

· 药 学 进 展 ·

肝素-泊洛沙姆 407 新材料应用进展*

任少琳,符馨尹,喬文静

(海南医学院第一附属医院药学部,海口 570203)

摘 要 查阅关于肝素-泊洛沙姆 407 材料的国内外文献,介绍肝素-泊洛沙姆 407 新材料的合成及临床应用进展。从血管缝合、药物载体应用、血管修复、脊髓细胞及宫腔修复等方面介绍了肝素-泊洛沙姆 407 新材料的作用和特点。肝素-泊洛沙姆 407 是目前新兴的具有高亲和性、抗凝生物活性、缓释、定点释放等多种功能为一体的多聚物材料,既有抗凝作用可辅助血管缝合术治疗,又能在多种疾病治疗中起到良好辅助效果。

关键词 肝素-泊洛沙姆 407;血管缝合术;靶向治疗

中图分类号 R944;R96

文献标识码 A

文章编号 1004-0781(2019)01-0075-04

DOI 10.3870/j.issn.1004-0781.2019.01.017

开放科学(资源服务)标识码(OSID)



Application Progress of Heparin-poloxamer 407 New Compound

REN Shaolin, FU Xinyin, YI Wenjing(*Department of Pharmacy, the Hospital Affiliated with Hainan Medical College, Haikou 570203, China*)

ABSTRACT To discuss the topic of heparin-poloxamer 407 compound in medical progress by consulting relative literature. After that, heparin-poloxamer 407 compound used in vascular anastomosis, combined with growth factor for target therapy, vascular, etal spinal cord cell and uterine cavity repaired and has become a new methods according to the characteristics of it's form. Heparin-poloxamer 407 compound is not only a new form with the characteristics of high-affinity, anticoagulant biological activity, slow and controlled-release, but also can assist surgical operation of vessel anastomosis, and become a good assistant of some kinds of disease.

KEY WORDS Heparin-Poloxamer 407; Vascular anastomosis; Target therapy

泊洛沙姆,商品名 Pluronic F127,是一种温敏型即位凝胶的赋形剂,其系列产品在多种领域有着广泛的应用,随着对泊洛沙姆的研究不断深入,以泊洛沙姆作为赋形剂的温敏型材料也得到了多方面发展^[1]。肝素-泊洛沙姆 407 是目前新兴的具有高亲和性、缓释、定点释放等多种功能为一体的多聚物材料。该材料不仅具有肝素的抗凝溶栓特性,还结合了温敏特质,提高血管缝合术的成功率^[2]。随着研究进展,肝素-泊洛沙姆作为一种高分子共聚物材料在靶向及定点释放等方面也有所涉及。笔者就肝素-泊洛沙姆 407 的研究应用进行综述。

1 肝素-泊洛沙姆 407 材料的结构及合成

泊洛沙姆 407 (poloxamer 407, Pluronic F127) 是由不同比例的聚氧乙烯和聚氧丙烯组成的非离子型表面活性剂,平均相对分子质量约为 12 600。泊洛沙姆

具有特殊的反向热胶凝作用,即低温时(4~5℃)为液体,体温(37℃)下转变为凝胶^[3]。肝素及低分子肝素是一种敏感的氨基葡聚糖,常与蛋白或其他肽类物质结合,具有缓释及靶向作用。目前文献报道的肝素-泊洛沙姆 407 材料合成方法的核心为将低分子肝素或普通肝素粉制备成单端胺基肝素后,与泊洛沙姆 407 在 24 h 室温条件下经 EDC/NHS 催化合成具有新结构的物质,并经过滤膜透析 3 d,保留相对分子量在 14 000 内的化合物后冷冻干燥^[4]。化合物粉末经红外光谱和磁共振同时鉴定,可发现该化合物不仅具有肝素和泊洛沙姆 407 的特征峰,也有因 PPO 基团上-CH₃、-CH、-CH₂和 PEO 基团上-CH₂的特征性化学位移产生的新特征吸收峰。经验证,合成后的肝素-泊洛沙姆 407 材料不仅具备 60%低分子肝素的活性,还具有泊洛沙姆的温敏性,即低于体温(37℃)为液体,高于体温(40℃)转变为凝胶体。同时肝素与泊洛沙姆 407 的合成也促进了其与多种生物活性物质的亲和力,结合力相较泊洛沙姆 407 更强。这样的特性使肝素-泊洛沙姆 407 可广泛应用于医疗中,例如辅助血管缝合、作为多种疾病治疗药物的载体起到靶向及缓释作用。

