

非离子型表面活性剂微乳的研制^{*}

安红丽, 欧阳五庆, 王 俊, 申进宝

(西北农林科技大学 动物科技学院, 陕西 杨凌 712100)

[摘 要] 以脂肪醇聚氧乙烯醚(AEO-7), 聚乙二醇 400 单硬脂酸酯(PEG400MS), 聚氧乙烯脂肪酸酯(LAE-9), 蓖麻油聚氧乙烯醚-40(EL-40), 蓖麻油聚氧乙烯醚-60(EL-60)和烷基糖苷(APG)等为表面活性剂, 以甘油、丙二醇和1,3-丁二醇为助表面活性剂制备微乳液, 通过绘制伪三元相图研究不同表面活性剂、助表面活性剂和油相等因素对微乳形成区大小及微乳稳定性的影响。结果表明, 表面活性剂、助表面活性剂、表面活性剂和助表面活性剂的质量比(K_m)及油等对微乳的形成均有影响; 各配方微乳的粒径均在100 nm以下, 符合微乳的粒径要求, AEO-7/IPM/水, EL-40/IPM/水, EL-40/span80/IPM/水以及EL-40/span80/IPM/液体石蜡/水4种微乳体系均具有良好的稳定性和安全性, 有望成为药物和化妆品的载体。

[关键词] 非离子型表面活性剂微乳; 微乳稳定性; 微乳安全性

[中图分类号] R943

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2007)03-0065-05

Study on the formation and stability of nonionic surfactant microemulsion

AN Hong-li, OU YANG Wu-qing, WANG Jun, SHEN Jin-bao

(College of Animal Science and Technology, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract With the AEO-7, PEG400MS, LAE-9, EL-40, EL-60 and APG as surfactant, the glycerine, synthetic butyl alcohol and 1,3-buteneglycol as cosurfactant, the isopropyl myristate and Mineral oil as oil, the formulations of the microemulsion was optimized by studying the effect of pseudo-ternary phase diagrams and surfactant, cosurfactant, oil, etc on the formation of microemulsion and its stability. The experimental results indicated the formation of microemulsion was dependent on the HLB values of surfactants, the nature of oils and cosurfactants, the weight ratio of surfactant to cosurfactant and the type of additives in the water phase. The average diameter of the sample was below 100 nm, which accorded with that of microemulsion. The microemulsion systems of AEO-7/IPM/water, EL-40/IPM/water, EL-40/span80/IPM/water and EL-40/span80/IPM/Mineral oil/water were stable and safe after going through the stability and safety tests, and will be potential carriers for medicinal and cosmetic drug delivery system.

Key words: pseudoternary phase diagram; microemulsion; stability of microemulsion; safety of microemulsion

微乳液(microemulsion, ME)又称纳米乳,是由水、油、表面活性剂和助表面活性剂等自发形成,粒径为10~100 nm的热力学稳定、各向同性的,透明或半透明的均相分散体系^[1]。微乳制剂可提高难溶性药物溶解度,增强不稳定药物的稳定性,黏度低,粒径小且均匀,使被包容的药物分散度提高,促进药

物在体内外的吸收,提高其生物利用度^[2-3]。因而微乳作为一种新型的药物载体系统,越来越受到人们的关注^[4-5]。

为了将微乳体系用于递药系统,本试验选择脂肪醇聚氧乙烯醚(AEO-7),聚乙二醇400单硬脂酸酯(PEG400MS),聚氧乙烯脂肪酸酯(LAE-9),蓖麻

* [收稿日期] 2006-09-20

[基金项目] 西北农林科技大学校长专项基金项目(130709)

