

· 制剂与质量 ·

转相超声乳化技术制备莪术油亚微乳的理化性质研究

游荣辉^{1,2}, 袁海龙^{1*}, 杨明², 岳鹏飞^{1,2}, 肖小河¹

(1. 解放军 302 医院 解放军中药研究所, 北京 100039; 2. 江西中医学院 中药现代制剂教育部重点实验室, 江西 南昌 330004)

摘要: 目的 考察转相超声乳化技术制备的莪术油亚微乳理化性质, 并与高压乳匀法制备的莪术油亚微乳进行比较。方法 分别采用转相超声乳化技术和高压乳匀法制备莪术油亚微乳, 比较其形态和粒径分布, HPLC 法测定了其含药量, 并进行稳定性比较。结果 转相超声乳化技术和高压乳匀法制得的亚微乳平均粒径分别为 188.14 277.78 nm, 含药量分别为 9.240 1 8.743 6 mg/mL。转相超声乳化技术制备的亚微乳的稳定性和粒径分布有了显著提高。结论 转相超声乳化技术制备的莪术油亚微乳平均粒径更小, 粒径分布更窄, 含药量更高, 稳定性更好, 而且制备工艺设备简便, 对改进亚微乳生产工艺具有重大参考价值。

关键词: 莪术油亚微乳; 高压乳匀法; 转相超声乳化技术; 稳定性; 粒径分布

中图分类号: R286.1 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2008)01-0037-04

Physico-chemical property of submicron emulsion prepared by phase inversion-ultrasound emulsifying technology

YOU Rong-hui^{1,2}, YUAN Hai-long¹, YANG Ming², YUE Peng-fei^{1,2}, XIAO Xiao-he¹

(1. 302 Hospital of PLA, PLA Institute of Chinese Materia Medica, Beijing 100039, China; 2. Key Laboratory of Modern Preparation of Traditional Chinese Medicine, Ministry of Education, Jiangxi College of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China)

Abstract Objective To study the physico-chemical property of the submicron emulsions containing *Oleum Curcumae Wenchowensis* by emulsion phase inversion-ultrasound technology and the high-pressure emulsifying technology. **Methods** The submicron emulsion was prepared by emulsion phase inversion-ultrasound technology and high-pressure emulsifying technology, respectively. The morphous, particle diameter distribution, drug content, and stability of the formed emulsion were investigated. **Results** The particle diameter distributions of emulsion prepared by emulsion phase inversion-ultrasound and high-pressure emulsifying technology were 188.14, and 277.78 nm, respectively. The drug contents were 9.240 1 and 8.743 6 mg/mL, respectively. The stability of emulsion was enhanced markedly by the phase inversion-ultrasound technology. **Conclusion** Compared with the high-pressure emulsifying technology, the phase inversion-ultrasound technology is a stable and easily preparation and does enhance the stability and targeting of submicron emulsion.

Key words *Oleum Curcumae Wenchowensis* submicron emulsion; high-pressure emulsifying technology; phase inversion-ultrasound emulsifying technology; stability; particle diameter distribution

亚微乳是一种粒径在 0.1~1 μ m 的乳剂, 常作为胃肠外给药的载体。亚微乳乳滴粒径介于乳剂和微乳之间, 由于分散度很大, 有利于药物吸收, 具有淋巴定向输送和靶向定位作用, 并且可提高药物稳定性, 降低不良反应, 减少药物的刺激性, 提高生物利用度^[1-3]。静脉亚微乳剂可避免药物直接与外界或体液接触, 既增加药物的稳定性, 又能明显减少其

不良反应, 延长药物作用时间, 使药效能具有持续性和靶向性, 并提高在血液中的药物浓度, 从而提高治疗效果。但是, 随着研究的深入, 粒径分布和稳定性问题逐渐成为亚微乳的发展瓶颈, 越来越制约亚微乳在临床上的广泛应用。目前亚微乳的一般制备方法是高压乳匀法, 其制备设备要求较高, 且制备的亚微乳粒径分布较宽, 粒径不均匀, 微粒的稳定性较

