

# 非泼罗尼纳米乳的制备及理化性质与安全性分析

郭建军, 欧阳五庆\*, 李会芳, 苏金辉, 马志倩, 李旭召, 张莹

(西北农林科技大学 动物医学院, 杨凌 712100)

**摘要:** 作者拟制备非泼罗尼纳米乳, 并对其理化性质及安全性进行分析。以纳米乳的载药量、稳定性和毒性为考察指标, 筛选合适的油相、表面活性剂, 再利用伪三元相图选出最佳配方, 制备出非泼罗尼纳米乳。用透射电镜观察非泼罗尼纳米乳的形态; 用激光粒度分析仪测定其粒径分布范围、多分散系数(PDI)和 Zeta 电位; 通过留样观察和加速试验考察其稳定性; 通过皮肤毒性试验和急性毒性试验评估其安全性; 通过改良的 Franz 扩散装置考察其透皮性。结果显示非泼罗尼纳米乳最佳配方: 非泼罗尼 1.2%, 肉桂醛 8.0%, 聚氧乙烯醚蓖麻油 32.0%, 蒸馏水 58.8%。其呈规则的圆球形, 粒径分布在 5~24 nm, 平均粒径 11.5 nm, PDI 为 0.218, Zeta 电位为 -20.6 mV, 稳定性良好。皮肤毒性试验、急性毒性试验和透皮试验表明, 该纳米乳有良好的安全性和透皮效果。成功研制了非泼罗尼纳米乳, 其稳定性好, 安全性高, 透皮性好。

**关键词:** 非泼罗尼; 纳米乳; 伪三元相图; 安全性; 透皮效果

中图分类号: S859.53

文献标志码: A

文章编号: 0366-6964(2013)07-1140-07

## Preparation and Physical and Chemical Properties and Security Analysis of Fipronil Nanoemulsion

GUO Jian-jun, OUYANG Wu-qing\*, LI Hui-fang, SU Jin-hui, MA Zhi-qian,

LI Xu-zhao, ZHANG Ying

(College of Veterinary Medicine, Northwest A&F University, Yangling 712100, China)

**Abstract:** The purpose of this study was to establish Fipronil nanoemulsion formula and to analyse its quality and security. The appropriate oil phase and surfactant were selected according to the drug loading, stability and toxicity of nanoemulsion and the optimum formula was designed using pseudo-ternary phase diagram. The configuration was measured by TEM and the particle size, polydispersity and zeta potential were measured by LPSA. The stability was tested by high speed centrifugation and optic observation. Its security was evaluated in this study by dermal acute toxicity and  $LD_{50}$ . Evaluation of its transdermal permeability was measured by utilizing modified Franz diffusion device. The optimum formula of Fipronil nanoemulsion was composed of 1.2% (w/w) Fipronil, 8.0% (w/w) cinnamaldehyde, 32.0% (w/w) EL-40 and 58.8% (w/w) distilled water. The shape of Fipronil nanoemulsion droplet was spherical under TEM and the particle size ranged from 5 to 24 nm, with the average diameter of 11.5 nm. The PDI was 0.218 and the Zeta potential was -20.6 mV. It was stable. The security test demonstrated that its dermal acute toxicity test was good and  $LD_{50}$  was 2 626 mg · kg<sup>-1</sup>, therefore it was Low-toxic. Its percutaneous penetration was enhanced. The Fipronil nanoemulsion was successfully prepared, it was stable and Low-toxic. Its percutaneous penetration was well.

**Key words:** Fipronil; nanoemulsion; pseudo-ternary phase diagram; security; transdermal effect

收稿日期: 2013-01-30

基金项目: 陕西省重大科技创新专项基金项目(K332020916)

作者简介: 郭建军(1984-), 男, 河南焦作人, 硕士生, 主要从事新兽药开发研究, E-mail: gjjun81@126.com

\* 通信作者: 欧阳五庆, 教授, 博士生导师, 主要从事新兽药研发、纳米生物技术和细胞生物学研究, E-mail: oywq506@sina.com

非泼罗尼(Fipronil)又名氟虫腈,商品名为锐劲特,化学名为 5-氨基-3-氰基-1-(2,6-二氯-4-三氟甲基)-4-三氟甲基亚磺酰基吡唑,是法国 Rhone-Poulenc 公司于 1987 年开发的一种新型苯基吡唑类杀虫剂,和传统杀虫剂拟除虫菊酯类、有机磷类和氨基甲酸酯类相比,具有广谱、高效以及对非靶标动物安全的优点,其作用机制为抑制 GABA 诱导的氯离子流而导致虫体死亡<sup>[1]</sup>。该药结构新颖、机理独特,活性高,属新一代高技术杀虫剂,目前暂无抗性报道<sup>[2]</sup>,开发潜力较大。

