

含苯硼酸材料在药物投递中的研究进展

吕娟^①, 马如江^①, 史林启^{①②*}

① 南开大学高分子化学研究所, 药物化学生物学国家重点实验室, 功能高分子材料教育部重点实验室, 天津 300071;

② 天津化学化工协同创新中心, 天津 300071

* 联系人, E-mail: shilinqi@nankai.edu.cn

2016-01-28 收稿, 2016-03-05 修回, 2016-03-09 接受, 2016-04-07 网络版发表

国家自然科学基金(21274001, 51390483, 91527306)、天津市应用基础与前沿技术研究计划(15JCYBJC29700)和教育部创新团队支持计划(IRT1257)资助

摘要 苯硼酸(PBA)及其衍生物是一类非天然的人工合成的二醇类物质识别体, 在水溶液中可以与具有邻二醇或间二醇结构的多羟基化合物可逆反应形成共价复合物。近年来, 基于PBA与二醇类物质可逆结合, 人们对含有PBA的材料在糖尿病和癌症治疗相关药物投递领域进行了广泛深入的研究, 取得了显著的成果。本文综述了该领域最新的研究进展, 重点关注了含PBA材料的癌细胞靶向性和刺激响应性, 包括葡萄糖响应性、pH响应性、三磷酸腺苷(ATP)响应性和H₂O₂响应性, 并对今后的深入研究进行了展望。

关键词 苯硼酸, 药物投递, 刺激响应性, 糖尿病, 癌症

糖尿病是一种严重威胁人类健康的代谢性疾病, 胰岛素治疗是目前控制糖尿病患者血糖水平的重要手段之一。近年来基于苯硼酸(PBA)的血糖响应性药物载体成为胰岛素投递领域的研究热点。1959年, Lorand和Edwards^[1]研究了PBA与多羟基化合物的结合作用。PBA在水溶液中存在解离平衡, 以疏水性不带电荷的结构和亲水性带电荷的结构两种形式存在, 其中只有带电荷的结构可以与具有邻二醇或间二醇结构的多羟基化合物(包括葡萄糖)形成稳定的共价复合物。当水溶液中的葡萄糖浓度增加时, 该解离平衡会朝向生成带电荷结构的方向移动, 体系的水溶性增强。基于这种平衡关系及PBA与二醇结构分子的可逆结合能力, 人们利用PBA的糖响应性制备了胰岛素投递载体^[2,3], 对载体的血糖响应性和胰岛素反复开关释放等都进行了逐步深入的研究。

化学疗法是抗癌治疗中的一种常规的临床疗法, 目前传统的化学疗法普遍存在着药物在肿瘤组织中

渗透性差、清除速度快、不可避免的细胞毒性和利用率低下等诸多问题。理想的抗癌药物载体需要具备如下的功能: 在体内循环过程中能够靶向富集到肿瘤部位, 并且通过对癌细胞的靶向识别作用增加滞留时间; 进入细胞后能够响应释放负载的药物提高药物的利用率; 完成使命后能够同时解体, 降低载体的细胞毒性。含有二醇结构的唾液酸(SA)分子在许多癌细胞表面都存在着过表达^[4,5], PBA分子可以与SA分子在生理条件下结合形成稳定的复合物, 且结合常数要高于其他糖分子(葡萄糖和半乳糖)3~5倍^[6], 这种独特的相互作用被大量应用于癌细胞的靶向识别^[7], 能够促进载体在癌细胞表面的富集和延长在肿瘤部位的滞留时间。同时, 由于PBA可以与二醇结构分子可逆结合, 使得PBA-二醇结构在癌细胞内具有多重刺激响应性: pH响应性^[8,9]、三磷酸腺苷(ATP)响应性^[10]和H₂O₂响应性^[11], 因此含有PBA载体在运送抗癌药物的过程中可以有多种投递机制, 实现药物

引用格式: 吕娟, 马如江, 史林启. 含苯硼酸材料在药物投递中的研究进展. 科学通报, 2016, 61: 2113–2123

Lü J, Ma R J, Shi L Q. Advances of phenylboronic acid-containing materials in drug delivery (in Chinese). Chin Sci Bull, 2016, 61: 2113–2123, doi: 10.1360/N972016-00129

的高效利用。

本文综述了近年来含PBA的材料在糖尿病治疗和抗癌治疗等方面作为药物投递载体的最新研究进展,主要关注了载体的刺激响应性和对癌细胞的靶向性,并对相关发展趋势进行了展望。

1 糖尿病治疗

1.1 生理条件下提高材料的葡萄糖响应性

人体生理环境的pH为7.4,而PBA及其衍生物一般都具有较高的 pK_a (约为8~9)^[12,13],在正常的生理环境下,PBA的聚合物具有较差的水溶性和较弱的葡萄糖响应性.为了降低PBA的 pK_a ,人们主要采取了两种解决方法:一种是在PBA的苯环上引入拉电子基团^[14,15],另一种方法是在含有PBA的聚合物中或在PBA苯环的邻位引入氨基^[16],通过氨基氮原子的孤对电子与硼原子空轨道发生配位作用,降低含PBA聚合物的 pK_a .

近年来,人们发现还有一些方法能够有效降低含PBA载体的 pK_a ,以提高其在生理环境下的葡萄糖响应性^[17].Wang等人^[18]将PBA修饰到聚乙二醇-*b*-聚丙烯酸(PEG-*b*-PAA)的侧基上,得到含有PBA基团的两亲性嵌段共聚物PEG-*b*-(PAA-*co*-PAAPBA),这种嵌段共聚物在pH 6的水溶液中自组装形成核-壳型胶束.通过硼的魔角旋转核磁(¹¹B MAS NMR)研究发现(图1),PAA-*co*-PAAPBA链段中,羧酸根对硼酸根起到一定的稳定作用,使PBA基团的表现 pK_a 降低^[19].当PAA链段上PBA的接枝率为63%时,聚合物胶束在pH 7.4时具有很好的葡萄糖响应性。

将带有PBA基团的聚合物与含糖聚合物复合,形成 pK_a 较低的苯硼酸酯的结构,同样可以提高聚合物载体的葡萄糖响应性.Yang等人^[20]合成了嵌段共聚物聚乙二醇-*b*-聚(天冬氨酸-*co*-天冬酰胺基苯硼酸)(PEG-*b*-P(Asp-*co*-AspPBA))和基于聚氨基酸的糖聚合物聚(天冬氨酸-*co*-天冬酰胺基葡萄糖, P(Asp-*co*-AspAGA)),依靠PBA与AGA的复合作用形成复合胶束.PBA和多元醇形成的苯硼酸环酯与单纯的PBA相比具有更低的 pK_a ^[21],因而利用这种方法能够有效地降低含有PBA材料的表现 pK_a ,由此增强了材料在生理pH下的葡萄糖响应性.实验结果表明这种胶束具有较为理想的葡萄糖响应性(正常血糖浓度保持稳定,高血糖浓度下迅速响应),适合于构建胰岛素投

