双尾型表面活性剂 mPEG- 二硬脂酸酯的合成及其在胶束给药系统中的应用

杨玄琳，徐晓珍，郝　越，翁伟宇*
（华东理工大学药学院，上海市新药设计重点实验室，上海 200237）

摘要：本研究旨在合成聚乙二醇单甲醚（mPEG）链接二硬脂酸酯的双尾型表面活性剂，评估其作为载药胶束材料的潜力。选用相对分子质量为 1 000、2 000 和 5 000 的 mPEG，以（*R*）-3- 氨基 -1,2- 丙二醇为连接臂，合成了 3 种 mPEG- 氧羰基 -3- 氨基 -1,2- 丙二醇二硬脂酸酯（mPEG-DS）。测得各 mPEG-DS 的临界胶束浓度均低于 10 μg/ml；20 mg/ml 时的溶血率均小于 5%；对多西他赛的增溶效果均优于同浓度的 Tween-80，且随 mPEG 相对分子质量减小，聚合物对多西他赛的增溶效果增强。以 $mPEG_{1000}$-DS 和 $mPEG_{2000}$-DS 为材料制得的多西他赛胶束的粒径为（22.17±1.83）和（62.24±2.73）nm，几乎不带电荷，包封率均大于 95%。以 SD 大鼠为动物模型进行药动学试验，结果显示 $mPEG_{2000}$-DS 载药胶束静注后的药动学行为与市售多西他赛注射液（泰索帝）相似，而 $mPEG_{1000}$-DS 载药胶束则呈现明显的长循环特征，表明 mPEG-DS 具有成为载药胶束材料的良好潜力。

关键词：双尾型表面活性剂；聚乙二醇；硬脂酸酯；多西他赛；胶束；药动学
中图分类号：R944.9　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：1001-8255(2022)03-0345-07
DOI：10.16522/j.cnki.cjph.2022.03.010

Synthesis of mPEG-distearate-based Double-tailed Surfactants and the Application in Micellar Drug Delivery System

YANG Xuanlin, XU Xiaozhen, HAO Yue, WENG Weiyu*
(*Shanghai Key Lab. of New Drug Design, School of Pharmacy, East China University of Science and Technology, Shanghai 200237*)

ABSTRACT: This study aims to synthesize double-tailed surfactants (DTS) composed of polyethylene glycol monomethyl ether (mPEG) and stearate and evaluate their applications in micellar drug delivery system. Three mPEG-oxycarbonyl-3-amino-1,2-propanediol distearates (mPEG-DSs) were synthesized by using (*R*)-3-amino-1,2-propanediol as the linker to connect stearate with mPEGs of different molecular weights (1 000, 2 000, and 5 000). The critical micelle concentrations of three synthesized mPEG-DSs were lower than 10 μg/ml, and the hemolysis rates were less than 5% at 20 mg/ml of concentration. The solubilization effects of mPEG-DSs on docetaxel were better than that of Tween-80 at the same concentration, and their effects increased with decreasing molecular weight of mPEGs. The particle size of docetaxel-loaded micelles prepared with $mPEG_{1000}$-DS and $mPEG_{2000}$-DS were (22.17±1.83) and (62.24±2.73) nm, respectively. Both drug-loaded micelles exhibited neutral charge and high encapsulation efficiency (>95%). The pharmacokinetics was carried out with SD rats as animal models. After intravenous injection, the pharmacokinetic profiles of the docetaxel-loaded $mPEG_{2000}$-DS-based micelles were similar to those of the commercially available docetaxel injection (Taxotere). In contrast, the docetaxel-loaded $mPEG_{1000}$-DS-based micelles showed prolonged blood circulation time. In conclusion, the mPEG-DSs showed a good prospect for micellar drug delivery system application.

Key Words: double-tailed surfactant; polyethylene glycol; stearate; docetaxel; micelle; pharmacokinetics

相比于单尾型表面活性剂（single-tailed surfactant，STS），双尾型表面活性剂（double-tailed surfactant，DTS）因具有两条碳链，疏水缔合作用更强，故会呈现出更低的临界胶束浓度（CMC）、更高的结构稳定性及更优的增溶或乳化效果[1]。磷

收稿日期：2021-06-07
作者简介：杨玄琳(1995—)，女，硕士研究生，专业方向：制剂处方工艺研究。
通信作者：翁伟宇(1971—)，男，博士，副教授，从事制剂新剂型、新技术研究。
E-mail：wyweng@ecust.edu.cn