在中国,非泼罗尼主要用在宠物体表寄生虫和农业害虫的防治上。用于宠物时主要剂型为滴剂和喷剂,可以杀灭动物体表寄生虫。用于农业害虫防治时主要剂型为喷剂,可用于防治鳞翅类、直翅类和鞘翅类害虫。但该药长期使用会对环境有一定影响,其在环境中的多种降解产物具有等同于或高于原药的毒性<sup>[3]</sup>,特别是对水生生物的影响较大<sup>[4]</sup>,故而中国目前只允许非泼罗尼在卫生害虫和种子包衣剂方面应用。当用于宠物体表寄生虫时,通过喷洒给药,药物会大量残留在宠物皮毛上,为了确保疗效,药物使用说明会推荐用药后 2~7 d 禁止给宠物洗澡,但在这期间,宠物难免会舔舐身上毛,且免不了和主人直接接触,这样就会给宠物和人类的健康带来一定影响,造成健康隐患。

纳米乳(nanoemulsion, NE)是由表面活性剂、油相及水相在适当比例下形成的一种外观澄清透明、低黏度、各相同性且热力学稳定的分散体系,乳滴粒径分布在 1~100 nm,是一种新型的药物载体,具有高生物利用度、透皮率高、增溶性强、缓释和靶向等优点,近年来倍受医药界的关注<sup>[5]</sup>。

本试验针对非泼罗尼应用中存在的问题,结合先进的纳米技术,从降低药物原药使用量、提高药物的生物利用度和消除非泼罗尼对健康造成的隐患的角度出发,将其制备成纳米乳剂,并对其理化性质以及安全性进行考察,以期为其临床应用提供依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 主要试验材料

非泼罗尼原料药(纯度 97.2%,武汉国邦达医药化工有限公司);乙酸异丙酯、乙酸丁酯、己酸乙酯、柠檬酸三丁酯(国药集团化学试剂有限公司);肉桂醛(武汉远程共创科技有限公司);吐温-80、RH-40(聚氧乙烯醚氢化蓖麻油)、EL-40(聚氧乙烯醚蓖

麻油)(天津市恒星化学试剂制造公司);硫化钠(天津博迪化工股份有限公司);苏丹红Ⅲ(上海试剂三厂);亚甲蓝(天津市福晨化学试剂厂);昆明种小白鼠(西安交通大学实验动物中心);试验家兔(西北农林科技大学实验动物中心)。

### 1.2 主要仪器

Nicomp388/Zeta PALS 激光粒度测定仪(Zetasizer Nano ZS 型英国 Malvern Instrument 公司),BS224S 电子天平(德国 Sartorius 公司),JME-1230 型透射电镜(日本 JEOL 公司),TGL-16B 型离心机(湖南星科科学仪器有限公司),SKP02.420 电热恒温培养箱(黄山市恒丰医疗器械有限公司),PHS-3C 型 pH 计(上海宇隆仪器有限公司),UV-2450 紫外-可见光分光光度计(日本岛津公司),HC-188 透皮扩散仪(天津市正通科技有限公司)等。

### 1.3 非泼罗尼纳米乳处方筛选

1.3.1 油相的筛选 取乙酸异丙酯、己酸乙酯、肉桂醛、乙酸丁酯和柠檬酸三丁酯适量,分别置于 100 mL 烧杯中,室温下逐次少量加入非泼罗尼原药并不断在 25 ℃ 水浴中振摇,直至非泼罗尼在油相中不能溶解时,计算出非泼罗尼在各种油相中的溶解度,选出最佳油相。

1.3.2 表面活性剂的筛选 将非泼罗尼溶解在筛选出的油相中,于 25 ℃ 下分别与一定量常用低毒无刺激的非离子表面活性剂吐温-80、EL-40、RH-40 和油相按 9.8:0.2、9.5:0.5、9:1、8:2、7:3、6:4、5:5、4:6、3:7、2:8 和 1:9 的质量比混匀,然后逐滴加入蒸馏水,并不断搅拌,搅拌过程中该体系会由稀变黏稠,再由黏稠变稀,直至最终液体澄清透明如水样流动时即为终点。记录当体系突然由黏稠状态变稀时的临界加水量,并计算该临界体系中各成分的质量分数。分别以表面活性剂、油相、水作为相图的 3 个顶点,用 Origin 8.0 软件绘制伪三元相图,根据乳区的大小确定最佳表面活性剂。

