

载药体系-聚合物胶束的应用

蒋小红, 黄嬛, 黄雄, 黄越燕, 朱琦峰, 宋国杰*
(嘉兴学院医学院, 浙江 嘉兴 314001)

[摘要] 聚合物胶束作为药物载体具有很多优良的性能,如体内外稳定性高、良好的生物相容性、难溶性药物的增溶作用等。本文从聚合物胶束的类型、聚合物胶束的载药方法和聚合物胶束在药物增溶作用、被动靶向、主动靶向及基因治疗药物载体中的应用等三个方面综述了近几年的研究发展概况。

[关键词] 聚合物胶束; 增溶作用; 靶向药物; 纳米技术

[中图分类号] R283.6 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2010)10-0220-04

Advance in Study of Polymer Micelle Drug Carrier Systems

JIANG Xiao-hong, HUANG Xuan, HUANG Xiong, HUANG Yue-yan, ZHU Qi-feng, SONG Guo-jie*
(Jiaxing University College of Medicine, Jiaxing 314001)

[Abstract] The polymer micelles as drug carriers have many excellent properties, such as the high stability in vivo, good biocompatibility, the solubilization of insoluble drugs role. This paper reviews the research and development of Polymeric micelles from three aspects, including their types, drug loading methods and applications, especially in solubilization, passive targeting, active targeting and gene therapy drug carrier.

[Key words] Polymeric micelles; solubilization; targeted drugs; nanometer technology

聚合物胶束系指一类由两亲性嵌段共聚物组成的胶束。该两亲性共聚物由疏水片段和亲水片段组成,并且亲水片段体积一般大于疏水片段,可以在水中自发形成核壳型结构,疏水片段形成胶束内核,亲水片段形成胶束外壳。由于这种独特的化学结构,在水溶液中能够形成具有球形的内核-外壳结构的共聚物胶束,其内核作为疏水性药物的容器,将药物增溶在内部,降低其毒副作用,外壳对药物起保护作用,提高药物的稳定性,并且达到缓释作用,同时通过胶束的表面修饰可以达到靶向作用。在难溶性药物、大分子药物和基因治疗药物载体给药方面具有独特的优势。

聚合物胶束的粒径较小(10~100 nm),纳米级的粒径加上亲水性的外壳使其不易被网状内皮系统吞噬,并阻止蛋白质和细胞的吸附,因此能在血液中长时间循环并保持稳定。

同时纳米级的粒径使载药胶束在靶点表现出良好的被动靶向作用^[1],通过“渗透与保留作用”(permeability and retention effect, EPR),聚合物胶束可以自主到达并在目标部位(如肿瘤细胞,炎症组织)滞留,从而提高药物效应,减少毒副作用。因此聚合物胶束作为药物载体表现出比其他纳米载体更为广阔的发展前景。

1 聚合物胶束的类型

1.1 嵌段聚合物胶束 两亲性嵌段共聚物(即同时具有亲水链和疏水链)与小分子表面活性剂的自组装原理相似,当置于一个对亲水链和疏水链具有不同溶解能力的溶剂中时,两亲性嵌段共聚物的亲水链、疏水链的溶解性存在极大差异,在水性环境中能自组装形成微观范围的聚合物胶束。这种胶束具有相对较窄的粒径分布及独特的核-壳结构,在水性环境中疏水链段凝聚成内核并被亲水性链段构成的栅栏所包围。构成两亲性嵌段共聚物的亲水链主要是聚乙二醇(PEG)或聚氧乙烯(PEO)^[2],而疏水链常常用聚氧丙烯、聚苯乙烯、聚氨基酸和聚酯等。它们与PEG一起构成各种二嵌段(AB)或三嵌段(BAB)^[3]两性聚合物,可形成各种类型胶束,扩大了载药范围。PEG功能化的聚合物胶束避免了载药系统在网状内皮系统(RES)中被非特异性吸收,延长了药物的体内循环时间^[4]。同时也克服了直接以聚氧丙烯、聚苯

[收稿日期] 2010-04-19

[基金项目] 浙江省自然科学基金项目(Y207785),嘉兴市科学技术局项目(2008AY2039-6)

