

• 药剂与工艺 •

TPGS-壳聚糖载紫杉醇胶束的制备及大鼠在体肠吸收研究

陈田娥^{1,2}, 王 鸽¹, 陈敏婷¹, 张 玮^{1*}, 奉建芳^{1,2*}

1. 桂林医学院, 广西 桂林 541004

2. 广西中医药大学, 广西 南宁 530200

摘要: 目的 将聚乙二醇 1000 维生素 E 琥珀酸酯 (*D*- α -tocopherol polyethyleneglycol 1000 succinate, TPGS) 接枝于壳聚糖 (chitosan, CS) 分子中, 形成共聚物 TPGS-CS, 并以紫杉醇 (paclitaxel, PTX) 为模型药物, 构建 TPGS-CS/PTX 载药胶束, 考察其在大鼠各肠段吸收情况。方法 将琥珀酸酐 (succinic anhydride, SA)、4-二甲氨基吡啶 (4-dimethylaminopyridine, DMAP) 与 CS 发生酰胺化反应, 制备 TPGS-CS 共聚物, 采用红外光谱仪和核磁共振波谱仪对产物进行表征。以 PTX 为模型药物, 采用超声乳化法制备载药聚合物胶束, 用 HPLC 法测定包封率和载药量; 用动态光散射法 (dynamic light scattering, DLS) 测定粒径和 Zeta 电位; 采用透射电子显微镜 (transmission electron microscope, TEM) 观察胶束形貌; 基于在体肠吸收实验计算药物的吸收速度常数 (absorption rate, K_a)。结果 红外与核磁结果表明, TPGS 通过酰胺键接枝于 CS 上; TEM 观察结果显示, 胶束微观形态规整、粒径均匀; 大鼠在体肠吸收实验证实, 与 PTX 参比制剂相比, TPGS-CS/PTX 胶束在大鼠各肠段吸收速率提高 20%, 提示该胶束载药系统可能具有更高的生物利用度。结论 成功构建了 TPGS-CS 胶束载药系统, 胶束性质优良, 与 PTX 参比制剂相比, 一定程度提高了 PTX 的吸收速度常数, 促进药物口服吸收。

关键词: 聚乙二醇 1000 维生素 E 琥珀酸酯; 壳聚糖; 紫杉醇; 在体肠吸收; 共聚物

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2018)24-5780-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.24.008

Preparation and characteristics of TPGS-CS/PTX polymeric micelles and its *in vivo* intestines absorption in ratsCHEN Tian-e^{1,2}, WANG Ge¹, CHEN Min-ting¹, ZHANG Wei¹, FENG Jian-fang^{1,2}

1. Guilin Medical University, Guilin 541004, China

2. Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530200, China

Abstract: Objective To obtain the intestines absorption of TPGS-CS/PTX polymeric micelles in rats, a drug-loaded micelle system was established by a kind of amphiphilic copolymer, *D*- α -tocopherol polyethylene glycol 1000 succinate-chitosan (TPGS-CS) was prepared by grafting *D*- α -tocopherol polyethyleneglycol 1000 succinate (TPGS) as the donor of the micelle hydrophobic group on chitosan (CS) as bioadhesive material, and loading paclitaxel as model drug. **Methods** TPGS was activated by its hydroxy-terminal carboxylation with succinic anhydride (SA) and 4-dimethylaminopyridine (DMAP). The TPGS-CS copolymer was prepared by the amidation of free amino groups on CS. The chemical structure of the TPGS-CS grafted copolymer was characterized by Fourier transform-infrared spectroscopy (FT-IR) and Nuclear magnetic resonance spectroscopy (NMR). The polymer micelle loading paclitaxel was selected as model drug and TPGS-CS/PTX was prepared by ultrasonic emulsification method. The encapsulation efficacy (EE) and drug loading (DL) were determined by high performance liquid chromatography (HPLC). The particle size, Zeta potential, and size distribution of the micelle system were measured by dynamic light scattering (DLS). The surface morphology of the micelles was investigated by Transmission electron microscopy (TEM). The *in vivo* intestines absorption rate (K_a) of paclitaxel-loaded

收稿日期: 2018-08-05

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81573623); 国家自然科学基金资助项目 (81760718)

作者简介: 陈田娥 (1975—), 女, 硕士研究生, 研究方向为中药制剂新技术、新剂型。E-mail: 371941857@qq.com

*通信作者 奉建芳 Tel: 13817588549 E-mail: fengjianfang@vip.163.com

张 玮 Tel: 13557330014 E-mail: 22437564@qq.com

TPGS-CS micelle was calculated in rats. **Results** The results of FT-IR and ^1H NMR indicated that the copolymer (TPGS-CS) was synthesized. The TEM result showed that the formed particles were uniform in shape without aggregation. The K_a of TPGS-CS/PTX was 20 percent higher in comparison to the reference preparation, it indicated that this polymeric micelles could increase bioavailability. **Conclusion** The proposed TPGS-CS copolymer was successfully synthesized in this experiment, and the drug-loaded micelles prepared by ultrasonic emulsification exhibited good characteristics compared with the reference preparation, the K_a of paclitaxel was increased to some extent to promote oral absorption of the drug.

