

以油酸为油相的空白 O/W 微乳体系研究

李玉琴^{1,2}, 马娟³ (1.南通大学药学院, 江苏 南通 226001; 2.中国医药工业研究总院, 上海 201203; 3.复旦大学药学院, 上海 201203)

摘要: **目的** 研究以油酸为油相的不同组成微乳体系的相行为特点, 考察常见乳化剂和助乳化剂增溶特性, 获得水增溶及油酸增溶量均较大的 O/W 微乳体系。 **方法** 采用伪三元相图法, 以微乳区域面积(A_T)、最大增溶水量(W_m)及对应的乳化剂用量(S_m)为水增溶参数, O/W 结构能容纳的最大油酸量(O_m)为油酸增溶参数, 通过比较筛选出最适乳化剂、助乳化剂及两者质量比, 并通过体系电导率随含水量变化及相转变点绘出 O/W 微乳区域。 **结果** 多元醇为助乳化剂时水增溶量有限且易形成凝胶; 吐温类乳化剂中吐温 20 水增溶量最大, 吐温 80 油酸增溶量最大, 其油水增溶量与 HLB 值并不完全成正比; 选用吐温 80/无水乙醇为混合乳化剂, 随着吐温 80 比例下降, 最大油酸增溶量逐步下降, 水增溶量先上升再下降, 两者比例在 1:1 时, 所绘制三元相图的微乳区域面积最大, 但形成的 O/W 微乳区域亦有限。 **结论** 以油酸为油相, 可采用质量比 1:1 的吐温 80/无水乙醇为混合乳化剂, 其水增溶和油酸增溶量均较大, 可形成一定区域的 O/W 微乳。

关键词: 油酸; 微乳; 相行为; 电导率

中图分类号: R944.9

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2017)04-0549-04

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2017.04.016

Oil-in-water Microemulsion with Oleic Acid as the Oil Phase

LI Yuqin^{1,2}, MA Juan³ (1.School of Pharmacy, Nantong University, Nantong 226001, China; 2.China State Institute of Pharmaceutical Industry, Shanghai 201203, China; 3.School of Pharmacy, Fudan University, Shanghai 201203, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To investigate the phase behavior of microemulsion, frequently-used emulsifier and co-emulsifier's solubilization ability with oleic acid as the oil phase and find the best quaternary system for water solubilization and oleic acid solubilization. **METHODS** Pseudo-ternary phase diagrams were constructed to screen the emulsifier, co-emulsifier and mass ratio for both by water solubilization parameters (A_T , W_m , S_m) and oleic acid solubilization parameter (O_m). O/W microemulsion area in phase diagram was determined by conductivity and phase inversion point. **RESULTS** The pseudo-ternary system was apt to form gels and the amount of water solubilization was limited with polyalcohol as co-emulsifier. Tween 20 had the maximum amount of water solubilization, but tween 80 had the best O_m ; the amount of oil/water solubilization was partly related to the HLB value. When using tween 80/absolute alcohol as mix-emulsifier, O_m was in direct to their mass ratio, but water solubilization was not completely; the biggest A_T was in 1:1 mass ratio, but the O/W microemulsion area was limited. **CONCLUSION** The quaternary system of oleic acid, water and tween 80/ethanol with a mass ratio equal to 1:1, has a clear O/W structure and proper amount in water and oleic acid solubilization.

KEY WORDS: oleic acid; microemulsion; phase behavior; conductivity

微乳是一种外观透明或半透明、低黏度、各向同性且热力学稳定的油水混合系统, 粒径一般在 10~100 nm, 由乳化剂(S)、助乳化剂(COS)、水相(W)和油相(O)按适当比例自发形成^[1]。微乳可增加难溶性药物的溶解度、提高易溶性药物的稳定性, 适用于多种给药途径, 如口服、注射或经皮给药, 国内外已经开展了大量微乳给药系统的研究和开发工作^[2]。油酸为单不饱和脂肪酸, 广泛存在于动植物体内, 具有良好的生物相容性^[3]及膜渗透特性^[4-5], 是微乳较为理想的油相。

本课题以油酸为油相, 对常见乳化剂和助乳化剂进行考察, 研究四元体系的相行为特点, 以

获得水增溶和油酸增溶量均较大的 O/W 微乳体系, 为微乳药物载体的筛选和制备提供依据。

1 仪器与试剂

EL30 电导率仪, LE740 低电导电极(Mettler Toledo); KQ-500VDE 型双频数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); DF-101SA-H 集热式恒温加热磁力搅拌器(南京科尔仪器设备有限公司); PL602E 型电子天平(Mettler Toledo); EU-K1-10TY 超低有机型超纯水器(南京欧铠环境科技有限公司); JEM-1230 透射电镜(日本电子株式会社)。

