入对微乳液的相行为影响较小. 基于相图研究结果制备了维甲酸固体脂质纳米粒(RA-SLN), 亚微米粒度分析仪(PCS)测定的平均粒径和透射电镜测试都表明 RA-SLN 为 10 nm 左右的球状粒子.

关键词: 微乳液, 相行为, 固体脂质纳米粒, 维甲酸

中图分类号: O648

从上世纪 90 年代初期开始, 固体脂质纳米粒 (solid lipid nanoparticle, SLN) 的研究受到研究人员的广泛重视^[1-2]. SLN 是采用室温下为固态的生理相容性脂质材料, 通过高温加工后得到的纳米级脂质药物载体. 一般情况下, 加工温度比脂质材料的熔点高 10 °C 以上. 在加工温度下, 脂质材料为熔融液态. 研究表明, 在多数情况下, SLN 的制备取决于载药微乳液的性质^[2]. 因此, 对载药微乳液的性质如相行为进行深入研究对于 SLN 的可控制备和应用具有重要意义.

微乳液体系中同时含有油相、水相, 可同时增溶不同溶解性的药物; 易于制备和保存; 分散相的粒径小, 利于药物在体内的吸收和提高药物的生物利用度. 微乳液已成为一种应用广泛的脂溶性药物载体^[3]. 国内关于药用微乳液的研究也有一些报道^[4-5].

应用于 SLN 制备的载药微乳液是一种特殊的微乳液, 其制备温度一般在 60 ~ 80 °C, 且作为分散相的药物载体材料即脂质材料在常温下为固态. 对于这种特殊微乳液体系的相行为研究报道还很少. 目前, SLN 的制备研究基本停留在经验指导阶段, 本文希望通过通过对这种特殊微乳液体系进行相行

为研究, 以期在一定程度上实现对载药微乳液结构的调控, 进而实现对 SLN 的可控制备. 研究中选用常温下为固态的熔融单硬脂酸甘油酯 (glycerol monostearate, GMS) 作为微乳液的油相, 药用乳化剂硬脂酸聚羟(40)酯 (商品名 S-40)、聚氧乙烯聚氧丙烯醚嵌段共聚物 (商品名 F-68) 作为微乳液的混合乳化剂.

维甲酸 (retinoic acid, RA) 是维生素 A 在体内代谢产生的衍生物, 已经可以人工合成. RA 以其支持生长, 促进上皮分化, 抑制细胞增殖等方面的生物学作用, 受到了广泛的关注^[6]. 本文以脂溶性药物 RA 作为模型药物, 将其载入上述微乳液中, 研究维甲酸对于微乳液相行为的影响.

1 实验部分

1.1 试剂和仪器

维甲酸 (上海第六制药厂, 99.3%), S-40 (南京威尔化工有限公司), F-68 (美国 Sigma 公司), GMS (上海恒信化学试剂有限公司), 磷钨酸 (中国医药 (集团) 上海化学试剂公司, 分析纯), 三次蒸馏水.

自行研制的微乳液控温相图绘制装置图见图 1, 温度误差 ± 0.1 °C; DDS-11A 型电导率仪 (上海

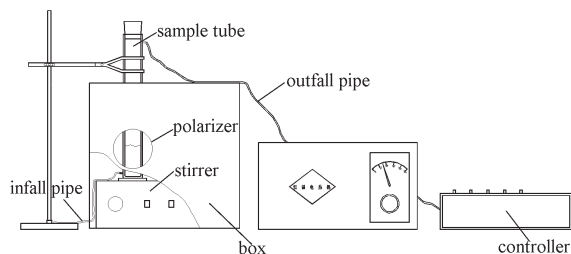


图 1 微乳液控温相图绘制装置图

Fig. 1 Scheme of the apparatus for drawing up the phase diagram of the microemulsion under controlled temperature

雷磁新泾仪器有限公司); N4 PLUS 亚微米粒度分析仪(PCS)(美国 Beckman-Coulter 公司); JEM-2000 EX 透射电镜(日本 JEOL 公司).

1.2 乳化剂配比的确定

按文献[7]中所述方法,将 S-40 和 F-68 分别按质量比 10:0.9:1.8:2.7:3.6:4.5:5.4:6.3:7.2:8.1:9.0:10 混合置于样品管中,60 °C 水浴加热使其完全熔化,搅拌下滴加 60 °C 的水,采用目视法观测相态变化.然后降至室温观察该体系的状态,以确定乳化剂的配比.