Key words: *D*- α -tocopherol polyethylene glycol 1000 succinate; chitosan; paclitaxel; *in vivo* intestines absorption; copolymer

聚合物胶束 (polymeric micelles) 由两亲性聚合物组成, 作为药物载体的聚合物胶束为典型的核-壳结构, 大小在几十到几百纳米范围内^[1-4]。将聚合物胶束开发为口服给药系统有助于降低药物对胃肠道的刺激性, 增加吸收部位的药物浓度, 提高药物在胃肠道中的稳定性, 提高生物利用度^[5-7]。两亲性壳聚糖可以通过酰化作用在壳聚糖 (chitosan, CS) 上嫁接疏水性化合物, 如将脂肪酸或胆酸接枝于壳聚糖上, 在水溶液中因为合成物上的疏水基团和亲水基团的相互作用而通过自组装反应形成胶束载体^[8-11]。聚乙二醇 1000 维生素 E 琥珀酸酯 (*D*- α -tocopherol polyethyleneglycol 1000 succinate, TPGS) 是维生素 E 的水溶性衍生物, 由亲水的极性聚乙二醇头和亲脂的非极性维生素 E 琥珀酸酯尾组成^[12-15]。本实验以壳聚糖和维生素 E 琥珀酸酯为载体材料, 以紫杉醇 (PTX) 为模型药物, 制备了一种口服 PTX 载药胶束 (CS-TPGS/PTX), 关于本胶束在体肠吸收的研究目前尚未见报道, 具有一定的创新性, 实验结果表明制备的胶束显著提高了 PTX 的在体肠吸收, 延长药物循环时间, 生物利用度明显改善。

1 仪器与试药

1.1 主要仪器

79-2 磁力搅拌器, 江苏省金坛市荣华仪器制造有限公司; N-1100 旋转蒸发仪、OSB-2100 油浴锅, 上海爱朗仪器有限公司; HB-III 循环水式多用真空泵, 郑州长城科工贸有限公司; MS105 电子天平, 上海天美天平仪器有限公司; Master flex L/S 定速蠕动泵, 美国 Cole-Parmer 仪器公司; 切向流超滤膜超滤, 10 000 MWCO PES, Sartorius Stedim Lab Ltd., UK; ALPHA 1-4 LD plus 冷冻干燥机, 德国 Marin Christ 公司; DZF-6050 真空干燥箱, 上海博讯实业有限公司; SCIENTZ-II D 超声波细胞粉碎机, 宁波新芝生物科技股份有限公司; Bio-Rad FTS3000 红外光谱仪, Bio-Rad 公司; ZEN3600 激光粒度分析仪, 马尔文仪器有限公司; LEAD-2-A 蠕动泵驱动器, 保定兰格恒流泵有限公司; Bruker

Avance 500 MHz 核磁共振仪, 瑞士布鲁克公司; 水浴锅, 江苏金怡仪器科技有限公司; 加热器, 广东美的环境电器制造有限公司。

1.2 试剂与药品

TPGS、琥珀酸酐 (succinic anhydride, SA)、4-二甲氨基吡啶 (4-dimethylaminopyridine, DMAP)、氨基甲酸乙酯、吗啉乙磺酸购自阿拉丁试剂有限公司; 1-乙基-3-(3-二甲氨基丙基) 碳二亚胺盐酸盐 (EDC·HCl)、*N*-羟基琥珀酰亚胺 (NHS), 上海金穗生物科技有限公司; CS, 相对分子质量 30 000, 脱乙酰度 95%, 合肥博美生物科技有限公司; 三乙胺、二氧六环、二氯甲烷、无水乙醚、二甲基亚砜、甲醇、冰醋酸、醋酸乙酯均为分析纯, 购自西陇化工股份有限公司; PTX, 批号 160306, 质量分数 99%, 西安天宝生物科技有限公司; 酚红、Kerbs-Ringer 试剂, 北京索莱宝科技有限公司; 生理盐水, 广西裕源药业有限公司; 聚氧乙烯氢化蓖麻油 (EL-40), 源叶生物科技有限公司; 甲醇, 色谱纯, 美国 Tedia 公司。