[作者简介] 安红丽(1980-),女,陕西渭南人,在读硕士,主要从事细胞工程研究。

[通讯作者] 欧阳五庆(1960-),男,陕西凤翔人,教授,博士生导师,主要从事细胞生物学和泌乳生理研究。E-mail: oywq@sina.com

油聚氧乙烯醚-40 (EL-40) 和烷基糖苷 (APG) 等毒性低, 溶血性较小, 生物相容性好的非离子表面活性剂来制备微乳, 通过伪三元相图考察多个因素对微乳形成的影响, 筛选配方制备微乳, 并对用各类表面活性剂制备的微乳的安全性进行了检测, 以期微乳的制备提供参考, 为这几种非离子型表面活性剂在药物或化妆品用微乳基质中的应用提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 主要仪器 EB-280 型电子天平(日本 Shimadzu 公司); 78HW-1 型恒温磁力搅拌器(杭州仪表电机厂); HH-6 型数显恒温水浴锅(国华电器有限公司); SKP 02 420 型电热恒温培养箱(黄石恒丰医疗器械有限公司); BCD-208K 型冰箱(青岛海尔股份有限公司); JEM-1230 型电子显微镜(日本电子公司); TGL-16B 台式高速离心机(湖南星科科学仪器有限公司)。

1.1.2 主要试剂 脂肪醇聚氧乙烯醚(AEO-7), 聚乙二醇 400 单硬脂酸酯(PEG400MS), 聚氧乙烯脂肪醇醚(LAE-9) 和蓖麻油聚氧乙烯醚-60 (EL-60) 均购自江苏省海安石油化工厂; 蓖麻油聚氧乙烯醚-40 (EL-40), 购自北京凤礼精求商贸有限责任公司; 烷基糖苷(APG), 购自中国日用化学工业研究院; 肉豆蔻酸异丙酯(IPM), 购自广州泽欣贸易有限公司; 甘油、丙二醇和 1,3-丁二醇, 均购自中国医药集团上海化学试剂公司; 2,4-二硝基氯代苯, 上海试剂一厂生产。

1.1.3 试验动物 白色豚鼠, 质量 350~450 g, 购自第四军医大学。

1.2 非离子型表面活性剂微乳的制备及配方筛选^[6-7]

在洁净的称量瓶中, 按一定比例加入表面活性剂和油, 称其质量并控制其总质量一定。然后加入磁力搅拌子, 再称其质量。将称量瓶恒温后, 在不断搅拌下用细滴管小心滴加两次蒸馏水, 同时观察瓶中溶液状态的变化。在滴加过程中, 当乳液黏度较大时, 用偏光显微镜观察有无双折射现象, 发亮的为液晶, 不发亮的为凝胶; 同时记录乳液外观由澄清变为浑浊或由浑浊变为澄清时各组分的临界加入量。根据油、水、表面活性剂在临界点的质量分数, 以表面活性剂和助表面活性剂作为三元相图的一个顶点(S), 油相和水分别为三元相图的另两个顶点(O, W), 在伪三元相图中绘制曲线, 确定微乳区, 比较各相图的微乳区大小, 对配方进行初步筛选。试验温度为 25 °C。

1.3 非离子型表面活性剂微乳类型的鉴定^[8]

取相同体积的微乳液两份, 分别同时加入苏丹红Ⅲ染料和亚甲基蓝染料溶液 2 滴, 静置观察两种染料(红色和蓝色)在微乳液中的扩散速度以及外观的变化。苏丹红Ⅲ染料为油溶性染料, 易在油相中扩散; 亚甲基蓝染料为水溶性染料, 易在水溶液中扩散。微乳类型判定标准为: 如蓝色的扩散速度大于红色, 则为 O/W 型微乳液; 反之为 W/O 型微乳液; 二者速度相同, 则为双连续型微乳液。

1.4 非离子型表面活性剂微乳电镜检测

滴 1 滴微乳于覆有 Formvar 膜的铜网上, 数分钟后进行 20 g/L 磷钨酸染色, 灯光下烤干, 电镜观察。

1.5 非离子型表面活性剂微乳稳定性检测^[9]