[第一作者] 蒋小红, 硕士, 讲师, 研究方向药物的靶向研究, Tel: 13185733003

[通讯作者] * 宋国杰, 博士生导师, 研究方向心血管专业, Tel: 0573-83643803, E-mail: songgj301@126.com

乙烯、聚氨基酸等为原料制备的具有疏水性表面的纳米载体极易被肝、脾等组成的 RES 系统识别和吞噬的缺陷, 实现将药物运输到肝、脾以外的其他器官^[5]。

为了进一步提高药物对特定组织或器官的靶向效率, 还可以在亲水链段, 例如 PEG 的末端连接不同的配基(如糖基、氨基酸等), 提高药物输送的主动靶向能力。

1.2 接枝共聚物胶束 接枝共聚物是由疏水的骨架链和亲水的支链构成, 该接枝共聚物分散在水中会自组装形成具有核壳结构的纳米粒子, 粒子内核由疏水骨架链组成, 而外壳是亲水的支链。合成这种结构的接枝共聚物通常采用大单体路线^[14] 或对天然高分子接枝进行改性, 可实现对接枝共聚物的构型、支链的长短与数量、接枝点进行有效控制。不管用何种类型的大单体, 随着亲水性的支链长度的增加, 聚合物纳米粒子将逐渐减小。采用接枝共聚物胶束作为给药载体, 由于粒子表面存在大量离子基团或亲水基团, 因此亲水性药物可通过静电作用或氢键作用结合在粒子表面, 载有药物的粒子吸附在肠道黏膜上, 被释放的药物进入上皮细胞, 最终到达毛细血管^[6]。

1.3 聚电解质胶束 聚电解质是带相反电荷的聚离子链段与非离子亲水链段构成 AB 型嵌段共聚物, 在水溶液中通过静电作用、氢键作用或金属配位作用等自发组装形成具有核-壳结构的纳米粒子。柔性的亲水性聚合物嵌段(通常是 PEG) 组装形成束缚链状的致密栅栏, 包裹在内核外, 维持胶束的空间稳定性。内核由共聚物的部分嵌段聚集形成, 通过分子间作用力凝聚成核。例如: 在中性条件下将 PEO-P(Asp) 和 PEO-P(Lys) 这两种嵌段共聚物的水溶液混合, 荷正电的 P(Lys) 嵌段与荷负电的 P(Asp) 嵌段通过静电作用聚集成聚离子复合物胶束的内核, 外壳由亲水的 PEO 组成。该胶束的形成过程具有链长识别的特点, 即只有当 P(Lys) 和 P(Asp) 的链节数相等时, 才能自组装形成球形胶束, 不能匹配的嵌段共聚物仍然游离在水中^[7]。如果把其中一种嵌段共聚物换成带相同电荷的聚电解质, 再与另一种嵌段共聚物进行复合, 可形成纳米粒子, 对聚电解质和嵌段共聚物中的聚离子链段的长短没有任何要求^[8]。利用这一点, 最近有许多研究者设计合成了各种含有聚离子链段的嵌段共聚物与生物活性大分子(如蛋白质, 核酸等) 复合, 形成聚合物纳米粒子, 作为蛋白药物或基因药物的载体^[9-10]。

1.4 非共价键胶束 朱蕙等^[11] 报道了另一种利用大分子间氢键作用, 促使多组分高分子在选择性溶剂中自组装形成胶束的方法。对于存在特殊的相互作用(氢键或离子相互作用) 的聚合物 A 和 B, 如 B 溶液的溶剂是 A 的沉淀剂, 当 A 溶液滴加到 B 溶液中时, A 的分子链将皱缩、聚集。而由于 B 分子链的稳定作用, A 并不沉淀析出, 形成稳定分散的以 A 为内核、B 为外壳的胶束状纳米粒子。如将 B 溶液加入 A 溶液中, 或将 A、B 在共同溶剂中通过氢键作用形成“接枝络合物”, 然后再与选择性溶剂混合, 同样可形成胶束。

由于 A、B 间无化学键连接, 因此其核-壳结构可进一

步分离。通过交联和分离核壳, 可得到球型空心聚合物纳米等新型分子自组装形态。本法可直接采用无规共聚物或改性的聚合物进行分子组装, 不需要制备嵌段共聚物或接枝共聚物, 可在多种聚合物体系和有机溶剂或水性介质中进行。

2 聚合物胶束的载药方法

2.1 物理方法 药物和聚合物通过物理方法处理, 疏水性药物就可直接被裹进胶束内核中, 此方法操作简单, 载药范围广。有透析法、水包油乳状液法、溶剂挥发法、共溶剂挥发法和冻干法。

2.2 化学结合法 在一定条件下药物分子与聚合物疏水段基团发生化学反应, 将药物通过共价键结合到聚合物, 从而有效控制药物的释放速度。当有些药物的疏水性受到影响时, 可通过化学或物理方法在聚合物上引入一些具有可反应基团的疏水分子(如棕榈酸等), 再将药物结合到聚合物上^[12]。用此方法制得的聚合物胶束可有效地避免肾排泄及网状内皮系统的吸收, 提高药物的生物利用度。在外界环境的变化下, 药物与聚合物的化学键容易发生断裂从而释放药物。