脂及其衍生物是目前获得美国FDA批准的药用DTS，但存在一定局限性：卵磷脂不溶于水，通常仅作为乳化剂和脂质体材料；磷脂衍生物的价格昂贵。除了磷脂类DTS外，有研究合成了一系列以聚乙二醇单甲醚（mPEG）为亲水端、烷基为疏水链、结构中不含磷酸的DTS[2—3]，这些DTS无可解离的基团，作为表面修饰材料能有效掩盖载体的表面电荷，有助于实现体内长循环。除用于表面修饰外，这些两亲性的DTS在水中应可自组装成胶束用作药物载体，但这方面的研究薄弱。

本研究选用不同相对分子质量（1 000、2 000、5 000）的mPEG，以（*R*）-3-氨基-1,2-丙二醇（APD）为连接臂，与硬脂酰氯发生酰化反应，合成了mPEG-氧羰基-3-氨基-1,2-丙二醇二硬脂酸酯（mPEG-DS）；并考察所得聚合物的CMC、溶血性和增溶效果；以及对比研究用以负载多西他赛（docetaxel，**1**）的胶束制剂与**1**注射液（泰索帝）在大鼠体内的药动学特征。

1　仪器与试药

Zetasizer Nano ZS90型激光粒度分析仪（英国马尔文仪器有限公司）；JEM-1400型生物透射电镜（日本JEOL公司）；1260 Infinity型高效液相色谱仪［安捷伦科技（中国）有限公司］；Ascend 600兆型核磁共振波谱仪（德国布鲁克分析仪器公司）；JY92-Ⅱ型超声波细胞粉碎仪（宁波新芝生物科技股份有限公司）。

1原料药［萨恩化学技术（上海）有限公司，纯度>99%，批号E060142］；**1**注射液［赛诺菲（杭州）制药有限公司，商品名泰索帝，规格20 mg∶0.5 ml，批号8F176A］；mPEG（相对分子质量1 000、2 000、5 000，记作$mPEG_{1000}$、$mPEG_{2000}$和$mPEG_{5000}$）和硬脂酰氯（上海麦克林生化科技有限公司）；*N*,*N*'-羰基二咪唑（CDI）和APD（上海泰坦科技股份有限公司）；Tween-80（注射级，南宁赢创美诗药业有限公司）；经无菌脱纤维处理的山羊血（上海楚柏实验室设备有限公司）；乙腈、甲醇为色谱纯，其余试剂均为分析纯。

健康SD大鼠18只（200～220 g，雌雄各半，上海杰思捷实验动物有限公司，动物合格证编号20180004034132），适应性饲养1周，自由饮水、饮食。

2　方法与结果

2.1　mPEG-DS的合成与结构表征

参考文献方法并稍做改动[3]，合成系列相对分子质量的mPEG-DS，反应路线如图1所示。以$mPEG_{1000}$-DS的合成为例，描述合成的具体步骤。

mPEG-氧羰基-3-氨基-1,2-丙二醇（$mPEG_{1000}$-APD）

将$mPEG_{1000}$（4.0 g，4.0 mmol）溶于二氯甲烷（40 ml）中，加入CDI（3.9 g，24.1 mmol），室温搅拌反应8 h。剧烈搅拌下滴加水5 ml终止反应，静置分层。取二氯甲烷层，用少量水洗涤1次后用无水硫酸钠脱水，然后减压干燥得无色黏稠液体$mPEG_{1000}$的CDI活化物（约4.2 g），直接用于下一步反应。