油酸、无水乙醇、丙二醇、丙三醇、氯化钠为市售分析纯; PEG200、PEG400、吐温 20、吐

基金项目: 南通大学自然科学基金项目(11Z008)

作者简介: 李玉琴, 女, 硕士生, 讲师 Tel: (0513)85051749

E-mail: liyq@ntu.edu.cn

温 40、吐温 60、吐温 80 为市售化学纯；新葵酸甘油酯为食用级。

2 方法

2.1 三元相图的绘制

将油酸与混合乳化剂(乳化剂+助乳化剂)按质量比 1:9, 2:8, 3:7, 4:6, 5:5, 6:4, 7:3, 8:2, 9:1 分别配成澄清混合溶液(根据具体情况增加中间比例实验组), 在磁力搅拌下用蒸馏水进行滴定, 观察各体系溶液的变化(澄明度、颜色、乳光), 并记下溶液由澄清变混浊, 或由混浊变澄清所消耗的水量, 计算各临界点的比例绘制油酸-混合乳化剂-水三元相图。

在滴加水过程中, 当表面活性剂含量较高时, 会出现澄清黏度较大的状态, 通过超声或静置观察有无分层现象, 找出微乳向凝胶或液晶相转变的临界点, 并绘制于相图中, 整个操作在室温(25 ± 0.5) $^{\circ}\text{C}$ 条件下进行。

2.2 助乳化剂和乳化剂的筛选及最适比例的确定

以吐温 20 为乳化剂(吐温类乳化剂中 HLB 值最大), 分别以无水乙醇、丙二醇、丙三醇、PEG200、PEG400、辛酸酸甘油酯为助乳化剂构建伪三元相图。以微乳区域面积(A_T)、 L_{20} (油酸初始比例 20%, 水 0%)稀释线下所增溶的最大水量(W_m)及对应的最小乳化剂用量(S_m)为水增溶参数评价指标^[6-7], 以水滴定过程中 O/W 乳剂转换点(溶液由浊变清点)最大油酸用量(O_m)为油增溶参数, 筛选助乳化剂 COS; 同理, 以吐温 20、吐温 40、吐温 60、吐温 80 为乳化剂, 同已筛选出的助乳化剂构建伪三元相图筛选乳化剂 S。固定 S 与 COS 质量比(3:1, 2:1, 1:1, 2:3, 1:2, 1:3), 配制一系列不同比例的油酸/混合乳化剂溶液, 采用水滴定法绘制不同比例下的伪三元相图, 通过以上水增溶和油增溶参数比较筛选确定 S 与 COS 最适质量比。

2.3 微乳电导率的测定

采用 LE740 低电导电极, 测量温度为(25 ± 0.5) $^{\circ}\text{C}$ 。将电极用 $84 \mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1}$ 标准溶液标定后, 浸入微乳液中, 待平衡稳定后读取电导率数值($\mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1}$), 并记录滴定过程中电导率随水量(%)的变化值。测定下一组时, 用无水乙醇和蒸馏水依次清洗电极, 并重新标定后再测定。

2.4 W 微乳结构的判断

水滴定过程中微乳结构会发生变化, 由 W/O $\rightarrow$ 双连续 $\rightarrow$ O/W, 其结构与油酸初始比例有一定关

系。油酸初始比例高时只有 W/O 或 W/O+双连续结构; 油酸初始比例低时, 随着稀释会出现 2 种或 3 种结构变化, 意即油酸初始比例较低时才会出现 O/W 微乳。通过肉眼通常很难观察到微乳之间的结构转变, 仅可观察到微乳向粗乳转变的临界点(溶液由清变浊点), 但在油酸比例合适时可以通过溶液由清变浊后再由浊变清的现象, 来判断 O/W 结构转变点(透射电镜佐证)。通常出现由浊变清的油酸初始比例有一定的范围, 油酸初始浓度大于此范围的在稀释过程中只会出现 2 种结构: W/O+双连续结构, 小于此比例范围的 3 种结构可能都会出现, 可通过测定这些比例的电导率, 分析电导率随含水量变化趋势图来获得双连续向 O/W 转变的临界点^[8]。

