

四臂聚乙二醇-聚丙交酯立体复合胶束及其药物传输性能*

刘东红^{1,2} 丁建勋^{2**} 许维国² 宋晓峰^{1**} 庄秀丽² 陈学思²

(¹ 长春工业大学化学工程学院 长春 130012)

(² 中国科学院长春应用化学研究所 中国科学院生态环境高分子材料重点实验室 长春 130022)

摘要 以异辛酸亚锡为催化剂,通过四臂聚乙二醇(4-armed PEG)引发右旋丙交酯(DLA)或左旋丙交酯(LLA)开环聚合合成四臂 PEG-PLA 对映体共聚物.通过纳米沉淀的方法制备了四臂 PEG-*b*-PDLA 胶束(PDM)、四臂 PEG-*b*-PLLA 胶束(PLM)和四臂 PEG-*b*-PDLA/四臂 PEG-*b*-PLLA 立体复合胶束(SCM),并对其形貌、粒径、稳定性和立体复合机理等进行系统表征.以阿霉素(DOX)为模型抗肿瘤药物载入胶束中,与 PDM 和 PLM 相比,SCM 具有更优异的药物负载能力.与 DOX 相比,载药四臂 PEG-PLA 胶束,尤其是负载 DOX 的 SCM,表现出更优异的肿瘤细胞增殖抑制效果,作用更持久,并且对正常细胞的毒性较小,从而揭示了其作为潜在抗肿瘤药物载体的良好前景.

关键词 恶性肿瘤治疗,控制释放,立体复合胶束,聚丙交酯,纳米沉淀

恶性肿瘤已经成为威胁人类健康的最严重的疾病之一,其具有死亡率高和治愈率低的特点.目前,临床上常用的恶性肿瘤治疗手段有化学治疗(化疗)、放射治疗和手术治疗等.其中,化疗是最常用也是最重要的恶性肿瘤治疗手段,其在恶性肿瘤治疗方面具有不可替代的地位.近年来不断有新的抗肿瘤药物出现,而且治疗方案也得到不断改进,但临床所用的抗肿瘤药物仍存在诸多问题:(1)水溶性及稳定性差;(2)代谢快,在体内循环中的半衰期较短;(3)缺乏选择性,药物利用率低,对正常组织的毒副作用大;(4)部分肿瘤细胞在化疗过程中容易产生耐药性等^[1~6].

为了解决上述问题,种类众多的纳米载体,包括胶束、囊泡、纳米凝胶和纳米纤维等,被用于传输抗肿瘤药物^[2,7~12].其中,由两亲性共聚物自组装而形成的胶束以其制备方法简单与粒子尺寸可控等优点而被广泛研究^[13,14].聚合物胶束作为药物载体具有独特的优势,如纳米尺寸、良好的热力学稳定性和独特的“核-壳”结构等^[15,16].因此,聚合物胶束可以提高抗肿瘤药物在水中的稳定性、延长在血液中的循环时间并增加在肿瘤部位的聚集,从而降低毒副作用且提高肿瘤抑制效果^[7,17].

在众多两亲性共聚物中,聚乙二醇-聚丙交酯

嵌段共聚物(PEG-*b*-PLA)以其优异的生物降解性与生物相容性而展现了良好的应用前景^[18],并已获得美国食品药品监督管理局(FDA)的批准,可作为注射药用辅料使用.对于 PEG-*b*-PLA 胶束,亲水性的 PEG“外壳”可以增加胶束的水溶性和减少蛋白黏附等,而疏水性的 PLA“内核”可以负载疏水性药物或保护生物活性药物,使药物顺利到达“病灶”部位^[19,20].

众所周知,丙交酯存在对映体结构,两种对映体聚合物皆存在良好的生物相容性^[21],且聚右旋丙交酯(PDLA)与聚左旋丙交酯(PLLA)之间存在立体复合作用(stereocomplex interaction, SCI)^[22,23].基于上述作用的 PEG-*b*-PLA 立体复合胶束较 PEG-*b*-PDLA 和 PEG-*b*-PLLA 胶束结构更致密,且稳定性更强^[24].此外,与线型共聚物胶束相比,星型共聚物胶束展示出特殊的热性能,具有更低的黏度、更低的临界胶束浓度、更小的流体力学直径以及更稳定的结构,而受到科学界和工业界的广泛关注^[25~27].本文在上述背景和前期工作的基础上,合成 2 种四臂 PEG-*b*-PLA 对映体共聚物,并采用纳米沉淀法分别制备了四臂 PEG-*b*-PDLA 胶束(PDM)、四臂 PEG-*b*-PLLA 胶束(PLM)和四臂 PEG-*b*-PDLA/4-armed PEG-*b*-PLLA

* 2014-01-16 收稿,2014-02-27 修稿;国家自然科学基金(基金号 51303174、51321062 和 51233004)、吉林省科技发展计划(项目号 20130102065JC)和吉林省教育厅十二五规划项目(项目号 20140123)资助项目.

** 通讯联系人,E-mail:jxding@ciac.ac.cn;jlsongx@163.com

doi:10.11777/j.issn1000-3304.2014.14007

立体复合胶束 (SCM), 考察了立体复合作用对胶束性能的影响, 并研究了四臂 PEG-*b*-PLA 胶束的药物负载、控制释放以及细胞增殖抑制性能。

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

四臂聚乙二醇 (4-armed PEG, 数均分子量 (M_n) 为 10000) 购自上海西宝生物科技有限公司 (上海, 中国); DLA 和 LLA 由长春圣博玛生物材料有限公司 (吉林长春, 中国) 提供; 异辛酸亚锡 ($\text{Sn}(\text{Oct})_2$) 和噻唑蓝 (MTT) 购自 Sigma-Aldrich (斯德海姆, 德国); 盐酸阿霉素 ($\text{DOX} \cdot \text{HCl}$) 购自浙江海正药业有限公司 (浙江台州, 中国); 去离子水由 Milli-Q Plus 系统 (Millipore 股份有限公司, 马萨诸塞州比尔里卡, 美国) 纯化得到; 其他试剂和溶剂均购自国药集团化学试剂有限公司 (上海, 中国)。

