

# 聚酰胺-胺树状聚合物用于肿瘤靶向纳米药物递送的研究进展

吴鸣, 张钰, 韩立冬, 吴正红\*

(中国药科大学药学院, 江苏 南京 211198)

**[摘要]** 聚酰胺-胺是一类广泛研究的树状聚合物, 其作为药物载体具有粒径可控、单分散性好、无免疫原性、生物可降解且表面易于修饰等特点。聚酰胺-胺经过各种修饰后, 具有可以控制药物释放、靶向性高、毒副作用低等优点, 已被广泛应用于肿瘤靶向药物递送系统。综述近年来聚酰胺-胺树状聚合物用于肿瘤靶向药物递送系统的研究进展。

**[关键词]** 聚酰胺-胺; 表面修饰; 肿瘤靶向; 药物递送系统; 肿瘤微环境响应

**[中图分类号]** R94; R979.1 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1001-5094 (2018) 08-0608-07

## Research Progress in Polyamide-amine Dendrimers for Tumor-targeted Delivery of Nano-therapeutics

WU Ming, ZHANG Yu, HAN Lidong, WU Zhenghong

(School of Pharmacy, China Pharmaceutical University, Nanjing 211198, China)

**[Abstract]** Polyamide-amine is a kind of widely studied dendrimer with the characteristics of controllable particle size, good monodispersity, non-immunogenicity, biodegradability and easy modification on the surface. After various modifications, polyamide-amines have the advantages of controllable drug release, good targeting, low toxicity and so on, and have been widely applied in tumor-targeted drug delivery system. In this paper, the recent advances in the research of polyamide-amine dendrimers as tumor-targeted drug delivery systems were reviewed.

**[Key words]** polyamide-amine; surface modification; tumor-targeted; drug delivery system; tumor microenvironment-responsive

聚酰胺-胺 (polyamide-amine, PAMAM) 是近年来广泛研究的一种树状聚合物, 其具有独特的类似树枝状的分支结构, 该树状结构由初始引发核、与引发核径向连接的重复支化单元及与最外层重复支化单元相连接的末端基团所组成。根据重复支化单元数目的不同, 可将 PAMAM 划分为第 1~5 代。随着代数的增加, PAMAM 表面官能团的数目呈指数增加。当代数较低时, PAMAM 表现为开放、松弛的分支结构; 随着代数的增加, 则表现为更加闭合紧密的分支结构<sup>[1]</sup>, 并且从第 4 代开始就形成了较为封闭的球形结构 (见图 1)<sup>[2]</sup>。

### 1 PAMAM 作为纳米药物载体的特点

与其他常见的用于药物靶向递送的纳米载体 (如脂质体、胶束和金属纳米粒等) 相比, PAMAM 具有结构可控、粒径均一、无免疫原性等特点。此外, 利用其内部空腔结构可改善所装载药物的水溶性和分散性, 利用其大量外部端基 (—NH<sub>2</sub>、—COOH 和 —OH 表面基团) 可实现不同的靶向分子配体及荧光探针修饰<sup>[3]</sup>。

接受日期: 2017-10-23

\*通讯作者: 吴正红, 教授, 博士生导师;

研究方向: 新型缓控释给药和肿瘤靶向给药系统研究;

Tel: 025-83179703; E-mail: zhenghongwu66@cpu.edu.cn

这些性质使得 PAMAM 树状聚合物成为肿瘤靶向药物递送系统的研究热点之一。

### 2 表面靶向修饰 PAMAM

PAMAM 的表面具有大量的带正电荷的氨基, 易与带负电荷的细胞膜发生静电相互作用, 致使细胞凋亡<sup>[4]</sup>, 具有一定的细胞毒性<sup>[5]</sup>, 且随着其代数的增加细胞毒性也会增加。因此, 越来越多的研究对 PAMAM 树状聚合物末端基团进行修饰, 以中和其表面的一部分正电荷, 从而达到降低其细胞毒性及增加靶向性的目的。

#### 2.1 聚乙二醇修饰 PAMAM

聚乙二醇 (polyethylene glycol, PEG) 是一种无毒、水溶性较好、无免疫原性的大分子聚合物, 可用于修饰 PAMAM 的表面, 以改善 PAMAM 的水分散性, 从而得到具有水溶性壳和水不溶性核的复合物。与非 PEG 化 PAMAM 树状聚合物相比, PEG 化的 PAMAM 树状聚合物具有以下优势: PEG 化使得 PAMAM 具有更强的亲水性, 可通过中和外周阳离子氨基降低对生物膜的毒性<sup>[6]</sup>; 同时, PEG 化的 PAMAM 具有较高的载药能力和控制药物释放的特性<sup>[7]</sup>。

PEG 化的 PAMAM 树状聚合物主要分为 3 类: 第 1 类是 PEG 通过化学键直接与 PAMAM 树状聚合物的

外围氨基连接<sup>[8]</sup>; 第2类是PAMAM和PEG形成复合物, 其中PEG用于将药物连接到PAMAM树状聚合物的表面<sup>[9]</sup>, 可以避免由于疏水作用引起的空间位阻; 第3类