取APD（0.73 g，8.0 mmol）溶于DMSO（3 ml）中；另取上述所得的$mPEG_{1000}$的CDI活化物（3.0 g，

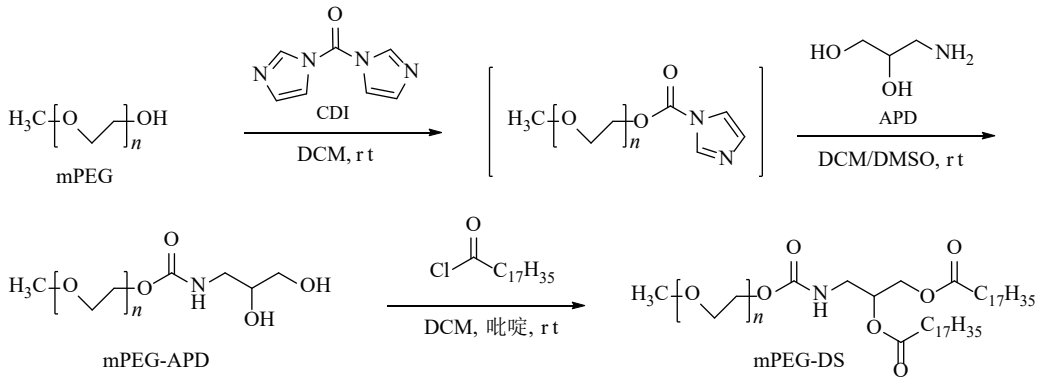


图1　mPEG-DS的反应路线

Fig.1　Synthetic Route of mPEG-DS

2.7 mmol）溶于二氯甲烷（15 ml）中，再滴加到APD溶液中，室温下搅拌反应12 h。反应结束后，加入水（2 ml），充分振摇，用浓盐酸调节水层pH值至2～3。离心，取有机层，再用饱和氯化铵溶液反复洗涤，直至水层用茚三酮检测时不显色。分层后取有机层，用无水硫酸镁充分脱水，再减压干燥得无色黏稠液体mPEG$_{1000}$-APD（2.3 g，收率74.2%）。^{1}H NMR（600 MHz，DMSO-d_6）δ: 7.04（t, *J*=5.6 Hz, NH, 1H）, 4.64（d, *J*=4.8 Hz, 2OH, 1H）, 4.48（t, *J*=5.6 Hz, 1OH, 1H）, 4.05（t, *J*=4.8 Hz, CO_2CH_2, 2H）, 3.51（s, PEG, 100H）, 3.25（s, OCH_3, 3H）, 3.10～3.06（m, APD的NCH_2, 1H）, 2.93～2.88（m, APD的NCH_2, 1H），氢谱数据与文献基本一致[3]。

mPEG-氧羰基-3-氨基-1,2-丙二醇二硬脂酸酯（mPEG$_{1000}$-DS）

取上述所得的mPEG$_{1000}$-APD（2.0 g，1.8 mmol，含OH 3.6 mmol）溶于二氯甲烷（20 ml），加入吡啶（0.72 g，9.1 mmol）混匀，用冰水浴使溶液温度降至室温以下。将硬脂酰氯（2.2 g，7.3 mmol）缓慢滴加到上述mPEG$_{1000}$-APD溶液中。加完后继续冰水浴反应30 min，再恢复至室温反应12 h。反应液中加入1倍量石油醚，搅匀，过滤，取滤液减压干燥得粗产物（约4.6 g）。粗产物用少量二氯甲烷溶解，再加到石油醚中使析出，反复数次，过滤，收集析出物，于60 ℃鼓风干燥得白色蜡状物mPEG$_{1000}$-DS（2.0 g，收率68.3%，mp 45.2～46.3 ℃）。^{1}H NMR（600 MHz，$CDCl_3$）δ: 5.12～5.07（m, CHOCO, 1H）, 4.26（dd, *J*=12.0、4.2 Hz, APD的CH_2, 1H）, 4.22（br s, CH_2OCON, 2H）, 4.12（dd, *J*=12.0、6.0 Hz, APD的CH_2, 1H）, 3.64（s, PEG, 100H）, 3.38（s, OCH_3, 3H）, 2.30（td, *J* =7.8、2.4 Hz, CH_2CH_2C=O, 4H）, 1.64～1.59（m, $2CH_2$, 4H）, 1.25（s, CH_2, 56H）, 0.88（t, *J*=6.0 Hz, CH_3, 6H），氢谱数据与文献基本一致[3]。氢谱结果显示该产物中有6个脂肪酸上的甲基氢，为mPEG上甲基氢数量的2倍，说明一条mPEG链上有两条脂肪酸链。

同法合成了mPEG$_{2000}$-DS和mPEG$_{5000}$-DS，均为白色蜡状固体，收率分别约为51%和53%，mp 50.3～51.2和58.3～59.8 ℃，氢谱数据中除δ 3.64处的氢数量不同外，其余均与mPEG$_{1000}$-DS基本一致。

2.2 mPEG-DS的CMC测定

采用荧光光谱法，以芘为探针[4]，测定不同相对分子质量mPEG-DS的CMC。取mPEG-DS用水配成质量浓度为0.01～100 μg/ml的系列溶液，加入芘，溶解并使芘浓度约6×10^{-7} mol/L。以氙灯为激发光源，激发波长334 nm，发射波长扫描范围350～450 nm。以芘的第一特征峰I_1（373 nm）与第三特征峰I_3（384 nm）的比值为纵坐标、mPEG-DS质量浓度的对数值为横坐标作图，曲线转折点对应的质量浓度即CMC。结果表明，mPEG$_{1000}$-DS、mPEG$_{2000}$-DS和mPEG$_{5000}$-DS的CMC值分别为（3.02±0.88）、（4.65±0.70）和（6.09±0.34）μg/ml（*n*=3），说明这3种聚合物均在浓度较低时即可形成胶束。