1.3 微乳液体系拟三元相图的绘制

按比例称取一定质量的乳化剂(S-40、F-68)和脂质材料置于样品管中,60 °C 水浴加热至乳化剂和脂质材料完全熔化,再向样品管中滴加 60 °C 的水.利用自行研制的控温相图绘制装置观察相态变化绘制相图,液晶区通过偏正片起偏后观察确定.绘制方法见文献[8].

1.4 电导率的测定

按文献[9]方法将 S-40、F-68、GMS 在 60 °C 下按一定比例混合,用移液器向混合体系中滴加 60 °C 的水,在电导率仪上测定体系的电导率随水含量增加的变化值.测定温度为(60.0 ± 0.1) °C.

1.5 维甲酸固体脂质纳米粒(RA-SLN)的制备

基于相图研究结果,选取体系为乳化剂:脂质材料=6:1(质量比),维甲酸含量占脂质材料的1%.按此比例,在 60 °C 条件下制备载药 O/W 微乳液,降至室温即得到 RA-SLN 悬浮液.

1.6 粒径的测定

RA-SLN 的粒径分布由 PCS 测定,测试角度为 90°,测试温度为 20 °C.

1.7 电镜观察

用移液器取 RA-SLN 悬浮液少许,滴加在覆盖

了方华膜的 200 目铜网上,用 2% 的磷钨酸溶液进行负染,用透射电镜观察粒径大小和形态.

2 结果和讨论

2.1 S-40/F-68/GMS/水体系微乳液的相行为

2.1.1 乳化剂配比的确定

60 °C 的水加入同温下不同配比的 S-40/F-68 体系中均可以得到澄清透明的均相体系.将此澄清体系降至室温后观察发现,当 S-40/F-68 ≥ 7:3 时,混合体系在室温仍保持 60 °C 时的澄清状态;而当 S-40/F-68 < 7:3 时,60 °C 时的澄清体系降至室温时为浑浊体系.说明水溶性 S-40 含量的增加有利于混合体系在室温时的状态更接近于高温时的状态.而对于 SLN 的制备来说,室温时仍能保持澄清状态的体系无疑更适用于制备纳米药物载体.据此选择乳化剂 S-40 和 F-68 的配比为 7:3.

2.1.2 电导率的测定

图 2 是 60 °C 时 S-40/F-68/GMS 混合体系的电导率随水含量变化的曲线.从图 2 看出,电导率随水含量的增加,呈先快速增加,后缓慢增加,最后逐渐降低的趋势.第一个转折点即为 W/O 型微乳液到双连续结构的分界点,第二个转折点为双连续结构到 O/W 型微乳液的分界点.这样就分别确定

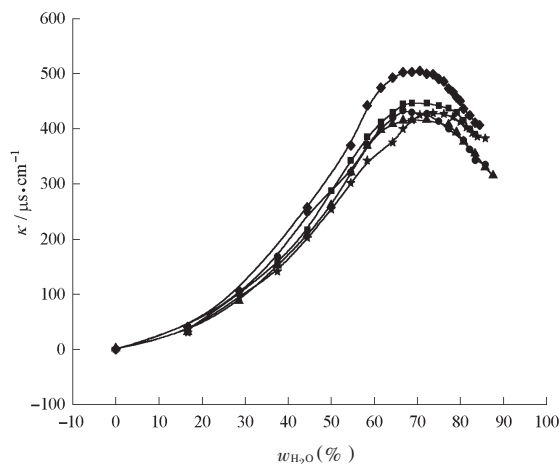


图 2 60 °C 下 S-40/F-68/GMS 混合体系电导率随水含量的变化

Fig. 2 Relation between conductivity of S-40/F-68/GMS system and water content at 60 °C mixing ratios of S-40/F-68:GMS: ◆ 8.6:1.4; ▲ 8.8:1.2; ■ 9:1; ● 9.5:0.5; ★ 100 S-40/F-68 (w/w) = 7:3; S-40: polyoxyethylene(40) stearate; F-68: polyoxyethylene-polyoxypropylene; GMS: glycerol monostearate

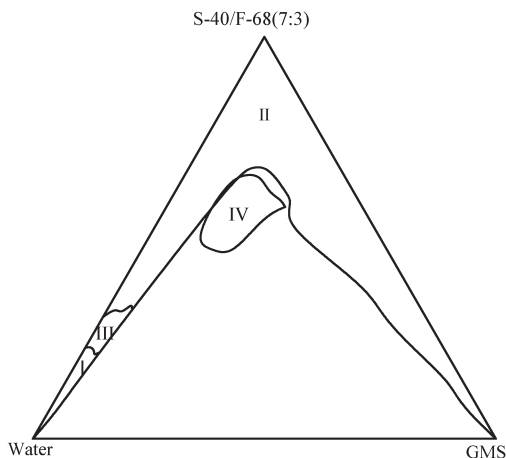


图3 S-40/F-68/单硬脂酸甘油酯/水体系的拟三元相图
Fig. 3 Phase diagram of S-40/F-68/GMS/H₂O system

I: O/W microemulsion region, II: W/O microemulsion region, III: bicontinuous structure region, IV: liquid crystal region; temperature: 60 °C