注射泵控制器 (TJP-3A) 购自保定兰格恒流泵有限公司 (河北保定, 中国); 磁力搅拌器 (MYP11-2) 购自上海梅颖浦仪器仪表制造有限公司 (上海, 中国); 核磁共振谱仪 (Bruker AV 300 NMR) 购自于布鲁克光谱仪器公司 (德国); 凝胶渗透色谱仪 (GPC, Water 2414) 干涉折射检测器、

HPLC 泵 (Waters 515) 和聚苯乙烯色谱柱 (HT3 和 HT4) 均购自沃特世公司 (美国); 荧光光谱仪 (LS50B) 购自珀金埃尔默公司 (美国); 动态光散射仪是选用 Wyatt QELS 仪器 (DAWN EOS) 购自 Wyatt 公司 (美国); 透射电子显微镜 (JEM-1011) 购自日本电子株式会社 (日本); 傅里叶变换红外光谱仪 (Win-IR) 购自美国伯乐有限公司 (美国); 示差扫描量热仪 (Q100) 购自美国 TA 仪器公司 (美国); X 射线衍射仪 (D8 Advance) 购自布鲁克光谱仪器公司 (德国); UV-Vis 型分光光度计 (UV-2401PC) 购自日本岛津 (日本); 酶标仪 (Bio-Rad 680) 购自美国伯乐有限公司 (美国)。

1.2 四臂 PEG-*b*-PLA 的合成与表征

如图 1 所示, 以 $\text{Sn}(\text{Oct})_2$ 为催化剂, 通过四臂 PEG 分别引发 DLA 和 LLA 开环聚合, 制备四臂 PEG-*b*-PLA 星型对映体共聚物. 具体步骤如下: 称取 10.0 g (1.0 mmol) 四臂 PEG, 加入 200.0 mL 甲苯在 120 °C 共沸除水, 再将 2.9 g (20.0 mmol) DLA 或 LLA 和 100.0 mL 无水甲苯加入反应体系中, 110 °C 反应 24 h. 反应结束后用 500.0 mL 乙醚沉降, 过滤, 用二氯甲烷将产物复溶, 再次沉降, 反复操作 3 次, 将得到的产物抽滤, 干燥过夜, 即得到四臂 PEG-*b*-PDLA 和四臂 PEG-*b*-PLLA.

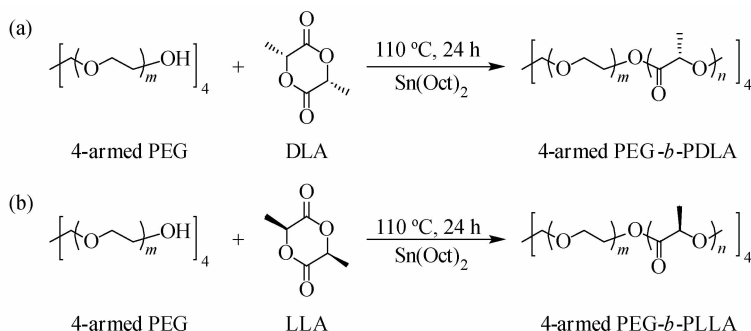


Fig. 1 The synthesis pathways for (a) 4-armed PEG-*b*-PDLA and (b) 4-armed PEG-*b*-PLLA copolymers

核磁共振氢谱 (^1H -NMR) 由核磁共振仪测得, 以氘代氯仿 (CDCl_3) 作溶剂, 四甲基硅烷 (0.01%, V/V) 为内标; 共聚物 M_n 、重均分子量 (M_w) 和分子量分布 ($\text{PDI} = M_w/M_n$) 由 GPC 测定, 流动相为氯仿, 流速为 1.0 mL min^{-1} 。

1.3 胶束的制备与表征

如图 2 所示, 共聚物胶束通过纳米沉淀法制备^[28, 29]. 称取 100.0 mg 四臂 PEG-*b*-PDLA 溶于 10.0 mL 四氢呋喃 (THF) 中, 边搅拌边向上述溶液中匀速滴加 6.0 mL Milli-Q 去离子水. 滴加结

束后, 将溶液匀速搅拌 12 h, 然后用 3500 的透析袋透析 24 h, 定容, 得到 PDM 溶液. 以同样方法分别制备 PLM 和 SCM 胶束。

临界胶束浓度 (CMC) 用荧光光谱法测定, 荧光测试在带有 Felix 4.1.0 软件的 PTI 荧光主站系统上进行, 芘作为荧光探针, 检测发射波长为 390 nm; 流体力学直径 (D_h) 由 DLS 测试, 测试散射角为 90°, 样品浓度为 0.1 g L^{-1} ; 胶束形貌由 TEM 测试, 测试电压为 100 kV, 样品浓度为 1.0 g L^{-1} . 冻干后胶束样品进行 FTIR、DSC 和 XRD 测

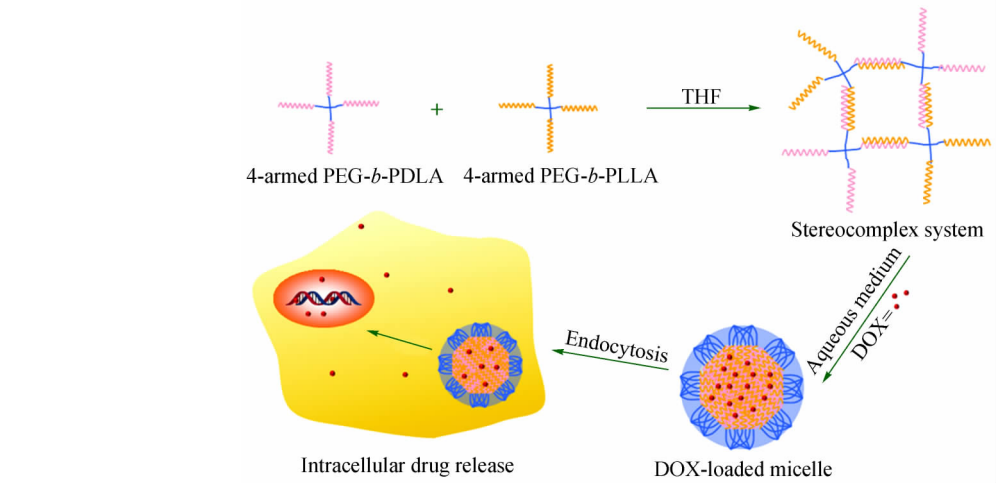


Fig. 2 Schematic illustration of stereocomplex between enantiomeric 4-armed PEG-PLA copolymers, DOX loading, DOX-loaded SCM endocytosis and intracellular DOX release principle

试;FTIR 样品通过溴化钾压片制备;DSC 测试中先将样品加热到熔融温度以上,温度范围在 10 ~ 200 ℃ 之间,再将样品冷却;加热和冷却速率分别设定为 5 K min⁻¹;XRD 衍射角度 2θ 从 10° 到 30°,室温下扫描速度为 4 K min⁻¹.