2.3 mPEG-DS的溶血试验

取不同相对分子质量的mPEG-DS，用生理盐水配成4、10、20 mg/ml的溶液用于溶血试验；另取Tween-80同法配制溶液。将经无菌脱纤维处理的山羊血用生理盐水洗涤数次，所得红细胞用生理盐水配成体积分数为2%的红细胞混悬液。向离心管中分别加入不同质量浓度的mPEG-DS溶液、Tween-80溶液、生理盐水（阴性对照）和水（阳性对照）2 ml，再加入红细胞混悬液2 ml，混匀，于37 ℃孵育3 h后取出，置冰水浴中结束反应。各样品离心（250×*g*）15 min，取上清液，以生理盐水为空白，用UV法在540 nm处测定吸收度[5]，按下式计算溶血率，结果见表1。可见mPEG-DS在20 mg/ml及以下浓度时均不产生溶血反应，溶血率远低于同浓度的Tween-80。

$$\text{溶血率}=\frac{(D_s-D_{nc})}{(D_{pc}-D_{nc})}\times100\%$$

式中，D_s、D_{pc}、D_{nc}分别为供试液组、阳性对照组和阴性对照组的吸收度。

2.4 mPEG-DS对**1**的增溶作用

1含量采用HPLC法测定。色谱条件：色谱柱Luna C_{18}柱（4.6 mm×150 mm，5 μm）；流动相 乙腈∶水（60∶40）；检测波长230 nm；柱温25 ℃；流速 1.0 ml/min；进样量 20 μl。本法线性范围为

表 1　mPEG-DS 和 Tween-80 的溶血率（$\bar{x}\pm s$，n=3）

Tab.1　Hemolysis Rates of mPEG-DS and Tween-80 ($\bar{x}\pm s$, n=3)

样品	溶血率/%		
	4 mg/ml组	10 mg/ml组	20 mg/ml组
Tween-80	9.22±2.02	59.86±6.02	77.54±5.25
$mPEG_{1000}$-DS	0.40±0.20	0.65±0.15	1.31±0.28
$mPEG_{2000}$-DS	0.44±0.20	0.73±0.09	1.23±0.09
$mPEG_{5000}$-DS	1.26±0.26	1.96±0.37	3.70±0.74

0.5 ～ 100 μg/ml，方法准确度为 98.1%～ 104.1%，精密度良好。

分别取 mPEG-DS 和 Tween-80，用水配成 20 mg/ml 的溶液，加入过量 **1**，避光超声 10 min，再于 37 ℃恒温振摇 12 h。离心（8 000×g）10 min，取上清液用甲醇稀释，再用 HPLC 法测定上清液中 **1** 的浓度，计算溶解度。结果显示，$mPEG_{1000}$-DS、$mPEG_{2000}$-DS、$mPEG_{5000}$-DS 和 Tween-80 溶液中 **1** 的溶解度分别为（577.8±4.1）、（527.3±7.2）、（322.6±3.1）和（264.8±9.5）μg/ml（n=3）。可见，各 mPEG-DS 对 **1** 的增溶效果均优于 Tween-80；随亲水端 mPEG 相对分子质量的减小，聚合物对 **1** 的增溶能力逐渐增强。

2.5　mPEG-DS 载药胶束的制备与表征

2.5.1　载药胶束的制备

选取增溶效果较好的 $mPEG_{1000}$-DS 和 $mPEG_{2000}$-DS 作为制备 **1** 胶束的材料。取 mPEG-DS 100 mg、聚乙二醇（PEG 400）96 mg，于 60 ℃水浴加热至熔融，混匀后加入 **1** 4 mg，涡旋溶解，再加入生理盐水 3.5 ml，探针超声（180 W，工作 5 s，间隔 3 s）20 次，用生理盐水定容至 5 ml，用 0.22 μm 微孔滤膜过滤后得澄明、无色、**1** 标示含量为 0.8 mg/ml 的载药胶束。同法制备不含 **1** 的空白胶束。

2.5.2　粒径、ζ电位和形态

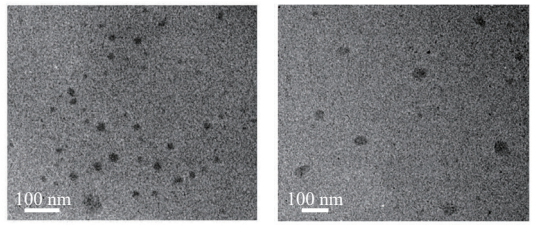
取载药胶束和空白胶束，用水适当稀释后，用动态光散射法测定胶束的平均粒径、多分散性指数（PDI）和ζ电位，结果见表 2。可见 2 种 mPEG-DS 材料都可以形成大小较均一且几乎不带电荷的胶束；载药后胶束粒径均明显增大；相较而言，$mPEG_{1000}$-DS 形成的胶束粒径明显较小。

将稀释后的载药胶束滴至覆有支持膜的铜网上，室温干燥后用透射电镜观察，结果见图 2。可见 2 种载药胶束形态均近似球形，粒度分布较均一。

表 2　mPEG-DS 胶束的粒径、PDI 和ζ电位（$\bar{x}\pm s$，n=3）

Tab.2　Particle Size, PDI and ζ Potential of the Micelles Prepared by mPEG-DS ($\bar{x}\pm s$, n=3)

