

兽用微乳基质的研制及稳定性和增溶性考察

张文娟, 欧阳庆, 寇贺红 (西北农林科技大学动物科技学院, 陕西杨凌 712100)

摘要 选用液体石蜡为油相, 吐温 80 为表面活性剂, 司盘 80 为助表面活性剂, 去离子水为水相, 在制备三元相图的基础上, 考察微乳区的分布范围, 筛选最优处方, 考察其稳定性, 以利福平为模型药物考察其对难溶性药物的增溶。结果: 电镜检测该微乳基质的平均粒径在 30 nm, 该微乳基质稳定性好, 并能增加难溶性药物的溶解度。结论: 该基质可作为一种兽用药物载体增加难溶性药物, 以提高难溶性药物的生物利用度。

关键词 微乳; 稳定性; 增溶性

中图分类号 Q956 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2006)17-4258-02

Study on the Preparation, Stability and Drug Incorporation of Micro-emulsion System of Animal

ZHANG Wenjuan et al (Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry, College of Animal Science, Yangling, Shaanxi 712100)

Abstract To prepare a kind of micro-emulsion system of animal and study the stability and incorporation to hydrophobic drug, the mineral oils, Tween-80 and Span-80, were selected to prepare micro-emulsion with water. Pseudo ternary phase was used to investigate the distribution of micro-emulsion. The best recipe was selected and the stability was studied. Rifampin was used to investigate the drug incorporation of micro-emulsion. The observing result with transmission electron microscopy indicated average particle size of micro-emulsion was 30 nm, the stability and the drug incorporation were all good. As one kind of drug carrier, micro-emulsion can be used to improve incorporation and biological utilization factor of hydrophobic drugs.

Key words Microemulsion; Stability; Drug incorporation

微乳是由水、油、表面活性剂和助表面活性剂等按照一定比例混合, 自发形成的粒径为 10~100 nm 的热力学稳定体系。微乳作为药物载体具有如下优点: 制备简单, 贮存稳定, 外观透明, 适合过滤除菌, 能够增溶难溶性药物, 在体内具有靶向性。针对以上优点, 微乳在医药领域中得到了人们的广泛关注, 尤其在人药上研究较多, 如国外上市的环孢素 A 的微乳能减少给药的个体差异, 增加生物利用度^[1]。而在兽药方面, 相关研究较少。笔者以液体石蜡为油相, 吐温 80 为表面活性剂, 司盘 80 为助表面活性剂, 去离子水为水相, 制备兽用微乳基质, 并考察其稳定性和对难溶性药物利福平溶解度的影响, 为微乳在兽药中的进一步应用打好基础。

1 材料与方

1.1 仪器与试剂 SPECORD50 紫外分光光度计(德国 Jena 分析仪器股份公司), EB-280 电子顶载天平(日本), TEM 100SX 透射电镜(日本), 78HW1 型恒温磁力搅拌器, TDZ4-WS 型低速台式离心机(长沙湘仪离心机仪器有限公司), TGL-16B 型高速离心机(湖南星科科学仪器有限公司), 液体石蜡(化学纯、西安化学试剂厂), 吐温 80(化学纯、天津市登峰化学试剂厂), 司盘 80(化学纯、天津市登峰化学试剂厂), 利福平原料药(漯河市南街村药业集团制药有限公司), 利福平标准品(中国药品生物制品检定所), 苏丹红(上海试剂三厂), 亚甲基蓝(湘中地质试验研究所), 甲醇(分析纯、上海化学试剂公司), 去离子水(实验室自制)。

1.2 伪三元相图的制备^[2] 将吐温 80 和司盘 80 分别按质量比(4:1:3)和(1:2:1)的比例混合均匀, 得 3 种淡黄色的黏稠液体 I、II 和 III。将油相液体石蜡与 I、II、III 分别按质量比为(9:1:8)、(2:7:3)、(6:4:5)、(5:4:6)、(3:7:2)、(8:1:9)的比例混合, 在常温常压下, 搅拌均匀, 然后缓慢向该混合物中滴加去离子水, 边加边搅拌, 仔细观察体系的状态变化, 并记录状态变化的耗水量, 计算百分含量。