1.5.1 离心试验 取不同批次的微乳适量, 分别加入试管内, 密封管口, 置高速离心机中, 3 000 r/min 离心 20 min, 观察其性状的变化。

1.5.2 恒温加速稳定性 将微乳在 37 °C 及相对湿度 75% 的条件下保存 3 个月, 观察其性状变化。

1.5.3 NaCl 对微乳稳定性的影响 取不同批次的微乳适量, 分别加入不同试管内, 然后加入适量的 NaCl, 使 NaCl 的质量浓度分别达 1, 4, 9, 12 和 15 g/L, 观察不同质量浓度 NaCl 对微乳基质性状的影响。

1.5.4 酸碱度对微乳稳定性的影响 取不同批次微乳, 分别逐滴加入 1 mol/L HCl 或 1 mol/L NaOH 溶液, 缓慢调节微乳的酸碱度, 使其 pH 值逐渐上升至 12 或降至 3, 在微乳酸碱度变化过程中, 观察其性状的变化情况。

1.6 非离子型表面活性剂微乳的急性皮肤刺激试验^[10]

取白色豚鼠 20 只(雌雄各半), 实验前 24 h 在背部两侧剪毛, 去毛范围左右各取约 3.0 cm × 6.0 cm。将微乳 0.1 mL 涂在 2.5 cm × 2.5 cm 的四层纱布上, 敷贴在右侧皮肤上, 然后用一层油纸覆盖, 再用无刺激性胶带和绷带固定, 左侧用蒸馏水作对照。给药 24 h 后, 用温水除去残留微乳, 每隔 24 h 观察 1 次脱毛区皮肤有无红斑和水肿情况, 连续观察 7 d。

1.7 非离子型表面活性剂微乳的皮肤致敏性试验^[11]

取白色豚鼠 18 只, 随机分为 3 组, 每组 6 只, 性别不限。试验前 24 h 在背部两侧剪毛, 每侧去毛面积约 3.0 cm × 6.0 cm。试验采用自体左右侧自身对比的方法, 第 1 组豚鼠左侧脱毛区涂搽微乳, 1 mL/只; 第 2 组豚鼠左侧脱毛区涂搽蒸馏水, 1

mL/只; 第3组豚鼠左侧脱毛区涂搽阳性致敏物(10 g/L 2,4-二硝基氯代苯), 1 mL/只。所有豚鼠受试脱毛区均用一层油纸二层纱布覆盖, 再用医用胶布加以固定, 6 h 以后以温水洗去受试物, 即刻观察豚鼠脱毛区皮肤过敏反应情况, 然后于 24, 48 和 72 h 再次观察皮肤有无过敏反应情况。

2 结果与分析

2.1 影响非离子型表面活性剂微乳区域的因素

2.1.1 表面活性剂类型 以 IPM 为固定油相, 先分别以 AEO-7, PEG400MS, LAE-9, EL-40 和 APG 为表面活性剂制备微乳, 再将 AEO-7, LAE-9, EL-

40, EL-60 分别与 span80 形成复配表面活性剂制备微乳。结果显示, APG, AEO-7/span80, LAE-9/span80 未形成微乳, 其余表面活性剂形成的微乳区大小依次为: EL-40/span80 > EL-60/span80 > LAE-9 > PEG400MS > AEO-7 > EL-40 (图 1)。

2.1.2 油相 以 EL-40/span80 (亲水亲油平衡值 (HLB) = 11.6) 为表面活性剂, 分别用 IPM、液体石蜡、二甲基硅油和 IPM/液体石蜡等为油相制备微乳。结果显示, 液体石蜡、二甲基硅油不能形成微乳, 而 IPM 和 IPM/液体石蜡可以形成微乳, 并且 IPM/液体石蜡的微乳区较大 (图 2)。