是使用PEG作为连接体将靶向配体连接到PAMAM树状聚合物的表面<sup>[10]</sup>。

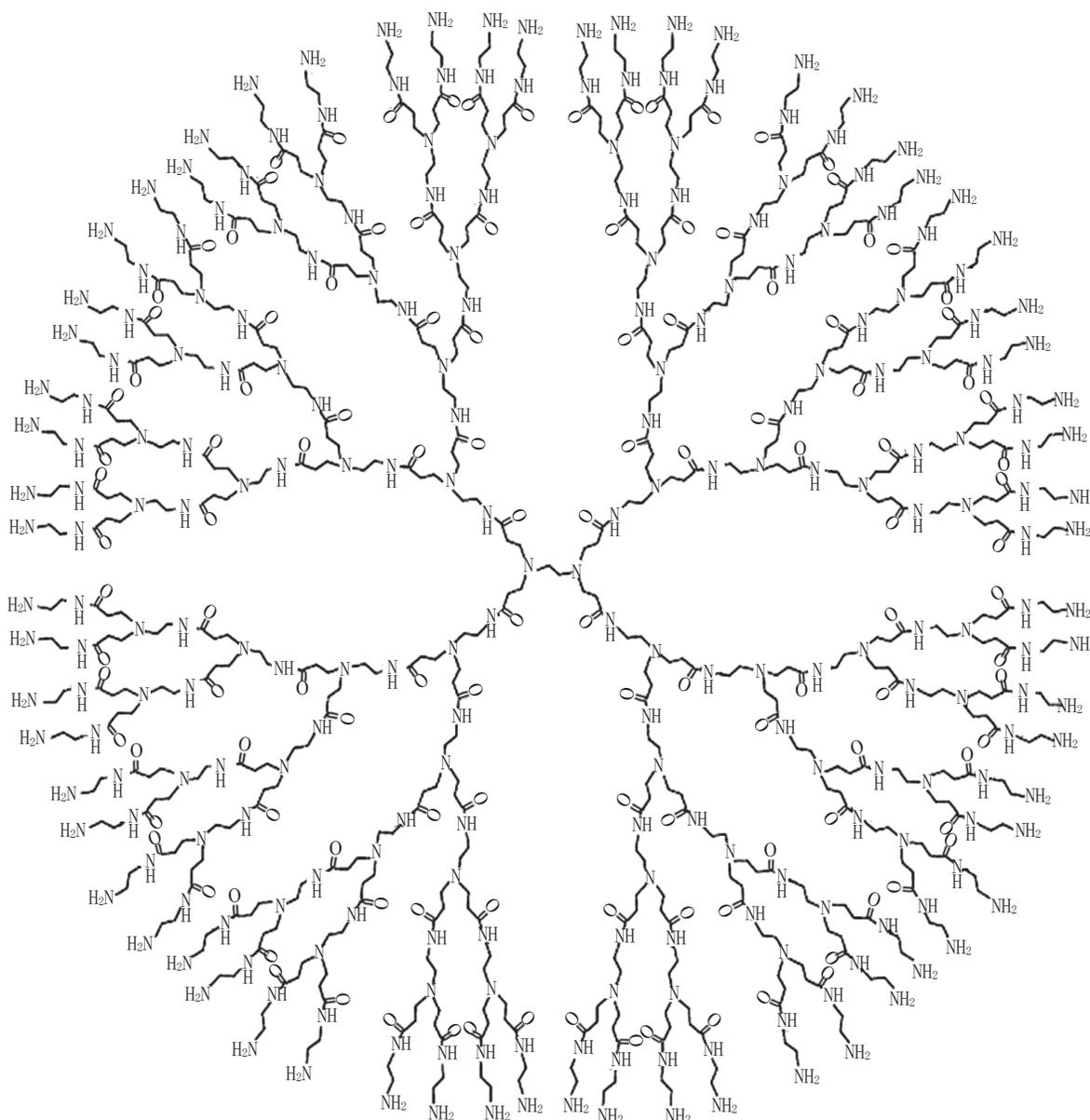


图1 第4代PAMAM树状聚合物的典型结构<sup>[2]</sup>

Figure 1 Typical structure of the 4th generation PAMAM dendrimer

## 2.2 靶向修饰 PAMAM

主动靶向PAMAM树状聚合物给药系统是目前研究较多的靶向药物纳米传递系统之一, 其主要由大分子载体PAMAM树状聚合物、靶向分子和药物组成。目前研究中可表面修饰PAMAM树状聚合物的靶向分子较多, 包括叶酸(folic acid, FA)、透明质酸(hyaluronic acid, HA)、转铁蛋白(transferrin,

Tf)、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、多肽、抗体及核酸适配体等。

**2.2.1 叶酸修饰的PAMAM** FA是由蝶啶、对氨基苯甲酸和谷氨酸残基组成的人体中必需的一种水溶性B族维生素, 能够与肿瘤部位过度表达的叶酸受体高亲和性结合, 并通过受体介导的内吞作用介导所连接的载体或药物进入细胞<sup>[11]</sup>。

Xu 等<sup>[12]</sup> 和 Li 等<sup>[13]</sup> 用 FA 和冰片 (borneol, BO) 修饰树状聚合物 PAMAM, 合成了一种可以递送阿霉素 (doxorubicin, DOX) 的具有双功能胶质瘤靶向的复合物 FA-BO-PAMAM。BO 是一种安全可靠的中药材料, 能促进血-脑脊液屏障渗透性, 并降低裸露 PAMAM 的毒性。在血-脑脊液屏障模型和胶质瘤细胞 C6 中分别评价了 FA-BO-PAMAM 颅内转运和靶向胶质瘤能力, 结果显示 PAMAM 表面经 BO 修饰可降低 PAMAM 对 C6 细胞的细胞毒性。与未经 BO 修饰的 FA-PAMAM 相比, FA-BO-PAMAM 的血-脑脊液屏障通透性提高了 2 倍。此外, 经 FA 修饰后, C6 细胞的总摄取量有所增加。与游离 DOX 组相比, FA-BO-PAMAM/DOX 能显著延长 DOX 的血浆半衰期, 增加血药浓度-时间曲线下面积, 提高 DOX 在胶质瘤中的积累。