开始时, 体系为黏度较小的澄清油相, 加入去离子水后体系变混浊, 经过搅拌, 体系会恢复澄清状态, 此时为油包水型(W/O)微乳; 当去离子水加到临界点时, 体系会突然变得很黏稠很透亮, 同时搅拌困难, 此时为液晶相或凝胶相; 继续滴加去离子水并不断搅拌, 当水加到一定量时, 体系会突然变稀, 此时形成水包油(O/W)型微乳。

分别以吐温 80 和司盘 80, 液体石蜡和去离子水作为等边三角形的 3 个顶点, 制作伪三元相图, 相图每条边上的点分别表示相应两组分之间的比例关系, 相图中的任意一点表示相应体系中各组分的质量百分含量。

1.3 微乳类型的鉴定和形态观察 先采用 10 000 r/min 离心 10 min, 观察其是否分层及是否维持透明, 如维持透明可判断为微乳。然后, 用染色法进一步鉴定微乳的类型, 根据油溶性染料苏丹红和水溶性染料亚甲基蓝在微乳中红色和蓝色的扩散快慢来进行判断, 若红色扩散快于蓝色则为 W/O 型微乳, 反之则为 O/W 型微乳^[3]。

在微乳相图中任选 A、B 2 个处方制备微乳基质。首先肉眼观察其外观表现。然后分别取按照配方 A、B 制备的微乳基质适量, 用去离子水将其稀释, 取 1 滴稀释液将其滴在覆有支持膜的铜网上, 静置 10 min 后用滤纸片吸干, 再滴加 3% 磷钨酸溶液于铜网上负染 5 min, 自然挥干, 用透射电子显微镜进行形态观察, 并计算液滴直径的大小。

1.4 稳定性的测定

1.4.1 离心稳定性。取 A 和 B 基质, 分别于离心管中 4 000 r/min 离心 5 h 和 10 000 r/min 离心 20 min, 然后观察其外观是否发生变化。

1.4.2 贮藏稳定性。取 A 和 B 基质, 将其密封于西林瓶中, 于 4、25、37℃ 放置 3 个月, 分别于 5、10、20、40 和 60 d 后考察其外观是否发生变化。

取 A 和 B 基质, 将其密封于西林瓶中, 于常温下放置 9 个月, 分别于 3、6 和 9 个月后考察其外观是否发生变化。

1.5 微乳对难溶性药物的增溶

1.5.1 空白微乳基质与表面活性剂溶液的制备。选择处方

作者简介 张文娟(1980-), 女, 陕西兴平人, 硕士研究生, 研究方向: 新兽药开发。

收稿日期 2006-05-10

A、B 制备空白微乳基质,再以同样比例浓度的表面活性剂和水,制备胶束溶液。

1.5.2 药物最大溶解度的测定。取利福平过量,置于平底的试管中,分别加入2 ml 的空白微乳及相应的表面活性剂胶束溶液,在恒温磁力搅拌器上连续搅拌12 h,以使其达到饱和状态。用0.8 μm 的滤膜过滤,适当稀释后,用紫外分光光度计进行含量的测定。