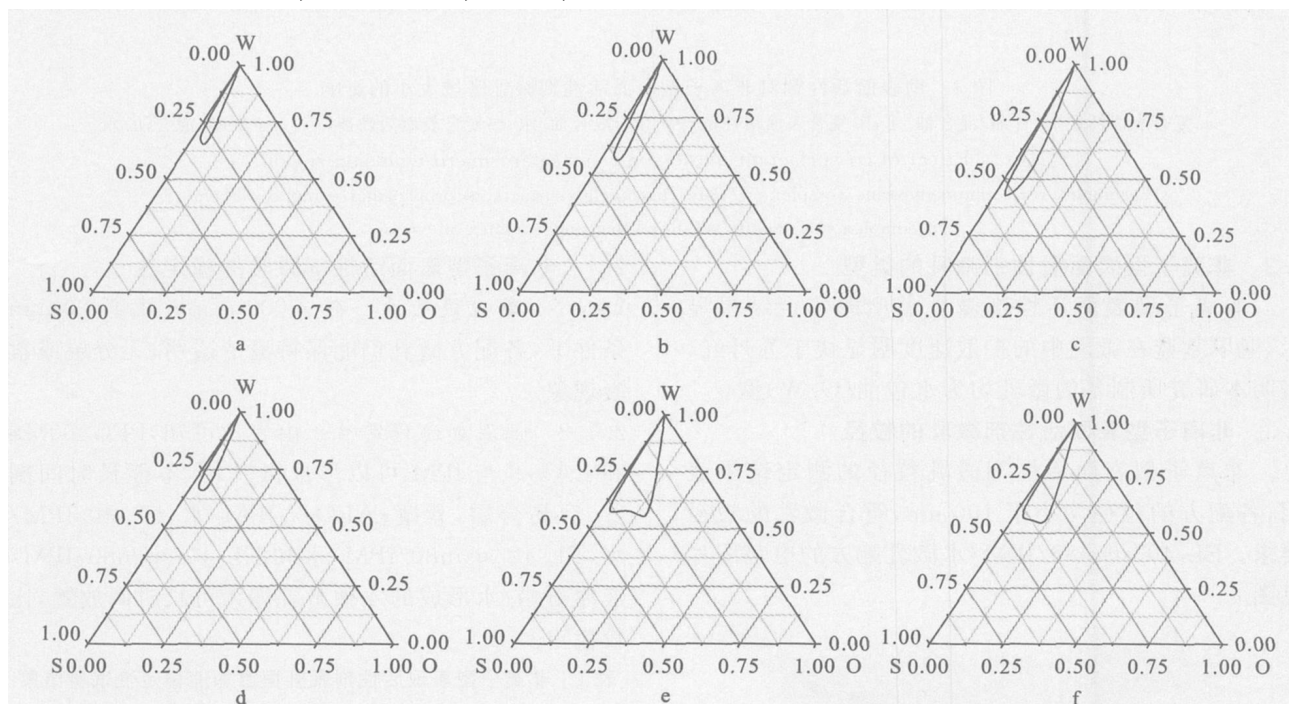


图 1 表面活性剂类型对非离子型表面活性剂微乳区域大小的影响

a. EL-40; b. PEG400MS; c. LAE-9; d. AEO-7; e. EL-40/span80; f. EL-60/span80

Fig. 1 Effect of different surfactants on nonionic surfactant micro-emulsion region

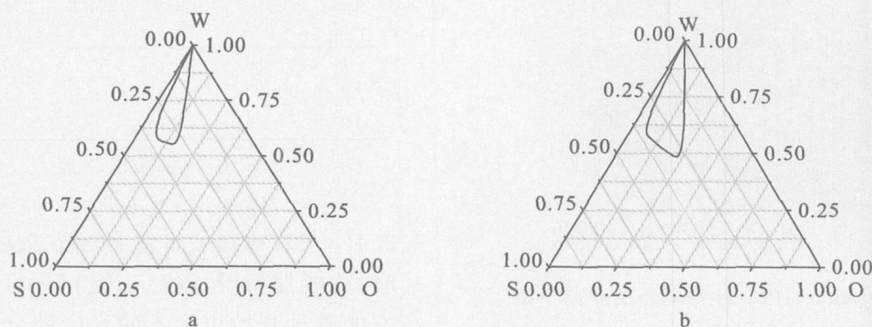


图 2 油相对非离子型表面活性剂微乳区域的影响

a. 以 IPM 为油相; b. 以 IPM/液体石蜡为复配油相

Fig. 2 Effect of oil phase on nonionic surfactant micro-emulsion region

a. Isopropyl myristate as oil phase; b. Isopropyl myristate and mineral oil as oil phase

