

• 综述 •

口服胰岛素纳米粒的吸收机制

张慧 宋晓丽 闫彩凤

【摘要】 胰岛素口服给药可以显著改善糖尿病患者的生活质量,然而,胃肠道中各种生理障碍限制了胰岛素的口服吸收。将胰岛素用特定的聚合纳米材料封装可增加口服胰岛素的生物利用度。载胰岛素纳米粒可通过细胞旁路和跨细胞途径穿过肠上皮细胞层,其吸收机制可能是通过增加与黏膜相互作用或可逆性打开相邻细胞紧密连接。

【关键词】 胰岛素;口服给药;纳米粒

Absorptive mechanisms of oral insulin nanoparticles Zhang Hui*, Song Xiaoli, Yan Caifeng. *Medical School of Xiangya, Central South University, Changsha 410013, China

Corresponding author: Yan Caifeng, Email: yancaifeng@126.com

【Abstract】 Oral delivery of therapeutic insulin can significantly improve the quality of life of diabetic patients. However, oral absorption of insulin is limited by various physiological barriers in the gastrointestinal tract. The encapsulation of insulin into specific polymer-based nanoparticles can increase the oral bioavailability of insulin. Nanoparticles can transport across the intestinal epithelium via the paracellular route or transcellular route. The absorptive mechanisms of insulin delivered by nanoparticles may increase the interactions with the intestinal mucosa or open tight junctions between contiguous epithelial cells reversibly.

【Key words】 Insulin; Oral delivery; Nanoparticles

(Int J Endocrinol Metab, 2015, 35: 275-279)

糖尿病是一种慢性疾病,易导致多种并发症,严重威胁人类健康。而胰岛素是治疗糖尿病常用药物,目前主要给药方式为皮下注射。而长期皮下注射可致患者顺应性差,且易导致外周高胰岛素血症,加重 2 型糖尿病患者的胰岛素抵抗^[1]。胰岛素口服给药可模拟内源性胰岛素作用模式,且服用方便,是最理想的给药途径^[1]。但是胰岛素直接口服易被胃肠道中各种酶降解,且难以通过肠道上皮细胞。用纳米粒包裹胰岛素可避免胃酸对药物的破坏及各种酶的降解,达到缓释效果,增加药物在小肠吸收部位的浓度。纳米粒作为胰岛素的口服载体具有良好的应用前景^[2]。

1 肠上皮细胞的结构与功能

肠上皮细胞层主要有 4 种细胞构成:肠细胞(吸收营养物质)、杯状细胞(分泌黏液)、潘氏细胞

以及位于派氏淋巴结的 M 细胞。除 M 细胞外,肠上皮细胞表面都有一层黏液覆盖,其主要成分为黏蛋白,杯状细胞持续分泌的黏液能够快速清除病原体 and 外来粒子^[3]。

肠上皮细胞层的物理屏障保持完整还依赖于相邻上皮细胞间紧密连接的存在。紧密连接由跨膜整合蛋白、胞质蛋白和调节蛋白组成。跨膜整合蛋白包括紧密连接蛋白、闭合蛋白和交联黏附分子,其主要作用是建立相邻细胞间的封闭性空间;胞质蛋白包括封闭小带蛋白及扣带蛋白,其功能是连接完整的紧密连接蛋白和肌动蛋白细胞骨架间的桥梁,作为胞质平台,在紧密连接处集中了各种细胞信号蛋白,包括激酶、磷酸酶、G 蛋白和转录因子;调节蛋白起信号转导作用,涉及到紧密连接的渗透性^[4]。

除肠上皮细胞层本身的物理结构限制了大分子的通透外,肠腔内复杂的生理环境也使得蛋白质类药物难以保持活性。胃肠道 pH 值波动幅度较大,易导致胰岛素氧化水解,失去活性^[5]。黏液层的黏蛋白纤维与蛋白质通过静电/离子相互作用、范德华力、疏水力及氢键结合可致蛋白质结构改变及吸收降低^[6]。胃肠道中存在的各种酶可将蛋白质药物催化降解成小分子肽类及氨基酸进而吸收,失去药效。