* 收稿日期: 2007-05-21

作者简介: 游荣辉 (1982-), 男, 硕士研究生, 从事新药设计与工艺开发。E-mail: yrh2003_2000@126.com

* 通讯作者: 袁海龙 Tel (010)66933324 Fax (010)63879683 E-mail: yhlpharm@126.com

差^[4,5]。新型转相超声乳化技术与高压乳匀法制备的乳剂相比,粒径更均一,分布更窄,含药量更高,稳定性更好,而且工艺简单,条件温和,可明显减少药物的破坏损失。莜术油经过广泛的临床应用,证实其对多种疾病有效。莜术油制剂在宫颈癌、肝癌及心血管疾病治疗方面均取得了令人满意的疗效。目前莜术油治疗各种病毒性感染已引起了广泛兴趣。临床使用的莜术油剂型一般包括注射液、乳剂、霜剂、栓剂等。本实验以莜术挥发油为原料,采用微射流转相乳化与超声乳化技术相结合制备莜术油亚微乳,选择莜术挥发油和吉马酮为有效指标测定亚微乳的含药量,并对粒径分布、形态、稳定性等进行研究^[6,7]。

1 仪器与试剂

高压乳匀机(上海东华高压匀浆泵厂),分析天平(Mettler Toledo),精密增力电动搅拌机(金坛市杰瑞尔电器有限公司),EmulsiFlex G-5微射流装置(Avestin),超声仪(昆山市超声仪器有限公司),光学显微镜(重庆光学仪器厂),Nano粒度分析仪(Sympatec Gmbh),日本 HD-600透射电镜,HP 8452A紫外-可见分光光度计,Agilent 1100高效液相色谱仪,TGL 16C高速离心机(上海安亭科学仪器厂),XW 80A涡旋混合器(上海医科大学仪器厂)。

莜术油(自制),注射用大豆油(辽宁铁岭北亚药业公司),精制大豆卵磷脂(北京华清美恒天然产物技术有限公司),注射用甘油(美国 BASF 公司),莜术醇对照品(中国药品生物制品检定所提供,批号:100185-200405),吉马酮对照品(中国药品生物制品检定所提供,批号:111665-200401)。

2 方法与结果

2.1 高压乳匀法制备莜术油亚微乳:将 1.0 g 莜术油、1.2 g 精制大豆卵磷脂溶于 9.0 mL 注射用大豆油中,2.5 g 甘油溶于适量注射用水中,分别加热至 60℃,混匀,先在组织捣碎机中 5 000 r/min 分散乳化 3~4 min 后,得粗乳,然后采用高压乳匀机 60 MPa 匀化 9 次,加水至 100 mL,即得。

2.2 转相乳化超声技术制备莜术油亚微乳:取 2.5 g 甘油和适量注射用水在 60℃ 下于磁力搅拌器上分散均匀;另取 9.0 mL 注射用大豆油、1.2 g 精制大豆卵磷脂在 60℃ 下于磁力搅拌器上搅拌熔融,加入 1.0 g 莜术油分散均匀;在 2 000 r/min 高速搅拌时水相以微射流 5 mL/min 方式加入于油相中,得粗乳,于 500 W 超声 2 次,每次 15 min,加水至 100 mL,即得。

2.3 亚微乳的形态观察和粒径测定:取稀释亚微乳

滴加至载玻片,置高倍显微镜下观察并拍摄照片。取稀释的莜术油亚微乳适量,滴加在覆盖碳膜的铜网上,用 2.0% 磷钨酸钠液进行染色,在透射电镜下观察粒径大小和形态并拍摄照片,显微镜照片和透射电镜照片见图 1、2。结果显示以转相乳化超声技术制备的亚微乳形态圆整,粒径较小,大小较均匀。

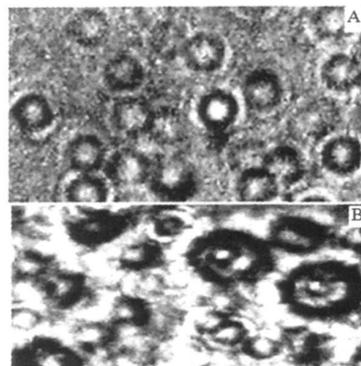


图 1 转相超声乳化技术(A)和高压乳匀法(B)所得亚微乳显微照片

Fig. 1 Light microscopy of submicron emulsions prepared by phase inversion-ultrasound technology (A) and high-pressure emulsifying technology (B)