2 肝素-泊洛沙姆 407 材料的应用进展

2.1 血管缝合术中的应用 血管缝合术是各种血管手

收稿日期 2017-10-16 修回日期 2017-12-05

基金项目 *国家自然科学基金资助项目(81460299);海南省医药卫生科研项目(琼卫 2013 资助-075 号);海南省国际合作项目(KJHZ2014-13)

作者简介 任少琳(1970-),女,甘肃兰州人,副主任药师,学士,主要研究方向:医院药学。ORCID:0000-0001-8489-6200。电话:0898-66528063, E-mail: rshaolin@163.com。

术的关键步骤。传统的手工缝合技术要求较高,且许多因素如血管再狭窄、血管内膜的增生、血栓的形成以及外来物质的干扰等也给手术的操作带来了挑战,也不适于小血管及微血管的吻合^[5]。斯坦福大学医学院的研究者提出应用泊洛沙姆 407 凝胶结合医用黏合剂使用,可以解决显微血管吻合术黏合法的瓶颈问题^[6]。泊洛沙姆有一种独特性质,在低温下是液体,受热后变成固体,过程是可逆的,将泊洛沙姆 407 加热到高于体温,使它变成固体,用于撑开血管。温度下降后泊洛沙姆 407 变成液体,不会阻塞血管,但还是存在必须合用白蛋白来控制胶凝温度、辅以抗凝剂防止栓塞形成等缺陷^[7]。然而肝素-泊洛沙姆 407 既改进泊洛沙姆 407 凝胶的不足,又能克服传统吻合方法存在的吻合口狭窄和栓塞等问题,是目前研究的热点。王艳等^[8]研究显示肝素-泊洛沙姆超声微泡可以增强肝素的溶栓作用,同时减少肝素有效溶栓的剂量,减少不良反应的发生,这提示肝素-泊洛沙姆可能有助于解决血管吻合术中出现的困难。同时 ÖZER 等^[9]研究也显示,在泊洛沙姆 407 中加入肝素,该凝胶的温敏现象可在体温时呈固态,在断口处撑开血管,加快了微血管缝合手术时间,1 周后,加入了肝素的泊洛沙姆 407 组血管壁更薄,血流通畅度更高。提示了该种复合物质对无缝合线血管缝合手术益处较大。ZHAO 等^[4]研制出了肝素-泊洛沙姆 407 原位凝胶,并将其应用于兔颈静脉血管吻合术中,该凝胶具有与泊洛沙姆 407 不同的温敏特性,在高于体温时呈现固态,注射在血管断口处可利于撑开血管,同时缝合后撤离热源,凝胶降至体温时呈现液态,不堵塞血管。影像学及病理检查结果显示肝素-泊洛沙姆 407 辅助缝合术较传统的手工缝合技术更高效,同时还可显著改善兔颈静脉血管缝合处内皮损伤,溶解断口处形成的血栓,促进血管功能的恢复。

2.2 药物载体的应用

2.2.1 抗癌药物的靶向作用 肝素-泊洛沙姆 407 凝胶具有靶向作用,与抗癌药物结合能起到靶向治疗癌症、减小不良反应的作用。CHOI 等^[10]自组装了肝素-泊洛沙姆 407 纳米凝胶,并与核糖核酸酶 A (ribonuclease A, RNase A) 结合用于抗癌治疗。结果显示 RNase A 与肝素-泊洛沙姆 407 凝胶结合力强,具有良好的载药率。同时肝素-泊洛沙姆 407 纳米凝胶细胞内吞及肝素的细胞核渗透能力显著,可浓集于宫颈癌细胞质及细胞核内。在细胞毒性方面,肝素-泊洛沙姆 407 因肝素与泊洛沙姆 407 发生化学耦联后作用减弱,自身几乎无细胞毒性,而随着纳米凝胶内 RNase A 浓度的增加,细胞活性逐渐减弱,显示出了细胞毒性。TONG 等^[11]将顺铂与