1.4 DOX 的负载与释放

通过纳米沉淀的方式将 DOX 载入胶束中(图 2)^[30]. 将 21.3 mg DOX·HCl 充分溶于 20.0 mL 磷酸盐缓冲溶液(PBS, pH = 7.4)中,按照 1.3 节中方法,分别滴加到 10.0 mL 浓度为 10.0 g L⁻¹的共聚物的 THF 溶液中.滴加结束后,将溶液匀速搅拌 12 h,然后用 3500 Da 的透析袋透析 24 h,冻干,得到载有 DOX 的 PDM、PLM 和 SCM,分别标记为 PDM/DOX、PLM/DOX 和 SCM/DOX.载药率(DLC)和载药效率(DLE)由 UV-Vis 分光光度计通过标准曲线法测定^[3,31,32].其计算公式如下:

$$\text{DLC}(\text{wt}\%) = \frac{\text{胶束负载的药的质量}}{\text{载药胶束的质量}} \times 100\%$$
 (1)

$$\text{DLE}(\text{wt}\%) = \frac{\text{胶束负载的药的质量}}{\text{总投入药的质量}} \times 100\%$$
 (2)

载药胶束的释放行为在 PBS 中进行测试.称取 1.0 mg 载药胶束或 DOX 溶解于 10.0 mL PBS 中,并转移到透析袋(MWCO = 3500)中.然后将透析袋密封,放入 100.0 mL PBS 中,置于温度为 37 ℃,震荡速度为 70 rmin⁻¹的恒温振荡箱中释放.在既定时间间隔取出 2.0 mL 释放液,同时补加相同体积的 PBS.同样,由 UV-Vis 分光光度计通过标准曲线法测定 DOX 的释放量.

1.5 细胞相容性及细胞增殖抑制

通过 MTT 实验并选用人肝癌细胞(HepG2 细胞)与小鼠成纤维细胞(L929 细胞)来检测胶束的细胞相容性和载药胶束的细胞增殖抑制能力.

1.5.1 胶束的细胞相容性检测

将 HepG2 和 L929 细胞悬浮于 200.0 μL 含有 10% (V/V)胎牛血清、50 IU mL⁻¹青霉素和 50 IU mL⁻¹链霉素的 Dulbecco 改良的 Eagle 培养基(DMEM)中,并种植到 96 孔板中,细胞密度为 7000 细胞/孔.培养 24 h 后,移去培养基,然后加入 200.0 μL 胶束的 DMEM 溶液(0 ~ 1.0 g L⁻¹).继续培养 72 h 后进行 MTT 分析.用酶标仪检测溶液在 490 nm 处的吸光度,并通过公式(3)计算细胞存活率(cell viability):

$$\text{Cell viability}(\%) = \left(\frac{A_{\text{样品}}}{A_{\text{对照}}} \right) \times 100$$
 (3)

其中, A_{样品}和 A_{对照} 分别为样品组和对照组的吸光度值.

1.5.2 载药胶束的细胞增殖抑制能力检测

细胞种植及培养与细胞相容性检测相同.种植的细胞与载药胶束或 DOX 共培养 24 或 48 h 后进行 MTT 检测(0 ~ 10.0mg L⁻¹ DOX).细胞存活率通过公式(3)计算.

2 结果与讨论

2.1 四臂 PEG-*b*-PLA 对映体共聚物的合成与检测

以四臂 PEG 为引发剂和 Sn(Oct)₂ 为催化剂,通过开环聚合反应制备两亲性四臂 PEG-*b*-PDLA 与四臂 PEG-*b*-PLLA.¹H-NMR 中所有信号

峰均被准确归属(图 3(A)),从而证明了所合成共聚物的化学结构. LA 的聚合度通过 $\delta = 5.20$ 处的归属于 LA 结构单元上的次甲基质子与 $\delta = 3.68$ 处的归属于 PEG 中亚甲基质子的积分面积比计算得到(表 1). GPC 可以同时测得共聚物的

M_n 、 M_w 和 PDI 等参数(表 1). 通过 GPC 测得的 M_n 要大于 NMR 的测试结果. 这是由核磁和 GPC 的测试原理不同引起的, GPC 测试的 M_n 是相对于标准样的相对值. 共聚物与标准样化学结构的不同导致所测得的 M_n 与实际值存在差异^[32].

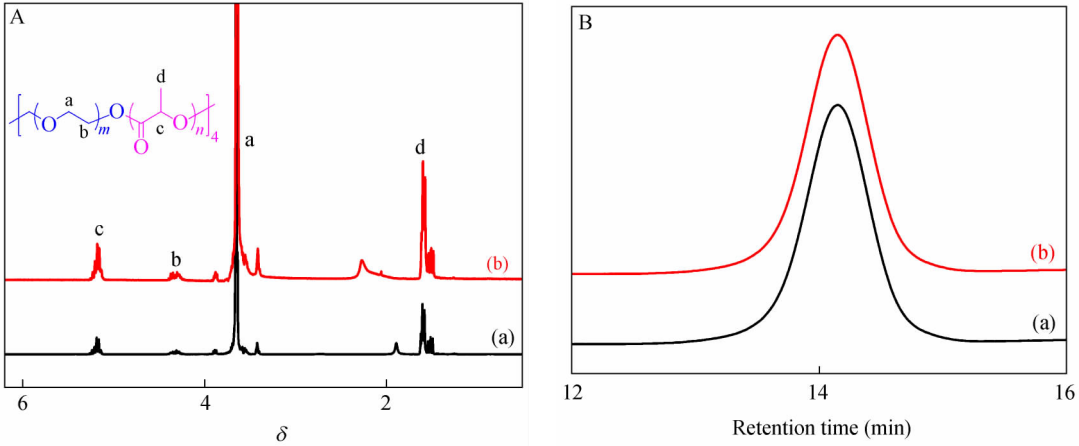


Fig. 3 (A) ¹H-NMR spectra (in CDCl₃) and (B) GPC chromatograms of (a) 4-armed PEG-*b*-PDLA and (b) 4-armed PEG-*b*-PLLA