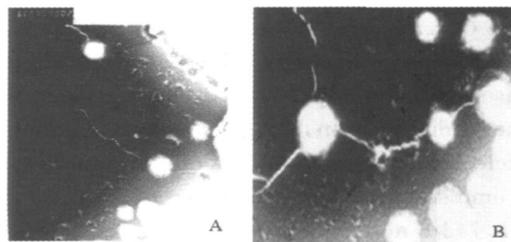


图 2 转相超声乳化技术(A)和高压乳匀法(B)所得亚微乳 TEM 图

Fig. 2 TEM of submicron emulsions prepared by phase inversion-ultrasound technology (A) and high-pressure emulsifying technology (B)

取莜术油亚微乳适量,适量蒸馏水稀释后用激光粒度测定仪进行测定,亚微乳的粒径与粒度分布见图 3。结果表明转相超声乳化技术制备的莜术油亚微乳平均粒径 188.14 nm, 90% 微粒的粒径小于 267.30 nm, 99% 微粒的粒径小于 332.18 nm, 而高压乳匀法制备的亚微乳平均粒径 277.78 nm, 90% 微粒的粒径小于 514.60 nm, 99% 微粒的粒径小于 693.48 nm, 结果表明转相超声乳化技术制备的新型亚微乳制剂粒径较小,分布范围窄,粒径均匀。

2.4 含药量的测定^[8]

2.4.1 莜术油亚微乳中总油量的分光光度法测定:

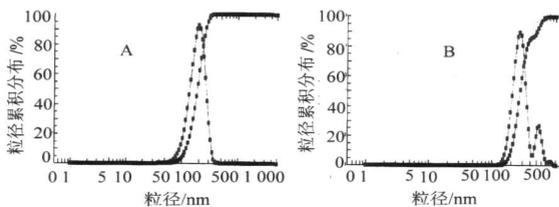


图 3 转相超声乳化技术 (A) 和高压乳匀法 (B) 所得亚微乳粒径分布

Fig. 3 Particle size distribution of submicron emulsions prepared by phase inversion-ultrasound technology (A) and high-pressure emulsifying technology (B)

取本品 1.0 g, 置 25 mL 量瓶中, 加无水乙醇至刻度, 振摇溶解, 作为供试品溶液。精密称取莪术醇对照品 25 mg, 置于 25 mL 量瓶中, 加入乙醇使溶解并稀释至刻度, 摇匀。精密量取 2 mL, 置 10 mL 量瓶中, 用乙醇稀释至刻度, 作为对照品溶液。精密吸取供试品和对照品溶液各 0.2 mL, 置于 10 mL 量瓶中, 加 2 mg/mL 香草醛硫酸溶液至刻度, 摇匀, 在 2~25℃ 放置 1 h, 以空白乳经同法处理后作空白, 照分光光度法在 520 nm 处测定供试品和对照品吸光度值, 同法操作得醇油系数, 计算, 即得。

2.4.2 吉马酮的 HPLC 法测定

色谱条件: C₁₈ 柱; 流动相: 甲醇-水 (80:20); 体积流量: 1.0 mL/min; 检测波长: 210 nm; 柱温: 35℃。色谱图见图 4

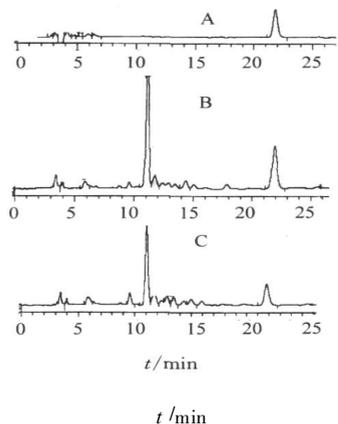


图 4 吉马酮对照品 (A)、转相超声乳化技术制备亚微乳 (B) 和高压乳匀法制备的亚微乳 (C) HPLC 色谱图

Fig. 4 HPLC Chromatograms of germacrone reference substance (A), submicron emulsion prepared by phase inversion ultrasound technology (B), and by high-pressure emulsifying technology (C)

