

文章编号: (2008)02-0055-08

## 树状聚合物在药学领域中的应用

陈继平, 孙进, 何仲贵

(沈阳药科大学 药学院, 辽宁 沈阳 110016)

**摘要:** **目的** 介绍树状聚合物在药学领域中的应用。**方法** 以国内外 29 篇相关文献为依据, 综述了树状聚合物的合成方法、结构和性能, 介绍了其在增溶、药物载体、基因治疗、自身药理作用、安全性等药学方面的应用进展。**结果** 树状聚合物可以增溶药物、作为药物和基因治疗的载体, 并自身具有药理作用且较安全。**结论** 树状聚合物的特殊结构决定了它的独特性质, 树状聚合物在药物传递系统、基因载体等领域具有广阔的应用前景。

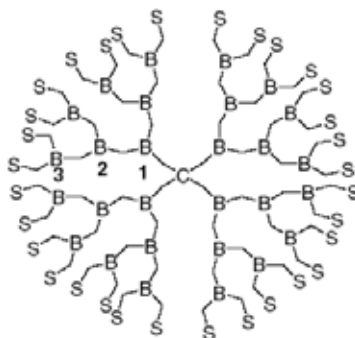
**关键词:** 药剂学; 应用; 综述; 树状聚合物; 聚酰胺-胺(PAMAM)

**中图分类号:** G353.11 **文献标志码:** A

树状聚合物于 20 世纪 70 年代末由 Vögtle 等首先合成<sup>[1]</sup>, 其后应用越来越广, 作者主要综述了树状聚合物的合成方法、结构和性能以及在增溶、药物载体、基因治疗、自身药理作用、安全性等药学方面的应用进展, 以期能为树状聚合物应用研究提供参考。

### 1 概述

树状聚合物的三维结构链骨架有许多末端, 结构形状像树枝而得名。树状聚合物具有高度的分支状结构, 由中心分子一层一层地向下一级分子延伸而形成大分子。典型的树状聚合物由三个主要的结构组成: 引发核; 单体重复单元; 端基(图 1)<sup>[2]</sup>。



C—Central initiator core; B—Monomeric repeating unit; S—End group

Fig. 1 Dendrimer

树状聚合物的合成方法分为发散法和收敛法。所谓发散法就是由中心引发核向外部的端基进行的“由内向外”合成的方法, 反之收敛法则是“由外向内”进行合成的方法。树状聚合物的大小用代数

收稿日期: 2007-07-02

作者简介: 陈继平(1982-), 男(汉族), 辽宁沈阳人, 硕士研究生, E-mail chenjp190@163.com; 何仲贵(1965-), 男(汉族), 宁夏盐池人, 教授, 博士, 主要从事生物药剂学与新剂型研究, Tel. 024-23986321, E-mail hezhonggui@gmail.com。

(generation)来表示,由中心引发核出发向外,合成时反应每循环1次,代数就增加1。记为 $G_0$ 、 $G_1$ 、 $G_2$ .....树状聚合物如聚酰胺-胺(PAMAM,图2)代数增加1时需要进行2步反应(Michael加成和酰胺化),则每完成一步反应增长半代<sup>[3]</sup>。树状聚合物有理想的分支结构和大量的官能团存在,这影响着其在固态和液态时的物理性质。因而具有其他大分子没有的特点,包括由于可以在分子水平上精确合成确定代数的树状聚合物,所以树状聚合物具有如下特性:单分散性,分子量分布窄;溶解性:树状聚合物中存在大量的亲水性基团,所以具有良好的溶解性;反应活性:当外部端基具有很高的反应活性时如氢解,则树状聚合物可以和质子溶剂之间表现出不寻常的氢键作用;包容性质:树状聚合物内部有空穴和亲水性的官能团,内部空间较分散,可以包裹一些小分子的物质,利用这个性质可以将树状聚合物用作药物传递载体<sup>[4-6]</sup>;靶向性好:树状聚合物外层端基数量巨大,接上靶向基团可以高效地直达病变部位。