3 结果

3.1 不同助乳化剂构建的伪三元相图及特点

无水乙醇、丙二醇、丙三醇、PEG200、PEG400、辛酸酸甘油酯分别为助乳化剂, 与吐温 20 按质量比 1:1 混合, 丙三醇和辛酸酸甘油酯与吐温 20 均不能互溶, 增溶能力有限; 其他 4 种助乳化剂与吐温 20 混合后与油酸、水构建的伪三元相图见图 1, 阴影部分为微乳区域, 其面积占比用 A_t 表示, 采用 Image-pro plus 6.0 软件计算, 各项参数见表 1。

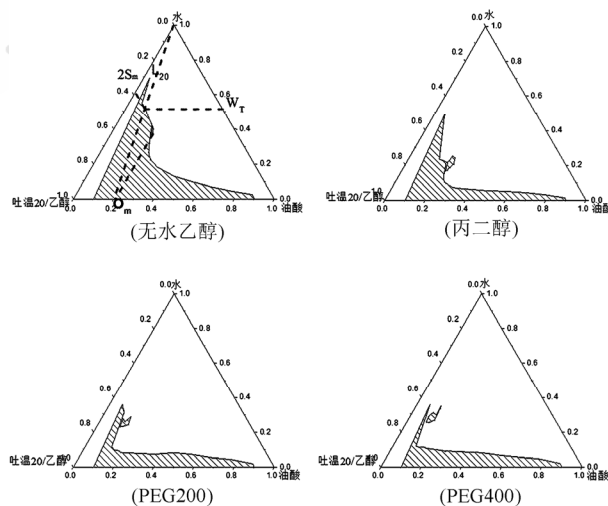


图 1 不同助乳化剂所绘制的伪三元相图

////: 微乳区域; W_m : L_{20} 稀释线下最大增溶水量; S_m : W_m 对应的最小乳化剂用量; O_m : O/W 微乳能容纳的最大油酸量。

Fig. 1 Pseudo-ternary phase diagram for different co-emulsifiers
////: microemulsion region; W_m : the maximum amount of solubilised water in L_{20} dilution line; S_m : the minimum amount of surfactant in W_m ; O_m : the maximum amount of solubilized oleic acid.

表 1 不同助乳化剂所构建微乳相油/水增溶参数($n=3$)
Tab. 1 Oleic acid and water solubilization parameters from different co-emulsifiers($n=3$) %

参数	无水乙醇	丙二醇	PEG200	PEG400
A_T	28.1	14.7	12.0	12.3
W_m	51.9	23.7	33.9	11.5
S_m	19.2	30.5	30.4	35.4
O_m	20.5	23.8	15.2	12.6

注: A_T —微乳区域所占三元相图百分比。
Note: A_T —microemulsion region percentage of ternary phase diagram.

由表 1 可知, 采用无水乙醇作为助乳化剂, 所形成的微乳区域面积最大, 增溶水量最大, 对应的乳化剂用量最少; 丙二醇为助乳化剂形成的 O/W 微乳能容纳的油酸含量最高, 无水乙醇次之。

3.2 不同乳化剂所构建的伪三元相图及特点

吐温 20、吐温 40、吐温 60、吐温 80 分别与无水乙醇质量比 1:1 所构建的微乳相图见图 2, 各微乳相水增溶参数见图 3。可以看出, 吐温 20 所构建的微乳区域面积最大, L_{20} 稀释线下增溶的水量最多, 所需要的乳化剂最少, 但吐温 80 形成的水包油体系所能增溶的最大油量最高。

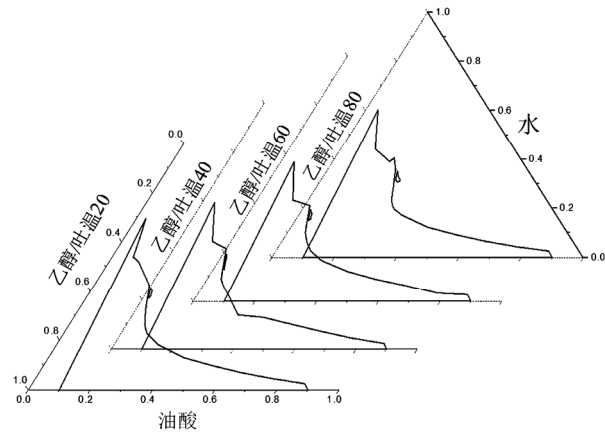


图 2 油酸\吐温\无水乙醇\水伪三元相图
Fig. 2 Pseudo-ternary phase diagram of oleic acid, tween 20/40/60/80, ethyl alcohol and water