了W/O型微乳液、双连续结构和O/W型微乳液。因此可以根据药物的不同溶解性,选择不同结构的微乳液作为药物载体。

2.1.3 S-40/F-68/GMS/水体系的拟三元相图

图3是S-40/F-68/GMS/水体系的拟三元相图。相图绘制温度为60 °C。实验结果表明,当S-40/F-68(7:3):GMS > 4:1时可得到60 °C时的O/W微乳液,GMS的含量在0~3.5%。当温度降低

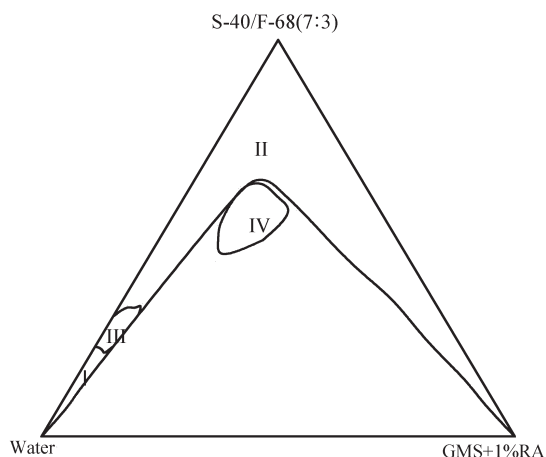


图4 S-40/F-68/单硬脂酸甘油酯/维甲酸/水体系的拟三元相图

Fig. 4 Phase diagram of S-40/F-68/GMS/RA/H₂O system

I: O/W microemulsion region, II: W/O microemulsion region, III: bicontinuous microemulsion region, IV: liquid crystal region; RA: retinoic acid; temperature: 60 °C

表1 不同时间下RA-SLN的PCS粒径测试结果

Table 1 The mean particle size of RA-SLN with different times

t/d	Mean size (nm)	PI
0	13.8	0.691
10	11.1	0.613
20	11.4	0.662
30	12.2	0.594

RA: retinoic acid, SLN: solid lipid nanoparticle, PI: polydispersity index

到室温,即得到SLN悬浮液,体系仍保持澄清状态。

我们发现一般此类微乳液,对温度比较敏感,降温后体系将变浑浊,甚至有些结晶性较好的脂质材料会完全聚集成固体脱离水相。根据相图研究结果,选择60 °C时的O/W区域内的点确定体系的组成,制得的60 °C微乳液在室温仍能保持澄清的状态,更利于作为脂溶性药物的载体。

以上分析可以看出,相对于经验指导下的SLN制备方法,利用相图研究结果可以确定SLN的组成成分,实现对SLN的可控制备。

2.2 RA药物对微乳液相行为的影响

RA是脂溶性药物,不溶于水,在绘制相图过程中,先将其在60 °C时溶于乳化剂和脂质材料的混合熔融体系中,再缓慢滴加60 °C的水。RA含量占脂质材料的1%,得到如图4所示的相图。

由图4看出,加入RA药物后相行为没有明显的变化,特别是O/W微乳区。这可能是由于RA溶解在脂质材料中,未对相态变化产生明显影响。降温后体系仍保持澄清状态,有望成为一种良好的药物载体。

2.3 RA-SLN的PCS粒径分析和TEM测试

表1给出了RA-SLN的PCS粒径分析结果

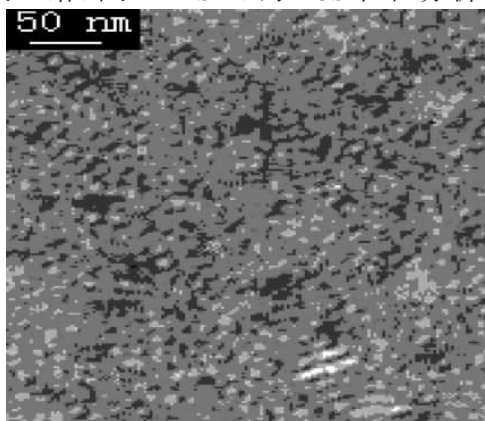


图5 维甲酸固体脂质纳米粒的透射电镜照片

Fig. 5 TEM image of RA-SLN

. 由表 1 可以看出该体系平均粒径为 (12.1 ± 1.7) nm, 多分散指数小于 0.7. PCS 测试结果给出的是分散体系中纳米粒子的平均粒径. 通常情况下, PCS 测试结果的变动范围在几纳米左右, 这是由 PCS 方法的局限性决定的. 表 1 的结果表明 RA-SLN 的平均粒径在 30 天中变化很小, 说明该体系稳定性很好, 有可能成为一种新的维甲酸纳米药物载体.