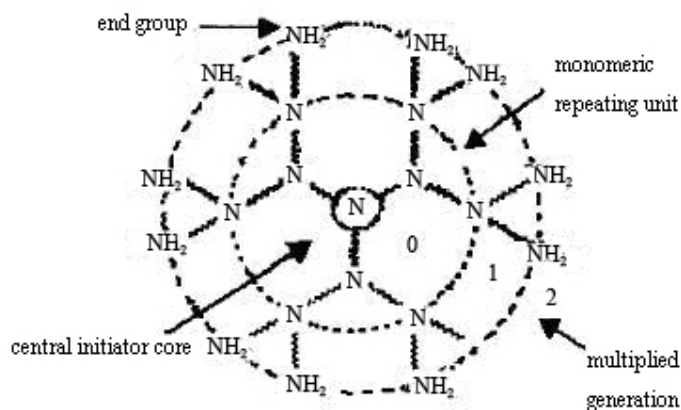


Fig. 2. Polyamidoamine(PAMAM) dendrimer

## 2 树状聚合物的应用

### 2.1 增溶功能

提高难溶性药物的溶解度可以提高其生物利用度并减少给药剂量。常见的提高药物水溶性的方法包括使用表面活性剂作为增溶剂、制成固体分散体和制成包合物等。而用聚合物尤其是树状聚合物将药物包合起来以增加药物溶解度是一种较新的增溶手段。树状聚合物内部疏水,外部亲水,一个树状聚合物分子可以构成一个胶束,因而称为“单分子胶束”<sup>[7]</sup>。Cheng等研究了PAMAM-树状聚合物(PAMAM-D)对非甾体抗炎药的增溶作用,向5 mL PAMAM-D 乙酸乙酯溶液中加入过量的非甾体抗炎药使药物溶液达到饱和,溶液在37 °C下振摇24 h,再以 $5\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心1 min,在每种药物相应的最大吸收波长下测定吸光度来确定PAMAM-D对非甾体抗炎药的增溶效果<sup>[8]</sup>。实验结果表明,PAMAM对酮洛芬、布洛芬、二氟尼柳和萘普生具有显著的增溶作用。相同条件下增溶程度大小顺序为萘普生>酮洛芬>布洛芬>二氟尼柳,并且PAMAM的代数越高增溶效果越好。在PAMAM-D存在下分别测定硝苯地平在Tris缓冲液中的溶解度。结果表明,聚合物的代数、表面官能团以及溶液的pH值决定了硝苯地平在水中的溶解度<sup>[9]</sup>。溶解度符合Higuchi  $A_L$ 类型。末端为氨基和氨基酯的树状聚合物都是在pH7时使硝苯地平达到最大增溶效果。树状聚合物的代数不同,增溶

能力不同,在 pH7 时大小顺序为  $G_{2.5} > G_3 > G_{1.5} > G_2 \geq G_{0.5} > G_1 > G_0$ 。在相同条件下,末端为氨基酯比末端为氨基时的增溶作用要大。Devarakonda 等对 PAMAM-D 和环糊精对氯硝柳胺的增溶作用作了比较,结果显示在 pH7 时除了零代 PAMAM-D 外,其他代的 PAMAM-D 能显著地增加氯硝柳胺的溶解度<sup>[10]</sup>。PAMAM-D 对氯硝柳胺的包合作用要比环糊精强且包合物更稳定。Ooya 等用  $800 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  聚合甘油树状聚合物溶液来增溶紫杉醇,与 PEG400 相比,前者可以使紫杉醇的溶解度增加 10 000 倍,而体系的黏度没有明显的增加<sup>[11]</sup>。增溶原因可能是树状聚合物中乙二醇单元局部密度的增加从而增加了亲水性。如图 3 所示。