### 1.4 非泼罗尼纳米乳表面活性剂和油相比(Km)的确定

选好表面活性剂和油相后,室温下,将表面活性剂和油相按质量比 9:1、8:2、7:3、6:4、5:5、4:6、3:7、2:8 和 1:9 分别混匀,按照 1.3.2 的方法分别做出不同的样本进行试验,找出能形成纳米乳的最佳 Km 值。

### 1.5 非泼罗尼纳米乳配方的确定及制备

按照筛选出的油相、表面活性剂和最佳  $K_m$  值,确定非泼罗尼纳米乳的最佳配方。按照配方并参照 1.3.2 的方法制备非泼罗尼纳米乳。

### 1.6 非泼罗尼纳米乳质量评价

1.6.1 非泼罗尼纳米乳结构类型的鉴别 ① 纳米乳的鉴别采用离心法<sup>[6]</sup>,将制备好的纳米乳液以  $4\ 000\ \text{r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 30 min,观察是否有浑浊、分层、药物析出等情况,若仍澄清透明,可判断该乳液为纳米乳。② 纳米乳结构类型的鉴别采用染色法<sup>[7]</sup>,将水溶性染料亚甲蓝和脂溶性染料苏丹红 III 分别滴加到制备出的样本中,如果蓝色扩散速度明显大于红色,则可判定该纳米乳为水包油(O/W)型;反之则为油包水(W/O)型;二者速度一样时为双连续型。

1.6.2 非泼罗尼纳米乳形态观察 将非泼罗尼纳米乳用蒸馏水稀释 8 倍,滴加在覆盖有碳膜的铜网上,室温下自然干燥后,用质量分数为 2.0% 磷钨酸负染,通过透射电镜检测纳米乳的形态<sup>[8]</sup>。

1.6.3 非泼罗尼纳米乳粒径分析 将非泼罗尼纳米乳用蒸馏水稀释 8 倍后,用激光粒度分析仪测定其平均粒径(Z-Average)、多分散系数(PDI)和粒径分布(Size Distribution by Intensity)。

1.6.4 非泼罗尼纳米乳稳定性考察 ① 留样观察试验:将制备好的非泼罗尼纳米乳分别于  $-4\ ^\circ\text{C}$ 、室温和  $60\ ^\circ\text{C}$  下保存,于 1、3、6 个月取样观察其外观是否有浑浊、分层及药物析出等现象,并将非泼罗尼纳米乳于  $4\ 000\ \text{r} \cdot \text{min}^{-1}$  转速下离心 30 min,观察其外观。② Zeta 电位测定:取非泼罗尼纳米乳用蒸馏水稀释 8 倍后于  $25\ ^\circ\text{C}$  下用 pH 计测定其 pH 值,用马尔文 Zeta 电位分析仪测定其 Zeta 电位,根据电位大小考察其稳定性。

### 1.7 非泼罗尼纳米乳皮肤急性毒性试验

选取 20 只体重为 2~2.2 kg 健康家兔。将其随机分为 5 组,每组 4 只,雌雄各半。给药前 24 h 用 8% 的硫化钠溶液去毛,面积大约  $15\ \text{cm} \times 10\ \text{cm}$ ,观察皮肤应无损伤为合格。将 5 组试验家兔随机分为对照组、完整皮肤高剂量组、完整皮肤低剂量组、破损皮肤高剂量组和破损皮肤低剂量组。破损皮肤模型制作采用无菌注射器针头在去毛皮肤处划“#”形伤口,以轻微渗血为度,大小约为  $5\ \text{cm} \times 5\ \text{cm}$ 。低剂量组用药  $1\ \text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,高剂量组用药  $3\ \text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,用药后连续观察 1 周,记录试验动物的皮肤局部刺