对照品溶液制备: 取吉马酮对照品 20 mg, 精密称定, 置 50 mL 量瓶中, 用乙醇溶解, 并稀释至刻度,

摇匀; 精密量取 2.0 mL 于 25 mL 量瓶中, 加流动相至刻度, 摇匀。

供试品溶液的制备: 取亚微乳 1 mL 于量瓶中, 加无水乙醇至刻度, 超声提取 10 min, 静置, 取上清液 0.45 mL 滤膜滤过, 精密吸取续滤液 1 mL 于 10 mL 量瓶中, 加流动相至刻度, 即得。

线性关系的考察: 精密吸取 0.1656 mg/mL 吉马酮对照品溶液 2.5 5 10 12.5 20 μL, 测定峰面积。以峰面积为纵坐标, 进样量为横坐标, 绘制标准曲线, 计算得回归方程: $Y = 569.17X + 383.94$, $r = 0.9993$ 。结果表明吉马酮在 0.414~3.312 μg 与峰面积具有良好的线性关系。

2.4.3 样品测定结果的比较: 两种方法制备的莪术油亚微乳中有效组分的测定结果见表 1。表明转相超声乳化法制备的莪术油亚微乳的含药量高, 稳定性较好, 原料莪术油的损失较少, 新型制备方法不但节约成本, 而且使制剂质量有了显著的提高。

表 1 两种方法所得亚微乳中含药量的比较

Table 1 Comparison of drug content in submicron emulsions by two prepared methods

批次	总油量 (莪术醇计) / (μg · mL ⁻¹)		吉马酮 / (μg · mL ⁻¹)	
	转相超声乳化	高压乳匀	转相超声乳化	高压乳匀
1	9.324 4	9.021 4	1 065. 6	896. 3
2	9.202 8	8.365 8	986. 2	905. 6
3	9.521 4	8.236 5	974. 3	992. 3
4	9.128 5	8.967 4	987. 1	876. 5
5	9.023 6	9.126 9	1 103. 9	943. 7

2.5 稳定性研究: 转相超声乳化所得莪术油亚微乳进行离心加速实验、冷冻-加热循环实验与热压灭菌实验与留样观察实验, 莪术油亚微乳 4 500 r/min 离心 15 min 后未见分层, 同时可以耐受冷冻-加热循环及热压灭菌而保持稳定。

采用室温条件下留样观察 300 d, 转相超声乳化所得亚微乳未见分层、絮凝、破坏, pH 值、粒径、ζ 电位及含药量均无明显改变; 高压乳匀法制备的莪术油亚微乳在室温条件下保存 300 d, 部分发生分层, 其粒径、含药量及 ζ 电位均有一定的改变, 表明转相超声乳化所得亚微乳稳定性优于高压乳匀法制备的亚微乳, 结果见表 2。

3 讨论

目前制备亚微乳的方法为混合乳化-高压均质法, 制备的亚微乳粒径分布较宽, 一般粒径分布范围为 100~1 000 nm, 直接导致亚微乳稳定性不理想。本实验对高压乳匀法进行工艺优化, 制备的亚微乳粒径分布范围为 126.58~849.44 nm, 新型转相超声乳化