肝素-泊洛沙姆 407 纳米凝胶结合,结果显示该凝胶具有较高的载药率(42.5%),同时具有抑制人肺腺癌细胞 NCI-H460 的作用。另外,该顺铂-肝素-泊洛沙姆 407 纳米凝胶较之单纯的顺铂具有释放更缓慢及降低细胞毒性的作用。上述研究提示,肝素-泊洛沙姆 407 是一种安全性高、载药率高、结合能力强的靶向药物载体,可用于癌症靶向治疗。

2.2.2 血管修复作用 药剂学研究领域针对肝素-泊洛沙姆 407 与生长因子的释放过程及原理进行了探索。YOON 等^[12]及 CHOI 等^[13]将碱性成纤维细胞生长因子(b-fibroblast growth factor, bFGF)加入肝素-泊洛沙姆 407 复合物及肝素-泊洛沙姆/壳聚糖中,发现加入复合物中的生长因子较与加入单纯的泊洛沙姆中的生长因子释放速度更缓慢,且无爆释现象,其原理与肝素中有 bFGF 的特异结合位点,可形成相互作用有关。其释放生长因子的速度不仅受游离及结合的 bFGF 浓度影响,还与肝素同泊洛沙姆及壳聚糖的结合有关。带负电荷的肝素与带正点的聚合物间可形成较强的静电力,使 bFGF/肝素释放缓慢,而单纯的 bFGF 与聚合物则结合较弱,释放速度增加。同时 bFGF-肝素-泊洛沙姆 407 凝胶及 bFGF-肝素-泊洛沙姆 407-壳聚糖凝胶通过体内及体外药效学实验验证,其增殖细胞及毛细血管数量的能力均显著强于 bFGF-泊洛沙姆 407 组,且该凝胶皮下移植进背部后作用可持续 15 d,起到长效组织修复的作用。

YANG 等^[14]将 bFGF 及血管内皮生长因子(VEGF)165 质粒 DNA 与肝素-泊洛沙姆 407 结合制成超分子纳米凝胶,并将其注入人内皮祖细胞中,结果显示该凝胶能在体外促进人内皮祖细胞增殖分化成内皮细胞,同时给下肢缺血小鼠模型肌内注射凝胶后,同样促进了小鼠下肢血管的生成。WU 等^[15]使用 C57BL/6 小鼠进行全层皮肤切除处理后分别将与肝素-泊洛沙姆结合的酸性成纤维细胞生长因子(a-fibroblast growth factor, aFGF)和 bFGF 在伤口上涂抹给药。结果显示肝素-泊洛沙姆结合的 aFGF 和 bFGF 均可促进小鼠伤口愈合,并促进血管的生成使组织再上皮化。但是介于 aFGF 和 bFGF 表面所带电荷的不同,带正电荷的 bFGF 与肝素-泊洛沙姆凝胶结合更强,导致其较 aFGF 更难释放,治疗作用稍差。

2.2.3 脊髓修复靶向作用 肝素-泊洛沙姆 407 材料目前的研究热点还集中在脊髓损伤的修复中。在现有治疗脊髓损伤的方法中生长因子发挥着重要作用,可显著促进神经的恢复。然而,因为其口服生物利用度低,停留时间短,且通过血脊髓屏障量小等问题也限制