样品名称	平均粒径/nm	PDI	ζ电位/mV
$mPEG_{1000}$-DS空白胶束	12.82±1.71	0.21±0.03	0.06±0.02
$mPEG_{1000}$-DS载药胶束	22.17±1.83	0.11±0.01	0.63±0.09
$mPEG_{2000}$-DS空白胶束	47.88±2.28	0.16±0.04	0.19±0.03
$mPEG_{2000}$-DS载药胶束	62.24±2.73	0.22±0.07	0.40±0.03



A　　B

A：$mPEG_{1000}$-DS 载药胶束（×20 000），
B：$mPEG_{2000}$-DS 载药胶束（×15 000）

图 2　1 胶束的透射电镜照片

Fig.2　TEM Images of **1**-loaded Micelles

2.5.3　mPEG-DS 载药胶束的包封率及载药量

精密量取载药胶束 500 μl，置超滤离心管（截留分子量 3 000）中，离心（8 000×g）20 min，弃去底部滤液，另加入新鲜载药胶束 500 μl，重复上述操作 3 次，使超滤膜达到吸附饱和。取第 4 次滤液，用甲醇稀释适当倍数后照“**2.4**”项下 HPLC 法检测游离 **1** 浓度。另取载药胶束 100 μl 用甲醇适当稀释后进样，测定胶束中 **1** 总浓度。分别计算包封率（EE）和载药量（DL），结果见表 3，可见 2 种载药胶束对 **1** 均有较高的包封率。

2.5.4　mPEG-DS 载药胶束的体外释放

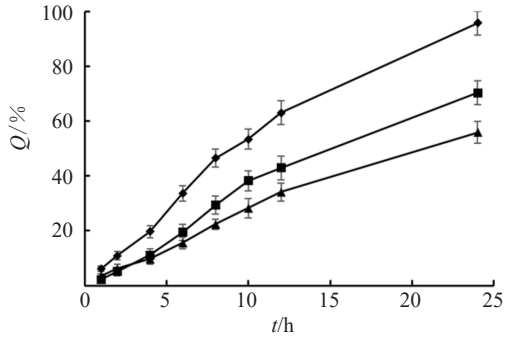
采用动态透析法考察载药胶束的体外释放行为。取 **1** 注射液，按说明书规定先用专用稀释液稀释，再用生理盐水稀释成 **1** 质量浓度为 0.8 mg/ml 的溶液。量取 $mPEG_{1000}$-DS 和 $mPEG_{2000}$-DS 的载药胶束及 **1** 注射液稀释液各 2 ml，置透析袋（截留分子量 3 500）内，扎紧袋口后投入磷酸盐缓冲液

表 3 mPEG-DS 载药胶束的包封率与载药量
($\bar{x}\pm s$，n=3)

Tab.3 Encapsulation Efficiency and Loading Efficiency of **1**-loaded mPEG-DS Micelles ($\bar{x}\pm s$, n=3)

载药胶束	包封率/%	载药量/%
$mPEG_{1000}$-DS 胶束	95.6±2.8	3.6±0.7
$mPEG_{2000}$-DS 胶束	96.0±4.4	3.7±0.8

(6.7 mmol/L，pH 7.4) 50 ml 中，于 (37±0.5) ℃、避光、转速 50 r/min 条件下试验。分别于 1、2、4、6、8、10、12 和 24 h 时取样 10 ml (同时补充同温等量的新鲜释放介质)，照“**2.4**”项下 HPLC 法测定 **1** 浓度，计算累积释放率 (Q)，绘制释放曲线，结果见图 3。与 **1** 注射液稀释液相比，由 mPEG-DS 制得的载药胶束释药较缓慢，其中 $mPEG_{1000}$-DS 胶束的缓释效果更佳，平均 24 h 累积释药率为 55.9%。



◆- **1** 注射液稀释液；▲- $mPEG_{1000}$-DS 载药胶束；■- $mPEG_{2000}$-DS 载药胶束

图 3 pH 7.4 磷酸盐缓冲液中的体外释放曲线 (n=3)

Fig.3 *In vitro* Release Profiles in pH 7.4 Phosphate Buffer (n=3)

2.6 大鼠体内药动学研究

2.6.1 给药及取血方案

将 18 只 SD 大鼠随机分成 3 组，每组 6 只，雌雄各半。试验前禁食 12 h，自由饮水。试验当日取空白血后，由尾静脉分别注射给予 **1** 注射液稀释液、$mPEG_{1000}$-DS 载药胶束及 $mPEG_{2000}$-DS 载药胶束，给药剂量按 **1** 计均为 12 mg/kg。分别于给药后 0.08、0.25、0.5、1、1.5、2、3、4、6 和 8 h 时自尾静脉取血约 0.3 ml，置肝素化的 EP 管中，离心 (3 000×g) 10 min，分取血浆，用“**2.4**”项下 HPLC 法测定血浆中 **1** 的浓度。