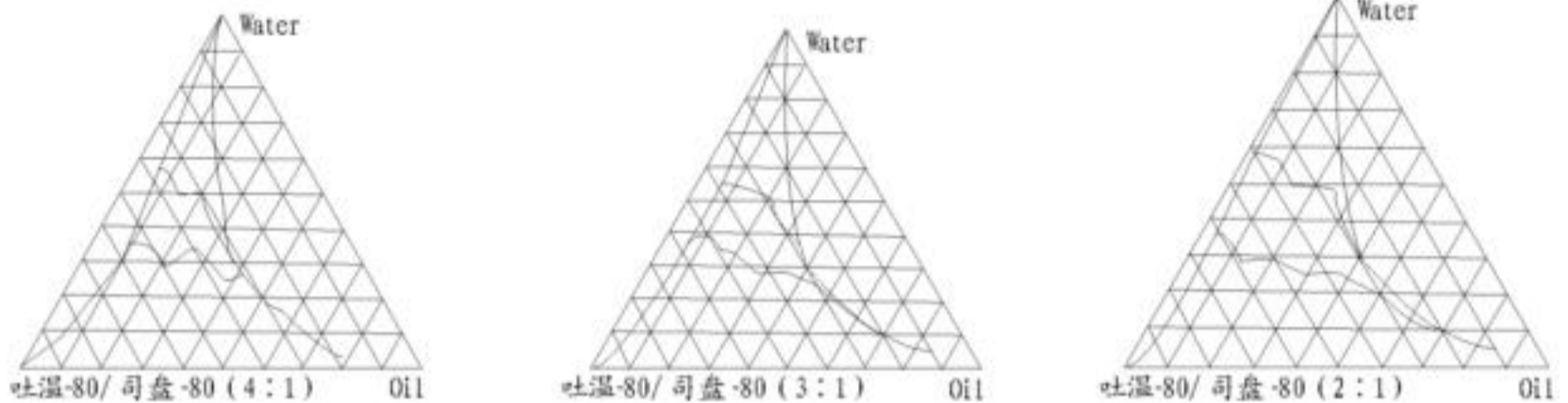
1.5.3 标准曲线的制备。精密称取50 ng 利福平标准品至50 ml 的容量瓶中,用甲醇溶解并定容,得到浓度为1 ng/ml

的标准储备液。然后再将标准储备液用甲醇稀释成浓度为1.5、10、15、20、25 ng/ml 的系列标准溶液。再将空白微乳用去离子水稀释1 000 倍备用。

以甲醇为空白对照,用紫外分光光度计对利福平标准溶液和不含利福平的空白微乳稀释液进行扫描。排除药物含量测定中基质对其产生的干扰,并测定标准曲线。

2 结果与分析

2.1 伪三元相图 结果见图1,吐温80 S 司盘80 为2:1 时,微乳区范围最大,而为4:1 时,范围相对较小。



注:油相均为液体石蜡,表面活性剂相Tween-80/ Span-80 分别为4:1、3:1、2:1,水相均为去离子水。

图1 伪三元相图

2.2 微乳的形态观察 按照处方A、B 制备的微乳,肉眼观察均为淡黄色透明液体,质地均一。透射电镜观察结果见图2、3,对图中液滴的直径进行统计,求得平均值为30 nm。

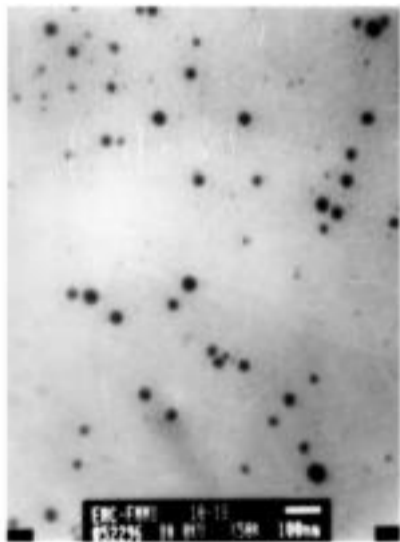


图2 微乳A 的透射电镜照片(标尺:100 nm)



图3 微乳B 的透射电镜照片(标尺:100 nm)

2.3 稳定性测定结果 A 和B 基质经4 000 r/min 离心5 h 和10 000 r/min 离心20 min,结果外观仍然均匀透明,未发生分层现象。

A 和B 基质经4、25、37 ℃ 放置3 个月,均未见沉淀、絮结、分层。经常温下放置9 个月,也均未见沉淀、絮结、分层。

2.4 标准曲线和线性范围 利福平在342 nm 波长处有最大

吸收,而空白微乳稀释液在此波长处无吸收,说明微乳基质对药物含量的测定不会产生干扰。

以甲醇为空白对照,在342 nm 波长处测定上述1.5、10、15、20、25 μg/ml 的系列标准溶液的吸光度,A 值分别为0.029 5、0.156 5、0.799 6、0.506 8、0.647 1、0.260 6。经计算吸光度A 与浓度C 的回归方程为 $A=0.0328C-0.0152$,相关系数 $r=0.9927$ 。由此可见,溶液中利福平浓度在1~25 μg/ml,吸光度和浓度线性关系良好。