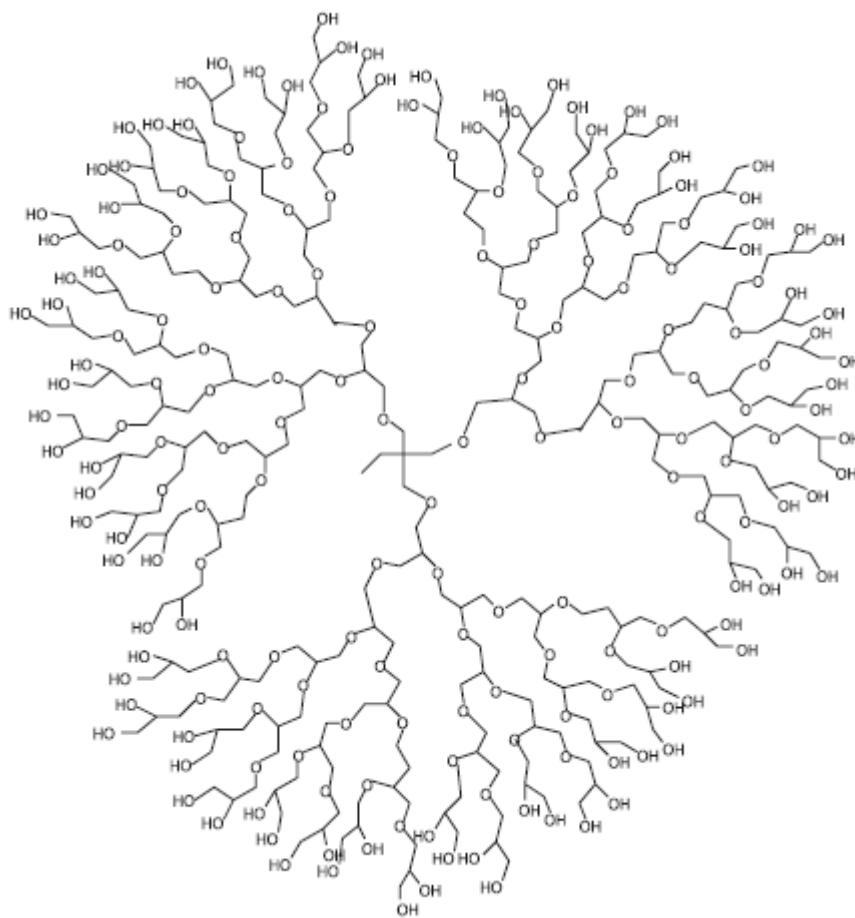


Fig. 3 G5 polyglycerol dendrimer

## 2.2 药物传递系统的载体

树状聚合物的内部具有疏水性空腔结构,因而可作为疏水性药物的载体,此时聚合物可以看成是一种包裹物,提示人们可以去寻找这样的聚合物,聚合物在靶点附近接受到靶组织的信号或化学等的刺激时会减少与被包裹药物的结合力从而将药物释放出来。另外一种情况是树状聚合物表面具有致密的基团,药物与这些基团相连,从而形成药物-树状聚合物结合物<sup>[12]</sup>。这种结合是共价结合。20世纪40年代以来,细胞毒性药物已广泛应用于癌症的化疗,而这些药物在产生药效的同时也产生了全身严重的毒性及不良反应,大大限制了药物的临床应用。近年来靶向药物载体的研究取得了很大的成功。直径在10~500 nm之间的纳米粒子和纳米胶囊可以穿过肿瘤组织内皮细胞进入组织间隙

和细胞内,进而在细胞水平上供药<sup>[13]</sup>,而树状聚合物具有如下特性:载药量较高(质量分数大于30%);包封率较高;有较好的制备和纯化方法;生物可降解;颗粒直径较小;血液循环周期较长。因此树状聚合物可作为一种非常有前途的药物新剂型,实现药物的三级靶向传递,即从特定器官→特定细胞→细胞内结构。有时为达到特定的目的,也可对树状聚合物进行修饰。如Tripathi等用修饰的树状聚合物来传递5-氟尿嘧啶(5-FU),在G4PAMAM-D的表面以共价键连接脂肪酸形成单分子胶束体系,将5-FU包裹入此聚合物中,在不同的溶剂(乙醇、双氯甲烷、四氢呋喃)、pH值和离子强度下来检测5-FU的溶解效应,将聚合物包上一层磷脂以模拟脂蛋白的行为<sup>[14]</sup>。用渗析法研究药物的体外释放,结果显示树状聚合物载药量的质量分数为53%,其药效比游离状态的药物提高很多。研究人员还用白化病大鼠来研究药物在血浆和淋巴中的生物利用度,结果显示,游离药物的生物利用度为37.4%,明显得到了改善。

