

电导率-伪三元相图法优选玉红膏纳米乳处方

肖正国, 刘效栓, 李喜香, 包强, 郑慧, 乔莉, 陈成
(甘肃省中医院, 兰州 730050)

[摘要] 目的: 优选玉红膏纳米乳的处方, 为改善该制剂的质量稳定性提供参考。方法: 在恒温磁力搅拌下, 改变体系的组成, 观察电导率变化, 利用二次回归模型确定相变临界点, 通过制作经典三元相图筛选玉红膏纳米乳的最佳处方。结果: 最佳处方为选择亲水亲油平衡值 11.26 的混合乳化剂, 乳化剂-助乳化剂 (2.603:1), 甘油-无水乙醇 (3:1) 的混合物为助乳化剂, 精制芝麻油为油相, 娃哈哈纯净水为水相, 油相-水相-混合乳化剂 (28.99:63.74:7.27)。结论: 优选的处方工艺简单、载药量高, 适用于提高玉红膏的质量稳定性。

[关键词] 玉红膏; 三元相图; 纳米乳; 电导率

[中图分类号] R283.6; R944.1; R942 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)06-0017-03

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2015060017

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20150127.1145.004.html>

[网络出版时间] 2015-01-27 11:45

Optimization of Formula of Yuhong Nanoemulsion by Conductivity-pseudo-ternary Phase Diagram

XIAO Zheng-guo, LIU Xiao-shuan, LI Xi-xiang, BAO Qiang, ZHENG Hui, QIAO Li, CHEN Cheng (Gansu Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730050, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize formula of Yuhong nanoemulsion and provide a reference for improving of quality stability of this preparation. **Method:** When composition of nanoemulsion changed, conductivity change was observed on the basis of magnetic stirring at a constant temperature, quadratic regression model was adopted to determine critical points of phase transition, then formula of Yuhong nanoemulsion was optimized by making classic ternary phase diagram. **Result:** Optimum formula was as following: mixed emulsifier with hydrophilic-lipophilic balance value of 11.26, ratio of emulsifier and co-emulsifier 2.603:1, with mixture of glycerol-ethanol (3:1) as a co-emulsifier, refined sesame oil as oil phase, Wahaha purified water as water phase, oil phase-water phase-mixed emulsifier (28.99:63.74:7.27). **Conclusion:** This optimized formula is stable and feasible with higher drug-loading, it is suitable for improving stability of Yuhong ointments.

[Key words] Yuhong ointments; ternary phase diagram; nanoemulsion; conductivity

纳米乳是粒径 10 ~ 100 nm 的乳滴分散在另一种液体中形成的胶体分散系统, 具有提高难溶性药物和脂溶性药物溶解性, 增加药物稳定性、体内及经皮吸收的特点, 可使药物具有缓释、控释或靶向特性^[1]。纳米乳还具有热力学稳定特性, 经热压灭菌或离心后不会分层。电导行为是纳米乳液的重要性质之一, 在某种程度上反应了纳米乳液的结构和性质^[2]。玉红膏又名生肌玉红膏, 始载《外科正宗》, 由当归、白芷、紫草、血竭等 6 味药材组成, 具有去腐

生肌、润肤消癥之功效^[3], 是治疗皮肤溃疡的有效药物之一^[4-5]。其有效成分为左旋紫草素, 但该成分溶解性差、生物利用度低, 而且该制剂中有效成分的批间差异较大^[6]。研究发现左旋紫草素在微乳液中溶解度为水中溶解度的 955 倍^[2]。故本实验拟研制玉红膏纳米乳制剂, 以电导率为指标, 利用二次回归模型找出相变临界点, 制作经典伪三元相图^[7], 通过改良伪三元相图获得含乳化剂最低且稳定的纳米乳, 为改善玉红膏的临床疗效及质量稳定

[收稿日期] 20140526(005)

[基金项目] 甘肃省自然科学基金项目(1208RGZA135)

