

Application of PEG-PLA Block-polymer in the Delivery of Anti-tumor Drugs

Qide Li

Chia Tai Tianqing Pharmaceutical Group Co., Ltd., Lianyungang, Jiangsu, 222062, China

Abstract

Compared with traditional chemotherapy drugs, polyethylene glycol-poly (D,L-lactic acid) (PEG-PDLLA) polymer micelles have obvious advantages in tumor treatment. PEG-PDLLA polymer micelles can increase the solubility of hydrophobic drugs and increase the proportion of drugs at the target site through passive targeting; in order to enhance the internalization of specific cells, corresponding ligands can be modified on the surface of the carrier to mediate the active targeting of some cells. Although these passive and active targeting strategies have achieved gratifying results in tumor therapy, there are still some deficiencies to be solved. At the same time, for the polymer micelle drug delivery system that has been on the market at present, although it can reduce some adverse reactions of drugs, the expected anti-tumor effect is not satisfactory. Further understanding the in vivo behavior of polymer micelles is the key to solve this problem.

Keywords

polymer micelles; polyethylene glycol-block-poly (D, L-lactic acid); EPR effect; antitumor drug delivery; in vivo process of polymer micelles

PEG-PDLLA 嵌段聚合物胶束在抗肿瘤药物递送上的应用

李其德

正大天晴药业集团股份有限公司, 中国·江苏连云港 222062

摘要

与传统的化疗药物相比, 聚乙二醇-聚(D,L-乳酸)(PEG-PDLLA)聚合物胶束在肿瘤治疗方面具有明显优势。该聚合物胶束能够增加疏水性药物的溶解性, 通过被动靶向作用提高药物在靶部位的比例; 为增强特定细胞的内化, 可在载体表面修饰相应的配体介导对某些细胞的主动靶向。尽管这些被动和主动靶向策略在肿瘤治疗中都取得了可喜的成果, 但仍有一些不足未解决。同时, 对于目前已上市的聚合物胶束递药系统而言, 虽能够降低药物的一些不良反应, 但预期的抗肿瘤效果不尽如人意, 进一步了解聚合物胶束的体内行为, 是解决这个问题的关键。

关键词

聚合物胶束; 聚乙二醇-聚(D,L-乳酸); EPR效应; 抗肿瘤药物递送; 胶束的体内过程

1 引言

纳米载体由于其较低的全身毒性和增强的肿瘤分布在药物递送方面受到广泛的关注。各种纳米载体, 如有机纳米粒子、无机纳米粒子、聚合物胶束、脂质体和固体脂质纳米粒等, 在各种各样的疾病中都展现出令人惊喜的疗效^[1]。在这些纳米载体中, 嵌段聚合物胶束已被开发作为肿瘤纳米药物的主要递送载体之一, 聚合物胶束是由两亲性的聚合物自组装成的纳米级颗粒(5~200nm), 旨在通过增强渗透性和保留(enhanced permeability and retention effect, EPR)效应将药物递送至肿瘤部位^[2], 其具有隐形的外壳和疏水的核心区域, 疏水内核作为增溶储库, 能够在不改变药物化学结构

的情况下封装各类难溶于水的药物; 亲水外壳提供的优点包括更长的血液循环时间和增加的血液稳定性^[3]。

PDLLA是一种源自可再生资源的聚酯, 具有适宜的生物降解性、低免疫力、良好的安全性和机械强度, 已获得FDA批准用于组织工程、医疗材料、药物载体等领域。因PDLLA水溶性较差, 常在PDLLA分子链中引入亲水性的链段进而改善PDLLA的亲水性。常用的亲水链段如聚乙二醇(PEG)、聚(2-甲基丙烯酰氧乙基磷酸胆碱)(PMPC)和聚(环氧乙烷)(PEO)等。其中, PEG因其优势显著, 如良好的亲水性与柔韧性、明显增加微粒的空间位阻、抗巨噬细胞吞噬及免疫识别等, 得到了广泛的应用。值得注意的是, 与其他纳米药物一样, 聚合物胶束递药系统只是减少了药物的一些不良反应; 与游离药物相比, 它们没有显示出预期的治疗优势。聚合物胶束的化学及物理性质, 特别是稳定性决定了其体内行为及治疗效果, 显而易见, 纳米递药系统