2.1.3 助表面活性剂 以 EL-40/span80 为表面活性剂(复合表面活性剂), IPM/液体石蜡混合油为油相, 分别以甘油、乙醇、1,3-丁二醇为助表面活性剂

剂, 制备微乳。结果表明, 三种助表面活性剂均能形成微乳, 甘油所形成的微乳液区较 1,2-丙二醇和 1,3-丁二醇的大(图 3), 且 $K_m = 3$ 时微乳区最大。

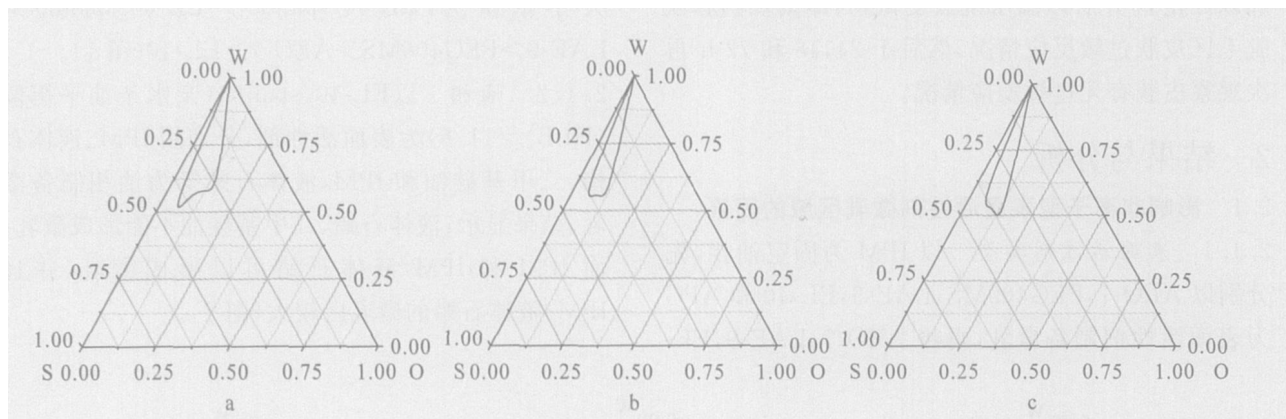


图 3 助表面活性剂对非离子型表面活性剂微乳区域大小的影响

a 复合表面活性剂/甘油/混合油/水; b 复合表面活性剂/丙二醇/混合油/水; c 复合表面活性剂/1,3-丁二醇/混合油/水

Fig 3 Effect of co-surfactant on nonionic surfactant micro-emulsion region

a complex surfactants/glycerine/complex oil/water; b complex surfactants/propanediol/complex oil/water;

c complex surfactants/1,3-butylene glycol/complex oil/water

2.2 非离子型表面活性剂微乳的类型

非离子型表面活性剂微乳类型的鉴定结果显示, 亚甲基蓝在微乳中的扩散速度明显快于苏丹红, 表明本研究所制备的微乳均为水包油(O/W)型。

2.3 非离子型表面活性剂微乳的粒径

非离子型表面活性剂微乳粒径的测定结果表明, 各配方的粒径均小于 100 nm, 符合微乳的粒径要求。EL-40/span80/IPM/水微乳配方的电镜图片见图 4。