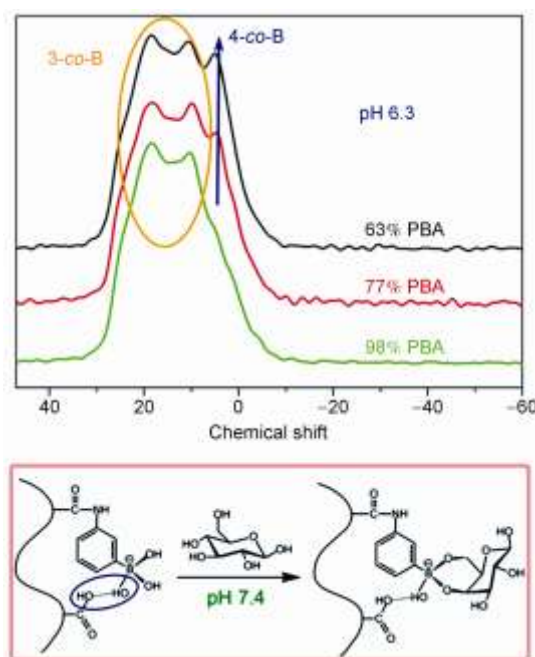


图1 (网络版彩色)PEG-*b*-(PAA-*co*-PAAPBA)胶束的¹¹B MAS NMR谱图

Figure 1 (Color online) Solid state ¹¹B MAS NMR spectra of micelles self-assembled from PEG-*b*-(PAA-*co*-PAAPBA)

递体系。

此外,Dowlut和Hall^[22]报道了一种邻位羟烷基苯硼酸与单糖的复合物,这种苯硼酸结构中具有较小的C-B-O二面角,有利于苯硼酸与二醇类物质形成四面体结构,因此这种新型的PBA衍生物具有较低的 pK_a 和生理环境下的葡萄糖响应性,适合作为胰岛素的载体材料。

在胰岛素投递体系的研究中,许多研究者将水凝胶作为胰岛素的载体,将PBA基团引入凝胶网络中作为葡萄糖响应部分.为了缩短凝胶对葡萄糖浓度的响应时间,研究者对含有PBA的微凝胶结构材料进行了积极探索^[23,24],微凝胶的粒径一般在100~1000 nm,与宏观凝胶具有相同的化学结构,但由于具有较小的尺寸,含有PBA的微凝胶具有更快的葡萄糖响应速度。

Zhao等人^[25]用开环聚合和叠氮点击化学制得了甲氧基聚乙二醇-*b*-聚(谷氨酸苄酯-*co*-(炔丙基谷氨酸-*g*-葡萄糖))(mPEG-*b*-P(BLG-*co*-(PLG-*g*-Glu)))微凝胶,用AAPBA将微凝胶的Glu部分交联,如图2所示.这种微凝胶在pH 7.4的PBS溶液中具有葡萄糖响应性,随着环境中葡萄糖浓度的增加,微凝胶的粒径逐

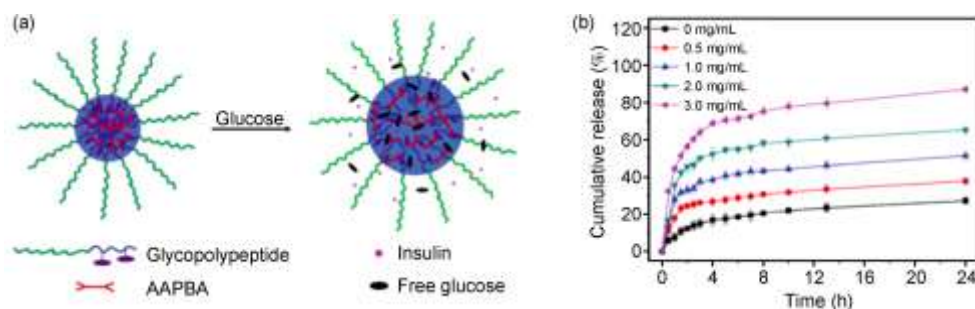


图2 (网络版彩色)(a) PBA修饰的聚氨基酸微凝胶对胰岛素的葡萄糖响应释放; (b) 不同葡萄糖浓度下负载胰岛素的微凝胶的胰岛素释放曲线 (pH 7.4, 37°C)

Figure 2 (Color online) (a) Glucose-responsive insulin release from PBA-functionalized polypeptide nanogel. (b) Cumulative insulin release from the insulin-loaded nanogel in PBS with various glucose concentrations at pH 7.4, 37°C

渐增大, 体外胰岛素释放实验表明, 葡萄糖浓度的增加会使胰岛素的释放速率增大, 这种微凝胶在胰岛素投递体系中有一定的应用前景。

1.2 胰岛素的缓释及“开-关”释放

近年来研究随血糖浓度响应的自调节释放胰岛素的智能系统, 成为胰岛素投递领域的热点。这种胰岛素投递系统可以对人体的血糖变化做出响应, 在高的血糖水平下释放出胰岛素以降低血糖浓度, 而当人体血糖浓度降低到正常水平时, 系统又可以自动减少或终止胰岛素的释放, 就像是植入体内的人工胰脏。Kataoka课题组^[2,14,15,26]在PBA葡萄糖响应水凝胶开关释放胰岛素领域中进行许多开创性的研究工作。为了实现胰岛素在生理条件(pH 7.4, 37°C)下的快速响应释放, Kataoka课题组^[14]制备了一种表层葡萄糖响应凝胶, 聚N-异丙基丙烯酰胺(PNIPAM)的侧链上连接有 pK_a 值为7.2的4-(2-甲酰基氨基乙丙烯酰胺)-3-氟代苯硼酸(AmECFPBA), 如图3所示, 该

凝胶可以在生理条件下(pH 7.4, 150 mmol/L NaCl, 37°C)迅速响应周围环境中葡萄糖浓度的改变。当葡萄糖浓度高于1 g/L时, 凝胶溶胀胰岛素释放; 当葡萄糖浓度降低到1 g/L时, 凝胶迅速脱水收缩, 在表面形成一层疏水层, 阻止了胰岛素的进一步释放, 这种“开-关”释放可以反复进行。

Yang等人^[27]用嵌段共聚物PNIPAM-*b*-P(Asp-*co*-AspPBA)和含糖聚合物PEG-*b*-P(Asp-*co*-AspAGA)自组装制备得到了具有葡萄糖响应性的聚合物囊泡, 如图4所示, 该囊泡具有糖响应的PBA/AGA壳层, 当环境中葡萄糖浓度增加时, 囊泡的壳层发生溶胀, 粒径显著增大, 负载在囊泡内部的FITC-胰岛素(FITC-insulin)被释放出来, 而当葡萄糖浓度降低时, 收缩的PBA/AGA壳层对包覆在囊泡空腔内部的药物起到保留作用, FITC-insulin的释放非常缓慢, 这种“开-关”释放实验进行的前8 h能够观察到4次非常明显的“开-关”循环, 说明该囊泡能够针对葡萄糖的存在响应性的自调节释放负载的FITC-insulin。