DOI:10.3760/cma.j.issn.1673-4157.2015.04.017

基金项目:国家自然科学基金资助项目(21201149);江苏省自然科学基金资助项目(BK2012259);扬州市八大产业科技攻关项目(YZ2010083)

作者单位:410013 长沙,中南大学湘雅医学院(张慧);225002 扬州大学化工学院(宋晓丽);225001 扬州,江苏省苏北人民医院内分泌科(张慧,闫彩凤)

通信作者:闫彩凤,Email:yancaifeng@126.com

由于上述物理化学屏障的存在,胰岛素很难通过肠上皮细胞层进入体循环。

2 纳米粒通过肠上皮细胞的吸收途径

2.1 跨膜运输 跨膜运输主要有 4 种形式:M 细胞的吞噬、胞饮、网格蛋白介导内吞、陷窝蛋白介导内吞。由于 M 细胞表面缺乏黏液分泌及多糖-蛋白质复合物,蛋白酶少,使得纳米粒子更易被 M 细胞摄取,然而,因 M 细胞位于免疫派氏淋巴结,可能会导致免疫反应而减少药物吸收^[7]。胞饮是肌动蛋白依赖过程,可以吞没含纳米颗粒的大量流体,通过细胞膜的内陷包裹形成小囊泡(胞饮囊泡),此过程不受细胞类型限制,是非特异性受体介导。网格蛋白和陷窝蛋白是存在于细胞膜顶端和基底侧的一类特殊转运蛋白,有研究证明网格蛋白介导的内吞作用在纳米粒跨膜运输中发挥重要作用,而陷窝蛋白介导的转运及胞饮在药物运输过程中的作用可能较小^[8]。

2.2 细胞旁路运输 尽管细胞间隙空间狭小(少于肠道总面积的 1%),但对于胰岛素类亲水性药物来说,旁路运输仍是一种可选择途径。只有相对分子质量低于 200 的小分子亲水性药物才能通过细胞旁路吸收,缺乏吸收增强剂时,蛋白类药物基本不能通过^[9]。但有一些纳米材料如壳聚糖能可逆性打开细胞紧密连接,导致紧密连接蛋白结构重组,还有些材料可能通过螯合钙离子诱导紧密连接的破坏。尽管紧密连接的开放增加了细胞旁通透性,但细胞间隙对完整纳米粒子运输仍有限制,增加的细胞旁通透性更有可能是因为药物从破碎的纳米粒中预先释放。因此,纳米粒通过旁路运输可能受多种机制调节。

3 载胰岛素聚合纳米粒

纳米粒可由不同的聚合材料构成,包括天然聚合物和人工合成高分子聚合物等。通过对纳米粒的理化性质的调节可使胰岛素保持活性、控制其释放过程、增加其生物利用度。壳聚糖及其衍生物由于具有良好的膜黏附性、渗透能力和生物相容性,受到极大关注。其他聚合物如藻酸盐、透明质酸、聚乳酸等也常用作口服胰岛素载体。

3.1 壳聚糖纳米粒 壳聚糖是一种天然多糖类聚合物,具有亲水性且生物相容性好、可降解、无毒,被广泛用作口服胰岛素的载体。壳聚糖纳米粒主要通过细胞旁途径促进胰岛素的吸收。

很多研究表明,壳聚糖纳米粒能够可逆性打开上皮细胞紧密连接,而紧密连接蛋白-4 对维持紧密

连接的完整性有至关重要的作用,壳聚糖纳米粒增加胰岛素的旁路吸收可能与紧密连接蛋白-4 的重排有关。有研究发现,壳聚糖处理细胞单层后,紧密连接蛋白-4 从细胞膜到胞质重新分布,紧密连接作用削弱,致细胞旁路通透性增加^[10]。另一项研究表明壳聚糖纳米粒打开紧密连接与交联黏附分子-1 移位有关,可致紧密连接破坏,随着壳聚糖消除,交联黏附分子-1 可恢复^[11]。闭合蛋白和封闭小带蛋白-1 的下调也可能参与紧密连接破坏,从而增加细胞旁路通透性。