Table 1 Characterization of 4-armed PEG-PLA enantiomeric copolymers

Sample	Feeding molar ratio ^a	Total DP of LA ^b	M_n^b	M_n^c	PDI ^c
4-Armed PEG- <i>b</i> -PDLA	1: 20	27	11900	25100	1. 05
4-Armed PEG- <i>b</i> -PLLA	1: 20	28	12000	29300	1. 17

^a Feeding molar ratio of macroinitiator/LA; ^b Determined by ¹H-NMR, and shown as the total DP of four arms; ^c Determined by GPC

2.2 共聚物胶束的制备与表征

通过纳米沉淀法分别制得单一与立体复合胶束. 如图 4 所示, PDM、PLM 和 SCM 3 种胶束均呈现为低分散的球形形貌, 直径(D)分别为 (105 ± 4.3) 、 (96 ± 3.6) 和 (87 ± 3.9) nm. 同时, 通过 DLS

测试了上述 3 种胶束的流体力学直径(D_h), 分别为 (225 ± 3.7) 、 (222 ± 4.2) 和 (198 ± 3.4) nm(图 4 插图). 与 DLS 测得的尺寸相比, TEM 测得的粒径更小, 这主要是由于在 TEM 制样过程中纳米胶束的脱水收缩引起的^[33].

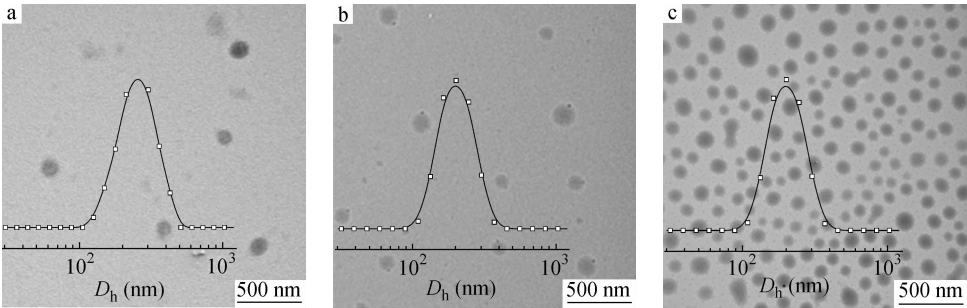


Fig. 4 Typical TEM micrographs and D_h (inset) of (a) PDM, (b) PLM and (c) SCM

在本研究中, 通过广泛报道的芘-探针荧光技术测得 PDM、PLM 和 SCM 的 CMC 分别为 0.063、0.052 和 0.045 g L⁻¹(图 5)^[34]. 相对于单一胶束, 立体复合胶束呈现粒径减小且 CMC 降低的趋

势, 说明复合胶束结构更加致密且更为稳定. 为了确认对映体共聚物间的 SCI, 对冻干后的胶束样品进行了 FTIR、DSC 和 XRD 测试. 在红外测试中, 相对于单一胶束, SCM 中羰基伸缩振

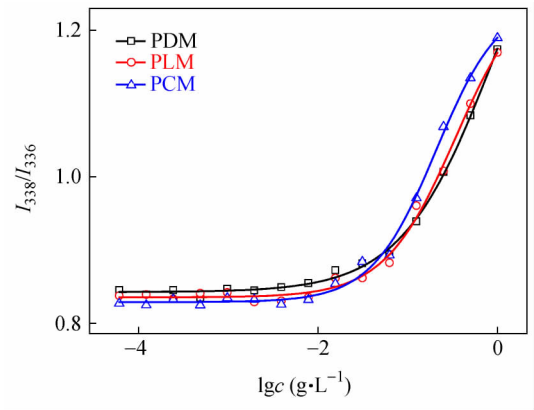


Fig. 5 Intensity ratios (I_{338}/I_{336}) as a function of logarithmic concentrations of PDM、PLM and SCM

动($\nu_{C=O}$)的吸收峰由 1756 cm^{-1} 蓝移至 1752 cm^{-1} 处(图6);如图7所示,PDM 和 PLM 中 PEG 的结晶峰在 $20.1\text{ }^{\circ}\text{C}$,而 SCM 中 PEG 的结晶峰在 $28.7\text{ }^{\circ}\text{C}$,结晶温度升高,并且结晶峰变窄;且在 XRD 测试中(图8),与单一胶束相比,SCM 在 $12''$ 和 $21''$ 皆存在衍射峰. 上述结果表明聚合物胶束立体复合结晶的形成,显示了 SCI 的存在,并证实了 SCM 的成功制备^[35].

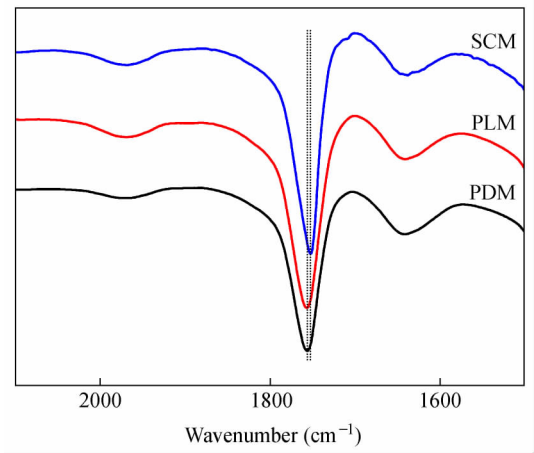


Fig. 6 FTIR spectra of lyophilized PDM, PLM and SCM: from $2100\text{ to }1500\text{ cm}^{-1}$