Wiwattanapatapee等进行了5-氨基水杨酸(5-ASA)-树状聚合物的结肠给药的设计,合成了水溶性的PAMAM-D-5-ASA的复合物,该复合物中含有设计好的间隔结构,可以用来结肠定位,同时该复合物显示出具有长效性<sup>[15]</sup>。研究结果提示树状聚合物具有可作为药物结肠特异性载体的潜力。

将叶酸盐连接到G4代的PAMAM-D的表层氨基上,然后再与吡啶美辛形成结合物。当药物与PAMAM-D的摩尔比为32:1时,形成的结合物不仅具有最高的包封率而且具有更长的缓释效果和对炎症部位最好的靶向作用<sup>[16]</sup>。

由于恶性肿瘤细胞有较强的吞噬作用,肿瘤组织血管的通透性也较大,所以静脉途径给予的纳米粒子可输送到肿瘤内,进而提高疗效、减少给药剂量和毒性反应,同时也可以通过纳米粒子表面修饰来增强靶向性,增加相应的脂溶性和水溶性。Baek等设计并人工制造的含水溶性T抗原的高聚物,在经过聚丙烯琥珀酰胺和多种不断增长的烷基链(包括氨基、甲基、乙基等)修饰后,证实其有高度的脂溶性,提示新的物质能被用来进行更有效的药物传递<sup>[17]</sup>。

### 2.3 树状聚合物在基因治疗中的作用

基因治疗的关键技术是基因传递,即如何将外源基因有效地导入目的细胞。传统上分病毒载体传导系统和非病毒载体传导系统,由于前者传导的转染效率高,一直很受关注。目前临床基因治疗有75%依赖于病毒载体,但因该系统有毒性及免疫原性等安全隐患,其应用受到很大限制;后者虽没有安全隐患,但其转染效率一直不如前者,纳米颗粒基因转移技术的出现有可能突破这一瓶颈,使基因治疗成为临床常规治疗手段。

Bielinska等用PAMAM转染反义寡核苷酸或反义表达质粒来观察体外基因表达的规律性<sup>[18-19]</sup>。他们用PAMAM-D将反义寡核苷酸或反义质粒cDNA转染入能永久表达荧光素酶的细胞株上,从而导致其表达的抑制,这种抑制使酶活性减少了25%~50%,而且转染时PAMAM-D并没有明显细胞毒性。Choi等用L-精氨酸将PAMAM-D的表面进行了修饰。用293、HepG2、和Neuro 2A细胞对转染后的聚合物(PAMAM-Arg)以及参比聚合物的细胞毒性进行了测定,并用大鼠血管平滑肌细胞进行了转染实验。结果显示与参比聚合物相比,用PAMAM-Arg的毒性低,转染率高,提示PAMAM-Arg这种低毒高转染率的特点可以使其作为一种很有前途的非病毒载体<sup>[20]</sup>。

基因治疗的重要目标是获得遗传物质在转导细胞中的持久整合和稳定表达,然而传统的非病毒载体难以做到这一点,故需要对大量细胞进行多次重复转染,以获取一定数量的表达目的基因的的稳定细胞克隆。Kukowska-Latallo等人工合成20种不同的树状聚合物,通过用两组报道基因、荧光素酶和细菌 $\beta$ -半乳糖苷酶来检查这些聚合物转染质粒DNA的有效性,结果证明,其转染能力依赖于它的尺寸、形态及聚合物表面主要氨基基团的数目,并且提供了一种有效的方法来产生永久的转染细胞株<sup>[21]</sup>。PAMAM-D介导基因转移方面至少存在以下几个优势<sup>[22]</sup>:属于非生物材料,故没有免疫原性,不会引起机体的免疫反应;与其他病毒载体不同,无遗传毒性和细胞毒性,还会导致细胞的转化和细胞死亡;由于其特殊的树枝状结构和表面电荷,具有很高的基因转移效率;可介导外源基因在宿主细胞染色体DNA中的整合,从而获得转基因的长期、稳定表达;可保护转移基因不受机体血浆或组织细胞中各种补体以及各种酶的破坏,有利于目的基因在转移进入靶细胞后能更好、更稳定地发挥作用。