壳聚糖纳米粒的旁路吸收还可能涉及到细胞信号转导。酪氨酸激酶通过催化蛋白质酪氨酸残基磷酸化作用,影响紧密连接的结构和功能。局部黏着斑激酶和原癌基因 Src 编码的一种酪氨酸激酶被认为是可以介导肌动蛋白细胞骨架信号转导的调节蛋白。有学者用 Caco-2 细胞研究了壳聚糖诱导紧密连接打开的信号转导机制,结果表明细胞膜上整联蛋白受体的激活极大促进了紧密连接的破坏,激发了紧密连接开放的级联反应^[12]。壳聚糖可诱导整联蛋白沿着细胞边界聚集,黏着斑激酶和 Src 酪氨酸激酶磷酸化,通过紧密连接蛋白-4 由细胞膜到基质的重新分布,调节紧密连接的渗透性。

另外,壳聚糖还有黏附性能,壳聚糖纳米粒能够渗入肠道黏膜,延长在肠道的滞留时间,可使包裹在纳米粒中的胰岛素持久释放,使胰岛素浓度在体内更加稳定,更好的控制血糖水平。壳聚糖的黏附特性是由于其带正电荷的氨基与上皮细胞表面带负电荷的功能基团相互作用^[13]。有学者研制了载胰岛素壳聚糖纳米粒,在模拟胃酸环境中,仅有 15% 的胰岛素释放,可能是由于带正电荷的壳聚糖与带负电荷的胰岛素发生强烈的离子相互作用^[14]。壳聚糖的酸解离常数为 6.5,在低 pH 值环境下,壳聚糖的氨基发生质子化从而保护胰岛素免受胃中蛋白酶的降解。在模拟肠道环境中,胰岛素能从纳米粒中大量释放,增加胰岛素在肠道的吸收。

但壳聚糖在酸性环境中易溶解,降低了对胰岛素的保护作用,因此有学者研制了羟丙甲纤维素酞酸酯壳聚糖纳米粒,其具有 pH 值敏感性,酸解离常数为 5.2,使得聚合纳米粒仅在较高的 pH 值环境中溶解,从而避免了胰岛素在胃中的破坏^[15]。三甲基壳聚糖是壳聚糖的季胺化衍生物,在中性和弱碱性条件下易溶解,也被广泛用作胰岛素载体。最近的一项研究认为旁路通透性的增加是由于三甲基壳聚糖表面正电荷与紧密连接相关蛋白(如闭合蛋白和

封闭小带蛋白-1)相互作用和纤维状肌动蛋白细胞骨架的重排,在相互作用的过程中,肌动蛋白细胞骨架改变,封闭小带蛋白-1 的细胞定位改变及闭合蛋白对细胞形态的修饰,导致紧密连接可逆性开放,从而促进胰岛素纳米粒通过细胞旁路吸收^[16]。

由于壳聚糖的氨基和羟基易被修饰形成不同的衍生物,以壳聚糖为原料可制成具有不同性质的纳米粒,其在胰岛素的口服吸收途径中具有良好的应用前景。

3.2 藻酸盐纳米粒 藻酸盐是一种阴离子多糖,与壳聚糖相反,其在低 pH 值环境下不溶,而在较高的 pH 值条件下溶解,是一类较为普遍的 pH 值敏感性聚合物,在胃中能保护蛋白类药物免受酶的消化,且具有极强的膜黏附性能,也常被用作口服胰岛素的载体。藻酸盐促进胰岛素的吸收主要是通过感应胃肠道 pH 值的变化,从而促进药物在肠道吸收部位大量释放,增加药物浓度。有学者制备了载胰岛素的壳聚糖藻酸盐纳米颗粒,在模拟肠道环境中,绝大部分胰岛素从纳米粒中持续释放,体内实验有显著的降糖效果,表明胰岛素的相对生物利用度明显增高^[21]。

