

乳化剂 HLB 值对莪术油亚微乳理化性质的影响

应晓英¹, 徐晖², 游剑¹, 许乐幸¹ (1. 浙江大学药学院, 杭州 310058; 2. 浙江科技学院生化系, 杭州 310012)

摘要:目的 制备莪术油亚微乳, 并考察乳化剂的 HLB 值对亚微乳理化性质的影响。方法 使用高压微射流纳米分散仪制备含不同 HLB 值乳化剂的莪术油亚微乳; 激光粒度及电泳分析仪测定其粒径和表面电位; 离心法测定其稳定常数; 测定药物在不同 HLB 值乳化剂的水相中的溶解度, 并采用透析法测定亚微乳的体外释放。结果 制备得到的莪术油亚微乳粒径在 123 ~ 154 nm 之间, 粒子带负电。几种乳化剂对药物均有明显的增溶作用, 增溶倍数从 5.5 ~ 8.2 倍不等, 载药亚微乳的体外释放符合 Higuchi 方程, 且能持续释放 48 h。结论 乳化剂的 HLB 值不同, 制备得到的亚微乳的性质如粒径和稳定性有所不同; 随着 HLB 值增加, 乳化剂对药物的增溶作用增强, 药物从亚微乳中释放略有加快。

关键词: HLB 值; 亚微乳; 莪术油; 稳定性; 体外释放

中图分类号: R943.4 文献标识码: A 文章编号: 1007-7693(2009)03-0227-04

Effect of HLB Value on Physicochemical Properties of Curcuma Zedoaria Oil-loaded Submicron Emulsion

YING Xiaoying¹, XU Hui², YOU Jian¹, XU Lexing¹ (1. School of Pharmaceutical Science, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China; 2. Department of Biochemical Engineering, Zhejiang University of Science and Technology, Hangzhou 310012, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To prepare curcuma zedoaria oil-loaded submicron emulsion and investigate the effect of HLB on its physicochemical properties. **METHODS** The high pressure homogenization method was employed to prepare curcuma zedoaria oil-loaded submicron emulsion. The particle distribution and zeta-potential were determined by using zetasizer. The stability of the submicron emulsion was investigated by centrifugalization. The solubilities of zedoaria oil in aqueous phase with various HLB value were determined. The dialysis method was established for determination of drug release behavior of curcuma zedoaria oil in the submicron emulsion. **RESULTS** Curcuma zedoaria oil-loaded submicron emulsion was charged negative and with the mean particle size between 123 nm and 154 nm. Solubilizations were observed obviously with emulsifiers of various HLB value, and solubilization multiples were between 5.5 and 8.2. *In vitro* drug release experiments indicated the drug release from submicron emulsion was lasted to 48 hours, and the release behavior was consistent with Higuchi equation. **CONCLUSION** The curcuma zedoaria oil-loaded submicron emulsions with various HLB value of emulsifier were prepared. Their physicochemical properties such as particle distribution and stability were different accompany with various HLB value of emulsifiers. Moreover, as HLB value of emulsifiers increased, more solubilizations were observed, and accelerated releases were observed when released *in vitro*, and was represented a sustained release.

KEY WORDS: HLB value; submicron emulsion; curcuma zedoaria oil; stability; drug release

莪术油是姜科植物莪术、温郁金或广西莪术根茎中提取的挥发油, 具有消炎、止痛、活血化瘀、去腐生肌、增强机体免疫能力的功能。近年来国内外药理学研究发现莪术油及其主要活性成分具有调节免疫、抗肿瘤、抗病毒等多种作用^[1], 因而备受关注。随着剂型的开发, 有关莪术油制剂^[2]如注射剂、微囊、滴眼剂、微球、霜剂、栓剂等制剂在临床应用报道也逐渐增多。

乳剂是近年来国内外中药制剂开发的新剂型之一, 其中粒径在 100 ~ 1000 nm 的乳剂称亚微乳, 可作为亲脂性抗肿瘤药物的载体, 能提高药物的稳定性和生物利用度, 降低不良反应^[3]; 同时可使药物

缓释、控释, 延长药效, 对药物具有靶向性, 为良好的靶向给药系统^[4]。亚微乳的形成受多种因素的影响, 其中乳化剂的用量和 HLB 值是影响亚微乳理化性质的重要因素。本研究采用不同 HLB 值的乳化剂制备莪术油亚微乳, 考察乳化剂的 HLB 值对亚微乳理化性质的影响, 旨在筛选出合适的 HLB 值, 制备得到粒径大小合适、稳定并具有缓释作用的莪术油亚微乳。