[第一作者] 肖正国, 副主任药师, 从事中药制剂工艺研究, Tel:15117180712, E-mail:xiaozhengguo1966@163.com

性提供参考。

1 材料

DDS-11A 型电导率测定仪(成都世纪方舟科技有限公司), AR-552CN 型电子天平(美国奥豪斯公司), XLI. DMB07-17417 型智能热压灭菌柜(上海兴华医疗感控设备厂)。司盘 80(span80, 成都艾科达公司), 甘油(天津市百进化工有限公司), 聚山梨酯 80(tween-80, 莱阳市双双化工有限公司), 玉红膏方药提取物(批号 20130820, 自制), 水为娃哈哈纯净水, 其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 水相与油相的选择 精密量取水 50 mL, 依据锅炉用水和冷却水分析方法^[8]测定电导率, 结果自来水、自制重蒸馏水、自制超纯水及娃哈哈纯净水的电导率分别为(422.2 ± 0.41), (20.93 ± 0.08), (4.52 ± 0.13), (1.56 ± 0.01) μs·cm⁻¹ (n = 5), 故选择娃哈哈纯净水为水相。玉红膏原方选择麻油为药物载体。1953 年以来本院注册制剂批准的工艺中采用芝麻油为药物载体, 为保持原方的特色, 故选取精制芝麻油为油相。

2.2 乳化剂与助乳化剂的筛选^[9] O/W 型纳米乳中植物油所需亲水亲油平衡值(hydrophile-lipophile balance, HLB)7 ~ 12, 通过对多种乳化剂及其组合的考察, 确定选择 tween-80 + span80 为混合乳化剂, 甘油 + 无水乙醇(3:1)的混合物为助乳化剂。固定油相 50%, 其余组分 50%, 利用经典三元相图确定表面活性剂和助表面活性剂的比例(Km) = 2.603 附近可得纳米乳。固定 Km = 2.603, 调整 tween-80 与 span80 的比例, 配成不同 HLB 的混合乳化剂; 另取精制芝麻油 10 g, 加水 30 g, 恒温 37 °C, 温和搅拌下加入混合乳化剂至澄清, 记录乳化剂用量, 结果见表 1。表明 HLB 为 11.26 时所需乳化剂用量最小。

2.3 纳米乳的处方筛选^[9-10] 将乳化剂与助乳化剂配成 HLB 11.26 的混合乳化剂, 将油与混合乳化剂分别按质量比 10.10 : 0.62, 8.05 : 2.02, 7.09 : 0.69, 6.04 : 1.07, 4.97 : 1.04, 4.07 : 1.58, 3.14 : 2.63, 2.12 : 1.75, 3.13 : 2.98 混合均匀, 在恒温匀速(37 °C, 100 r·min⁻¹)搅拌下向混合液中逐渐滴水, 每加水 1 ~ 2 mL, 称定质量, 测定电导率。利用 SPSS 18.0 统计软件分别对各组试验数据作二次回归模型拟合分析, 以加水量为横坐标, 电导率为纵坐标, 得回归方程 Y = aX² + bX + c, 利用公式确定抛物线顶点, 以顶点横坐标作为最佳加水量的近似值, 得 O/W 型纳米乳最佳比例的一组数据, 见表 2。

表 1 玉红膏纳米乳中混合乳化剂用量考察

Table 1 Investigation of amount of mixed emulsifier in Yuhong nanoemulsion

No.	tween-80 /g	span80 /g	助乳化剂 /g	Km	HLB	乳化剂用量/g
1	7.47	0.10	2.91	2.600	14.86	-
2	6.12	1.52	2.94	2.600	12.87	4.70
3	11.18	6.00	6.60	2.603	11.26	1.96
4	5.12	4.40	3.66	2.601	10.05	3.12
5	5.46	5.46	4.20	2.600	9.65	5.50
6	5.64	9.39	5.77	2.605	8.32	7.20