藻酸盐可与多价阳离子交联形成可逆性凝胶,这种凝胶在酸性环境下凝结,从而保护药物的活性,环糊精可以改善肠黏膜流动性,防止胰岛素降解。有学者研制了由三甲基壳聚糖、藻酸盐、阳离子 β -环糊精合成的载胰岛素纳米粒,使胰岛素能在肠道缓慢释放,且通透率显著增高,延长了药物作用时间^[17]。在另一项研究中,有学者研制了以胰岛素为核心,藻酸盐和硫酸葡聚糖包裹,再以壳聚糖稳定的多层纳米颗粒,颗粒外周以白蛋白涂层,其药物通透率显著增高^[18]。白蛋白作为纳米粒的外周涂层,可保护胰岛素免受蛋白酶降解,在肠道中保持药物活性。

果胶是一类具有生物相容性、生物可降解、安全无毒的阴离子杂多糖,可降低动物血糖,增加胰岛素浓度。当前研究结果表明,果胶可促进大脑和胰腺中蛋白激酶 C 活性,而抑制肝脏中蛋白激酶 C 活性,从而能促进胰腺中胰岛素的释放和糖原合成,减少糖原分解。因此,有学者研制了载胰岛素果胶酸钙纳米粒,将纳米粒与藻酸胶结合后,增加了纳米粒的膜黏附性,延长肠道滞留时间,增加了胰岛素的释放,但没有表现出协同效果,因为纳米粒的钙离子与藻酸胶交联结合的形式延缓了胰岛素的释放和肠黏膜的吸收^[19]。另有研究表明富含高分子量的甘露糖醛酸的藻酸盐更适合作口服胰岛素的载体,能在较长时间缓慢释放胰岛素,时间可超过 24 h^[20]。

3.3 透明质酸纳米粒 透明质酸是一种阴离子黏多糖自然聚合物,具有良好的生物相容性和生物降解能力,可用作口服胰岛素的载体。有学者研制了载胰岛素透明质酸纳米粒,其具有 pH 值敏感性,可保护胰岛素免受胃中强酸破坏,而且不会破坏肠上皮细胞的连接完整,保证长期胰岛素治疗的安全性^[21]。药物转运实验提示纳米粒主要通过跨细胞途径吸收,通过大鼠肠道渗透实验证实,透明质酸纳米粒显著增加胰岛素在十二指肠和回肠的运输。与胰岛素溶液相比,其降糖效果显著。

硫醇化聚合物可与黏液蛋白层丰富的半胱氨酸形成二硫键,相比非共价结合如范德华力、氢键及离子间相互作用等有更强的膜黏附性能。将天然聚合物与人工合成聚合物相结合可减少天然聚合物的降解速率,避免其在体内快速溶解。聚乙烯醇是一类合成水溶性聚合物,因其具有良好的成膜性、机械性能好及可降解性常被用作口服药物载体。有学者用聚乙烯醇及硫醇化透明质酸研制了多层水凝胶递送胰岛素,其能显著延长在肠道滞留时间,实现胰岛素的持续释放,使得降糖效果更平稳^[22]。

3.4 合成聚合物类纳米粒 除自然界存在的一些天然聚合物可作为蛋白类药物载体外,人工合成的一些高分子材料在蛋白类药物的口服递送中也发挥重要作用。聚乳酸是一类生物相容性好、可降解的脂肪族聚酯聚合物。有学者研制了聚乳酸-普朗尼克共聚物作为口服胰岛素的新型载体,体外和体内实验均证明胰岛素能持续释放,口服载胰岛素颗粒后,糖尿病小鼠降糖效果显著^[23]。以人类卵巢癌细胞研究聚乳酸-普朗尼克共聚物的毒性,发现其具有良好的生物相容性,是一类有前景的口服胰岛素载体。

聚乳酸-羟基乙酸共聚物(PLGA)也是口服胰岛素的常用载体之一,具有良好的生物相容性,可降解,无毒。有学者研制了载胰岛素 PLGA 纳米粒,其药物吸收过程呈时间依赖性,主要是通过跨细胞途径吸收,依赖于网格蛋白介导的内吞,纳米粒在细胞基底侧以胞吐的形式释放^[24]。另一项研究中,有学者研究了载胰岛素 PLGA 纳米粒的 pH 值敏感性,发现在酸性条件下,胰岛素的释放极其缓慢,在 pH=1.0 的环境中,90%的胰岛素释放时间长达 11 d;而碱性条件下, pH=7.8 的环境中,90%胰岛素在 3 d 内释放,避免了胃酸对胰岛素的破坏,增加了胰岛素在肠道的吸收^[25]。但是 PLGA 带负电荷,降低了胰岛素的口服生物利用度,为了改善这一缺陷,有学者研制了表面带正电荷的壳聚糖-PLGA 纳米颗粒,与