2.3 静电作用 利用药物与带相反电荷的聚合物胶束疏水区通过静电作用而紧密结合, 将药物包封于胶束内。这种方法制备简单, 胶束稳定。Oupicky 等^[13] 将聚异丙基丙烯酰胺与聚赖氨酸通过酰胺键形成两亲性的接枝共聚物, 赖氨酸末端的正电荷与 DNA 的负电荷通过离子静电作用复合形成聚离子胶束, 作为 DNA 的载体。载有 DNA 的胶束具有高度的胶体稳定性和较低的毒性, 在血液中具有较长的循环时间并且具有温敏性, 因此在临床应用中具有重要的意义。

3 聚合物胶束的应用

3.1 药物增溶作用 胶束可通过渗析技术或 O/W 的乳化技术, 化学键合技术及静电作用对药物增溶。喜树碱类药物(CPTs)^[14] 为油、水皆难溶的药物, 在 Pluronic-PAA 聚合物制备的胶束中, CPTs 的水溶性增大 3~4 倍, 药物不仅被增溶在胶束核中, 而且在亲水性的 PEO-PAA 壳中也有溶解。与游离的药物相比, 胶束提高了 CPTs 活性内酯环的稳定性, 在血浆中的水解速度减慢了 10 倍以上。杨卓理等^[15] 制备了两性霉素 B 的聚乙二醇-聚乳酸嵌段共聚物, 对其物理化学性质和体外释药行为进行评价, 结果两性霉素 B 的释放缓慢, 可以作为疏水性药物的长循环载体。

3.2 药物靶向作用

3.2.1 被动靶向 肿瘤组织由于快速生长的需求, 血管生成很快, 导致新生血管外膜细胞缺乏、基底膜变形, 因而纳米级的嵌段共聚物胶束能穿透肿瘤的毛细血管壁的“缝隙”进入肿瘤组织, 而肿瘤组织的淋巴系统回流不完善, 造成粒子在肿瘤部位蓄积, 这就是所谓的 EPR 效应(EPR effect) 或被动靶向性^[16-17], 在当前的靶向制剂研究中有较广泛的应用。Shuai 等利用 PCL-MPEG 聚合物制备阿霉素的纳米胶束, 和游离的阿霉素相比, 聚集到细胞浆中的阿霉素增加, 细胞毒性降低。

3.2.2 温度智能型 肿瘤组织温度一般高于正常组织,所以制备温敏聚合物胶束可达到特异靶向。Kohori 等^[18]将二甲基丙烯酰胺(DMAAm)和 N-异丙基丙烯酰胺(IPAAm)嵌合后再与丙交酯(LA)形成共聚物,即 P(IPAAm-co-DMAAm)-b-PLA。通过透析法制得的阿霉素胶束载药量为 2%。以牛大动脉上皮细胞为模型,游离药物在 37 和 42.5 表现出相同的细胞毒性;而药物胶束体系在 42.5 比 37 具有更高的细胞毒性,表现出温度选择性。

3.2.3 pH 智能型 正常组织的 pH 一般为 7.4,80% 的肿瘤组织 pH 低于 7.2,而制备 pH 敏感的聚合物胶束可以实现 pH 依赖的肿瘤靶向。Lee 等^[19]利用聚组氨酸(polyHis)的 pH 敏感性制备了 polyHis-b-PEG 胶束。在肿瘤组织的低 pH 环境下,组氨酸咪唑基团上的孤对电子被质子化,使胶束带正电,因此很容易与带负电的肿瘤细胞膜融合,从而释放包封的药物,使药物有效地靶向肿瘤组织,表现出 pH 选择性。

3.2.4 受体智能型 肿瘤细胞或肿瘤相关血管表面的受体与肿瘤生长增殖密切相关,在某些肿瘤组织过度表达,受体与特异性抗体或配体结合后可诱导细胞内化。此类特异性受体可以作为肿瘤靶向治疗的靶点。通过化学反应对胶束进行表面修饰,在其表面接上抗体或配体(如半乳糖、转铁蛋白、叶酸等),与特异性受体结合后诱导细胞内化进入肿瘤细胞,将药物靶向输送到肿瘤组织。研究表明^[20],半乳糖和乳糖修饰的 PEG-PLA 胶束可以特异性识别外源凝聚素,将胶束靶向肝细胞。转铁蛋白修饰的 PEG-PEI 胶束能够将 DNA 靶向输送到过度表达转铁蛋白受体的肿瘤细胞中^[21]。相似的靶向修饰方法同样成功地应用在叶酸修饰的胶束上,将阿霉素包封在表面带有叶酸受体的 PEG-PLH(聚 L-组氨酸)和 PEG-PLA(聚乳酸)共聚物胶束中,体外实验研究显示了很好的靶向性。