激表现、全身症状、精神活动、死亡情况和其他中毒表现,如有动物死亡,则做大体病理剖检,必要时做病理组织学检查。

### 1.8 非泼罗尼纳米乳对小鼠经口急性毒性测定

根据文献报道的非泼罗尼原药的急性毒性毒理范围<sup>[9]</sup>,先采用预试验探索非泼罗尼纳米乳能使试验小鼠全部死亡的最小剂量( $D_m$ )和能使试验小鼠全部存活的最大剂量( $D_n$ )。根据结果实施正式试验<sup>[10]</sup>。选取 70 只体质量为  $(25 \pm 0.5)\ \text{g}$  的试验小鼠,将其随机分为 7 组,其中 1~6 组为试验组,第 7 组为对照组,每组 10 只,雌雄各半,饲养于同一环境下。配制组距(剂量间比值) $r = \sqrt[a-1]{D_m/D_n}$  ( $a$  为分组数),组数  $G=6$  的等比稀释的药液系列,根据预实验获得的  $D_m$  和  $D_n$  及上式,确定试验组小鼠给药剂量,以此剂量组对小白鼠灌胃给药,对照组试验小鼠灌胃相同剂量的生理盐水。给药后连续观察 1 周,期间每日观察并记录各组试验小鼠的中毒表现及死亡情况。用 SPSS 软件处理数据,求出该非泼罗尼纳米乳的  $LD_{50}$  和 95% 置信范围。

### 1.9 非泼罗尼纳米乳透皮释药试验

1.9.1 标准曲线的绘制 精确称取非泼罗尼 100 mg,将其在 50 g 二甲基亚砜中溶解后,用蒸馏水定容至 100 mL 容量瓶中;用蒸馏水将其配制质量浓度为 5、10、20、40、80 和  $100\ \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  的溶液,在 232 nm 波长处测定其吸光值,以质量浓度为横坐标,吸光度值为纵坐标绘制标准曲线,并获得标准曲线方程和相关系数。

1.9.2 动物皮肤准备及透皮释药试验 选取体重 25 g 左右的青年健康昆明种小白鼠,腹部用脱毛剂去毛后饲养 48 h,将小鼠处死,取无破损的皮肤,剔除皮下组织和脂肪,用生理盐水漂洗干净,将其浸泡于 PBS 液中, $4\ ^\circ\text{C}$  下保存备用。用接收室容积为 5 mL、池口扩散面积为  $0.785\ \text{cm}^2$  的 Franz 透皮扩散仪进行试验。试验时将皮肤角质层面向供给室,真皮层面向接收室,水温保持  $37\ ^\circ\text{C}$ ,转子转速保持  $600\ \text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ ,接收液为磷酸缓冲液( $\text{pH}=7.4$ ),向供给室中加入 0.5 mL 非泼罗尼纳米乳,于 0.25、0.5、1、1.5、2、3、4、6、8、10、12 h 后分别从接收池中取样 2 mL,同时补充 2 mL 接收液进入接收池。用紫外-可见分光光度计在 232 nm 波长处测量样品的吸光度值,依据标准曲线方程求出药物浓度。同法测定出非泼罗尼溶液在不同时间点的接收液药物浓度。每组测 3 个重复。试验中的非泼罗尼纳米乳

依照 1.5 节的配方和方法配制,非泼罗尼溶液为用适量二甲基亚砷溶解药物后再用蒸馏水稀释至所需浓度。

1.9.3 数据处理 根据以下公式计算单位面积累计透过量( $Q$ ),以稳态时  $Q$  对  $t$  进行线性回归,所得斜率为渗透系数( $J_{ss}$ )。

$$Q = (C_n V + V_0 \sum_{i=1}^{n-1} C_i) / A$$

式中: $C_n$  为第  $n$  个取样点所测得的药物浓度, $V$  为接收室体积, $V_0$  为取样体积, $C_i$  为第  $i$  ( $i \leq n-1$ ) 个取样点所测得的药物浓度, $A$  为有效扩散面积。

## 2 结果

### 2.1 油相的筛选

筛选结果表明,非泼罗尼在乙酸异丙酯、己酸乙酯、肉桂醛、乙酸丁酯和柠檬酸三丁酯中的溶解度分

别为 15%、6.5%、15%、12% 和 5%,考虑到载药量大,故可选乙酸异丙酯和肉桂醛作为油相,但考虑到乙酸异丙酯有一定挥发性,当做成纳米乳涂抹剂涂抹于宠物皮肤上后,油相的挥发可使非泼罗尼药物失去溶剂而析出,对其药效和生物利用度产生影响,不利于推广,故选肉桂醛为最佳油相。

### 2.2 表面活性剂的筛选

本试验筛选了 3 种常用的低毒无刺激的非离子表面活性剂。通过伪三元相图的筛选,结果表明,以 EL-40 为表面活性剂形成的相图阴影区面积最大(图 1),制备的纳米乳外观澄清透明,无浑浊、分层及药物析出等现象出现,形成的纳米乳最稳定。