2.6.2 血样分析方法

血浆预处理：取血浆 0.1 ml，加沉淀剂 (甲醇：乙腈 =1 ∶ 1) 0.2 ml，涡旋 30 s，离心 (6 000×g) 5 min，取上清液 20 μl 照“**2.4**”项下 HPLC 法进行分析。

血浆对照品溶液：取质量浓度为 2、5、10、50、100、300、500 和 1 000 μg/ml 的 **1** 甲醇溶液 10 μl，加空白大鼠血浆 90 μl，旋涡混匀，得质量浓度为 0.2 ～ 100 μg/ml 的血浆对照品溶液。

方法学验证：典型 HPLC 图谱见图 4，可见本法可将 **1** 和血浆内源性物质及代谢物完全分离，专属性良好。以峰面积 (A) 为纵坐标、质量浓度 (c) 为横坐标进行加权线性回归，得标准曲线方程为 A=6.334c+0.268，R^2=0.999 0，权重为 1，显示 **1** 在 0.2 ～ 100 μg/ml 范围内线性关系良好。低、中、高浓度血浆对照品溶液的日内、日间 RSD 均小于 4.5%，方法准确度为 91.7%～ 99.2%，提取回收率大于 90%，符合生物样品分析的要求。

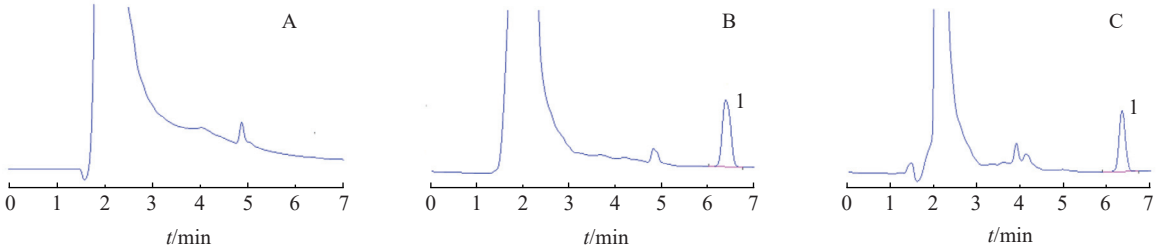
2.6.3 大鼠体内药动学结果

大鼠尾静脉注射 **1** 注射液稀释液、$mPEG_{1000}$-DS 载药胶束及 $mPEG_{2000}$-DS 载药胶束后的平均血药浓度 - 时间曲线见图 5。采用 Kinetica 5.1 药动学软件中的非房室模型计算药动学参数，所得药动学参数经对数转换后用方差分析法计算组间差异，结果见表 4。**1** 注射液稀释液静注后血药浓度下降迅速，6 h 后已低于线性下限 (0.2 μg/ml)；$mPEG_{2000}$-DS 载药胶束的药动学特征与 **1** 注射液稀释液基本相似；但 $mPEG_{1000}$-DS 载药胶束的长循环效果明显，表现为 MRT 和 AUC 显著增大，V_z 和 Cl 显著减小。

3 讨论

与 PEG 化磷脂相比，mPEG-DS 具有合成方便的优势。通过 3 步反应，借助 APD 将 2 条硬脂酸酯链接在 mPEG 的同一端，得到 DTS。通过调节 mPEG 的相对分子质量、脂肪酸酯的碳链长度及其不饱和双键数量，可以制得各种 mPEG- 双脂肪酸酯衍生物，满足不同的需求。

表面活性剂的 CMC 低意味着形成的胶束不易因稀释而解缔合失去胶束结构。DTS 因具有 2 条碳链，疏水缔合作用强，故 CMC 通常低于 STS。本

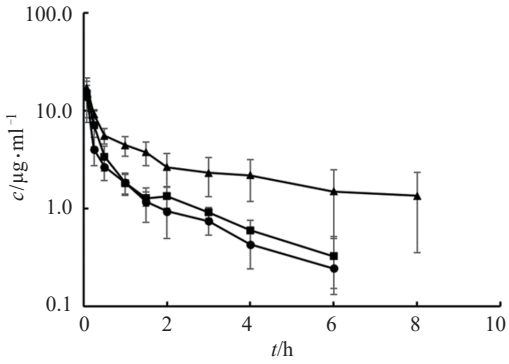


A：空白血浆，B：血浆对照品溶液，C：血浆实测样品

1－**1**

图 4　典型 HPLC 色谱图

Fig.4　Typical HPLC Chromatograms



●－**1** 注射液稀释液；▲－mPEG$_{1000}$-DS 载药胶束；■－mPEG$_{2000}$-DS 载药胶束

图 5　mPEG-DS 载药胶束与 1 注射液稀释液静注后大鼠血浆中的平均药 - 时曲线（*n*=6）

Fig.5　Mean Plasma Concentration-time Profiles in Rats after Intravenous Injection of **1**-loaded mPEG-DS Micelles and Diluted **1** Injection (*n*=6)