未用壳聚糖修饰的 PLGA 相比,其表现出很强的膜黏附性,使得胰岛素的口服生物利用度明显提高^[26]。

丙烯酸类聚合物可抑制酶活性、增加膜黏附性,改变上皮细胞紧密连接而增加药物在肠道吸收,因此,也常用作口服胰岛素载体。有学者研制了 pH 值敏感的羧甲基纤维素/聚丙烯酸水凝胶作为口服胰岛素载体,水凝胶在酸性人工胃液中不膨胀,在中性人工肠液中迅速膨胀,可促进胰岛素在肠道环境中迅速释放,糖尿病小鼠口服水凝胶后,有显著的降糖效果^[27]。

3.5 配体修饰的纳米粒 通过在纳米粒的表面接合一些配体,可优化纳米粒的特性,增加药物在肠道的吸收。癸酸可显著增加细胞旁路的通透性,有研究表明癸酸可使跨膜电阻可逆性下降,改变细胞紧密连接。有学者研制了癸酸接枝的低聚壳聚糖纳米粒(CSO-DA-NPs)作为胰岛素的载体,药物释放呈 pH 值敏感性,可能与细胞膜上整联蛋白受体的激活导致壳聚糖去质子化有关^[28]。还有学者利用细胞穿透肽增加胰岛素的口服吸收^[29]。体外研究表明细胞穿透肽能介导多种载体的穿膜作用,其机制可能为通过胞吞作用穿膜或者通过静电作用与细胞膜相结合诱导膜脂质双分子层发生改变,从而促进胰岛素的吸收。在另外一项研究中,有学者研究了三甲基壳聚糖纳米粒和黏膜细胞特异性多肽(CSK)修饰的纳米粒(可靶向杯状细胞)的吸收机制,结果证明两者都能有效保护胰岛素免受胰蛋白酶水解,以 Caco-2/HT29-MTX 细胞模拟肠上皮细胞,两者的细胞摄取都涉及到小窝蛋白介导的内吞和大胞饮,而 CSK 修饰的纳米粒能够进一步诱导网格蛋白介导的内吞,经 CSK 肽修饰后,很多内吞作用的亚途径都发生了改变,如大胞饮的磷脂酰肌醇 3 激酶途径抑制^[30]。同时,发现两者可逆性打开上皮细胞紧密连接是通过激活 c-Jun 氨基末端激酶依赖途径^[30]。然而,CSK 修饰后的壳聚糖纳米粒可使紧密连接的开放和恢复更迅速。此外,还有一些其他的配体如凝集素、维生素 B₁₂ 等都可与胰岛素纳米粒结合促进药物吸收。

4 安全性评价

通常情况下,胃肠道中有许多化学毒素和细菌毒素,但由于肠上皮细胞层的屏障作用,这些毒素难以通过肠道,不会对机体造成损害。而纳米载体通常需要可逆性打开肠上皮细胞的紧密连接,破坏了肠上皮细胞的完整性,纳米载体在增加药物通透性的同时是否会增加毒素的吸收尚有争议。而内毒

素(脂多糖)是胃肠道内主要的细菌毒素,一旦进入体循环,将引起全身炎症反应,致内毒素性休克或死亡。为此,有学者专门研究了壳聚糖纳米粒对脂多糖吸收的影响,分别对脂多糖和胰岛素进行标记,结果显示胰岛素可进入体循环,而脂多糖主要停留在胃肠道,表明壳聚糖纳米粒仅增加其负载的胰岛素的吸收^[31]。但是,用于制备纳米材料的各种高分子聚合物的理化性质各不相同,长期使用是否会对机体造成影响仍有待长期的观察研究。