图 5 是 RA-SLN 的透射电镜照片. RA-SLN 均匀分布, 粒子大小在 10 nm 左右, 与 PCS 结果基本吻合.

3 结 论

绘制了 S-40/F-68/GMS/水体系相图, 研究了维甲酸对该体系相行为的影响. 载药微乳液相行为的研究对于 SLN 的可控制备具有一定的指导意义.

References

- Muller, R. H.; Mader, K.; Golha, S. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **2000**, **50**(1): 161
- Mehnert, W.; Mader, K. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **2001**, **47**(2): 165
- Lawrence, M. J.; Rees, G. D. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **2000**, **45**(1): 89
- Huang, R. J. *Srait Pharm. J.*, **2003**, **15**(6): 19 [黄仁杰. 海峡药学 (*Haixia Yaoxue*), **2003**, **15**(6): 19]
- Zhang, L. C.; Hu, J. H. *Foreign Medical Sci. Section on Pharm.*, **2004**, **31**(1): 44 [张立超, 胡晋红. 国外医学药学分册 (*Guowai Yixue Yaoxue Fence*), **2004**, **31**(1): 44]
- Luan, J.; Wang, W. J.; Chen, Q. Y. *Foreign Medical Sci. Ophthalmol.*, **1997**, **21**(1): 57 [栾 洁, 王文吉, 陈钦元. 国外医学眼科学分册 (*Guowai Yixue Yanxexue Fence*), **1997**, **21**(1): 57]
- Pang, Q. Y.; Lu, Q.; Cheng, Z. X.; Zhang, J. P.; Dong, X. W. *Chem. Res. Application*, **2001**, **13**(3): 284 [潘庆宜, 陆 晴, 程知萱, 张剑平, 董晓雯. 化学研究与应用 (*Huaxue Yanjiu yu Yingyong*), **2001**, **13**(3): 284]
- Li, G. Z.; Friberg, S. E. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **1982**, **59**(12): 569
- Hao, J. C.; Zheng, L. Q.; Li, G. Z.; Liu, S. Y.; Wang, H. Q. *J. Shandong University*, **1996**, **31**(2): 196 [郝京城, 郑立强, 李干佐, 刘少英, 汪汉卿. 山东大学学报 (*Shandong Daxue Xuebao*), **1996**, **31**(2): 196]

Studies on the Phase Behaviors of Drug-loading Microemulsions*

LU, Yang-Yan^{1,2} XIA, Qiang¹ XIA, Yong¹ MA, Quan-Hong^{1,2} GU, Ning¹

(¹ *Research Center for Nano-scale Science and Technology, Key Laboratory of Molecular and Biomolecular Electronics, Ministry of Education, Southeast University;* ² *Department of Chemistry and Chemical Engineering, Southeast University, Nanjing 210096*)

Abstract A new method was presented for controllable preparation of nanoscale drug carriers based on the phase behaviors of microemulsions. The pseudoternary phase diagrams for the system polyoxyethylene(40)stearate (S-40)/polyoxyethylene-polyoxypropylene(F-68)/Glycerol monostearate(GMS)/water were obtained at 60 °C using home-made apparatus with temperature control. Different structures of microemulsion(W/O, B. C. and O/W) were distinguished by the conductivity measurement, and liquid crystal region was found to be in existence. The mass ratio of S-40 and F-68 was selected to be 7:3. It was concluded that the introduce of retinoic acid (RA) has little influence on the phase behavior of drug-loading microemulsions. Solid lipid nanoparticle(SLN) of retinoic acid was prepared based on the phase behavior results. The mean particle size of RA-SLN determined by PCS is about 10 nm, and TEM images indicate that particles of RA-SLN are spherical with a size about 10 nm. The study on the phase behaviors of drug-loading microemulsions has been proved to be very significative for the controllable preparation of SLN.

Keywords: Microemulsions, Phase behavior, Solid lipid nanoparticle, Retinoic acid