【作者简介】李其德(1980-), 男, 中国江苏连云港人, 本科, 高级工程师, 从事制剂研发研究。

在血液循环中的稳定性是药物递送的先决条件。

论文主要从 PEG-PDLLA 嵌段聚合物的性质、聚合物胶束递送药物的基础与应用以及胶束的体内过程三方面展开介绍。

2 PEG-PDLLA 嵌段聚合物的性质

与单独的 PDLLA 相比,嵌段聚合物的构建可极大改善 PDLLA 的亲水性,在 PDLLA 链上引入亲水性的 PEG 链段,其形成的聚合物胶束具有优良的长循环效果及缓控释性能。同时,研究表明 PEG-PDLLA 可以抑制 P-糖蛋白的活性,以及 PEG₂₀₀₀ 能够减弱多药耐药相关蛋白 2 (MDR2) 的作用。抑制这种酶和转运体可能导致某些药物暴露量的显著变化。

So Yeon Kim 等借助 ¹H NMR 分析方法,证实了 PEG-PDLLA 聚合物中亲水段 PEG 与疏水段 PDLLA 的含量比与反应物料的投料比相接近,通过调整投料比,进而可以得到不同分子量的聚合物。与此同时,不同分子量的 PEG-PDLLA 聚合物具有不同的粒径、亲水性以及释药动力学。由于 PDLLA 的水溶性较差,因此当 PDLLA 的疏水链段越长,其疏水性越强,疏水相互作用驱动的自组装过程也越方便。当 PEG 的数均分子量固定时,随着聚合物中 PDLLA 分子量的增加,嵌段聚合物的临界胶束浓度 (Critical Micelle Concentration, CMC) 值降低,但胶束在水溶液中的平均粒径显著增大,同时,这种粒径增大的主要诱因是 PDLLA 链段长度的增加,而 PEG 的分子量大小对粒径的影响较小^[4]。

PEG-PDLLA 聚合物胶束的释药行为亦受其分子量的影响,PDLLA 含量高的聚合物胶束对疏水性药物的载药量越高。体外释放试验表明,PDLLA 链段越长,PDLLA 链与疏水药物的相互作用越大,胶束释放药物的速度越慢。当聚合物中 PEG 的平均分子量较低时,由于分子链短,柔性低,胶束易发生形变,因此 PEG 的平均分子量越大,分子链长度越长,结构越稳定。

3 聚合物胶束递送药物的基础与应用

临床使用的不少抗肿瘤药物水溶性较差,静脉给药时它们强烈的聚集倾向可能导致栓塞和局部毒性等并发症;传统的化疗药物大都为小分子,血液中清除较快,从而导致肿瘤内药物浓度降低。因此,如何有效地将疏水性药物递送至靶点并延长血液循环的时间一直是个具有挑战性的难点。研究发现:使用纳米载体包载化疗药物后,能够增加疏水药物在体液中的溶解性,延长药物的血液循环时间,进一步增加药物到达病灶部位的比例。

静脉注入循环系统的纳米载体药物需要通过血管壁渗出到靶病灶,然后释放搭载的药物。与小分子不同,纳米载体由于体积较大,无法通过正常血管内壁上紧密连接的内皮细胞。然而,肿瘤细胞由于快速增殖导致瘤内的血管和淋巴管不完整,这使得大小适宜的纳米载体容易从血管内渗漏进入肿瘤组织,与此同时,肿瘤内部的淋巴系统基本缺失或功能失调,引流不足导致肿瘤具有增强的渗透和滞留效应。这种

现象被广泛认为是纳米粒的 EPR 效应,是被动靶向至肿瘤的基础。在过去的几十年里,利用肿瘤组织的高渗透性进行纳米药物递送已经成为设计和开发癌症治疗新疗法的重要策略。

3.1 减毒及增效

依靠肿瘤存在的 EPR 效应,聚合物胶束即可被动蓄积于肿瘤部位,达到靶向递送抗肿瘤药物的目的,同时嵌段聚合物材料的制备较为简单,胶束的构建方法易于放大生产,因此得到医药企业的青睐。目前已上市的 PEG-PDLLA 类纳米药物有韩国 Samyang 公司研制的 Genexol[®]-PM (PEG-PDLLA 55/45, 包载紫杉醇)、Nanoxel-M (PEG-PDLLA, 包载多西他赛),中国上海谊众药业的紫晟 (PEG-PDLLA 53/47, 包载紫杉醇)。上述聚合物胶束制剂的制备方式主要采用薄膜水化法,该工艺操作简单,同时所需的材料均为注射用辅料,安全性较好。