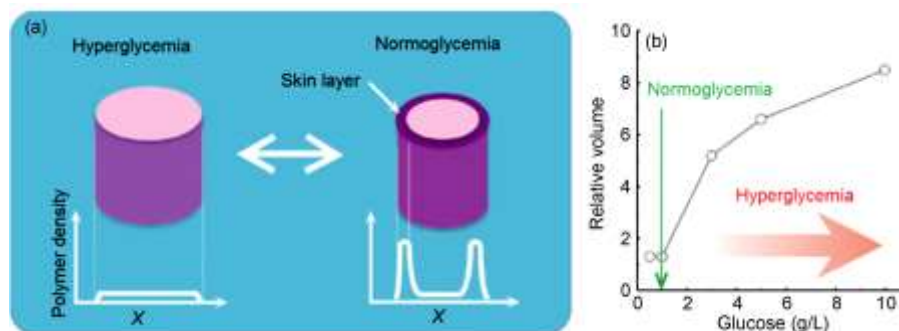


图3 (网络版彩色)(a) 基于PBA衍生物的表层葡萄糖响应凝胶; (b) 37°C时凝胶体积随葡萄糖浓度变化趋势

Figure 3 (Color online) (a) A “skin layer” hydrogel containing phenylboronate responding to glucose. (b) Volume change of the gel as a function of the glucose concentration at 37°C

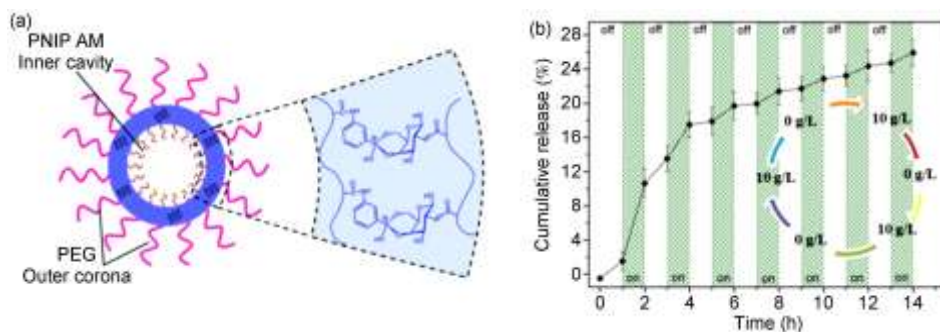


图4 (网络版彩色)(a) 由嵌段共聚物PNIPAM-*b*-P(Asp-co-AspPBA)和PEG-*b*-P(Asp-co-AspAGA)制备囊泡; (b) 胰岛素的“开-关”释放
Figure 4 (Color online) (a) The preparation of PNIPAM-*b*-P(Asp-co-AspPBA)/PEG-*b*-P(Asp-co-AspAGA) polymer vesicles. (b) Glucose-triggered on-off release of insulin

1.3 键合负载胰岛素

Gois课题组^[28]提出了一种将赖氨酸的 ϵ -氨基或蛋白质的N端基连接到2-羰基苯硼酸的新方法(图5), 利用氨基与PBA邻位的羰基相互作用形成N-B配位键, 室温下在水溶液中形成稳定的亚胺硼酸盐, 然而这种N-B键在果糖、多巴胺、谷胱甘肽等存在的环境中会变得不稳定, 很快发生解离, 具有很好的糖响应性。

随后Gois课题组^[29]又利用胰岛素上的氨基与2-羰基苯硼酸能可逆形成亚胺硼酸盐的特性, 将胰岛素修饰到了短链PEG上(图S1), 通过对果糖的响应, 亚胺硼酸盐的N-B断裂, 从而释放出胰岛素。这种能可逆结合-释放胰岛素的结构为糖尿病治疗中胰岛素的糖响应投递方式提供了一种全新的研究方向。

2 抗癌治疗

2.1 PBA作为配体靶向识别癌细胞

SA是一种单糖, 位于细胞膜糖蛋白侧链末端, 在许多恶性和转移肿瘤癌细胞表面都存在着过表

达^[30], 是癌细胞表面重要的靶向受体。PBA可以与SA可逆结合形成稳定的硼酸酯结构, 因此, 将PBA修饰到抗癌药物载体上, 可以赋予载体靶向癌细胞的功能, 有利于载体在肿瘤部位的富集并促进载体的细胞摄取。

Deshayes等人^[31]将PBA修饰到嵌段共聚物聚乙二醇-*b*-聚(L-谷氨酸)(PEG-*b*-PLGA)上, 该嵌段共聚物在水溶液中自组装形成核-壳型胶束, 随后他们对PBA与一系列单糖的结合作用进行了比较, 发现PBA对单糖的结合作用力由大到小依次为SA $\gg$ 半乳糖 $\gg$ 甘露糖 $\approx$ 葡萄糖, 在pH 6.5的环境中PBA对SA仍有较高的结合能力。抗癌药物二氯(1,2-二氨基环己烷)铂(DACHPt)被负载进PBA-PEG-*b*-PLGA胶束中(图6), PBA对SA的靶向作用促进了胶束的细胞摄取, 在抗B16F10小鼠黑色素瘤细胞的活体外实验中, PBA修饰的负载DACHPt胶束在肿瘤部位的滞留时间明显增加, 提高了抗癌药物的作用效果。

Wang等人^[32]制备了一系列牛血清白蛋白(BSA)-PAPBA复合而成的纳米粒(图7), 并在纳米粒表面修饰了聚乙烯亚胺-聚乙二醇(PEI-PEG)和促进细胞黏

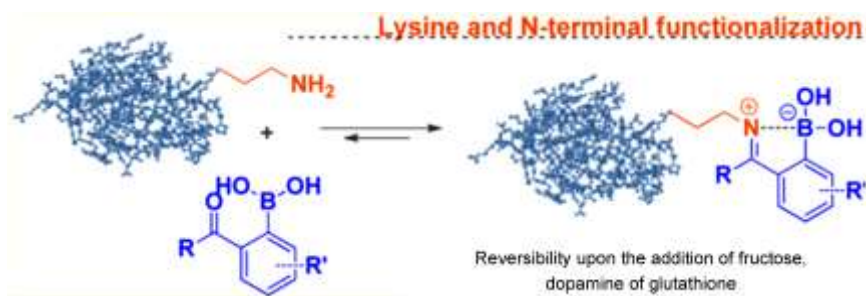


图5 (网络版彩色)通过和2-甲酰基苯硼酸形成亚胺修饰赖氨酸的 ϵ -氨基
Figure 5 (Color online) Lysine ϵ -amino group modification based on the formation of stable imines with 2-formylbenzeneboronic acid