了其使用^[16]。

将肝素-泊洛沙姆 407 凝胶与神经生长因子(nerve growth factor, NGF)及胶质源性神经营养因子(glial cell-derived neurotrophic factor, GDNF)结合后,运用体外 PC12 细胞测定 NGF 的细胞摄取率和细胞毒性,结果显示在肝素-泊洛沙姆 407 中,NGF 及 GDNF 具有完整的形态并发挥稳定的生物活性,肝素-泊洛沙姆 407 增强了 NGF 及 GDNF 细胞摄取率,对细胞几乎无毒性^[17-18]。为进一步探索其神经元修复作用,将 NGF 及 GDNF-肝素-泊洛沙姆 407 凝胶在脊髓损伤大鼠中进行损伤部位的原位注射,结果显示,NGF 及 GDNF-肝素-泊洛沙姆 407 组较之单纯的 NGF 及 GDNF 组和肝素-泊洛沙姆 407 组更具有神经元功能及形态的修复作用,有效抑制了胶质瘢痕的形成和内质网诱导的细胞凋亡。同时 GDNF-肝素-泊洛沙姆 407 凝胶在体外神经细胞损伤模型中也具有较好的细胞摄取率及细胞突触修复作用,并具有剂量依赖性。以上实验结果提示肝素-泊洛沙姆 407 作为载体可显著发挥 NGF 及 GDNF 的治疗作用。

WANG 等^[19]将肝素-泊洛沙姆 407 凝胶与 aFGF 结合,并对脊髓损伤大鼠进行原位注射,实验结果表明相较于单纯的 NGF 组和肝素-泊洛沙姆 407 组,NGF-肝素-泊洛沙姆 407 凝胶可显著改善血脑脊髓屏障,减少神经细胞凋亡,促进髓鞘及轴突复原,减少因脊髓损伤造成的反应性胶质化现象,抑制炎症细胞扩散及内质网通路破坏,促进运动功能恢复。另外,相比单纯的泊洛沙姆凝胶,肝素的-SH 键可增加凝胶与生长因子的结合率,同时具有缓释作用。同时肝素-泊洛沙姆这种温敏性凝胶还可在体温时呈现液态,原位注射时能保护生长因子不被体内的酸、酶等物质破坏及热灭活,同时不影响血管的生理功能。

目前对于治疗脊髓损伤的研究热点开始集中在细胞因子与一种非细胞脊髓骨架结合后,再加入肝素-泊洛沙姆 407 凝胶中,形成生物复合凝胶,该种凝胶较原先单纯的生长因子-肝素-泊洛沙姆 407 凝胶释放更为缓慢,更能有效集中于受损脊髓部位,达到长效的治疗效果。XU 等^[20-21]将细胞因子纤维生长因子-2(fibroblast growth factor-2, FGF-2)及 bFGF 通过冷处理方式与脊髓非细胞基质或骨架结合后,再加入肝素-泊洛沙姆 407 形成 FGF-2-dscECM-HP 和 bFGF-ASC-HP 新型复合凝胶。该凝胶不仅具有肝素-泊洛沙姆 407 的温敏特征和原有生长因子-肝素-泊洛沙姆 407 凝胶的神经元修复及抗氧化还原的作用,同时该种复合基质还为肝素-泊洛沙姆 407 提供了微小的储存位点,使

得生长因子能在体内储存并且能够更持久、集中释放于脊髓损伤部位。肝素-泊洛沙姆 407 与多种生物基质结合形成的复合基质将是未来研究的热点。

2.2.4 宫腔靶向及缓释治疗作用 17 β -雌二醇作为雌激素可有效提高子宫内膜修复作用,恢复子宫腔功能,但该药生物利用度低,选择性低,不仅限制了药物的应用,也增加了血栓及恶性肿瘤发生的风险^[22]。ZHANG 等^[23]将肝素-泊洛沙姆 407 作为载体与 17 β -雌二醇结合,不仅克服了 17 β -雌二醇溶液低生物利用度及低选择性的缺点,同时释放更为缓慢,起到缓释作用。将 17 β -雌二醇-肝素-泊洛沙姆 407 注射进入右侧宫腔部位,结果显示该凝胶可显著改善宫腔黏连大鼠的宫腔腺体数量及纤维化面积,通过发挥 PI3K/Akt 和 ERK1/2 通路作用达到靶向治疗疾病的效果。