**2.2.2 透明质酸修饰的 PAMAM** HA 是一种带负电的糖胺聚糖, 可特异性靶向 CD44 分子, 而 CD44 分子是一种广泛分布于细胞表面的糖蛋白, 在多种恶性肿瘤细胞表面过表达, 因此 HA 与其特异性受体 CD44 之间的相互作用可以作为 HA 靶向治疗恶性肿瘤的研究基础。

Qi 等<sup>[14]</sup> 通过交联剂将 HA 上的羧基与树状大分子 PAMAM 表面的氨基偶联形成肽键, 构建了一种用于递送盐酸拓扑替康 (topotecan hydrochloride, TPT) 的载体 HA-PAMAM-TPT。该载体具有延长全身循环时间, 并且可特异性靶向 CD44 过表达的恶性肿瘤细胞。当 HA 与 CD44 受体结合后, 可通过受体介导的内吞将载体转运至胞内, 随后胞内的透明质酸酶将 HA 降解, 导致 HA 与 PAMAM 之间的肽键发生断裂, PAMAM-TPT 可在细胞内迅速释放, 进而杀死肿瘤细胞。体外细胞实验验证了这种载体具有相当高的肿瘤靶向能力和肿瘤抑制效率, 以及相当低的细胞毒性。体内动物实验也证实了与游离 TPT 和 PAMAM-TPT 相比, 负载 TPT 的 HA-PAMAM-TPT 显示出更高的抗肿瘤活性。该研究成功合成了一种优良的肿瘤靶向药物递送载体 HA-PAMAM-TPT, 解决了 PAMAM 粒径较小易被清除的缺点, 延长了载体在体内的循环时间, 并通过主动靶向作用实现了肿瘤靶向性。

**2.2.3 核酸适配体修饰的 PAMAM** 核酸适配体是一段单链 DNA 或 RNA 序列, 通过指数级富集的配体系统进化技术 (systematic evolution of ligands by exponential enrichment, SELEX) 从体外筛选获得<sup>[15]</sup>。适配体既能与小分子靶标反应, 又能结合具有高特异性和亲和力

的细胞<sup>[16]</sup>。适配体与传统抗体相比具有独特的优点, 例如成本低、易于生产和修饰<sup>[17]</sup>、热稳定性高、无免疫原性和毒性<sup>[18]</sup>等。由于这些独特的性质, 适配体在医学 (例如诊断<sup>[19]</sup> 和治疗<sup>[20]</sup>) 和肿瘤靶向药物递送系统中具有良好的应用前景。

Alibolandi 等<sup>[21]</sup> 合成了载有喜树碱的 PEG 化 PAMAM 树状聚合物, 并用适配体 AS1411 对其进行修饰, 由于适配体 AS1411 可特异性结合细胞膜表面的核仁素, 且具有高亲和力, 因此可以用于靶向核仁素受体过表达的结肠直肠癌细胞。利用倒置荧光显微镜和流式细胞仪证实, 适配体 AS1411 修饰后的 PEG 化 PAMAM 细胞摄取明显增强。荷瘤小鼠体内研究显示, 经适配体 AS1411 修饰的 PEG 化 PAMAM 装载喜树碱后, 提高了喜树碱的抗肿瘤活性, 且显著降低了全身毒性。

**2.2.4 血管内皮生长因子修饰的 PAMAM** VEGF 因其具有诱导血管渗漏的能力, 最初称为血管通透性因子。

Öztürk 等<sup>[22]</sup> 利用靶向 VEGF 的重组人血管内皮生长因子受体-1 (recombinant human vascular endothelial growth factor receptor-1, Flt-1), 开发了一种 Flt-1 修饰的基于树状聚合物的药物递送系统。首先, 利用 PEG 修饰的树状聚合物 PAMAM, 制成 PEG-PAMAM, 然后将其与 Flt-1 配体缀合, 最后装载药物吉西他滨。Flt-1 配体缀合的 PEG-PAMAM, 能被过表达 VEGF 的胰腺癌细胞有效吞噬, 增强了吉西他滨的细胞毒性。小鼠体内研究也证实, Flt-1 配体缀合的 PEG-PAMAM 对小鼠体内的胰腺肿瘤有着高度靶向性。

**2.2.5 多肽修饰的 PAMAM** 多肽是  $\alpha$  氨基酸以肽键连接在一起而形成的化合物, 也是蛋白质水解的中间产物。随着噬菌体展示技术的发展, 许多功能肽被研制出来, 如精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸 (Arg-Gly-Asp, RGD)<sup>[23]</sup>、angiopcp-2<sup>[24]</sup> 等, 由于结构相对简单、合成方便、价格便宜等优点, 这些功能肽逐渐被用于载体的靶向技术研究。