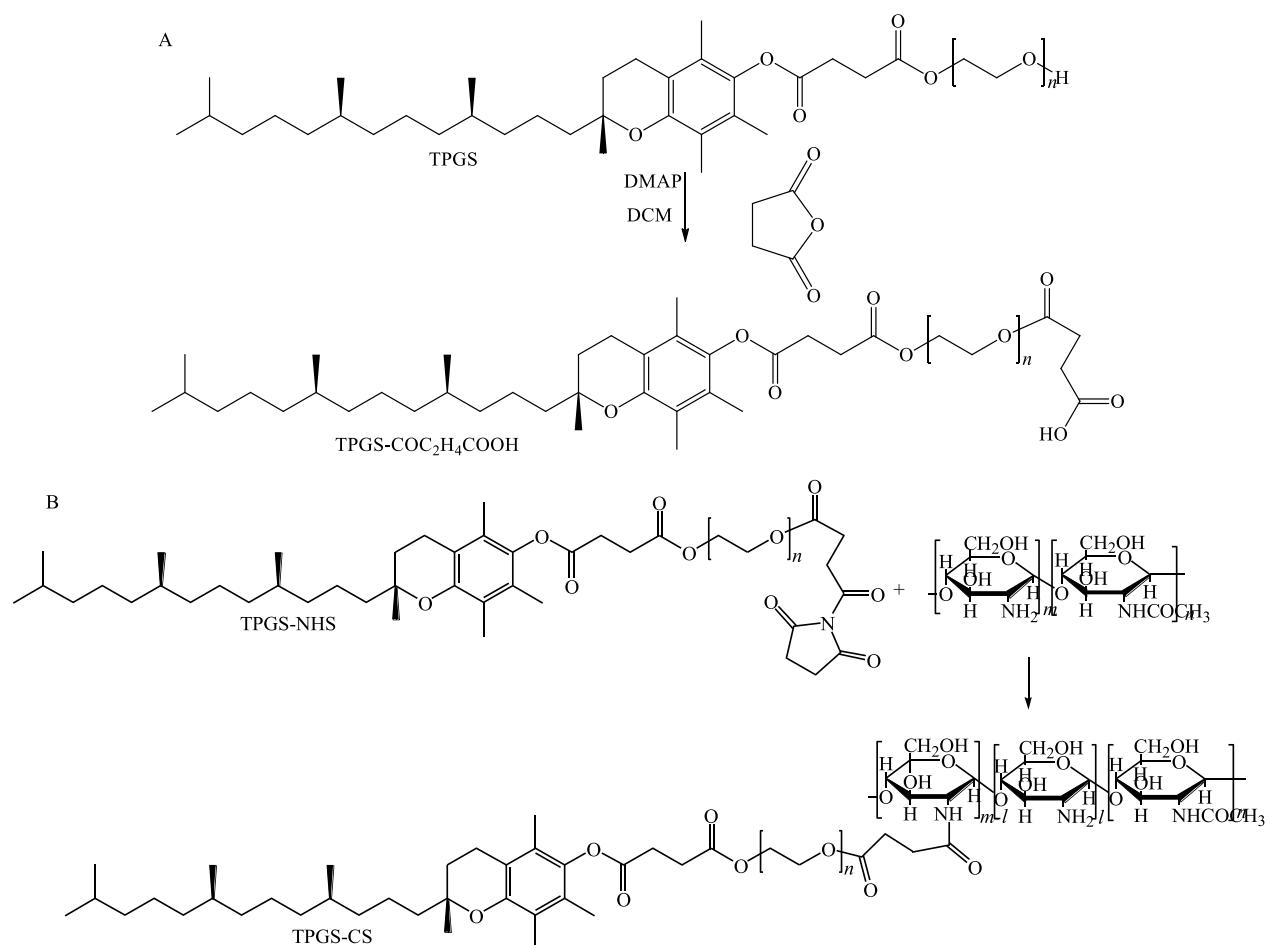
Sprague Dawley (SD) 大鼠, 雌性, 20 只, 桂林医学院动物房, 体质量 180~220 g, 许可证号 SYXK 桂 2013-001。

2 方法与结果

2.1 TPGS-CS 的合成和表征^[16]

2.1.1 TPGS-CS 的合成 称取 TPGS 0.5 g、SA 0.66 g、DMAP 0.04 g 放置于 50 mL 的圆底烧瓶中, 真空干燥 4 h, 用适量纯化后的二氯甲烷将原料全部溶解后, 加入少量三乙胺, 在氮气保护下加热回流 24 h, 反应完毕后, 将溶液在 40 °C 下减压蒸发除去溶剂, 得到黄色油状物, 用二氯甲烷将其溶解, 0.45 μm 微孔滤膜滤过去除白色沉淀 (未反应的 SA), 产物过硅胶柱除杂, 湿法上样, 洗脱剂为二氯甲烷-醋酸乙酯-甲醇 (9:2:2)。用硅胶薄层板监控过柱情况, 收集特定段的液体, 旋转蒸发得到黏稠液体 TPGS 丁二酸单酯。反应路线图见图 1-A。

将上步产物与 EDC·HCl 及 NHS 发生缩合反



A 为 TPGS 端羟基羧化反应路线图 B 为 TPGS-CS 接枝反应路线图
 A is synthesis route of TPGS-COC₂H₄COOH B is synthesis route of TPGS-CS copolymers