3.2.5 免疫智能型 肿瘤细胞表面存在着许多别于一般细胞的抗原,利用抗原和抗体的特异性结合,将胶束的亲水壳接上抗体,形成免疫胶束,使其在体内“识别”肿瘤细胞,达到靶向目的。虽然抗肿瘤单抗通常只对某一具体肿瘤具有特异性,一般一种抗体只识别一种肿瘤,但一些非致病性抗核自体单抗(ANAs)如单克隆抗体 2C5(mAb2C5),能特异识别肿瘤细胞表面吸附的核小体而靶向肿瘤,这种抗体能识别大多数肿瘤,具有靶向各种不同类型的肿瘤,因而可以作为特异性配基将药物或药物载体靶向肿瘤^[22]。Torchilin 等^[23]将 2C5 抗体接到 PEG-PE 共聚物胶束的亲水端,一个胶束单元可偶联约 10~20 个抗体,并成功载入紫杉醇。体外细胞实验结果表明,该免疫胶束能“识别”多种肿瘤细胞,在肿瘤细胞的药物蓄积量明显高于非免疫胶束。将含有等量紫杉醇的免疫胶束、非免疫胶束以及游离药物作小鼠尾静脉注射给药,2 h 后处死,结果发现:非免疫胶束组和游离药物组的肿瘤重量远大于免疫胶束组。

3.3 基因治疗药物载体 两亲性的聚合物胶束由于具有很

好的生物相容性和体内稳定性,可以作为质粒 DNA 和寡核苷酸的载体。Kataoka 等^[24]通过寡核苷酸与聚赖氨酸(PLL)的静电作用在生理盐水中制备载寡核苷酸的 PEG-PLL 共聚物胶束。寡核苷酸和 PLL 结合形成聚离子复合物的核心,亲水的 PEG 嵌段形成外壳将核心包围起来,形成较稳定的胶束,粒径为几十纳米。Katayose 等^[25]通过 DNA 质粒与 PLL 之间的静电作用制备了载 DNA 质粒的 PEG-PLL 共聚物胶束。由于 PEG 的保护作用,使胶束具有抵御体内核酸酶的能力,随 PLL 嵌段分子量的增加,抵御能力增强。嵌段共聚物胶束良好的稳定性和生物相容性,在血液中可长时间循环,毒性相对较低,用作质粒 DNA 和寡核苷酸的载体,与现有的病毒载体相比具有独特的优势。目前还需解决胶束到达细胞后如何避开溶酶体、突破细胞核膜的障碍等问题,若可解决,这种基因治疗方法就有可能应用于临床。

4 结束语

聚合物胶束作为载药体系具有其独特的优势:如聚合物胶束能够增加疏水药物在体液中的溶解性,延长药物的作用时间,提高药物的生物利用度;靶向聚合物胶束能够增加药物到达病变部位的比例,降低药物对正常组织的毒副作用。到目前为止,仅有数量有限的聚合物用作载药系统,如在 EPR 效应基础上引入 pH 敏感基团、温敏基团、受体、配基等,制成肿瘤特异性靶向技术的智能型胶束,将在肿瘤疾病的治疗中发挥更好的作用,成为很有潜力的载药体系。

[参考文献]

- [1] 许向阳,李玲,周建平. 聚合胶束载药多柔比星的研究进展[J]. 中国新药杂志, 2007, 16(1): 28.
- [2] Letchford K, Burt H. A review of the formation and classification of amphiphilic block copolymer nanoparticulate structures: micelles, nanospheres, nanocapsules and polymersomes [J]. Eur J Pharm Biopharm, 2007, 65(3): 259.
- [3] Du H, Zhu J, Jiang W. Study of controllable aggregation morphology of ABA amphiphilic triblock copolymer in dilute solution by changing the solvent property [J]. J Phys Chem B, 2007, 111(8): 1938.
- [4] R sler A, Vandemeulen GW, Klok HA. Advanced drug delivery devices via self-assembly of amphiphilic block copolymers [J]. Adv Drug Deliv Rev, 2001, 53(1): 95.
- [5] Adams ML, Lavasanifar A, Kwon GS. Amphiphilic block copolymers for drug delivery [J]. J Pharm Sci, 2003, 92(7): 1343.
- [6] Sakuma S, Sudo R, Suzuki N, et al. Mucoadhesion of polystyrene nanoparticles having surface hydrophilic polymeric chains in the gastrointestinal tract [J]. Int J Pharm, 1999, 177(2): 161.