表 4　主要药动学参数（$\bar{x}\pm s$，*n*=6）

Tab.4　Main Pharmacokinetic Parameters ($\bar{x}\pm s$, *n*=6)

参数	样品		
	1 注射液稀释液	mPEG$_{1000}$-DS 载药胶束	mPEG$_{2000}$-DS 载药胶束
$t_{1/2}$/h	2.05±1.17	3.81±1.43	2.20±1.11
$AUC_{0\to t}$/mg·h·L^{-1}	7.45±2.28	21.74±10.11$^{2)}$	9.78±2.76
$AUC_{0\to\infty}$/mg·h·L^{-1}	8.30±2.33	29.96±15.58$^{2)}$	11.12±3.42
MRT/h	2.21±0.71	5.08±1.59$^{1)}$	2.36±1.27
V_z/L·kg^{-1}	5.90±3.25	3.21±1.26$^{1)}$	4.57±1.62
Cl/L·(kg·h)$^{-1}$	2.11±0.89	0.66±0.30$^{2)}$	1.56±0.56

注：与 **1** 注射液稀释液组相比，$^{1)}$ 表示有显著性差异（P<0.05），$^{2)}$ 表示有极显著性差异（P<0.01）

研究合成的 3 种不同相对分子质量的双尾型 mPEG-DS 的 CMC 均显著低于单尾型的硬脂酸聚氧乙烯酯类表面活性剂，如 Myrj 52（48 μg/ml）和 Myrj 59（199 μg/ml）[6]；也显著低于目前市售的可注射表面活性剂，如 Tween-80（10 μg/ml）、Kolliphor® HS 15（50 ～ 500 μg/ml）、Cremophor® EL（100 ～ 500 μg/ml）、Cremophor® ELP（100 μg/ml）、Cremophor® RH 40（100 μg/ml）和 Cremophor® RH 60（50 ～ 500 μg/ml）等[7—8]；与同为双尾型的 mPEG$_{2000}$-DSPE（1.4 ～ 17.7 μg/ml[9—10]）相近。

双尾型表面活性剂因可提供更多的疏水区域，故通常具有更强的增溶能力。本试验以 **1** 为模型药物，比较 mPEG-DS 和 Tween-80 的增溶效果。**1** 注射液原研产品以 Tween-80 为增溶剂，按说明书稀释后 Tween-80 的最大质量浓度约为 20 mg/ml（**1** 约为 0.8 mg/ml），故将各增溶剂均配制为此质量浓度溶液，再加入过量 **1**。结果表明，各 mPEG-DS 对 **1** 的增溶效果均优于 Tween-80。在溶血试验中观察到，各 mPEG-DS 在 20 mg/ml 时几乎不引发溶血，而 Tween-80 在此浓度下溶血严重，这说明双尾型 mPEG-DS 不仅具有更好的增溶效果，还可能具有更好的安全性。

根据上述增溶试验结果可知，单用 Tween-80 时 **1** 的饱和溶解度仅 0.26 mg/ml，故 **1** 注射液使用时还要用乙醇来使 **1** 在稀释后的一段时间内维持溶解状态，不析晶。乙醇虽为 **1** 的良好溶剂[11]，但易引发不良反应和药物配伍禁忌[12]。本试验用安全性相对较好的 PEG 400 为溶剂[13]，与 mPEG-DS 搭配，配制了 **1** 的胶束。虽然 PEG 400 对 **1** 的溶解性不如乙醇[11]，但由于 mPEG-DS 的增溶能力远高于 Tween-80，故也可以配得同浓度的载 **1** 胶束溶液。

载 **1** 的 mPEG-DS 胶束在 8 h 内仍保持澄明，而 **1** 注射液稀释液放置 8 h 后可观察到明显析晶。为保证载 **1** 的 mPEG-DS 胶束在货架期内的稳定，曾尝试用叔丁醇为冻干保护剂，将载药胶束冷冻干燥，结果得到了疏松的冻干品，其加水复溶后胶束性质未见明显改变。