2.3 DOX 负载及体外释放行为研究

DOX 是一种临床上常用的广谱抗肿瘤药物,但其存在严重的副作用,如骨髓抑制和心肌毒性^[36]. 通过胶束的负载可以提高 DOX 对正常组织的相容性,并提高其对肿瘤细胞的增殖抑制能力^[37]. 在本文中,DOX 作为模型药物被载入胶束中. PDM/DOX、PLM/DOX 和 SCM/DOX 的载药效率分别为 59.79% 、 69.15% 和 71.89% (表2). SCM

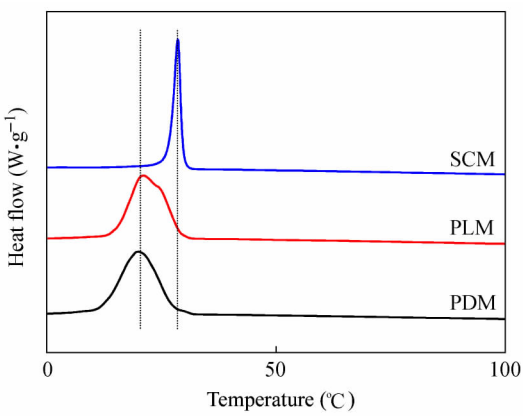


Fig. 7 DSC profiles of lyophilized PDM, PLM and SCM

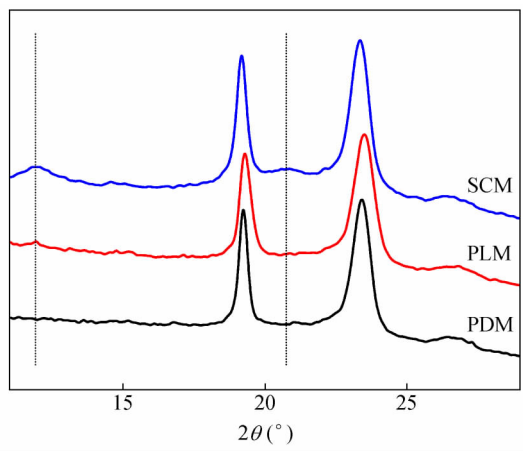


Fig. 8 XRD profiles of lyophilized PDM, PLM and SCM

的 DLC 和 DLE 最高说明 SCM 中的 SCI 可以有效提高胶束的药物负载能力.

DOX 在 $\text{pH} = 7.4$ 的 PBS 中的释放行为如图9所示. PDM/DOX 和 PLM/DOX 呈现出相似的 DOX 释放行为,在开始 10 h 内快速释放,之后缓慢释放,在测试时间内 (72 h) DOX 释放率为 $60\text{ wt\%}$ 以上. 相对于单一载药胶束,SCM/DOX 释放较慢,无明显突释,并且在 72 h 内仅有 55% 的 DOX 释放. 上述结果表明,胶束的“核-壳”结构可有效地将药物负载,从而使载药胶束可通过肿瘤组织的增强渗透与滞留 (EPR) 效应在肿瘤部位聚集,并缓慢释放出抗肿瘤药物,以降低对正常组织和器官的毒副作用并提高疗效. SCM 中的 SCI 可以使胶束的结构更加紧密,可以进一步减少 DOX 在体内循环过程中的释放. 此外,DOX 在 2 h 内释放率达到 $90\text{ wt\%}$ 以上,说明 DOX 在透析袋内的滞留效应并不明显,验证了测试方法的可行性.

Table 2 Properties of 4-armed PEG-PLA micelles

Code ^a	D (nm) ^b	D _h (nm) ^c	CMC (g L ⁻¹)	DLC (wt%)	DLE (wt%)
PDM	105 ± 4.3	225 ± 3.7	0.063	10.68	59.79
PLM	96 ± 3.6	222 ± 4.2	0.052	12.15	69.15
SCM	87 ± 3.9	198 ± 3.4	0.045	12.57	71.89

^a PDM, PLM and SCM represented 4-armed PEG-*b*-PDLA and 4-armed PEG-*b*-PLLA micelles, and 4-armed PEG-*b*-PDLA/4-armed PEG-*b*-PLLA stereocomplex micelle, respectively. ^b Determined by TEM; ^c Determined by DLS

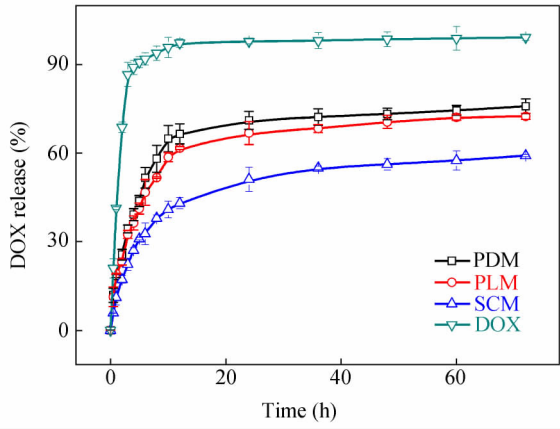


Fig. 9 The release curves of PDM/DOX, PLM/DOX, SCM/DOX and DOX

2.4 细胞相容性及体外细胞增殖抑制

良好的生物相容性是两亲性聚合物作为药物载体的必备条件之一^[38]. 在本文中,通过 MTT 检测证实胶束样品对 HepG2 和 L929 细胞的良好相容性. 如图 10 所示,在最高浓度为 1.0 g L⁻¹ 的所有测试浓度范围内,与 PDM、PLM 和 SCM 共培养 72 h 后,2 种细胞的存活率均在 90% 以上,而与

PEI25k 共培养的细胞的存活率较低. 上述结果证明 PEG-PLA 胶束具有良好的细胞相容性,可以安全地作为抗肿瘤药物或其他生物活性物质的传输载体.