Zhang 等<sup>[25]</sup> 先将 RGD 修饰在 PEG 化的 PAMAM 上, 然后将 DOX 分别通过酸敏感性顺式-丙烯酰基键和酸不敏感性琥珀酸键与 PEG-PAMAM 缀合, 成功合成了 2 种具有不同接头的 RGD-PEG-PAMAM-DOX。使用 C6 胶质瘤细胞考察不同的缀合物 (不修饰 RGD 和 2 个不同接头缀合的 PAMAM) 的体外细胞毒性和细胞摄取率, 并在有脑肿瘤的 IRC 小鼠体内评估所有缀

合物的体内生物分布和抗肿瘤活性。结果表明, 通过顺式-丙烯酰基接头缀合的 RGD-PEG-PAMAM-DOX 在体外具有最高的细胞毒性, 在肿瘤中的累积最高, 在体内对脑肿瘤治疗具有显著的功效, 有效地延长了小鼠存活时间。

Ma 等<sup>[26]</sup>用穿膜肽 (transcriptional activator protein, TAT) 和 RGD 制成的具有双重功能的 RGD-TAT 肽作为靶向分子, PEG 作为接头, 甲氨蝶呤 (methotrexate, MTX) 作为模型药物构建了 RGD-TAT-PEG-PAMAM/MTX (RTPPM) 复合物。由于 RGD 肽能特异性与整合素  $\alpha\beta3$  结合, 因此选用 HepG2 细胞 (其表达高水平的  $\alpha\beta3$ ) 和 MCF-7 细胞 (其表达低水平的  $\alpha\beta3$ ) 作为细胞模型, 用异硫氰酸荧光素 (fluorescein isothiocyanate, FITC) 作为荧光探针研究复合物的体外靶向能力, 并在具有近红外荧光染料作为荧光探针的 HepG2 荷瘤裸鼠中研究其体内靶向能力。体内外的研究结果均证明 RGD-TAT-PEG-PAMAM 的靶向能力更强。

**2.2.6 抗体修饰的 PAMAM** 抗体能够特异性结合细胞表面过表达的相应抗原, 因此, 将抗体修饰到 PAMAM 上, 具有靶向给药的功能。

Mekuria 等<sup>[27]</sup>将树状聚合物 PAMAM 分别与 2 个靶向部分 IL-6 抗体和 RGD 肽结合, 形成 PAMAM-IL6 和 PAMAM-RGD。抗癌药物 DOX 被物理包埋到 PAMAM-IL6 和 PAMAM-RGD 中, 包封效率分别为 51.3% 和 30.1%。以子宫颈癌 HeLa 细胞为模型, 通过共聚焦显微镜和流式细胞仪观察分析 PAMAM-IL6-DOX 和 PAMAM-RGD-DOX 复合物的细胞内化和摄取效率。结果显示, 与 PAMAM-RGD-DOX 相比, PAMAM-IL6-DOX 的  $IC_{50}$  较低、载药量较高、药物释放速率较快、细胞毒性较高。基于这些结果, 表明 PAMAM-IL6 更适合用于将 DOX 靶向递送至子宫颈癌细胞。

**2.2.7 转铁蛋白修饰的 PAMAM** Tf 含有 679 个氨基酸残基, 相对分子质量约为 79 000。由于转铁蛋白受体 TfR1 在肿瘤细胞表面过表达, 且能够高特异性结合转铁蛋白, 使其成为靶向药物递送系统中热门的研究方向<sup>[28]</sup>。同时肿瘤中转铁蛋白受体的表达水平与肿瘤的增殖能力之间具有良好的相关性<sup>[29]</sup>。

He 等<sup>[30]</sup>设计了由 2 种靶向物质转铁蛋白和麦胚凝集素 (wheat germ agglutinin, WGA) 修饰的 PEG 化树状聚合物 PAMAM, 得到了纳米载体 Tf-WGA-PEG-PAMAM, 用来装载 DOX。该实验考察了载药载体穿

过血-脑脊液屏障的能力和对脑肿瘤的抑制作用。为了考察其穿过血-脑脊液屏障的能力, 用鼠脑微血管内皮细胞 (BMVEC) 单层模型进行体外血-脑脊液屏障测定。通过无血管 C6 胶质瘤细胞系球体的体外细胞毒性实验来评价 Tf-WGA-PEG-PAMAM-DOX 的抑制效果。结果显示, 用 Tf 和 WGA 作为靶向配体修饰树状大分子得到的载体, 大大增加了血-脑脊液屏障转运比, 并且修饰后的树状聚合物显著抑制了 C6 神经胶质瘤细胞的活力, 降低了对正常细胞的毒性。

### 3 肿瘤微环境响应型 PAMAM

在肿瘤治疗中, 肿瘤微环境是研究设计新疗法的众多方向之一, 特别是在新型纳米技术疗法领域的研究探索<sup>[31]</sup>。与正常组织相比, 肿瘤微环境具有独特的特征, 包括血管壁通透性高<sup>[32]</sup>、缺乏淋巴网络<sup>[33]</sup>、微环境呈酸性和缺氧<sup>[34]</sup>、间质压高及细胞内各种受体和酶的过表达<sup>[35]</sup>等。因此, 可以基于肿瘤微环境的这些特殊性质, 开发微环境响应型纳米给药系统。微环境响应型纳米给药系统指在特殊的肿瘤微环境的刺激下, 药物载体发生构型变化或桥链断裂, 但仍可保持良好性状, 确保给药系统在肿瘤细胞及其特殊环境中暴露功能特性基团, 从而成功释放药物。微环境响应型纳米给药系统包括 pH 响应型、酶响应型、氧化还原敏感型等。