影响紫杉醇 (Taxol[®]) 化疗成功的主要障碍是传统表面活性剂引起的严重过敏反应。因此,有效的紫杉醇化疗依赖于新的给药系统的开发。Sung Chul Kim 等制备了含紫杉醇的可生物降解的聚合物胶束体系 (Genexol[®]-PM),以临床上使用的紫杉醇注射液 (Taxol[®]) 作为对照。Genexol[®]-PM 和 Taxol[®] 在裸鼠中的最大耐受剂量分别为 60 和 20mg/kg。在人卵巢癌荷瘤裸鼠模型以及人乳腺癌荷瘤小鼠模型的治疗实验结果中,Genexol[®]-PM 的体内抗肿瘤效果明显优于 Taxol[®]。通过细胞毒性、最大耐受剂量、组织分布和抗肿瘤效果的综合比较,Genexol[®]-PM 可能比 Taxol[®] 具有更大的治疗优势。

Yu 等制备了五种不同粒径的 (30~230nm) 含多西他赛的 PEG-PDLLA 聚合物胶束体系,并研究了各粒径胶束在多细胞肿瘤球和异种移植瘤小鼠模型上的渗透效果。结果表明,小粒径的胶束具有较强的组织穿透能力,但血液半衰期短;100~200nm 粒径的胶束其循环时间长但穿透能力较差,而粒径 > 200nm 的胶束其血液半衰期短、穿透能力差并且在肿瘤部位的蓄积较少。通过 EPR 效应,载药 PEG-PDLLA 聚合物胶束可以选择性杀伤肿瘤细胞,减少对正常组织的损伤。

3.2 核酸药物的递送

随着 Onpatro (全球第一款 RNAi 药物) 于 2018 年获 FDA 批准上市,阳离子脂质纳米粒 (LNPs) 引起极大的兴趣。然而,阳离子纳米载体的固有特性,包括相关的细胞毒性和网状内皮系统的快速清除,对临床应用构成了不可逾越的障碍。

作为一种替代策略,利用临床批准的纳米载体,如聚 (D,L-丙交酯) (PDLLA) 或其衍生物,可以作为加快临床转化的捷径。自 RNA 干扰技术发现以来,一些研究小组也利用 PDLLA 或其衍生物来封装 siRNA,但是包封率较低 (低至 20%)。为了解决这一问题,Xu 等探索了以 PEG-PDLLA 的两亲性嵌段聚合物为基质,通过双乳液法制备了具有高 siRNA 包封率 (> 95%) 的阳离子脂质辅助 PEG-PDLLA 纳米粒体系 (CLAN)。同时,该课题组制备了一

系列具有不同特性的 CLAN 纳米颗粒,用于其他类型的核酸递送以期达到最优的递送效率,通过 CLAN 纳米粒可以有效递送核酸药物进入肿瘤细胞、肿瘤干细胞、T 细胞和巨噬细胞等多种细胞。鉴于脂质和核酸之间的静电相互作用以及临床批准纳米载体的 (PEG-PDLLA) 使用,CLAN 代表了具有大规模生产潜力的非病毒核酸递送的安全、有效和可控平台。在一级乳化过程中,阳离子脂质在水-油界面紧密自组装,其阳离子头基与 siRNA 相互作用,避免了 siRNA 在第二次乳化过程中泄漏到外部水相。

3.3 PEG-PDLLA 的主动靶向递药系统

普通纳米递药系统可以依靠 EPR 效应被动靶向至肿瘤部位,但依然有大量的纳米药物可能分布于肝、脾及肾等器官,抗肿瘤药物在这些部位的释放会引发严重的毒副作用。主动靶向是减少化疗药物对正常组织损伤的另一种有效方法。相较于正常细胞,肿瘤细胞由于生长迅速,其受体表达显著升高,如叶酸受体、酪氨酸激酶受体、脂蛋白受体、转铁蛋白受体、葡萄糖转运体等,相应的配体常用作肿瘤细胞递药的靶向分子,纳米载体表面通过修饰特定的靶向分子(如有机小分子、糖基、多肽和抗体),能够与肿瘤细胞或肿瘤血管上表达的受体、抗原或转运体相结合,而达到将递药系统靶向递送至特定部位的目的。