载药胶束对 HepG2 和 L929 细胞的增殖抑制能力同样通过 MTT 检测评估. 如图 11 所示,载药胶束或 DOX 与 HepG2 细胞共培养 24 h 后,3 种载药胶束的细胞增殖抑制能力相当,DOX 表现出最强的细胞毒性. 而当培养时间延长至 48 h 时,SCM/DOX 对 HepG2 细胞的增殖抑制作用明显,载药单一胶束效果次之,DOX 效果稍差. 细胞增殖抑制能力与载药胶束的稳定性相关. 胶束越稳定,细胞外药物释放越少,而通过细胞内吞进入细胞,可以有效地实现药物在肿瘤细胞内的持续释放. 并在较长的时间内仍能维持细胞内药物浓度在有效范围内,从而导致肿瘤细胞凋亡. 载药胶束及 DOX 的半数抑制最大浓度 (IC₅₀s) 被检测并列入表 3. 与单一胶束和 DOX 相比,SCM/DOX 对 HepG2 细胞具有最低的 IC₅₀ 值. 这定量地证明了 SCM 作为抗肿瘤药物载体的潜在优势. 另外,与

Table 3 IC₅₀s of DOX-loaded PLM, PDM and SCM, and DOX against HepG2 and L929 cells after incubation for 24 h or 48 h

Entry ^a	HepG2 cells (mg L ⁻¹)		L929 cells (mg L ⁻¹)	
	24 h	48 h	24 h	48 h
PDM/DOX	2.48	1.66	4.59	1.93
PLM/DOX	3.02	1.99	4.75	2.26
SCM/DOX	2.36	0.97	3.86	1.18
DOX	3.15	3.25	1.63	3.24

^a PDM/DOX, PLM/DOX and SCM/DOX represented DOX-loaded PDM, PLM and SCM, respectively.

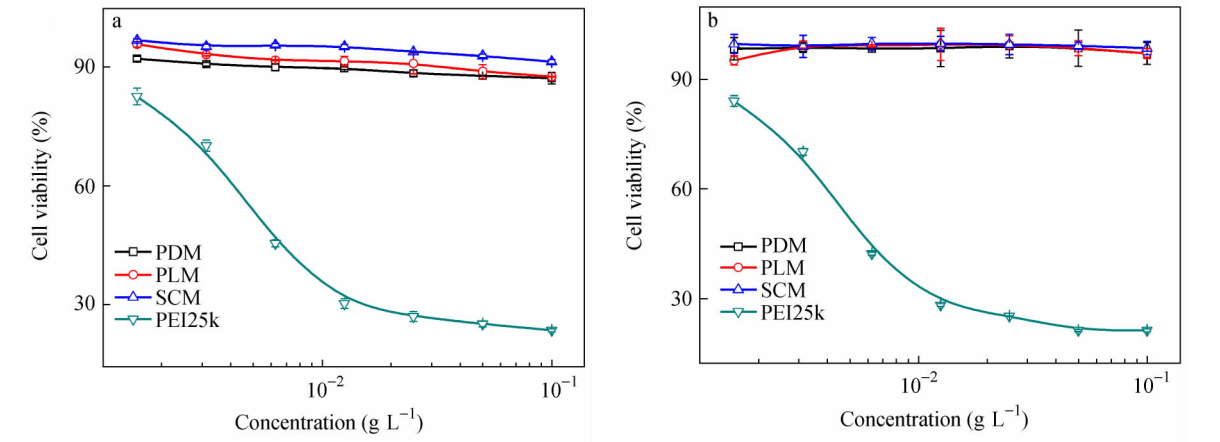


Fig. 10 *In vitro* cytotoxicities of PDM, PLM and SCM toward (a) HepG2 and (b) L929 cells with PEI25k as positive control after incubation for 72 h

Data were presented as mean ± standard deviation (n = 3).

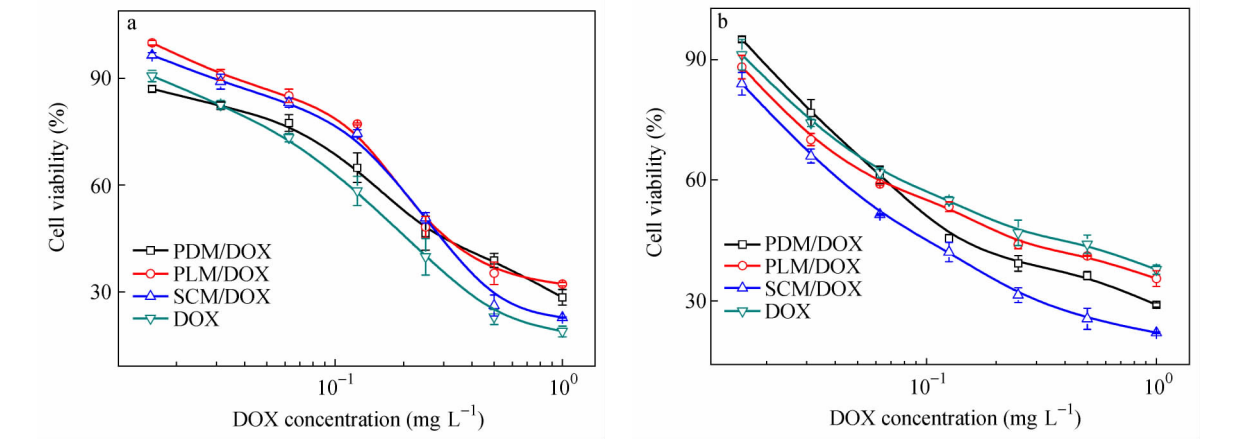


Fig. 11 *In vitro* proliferation inhibition efficacies of PDM/DOX, PLM/DOX, SCM/DOX and DOX toward HepG2 cells after incubation for (a) 24 and (b) 48 h
Data were presented as mean $\pm$ standard deviation ($n = 3$).