### 2.3 表面活性剂和油相比 $K_m$ 值的确定

EL-40 和肉桂醛的质量比在 3 : 7 以上时均能形成澄清、透明、稳定,外观呈黄色的非泼罗尼纳米乳液,以 8 : 2 为最佳。

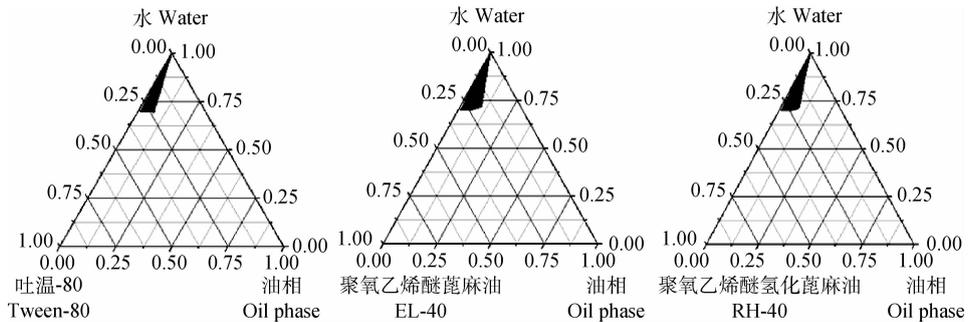


图 1 3 种表面活性剂形成的纳米乳区面积比较

Fig. 1 Comparison of the areas formed by three surfactants

### 2.4 非泼罗尼纳米乳的制备

参照上述油相、表面活性剂和  $K_m$  值的筛选结果,本试验成功制备了非泼罗尼纳米乳,最佳配方:非泼罗尼 1.2%、肉桂醛 8%、EL-40 32%、蒸馏水 58.8%。制备出的纳米乳外观呈黄色,澄清透明,体系均一,性质稳定,流动性好,可用水无限稀释,稀释后呈淡黄色。

### 2.5 非泼罗尼纳米乳结构类型的鉴别

非泼罗尼纳米乳经离心后,无浑浊、分层、药物析出等情况发生,可判定该体系为纳米乳体系。将样本用亚甲蓝和苏丹红 III 2 种染料染色后,结果显示,亚甲蓝在样本中的扩散速度明显大于苏丹红 III,可判定该纳米乳类型为水包油型(O/W 型)。

### 2.6 非泼罗尼纳米乳形态观察

由图 2 可知,非泼罗尼纳米乳在透射电镜下呈规则的圆球形,分布均匀,无粘连。

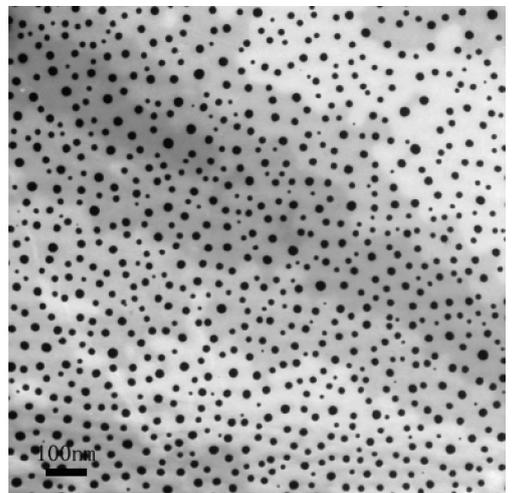


图 2 非泼罗尼纳米乳的透射电镜照片( $\times 50\ 000$ )

Fig. 2 TEM micrograph of Fipronil-NE( $\times 50\ 000$ )

## 2.7 非泼罗尼纳米乳粒径分析

经马尔文激光粒度分析仪测定,非泼罗尼纳米乳粒径分布于 5~24 nm(图 3),平均粒径为 11.5 nm;多分散系数(PDI)为 0.218。

## 2.8 非泼罗尼纳米乳稳定性考察

2.8.1 留样观察试验 结果表明,非泼罗尼纳米乳在-4℃、室温和 60℃下分别保存 1、3、6 个月后,仍澄清透明,未出现浑浊、分层或药物析出等现象,表明温度稳定性良好;加速离心后仍保持澄清透明,表明其加速稳定性良好。