Xiong 等设计了由 PEG-聚(碳酸丙酯)-PDLLA 和叶酸-PEG-PDLLA 嵌段聚合物组成的交联可降解胶束,以叶酸作为靶向分子,用于受体介导的紫杉醇 (PTX) 递送。值得注意的是,叶酸修饰的 PTX 交联胶束对人鼻咽癌表皮细胞 (KB 细胞) 的毒性明显高于游离 PTX,且流式结果显示,KB 细胞对叶酸修饰交联胶束的摄取显著优于未修饰的对照组(叶酸修饰组的细胞摄取为对照组的 3 倍)。Ruan 等制备了 stapled RGD 多肽修饰的 PEG-PDLLA 聚合物胶束包载紫杉醇的纳米制剂,并进行了药效学评价。结果表明,该纳米制剂在脑胶质瘤早期可跨越血-脑屏障实现颅内转运,在肿瘤新生血管形成后又可跨越血-脑屏障,并靶向脑胶质瘤细胞,发挥多重靶向的抗脑胶质瘤效果,从而显著延长了原位脑胶质瘤模型裸鼠的生存时间。胶束的自组装过程 (A),紫外线照射交联 (B)。与非交联胶束相比,非交联胶束容易解离,导致静脉注射后药物过早释放,交联胶束在循环中稳定,在肿瘤组织中的蓄积增强 (C)。叶酸偶联的交联胶束通过受体介导的内吞作用被 KB 细胞有效地内化 (D)。

4 PEG-PDLLA 聚合物胶束的体内过程

胶束与其两亲性聚合物单体处于热力学和动力学平衡状态,胶束一旦进入血液,就会立即被稀释,并与血细胞、血浆蛋白和其他成分混合,使平衡状态向游离的聚合物单体转变。先前的体外研究已表明,部分胶束在模拟血清的条件下会失去其完整性,甚至在与脂蛋白相互作用时立即改变其结构并释放其包载的药物。

为了解决上述问题,Sun 等借助临床使用的聚乙二醇-聚己内酯 (PEG-PCL) 和 PEG-PDLLA 胶束,将疏水链末端连上一对荧光共振能量转移 (FRET) 染料 (Cy5 和 Cy5.5) 结合,制成 FRET 胶束。令人惊讶的是,体外实验中,小鼠血清或血液没有诱导胶束解离,然而一旦微流通道施加剪切作用,则会引起大部分的胶束解离。小鼠静脉给药后,PEG-PCL 或 PEG-PDLLA 胶束迅速的以聚合物单连的形式进入肝脏中,并且血液中胶束迅速下降到 20% 左右,静脉注射聚合物胶束后,在血流剪切力以及血浆蛋白(特别是白蛋白)的作用下,约 80% 的 PEG-PCL 和 PEG-PDLLA 聚合物胶束快速分解成聚合物单链,并被肝巨噬细胞清除,而完整的胶束则很难被清除,这些胶束能够到达肿瘤组织,并在细胞内逐渐解离。理解聚合物胶束的体内过程和清除机理是研究者合理构建高效聚合物胶束的基础,而胶束的高稳定性则是其表面功能化设计的前提。

5 结论与展望

如前所述,PEG-PDLLA 聚合物胶束由于其良好的生物相容性、材料结构设计的灵活性赋予其在肿瘤药物递送上的独特优势。通过调节两亲性聚合物材料中亲、疏水片段的平均分子量、含量、PEG/PDLLA 的比例,可以改善纳米药物的稳定性及粒径大小不适等问题、提升胶束的包封率及载药量;通过表面靶向分子的修饰能够得到主动靶向性的聚合物胶束,实现将递药系统靶向递送至特定部位的目的。

尽管这些研究都取得一定的成果,一定程度上提高了药物递送和抗肿瘤效果,但是这些策略仍然存在较多问题和不确定性。同时对于 PEG-PDLLA 的主动靶向策略而言,靶向分子的有效性是值得关注的重点。虽然肿瘤部位高表达靶向受体,但是不可避免的是,这些受体在正常组织中也有一定的表达,这导致靶向递药系统不仅会分布到肿瘤组织,同时可能分布于其他组织,因此筛选特异性更好的受体及相关配体成为靶向递送领域的研究目标;另外,靶向分子修饰后的递送有效性仍然有待考究。纳米载体进入血液循环后,血浆蛋白的吸附导致在载体表面形成一层蛋白冠,其会阻断靶向分子与受体间的特异性结合,因此使得载体的主动靶向效果减弱甚至消失。

参考文献

- [1] Chong L A, Jw B, Yw B, et al. Recent progress in drug delivery[J]. Acta Pharmaceutica Sinica B,2019,9(6):1145-1162.
- [2] A H M, A J W, A T S, et al. Tumor vascular permeability and the EPR effect in macromolecular therapeutics: a review[J].Journal of Controlled Release,2000,65(1-2):271-284.
- [3] Cabral H, Matsumoto Y, Mizuno K, et al. Accumulation of sub-100 nm polymeric micelles in poorly permeable tumours depends on size[J].Nature Nanotechnology,2011,6(12):815-823.
- [4] Gref R, Minamitake Y, Peracchia MT, et al. Biodegradable long-circulating polymeric nanospheres[J]. Science, 1994(4):3-5.