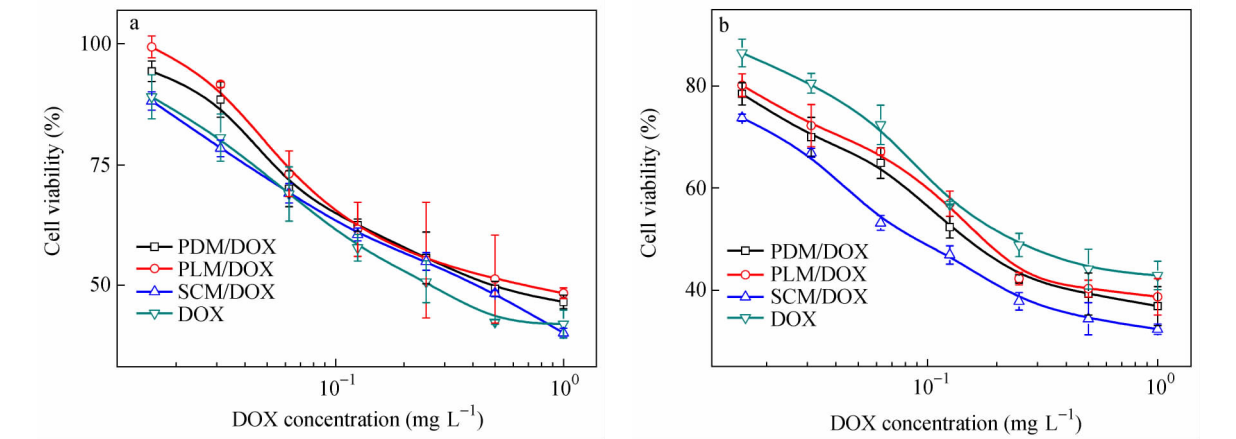


Fig. 12 *In vitro* cytotoxicities of PDM/DOX, PLM/DOX, SCM/DOX and DOX toward L929 cells after incubation for (a) 24 and (b) 48 h
Data were presented as mean $\pm$ standard deviation ($n = 3$).

DOX 相比,载药胶束对 L929 细胞的毒性较小(如图 12),IC₅₀值较高,从而表明胶束的负载可以降低抗肿瘤药物对正常组织和细胞的毒副作用。

3 结论

以 Sn(Oct)₂ 为催化剂,通过四臂 PEG 引发 DLA 或 LLA 开环聚合制备四臂 PEG-PLA 对映体共聚物.所合成的共聚物可以在水环境中自组装成球状胶束,并用于负载模型抗肿瘤药物 DOX.与单一胶束相比,SCM 具有更致密的结构、更小的粒径和更高的载药效率. SCM/DOX 更稳定,具有更慢的 DOX 释放,可以有效减缓 PDM/DOX 和 PLM/DOX 的突释.载药四臂 PEG-PLA 胶束尤其

是 SCM/DOX 对 HepG2 细胞具有良好的增殖抑制效果,并展现出优异的持久抑制性.另外,与 DOX 相比,载药胶束对 L929 细胞具有较小的毒性,从而证明其降低抗肿瘤药物对正常组织和细胞毒性的可能性.此外,该研究还存在进一步发展的空间,包括引入主动靶向基团提高其细胞内吞、在 PEG 和 PLA 嵌段间引入细胞内环境响应性连接键赋予其细胞内靶向释放的功能和进行端基修饰以提高其 DLC 与 DLE 等.因此,四臂 PEG-PLA 立体复合胶束可以作为一种潜在的体内药物传输载体用于恶性肿瘤化疗,并具有很大的进一步优化的空间。