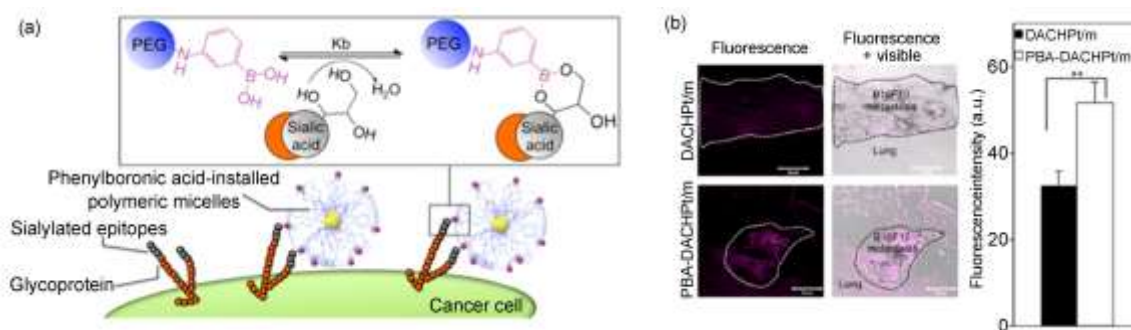


图 6 (网络版彩色)(a) PBA修饰的负载DACHPt的胶束; (b) 活体外肺部组织的B16F10-Luc细胞在注射了荧光标记的DACHPt/micelles或PBA-DACHPt/micelles 24 h后的荧光强度图像及定量分析

Figure 6 (Color online) (a) PBA-installed DACHPt-loaded micelles. (b) *Ex vivo* fluorescent microscopies of lung tissues bearing B16F10-Luc metastasis 24 h after the injection of fluorescent-labeled DACHPt/micelles or PBA-DACHPt/micelles and quantification of fluorescent intensity in metastatic regions

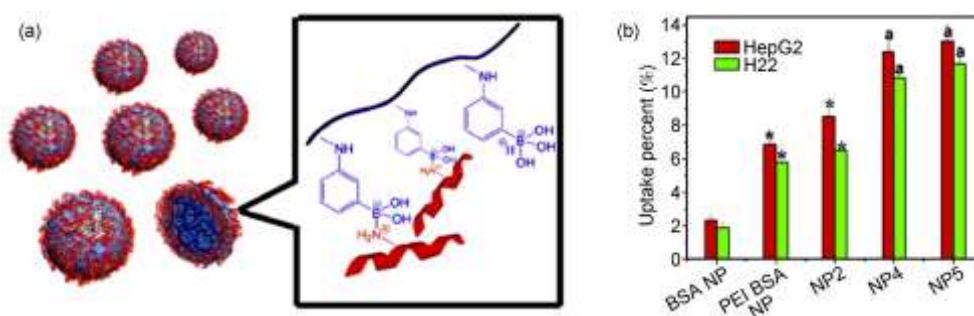


图 7 (网络版彩色)(a) BSA-PAPBA纳米粒; (b) HepG2 和H22 细胞对纳米粒的摄取率

Figure 7 (Color online) (a) Schematic illustration of the formation of BSA-PAPBA nanoparticles. (b) Cellular uptake percent in HepG2 and H22 cells following 4 h incubation with nanoparticles

附的多肽cRGD, 研究表明PBA能显著促进纳米粒所负载的抗癌药物阿霉素(DOX)在肿瘤部位的富集, 并延长滞留时间. BSA-PAPBA纳米粒被癌细胞的摄取量是没有修饰PBA的BSA纳米粒的4倍, 所以这种纳米粒能有效抑制肿瘤部位的生长, 甚至还能使肿瘤有所缩小, 为抗癌药物在肿瘤部位的富集提供了新的方法.

除了传统抗癌药物的负载, 许多研究者还将PBA的靶向作用引入基因递送领域, 用于癌症的治疗研究. Peng等人^[33]将PBA修饰到PEI 1800 Da上, 修饰后的PEI-PB基因载体能高效压缩质粒DNA(pDNA), 并携带其对癌细胞HepG2进行转染. 由于癌细胞HepG2表面SA分子存在过表达, PEI-PB/pDNA复合物通过PBA与SA的结合作用靶向聚集到HepG2细胞上, 促进了HepG2细胞对PEI-PB/pDNA的细胞摄取, 转染效率显著提高. PBA在癌症的基因治疗方面也有着很大的应用前景.

2.2 抗癌过程中药物的刺激响应释放

PBA与糖类分子可逆结合的特性, 赋予了PBA分子在抗癌药物投递过程中表现出来的一些独特的刺激响应性^[9,34,35]. 首先, PBA与糖类分子的结合具有pH依赖性, 这种结合力在生理pH和碱性环境下较为稳定, 但是在溶酶体这样的酸性环境下结合力变弱容易发生解离, 因此, PBA的pH响应性可以用来调节PBA与糖分子的结合作用力^[8]; 其次, 一种糖分子与PBA分子通过二醇结构结合后, 容易被另一种与PBA结合能力更强的糖分子替换下来, 倾向于形成较之前更为稳定的苯硼酸酯结构^[36], 细胞内大量存在的ATP的分子具有顺式二醇的结构, 可以和PBA-糖分子结构中的糖竞争与PBA的结合位点, 形成更稳定的PBA-ATP结构^[37], 从而使PBA材料表现出ATP响应性; 再次, 癌症是一种与氧化应激有关的疾病^[38], 癌细胞中的H₂O₂浓度要明显高于正常细胞^[39], 苯硼酸酯可以与H₂O₂反应生成相应的频哪醇硼酸酯

和苯酚, 基于苯硼酸酯的 H_2O_2 响应性, 研究者对抗癌载体也进行了许多探索性的研究.

2.2.1 pH响应

Yang等人^[40]利用苯硼酸酯的pH响应性制备了一种pH敏感的抗癌药物DOX纳米载体, 通过PBA与二乙醇的相互作用, 将胆固醇-PBA(Chol-PBA)连接到聚乙二醇-聚赖氨酸-g-邻苯二酚(mPEG-PLL-g-DHPA)上, 如图S2所示. 这种两亲性梳型聚合物在水溶液中能自组装形成纳米胶束, 通过疏水作用将DOX包裹在胶束的核内, 这种DOX纳米载体在pH 7.4的条件下能稳定存在, 但随着溶酶体环境中pH的降低, PBA-DHPA表现出pH响应性, 苯硼酸酯结构发生解体, 核内的DOX随之释放. 体外释放实验表明, 当pH从7.4降低到5.0后, DOX的释放速度明显加快. 同时, 细胞实验还表明, 将胆固醇修饰到胶束上增加了载体的生物相容性, 能促进载体的细胞摄取, 有利于药物的投递和抗癌的治疗.

近几年基于siRNA的基因沉默技术为癌症治疗开创了一个崭新的研究领域. Jia等人^[41]用两种超支化聚合物构建了一种新型pH响应性药物投递载体, 能同时投递siRNA分子和抗癌药物, 用PBA修饰的低聚乙烯亚胺(OEI 600)和超支化聚甘油(HBPO)在pH 7.4的条件下, 通过PBA与HBPO羟基的结合作用自组装形成核-壳型纳米粒, 同时负载了Beclin1 siRNA和DOX进行抗癌治疗, 如图8所示. PBA-HBPO的连接作用使得OEI 600在纳米粒的壳层大量富集, 既有利于对siRNA压缩负载, 又促进了纳米粒的细胞摄

取. 由于PBA-HBPO的pH响应性, 这种纳米载体在癌细胞溶酶体的酸性环境中会发生解体, 释放出siRNA和DOX协同进行抗癌治疗, 同时解离出OEI 600, 降低了载体的细胞毒性. 体内实验表明, 这种纳米载体携带基因和药物协同治疗肿瘤的效果要显著好于未经载体负载的DOX的治疗效果, 有明显抑制肿瘤增大的作用.