#### 3.1 pH 响应型 PAMAM

肿瘤胞内低 pH 环境是实体瘤的特征之一。正常血液和组织的 pH 为 7.4, 而肿瘤细胞内的 pH 为 6.5 甚至更低, 溶酶体内的 pH 则低于 5.5, 从而形成了一种独特的 pH 梯度<sup>[36]</sup>。基于这种独特的 pH 梯度可设计一类 pH 响应型肿瘤靶向药物递送系统。

Li 等<sup>[37]</sup>利用 PEG 和两性聚合物聚 (2-氮杂环丙烷乙基甲基丙烯酸酯) [poly (2-azepane ethyl methacrylate), PAEMA], 用于修饰树状聚合物 PAMAM, 形成一种能超敏感响应 pH 且粒径可调节的纳米粒 PEG-b-PAEMA-PAMAM。该纳米颗粒主要是由两亲性聚合物包裹树状聚合物 PAMAM 所构成, 其中两亲性聚合物含有可离子化的叔胺基团, 可快速响应肿瘤环境及胞内的 pH 变化。这种结构在中性 pH (例如血液循环) 中初始尺寸约为 80 nm, 但是一旦处于微酸性肿瘤微环境 (pH 6.5~7.0) 中时, 会瞬间解离成树状聚合物的结构单元 (直径小于 10 nm)。这种可以响应肿瘤酸性微环境的特征, 不仅可以通过增强渗透和滞留

(enhanced permeability and retention effect, EPR) 效应促进纳米粒在肿瘤血管壁的渗透而增加其在肿瘤组织的浓集,且可以更快地实现纳米粒对肿瘤细胞的摄取及穿透。

Nie 等<sup>[38]</sup>先将 DOX 分子通过酸敏感的顺式-丙烯酸 (*cis*-acrylic acid) 连接到 PEG 化的 PAMAM 上,形成 pH 敏感的缀合物 PAMAM-PEG-*cis*-DOX (PPCD),其在四氢呋喃中可以自组装成胶束。然后将得到的胶束通过二硫键交联,并从四氢呋喃转移到水中以形成 PPCD 囊泡。这种囊泡可在氧化还原条件下分解成小尺寸的缀合物 PPCD。PPCD 可在微酸性肿瘤微环境下断裂,有效释放与 PAMAM 结合的药物,同时在血液循环期间能保持稳定性。药物释放实验显示:PPCD 囊泡在酸性和还原环境中可以快速释放 DOX,而在中性条件下释放 DOX 较慢;体外细胞实验反映了 PPCD 囊泡有显著的肿瘤细胞毒性作用;体内动物实验表明 PPCD 囊泡具有较低的组织毒性和良好的抗肿瘤作用。因此证明该 PPCD 囊泡是一种优良的 pH 响应型药物递送载体。

Qi 等<sup>[39]</sup>设计了一种肿瘤间质 pH 敏感型靶向树状聚合物,将 DOX 物理包埋于 PAMAM 树状聚合物所形成的内核与外层羧甲基壳聚糖 (carboxymethyl chitin, CMCS) 构成。在正常生理环境 (pH 7.4) 中,CMCS 带负电荷,通过静电作用吸附在 PAMAM 树状聚合物表面,从而降低阳离子聚合物 PAMAM 的毒性,并防止其被巨噬细胞迅速清除。一旦到达肿瘤间质环境 (pH 6.5) 中,由于 pH 值的降低,外层 CMCS 发生电荷翻转,表面变成带有正电荷,与 PAMAM 发生电性相斥,从而迅速与内核分离,随后, PAMAM 恢复高正电荷,促进 PAMAM 粒子内化至肿瘤细胞,增强 DOX 的抗肿瘤作用。外层 CMCS 则通过静电力正负电荷相吸引结合在内核外部,阻止药物向外水相的释放,因而也可大大降低药物的突释。因此肿瘤间质 pH 敏感型靶向树状聚合物作为药物递送系统具有非常高的研究价值,能提高药物的靶向性,降低其毒性,可为进一步临床研究和应用奠定基础。

### 3.2 氧化还原敏感型 PAMAM

肿瘤细胞的细胞质和内涵体中谷胱甘肽 (glutathione, GSH) 的浓度均较高,达  $0.5\sim 10\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ,而在正常细胞和机体体液中浓度较低,为  $2\sim 20\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。因此二硫键 (—SS—) 和二硒键 (—SeSe—) 在体液里很稳定,但在肿瘤细胞环境中容易发生断裂<sup>[40]</sup>。基于该原理可设计还原敏感型给药系统。

Hu 等<sup>[41]</sup>通过在亲水性 PEG 和 PAMAM 树枝状大分子之间引入氧化还原敏感性二硫键,合成了氧化还原响应的 PAMAM-SS-PEG 缀合物 (PSSP),以 DOX 作为模型药物制备 PAMAM-SS-PEG/DOX (PSSP/DOX) 复合物。体外释放研究发现,所有 PSSP/DOX 复合物可以在高还原条件下触发药物释放,并且 PSSP/DOX 复合物的细胞毒性与细胞摄取量呈负相关,表明 PSSP/DOX 复合物在体内相当稳定,但是可以在肿瘤细胞内高浓度谷胱甘肽的作用下发生断裂,进而释放药物,显示出较高的安全性。该研究成功构建了一种在体循环中稳定的氧化还原药物递送系统。