## 2.4 树状聚合物本身的药理作用

在聚丙烯亚胺树状聚合物表面接合季胺盐后具有很强的抗菌活性。活性大小与树状聚合物的大小、季胺盐基团中疏水链的长度、分子质量等有关<sup>[23]</sup>。抗菌机理是荷正电的树状聚合物与细菌表面荷负电的细胞发生中和改变了细胞膜的通透性,此改变是可逆的,聚合物的浓度继续增大可以使膜蛋白失活并穿过磷脂双层,致使膜内钾离子发生渗漏,这时聚合物起抑菌作用。如果聚合物的浓度继续增大,则进一步增加了膜的不稳定性,最终可以起到杀菌作用<sup>[24]</sup>。

Witvrouw等合成了苯二酸(BRI6195)和萘二磺酸(BRI2923)阴离子树状聚合物<sup>[25]</sup>。二者可以有效地抑制MT-4细胞内HIV-1(III<sub>B</sub>)的复制,半数有效体积分数分别为0.01%和0.03%;而对MT-4细胞本身即使体积分数达到很高(25%)时也没有显示出细胞毒性。

Shcharbin等研究了在不同pH值和离子强度下不同代数PAMAM-D(G3.5、G4)对人血清白蛋白(HSA)和牛血清白蛋白(BSA)的影响<sup>[26]</sup>。结果表明,通过调节pH值可以控制PAMAM-D与白蛋白的作用强度,G4PAMAM-D对白蛋白的影响最大,对BSA的影响比HSA的大,并随着氯化钠浓度的增加这种影响会减弱。

## 2.5 树状聚合物的安全性

树状聚合物作为药物载体的应用潜力巨大,它是非生物材料,由于毒性低,可以被排除体外,故它在生物体中应用较安全<sup>[27]</sup>。

Chen等研究了三聚氰胺树状聚合物的细胞毒性、溶血性和体内急性毒性<sup>[28]</sup>。通过对表面的修饰得到了6种树状聚合物,通过对以上6种聚合物的溶血性和细胞毒性的评价,显示出阳离子型树状聚合物的细胞毒性和溶血性比阴离子型和PEG化的树状聚合物都大。PEG化的树状聚合物的体内急性毒性的评价显示,以血液尿素氮和丙氨酸转氨酶为指标,腹腔注射给药剂量增加到2.56 g·kg<sup>-1</sup>、静注剂量增加到1.28 g·kg<sup>-1</sup>时均未发现血液异常。

## 2.6 其它方面的应用

多价相互作用,即同一载体上的多个受体与另一个载体上的多个配体同时发生相互作用,这在

生物体中普遍存在,从小分子的多糖、核酸、肽到病毒或细菌的蛋白质都存在多价相互作用。对这种相互作用的研究,可在分子水平上认识生命现象,促进新药、疫苗的开发。肽树状聚合物因其多分支的结构,表面具有大量官能团,经常被用作蛋白质或脂质体的类似物,以研究生物体内大分子相互作用和基于配体-受体的细胞相互作用等。钟弘等发现外端为羧基的PAMAM树状聚合物能够与细胞色素C发生相互作用,结合常数为 $2.4 \times 10^4 \sim 2.6 \times 10^{4[29]}$ 。他们将该树状聚合物表面连接上由甘氨酸、天冬氨酸合成的肽链来进一步提高PAMAM树状聚合物与天然蛋白质间的相互作用,发现该肽树状聚合物与细胞色素C的结合能力增强,结合常数达到 $1.6 \times 10^5$ 。增强的原因是该肽树状聚合物表面的天冬氨酸含有2个羧基,使负电荷浓度增加,从而有利于与细胞色素C结合。