5 小结与展望

胰岛素是治疗绝大多数糖尿病患者的有效药物,其口服方式简单方便,易被患者接受。如上文所述,肠道上皮细胞层及相邻细胞间紧密连接构成的完整屏障对口服胰岛素的吸收有极大限制,如稳定性差、渗透率低等。而近年来纳米载药技术的迅速发展使得口服胰岛素成为可能。胰岛素可利用载体经跨细胞途径或细胞旁途径进入体循环。载体促进吸收的机制包括紧密连接相关蛋白的重新分布及增加膜的黏附性等。在吸收过程中,可能存在多种调节机制并存。随着生物技术的进一步发展及国内、外研究者的不断探索,纳米载药系统调节口服胰岛素吸收的机制也会越来越完善,将来一定能制备出安全可靠的口服制剂应用于临床,改善糖尿病患者的生活质量。

参 考 文 献

- [1] Rekha MR, Sharma CP. Oral delivery of therapeutic protein/peptide for diabetes-future perspectives [J]. Int J Pharm, 2013, 440(1):48-62.
- [2] Mukhopadhyay P, Chakraborty S, Bhattacharya S, et al. pH-sensitive chitosan/alginate core-shell nanoparticles for efficient and safe oral insulin delivery [J]. Int J Biol Macromol, 2015, 72: 640-648.
- [3] Ensign LM, Cone R, Hanes J. Oral drug delivery with polymeric nanoparticles: the gastrointestinal mucus barriers [J]. Adv Drug Deliv Rev, 2012, 64(6):557-570.
- [4] González-Mariscal L, Domínguez-Calderón A, Raya-Sandino A, et al. Tight junctions and the regulation of gene expression [J]. Semin Cell Dev Biol, 2014, 36:213-223.
- [5] Pawar VK, Meher JG, Singh Y, et al. Targeting of gastrointestinal tract for amended delivery of protein/peptide therapeutics: strategies and industrial perspectives [J]. J Control Release, 2014, 196:168-183.
- [6] Yun Y, Cho YW, Park K. Nanoparticles for oral delivery: targeted nanoparticles with peptidic ligands for oral protein delivery [J]. Adv Drug Deliv Rev, 2013, 65(6):822-832.