1 仪器与药品

1.1 仪器

高压微射流纳米分散仪 (M-110 L, 美国); 高剪切分散乳化机 (F 25, 上海弗鲁克流体机械制造公

作者简介: 应晓英, 女, 硕士, 实验师 Tel: (0571) 88208433 E-mail: yingxiaoying@zju.edu.cn

司);纳米粒度及表面电位分析仪(Nano-s90,英国马尔文);紫外分光光度计(TU-1810,北京普析通用仪器公司);高速离心机(64 R,美国BECKMAN);电热恒温振荡水槽(DKZ-2,上海精宏实验设备有限公司);集热式恒温加热磁力搅拌器(DF-101 S,巩义市英峪予华仪器厂)。

1.2 药品

莜术油(浙江瑞安制药厂,批号01080203050);聚山梨醇酯-80(温州清明化工有限公司);失水山梨醇单油酸酯(温州清明化工有限公司);无水乙醇(分析纯,上海化学试剂有限公司);香草醛(中国医药集团上海化学试剂有限公司);大豆油(药用,上海黄龙生物科技发展有限公司);透析袋(MW:8000-12000,美国);其余试剂均为分析纯。

2 实验方法

2.1 莜术油亚微乳的制备

分别称取0.4 g聚山梨醇酯-80、2.3 g失水山梨醇单油酸酯,磁力搅拌分散于25 mL蒸馏水中,水浴加热至60 ℃,作为水相;称取莜术油0.4 g和大豆油3.6 g,水浴加热至与水相相同温度,作为油相;在磁力搅拌下将水相逐滴加至油相后,16 000 r·min⁻¹高速搅拌30 s即得初乳;初乳再经高压微射流纳米分散仪15 000 psi循环3次,即可得莜术油亚微乳。

保持聚山梨醇酯-80和失水山梨醇单油酸酯的总量不变,改变两者的比例,使混合乳化剂的HLB值分别为5.9,8.0,10.2,11.8,13.9,同上法制备得到一系列的莜术油亚微乳。

2.2 粒径和电位测定

制备得到的莜术油亚微乳加蒸馏水稀释100倍后,用纳米粒度及表面电位分析仪测定其粒径和表面电位大小。

2.3 稳定性实验

取莜术油亚微乳适量,4 000 r·min⁻¹离心10 min,观察乳剂是否分层,并比较离心前后乳剂的分层高度,按式(1)计算乳剂的稳定常数(Ke)。

$$\text{稳定常数}(Ke) = L/L_0 \quad (1)$$

其中L₀为分层前乳剂的高度,L为离心分层后下层的高度。

取莜术油亚微乳适量,100 ℃加热30 min,比较加热前后粒径变化情况,进一步考察乳剂的稳定性。

2.4 莜术油溶解度测定

2.4.1 标准曲线制作 精密称取莜术油25 mg,加乙醇溶解并定容至25 mL。取上述溶液加pH 7.4

磷酸缓冲盐(PBS)乙醇溶液(60:40)分别稀释成2,3,4,6,8 μg·mL⁻¹,精密移取不同浓度的药物PBS乙醇溶液1 mL置10 mL量瓶中,加香草醛硫酸溶液(取香草醛0.2 g,加乙醇1 mL,使溶解,再加冷的硫酸溶液(1→2)100 mL,摇匀,即得)至刻度,摇匀,在20~25 ℃放置1 h,将其在200~700 nm波长范围内进行扫描。结果表明,莜术油溶液在520 nm有最大吸收,且空白溶液基本无吸收,故选520 nm为测定波长。

2.4.2 莜术油在水相中的溶解度测定 称取莜术油约1.6 g,共6份,分别加至100 mL量瓶。分别加水、含不同HLB值(5.9,8,10.2,11.8,13.9)的乳化剂的水相分散并定容至刻度。将量瓶置于25 ℃恒温振荡器中,60 r·min⁻¹振荡48 h后,26 000 r·min⁻¹4 ℃离心1 h,0.22 μm滤膜过滤,精密吸取续滤液0.5 mL,加乙醇稀释至25 mL,按“2.4.1”项下测定莜术油的含量。

2.5 体外释放实验

参照文献^[5],以pH 7.4磷酸缓冲盐乙醇溶液(60:40)为释放介质。精密移取亚微乳1 mL(相当于药物量12 mg),置事先在蒸馏水中浸泡24 h的透析袋(截留相对分子量为8 000~12 000)中,并置于30 mL释放介质中,平行3份,(37±0.5) ℃水浴,振荡频率为60 r·min⁻¹,分别于0.5,1,2,4,6,8,12,24和48 h取出全部介质,并加入相同量的新鲜介质,按“2.4.1”项下测定不同时间点的药物量。