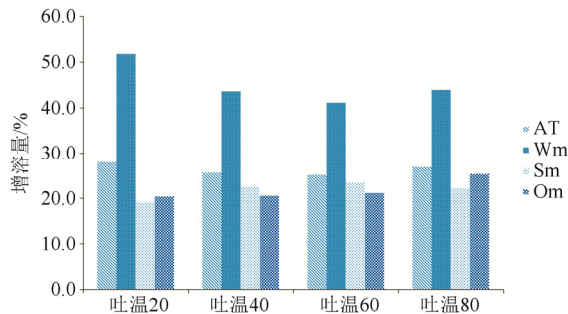


图 3 不同乳化剂所构建微乳相油/水增溶参数($n=3$)
Fig. 3 Oleic acid and water solubilization parameters from different emulsifiers($n=3$)

3.3 乳化剂/助乳化剂最适比例下的电导率测定结果及最适四元系统 O/W 微乳区域

选用吐温 80 为乳化剂, 无水乙醇为助乳化剂, 对该四元系统进一步分析, 发现两者比例在 1:1、1:1.5、1:2 时所形成的微乳区域面积比其他比例大许多(三者 A_T 依次为: 27.9%, 27.4%, 26.9%); 随着吐温 80 的比例下降, O/W 结构中所能容纳的最大油量 O_m 逐渐下降, L_{20} 稀释线下所能增溶的最大水量逐渐增加, 在 1:2 时达到最大, 但 1:3 时大幅降低。为获得一定的 O/W 微乳, 选择吐温 80-无水乙醇(1:1)为研究对象。其在 L_{34} ~ L_{37} 时出现明显的相转变, L_{10} 、 L_{20} 、 L_{30} 稀释线下电导率随数量变化趋势见图 4。油酸/混合乳化剂初始比例在 2:8、3:7 时有明显的渗阈现象^[9-10], 随着水量的增加, 电导率先缓慢增加(W/O 型), 然后快速增加(双连续型), 增加到一定值后下降(O/W 型), 而 1:9 时仅能形成 W/O 型和双连续型微乳液。将 L_{20} 、 L_{30} 、 L_{34} 、 L_{35} 、 L_{36} 、 L_{37} 稀释线上各 O/W 临界点绘制于三元相图中, 得到的 O/W 微乳区域见图 5。

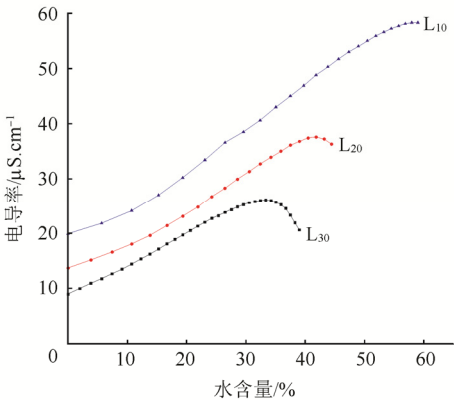


图 4 不同稀释线下电导率随含水量变化图
Fig. 4 Conductivity as a function of water content in different dilution line

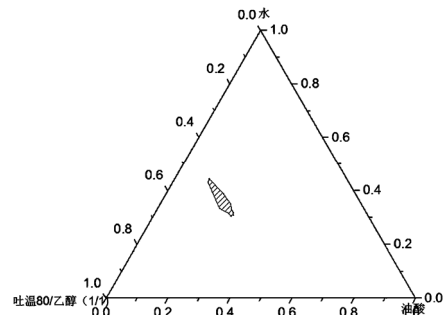


图 5 油酸-吐温 80/无水乙醇伪三元相图(//////: O/W 微乳区域)
Fig. 5 Pseudo-ternary phase diagram of oleic acid-tween 80/ethyl alcohol (//////: O/W microemulsion region)

3.4 O/W 微乳佐证透射电镜图

取图 5 O/W 微乳区域中油酸初始比例分别为 30%(L₃₀, 稀释过程中仅出现由清变浊现象)、35%(L₃₅, 稀释过程中出现由清变浊→由浊变清→由清变浊现象)² 处方, 碳膜铜网制样, 低温干燥后经透射电镜观察, 形貌如图 6a、6b 所示, 可见清晰呈球形的纳米油滴。