### 3.3 酶响应型 PAMAM

与正常细胞和组织不同,肿瘤间质及肿瘤细胞中往往会过度表达一些特异性的酶,其中研究较多的有透明质酸酶、基质金属蛋白酶、弹性蛋白酶等。利用这些酶的响应来实现对 PAMAM 靶向定位,释药行为或结构变化的控制,从而衍生出一类基于 PAMAM 的酶响应型药物递送系统。

弹性蛋白酶是一种具有广泛特异性的丝氨酸蛋白酶,能够在疏水性氨基酸 (如 Ala、Ser、Val 等) 的羧基侧切割蛋白质,在肿瘤组织中已经发现过量的弹性蛋白酶,因此 Wang 等<sup>[42]</sup>将弹性蛋白酶作为响应成分,通过 PEG 链和共价共轭作用将酶反应成分 RAADyC (Ac-Arg-Ala-Ala-Asp-D-Tyr-Cys-NH<sub>2</sub>) 和生物黏附成分 RGDC (-Arg-Gly-Asp-Cys-SH) 修饰在第 4 代 PAMAM 周围得到纳米粒 Mac-1,之后通过使用 NaIO<sub>4</sub> 引发氧化反应,使 PAMAM 外周的官能团发生化学交联,构建了具有酶响应性的纳米凝胶药物载体 NG-1,所载的模型药物为 DOX。当载 DOX 的 NG-1 进入肿瘤组织时,在弹性蛋白酶作用下,粒径显著减小,从原来的 50 nm 降至 15 nm,表明由酶引发了纳米凝胶的分解,导致载药载体以持续的方式释放药物。透射电镜、扫描电镜和纳米激光粒度仪的测定结果表明,NG-1 与 Mac-1 相比,显示出了更高的药物装载能力。体外细胞学性质研究也表明,NG-1 具有良好的生物相容性和较低的不良反应。

### 4 多级渗透式 PAMAM

多级纳米给药系统是指由不同尺寸的多种纳米单元共同构成的给药体系,体系中每一种纳米单元均被设计用于跨过一个或多个生物屏障<sup>[43]</sup>。由于这些单元的

尺寸不同,导致其在体内分布特性不同,将这些不同大小的纳米单元组合在一起,可充分发挥其各自的优点。与单一尺寸的肿瘤靶向纳米载体相比,多级纳米给药系统的粒径会随着其在体内的循环过程而发生变化,而粒径的变化又会带来其分布特性的改变<sup>[44]</sup>,这使得多级纳米给药系统可以跨越多重生物屏障,最终成功递送药物进入靶部位<sup>[45]</sup>。

Fan等<sup>[46]</sup>将粒径较小的树状大分子PAMAM与粒径较大的明胶纳米粒相结合,构建了基于明胶纳米粒和PAMAM的多级纳米粒,该系统在体循环过程中,受到外层明胶纳米粒的保护,不易被机体清除,到达肿瘤组织后,可响应肿瘤组织微环境,定位释放包裹在其中的PAMAM粒子,粒径显著减小,同时恢复其表面正电荷的特性,促进了药物进一步深入渗透肿瘤内部及跨肿瘤细胞膜转运。同时,以MTX为模型药物,通过物理包埋方式载药,建立一种多级推进式肿瘤深度渗透纳米载药系统,在被动靶向的基础上成功实现了肿瘤深

度渗透。

## 5 结语

本文分别介绍了表面靶向修饰PAMAM、肿瘤微环境响应型PAMAM、多级渗透式PAMAM在肿瘤靶向药物递送系统中的应用。树状聚合物PAMAM经过各种修饰后,作为药物载体具有可以控制药物释放、靶向性高、毒副作用低等优点。但基于PAMAM的肿瘤靶向药物递送系统还存在许多需要改进的地方:PAMAM造价昂贵,纯度还有待提高;PAMAM树状聚合物依然存在毒性,可进一步修饰,如糖基化和酰基化等;基于PAMAM的肿瘤靶向药物递送系统仍处于实验研究阶段,需要对其体内外稳定性、药物释放、作用机制等作进一步研究。随着科学的发展和科技的进步,以及科研人员对其设计和制备方法的不断完善,PAMAM存在的问题正被逐步解决,基于PAMAM的肿瘤靶向药物递送系统有望成为一种极具潜力的肿瘤药物递送系统。