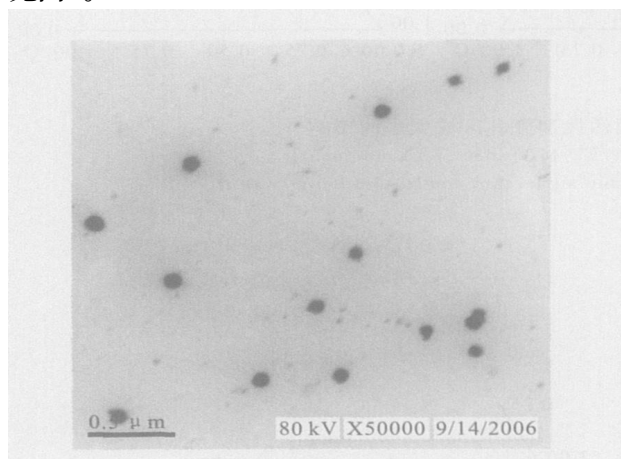


图 4 EL-40/span80/IPM/H₂O 制备的非离子型表面活性剂微乳电镜照片($\times 50\,000$)

Fig 4 Transmission electron micrograph of the micro-emulsion made of EL-40/span80/IPM/H₂O

2.4 非离子型表面活性剂微乳的稳定性

2.4.1 离心稳定性 在 3 000 r/min 离心 20 min 条件下, 各配方微乳仍能保持澄清透明, 无分层或絮凝现象。

2.4.2 恒温加速稳定性 由表 1 可知, PEG400MS 和 LAE-9 与 IPM 可以形成微乳, 但不能长时间搁置, 容易分层, 絮凝; AEO-7/IPM/水, EL-40/IPM/水, EL-40/span80/IPM/水和 EL-40/span80/IPM/液体石蜡/水形成的 4 种微乳体系可长时间放置, 比较稳定。

表 1 非离子型表面活性剂微乳恒温加速稳定性试验结果

Table 1 Stability of Blank micro-emulsion in constant temperature accelerated test

时间/月 Time	AEO-7/ IPM/水	PEG400MS/ IPM/水	LAE-9/ IPM/水	EL-40/ IPM/水	EL-40/ span80/ IPM/水	EL-40/ span80/ IPM/液体 石蜡/水
1	+	+	-	+	+	+
2	+	-	-	+	+	+
3	+	-	-	+	+	+

注: +. 澄清, 透明; -. 分层, 絮凝。

Note: +. Limpidity; -. Delamination and flocculation

2.4.3 酸碱稳定性 各配方微乳的 pH 值在 4~10 时, 均能保持澄清稳定。但 pH < 4 或 > 10 时, 某些配方的微乳开始出现不同程度的分层现象。

2.4.4 盐稳定性 随 NaCl 质量浓度的增大(1~9 g/L), 各微乳的黏度稍有增加, 但仍能保持澄清稳定; NaCl 的质量浓度达 9 g/L 以上时, 各配方微乳

开始出现不同程度的分层现象。

2.5 非离子型表面活性剂微乳的急性皮肤刺激性和致敏性

急性皮肤刺激性试验结果显示,无论是微乳组还是空白组,均未见红斑形成,也无水肿出现,豚鼠皮肤无任何刺激性反应。皮肤过敏试验结果显示,阳性对照组在不同的时间里多数豚鼠出现明显的过敏反应,少数豚鼠出现明显的红斑和水肿;而微乳组和空白对照组豚鼠皮肤光泽滑润如常,无红斑和水肿出现,未发现任何过敏反应。表明非离子型表面活性剂微乳可以作为药物的载体。