近年来,细胞因子对子宫损伤的修复作用也引起了广泛关注。XU 等^[24]研究显示,将角化细胞生长因子(keratinocyte growth factor, KGF)加入至肝素-泊洛沙姆 407 凝胶结合后进行子宫腔内注射,结果显示该凝胶相较于单纯细胞因子溶液更能缓慢集中释放于受损的子宫内膜部位,KGF-肝素-泊洛沙姆 407 凝胶可通过促进子宫内膜腺管上皮细胞及子宫腔上皮细胞的增殖及自噬作用,促进子宫血管生成和受损子宫修复。两者结合起到了增强药效的作用。另外,该学者研究证实,将带有负电荷的肝素-泊洛沙姆 407 与带有正电荷的 ϵ -聚赖氨酸(ϵ -polylysine)结合形成复合凝胶后与 KGF 结合,该复合凝胶较之单纯的肝素-泊洛沙姆 407 凝胶具有更好的生物膜附着力,同时因为削弱了肝素-泊洛沙姆 407 的负电荷对生长因子的结合力,改变生长因子释放速率,导致 KGF 释放速率加快,能在凝胶黏附时迅速释放药物起到修复子宫内膜的作用^[25]。

3 结束语

肝素-泊洛沙姆 407 是一种新型温敏型高分子材料,研究者在多种实验中探索该材料的用途,其中肝素-泊洛沙姆在血管外科吻合术中的应用成为研究的热点,其温敏特质和对断口处的恢复作用将使之成为外科辅助治疗的新手段。同时,作为药用载体,肝素-泊洛沙姆可与多种生长因子、核糖核酸及激素结合,在维持治疗剂量的同时,具有缓释及靶向作用。现有实验已报道了肝素-泊洛沙姆 407 材料具有较低的细胞毒性,未来可能对肝素-泊洛沙姆 407 材料的安全性及其与生长因子结合的制剂用于外科手术,及与其他材料结合形成复合制剂用于靶向治疗疾病作进一步研究。