## [参考文献]

- [1] Markowicz-Piasecka M, Łuczak E, Chałubiński M, *et al.* Studies towards biocompatibility of PAMAM dendrimers-overall hemostasis potential and integrity of the human aortic endothelial barrier[J]. *Int J Pharm*, 2014, 473(1/2): 158-169.
- [2] Kesharwani P, Banerjee S, Gupta U, *et al.* PAMAM dendrimers as promising nanocarriers for RNAi therapeutics[J]. *Mater Today*, 2015, 18(10): 565-572.
- [3] Severson S, Tomalia D A. Dendrimers in biomedical applications-reflections on the field[J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2005, 57(15): 2106-2129.
- [4] Mukherjee S P, Lyng F M, Garcia A, *et al.* Mechanistic studies of *in vitro* cytotoxicity of poly (amidoamine) dendrimers in mammalian cells[J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2010, 248(3): 259-268.
- [5] Parimi S, Barnes T J, Callen D F, *et al.* Mechanistic insight into cell growth, internalization, and cytotoxicity of PAMAM dendrimers[J]. *Biomacromolecules*, 2010, 11(2): 382-389.
- [6] Gürbüz M U, Öztürk K, Ertürk A S, *et al.* Cytotoxicity and biodistribution studies on PEGylated EDA and PEG cored PAMAM dendrimers[J]. *J Biomater Sci Polym Ed*, 2016, 27(16): 1645-1658.
- [7] Thakur S, Kesharwani P, Tekade R K, *et al.* Impact of pegylation on biopharmaceutical properties of dendrimers[J]. *Polymer*, 2015, 59(1): 67-92.
- [8] Kesharwani P, Tekade R K, Jain N K. Generation dependent safety and efficacy of folic acid conjugated dendrimer based anticancer drug formulations[J]. *Pharm Res*, 2015, 32(4): 1438-1450.
- [9] Wang K, Zhang X, Zhang L, *et al.* Development of biodegradable polymeric implants of RGD-modified PEG-PAMAM-DOX conjugates for long-term intratumoral release[J]. *Drug Deliv*, 2015, 22(3): 389-399.
- [10] Saraswathy M, Knight G T, Pilla S, *et al.* Multifunctional drug nanocarriers formed by cRGD-conjugated  $\beta$ CD-PAMAM-PEG for targeted cancer therapy[J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2015, 126: 590-597.
- [11] Choi S K, Thomas T P, Li M H, *et al.* Photochemical release of methotrexate from folate receptor-targeting PAMAM dendrimer nanoconjugate[J]. *Photochem Photobiol Sci*, 2012, 11(4): 653-660.
- [12] Xu X, Li J, Han S, *et al.* A novel doxorubicin loaded folic acid conjugated PAMAM modified with borneol, a nature dual-functional product of reducing PAMAM toxicity and boosting BBB penetration[J]. *Eur J Pharm Sci*, 2016, 88: 178-190.
- [13] Li J J, Guo M M, Han S P, *et al.* Preparation and *in vitro* evaluation of borneol and folic acid co-modified doxorubicin loaded PAMAM drug delivery system[J]. *Acta Pharm Sin*, 2015, 50(7): 899-905.
- [14] Qi X, Fan Y, He H, *et al.* Hyaluronic acid-grafted polyamidoamine dendrimers enable long circulation and active tumor targeting simultaneously[J]. *Carbohydr Polym*, 2015, 126(2): 231-239.
- [15] Lian Y, He F, Wang H, *et al.* A new aptamer/graphene interdigitated gold electrode piezoelectric sensor for rapid and specific detection of *Staphylococcus aureus*[J]. *Biosens Bioelectron*, 2015, 65: 314-319.
- [16] Huang K J, Liu Y J, Shi G W, *et al.* Label-free aptamer sensor for 17 $\beta$ -estradiol based on vanadium disulfide nanoflowers and Au nanoparticles[J]. *Sens Actuators B Chem*, 2014, 201: 579-585.
- [17] Bai Y, Feng F, Zhao L, *et al.* Aptamer/thrombin/aptamer-AuNPs