图 1 TPGS-CS 接枝聚合物的合成路线图

Fig. 1 Synthetic pathway of chitosan with TPGS

应。按物质的量比 1 : 1.2 : 1.2 分别称取 TPGS 丁二酸单酯、EDC·HCl、NHS 置于真空干燥箱中干燥 4 h, TPGS 丁二酸单酯 (TPGS-COC₂H₄COOH) 与 EDC 溶于 pH 值为 5.0 的吗啉乙磺酸缓冲液中, 冰浴下磁力搅拌反应 10 min 后加入 NHS, 继续常温反应 6 h, 即得活化好的 TPGS-NHS。

取 CS 0.8 g, 在 1% 的醋酸水溶液中搅拌至完全溶解。将上述活化产物滴加到 CS 溶液中, 继续搅拌 24 h 使其充分反应。然后将反应物装入烧杯中, 用切向流超滤膜 (切割相对分子质量为 10 000) 超滤, 除去未反应完的 EDC 及其他副产物。收集透析产物, 冷冻干燥得到产物, 置于干燥器中储存备用。反应路线图见图 1-B。

2.1.2 TPGS-CS 的表征

(1) 傅里叶红外变换光谱 (FTIR) 分析: 采用压片法制备样品。称取 CS、TPGS-COC₂H₄COOH、

TPGS-CS 各 2 mg, 分别与 KBr 研磨, 压片, 测试。扫描范围 4 000~400 cm⁻¹, 判断是否得到目标产物。TPGS 原料以及 TPGS-COC₂H₄COOH 的 FTIR 图谱见图 2-A、B, 可以看出 TPGS 原料在 1 739 cm⁻¹ 处有 1 个强吸收峰, 这是 TPGS 原料中丁二酸双酯的羰基峰 (C=O)。而 TPGS 经羧基化后, 丁二酸双酯和丁二酸单酯的 C=O 吸收峰合并出现在 1 716 cm⁻¹ 处; 1 645 cm⁻¹ 是丁二酸单酯的羧酸 C=O 的特征吸收峰。

CS 原料及 CS 接枝 TPGS 后的 FTIR 图谱见图 2-C、D, 图 2-C 的谱图中 3 300~3 500 cm⁻¹ 处为羟基 (-OH) 或氨基 (-NH₂) 的吸收峰, 1 653 cm⁻¹ 处的吸收峰为酰胺 I 谱带, 1 597 cm⁻¹ 处的吸收峰为酰胺 II 谱带, 与图 2-C 相比, 图 2-D 所示的 TPGS-CS 的图谱中, 在 1 730 cm⁻¹ 处有 1 个羰基的峰, 峰强较弱, 参考 TPGS-COC₂H₄COOH 红外图谱, 该峰