药动学结果表明，使用不同相对分子质量 mPEG 制得的 mPEG-DS 载药胶束在体内具有不同的药动学特征。与 **1** 注射液稀释液及 $mPEG_{2000}$-DS 胶束相比，$mPEG_{1000}$-DS 载药胶束的长循环特征明显，原因可能有以下 3 点：① $mPEG_{1000}$-DS 载药胶束不带电荷，且粒径较小，有利于规避巨噬细胞的吞噬[14]；② $mPEG_{1000}$-DS 的 CMC 更低，在血浆中可更长时间地维持胶束结构；③ $mPEG_{1000}$-DS 胶束中 **1** 的释放较慢。

综上所述，mPEG-DS 具有结构明确、合成简单、在低浓度时即可自组装成纳米胶束、溶血性低、对难溶性药物的增溶效果良好、通过调节 mPEG 嵌段相对分子质量可获得不同体内药动学特征等优点，是一种值得进一步深入研究的纳米载体材料。近年来 PEG 引发的过敏反应问题日益引起人们的重视。即便如此，PEG 依然是最常用的药用亲水性聚合物材料之一，目前获批用于注射剂的亲水表面活性剂，如 mPEG- 二硬脂酰磷脂酰乙醇胺、Tween-80、Cremophor® RH、Cremophor® EL、Kolliphor® HS 15 和 Pluronic® F68 等均以 PEG 为亲水端材料。为此，本研究中仍选用 mPEG 进行疏水改性，合成 DTS，后续研究中将系统考察 mPEG-DS 的致敏性，并尝试使用其他亲水聚合物来合成 DTS。

参考文献：

[1] RUB M A. Aggregation and interfacial phenomenon of amphiphilic drug under the influence of pharmaceutical excipients (green/biocompatible gemini surfactant) [J]. *PLoS One*, 2019, **14**(2): e0211077.

[2] HEYES J, HALL K, TAILOR V, *et al*. Synthesis and characterization of novel poly(ethylene glycol)-lipid conjugates suitable for use in drug delivery [J]. *J Controlled Release*, 2006, **112**(2): 280-290.

[3] GARBUZENKO O, ZALIPSKY S, QAZEN M, *et al*. Electrostatics of pegylated micelles and liposomes containing charged and neutral lipopolymers [J]. *Langmuir*, 2005, **21**(6): 2560-2568.

[4] 江东波, 张炜华, 刘建文, 等. 化学组成对聚乙二醇化硬脂酰壳寡糖纳米胶束性能的影响[J]. 中国医药工业杂志, 2014, **45**(7): 634-640.

[5] 张 红, 苏宝倡, 叶迅达, 等. 溶血性评价体系中分光光度法检测波长的选择[J]. 生物医学工程学杂志, 2016, **33**(2): 368-372.

[6] ABOUTALEB A E, SAKR A M, ABDELZAHER A. Determination of the CMC of selected surfactant solutions in systems containing chloramphenicol [J]. *Bull Pharm Sci*, 1979, **2**(1): 27-39.

[7] MATSARIDOU I, BARMPALEXIS P, SALIS A, *et al*. The influence of surfactant HLB and oil/surfactant ratio on the formation and properties of self-emulsifying pellets and microemulsion reconstittion [J]. *Aaps PharmSciTech*, 2012, **13**(4): 1319-1330.

[8] 易 红, 高 进, 杨 华, 等. 几种注射用表面活性剂的质量标准及安全性概述[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, **16**(1): 115-119.

[9] ASHOK B, ARLETH L, HJELM R P, *et al*. *In vitro* characterization of PEGylated phospholipid micelles for improved drug solubilization: effects of PEG chain length and PC incorporation [J]. *J Pharm Sci*, 2004, **93**(10): 2476-2487.

[10] ISHIDA T, IDEN D L, ALLEN T M. A combinatorial approach to producing sterically stabilized (stealth) immunoliposomal drugs [J]. *FEBS Letters*, 1999, **460**(1): 129-133.

[11] YIN Y M, CUI F D, MU C F, *et al*. Docetaxel microemulsion for enhanced oral bioavailability: preparation and *in vitro* and *in vivo* evaluation [J]. *J Control Release*, 2009, **140**(2): 86-94.

[12] European Medicines Agency. Information for the package leaflet regarding ethanol used as an excipient in medicinal products for human use [EB/OL]. [2021-06-01]. https://www. ema. europa. eu/en/documents/scientific-guideline/information-package-leaflet-regarding-ethanol-used-excipient-medicinal-products-human-use_en. pdf.

[13] D'SOUZA A A, SHEGOKAR R. Polyethylene glycol (PEG): a versatile polymer for pharmaceutical applications [J]. *Expert Opin Drug Deliv*, 2016, **13**(9): 1257-1275.

[14] MOGHIMI S M, HUNTER A C, MURRAY J C. Long-circulating and target-specific nanoparticles: theory to practice [J]. *Pharmacol Rev*, 2001, **53**(2): 283-318.