取相同量的莜术油水分散液同法操作作为对照,以考察透析袋对药物的阻滞作用。

3 实验结果

3.1 粒径和电位

本实验通过高压微射流纳米分散仪制备得到的亚微乳粒径在123~154 nm之间,粒子带负电。乳化剂的HLB值对亚微乳粒径有一定影响,从图1可以看出,随着HLB值增大,粒径先减小后增大,当HLB值在10.2~11.8之间时,亚微乳粒径最小,为(123±1.8)nm。乳化剂的HLB值对亚微乳的电位也有一定的影响,图1显示,当HLB值为10.2时,电位绝对值最大,为(30.9±8.8)mV。

3.2 稳定性

根据直接测量高度法,不同HLB值的乳化剂制备得到的莜术油亚微乳Ke值不同,不同HLB值的乳化剂得到的亚微乳稳定情况分别为10.2>8>5.9>11.8>13.9,即HLB值为10.2时,亚微乳较稳定,HLB值为13.9时,亚微乳较不稳定。

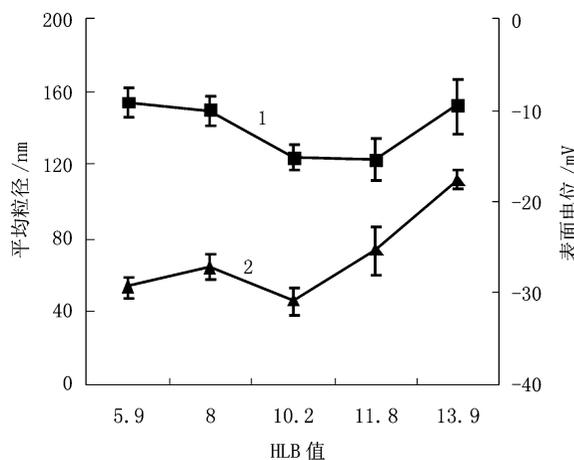


图1 乳化剂的 HLB 值对莪术油亚微乳的粒径和电位的影响
1 - 平均粒径; 2 - 表面电位

Fig 1 The effects of HLB value of emulsifier on mean diameter and Zeta potential of curcuma zedoaria oil-loaded submicron emulsion

1 - Mean diameter; 2 - Zeta potential

亚微乳 100 °C 加热 30 min 前后的粒径变化的结果也可以证实以上稳定性结果, 即当乳化剂的 HLB 值为 10.2, 乳剂加热后粒径没有明显增加, 而 HLB 值为 11.8 和 13.9 时, 加热后粒径分别由加热前 123 nm 和 152 nm 增加到 493 nm 和 577 nm。

3.3 药物溶解度

以吸收度 (A) 为纵坐标, 莪术油浓度 (C) 为横坐标进行线性回归, 得标准曲线 $A = 0.108 1C - 0.000 4$, $r = 0.999 8$, 说明在 $2 \sim 8 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的浓度范围内, 莪术油吸收度 (A) 和浓度 (C) 之间有良好的线性关系。

25 °C 莪术油在 100 mL 五种不同 HLB 值 (5.9, 8, 10.2, 11.8, 13.9) 的乳化剂的水相中的溶解度分别为 0.28, 0.29, 0.38, 0.39, 0.42 g, 相对于相同条件下不含乳化剂的水相的溶解度 0.051 g, 几种乳化剂对药物均有明显的增溶作用, 增溶倍数从 5.5 ~ 8.2 倍不等, 且随着 HLB 值增加, 增溶倍数增加。

3.4 体外释放

由于莪术油在水中的溶解度极小, 当采用 pH 7.4 磷酸缓冲盐溶液作为溶出介质时, 溶出液中药物释放极为缓慢。因此需要在释放介质中加入一定量的潜溶剂 (如乙醇), 以增加药物在水性释放介质中的溶解度。同时, 在符合漏槽的条件下, 通过各时间点更换释放介质也可避免药物在释放介质中达到饱和而影响药物的释放^[5]。

在实验中考察透析袋对药物的阻滞作用时, 发现 1 h 累积药物透出量为 96%, 可以粗略的认为透

析袋对药物没有明显的阻滞作用。不同 HLB 值莪术油亚微乳的体外释放结果 ($n = 3$) 见图 2, 由图可以看出相同浓度的游离药物 2 h 释放完全, 而包裹在亚微乳中的莪术油能持续释放至 48 h, 初步释放结果表明不同 HLB 值乳化剂制得的莪术油亚微乳均具有明显的缓释作用。将体外累积释放数据对相应时间的对数进行线性拟合, 释放过程均符合 Higuchi 方程, 结果见表 1。