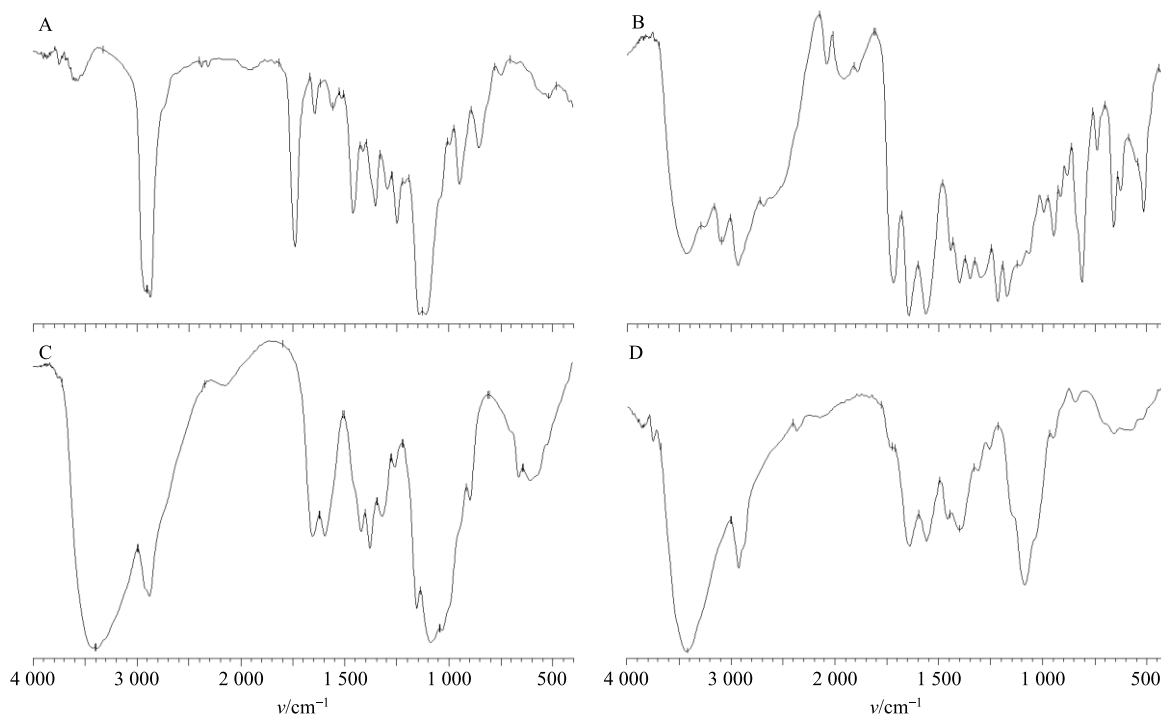


图 2 TPGS 原料 (A)、TPGS-COC₂H₄COOH (B)、CS 原料 (C) 和 TPGS-CS 聚合物 (D) 的 FTIR 图

Fig. 2 FTIR spectra of TPGS (A), TPGS-COC₂H₄COOH (B), CS (C), and TPGS-CS copolymers (D)

为丁二酸酯的羰基峰 (C=O); 且在 3 300~3 500 cm^{-1} 处的伸缩振动峰明显减弱, 说明 CS 上的 -OH 或者 -NH₂ 被取代, 而且在 1 639 cm^{-1} 和 1 556 cm^{-1} 处出现了酰胺的谱带位移, 说明形成了酰胺键, 这说明 TPGS 与 CS 通过酰胺键成功的接枝在一起。

(2)核磁共振氢谱 (¹H-NMR) 分析: 称取 TPGS、TPGS-COC₂H₄COOH 各 10 mg, 分别溶于氘代氯仿 (CDCl₃) 中, 称取 CS、TPGS-CS 各 10 mg 溶于重水 (D₂O) / 氘代三氟乙酸 (CF₃COOD) (5:1) 中, 上机检测, 判断是否得到目标产物。TPGS 与 TPGS-COC₂H₄COOH 的 ¹H-NMR 谱图中, 位于 δ 0.80 处的峰是 TPGS 中维生素 E 琥珀酸酯结构中甲基上氢的化学位移值, δ 1.00~1.80 处为维生素 E 琥珀酸酯结构链段中亚甲基上氢的信号峰, δ 1.96、2.00、2.07 处为维生素 E 苯环上氢的信号峰, δ 2.59 处为维生素 E 苯并二氢吡喃环 4 位亚甲基上氢的信号峰, δ 2.80、2.94 处为 TPGS 丁二酸链上 2 个亚甲基上氢的信号峰, δ 3.60 处的信号峰属于结构中聚乙二醇链上的亚甲基的信号峰。与 TPGS 的谱图对比可发现, TPGS-COOH 的谱图中多出了 δ 2.65 处重叠的 2 个三重峰 (图 3 中 a 峰), 这是与 TPGS 的聚乙二醇链羟基端相连的丁二酸上亚甲基氢的信号峰, δ 4.25 处为聚乙二醇链和酯基相连亚甲基峰 (图 3 中 b 峰), 从三重峰变为六重峰, 从而证实了 TPGS

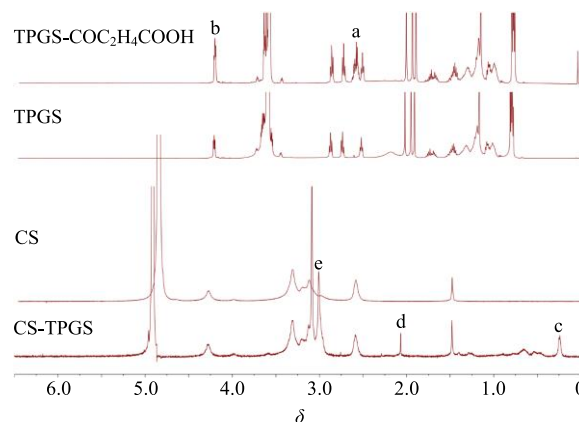


图 3 TPGS-CS 核磁共振氢谱图

Fig. 3 ¹H-NMR of TPGS-CS

端羟基成功被羧化。

CS 原料和 TPGS-CS 共聚物的 ¹H-NMR 图, 可能是由于氘代试剂及核磁共振条件不同的原因, 与相关文献对照发现, CS 的图谱位移值出现了一定程度的偏移, 不过主要的峰形是一致的。可以看到, δ 2.8~3.5 处的峰属于 CS 糖环骨架上各质子的特征峰, TPGS-CS 的图谱与 CS 原料相比, 共聚物所具有的 CS 特征峰依然存在, 而化学位移在 δ 0.27、2.15、2.91 出现新峰 (图 3 中 c、d、e 峰), c 为维生素 E 琥珀酸酯脂肪链中 -CH₃ 和 -CH₂- 的信号峰, d 为维生素 E 苯环上甲基峰, e 为聚乙二醇链上没有和酯基相连的亚甲基峰, 这说明 TPGS 成功接枝到