参考文献

[1] 黄海亮,张海涛,赵东永.药用高分子材料泊洛沙姆的研

- 究进展[J].中国继续医学教育,2016,8(25):173-174.
- [2] 胡洁,陈大为,全东琴.泊洛沙姆 407 水溶液的流变学性质[J].药学学报,2011,46(2):227-231.
 - [3] 高丽新,孙萍.泊洛沙姆 407 的研究进展[J].亚太传统医药,2012,8(1):177-178.
 - [4] ZHAO Y Z, LV H F, LU C T, et al. Evaluation of a novel thermosensitive heparin-poloxamer hydrogel for improving vascular anastomosis quality and safety in a rabbit model [J]. PLoS One, 2013, 8(8): e73178.
 - [5] VOKRRI L, KRASNIQI X, QAVDARBASHA A, et al. The vascular connector, design of a new device for sutureless vascular anastomosis[J]. Ann Surg Innov Res, 2014, 8(1): 8.
 - [6] CHANG E I, GALVEZ M G, GLOTZBACH J P, et al. Vascular anastomosis using controlled phase transitions in poloxamer gels[J]. Nat Med, 2011, 17(9): 1147-1152.
 - [7] 高存帅,刘萌萌,毕可东,等.注射用泊洛沙姆 407 温敏型原位凝胶的研究进展[J].中国动物检疫,2012,29(5):72-75.
 - [8] 王艳,赵应征,唐琴琴.肝素-泊洛沙姆超声微泡体外溶栓实验[J].温州医科大学学报,2015,45(11):823-827.
 - [9] ÖZER F, NISANCI M, TAS Ç, et al. Sutureless microvascular anastomosis with the aid of heparin loaded poloxamer 407[J]. J Plast Reconstr Aesthet Surg, 2017, 70(2): 267-273.
 - [10] CHOI J H, JIANG J Y, JOUNG Y K, et al. Intracellular delivery and anti-cancer effect of self-assembled heparin-pluronic nanogels with RNase A [J]. J Control Release, 2010, 147(3): 420-427.
 - [11] TONG N A, NGUYEN T P, CUU KHDA N, et al. Aquated cisplatin and heparin-pluronic nanocomplexes exhibiting sustainable release of active platinum compound and NCI-H460 lung cancer cell antiproliferation [J]. J Biomater Sci Polym Ed, 2016, 27(8): 709-720.
 - [12] YOON J J, CHUNG H J, PARK T G. Photo-crosslinkable and biodegradable pluronic/heparin hydrogels for local and sustained delivery of angiogenic growth factor [J]. J Biomater Res A, 2007, 83(3): 597-605.
 - [13] CHOI J S, YOO H S. Chitosan/pluronic hydrogel containing bFGF/heparin for encapsulation of human dermal fibroblasts [J]. J Biomater Sci Polym Ed, 2013, 24(2): 210-223.
 - [14] YANG H N, CHOI J H, PARK J S, et al. Differentiation of endothelial progenitor cells into endothelial cells by heparin-modified supramolecular pluronic nanogels encapsulating bFGF and complexed with VEGF165 genes [J]. Biomaterials, 2014, 35(16): 4716-4728.
 - [15] WU J, ZHU J, HE C, et al. Comparative study of heparin-poloxamer hydrogel modified bFGF and aFGF for *in vivo* wound healing efficiency [J]. ACS Appl Mater Interfaces, 2016, 8(29): 18710-18721.
 - [16] KABU S, GAO Y, KWON B K, et al. Drug delivery, cell-based therapies, and tissue engineering approaches for spinal cord injury [J]. J Control Release, 2015, 219(1): 141-154.
 - [17] ZHAO Y Z, JIANG X, XIAO J, et al. Using NGF heparin-poloxamer thermosensitive hydrogels to enhance the nerve regeneration for spinal cord injury [J]. Acta Biomater, 2016, 29(1): 71-80.
 - [18] ZHAO Y Z, JIANG X, LIN Q, et al. Thermosensitive heparin-poloxamer hydrogels enhance the effects of GDNF on neuronal circuit remodelling and neuroprotection after spinal cord injury [J]. J Biomater Res A, 2017, 105(10): 2816-2829.
 - [19] WANG Q, HE Y, ZHAO Y, et al. A thermosensitive heparin-poloxamer hydrogel bridges aFGF to treat spinal cord injury [J]. ACS Appl Mater Interfaces, 2017, 9(8): 6725-6745.
 - [20] XU H L, TIAN FR, XIAO J, et al. Sustained-release of FGF-2 from a hybrid hydrogel of heparin-poloxamer and decellular matrix promotes the neuroprotective effects of proteins after spinal injury [J]. Int J Nanomedicine, 2018, 13(3): 681-694.
 - [21] XU H L, TIAN F R, LU C T, et al. Thermo-sensitive hydrogels combined with decellularised matrix deliver bFGF for the functional recovery of rats after a spinal cord injury [J]. Sci Rep, 2016, 6: 38332.
 - [22] ZHU L, JIANG X, SUN Y, et al. Effect of hormone therapy on the risk of bone fractures: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials [J]. Menopause, 2016, 23(4): 461-470.
 - [23] ZHANG S S, XIA W T, XU J, et al. Three-dimensional structure micelles of heparin-poloxamer improve the therapeutic effect of 17 β -estradiol on endometrial regeneration for intrauterine adhesions in a rat model [J]. Int J Nanomedicine, 2017, 12: 5643-5657.
 - [24] XU H L, XU J, ZHANG S S, et al. Temperature-sensitive heparin-modified poloxamer hydrogel with affinity to KGF facilitate the morphologic and functional recovery of the injured rat uterus [J]. Drug Deliv, 2017, 24(1): 867-881.
 - [25] XU H L, XU J, SHEN B X, et al. Dual regulations of thermosensitive heparin-poloxamer hydrogel using ϵ -polylysine: bioadhesivity and controlled KGF release for enhancing wound healing of endometrial injury [J]. ACS Appl Mater Interfaces, 2017, 9(35): 29580-29594.