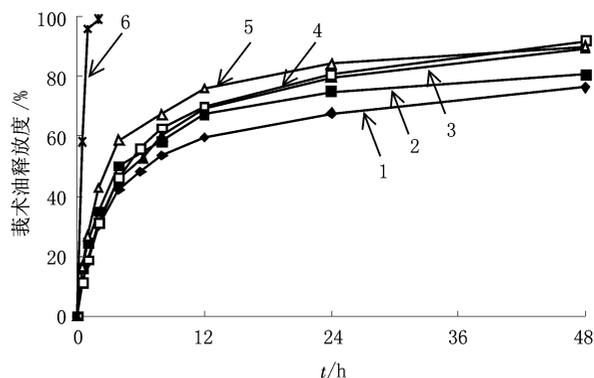


图2 不同 HLB 值乳化剂的莪术油亚微乳的体外释放曲线
1 - HLB 5.9; 2 - HLB 13.9; 3 - HLB 10.2; 4 - HLB 8; 5 - HLB 11.8;
6 - 游离药物

Fig 2 *In vitro* release curve of curcuma zedoaria oil-loaded submicron emulsion with various HLB value of emulsifier

1 - HLB 5.9; 2 - HLB 13.9; 3 - HLB 10.2; 4 - HLB 8; 5 - HLB 11.8;
6 - free drug

表1 莪术油亚微乳的体外释放拟合方程

Tab 1 Fitting equation of release curve of curcuma zedoaria oil-loaded submicron emulsion *in vitro*

HLB	Fitting equation
5.9	$Q = 11.248t^{1/2} + 11.767$
8.0	$Q = 13.910t^{1/2} + 10.956$
10.2	$Q = 13.459t^{1/2} + 11.116$
11.8	$Q = 12.978t^{1/2} + 17.872$
13.9	$Q = 11.632t^{1/2} + 15.196$

4 讨论

亚微乳的形成主要受稳定剂和混合乳化剂的影响。本研究制备得到的亚微乳的粒径和稳定性与乳化剂的 HLB 值有关, 当亲水性表面活性剂聚山梨醇酯-80 与亲油性表面活性剂失水山梨醇单油酸酯混合使用时, 两者在界面存在着侧向的相互作用力, 当两者的比例达到 HLB 值在 11 附近^[6], 此时亲水亲油分子比例适宜, 表面活性剂对正向的碰撞和界面切线方向的剪切作用都有相当的抵抗力, 乳液体系稳定, 粒径较小。

乳剂中药物的释放受到多种因素的影响。药物性质、介质的 pH 值、乳化剂的性质及用量、界面膜的性质及粒径大小等因素均可影响乳剂中药物的释

放^[7]。在本研究中不同 HLB 值乳化剂得到的莪术油亚微乳在释放过程中相同时间点的释放量稍有差异,且随着 HLB 值增大,释放量略有增大。这可能与 HLB 值增加,乳化剂对药物的增溶作用增强,在相同投药量的情况下,导致药物在水相分布增加,在油水界面及微乳内部的分布相对减少,从而释放加快。同时不同 HLB 值乳化剂得到的莪术油亚微乳粒径稍有差异,药物从不同粒径的微乳中扩散到表面的路径不同,也会影响到药物的释放。

REFERENCES

- [1] LIANG G, HUANG Z F, LI X W, et al. Advancement on pharmacology clinical application of oleum curcumae wenchowensis [J]. Chin Hosp Pharm J(中国医院药学杂志), 2006,26(12):1541-1543.
- [2] XIANG C Y. Progress of Pharmacological Study and Clinical Application of Curzerene and Its Preparation [J]. Hunan

Guiding J Tradit Chin Med Pharmacol (湖南中医药导报), 2004,10(8):48-49.

- [3] CHAE G S, LEE J S, KIN S H, et al. Enhancement of the stability of BCNU using self emulsifying drug delivery systems (SEDDS) and *in vitro* antitumor activity of self-emulsified BCNU-loaded PLGA wafe [J]. Int J Pharm, 2005,301(1-2):6-14.
- [4] GARY O, MANMOHAN S, JINA K et al. A cationic sub-micron emulsion (MF59/DOTAP) is an effective delivery system for DNA vaccines [J]. J Control Release. 2002,79(1-3):1-5.
- [5] HE H B, TANG X. Preparation and quality study of curcuma zedoaria oil-loaded nanoemulsion [J]. J Shenyang Pharm Univ (沈阳药科大学学报), 2005,22(3):164-166.
- [6] REN Z, CHEN Z R, LV D W. Studies on the HLB rule for non-ionic surfactant [J]. J Zhejiang Univ (Eng Sci)(浙江大学学报:工学版), 2001,35(5):471-477.
- [7] LU B. New techniques and new dosage forms of drugs(药物新剂型与新技术) [M]. Vol 2. Beijing, People's Medical Publishing House, 2005:109-113.

收稿日期:2007-12-28