注:“-”表示不形成纳米乳。

将各组试验中纳米乳形成的第一组比例数据记录下来, 得 W/O 型纳米乳的试验数据, 见表 2。

表 2 O/W 型玉红膏纳米乳处方数据

Table 2 Formula data of O/W type of Yuhong nanoemulsion %

No.	最佳比例			第一组比例		
	油相	水相	混合乳化剂	油相	水相	混合乳化剂
1	30.58	67.54	1.88	86.25	8.45	5.29
2	28.99	63.74	7.27	66.69	16.57	16.74
3	44.59	51.07	4.34	65.59	28.03	6.38
4	35.68	58.00	6.32	54.27	36.12	9.61
5	29.77	64.96	5.27	42.37	42.80	14.83
6	21.83	69.69	8.48	35.00	51.42	13.59
7	14.85	72.72	12.43	24.59	54.82	20.60
8	8.89	83.78	7.33	20.96	60.28	18.75
9	8.10	84.66	7.24	17.24	68.54	14.23

2.4 三元相图的绘制 使用 Origin7.5 软件对表 2 中数据作三元相图, 见图 1。图中有 2 个纳米乳区, 一个靠近水的顶点, 为 O/W 型纳米乳区, 范围较小; 另一个靠近乳化剂与油的连线, 为 W/O 型乳化剂, 范围较大。取 O/W 型纳米乳区为试验区域, 计算混合乳化剂用量为油量的 6.15% ~ 89.38%, 此

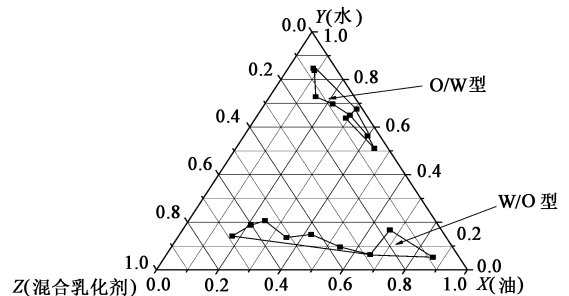


图 1 玉红膏纳米乳伪三元相

Fig. 1 Pseudo-ternary phase diagrams of Yuhong nanoemulsion

时 2 号试验组的电导率最高 ($79.8 \mu\text{s}\cdot\text{cm}^{-1}$), 油相-水相-混合乳化剂 (28.99:63.74:7.27), 乳化剂用量为油相的 25.1%, 经验证试验表明该比例组为最稳定的 O/W 型纳米乳。

2.5 载药纳米乳的制备与初步稳定性考察 选择 HLB 11.26 的混合乳化剂, 取 $K_m = 2.603$, 甘油-无水

乙醇 (3:1) 的混合物作为助乳化剂, 精制芝麻油为油相, 油相-水相-混合乳化剂 (28.99:63.74:7.27), 制备 3 批纳米乳, 分别采用热压灭菌 ($115\text{ }^\circ\text{C}$, 30 min), 离心 ($10\ 000\ \text{r}\cdot\text{min}^{-1}$, 10 min), 低温冷藏 ($4\text{ }^\circ\text{C}$, 24 h) 进行稳定性考察, 结果见表 3。表明玉红膏纳米乳系统能耐热压、离心, 但低温冷藏时可使其破坏分层。

表 3 玉红膏纳米乳的初步稳定性考察

Table 3 Investigation of preliminary stability of Yuhong nanoemulsion

批号	处方				玉红膏方药 提取物/g	体积 /mL	参数		外观	
	芝麻油 /g	乳化剂 /g	甘油 /g	无水乙醇 /g			K_m	电导率 $/\mu\text{s}\cdot\text{cm}^{-1}$	湿热灭菌	低温冷藏
1	30.446	7.530	2.270	0.728	3.150	100.133	2.512	193.680	透明均一	分层
2	30.108	7.873	2.122	0.701	2.992	100.025	2.789	188.920	微浑浊	分层
3	29.015	7.228	2.069	0.722	3.020	100.014	2.590	202.060	透明均一	浑浊