- [7] Pridgen EM, Alexis F, Farokhzad OC. Polymeric nanoparticle technologies for oral drug delivery[J]. Clin Gastroenterol Hepatol, 2014, 12(10):1605-1610.
- [8] Feng C, Sun G, Wang Z, et al. Transport mechanism of doxorubicin loaded chitosan based nanogels across intestinal epithelium[J]. Eur J Pharm Biopharm, 2014, 87(1):197-207.
- [9] Antunes F, Andrade F, Ferreira D, et al. Models to predict intestinal absorption of therapeutic peptides and proteins[J]. Curr Drug Metab, 2013, 14(1):4-20.
- [10] Yeh TH, Hsu LW, Tseng MT, et al. Mechanism and consequence of chitosan-mediated reversible epithelial tight junction opening[J]. Biomaterials, 2011, 32(26):6164-6173.
- [11] Sonaje K, Chuang EY, Lin KJ, et al. Opening of epithelial tight junctions and enhancement of paracellular permeation by chitosan; microscopic, ultrastructural, and computed-tomographic observations[J]. Mol Pharm, 2012, 9(5):1271-1279.
- [12] Hsu LW, Lee PL, Chen CT, et al. Elucidating the signaling mechanism of an epithelial tight-junction opening induced by chitosan[J]. Biomaterials, 2012, 33(26):6254-6263.
- [13] Moghassemi S, Parnian E, Hakamivala A, et al. Uptake and transport of insulin across intestinal membrane model using trimethyl chitosan coated insulin niosomes [J]. Mater Sci Eng C Mater Biol Appl, 2015, 46:333-340.
- [14] Mukhopadhyay P, Sarkar K, Chakraborty M, et al. Oral insulin delivery by self-assembled chitosan nanoparticles; *in vitro* and *in vivo* studies in diabetic animal model[J]. Mater Sci Eng C Mater Biol Appl, 2013, 33(1):376-382.
- [15] Makhlof A, Tozuka Y, Takeuchi H. Design and evaluation of novel pH-sensitive chitosan nanoparticles for oral insulin delivery[J]. Eur J Pharm Sci, 2011, 42(5):445-451.
- [16] Moghassemi S, Parnian E, Hakamivala A, et al. Uptake and transport of insulin across intestinal membrane model using trimethyl chitosan coated insulin niosomes[J]. Mater Sci Eng C Mater Biol Appl, 2015, 46:333-340.
- [17] Mansourpour M, Mahjub R, Amini M, et al. Development of Acid-Resistant Alginate/Trimethyl Chitosan Nanoparticles Containing Cationic β -Cyclodextrin Polymers for Insulin Oral Delivery [J]. AAPS Pharm Sci Tech, 2015, [Epub ahead of print].
- [18] Woitiski CB, Sarmiento B, Carvalho RA, et al. Facilitated nanoscale delivery of insulin across intestinal membrane models[J]. Int J Pharm, 2011, 412(1-2):123-131.
- [19] Wong TW, Sumiran N. Oral calcium pectinate-insulin nanoparticles: influences of alginate, sodium chloride and Tween 80 on their blood glucose lowering performance [J]. J Pharm Pharmacol, 2014, 66(5):646-657.
- [20] Kadir A, Mokhtar MT, Wong TW. Nanoparticulate assembly of mannuronic acid-and guluronic acid-rich alginate:oral insulin carrier and glucose binder[J]. J Pharm Sci, 2013, 102(12):4353-4363.
- [21] Han L, Zhao Y, Yin L, et al. Insulin-loaded pH-sensitive hyaluronic acid nanoparticles enhance transcellular delivery [J]. AAPS Pharm Sci Tech, 2012, 13(3):836-845.
- [22] Ding J, He R, Zhou G, et al. Multilayered mucoadhesive hydrogel films based on thiolated hyaluronic acid and polyvinylalcohol for insulin delivery [J]. Acta Biomater, 2012, 8(10):3643-3651.
- [23] Xiong XY, Li QH, Li YP, et al. Pluronic P85/poly (lactic acid) vesicles as novel carrier for oral insulin delivery[J]. Colloids Surf B Biointerfaces, 2013, 111:282-288.
- [24] Reix N, Parat A, Seyfritz E, et al. *In vitro* uptake evaluation in Caco-2 cells and *in vitro* results in diabetic rats of insulin-loaded PLGA nanoparticles[J]. Int J Pharm, 2012, 437(1-2):213-220.
- [25] Yang J, Sun H, Song C. Preparation, characterization and *in vivo* evaluation of pH-sensitive oral insulin-loaded poly (lactic-co-glycolic acid) nanoparticles[J]. Diabetes Obes Metab, 2012, 14(4):358-364.
- [26] Zhang X, Sun M, Zheng A, et al. Preparation and characterization of insulin-loaded bioadhesive PLGA nanoparticles for oral administration[J]. Eur J Pharm Sci, 2012, 45(5):632-638.
- [27] Gao X, Cao Y, Song X, et al. Biodegradable, pH-responsive carboxymethyl cellulose/poly (acrylic acid) hydrogels for oral insulin delivery[J]. Macromol Biosci, 2014, 14(4):565-575.
- [28] Du X, Zhang J, Zhang Y, et al. Decanoic acid grafted oligochitosan nanoparticles as a carrier for insulin transport in the gastrointestinal tract[J]. Carbohydr Polym, 2014, 111:433-441.
- [29] Nielsen EJ, Yoshida S, Kamei N, et al. *In vivo* proof of concept of oral insulin delivery based on a co-administration strategy with the cell-penetrating peptide penetratin[J]. J Control Release, 2014, 189:19-24.
- [30] Zhang J, Zhu X, Jin Y, et al. Mechanism study of cellular uptake and tight junction opening mediated by goblet cell-specific trimethyl chitosan nanoparticles [J]. Mol Pharm, 2014, 11(5):1520-1532.
- [31] Sonaje K, Lin KJ, Tseng MT, et al. Effects of chitosan-nanoparticle-mediated tight junction opening on the oral absorption of endotoxins [J]. Biomaterials, 2011, 32(33):8712-8721.

(收稿日期:2015-02-02)