### 3 结语

树状聚合物已成为当前高分子化学的一大研究热点,随着现代医药学、生物学、材料科学等多学科之间的相互交叉和相互渗透,树状聚合物在药学领域中的应用也会越来越广泛,如可作为药物的反义工具对核酸进行诊断,可以作为蛋白质、酶和病毒的理想合成载体,由部分互补的DNA单体通过杂交可以形成DNA树状聚合物,后者可以用来制备高活性的单克隆抗体。作为给药载体,树状聚合物对药物可以起到增溶、控释和靶向等作用。相信树状聚合物以其独特的结构性能决定了它作为一种药物新型载体具有广阔的应用前景。

### 参考文献:

- [1] TOMALIA D A. Starburst dendrimers-nanoscope supermolecules according to dendritic rules and principles[J]. *Macromol Symp*, 1996, 101: 243-255.
- [2] CAMINADE A M, LAURENT R, MAJORAL J P. Characterization of dendrimers[J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2005, 57(15): 2130-2146.
- [3] 彭晓春, 彭晓宏, 赵建青, 等. 聚酰胺-胺树枝状高分子及其研究进展[J]. *精细与专用化学品*, 2005, 13(14): 1-6.
- [4] ESFAND R, TOMALIA D A. Poly(amidoamine) (PAMAM) dendrimers: from biomimicry to drug delivery and biomedical applications[J]. *Drug Discov Today*, 2001, 6(8): 427-436.
- [5] SCHIAVON O, PASUT G, MORO S, et al. PEG-Ara-C conjugates for controlled release[J]. *Eur J Med Chem*, 2004, 39(2): 123-133.
- [6] BRANA M F, DoMINGUEZ G, SAEZ B, et al. Synthesis and antitumour activity of new dendritic polyamines-(imide-DNA-intercalator) conjugates: potent Lck inhibitors[J]. *Eur J Med Chem*, 2002, 37(7): 541-551.
- [7] TWYMAN L J, BEEZER A E, ESFAND R, et al. The synthesis of water soluble dendrimers, and their application as possible drug delivery systems[J]. *Tetrahedron Lett*, 1999, 40(9): 1743-1746.
- [8] CHENG Yi-yun, XU Tong-wen. Dendrimers as potential drug carriers. Part I. Solubilization of non-steroidal anti-inflammatory drugs in the presence of polyamidoamine dendrimers[J]. *Eur J Med Chem*, 2005, 40(11): 1188-1192.
- [9] DEVARAKONDA B, HILL R A, De VILLIERS M M. The effect of PAMAM dendrimer generation size and surface