表2 两种方法所得亚微乳的稳定性考察

Table 2 Comparison of stability of submicron emulsions by two prepared methods

时间 /d	外观		平均粒径 /nm		pH值		含药量 / (mg·mL ⁻¹)		ζ /mV	
	转相超声乳化	高压乳匀	转相超声乳化	高压乳匀	转相超声乳化	高压乳匀	转相超声乳化	高压乳匀	转相超声乳化	高压乳匀
0	均一乳白 流动性好	均一乳白 流动性好	188.14	277.78	6.8	6.5	9.2028	8.9674	-29.07	-21.53
30	均一乳白 流动性好	均一乳白 流动性好	186.32	278.60	6.8	6.4	9.2536	8.9054	-28.71	-21.56
60	均一乳白 流动性好	均一乳白 流动性一般	193.81	283.29	6.8	6.4	9.1885	8.7927	-28.92	-21.34
90	均一乳白 流动性好	均一乳白 流动性一般	193.95	286.34	6.7	6.3	9.1411	8.6562	-28.95	-20.52
150	均一乳白 流动性好	混浊乳白 流动性一般	196.87	298.41	6.7	6.2	9.0405	8.3436	-29.00	-20.14
300	均一乳白 流动性好	混浊乳白 轻微分层	195.37	324.15	6.7	6.0	9.0178	8.1482	-28.96	-19.25

技术制备的亚微乳粒径分布范围为 87.29~404.35 nm,二者之间具有显著性差异。两种乳化方法产生较大粒径差异与其微粒乳化形成机制有关。在转相乳化超声法制备亚微乳过程中,体系先形成 W/O 型乳,随着水相加入,在外力作用下,W/O 乳转相分裂成 O/W 亚微乳,得到的微粒粒径较小,分布均匀。而传统高压乳匀法制备亚微乳过程中,在外力作用下,体系直接乳化成 O/W 乳,但随着油相的加入微粒之间发生一定的聚结,使得其粒径不断变大,粒径分布范围不断变宽。

高压乳匀法制备亚微乳的粒径、含药量、pH、ζ 电位发生改变,可能由于微粒的粒径较大且均一性不好,磷脂对药物包裹不完全,储存期间体系发生一些物理化学变化(微粒聚结变大、磷脂水解等)导致亚微乳稳定性不高,而转相超声乳化法制备亚微乳的稳定性有了显著提高,说明亚微乳在储存期间,微粒粒径更小、更均一、表面电位更高的亚微乳能更有效阻止微粒发生聚集、聚结、变大及药物渗漏,降低粒径增长速率,提高亚微乳稳定性。采用新型转相超声乳化技术制备亚微乳,工艺简单,操作方便,成本

较低,产品粒径分布和稳定性等有了显著提高,对深入研究亚微乳新型生产工艺有重要意义。

参考文献:

- [1] Macfie J. The development of fat emulsions [J]. *Nutrition*, 1999, 15: 641-645.
- [2] Crauste-Manciet S, Brossard D, Marie-Odile E, et al. Cepodoxime-proxetil protection from intestinal lumen hydrolysis by oil-in-water submicron emulsions [J]. *Int J Pharm*, 1998, 165: 97-106.
- [3] Teixeira H, Dubernet C, Rosilio V, et al. Factors influencing the oligonucleotides release from O-W submicron cationic emulsions [J]. *J Contr Rel*, 2001, 70: 243-255.
- [4] Benita S, Levy M Y. Submicron emulsions as colloidal drug carriers for intravenous administration: comprehensive physicochemical characterization [J]. *J Pharm Sci*, 1993, 82: 1069-1079.
- [5] Walstra P. Principles of emulsion formation [J]. *Chem Eng Sci*, 1993, 48: 333-350.
- [6] Brosel S, Schubert H. Investigations on the role of surfactants in mechanical emulsification using a high-pressure homogenizer with an orifice valve [J]. *Chem Eng Proc*, 1999, 38: 533-540.
- [7] Fernandez P, Andrade V, Rieger J, et al. Nano-emulsion formation by emulsion phase inversion [J]. *Colloids Surfaces A: Physicochem. Eng*, 2004, 251: 53-58.
- [8] 游剑,于英,李青坡,等. 莪术油微丸的含量测定 [J]. *中成药*, 2005, 27(1): 25-28.

《中草药》杂志又获佳绩

据中国科技期刊引证报告 2007 年 11 月 15 日发布:《中草药》杂志 2006 年总被引频次 4457,名列我国科技期刊第 11 名,中医药类期刊第 1 名;影响因子 0.558,基金论文比 0.52,连续 3 年荣获“百种中国杰出学术期刊”称号。

根据万方数据库统计:《中草药》杂志 5 年载文数 2589,5 年被引频次 3451,5 年影响因子 1.333