了壳聚糖上。

2.2 TPGS-CS 胶束的制备和表征

2.2.1 TPGS-CS 胶束的制备 称取 TPGS-CS 50 mg, 置 100 mL 烧杯中, 加入 25 mL 水, 搅拌溶解, 完全溶解后, 加入 1 g/L 的 PTX 三氯甲烷溶液 2 mL, 用细胞超声破碎仪超声 10 min (170 W, 冰水浴), 完全乳化后, 室温搅拌挥干氯仿。0.45 μm 微孔滤膜滤过后, 液体于 4 $^{\circ}\text{C}$ 保存备用或冷冻干燥, 即得。

2.2.2 TPGS-CS 胶束的表征

(1) 粒径和 Zeta 电位测定: 取 TPGS-CS 胶束溶液 1 mL, 加水稀释 10 倍, 采用 ZEN 3600 激光粒度分析仪测定 TPGS-CS 载药后胶束的粒径和 Zeta 电位 (图 4)。TPGS-CS 载药胶束的 Zeta 电位为 $(29.0 \pm 1.0) \text{ mV}$, 平均粒径为 $(159.4 \pm 6.4) \text{ nm}$, 聚合物分散指数 (polymey disperse index, PDI) 为 0.17 ± 0.01 。

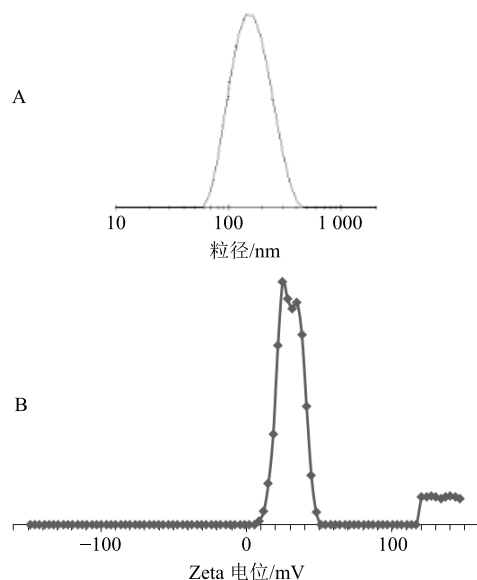


图4 TPGS-CS 胶束粒径分布 (A) 和 Zeta 电位 (B)

Fig. 4 Particle size distribution (A) and Zeta potential (B) of PTX-loaded TPGS-CS

(2) 包封率和载药量测定: 采用 HPLC 测定 TPGS-CS 载药胶束中的 PTX 含量。

色谱条件: Shimadzu-GL ODS-2 色谱柱 (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm); 流动相为甲醇-水 (75 : 25); 体积流量 1.0 mL/min; 检测波长 228 nm; 进样量 20 μL , 柱温 30 $^{\circ}\text{C}$ 。

取经 0.22 μm 微孔滤膜滤过后的 TPGS-CS 载药胶束溶液 100 μL , 加入色谱甲醇稀释 2.0 mL, 涡旋 1 min, 破坏胶束, 12 000 r/min 离心 10 min, 取上清液进样测定, 按公式分别计算其包封率和载药量。

TPGS-CS 载药胶束的包封率为 76.0%, 载药量为 2.4%。

包封率=胶束中的药量/投入的药量

载药量=胶束中的药量/(投入的药量+载体材料的质量)

(3) 形态观察: 采用透射电子显微镜 (TEM) 观察胶束粒子的形态。将 TPGS-CS 载药胶束溶液用水稀释后, 滴至表面有支持膜的铜网上, 自然晾干后, 用 1% 磷钨酸染色, 自然晾干后, 送检。从图 5 可见, 载药胶束呈球形, 有清晰的核-壳结构, 呈椭圆形, 粒径约为 160 nm。

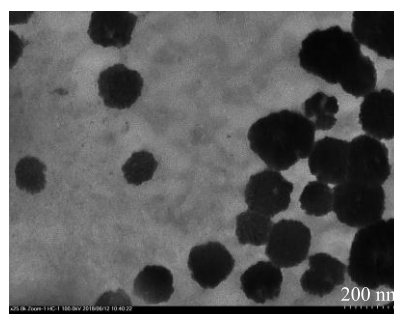


图5 TPGS-CS 载 PTX 透射电镜图

Fig. 5 TEM images of PTX-loaded TPGS-CS micelles

2.3 在体肠吸收实验^[17-18]

2.3.1 溶液的配制 配制 20% 乌拉坦溶液 (0.2 g/mL), 酚红 Krebs-Ringer 溶液 (20 $\mu\text{g/mL}$), TPGS-CS 载药供试液、PTX 参比供试溶液 (取 PTX 用 EL-乙醇溶解), 此 2 种溶液均含 PTX 20 $\mu\text{g/mL}$, 溶剂为酚红 Krebs-Ringer 溶液。