3 讨论

一种表面活性剂能否形成微乳,关键取决于其亲水-亲油性。理论上讲,当表面活性剂的亲水亲油HLB值为8~18时,才能形成O/W型微乳,且当其HLB值与被乳化油相的HLB值相等时,乳化效果最好。非离子型表面活性剂毒性低,溶血性较小,生物相容性好,比离子型表面活性剂具有较好的安全性,成为医药和化妆品用的良好载体^[12]。本试验选用的PEG400MS, AEO-7, LAE-9和EL-40等非离子型表面活性剂的HLB值与油相IPM的HLB值接近,由2.1.1结果可知除APG, AEO-7/span80和LAE-9/span80 3种表面活性剂外,其余均能形成微乳,并且复配表面活性剂所形成的微乳区比单一表面活性剂所形成的微乳区大。APG是一种天然表面活性剂,可能由于成分复杂,所以难以与IPM形成微乳。AEO-7/span80和LAE-9/span80这两种复配表面活性剂与IPM不能形成微乳,说明HLB值在实际应用中可作为参考,但是还有一些局限性。

助表面活性剂的主要作用是:(1)降低界面张力;(2)增加界面的柔韧性,使界面易于弯曲;(3)调节HLB值和界面的自发弯曲,有助于微乳形成^[5]。理想的助表面活性剂应不仅有利于微乳形成,同时还有助于减少表面活性剂的用量。本实验选用甘油、丙二醇和1,3-丁二醇为助表面活性剂,结果显示甘油有助于微乳的形成,且比丙二醇和1,3-丁二醇形成的微乳区大。

非离子型表面活性剂不带电荷,形成的微乳液

受pH和离子的影响小,能够使微乳体系保持稳定,这与本试验2.1节结果基本吻合。AEO-7/IPM/水、EL-40/IPM/水、EL-40/span80/IPM/水以及EL-40/span80/IPM/液体石蜡/水等几种微乳体系均很稳定。PEG400MS和LAE-9 2种非离子表面活性剂与IPM可以形成微乳,但不能长时间搁置,容易分层,絮凝。

因此,在制备微乳时除应考虑表面活性剂的HLB值、助表面活性剂的性质以及油相的HLB值外,还有许多因素影响微乳的形成,这有待于进一步的探索研究。

注:本研究成果正在申请专利,专利申请号为200610042642.3。

[参考文献]

- [1] 高 中. 现代药物新剂型新技术[M]. 北京:人民军医出版社, 2002: 229-252.
- [2] 汤丽娟. 微乳递药系统[J]. 国外医学-合成药、生化药、制剂分册, 1988, 9(5): 294-296.
- [3] Uchegbu I F. Non-ionic surfactant based vesicles (niosomes) in drug delivery[J]. Int J Pharm, 1998, 172(1): 33.
- [4] 张阳德. 纳米药理学[M]. 北京:化学工业出版社, 2006: 163.
- [5] Jayne L M, Gareth D R. Microemulsion-based media as novel drug delivery systems[J]. Advanced Drug Delivery Reviews, 2005, 45: 89-121.
- [6] 鲁 莹, 蒋雪涛, 曾仁杰. 卵磷脂微乳的制备与理化性质考察[J]. 药学报, 2000, 35(1): 52-55.
- [7] 刘妙青, 卢建军, 李文英. 非离子型表面活性剂微乳液的制备及影响因素[J]. 太原理工大学学报, 2005, 36(3): 276-278.
- [8] Suchat W, Nigel M D, Thomas R, et al. Preparation of biodegradable insulin nanocapsules from biocompatible microemulsions[J]. Pharm Res, 2000, 6: 684-689.
- [9] 史同瑞, 许腊梅, 于万才, 等. 微乳剂基质成乳条件与稳定性的研究[J]. 动物医学进展, 2005, 26(4): 98.
- [10] 刘小强, 刘海侠. 肺炎宁搽剂的安全性试验[J]. 中兽医医药杂志, 2005(6): 35-36.
- [11] 田夫军, 颜宏生, 张福仁, 等. 8-甲氧补骨脂素乳膏皮肤刺激性和致敏性实验研究[J]. 中国麻风皮肤病杂志, 2006, 22(4): 283-284.
- [12] 赵国玺, 朱步瑶. 表面活性剂作用原理[M]. 北京:中国轻工业出版社, 2003: 589-634.