Jiang课题组^[42,43]利用DOX分子上的氨基与PBA上的硼酸基之间的相互作用制备了pH响应释放DOX的纳米载体. 例如用壳聚糖-PAPBA复合纳米粒负载DOX^[42], 同时在纳米粒上修饰了促进细胞黏附的多肽iRGD, 促进了纳米载体的细胞摄取; DOX上的氨基和PBA之间的作用使得纳米粒负载DOX的包封率和载药率都有提高, 当载体进入肿瘤部位(pH 6.8~7.2)、内涵体(pH 5.5~6.0)和溶酶体(pH 4.0~5.0)后, 随着体系pH的降低, DOX上的氨基质子化, 与PBA的作用力变弱, DOX的释放速率明显增大, 因此这种纳米载体的DOX释放过程具有显著的pH响应性.

2.2.2 ATP响应

siRNA的核苷酸环上具有顺式二醇结构, 可以与PBA进行可逆结合^[37], Naito等人^[10]制备了带有PBA侧链的嵌段共聚物聚乙二醇-*b*-聚(*L*-赖氨酸/4-羧基苯硼酸)(PEG-*b*-P(Lys/FPBA))作为基因载体负载siRNA(图S3), 当siRNA通过和PLys的静电作用被压缩包裹进聚阳离子胶束后, 又进一步与PBA相互作用, 使载体与siRNA的结合更为稳定. siRNA与PBA的结合是一种可逆的动态平衡, 研究了其他能结合

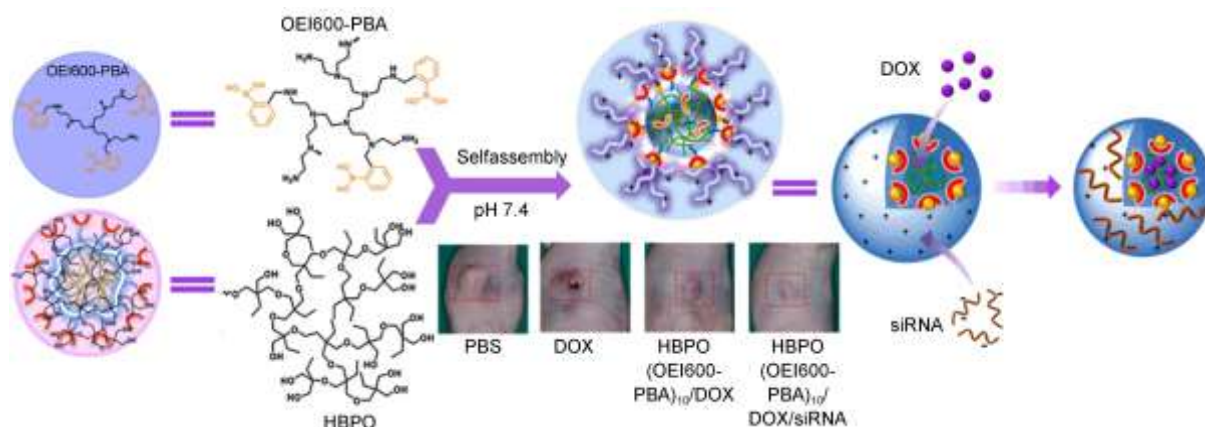


图8 (网络版彩色)HBPO(OEI600-PBA)纳米粒的形成过程及肿瘤组织分别用PBS, DOX和HBPO(OEI600-PBA)₁₀/DOX, HBPO(OEI600-PBA)₁₀/DOX/siRNA纳米粒处理17 d后的图像

Figure 8 (Color online) Structural illustration of HBPO (OEI600- PBA) nanoassembly and photos of the morphology of tumors after the treatment respectively with PBS, free DOX, HBPO(OEI600-PBA)₁₀/DOX and HBPO(OEI600-PBA)₁₀/DOX/siRNA at 17th d

PBA的二醇类分子与siRNA的竞争,发现ATP分子能与PBA更为稳定的结合,从而将siRNA替代下来.由于细胞内大量存在着ATP分子,载体携siRNA进入细胞后通过ATP响应就能将siRNA有效释放,提高基因沉默的效率.

Kim等人^[44]开创性地将PBA的SA靶向性、pH和ATP响应性同时应用到了抗癌基因投递的体系中.如图9所示,首先,通过PBA与半乳糖(Gal)的相互作用将PEI-PBA和PEI-Gal连接起来,形成较高分子量的聚阳离子基因载体,提高载体负载DNA的能力和转染效率,并负载重组可溶性血管内皮细胞生长因子受体基因质粒(pDNA)进行投递,以抑制肿瘤血管的生成;其次,将PEG-PBA修饰到载体的表面,通过PBA对癌细胞表面SA分子的靶向作用使DNA载体在肿瘤部位富集并延长滞留时间;最后,当PBA-PEG-CrossPEI/pDNA复合物进入癌细胞后经历内涵体逃逸并进入细胞内部,先后进行pH响应和ATP响应,PEI-PBA和PEI-Gal的交联结构解体,pDNA被释放,同时被解离成低分子量的PEI使载体的细胞毒性降低.研究结果也表明这是一种高转染效率和低细胞毒性的基因载体,具有明显的抑制肿瘤生长的作用.

2.2.3 H₂O₂响应

H₂O₂是一种重要的活性氧分子,可以在细胞生理代谢的诸多环节中产生,正常细胞癌变过程中会产生大量的H₂O₂^[45],可达50~100 μmol/L,甚至高达

1 mmol/L^[46]. Broaders等人^[11]将苯硼酸酯接枝到聚葡萄糖(Dex)的侧链上,利用这一聚合物形成的纳米粒负载了鸡卵清蛋白(OVA),如图10所示.由于苯硼酸酯在生理条件下可以和H₂O₂反应生成相应的频哪醇硼酸酯和苯酚,因此该纳米粒能在一定的H₂O₂存在的条件下发生降解,研究表明在H₂O₂浓度为1 mmol/L时,该纳米粒释放OVA的半衰期为36 min,而当H₂O₂浓度为0时,该纳米粒释放OVA的半衰期要1周以上.这种具有H₂O₂响应释放的纳米载体以其全新的刺激响应机理,有望成为抗癌药物投递中pH响应和ATP响应释放的有效补充,提高药物选择性释放的效率,强化抗癌治疗效果.

Caroline课题组^[46]随后进一步提高了纳米载体的H₂O₂敏感性,用侧链上修饰有苯硼酸酯的聚合物制备纳米粒,负载疏水药物模型分子进行H₂O₂响应释放的研究,如图S4所示.这种纳米粒可以对50 μmol/L的H₂O₂做出响应(pH 7.4),且响应的过程伴随着聚合物主链的降解,从而释放出负载药物,具有较好的生物相容性,可做为抗癌药物氧化应激响应释放的载体.