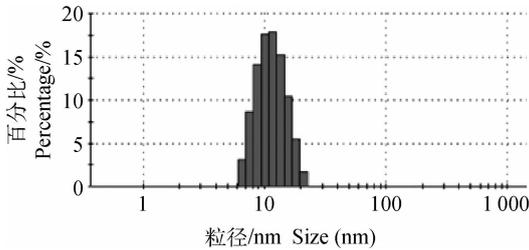


图 3 非泼罗尼纳米乳的粒径分布  
Fig. 3 Size distribution of Fipronil-NE

2.8.2 Zeta 电位考察 Zeta 电位分析结果表明,25℃时,制备的非泼罗尼纳米乳在稀释 8 倍后 pH 值为  $6.8 \pm 0.2$ ,在此 pH 下,非泼罗尼纳米乳的平均 Zeta 电位为 -20.6 mV,其分布如图 4 所示,在此电位下非泼罗尼纳米乳具有良好的稳定性。

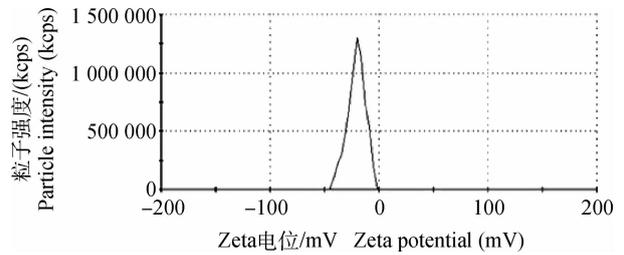


图 4 非泼罗尼纳米乳的 Zeta 电位分布 (pH=6.8)  
Fig. 4 Zeta potential distribution of Fipronil-NE (pH=6.8)

## 2.9 非泼罗尼纳米乳皮肤急性毒性试验

试验结果显示,药物去除后连续观察 1 周,所有受试家兔的皮肤和对照组相同,无任何红斑、水肿、出血等皮肤局部刺激表现,精神活动正常,无死亡现象发生。可证明制备的纳米乳对皮肤无局部刺激,使用安全。

## 2.10 非泼罗尼纳米乳对小鼠经口急性毒性试验

经预试验测定非泼罗尼纳米乳的急性毒性范围大致为  $1\ 000 \sim 6\ 000\ \text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,相邻 2 组较合适的剂量比  $r \approx 1.43$ 。正式试验结果见表 1,根据 SPSS 软件计算出非泼罗尼纳米乳的  $LD_{50}$  为  $2\ 626\ \text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,95%置信范围: $2\ 154 \sim 3\ 217\ \text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,按照外源受试化学物相对毒性分级标准,该非泼罗尼纳米乳属低毒( $500 \sim 5\ 000\ \text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )药物。

表 1 非泼罗尼纳米乳急性毒性试验结果

Table 1 The acute toxicity of Fipronil-NE

分组 Groups	剂量/( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) Dose	供试小鼠数 Number of mice	死亡小鼠数 Number of mortality	死亡率/% Mortality ration
1	1 000	10	0	0
2	1 430	10	1	10
3	2 045	10	3	30
4	2 924	10	6	60
5	4 181	10	8	80
6	5 980	10	10	100
7	0	10	0	0

## 2.11 非泼罗尼纳米乳透皮释药试验

2.11.1 标准曲线的绘制 在 232 nm 波长下,将不同质量浓度的非泼罗尼溶液和对应的吸光度绘制成曲线(图 5)。经线性回归得标准方程为  $y =$

$0.024\ 8x - 0.009\ 5$ ,相关系数  $R^2 = 0.999\ 2$ ,由图可知,非泼罗尼在  $5 \sim 100\ \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  浓度范围内线性关系良好。

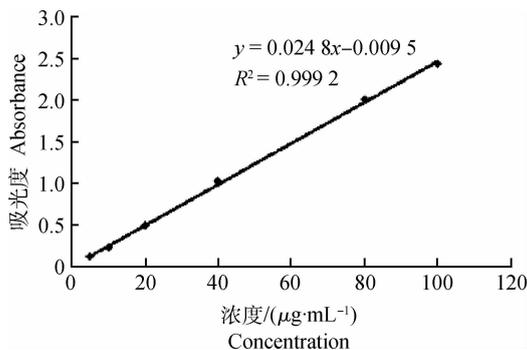


图5 质量浓度—吸光度曲线

Fig. 5 Curve of concentration versus absorbance

2.11.2 药物制剂的经皮释药结果 2组试验制剂不同取样点的单位面积透过量( $Q$ )随时间( $t$ )的变化曲线见图6。稳态时的回归方程、渗透系数( $J_{ss}$ )见表2,由图6可知,非泼罗尼纳米乳的透皮效果优于非泼罗尼溶液;由表2可知,非泼罗尼纳米乳制剂透皮速率约为溶液制剂的3.16倍,差异极显著( $P < 0.01$ ),表明非泼罗尼制备成纳米乳制剂后透皮效果显著提高。