- sandwich enhanced surface plasmon resonance sensor for the detection of subnanomolar thrombin[J]. *Biosens Bioelectron*, 2013, 47: 265-270.
- [18] Luo P, Liu Y, Xia Y, *et al.* Aptamer biosensor for sensitive detection of toxin A of *Clostridium difficile* using gold nanoparticles synthesized by *Bacillus stearothermophilus*[J]. *Biosens Bioelectron*, 2014, 54: 217-221.
- [19] Li L, Xiang D, Shigdar S, *et al.* Epithelial cell adhesion molecule aptamer functionalized PLGA-lecithin-curcumin-PEG nanoparticles for targeted drug delivery to human colorectal adenocarcinoma cells[J]. *Int J Nanomedicine*, 2014, 9: 1083-1096.
- [20] Zamay T N, Kolovskaya O S, Glazyrin Y E, *et al.* DNA-aptamer targeting vimentin for tumor therapy *in vivo*[J]. *Nucleic Acid Ther*, 2014, 24(2): 160-170.
- [21] Alibolandi M, Taghdisi S M, Ramezani P, *et al.* Smart AS1411-aptamer conjugated pegylated PAMAM dendrimer for the superior delivery of camptothecin to colon adenocarcinoma *in vitro* and *in vivo*[J]. *Int J Pharm*, 2017, 519(1/2): 352-364.
- [22] Öztürk K, Esendağlı G, Gürbüz M U, *et al.* Effective targeting of gemcitabine to pancreatic cancer through PEG-cored Flt-1 antibody-conjugated dendrimers[J]. *Int J Pharm*, 2017, 517(1/2): 157-167.
- [23] Jiang L Y, Lv B, Luo Y. The effects of an RGD-PAMAM dendrimer conjugate in 3D spheroid culture on cell proliferation, expression and aggregation[J]. *Biomaterials*, 2013, 34(11): 2665-2673.
- [24] Kim J Y, Choi W I, Kim Y H, *et al.* Brain-targeted delivery of protein using chitosan- and RVG peptide-conjugated, pluronic-based nano-carrier[J]. *Biomaterials*, 2013, 34(4): 1170-1178.
- [25] Zhang L, Zhu S, Qian L, *et al.* RGD-modified PEG-PAMAM-DOX conjugates: *in vitro* and *in vivo* studies for glioma[J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2011, 79(2): 232-240.
- [26] Ma P, Yu H, Zhang X, *et al.* Increased active tumor targeting by an  $\alpha\beta 3$ -targeting and cell-penetrating bifunctional peptide-mediated dendrimer-based conjugate[J]. *Pharm Res*, 2017, 34(1): 121-135.
- [27] Mekuria S L, Debele T A, Chou H Y, *et al.* IL-6 antibody and RGD peptide conjugated poly (amidoamine) dendrimer for targeted drug delivery of HeLa cells[J]. *J Phys Chem B*, 2016, 120(1): 123-130.
- [28] Lei Y, Hamada Y, Li J, *et al.* Targeted tumor delivery and controlled release of neuronal drugs with ferritin nanoparticles to regulate pancreatic cancer progression[J]. *J Control Release*, 2016, 232: 131-142.
- [29] Jeong D E, Song H J, Lim S, *et al.* Repurposing the anti-malarial drug artesunate as a novel therapeutic agent for metastatic renal cell carcinoma due to its attenuation of tumor growth, metastasis, and angiogenesis[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(32): 33046-33064.
- [30] He H, Li Y, Jia X R, *et al.* PEGylated poly (amidoamine) dendrimer-based dual-targeting carrier for treating brain tumors[J]. *Biomaterials*, 2011, 32(2): 478-487.
- [31] Danhier F, Feron O, Pr at V. To exploit the tumor microenvironment: passive and active tumor targeting of nanocarriers for anti-cancer drug delivery[J]. *J Control Release*, 2010, 148(2): 135-146.
- [32] Heindryckx F, Gerwins P. Targeting the tumor stroma in hepatocellular carcinoma[J]. *World J Hepatol*, 2014, 7(2): 165-176.
- [33] Miao L, Lin C M, Huang L. Stromal barriers and strategies for the delivery of nanomedicine to desmoplastic tumors[J]. *J Control Release*, 2015, 219: 192-204.
- [34] Patel A, Sant S. Hypoxic tumor microenvironment: opportunities to develop targeted therapies[J]. *Biotechnol Adv*, 2016, 34(5): 803-812.
- [35] Kaminskas L M, McLeod V M, Porter C J, *et al.* Association of chemotherapeutic drugs with dendrimer nanocarriers: an assessment of the merits of covalent conjugation compared to noncovalent encapsulation[J]. *Mol Pharm*, 2012, 9(3): 355-373.
- [36] Chen F, Zhang J, Wang L, *et al.* Tumor pH(e)-triggered charge-reversal and redox-responsive nanoparticles for docetaxel delivery in hepatocellular carcinoma treatment[J]. *Nanoscale*, 2015, 7(38): 15763-15779.
- [37] Li H J, Du J Z, Liu J, *et al.* Smart superstructures with ultrahigh pH-sensitivity for targeting acidic tumor microenvironment: instantaneous size switching and improved tumor penetration[J]. *ACS Nano*, 2016, 10(7): 6753-6761.
- [38] Nie J, Wang Y, Wang W. *In vitro* and *in vivo* evaluation of stimuli-responsive vesicle from PEGylated hyperbranched PAMAM-doxorubicin conjugate for gastric cancer therapy[J]. *Int J Pharm*, 2016, 509(1/2): 168-177.
- [39] Qi X, Qin J, Fan Y, *et al.* Carboxymethyl chitosan-modified polyamidoamine dendrimer enables progressive drug targeting of tumors via pH-sensitive charge inversion[J]. *J Biomed Nanotechnol*, 2016, 12(4): 667-678.
- [40] Huo M, Yuan J, Tao L, *et al.* Redox-responsive polymers for drug delivery: from molecular design to applications[J]. *Polym Chem*, 2014, 5(5): 1519-1528.
- [41] Hu W, Qiu L, Cheng L, *et al.* Redox and pH dual responsive poly(amidoamine) dendrimer-poly(ethylene glycol) conjugates for intracellular delivery of doxorubicin[J]. *Acta Biomater*, 2016, 36: 241-253.
- [42] Wang Y, Luo Y, Zhao Q, *et al.* An enzyme-responsive nanogel carrier based on PAMAM dendrimers for drug delivery[J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2016, 8(31): 19899-19906.
- [43] Godin B, Tasciotti E, Liu X, *et al.* Multistage nanovectors: from concept to novel imaging contrast agents and therapeutics[J]. *Acc Chem Res*, 2011, 44(10): 979-989.
- [44] Yu Y, Zhang X, Qiu L. The anti-tumor efficacy of curcumin when delivered by size/charge-changing multistage polymeric micelles based on amphiphilic poly( $\beta$ -amino ester) derivatives[J]. *Biomaterials*, 2014, 35(10): 3467-3479.
- [45] Sunoqrot S, Bugno J, Lantvit D, *et al.* Prolonged blood circulation and enhanced tumor accumulation of folate-targeted dendrimer-polymer hybrid nanoparticles[J]. *J Control Release*, 2014, 191(2): 115-122.
- [46] Fan Y, Yuan S, Huo M, *et al.* Spatial controlled multistage nanocarriers through hybridization of dendrimers and gelatin nanoparticles for deep penetration and therapy into tumor tissue[J]. *Nanomedicine*, 2017, 13(4): 1399-1410.