Wang等人^[47]将核糖核酸酶A(RNase A)的活性赖氨酸一端连接到苯硼酸酯上(RNase A-NBC),使RNase A暂时失活,然后将RNase A-NBC和阳离子脂质体相互作用形成纳米粒投递到癌细胞中进行研究,如图S5所示.由于癌细胞中的H₂O₂浓度要高于正常

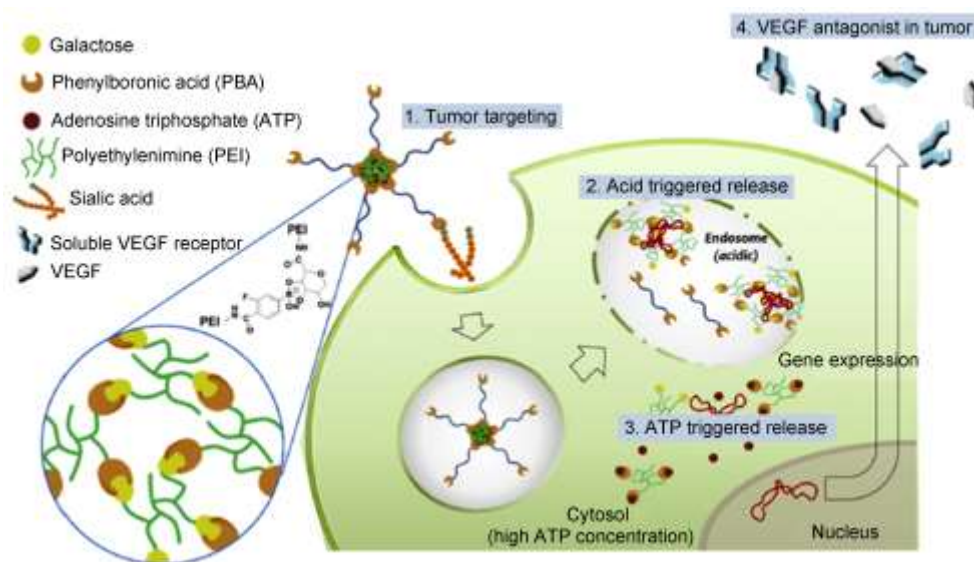


图9 (网络版彩色)PBA-PEG-CrossPEI基因载体投递抗血管生成基因质粒的过程示意图

Figure 9 (Color online) Schematic illustration of anti-angiogenic gene delivery mediated by PBA-PEG-CrossPEI vector

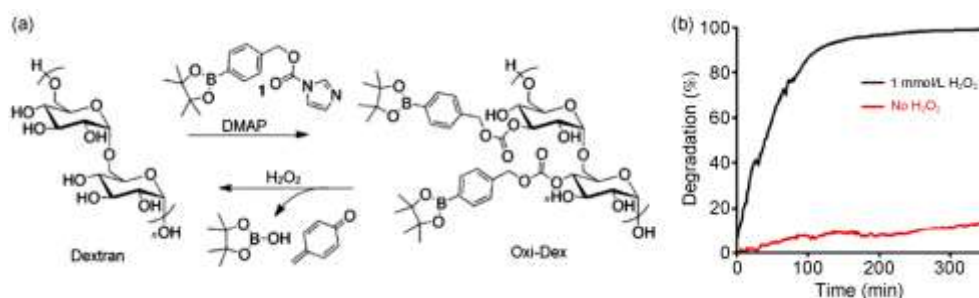


图10 (网络版彩色)(a) 氧化敏感的聚葡萄糖的合成和降解过程; (b) Oxi-DEX纳米粒对 H_2O_2 的响应性降解

Figure 10 (Color online) (a) Synthesis and degradation of oxidation-sensitive dextran. (b) Degradation of Oxi-DEX microparticles with and without 1 mmol/L H_2O_2

细胞, 纳米粒进入细胞后发生 H_2O_2 响应, 将RNase A-NBC解离, 同时使RNase A恢复活性, 将细胞中的RNA水解产生细胞毒性. 研究表明, 这种纳米粒子对正常细胞几乎没有损害, 却能大大抑制癌细胞的增殖. 该研究利用了苯硼酸酯的 H_2O_2 响应性, 使RNase A从失活到活化, 达到选择性的杀死癌细胞, 抑制肿瘤生长的目的.

3 结论与展望

基于PBA的材料在糖尿病和癌症治疗中的药物投递领域具有重要的研究价值和广泛的应用前景, 以上综述了近些年来PBA材料作为葡萄糖响应性胰岛素载体和癌细胞靶向分子及pH响应、ATP响应和 H_2O_2 响应载体的研究进展.

基于PBA的胰岛素投递体系的生理适应性和血糖灵敏度等都大幅提高, 但这些体系仍面临着胰岛素包覆率低, “开-关”释放的可逆持久性差等诸多问题. 若要实现PBA胰岛素载体在临床上的应用, 仍有很多问题亟待解决. 如何在生理条件下实现胰岛素的快速响应释放是首要难题, 目前的大量研究都集中在体外释放实验, 如何模拟体内复杂的生理环境并进行有效的动物实验, 如何控制每次释放的胰岛素剂量以更好的维持人体正常的血糖水平, 进一步提高材料的血糖响应速度, 防止低血糖的发生, 将是人们关注的重点, 有效开展PBA胰岛素载体在体内释放的实验将有助于探究载体的生理作用机制; 此

外, 增强载体的生物相容性和生物降解性也是胰岛素投递载体能进入临床应用需要解决的关键问题, 可降解聚合物的应用是未来制备胰岛素投递载体的趋势.

基于PBA载体的抗癌药物投递是近些年来抗癌领域逐渐兴起的研究方向, 药物载体在肿瘤部位的富集及基于癌细胞的特定pH响应、ATP响应和 H_2O_2 响应释放也能很好地解决药物载体的选择性释放, 降低治疗过程中对机体正常细胞的损伤, 具有广泛的应用前景, 但仍存在着很多问题. 深入研究PBA与SA的相互作用机制, 避免PBA靶向识别SA过程中体液内其他糖分子的干扰, 以加强载体的靶向性, 是人们需要深入研究的一个方向; 药物载体在肿瘤部位的响应性研究方面, 载体的pH响应、ATP响应和 H_2O_2 响应的灵敏度和准确度均有待提高, 需要进行长期深入的探索; 优化PBA材料的生物相容性和生物降解性, 开发可生物降解聚合物材料用于药物投递载体, 以确保长期使用的低毒性也是人们需要长期关注的重要问题. 另外, 基因治疗在抗癌研究领域也引起了人们持续的关注, 如何将PBA材料的刺激响应性与基因载体有效的整合, 以达到基因载体对细胞高效低毒的转染, 也逐渐成为人们关注的重点.

虽然PBA材料在治疗糖尿病的胰岛素投递和抗癌治疗中仍存在着诸多问题, 但其做为药物载体的优越性已经受到越来越多研究者的关注, 相信人们对含PBA聚合物药物载体步步深入的研究必将对未来糖尿病和癌症治疗方式产生重大的影响.