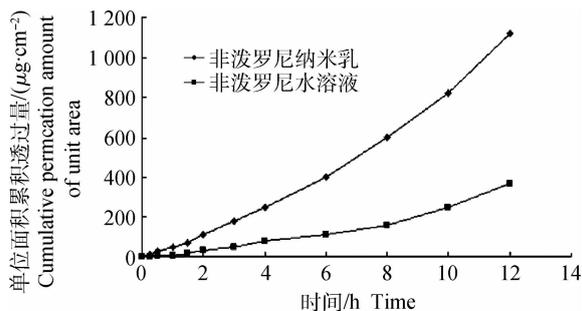
图6 非泼罗尼制剂的 $Q-t$ 曲线Fig. 6  $Q-t$  curves of tested Fipronil preparations

表2 非泼罗尼制剂经皮渗透效果

Table 2 Transdermal permeability of Fipronil preparations

试验样品 Test samples	稳态回归方程 Steady-state regression equation	渗透速率/ ( $\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$ ) $J_{ss}$
非泼罗尼纳米乳 Fipronil-NE	$y = 88.572x - 53.631$	$88.572 \pm 0.062^{**}$
非泼罗尼溶液 Fipronil solution	$y = 28.02x - 22.999$	$28.020 \pm 0.015$

\*\*表示本组数据与非泼罗尼溶液组相比差异极显著( $P < 0.01$ )

\*\* means significant difference between this row and Fipronil solution row ( $P < 0.01$ )

### 3 讨论

NE剂型和其他剂型相比,药物的比表面积非常大,有着显著的表面效应和小尺寸效应,是进入21世纪以来研究比较多的一种药物新剂型,也是适合大规模生产的药物载体之一,极具发展潜力<sup>[11]</sup>。近年来的研究表明,NE可提高多种疫苗的免疫原性,有可能成为新型佐剂<sup>[12-13]</sup>。在兽用制剂方面,与其他常规剂型相比NE具有诸多优点:①增加难溶药物在水中的溶解度,可使原本拌料的药物转为饮水给药,省时省力,用药方便;②提高了易水解药物的稳定性,由于药物溶于分散相中,外层由表面活性剂包裹,避免了易水解药物和水的直接接触;③可用水无限稀释,溶解均匀,不堵塞饮水器,用药趋于整齐,利于畜禽大群给药;④透皮率高,可经皮给药,减少动物应激等。NE形成主要依赖表面活性剂、油相和水相组分间的配比,配比越佳,形成的NE越稳定。选择药物油相时应选择溶解度高,对机体无毒无刺激且稳定的油相。选择好油相后,根据油相乳化所需的HLB值(亲水亲油平衡值)选择合适的表面活性剂,如表面活性剂不合适可考虑复配,最终使油相乳化所需的HLB值和表面活性剂的HLB值相同或接近即可制得理想的NE制剂。

非泼罗尼是首个用于防治有害生物的苯基吡唑类杀虫剂。自从1987年被发现以来在农业和兽医等领域得到了推广应用。兽医临床主要将其用于防治犬猫皮肤寄生虫,防治对象有跳蚤、螨虫、蜱、虱等<sup>[14-16]</sup>。剂型主要是喷剂和滴剂。但由于透皮效果差,药物生物利用度并不高。皮毛上过多的药物残留会因宠物舔舐而对其机体产生一定危害,同时,由于人类也不可避免跟宠物直接接触,健康也会受到威胁。本试验利用NE透皮率高的特性将其制成NE制剂,纳米级的药物粒径以及油相与皮肤的良好相容性使得药物很容易穿过皮肤局部病灶,杀灭寄生在体表的虫体。药物的生物利用度提高,原药使用量就相应减少,且NE剂型可用水无限稀释溶解,可通过日常洗澡达到完全消除皮毛药物残留的目的,免除了药物残留对宠物和人类健康造成的潜在威胁。本试验考察了非泼罗尼NE皮肤毒性、口服毒性和透皮性,结果表明其为低毒药物,透皮效果优于原药溶液剂,为其临床应用提供了依据。另外,许多透皮制剂产品中会加入一定量促渗剂氮酮以提高透皮效果,氮酮确实具有促进药物透皮吸收