- functional group on the aqueous solubility of nifedipine[J]. *Int J Pharm*, 2004, 284(1/2): 133–140.
- [10] DEVARAKONDA B, HILL R A, LIEBENBERG W, et al. Comparison of the aqueous solubilization of practically insoluble niclosamide by polyamidoamine (PAMAM) dendrimers and cyclodextrins[J]. *Int J Pharm*, 2005, 304(1/2): 193–209.
- [11] OOOYA T, LEE Jae-hwi, PARK K. Effects of ethylene glycol-based graft, star-shaped, and dendritic polymers on solubilization and controlled release of paclitaxel[J]. *J Control Release*, 2003, 93(2): 121–127.
- [12] 肖娟, 陆华中, 邹萍. 树枝状聚合物在生物医学领域的应用进展[J]. *中国生物工程杂志*, 2002, 22(4): 6–11.
- [13] DASS C R. Vehicles for oligonucleotide delivery to tumours[J]. *J Pharm Pharmacol*, 2002, 54(1): 3–27.
- [14] TRIPATHI P K, KHOPADE A J, NAGAICH S, et al. Dendrimer grafts for delivery of 5-fluorouracil[J]. *Pharmazie*, 2002, 57(4): 261–264.
- [15] WIWATTANAPATAPEE R, LOMLIM L, SARAMUNEE K. Dendrimers conjugates for colonic delivery of 5-aminosalicylic acid[J]. *J Control Release*, 2003, 88(1): 1–9.
- [16] CHANDRASEKAR D, SISTLA R, AHMAD F J, et al. The development of folate-PAMAM dendrimer conjugates for targeted delivery of anti-arthritis drugs and their pharmacokinetics and biodistribution in arthritic rats[J]. *Biomaterials*, 2007, 28(3): 504–512.
- [17] BAEK M G, ROY R. Design and synthesis of water-soluble glycopolymers bearing breast tumor marker and enhanced lipophilicity for solid-phase assays[J]. *Biomacromolecules*, 2000, 1(4): 768–770.
- [18] BIELINSKA A, KUKOWSKA-LATALLO J F, JOHNSON J, et al. Regulation of *in vitro* gene expression using antisense oligonucleotides or antisense expression plasmids transfected using starburst PAMAM dendrimers[J]. *Nucleic Acids Res*, 1996, 24(11): 2176–2182.
- [19] DASS C R, SU Tao. Particle-mediated intravascular delivery of oligonucleotides to tumors: associated biology and lessons from gene therapy[J]. *Drug Deliv*, 2001, 8(4): 191–213.
- [20] CHOI Joon-sig, NAM Kihoon, PARK Jong-yeun, et al. Enhanced transfection efficiency of PAMAM dendrimer by surface modification with *L*-arginine[J]. *J Control Release*, 2004, 99(3): 445–456.
- [21] KUKOWSKA-LATALLO J F, BIELINSKA A U, JOHNSON J, et al. Efficient transfer of genetic material into mammalian cells using Starburst polyamidoamine dendrimers[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, 93(10): 4897–4902.
- [22] 郭碧赞. 聚酰胺-胺型纳米载体的研究进展[J]. *国外医学: 儿科学分册*, 2002, 29(5): 3–5.
- [23] CHEN C Z, BECK-TAN N C, DHURJATI P, et al. Quaternary ammonium functionalized poly(propylene imine) dendrimers as effective antimicrobials: structure-activity studies[J]. *Biomacromolecules*, 2000, 1(3): 473–480.
- [24] CHEN C Z, COOPER S L. Interactions between dendrimer biocides and bacterial membranes[J]. *Biomaterials*, 2002, 23(16): 3359–3368.
- [25] WITVROUW M, FIKKERT V, PLUYMERS W, et al. Polyanionic (i.e., polysulfonate) dendrimers can inhibit the replication of human immunodeficiency virus by interfering with both virus adsorption and later steps (reverse transcriptase/integrase) in the virus replicative cycle[J]. *Mol Pharmacol*, 2000, 58(5): 1100–1108.

- [26] SHCHARBIN D, KLAJNERT B, BRYCZEWSKA M. The effect of PAMAM dendrimers on human and bovine serum albumin at different pH and NaCl concentrations[J]. *J Biomater Sci Polym Ed*, 2005, 16(9): 1081–1093.
- [27] 牛小玲, 冯霞, 苗延青. 一种新型的药物纳米载体—树枝形聚合物[J]. *西安文理学院学报*, 2005, 8(1): 29–34.
- [28] CHEN Hui-ting, NEERMAN M F, PARRISH A R, et al. Cytotoxicity, hemolysis, and acute *in vivo* toxicity of dendrimers based on melamine, candidate vehicles for drug delivery[J]. *J Am Chem Soc*, 2004, 126(32): 10044–10048.
- [29] 钟弘, 贾欣茹, 罗宇飞, 等. 小肽修饰的 PAMAM 树枝状化合物的生物活性[J]. *高分子学报*, 2002(6): 96–106.

## Application of dendrimers in pharmaceutical fields

CHEN Ji-ping, SUN Jin, HE Zhong-gui

(*School of Pharmacy, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China*)

**Abstract:** **Objective** Introduce dendrimers in pharmaceutical applications. **Methods** Review the synthetic methods, structure and performance of dendrimers and pharmaceutical applications such as solubilization, drug carrier, gene therapy were also presented. **Results** Dendrimers could solubilize drugs, serve as drug carriers in gene therapy, produce self-pharmacologic action. **Conclusion** The unique properties of dendrimers resulting from their unusual structure gave a broad application prospect in the drug delivery system, genetic carriers and other fields.

**Key words:** pharmaceutics; applications; review; dendrimers; polyamidoamine(PAMAM)

责任编辑: 赵桂芝