参考文献

- 1 Lorand J P, Edwards J O. Polyol complexes and structure of the benzenboronate ion. *J Org Chem*, 1959, 24: 769–774
- 2 Kataoka K, Miyazaki H, Bunya M, et al. Totally synthetic polymer gels responding to external glucose concentration: Their preparation and application to on-off regulation of insulin release. *J Am Chem Soc*, 1998, 120: 12694–12695

- 3 Kitano S, Kataoka K, Koyama Y, et al. Glucose-responsive complex formation between poly(vinyl alcohol) and poly(*N*-vinyl-2-pyrrolidone) with pendent phenylboronic acid moieties. *Makromol Chem Rapid Commun*, 1991, 12: 227–233
- 4 Matsumoto A, Sato N, Kataoka K, et al. Noninvasive sialic acid detection at cell membrane by using phenylboronic acid modified self-assembled monolayer gold electrode. *J Am Chem Soc*, 2009, 131: 12022–12023
- 5 Liu S, Jones L, Gu F X. Development of mucoadhesive drug delivery system using phenylboronic acid functionalized poly(D,L-lactide)-*b*-dextran nanoparticles. *Macromol Biosci*, 2012, 12: 1622–1626
- 6 Uchimura E, Otsuka H, Okano T, et al. Totally synthetic polymer with lectin-like function: Induction of killer cells by the copolymer of 3-acrylamidophenylboronic acid with *N,N*-dimethylacrylamide. *Biotechnol Bioeng*, 2001, 72: 307–314
- 7 Wang J, Wu W, Jiang X. Nanoscaled boron-containing delivery systems and therapeutic agents for cancer treatment. *Nanomedicine*, 2015, 10: 1149–1163
- 8 Yan J, Springsteen G, Deeter S, et al. The relationship among pK_a , pH, and binding constants in the interactions between boronic acids and diols—It is not as simple as it appears. *Tetrahedron*, 2004, 60: 11205–11209
- 9 Liu H, Li Y, Sun K, et al. Dual-responsive surfaces modified with phenylboronic acid-containing polymer brush to reversibly capture and release cancer cells. *J Am Chem Soc*, 2013, 135: 7603–7609
- 10 Naito M, Ishii T, Matsumoto A, et al. A phenylboronate-functionalized polyion complex micelle for ATP-triggered release of siRNA. *Angew Chem Int Ed*, 2012, 51: 10751–10755
- 11 Broaders K E, Grandhe S, Frechet J M J. A biocompatible oxidation-triggered carrier polymer with potential in therapeutics. *J Am Chem Soc*, 2011, 133: 756–758
- 12 Zhang Y, Guan Y, Zhou S. Synthesis and volume phase transitions of glucose-sensitive microgels. *Biomacromolecules*, 2006, 7: 3196–3201
- 13 Ma R, Shi L. Phenylboronic acid-based glucose-responsive polymeric nanoparticles: Synthesis and applications in drug delivery. *Polym Chem*, 2014, 5: 1503–1518
- 14 Matsumoto A, Ishii T, Nishida J, et al. A synthetic approach toward a self-regulated insulin delivery system. *Angew Chem Int Ed*, 2012, 51: 2124–2128
- 15 Matsumoto A, Ikeda S, Harada A, et al. Glucose-responsive polymer bearing a novel phenylborate derivative as a glucose-sensing moiety operating at physiological pH conditions. *Biomacromolecules*, 2003, 4: 1410–1416
- 16 Kim K T, Cornelissen J J L M, Nolte R J M, et al. Polymeric monosaccharide receptors responsive at neutral pH. *J Am Chem Soc*, 2009, 131: 13908–13909
- 17 Wang B, Ma R, Liu G, et al. Glucose-responsive micelles from self-assembly of poly(ethylene glycol)-*b*-poly(acrylic acid-*co*-acrylamidophenylboronic acid) and the controlled release of insulin. *Langmuir*, 2009, 25: 12522–12528
- 18 Wang B, Ma R, Liu G, et al. Effect of coordination on the glucose-responsiveness of PEG-*b*-(PAA-*co*-PAAPBA) micelles. *Macromol Rapid Commun*, 2010, 31: 1628–1634
- 19 Ma R, Wang B, Sun P, et al. B-11 3Q MAS NMR study on glucose-responsive micelles self-assembled from PEG-*b*-P(AA-*co*-AAPBA). *Chin J Chem*, 2014, 32: 97–102
- 20 Yang H, Sun X, Liu G, et al. Glucose-responsive complex micelles for self-regulated release of insulin under physiological conditions. *Soft Matter*, 2013, 9: 8589–8599
- 21 Springsteen G, Wang B H. A detailed examination of boronic acid-diol complexation. *Tetrahedron*, 2002, 58: 5291–5300
- 22 Dowlut M, Hall D G. An improved class of sugar-binding boronic acids, soluble and capable of complexing glycosides in neutral water. *J Am Chem Soc*, 2006, 128: 4226–4227
- 23 Wu W, Mitra N, Yan E C Y, et al. Multifunctional hybrid nanogel for integration of optical glucose sensing and self-regulated insulin release at physiological pH. *ACS Nano*, 2010, 4: 4831–4839
- 24 Lapeyre V, Gosse I, Chevreux S, et al. Monodispersed glucose-responsive microgels operating at physiological salinity. *Biomacromolecules*, 2006, 7: 3356–3363
- 25 Zhao L, Xiao C, Ding J, et al. Competitive binding-accelerated insulin release from a polypeptide nanogel for potential therapy of diabetes. *Polym Chem*, 2015, 6: 3807–3815
- 26 Matsumoto A, Yoshida R, Kataoka K. Glucose-responsive polymer gel bearing phenylborate derivative as a glucose-sensing moiety operating at the physiological pH. *Biomacromolecules*, 2004, 5: 1038–1045
- 27 Yang H, Ma R, Yue J, et al. A facile strategy to fabricate glucose-responsive vesicles via a template of thermo-sensitive micelles. *Polym Chem*, 2015, 6: 3837–3846
- 28 Cal P M S D, Vicente J B, Pires E, et al. Iminoboronates: A new strategy for reversible protein modification. *J Am Chem Soc*, 2012, 134: 10299–10305