的作用,但在本研究中发现,非泼罗尼 NE 加入氮酮后其温度稳定性反而降低,故未将氮酮作为体系成分,具体原因有待进一步研究。本试验对透皮效果的研究采用健康皮肤为试验对象,而在实际应用过程中,局部病灶皮肤会因寄生虫的机械作用、分泌物的化学作用和混合感染等因素而出现发炎、结痂、角质化等表现特征,透皮效果可能会和试验值有所差异,但不能否认 NE 剂型可提高透皮效果的特点。

尽管 NE 剂型和传统剂型相比有诸多优点,但 NE 剂型本身表面活性剂的含量较高,对机体有一定的溶血作用,如果长期大剂量使用仍不可避免对机体有一定损害。目前医药上允许使用的表面活性剂种类很少,因此,开发低毒或无毒的表面活性剂对于 NE 的推广有着重大意义<sup>[17]</sup>。同时,NE 剂型本身还存在着载药量有限的缺陷,当载药量低于临床治疗有效量时,需要增加用药次数才能达到效果,这样反而起不到使用方便的用药目的。由于 NE 剂型研究起步较晚,技术尚未成熟和完善,但笔者相信随着制药和化工技术的发展,NE 剂型必将很快得到临床应用,为畜牧业的发展作出贡献。

#### 参考文献:

- [1] 周晓梅,黄炳球.  $\gamma$ -氨基受体及其抑制剂的研究进展[J]. 世界农药, 1999, 22(6):17-22.
- [2] TINGLE C C, ROTHER J A, DEWHURST C F, et al. Fipronil: environmental fate, ecotoxicology, and human health concerns [J]. *Rev Environ Contam Toxicol*, 2003, 2(176):1-66.
- [3] SCHLENK D, HUGGETT D B, ALLGOOD J, et al. Toxicity of Fipronil and its degradation products to *Procambarus* sp: field and laboratory studies[J]. *Arch Environ Contam Toxicol*, 2001, 41(3):325-332.
- [4] 单正军,王连生,蔡道基,等. 新型杀虫剂锐劲特农药对甲壳类水生动物影响研究[J]. 中国农业科学, 2002, 35(8):949-952.
- [5] 陆 彬. 药物新剂型与新技术[M]. 北京:人民卫生出版社,1998:59-89.
- [6] SCHECHTER R S, BOURREL M. Micro-emulsions

and related systems[M]. New York: Marcel Dekker, 1998.

- [7] 张阳德. 纳米药理学[M]. 北京:化学工业出版社, 2005:163-188.
- [8] 叶海英,张忠义,高 申,等. 法莫替丁微乳的研制及其质量评价[J]. 第一军医大学学报, 2003, 23(1):68-70.
- [9] 张芳芳,孙建析,朱 勇,等. 氟虫腈原药的毒性鉴定[J]. 毒理学杂志, 2008, 22(3):246-247.
- [10] 宋 冰,欧阳五庆,刘梅雪,等. 乙酰异戊酰泰来菌素纳米乳的制备及其体外抑菌活性和急性毒性测定[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2012, 40(1):21-28.
- [11] 刘丽芳,张阳德. 中药纳米乳研究进展[J]. 中医药导报, 2010, 16(8):112-114.
- [12] 李 慧,张新文,余 巍,等. 红豆杉提取物和纳米乳包裹红豆杉提取物作为流感疫苗佐剂的初步研究及其 LD<sub>50</sub>的测定[J]. 医学研究杂志, 2012, 41(3):20-23.
- [13] HAMOUDA T, CHEPURNOV A, MANK N, et al. Efficacy, immunogenicity and stability of a novel intranasal-adjuvanted influenza vaccine in a murine mode[J]. *Hum Vaccin*, 2010, 6(7):585-594.
- [14] HUTCHINSON M J, JACOBS D E, FOX M T, et al. Evaluation of flea control strategies using fipronil on cats in a controlled simulated home environment [J]. *Vet Record*, 1998, 142(14):356-357.
- [15] NUTTALL T J, FRENCH A T, CHEETHAM H C, et al. Treatment of *Trombicula autumnalis* infestation in dogs and cats with a 0.25 percent fipronil pump spray[J]. *J Small Anim Pract*, 1998, 39(5):237-239.
- [16] DOWN A M, STAFFORD K A, COLES G C. Susceptibility of British head lice, *Pediculus capitis*, to imidacloprid and fipronil[J]. *Med Vet Entomol*, 2000, 14(1):105-107.
- [17] 胡宏伟,李剑勇,吴培星,等. 纳米乳在药剂学中的研究进展及其应用[J]. 湖北农业科学, 2009, 48(3):747-750.

(编辑 白永平)