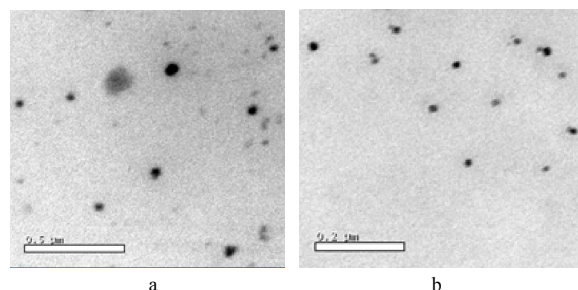


图 6 O/W 微乳透射电镜图

a-L₃₀ O/W 微乳; b-L₃₅ O/W 微乳。

Fig. 6 Transmission electron microscope photos of O/W microemulsion

a-O/W microemulsion in L₃₀; b-O/W microemulsion in L₃₅.

4 讨论

4.1 吐温类乳化剂 HLB 值对 O/W 微乳油水增溶量的影响

4 种吐温类的 HLB 值在 14.9~16.7 之间, 大小依次为吐温 20>吐温 40>吐温 80>吐温 60, 分子量正好相反, 依次为吐温 20<吐温 40<吐温 80<吐温 60^[11]。理论上同质量的以上 4 种乳化剂水增溶量应与 HLB 值成正比, 油酸增溶量应与 HLB 值成反比, 但是实验中发现吐温 20/40/60 大体遵循此种规律, 吐温 80 并不符合此规律, 说明助乳化剂的加入对体系也有一定的影响, HLB 值只能作为 O/W 微乳乳化剂筛选的部分依据。

4.2 乳化剂与助乳化剂筛选方法

本实验乳化剂均为毒性小的聚氧乙烯失水山梨醇脂肪酸酯类, 仅取代脂肪酸有所不同, 大小

和结构类似, 理论上与小分子醇类助乳化剂“结合”作用类似, 因而在助乳化剂的筛选过程中仅采用吐温 20(HLB 值最大)为乳化剂, 并未对其他乳化剂进行逐一考察。但是如果所选用的乳化剂在分子量大小、结构上均有所不同, 本方法并不适用。

REFERENCES

- [1] 方亮. 药剂学[M]. 第 8 版. 北京: 人民卫生出版社, 2016, 120.
- [2] LAWRENCE M J, REES G D. Microemulsion-based media as novel drug delivery systems [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2012, 64(s): 175-193.
- [3] SALENTINIG S, SAGALOWICZ L, GLATTER O. Self-assembled structures and pKa value of oleic acid in systems of biological relevance [J]. *Langmuir*, 2010, 26(14): 11670-11679.
- [4] HOELLER S, KLANG V, VALENTA C. Skin-compatible lecithin drug delivery systems for fluconazole: effect of phosphatidylethanolamine and oleic acid on skin permeation [J]. *J Pharm Pharmacol*, 2008, 60(5): 587-591.
- [5] 刘建平. 生物药剂学与药物动力学[M]. 第 4 版. 北京: 人民卫生出版社, 2011: 56.
- [6] HATHOUT R M, WOODMAN T J, MANSOUR S, et al. Microemulsion formulations for the transdermal delivery of testosterone [J]. *Eur J Pharm Sci*, 2010, 40(3): 188-196.
- [7] RAO J J, MCCLEMENTS D J. Food-grade microemulsions and nanoemulsions: Role of oil phase composition on formation and stability [J]. *Food Hydrocolloids*, 2012, 29(2): 326-334.
- [8] 崔福德, 龙晓英. 药剂学[M]. 第 7 版. 北京: 人民卫生出版社, 2011: 376.
- [9] BUMAJDAD A, EASTOE J. Conductivity of water-in-oil microemulsions stabilized by mixed surfactants [J]. *J Colloid Interface Sci*, 2004, 274(1): 268-276.
- [10] ALANY R G, TUCKER I G, DAVIES N M, et al. Characterizing colloidal structures of pseudoternary phase diagrams formed by oil/water/amphiphile systems [J]. *Drug Dev Ind Pharm*, 2001, 27(1): 31-38.
- [11] ROWE R C, SHESKEY P J, QUINN M E. Handbook of pharmaceutical excipients (seventh edition) [M]. London: Pharmaceutical Press, 2012: 535-537.

收稿日期: 2016-10-17

(本文责编: 曹粤锋)