2.3.2 HPLC 法测定 PTX 含量 色谱条件同“2.2.2 (2)”项下。取 PTX 配制成 2、5、10、15、20 $\mu\text{g/mL}$ 的溶液, 进样, 计算在此范围内质量浓度和峰面积。线性方程为 $Y=1\,987.3\,X+4.515\,1$, $r^2=1.000\,0$ 。表明 PTX 在 2~20 $\mu\text{g/mL}$ 线性关系良好。样品预处理: 12 000 r/min 转速离心 5 min, 取上清液进样。

2.3.3 分光光度法测定酚红含量 取酚红约 25 mg, 精密称定, 置 250 mL 量瓶中, 加水溶解并稀释至刻度, 摇匀, 精密量取 1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0 mL 置 10 mL 量瓶中, 加水稀释至刻度, 摇匀, 再分别量取 0.5 mL, 置 10 mL 具塞试管中, 加 0.2 mol/L 的氢氧化钠溶液 5 mL, 在 555 nm 波长处测定吸光度 (A) 值, 得酚红标准曲线方程。取 0.5 mL 样品溶液, 置 10 mL 具塞试管中, 加 0.2 mol/L 的氢氧化钠溶液 5 mL, 摇匀, 同法测定 A 值, 计算含量。

2.3.4 在体肠吸收实验 调节蠕动泵体积流量为

5、2.5 mL/min。将恒温水浴锅水浴温度调节为 $(37.0\pm 0.5)^{\circ}\text{C}$ 。取 75 mL 供试液，置锥形瓶中，置恒温水浴中预热至 $(37.0\pm 0.5)^{\circ}\text{C}$ 。取生理盐水 1 瓶，置恒温水浴中预热至 37°C 备用。取禁食 12 h、体质量约为 200 g 的 SD 大鼠，按 1.0 g/kg 体质量 ip 20%乌拉坦溶液，麻醉后固定于手术台上。沿 SD 大鼠腹部中线打开腹腔（3~4 cm），在十二指肠、空肠、回肠、结肠上下部各切一小口，插入直径约 0.3 cm 的橡胶管，并用线扎紧。用 10 mL 注射器将 37°C 的生理盐水缓缓注入肠管，清洗肠管至净。将肠管两端的橡胶管分别插入盛有供试液的锥形瓶中，形成回路，打开蠕动泵，以 5 mL/min 的体积流量循环 10 min 后，将体积流量调整为 2.5 mL/min，立即自锥形瓶中取样 2 份（各 1 mL），分别作为供

试液和酚红液零时间样本，同时向锥形瓶中补加酚红 Krebs-Ringer 溶液 2 mL，其后每隔 15 min 按同法取样及补加酚红液，2 h 后停止循环。实验后处死大鼠。分别测定 PTX 和酚红的质量浓度。

2.3.5 酚红法计算药物吸收速率常数 (K_a) 根据 PTX 在不同时间的剩余药量的对数值对相应的时间做图，由直线斜率求出 K_a 。在体肠吸收实验结果见表 1。由表 1 可知，TPGS-CS 载 PTX 胶束的 K_a 与对照制剂相比，十二指肠处升高 33.1%，空肠处升高 59.6%，回肠处升高 19.5%，结肠处升高 19.7%。由此可知，TPGS-CS/PTX 能有效提高 PTX 在体肠吸收情况。

$$\ln X = \ln X_0 - K_a t$$

X 、 X_0 分别为剩余药量和循环前的药量， t 为取样时间

表 1 TPGS-CS/PTX 和对照制剂 K_a 值 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 1 *In vivo* K_a of TPGS-CS-PTX and reference preparation ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	K_a			
	十二指肠	空肠	回肠	结肠
TPGS-CS/PTX	$0.094\ 7 \pm 0.000\ 6$	$0.150\ 2 \pm 0.001\ 0$	$0.131\ 8 \pm 0.000\ 9$	$0.169\ 6 \pm 0.000\ 8$
对照制剂	$0.063\ 3 \pm 0.000\ 7$	$0.060\ 6 \pm 0.000\ 5$	$0.106\ 1 \pm 0.000\ 6$	$0.136\ 2 \pm 0.000\ 7$

3 讨论

CS 微溶于水^[18-19]，实验中常需在酸性溶液中才能溶解，如醋酸、盐酸溶液，本实验制备得到的 TPGS-CS 共聚物的水溶性较好，不用加入任何的有机或无机酸，只需将共聚物投入纯化水中，稍加搅拌即可溶解，TPGS 接枝于 CS 后，溶解性增加。

在载药胶束制备时，选用了探头超声法和超声乳化法制备出的载药胶束，超声乳化法制备的胶束粒径和粒径分布数据更加理想，粒径在 160 nm 左右，Zeta 电位呈正电，可能是由于 CS 上的氨基质子化之后的作用，使得胶束整体具有正电位。故选用超声乳化法制备胶束。