- 29 Cal P M S D, Frade R F M, Cordeiro C, et al. Reversible lysine modification on proteins by using functionalized boronic acids. *Chem Eur J*, 2015, 21: 8182–8187
- 30 Mammen M, Choi S K, Whitesides G M. Polyvalent interactions in biological systems: Implications for design and use of multivalent ligands and inhibitors. *Angew Chem Int Ed*, 1998, 37: 2755–2794
- 31 Deshayes S, Cabral H, Ishii T, et al. Phenylboronic acid-Installed polymeric micelles for targeting sialylated epitopes in solid tumors. *J Am Chem Soc*, 2013, 135: 15501–15507
- 32 Wang J, Wu W, Zhang Y, et al. The combined effects of size and surface chemistry on the accumulation of boronic acid-rich protein nanoparticles in tumors. *Biomaterials*, 2014, 35: 866–878
- 33 Peng Q, Chen F, Zhong Z, et al. Enhanced gene transfection capability of polyethylenimine by incorporating boronic acid groups. *Chem Commun*, 2010, 46: 5888–5890
- 34 Hasegawa U, Nishida T, van der Vlies A J. Dual stimuli-responsive phenylboronic acid-containing framboidal nanoparticles by one-step aqueous dispersion polymerization. *Macromolecules*, 2015, 48: 4388–4393
- 35 Cambre J N, Sumerlin B S. Biomedical applications of boronic acid polymers. *Polymer*, 2011, 52: 4631–4643
- 36 Nishiyabu R, Kubo Y, James T D, et al. Boronic acid building blocks: Tools for sensing and separation. *Chem Commun*, 2011, 47: 1106–1123
- 37 Uguzdogan E, Denkbaz E B, Tuncel A. RNA-sensitive *N*-isopropylacrylamide/vinylphenylboronic acid random copolymer. *Macromol Biosci*, 2002, 2: 214–222
- 38 Halliwell B. Oxidative stress and cancer: Have we moved forward? *Biochem J*, 2007, 401: 1–11
- 39 Hagen H, Marzenell P, Jentzsch E, et al. Aminoferrocene-based prodrugs activated by reactive oxygen species. *J Med Chem*, 2012, 55: 924–934
- 40 Yang B, Lv Y, Zhu J, et al. A pH-responsive drug nanovehicle constructed by reversible attachment of cholesterol to PEGylated poly(*L*-lysine) via catechol-boronic acid ester formation. *Acta Biomater*, 2014, 10: 3686–3695
- 41 Jia H, Zhang W, Zhu J, et al. Hyperbranched-hyperbranched polymeric nanoassembly to mediate controllable co-delivery of siRNA and drug for synergistic tumor therapy. *J Controlled Release*, 2015, 216: 9–17
- 42 Wang X, Zhen X, Wang J, et al. Doxorubicin delivery to 3D multicellular spheroids and tumors based on boronic acid-rich chitosan nanoparticles. *Biomaterials*, 2013, 34: 4667–4679
- 43 Wang J, Zhang Z, Wang X, et al. Size- and pathotropism-driven targeting and washout-resistant effects of boronic acid-rich protein nanoparticles for liver cancer regression. *J Controlled Release*, 2013, 168: 1–9
- 44 Kim J, Lee Y M, Kim H, et al. Phenylboronic acid-sugar grafted polymer architecture as a dual stimuli-responsive gene carrier for targeted anti-angiogenic tumor therapy. *Biomaterials*, 2016, 75: 102–111
- 45 Valko M, Izakovic M, Mazur M, et al. Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. *Mol Cell Biochem*, 2004, 266: 37–56
- 46 Lux C D G, Joshi-Barr S, Trung N, et al. Biocompatible polymeric nanoparticles degrade and release cargo in response to biologically relevant levels of hydrogen peroxide. *J Am Chem Soc*, 2012, 134: 15758–15764
- 47 Wang M, Sun S, Neufeld C I, et al. Reactive oxygen species-responsive protein modification and its intracellular delivery for targeted cancer therapy. *Angew Chem Int Ed*, 2014, 53: 13444–13448

补充材料

图 S1 将胰岛素修饰到 2-乙酰基苯硼酸上的合成路线

图 S2 mPEG-PLL-g-DHPA/Chol-PBA 负载 DOX 胶束的自组装及在不同 pH(7.4 和 5.0)条件下 DOX 的体外释放实验

图 S3 PBA 与 siRNA 在水溶液中结合的动态平衡及 PEG-*b*-P(Lys/FPBA)/siRNA 复合物的扩散系数随 ATP 浓度的变化

图 S4 聚合物纳米粒的过氧化氢响应降解以及尼罗红从纳米粒中的过氧化氢响应释放的荧光曲线

图 S5 RNase A 赖氨酸端基修饰上 NBC 的活性氧响应示意图及其 H₂O₂ 的响应性

本文以上补充材料见网络版 csb.scichina.com. 补充材料为作者提供的原始数据, 作者对其学术质量和内容负责.

Advances of phenylboronic acid-containing materials in drug delivery

LÜ Juan¹, MA RuJiang¹ & SHI LinQi^{1,2}

¹ State Key Laboratory of Medicinal Chemical Biology, Key Laboratory of Functional Polymer Materials of Ministry of Education, Institute of Polymer Chemistry, Nankai University, Tianjin 300071, China;

² Collaborative Innovation Center of Chemical Science and Engineering (Tianjin), Nankai University, Tianjin 300071, China

Phenylboronic acid (PBA) and its derivatives are a kind of synthetic chemicals which can recognize diols via reacting reversibly with them in aqueous solutions. Recently, based on the reversible covalent PBA/diol complexes, strategies to construct drug delivery system for diabetes treatments and cancer therapy have made enormous progress. Diabetes mellitus have greatly increased all over the world in recent decades. With the regular use of insulin in diabetes treatment, there is a high demand of insulin self-regulated release system responding to glucose concentration *in vivo*. Since the apparent pK_a value of PBA and its derivatives is around 8.2–8.6, which is higher than human physiological pH 7.4, efficient glucose-responsiveness of PBA-based polymer materials could not be obtained at physiological pH and glucose level. Recently, studies to construct this insulin release system based on PBA polymer materials have made enormous progress, such as reducing the pK_a of the PBA group, achieving “on-off” release of insulin according to the change of glucose concentration and so on. Similar to diabetes treatments, significant efforts have recently been made to develop drug delivery system based on PBA polymer materials in cancer therapy. Traditional chemotherapy has disadvantages such as poor permeability, short resident time, and toxic side effects. Therefore, the ideal drug delivery carrier should possess tumor targeting ability to prolong the retention time and enhance the aggregation of carriers in tumors. In addition, carriers should release drugs and degrade in response to intracellular triggers when inside the cancer cells, in order to increase delivery efficiency and reduce toxicity. The recognition ability of boronic acid to polyol residues in cell membranes enables PBA-functionalized nanocarriers to specific target to sialic acid groups, which are overexpressed on tumor cells. The high affinity and specificity of PBA to SA could significantly improve drug accumulation and retention in tumor, and increase the cellular uptake of carriers. Moreover, the reversible covalent PBA/diol complexes provide three modes of stimuli-responsive features of PBA polymer materials. Firstly, the reversible covalent of PBA with diols depends on the pH, and the PBA-diols bond will be weak at acidic pH such as within endosomes and lysosome. So this pH-responsiveness of PBA-modified carriers could be used to release drugs and genes accurately inside tumor tissues as well as cancer cells. Secondly, one diols complex with PBA could easily be replaced by another diols having better thermodynamic stability complex with PBA. Adenosine triphosphate (ATP) with a *cis*-diol moiety is abundant inside cells, and the PBA-sugar complex could be exchanged by more stable PBA-ATP formation. Finally, many types of tumor tissues and cancer cells have increased levels of reactive oxygen species (ROS), and PBA ester can react with these ROS such as H_2O_2 , thus PBA ester can be used as the oxidation-responsive trigger during the drug delivery process. Herein, the responsiveness to stimuli of PBA polymer materials has been well studied, including glucose, pH, adenosine triphosphate (ATP), and H_2O_2 sensitive. This paper reviews recent research on drug delivery system for diabetes treatments and cancer therapy based on PBA polymer materials, and the possible development in the future is predicated.

phenylboronic acid, drug delivery, stimuli-responsive, diabetes, cancer

doi: 10.1360/N972016-00129