2.5 利福平在微乳基质和表面活性剂溶液中的溶解情况 结果见表1。

表1 利福平在微乳及相应表面活性剂系统中溶解情况 ng/ml

基质	微乳	表面活性剂系统
A	2.495 ± 0.132	1.257 ± 0.210
B	2.228 ± 0.115	1.383 ± 0.141

注: $p < 0.01$ 。

3 讨论

一般来说,微乳液的形成与否取决于所选择的表面活性剂的种类和油水比例等。而作为药物载体的微乳液,组分的选择更为苛刻。首先,所选组分必须无毒、无刺激性;其次,要求药物在微乳液中的生物利用率高,形成的微乳液区域大,对药物的增溶能力强;此外,还要求微乳液型药物载体具有较好的贮存稳定性(对温度、pH、光、热等不敏感),能够控制药物的释放速度,具有缓释及靶向性等^[4]。

笔者选用的表面活性剂均为非离子型表面活性剂,无毒无刺激性,油相为液体石蜡,也是一种常用的药用辅料。另外根据伪三元相图,可知由它们制备微乳,微乳区域范围较大。微乳区范围较大,体系中油的用量就相应地提高了,这就更有利于增溶难溶性药物。因为O/W 型微乳对水难溶性药物的增溶不仅是表面活性剂的作用,更是内核油相的作用^[5]。水难溶性药物被增溶于油相,溶解度就会提高。微乳

(下转第4272 页)

(上接第4259页)

基质的稳定性好,对温度、光和热不敏感,适宜于长期贮存。

水难溶性药物利福平在微乳液中的溶解度较表面活性剂胶束溶液高,而且差异显著,由此可以看出,在含有相同表面活性剂的情况下,增加体系中油的含量,能够增加药物的溶解度。王晓黎^[6]等研究了O/W型微乳对水难溶性药物的增溶作用,结果布洛芬在微乳中的溶解度显著高于胶束中的溶解度。Cortesi等^[7]以labrasol、plurdisostearate、isosteary isostearate、水制成喜树碱微乳,喜树碱在微乳中的溶解度是胶束溶液的5倍,水溶液的23倍,最大载药量可达500 μg/ml。这是因为对于胶束来讲,水难溶性药物主要增溶在非极性的烃链核内,而微乳对药物的增溶则是内核的油相和表面活性剂的烃链两部分的共同作用。

参考文献

- [1] KOVARIK J M, MUELLER E A, VAN BREEJ B, et al. Reduced inter and individual variability in cyclosporin pharmacokinetics from a microemulsion formulation[J]. *J PharmSci*, 1994, 83(3): 444 - 446.
- [2] 张柯萍, 蔺胜照, 陈国广, 等. 雅胆子油微乳的制备及稳定性研究[J]. *华西药学杂志*, 2005, 20(3): 199 - 201.
- [3] 王倩, 丁红梅, 周海源. 微乳相图及工艺研究[J]. *西北药学杂志*, 1997, 12(2): 72.
- [4] 吕锋锋, 刘少杰, 刘杰, 等. 微乳液作为药物载体研究进展[J]. *化学通报*, 2004, 67: 1 - 8.
- [5] MALCOLMSON C, LAWRENCE M. A comparison of the incorporation of model steroids into nonionic micellar and microemulsion systems[J]. *J Pharm Pharmacol*, 1993, 45(1): 141 - 143.
- [6] 王晓黎, 蒋雪涛, 刘皋林, 等. O/W型微乳对水难溶性药物增溶作用的研究[J]. *第二军医大学学报*, 2002, 23(1): 84 - 86.
- [7] CORIESI R, EESPODITO E, MAETI A, et al. Formulation study for the anti-tumor drug camptothecin: liposomes, micellar solutions and microemulsion[J]. *Int J Pharm*, 1997, 159: 95 - 103.