采用透射电镜测定的粒径与马尔文粒度仪测定的粒径相当，其形状呈椭圆形，此过程可能使胶束发生皱缩，使得在镜头视野下的胶束粒径显得相对较小。

在体肠实验中，TPGS-CS/PTX 胶束溶液和 PTX 聚氧乙烯氢化蓖麻油 EL-40 乙醇（1：1）溶液相比，前者的载药量大，主药吸收更多。在结肠中 K_a 较大，而在十二指肠较小，与文献报道^[17]不同。实验结果初步表明，TPGS-CS/PTX 胶束能提高难溶性药物 PTX 的生物利用度。进一步的吸收机制研究如黏蛋

白吸附、采用香豆素作为荧光探针标记的材料在 Caco-2 细胞中的摄取等实验也已完成，表明 TPGS-CS 能使摄取增加。其他机制研究正在进行中。

参考文献

- [1] Hejazy R, Amiji M. Chitosan-based gastrointestinal delivery systems [J]. *J Control Release*, 2003, 89(2): 151-165.
- [2] Kataoka K, Harada A, Nagasaki Y. Block copolymer micelles for drug delivery: Design, characterization and biological significance [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2001, 47(1): 113-131.
- [3] Kazunori K, Masayuki Y, Teruo O, *et al.* Block copolymer micelles as vehicles for drug delivery [J]. *J Control Release*, 1993, 24(1): 119-132.
- [4] 韩晓燕, 张毅, 赵培莉, 等. 甘草次酸修饰的壳寡糖-硬脂酸药物载体的合成及其胶束性质研究 [J]. *中草药*, 2011, 42(3): 505-509.
- [5] Bae Y, Nishiyama N, Fukushima S, *et al.* Preparation and biological characterization of polymeric micelle drug carriers with intracellular pH-triggered drug release property: Tumor permeability, controlled subcellular drug distribution and enhanced *in vivo* antitumor efficacy [J]. *Bioconjug Chem*, 2005, 16(1): 122-130.
- [6] Akimoto J, Nakayama M, Okano T. Temperature-

- responsive polymeric micelles for optimizing drug targeting to solid tumors [J]. *J Control Release*, 2014, 193(14): 2-8.
- [7] Danhier F, Danhier P, de Saedeleer C J, *et al.* Paclitaxel-loaded micelles enhance transvascular permeability and retention of nanomedicine in tumors [J]. *Int J Pharm*, 2015, 479(2): 399-407.
- [8] Nishiyama N, Okazaki S, Cabral H, *et al.* Novel cisplatin-incorporated polymeric micelles can eradicate solid tumors in mice [J]. *Cancer Res*, 2003, 63(24): 8977-8983.
- [9] Park J H, Saravanakuma R G, Kim K, *et al.* Targeted delivery of low molecular drugs using chitosan and its derivatives [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2010, 62(1): 28-41.
- [10] Hsu S C, Don T M, Chiu W Y. Free radical degradation of chitosan with potassium persulfate [J]. *Polym Degrad Stabil*, 2002, 75(1): 73-83.
- [11] 尹丽娜, 张雅雯, 周云琰, 等. 积雪草酸自组装胶束的构建及其大鼠体内药动学研究 [J]. *中草药*, 2017, 48(23): 4891-4896.
- [12] Aranaz I, Harris R, Heras A. Chitosan amphiphilic derivatives chemistry and applications [J]. *Curr Org Chem*, 2010, 14(3): 308-330.
- [13] Krasavage W J, Terhaar C J D. Alpha-tocopheryl poly(ethylene glycol) 1000 succinate: Acute toxicity, subchronic feeding, reproduction, and teratologic studies in the rat [J]. *J Agr Food Chem*, 1977, 25(2): 273-278.
- [14] 田清菁, 苏钰清, 宋艳志, 等. 聚乙二醇 1000 维生素 E 琥珀酸酯纯度分析及其大鼠静脉注射药动学行为 [J]. *沈阳药科大学学报*, 2018, 35(1): 13-19.
- [15] 郑秋莹, 包建民, 周 微, 等. 聚乙二醇 1000 维生素 E 琥珀酸酯中单双酯的制备及 5 种成分含量测定 [J]. *中国现代应用药学*, 2018, 35(6): 825-831.
- [16] 储 敏. 聚乙二醇 1000 维生素 E 琥珀酸酯 (TPGS) 修饰壳聚糖纳米粒作为抗肿瘤药物传递载体的研究 [D]. 武汉: 华中科技大学, 2012.
- [17] 魏树礼, 张 强, 卢 炜, 等. 生物药剂学与药物动力学 [M]. 第 2 版. 北京: 北京大学医学出版社, 2015.
- [18] 廉 鹤. 功能性巯基化聚合物胶束口服药物传递系统的构建与评价 [D]. 沈阳: 沈阳药科大学, 2014.
- [19] Mourya V K, Inamdar N N. Chitosan-modifications and applications: Opportunities galore [J]. *React Funct Polym*, 2008, 68(6): 1013-1051.