REFERENCES

- 1 Hu Xiuli(胡秀丽), Xie Zhigang(谢志刚), Huang Yubin(黄宇彬), Jing Xiabin(景遐斌). *Acta Polymerica Sinica*(高分子学报), 2013, (6): 733 ~ 749
- 2 Ding J X., Shi F H, Xiao C S, Lin L, Chen L, He C L, Zhuang X L, Chen X S. *Polym Chem*, 2011, 2(12): 2857 ~ 2864
- 3 Li D, Ding J X, Tang Z H, Sun H, Zhuang X L, Xu J Z, Chen X S. *Int J Nanomed*, 2012, 7: 2687 ~ 2697
- 4 Wang W, Ding J. X, Xiao C. S, Tang Z. H, Li D, Chen J, Zhuang X. L, Chen X S. *Biomacromolecules* 2011, 12(7): 2466 ~ 2474
- 5 Venditto V J, Szoka F C. *Adv Drug Delivery Rev*, 2013, 65(1): 80 ~ 88
- 6 Zhang Jiancheng(张建成), Ding Jianxun(丁建勋), Xiao Chunsheng(肖春生), He Chaoliang(贺超良), Zhuang Xiuli(庄秀丽), Yang Ya'nan(杨亚楠), Chen Xuesi(陈学思). *Chem J Chinese U*(高等学校化学学报), 2012, 33(12): 2809 ~ 2815
- 7 Ding J X, Chen J J, Li D, Xiao C S, Zhang J C, He C L, Zhuang X L, Chen X S. *J Mater Chem B*, 2013, 1(1): 69 ~ 81
- 8 Ding J X, Xiao C S, He C L, Li M Q, Li D, Zhuang X L, Chen X S. *Nanotechnology*, 2011, 22(49): 494012
- 9 Ding J X, Xiao C S, Li Y C, Cheng Y L, Wang N N, He C L, Zhuang X L, Zhu X J, Chen X S. *J Control Release*, 2013, 169(3): 193 ~ 203
- 10 Ding J X, Xiao C S, Li Y C, Cheng Y L, Wang N N, He C L, Zhuang X L, Zhu X J, Chen X S. *J Control Release*, 2014, 179: 10
- 11 Ding J X, Xiao C S, Yan L S, Tang Z H, Zhuang X L, Chen X S, Jing X B. *J Control Release*, 2011, 152: E11 ~ E13
- 12 Zheng F Y, Wang S G, Shen M W, Zhu M F, Shi X Y. *Polym Chem*, 2013, 4(4): 933 ~ 941
- 13 Zhu Z X. *Biomaterials*, 2013, 34(38): 10238 ~ 10248
- 14 Ding J X, Xu W G, Zhang Y, Sun D K, Xiao C S, Liu D H, Zhu X J, Chen X S. *J Control Release*, 2013, 172(2): 444 ~ 455
- 15 Bagheri M, Bigdeli E, Pourmoazzen Z. *Iran Polym J*, 2013, 22(4): 293 ~ 302
- 16 Huo M R, Zhang Y, Zhou J P, Zou A F, Yu D, Wu Y P, Li J, Li H. *Int J Pharm*, 2010, 394(1-2): 162 ~ 173
- 17 Gao X, Zheng F J, Guo G, Liu X X, Fan R R, Qian Z Y, Huang N, Wei Y Q. *J Mater Chem B*, 2013, 1(42): 5778 ~ 5790
- 18 Yang L, Wu X H, Liu F, Duan Y R, Li S M. *Pharm Res*, 2009, 26(10): 2332 ~ 2342
- 19 Lee K S, Chung H C, Im S A, Park Y H, Kim C S, Kim S B, Rha S Y, Lee M Y, Ro J. *Breast Cancer Res Treat*, 2008, 108(2): 241 ~ 250
- 20 Hrkach J, Von Hoff D, Ali M M, Andrianova E, Auer J, Campbell T, De Witt D, Figa M, Figueiredo M, Horhota A, Low S, McDonnell K, Peeke E, Retnarajan B, Sabnis A, Schnipper E, Song J J, Song Y H, Summa J, Tompssett D, Troiano G, Hoven T V, Wright J, LoRusso P, Kantoff P W, Bander N H, Sweeney C, Farokhzad O C, Langer R, Zale S. *Sci Transl Med*, 2012, 4(128): 128ra39
- 21 He Yao(何焱), PanZhen(潘震), DingJiandong(丁建东). *Acta Polymerica Sinica*(高分子学报), 2013, (6): 755 ~ 764
- 22 Cui H T, Shao J, Wang Y, Zhang P B, Chen X S, Wei Y. *Biomacromolecules*, 2013, 14(6): 1904 ~ 1912
- 23 Agatemor C, Shaver M. P. *Biomacromolecules*, 2013, 14(3): 699 ~ 708
- 24 Kang N, Perron M E, Prudhomme R E, Zhang Y B, Gaucher G, Leroux J C. *Nano Lett*, 2005, 5(2): 315 ~ 319
- 25 Nagahama K, Saito T, Ouchi T, Ohya Y. *J Biomater Sci, Polym Ed*, 2011, 22(1-2): 407 ~ 416
- 26 Xiao R Z, Zeng Z W, Zhou G L, Wang J J, Li F Z, Wang A M. *Int J Nanomed*, 2010, 5: 1057 ~ 1065
- 27 Kersey F R., Zhang G F, Palmer G M, Dewhirst M W, Fraser C L. *ACS Nano*, 2010, 4(9): 4989 ~ 4996
- 28 Tang X L, Cai S Y, Zhang R B, Liu P, Chen H B, Zheng Y, Sun L L. *Nanoscale Res Lett*, 2013, 8(1): 1 ~ 12
- 29 Ding J X, Zhao L, Li D, Xiao C S, Zhuang X L, Chen X S. *Polym Chem*, 2013, 4(11): 3345 ~ 3356
- 30 Benival D M, Devarajan P V. *Int J Pharm*, 2012, 423(2): 554 ~ 561
- 31 Ding J X, Xiao C S, Zhuang X L, He C L, Chen X S. *Mater Lett*, 2012, 73: 17 ~ 20
- 32 Li D, Sun H, Ding J X, Tang Z H, Zhang Y, Xu W G, Zhuang X L, Chen X S. *Acta Biomater*, 2013, 9(11): 8875 ~ 8884
- 33 Xiong M H, Wu J, Wang Y C, Li L S, Liu X B, Zhang G Z, Yan L F, Wang J. *Macromolecules*, 2009, 42(4): 893 ~ 896
- 34 Ding J X, Xiao C S, Zhao L, Cheng Y L, Ma L L, Tang Z H, Zhuang X L, Chen X S. *J Polym Sci, Part A: Polym Chem*, 2011, 49(12): 2665 ~ 2676
- 35 Shao J, Sun J R, Bian X C, Zhou Y C, Li G, Chen X S. *Cryst Eng Comm*, 2013, 15(33): 6469 ~ 6476
- 36 Chen Y, Wan Y, Wang Y, Zhang H J, Jiao Z J. *Int J Nanomed*, 2011, 6: 2321 ~ 2326
- 37 Kwon G S, Kataoka K. *Adv Drug Delivery Rev*, 1995, 16(2): 295 ~ 309
- 38 Liu J Y, Huang W, Pang Y, Zhu X Y, Zhou Y F, Yan D Y. *Biomaterials*, 2010, 31(21): 5643 ~ 5651

Stereocomplex Micelles Based on 4-Armed Poly(ethylene glycol)-Polylactide Enantiomeric Copolymers for Drug Delivery

Dong-hong Liu^{1,2}, Jian-xun Ding^{2*}, Wei-guo Xu², Xiao-feng Song^{1*}, Xiu-li Zhuang², Xue-si Chen²

(¹ School of Chemical Engineering, Changchun University of Technology, Changchun 130012)

(² Key Laboratory of Polymer Ecomaterials, Changchun Institute of Applied Chemistry, Chinese Academy of Sciences, Changchun 130022)

Abstract In this study, the stereocomplex micelles derived from nonlinear poly(ethylene glycol)-polylactide (PEG-PLA) enantiomeric copolymers were designed and prepared for drug delivery. First, the 4-armed PEG-PLA enantiomeric copolymers were synthesized through the ring-opening polymerization of D-lactide (DLA) and L-lactide (LLA) with 4-armed PEG as macroinitiator and stannous octoate as catalyst. 4-Armed PEG-*b*-PDLA micelle (PDM), 4-armed PEG-*b*-PLLA micelle (PLM) and 4-armed PEG-*b*-PDLA/4-armed PEG-*b*-PLLA stereocomplex micelle (SCM) were prepared through nanoprecipitation, and the morphologies, sizes and stereocomplex mechanisms of micelles were systemically characterized. It was found that the SCM showed more compact structure, smallest dynamic diameter and critical micellization concentration in contrast to PDM and PLM. Doxorubicin (DOX), a model antitumor drug, was loaded into micelles, and SCM exhibited the best drug loading capability compared with PDM and PLM. In addition, the DOX-loaded 4-armed PEG-PLA micelles, especially SCM, showed more efficient and durable capabilities for malignant cellular proliferation inhibition (*e. g.*, HepG2 cells, a human hepatoma cell line), and exhibited less toxicities toward normal cells (*e. g.*, L929 cells, a mouse fibroblast cell line), which revealed the great prospect of SCM for potential antitumor drug delivery.

Keywords Malignancy therapy, Controlled release, Stereocomplex micelle, Polylactide, Nanoprecipitation

* Corresponding authors: Jian-xun Ding, E-mail: jxding@ciac.ac.cn

Xiao-feng Song, E-mail: jlsongx@163.com