注: HLB 均为 11.263, 离心后外观均为透明均一。

3 讨论

纳米乳的粒径较小, 作为载体可提高药物体内及经皮给药的生物利用度。其处方筛选的传统方法是制备伪三元相图^[11], 目测观察浑浊-澄清-浑浊现象来判断相转变临界点, 观察指标受主观因素影响大, 临界点不准确, 重复性差。本文采用电导率法测定纳米乳的临界点, 操作简便, 指标选择客观且易于观察。李凌绪等^[10]利用电导率法筛选了陈皮油微乳处方, 但未指明水、油、混合乳化剂及辅料的电导率, 也未提及取样量。本文在实验过程中发现不同质量水、乳化剂及助乳化剂对纳米乳电导率的影响甚至超过了处方配比轻微变化的影响。故本文以电导率低则优为依据选择水相。

在具体实施过程中, 难度最大的是取样。由于所有的辅料均为黏稠状液体, 精确取样很困难, 几乎所有的理论量与实际取样量间都有一些差别。文献报道采用三元相图筛选微乳处方, 但未交待取样过程^[10,12]。本文使用二次回归模型拟合, 找出了最佳实验点的近似值, 克服了这一不足。在初步稳定性试验中发现空白纳米乳稳定, 而载药纳米乳低温冷藏时会出现浑浊甚至分层现象, 原因可能是复方制剂中成分复杂的化合物物理形态发生了变化, 载药量减少至 $<30\ \text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 可克服这一不足之处^[13]。另外, 单纯以左旋紫草素含量计算, 纳米乳液中该成分含量是原方中的 6 倍。

【参考文献】

[1] 向大位, 唐甜甜, 彭金飞, 等. 电导率-含水量曲线法与目测法确定 O/W 型微乳成型临界值的比较[J]. 药学报, 2010, 45(8): 1052-1056.

[2] 连文元, 李悦, 王兴春, 等. 微乳对左旋紫草素增容作用的实验研究[J]. 中成药, 2010, 32(5): 879-881.

[3] 陈实功. 外科正宗[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2007: 50.

[4] 石秀艳, 周文生, 姚昶. 生肌玉红膏促进麻风足底溃疡肉芽生长及愈合的临床观察[J]. 中国临床研究, 2011, 24(9): 786-787.

[5] 肖正国, 刘效栓, 李喜香, 等. 玉红膏治疗皮肤溃疡有效性的 Meta 分析[J]. 西部中医药, 2013, 26(11): 71-75.

[6] 肖正国, 刘效栓, 包强, 等. 均匀设计优选玉红膏中紫草油炸提取工艺[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(19): 60-62.

[7] 崔福德. 药剂学[M]. 5 版. 北京: 人民卫生出版社, 2004: 356-359.

[8] 国家标准化委员会. 锅炉用水和冷却水分析方法 电导率的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2008: 1-5.

[9] 杨鹏飞, 丁兰萍, 蔡晓蕾, 等. 银杏内酯 B 自微乳的处方优选及质量、安全性评价[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(12): 26-33.

[10] 李凌绪, 张相飞, 陈艳静. 电导率法筛选陈皮油微乳处方[J]. 中草药, 2012, 43(12): 2396-2400.

[11] 徐婷, 葛淑敏, 邓礼荷, 等. 土槿皮乙酸微乳的制备及体外经皮渗透性研究[J]. 中草药, 2012, 43(12): 683-689.

[12] 卢文彪, 陈蔚文, 李如柳. 莲香方药自微乳载药系统的研究[J]. 中药材, 2010, 33(3): 450-455.

[13] 陈柳钦, 崔名全, 尹蓉莉, 等. 脱水穿心莲内酯自乳化制剂的制备及质量评价[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(11): 28-31.

【责任编辑 刘德文】