- [7] Harada A, Kataoka K. Chain length recognition: core-shell supramolecular assembly from oppositely charged block copolymers [J] . Science, 1999, 283 (5398) : 65.
- [8] Lysenko EA, Bronich TK, Eisenberg A, et al. Block Ionomer Complexes with Polystyrene Core-Forming Block in Selective Solvents of Various Polarities [J] . Macromolecules, 2002, 35: 6351.
- [9] Rackstraw BJ, Martin AL, Stolnik S, et al. Microscopic Investigations into PEG? Cationic Polymer-Induced DNA Condensation [J] . Langmuir, 2001, 17: 3185.
- [10] Dautzenberg H, Zintchenko A. Polycationic Graft Copolymers as Carriers for Oligonucleotide Delivery [J] . Langmuir, 2001, 17: 3096.
- [11] 朱蕙, 袁晓凤, 赵汉英, 等. 非共价键胶束 - 聚合物自组装的新途径 [J] . 应用化学, 2001, 18 (5) : 336.
- [12] Nishiyama N, Kataoka K. Preparation and characterization of size controlled polymeric micelle containing cis-dichlorodiammineplatinum (II) in the core [J] . J Control Release, 2001, 74 (1-3) : 83.
- [13] Oupicky D, Reschel T, Konak C, et al. Temperature-controlled behavior of self-assembly gene delivery vectors based on complexes of DNA with poly(L-lysine) -graft-poly (N-isopropylacrylamide) [J] . Macromolecules, 2003, 36 (18) : 6863.
- [14] Barreiro-Iglesias R, Bromberg L, Temchenko M, et al. Solubilization and stabilization of camptothecin in micellar solutions of pluronic-g-poly (acrylic acid) copolymers [J] . J Control Release, 2004, 97 (3) : 537.
- [15] 杨卓理, 杨可伟, 李馨儒, 等. 两性霉素 B 的聚乙二醇 - 聚乳酸胶束的制备及其体外释动力学 [J] . 中国药理学杂志. 2007, 42 (7) : 519.
- [16] Sledge GW Jr, Miller KD. Exploiting the hallmarks of cancer : the future conquest of breast cancer [J] . Eur J Cancer, 2003, 39 (12) : 1668.
- [17] Teicher BA. Molecular targets and cancer therapeutics: discovery, development and clinical validation [J] . Drug Resist Updat, 2000, 3 (2) : 67.
- [18] Kohori Fukashi, Sakai Kiyotaka, Aoyagi T. Control of adriamycin cytotoxic activity using thermally responsive polymeric micelles composed of poly (N-isopropylacrylamide-co-N, N-dimethylacrylamide) -B-poly (D, L-lac-tide) [J] . Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 1999, 16: 195.
- [19] Lee ES, Shin HJ, Na K, et al. Poly (L-histidine) - PEG block copolymer micelles and pH-induced destabilization [J] . J Control Release, 2003, 90 (3) : 363.
- [20] Jule E, Nagasaki Y, Kataoka K. Lactose-installed poly (ethylene glycol) -poly (d, l-lactide) block copolymer micelles exhibit fast-rate binding and high affinity toward a protein bed simulating a cell surface. A surface plasmon resonance study [J] . Bioconjug Chem, 2003, 14 (1) : 177.
- [21] Kircheis R, Wightman L, Schreiber A, et al. Polyethylenimine/DNA complexes shielded by transferrin target gene expression to tumors after systemic application [J] . Gene Therapy, 2001, (1) : 28.
- [22] Torchilin VP, Iakubov LZ, Estrov Z. Therapeutic potential of antinuclear autoantibodies in cancer [J] . Cancer Ther, 2003, 1 (1) : 179.
- [23] Torchilin VP, Lukyanov AN, Gao Z, et al. Immunomicelles: targeted pharmaceutical carriers for poorly soluble drugs [J] . Proc Natl Acad Sci U S A, 2003, 100 (10) : 6039.
- [24] Kataoka K, Togawa H, Harada A, et al. Spontaneous formation of polyion- complex micelles with narrow distribution from antisense oligonucleotide and cationic block copolymer in physiological saline [J] . Macromolecules, 1996, 29 (26) : 8556.
- [25] Katayose S, Kataoka K. Remarkable increase in nuclease resistance of plasmid DNA through supramolecular assembly with poly (ethylene glycol) - poly(L-lysine) block copolymer [J] . J Pharm Sci, 1998, 87 (2) : 160.

[责任编辑 顾雪竹]