

dPEG® 连接平台，用于生物偶联治疗剂的生物设计

介绍

dPEG® 这个术语代表“单分散PEG”，它是一种均匀的、具有单一分子量（MW）、高度纯净的下一代聚乙二醇聚合物。Quanta BioDesign / Vector Laboratories 利用专有的、受专利保护的工艺制造 dPEGs，以提供特定的分子量、反应基团、功能基团和结构，适用于广泛的应用（见图 1 & 2）。已经很好地确立了 PEG 本身是惰性的、无毒的、水溶性的，并且与生物相容，当这些特性与上述 dPEGs 的特性结合时，它为生物共轭治疗剂的设计、优化和开发提供了一个强大的工具。

探索 Vector Laboratories 提供的 dPEG 产品

艾美捷为研究和开发提供的基于 dPEG 的产品系列

Vector Laboratories 拥有众多的合成技术、化学专业知识以及对客户需求的深入了解，这使得公司能够开发出一系列多样化、高纯度、可扩展的 PEG 产品线。

- 用于结合生物制剂、有效载荷、载体和表面的均功能、异功能和多功能交联试剂

- 用于结合策略的各种反应基团，包括点击化学、双正交、位点特异性、酶促和随机方法
- 用于灵活的连接子架构设计的砌块和中间体
- 具有各种大小、结构和端封的化学修饰试剂
- 用于聚合物和脂质纳米粒子的嵌段共聚物
- 包括生物素、脂质和半抗原在内的亲和和标签
- 具有增加亲水性的荧光团

Figure 1

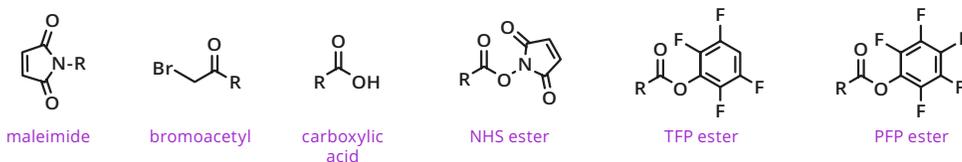


Figure 1

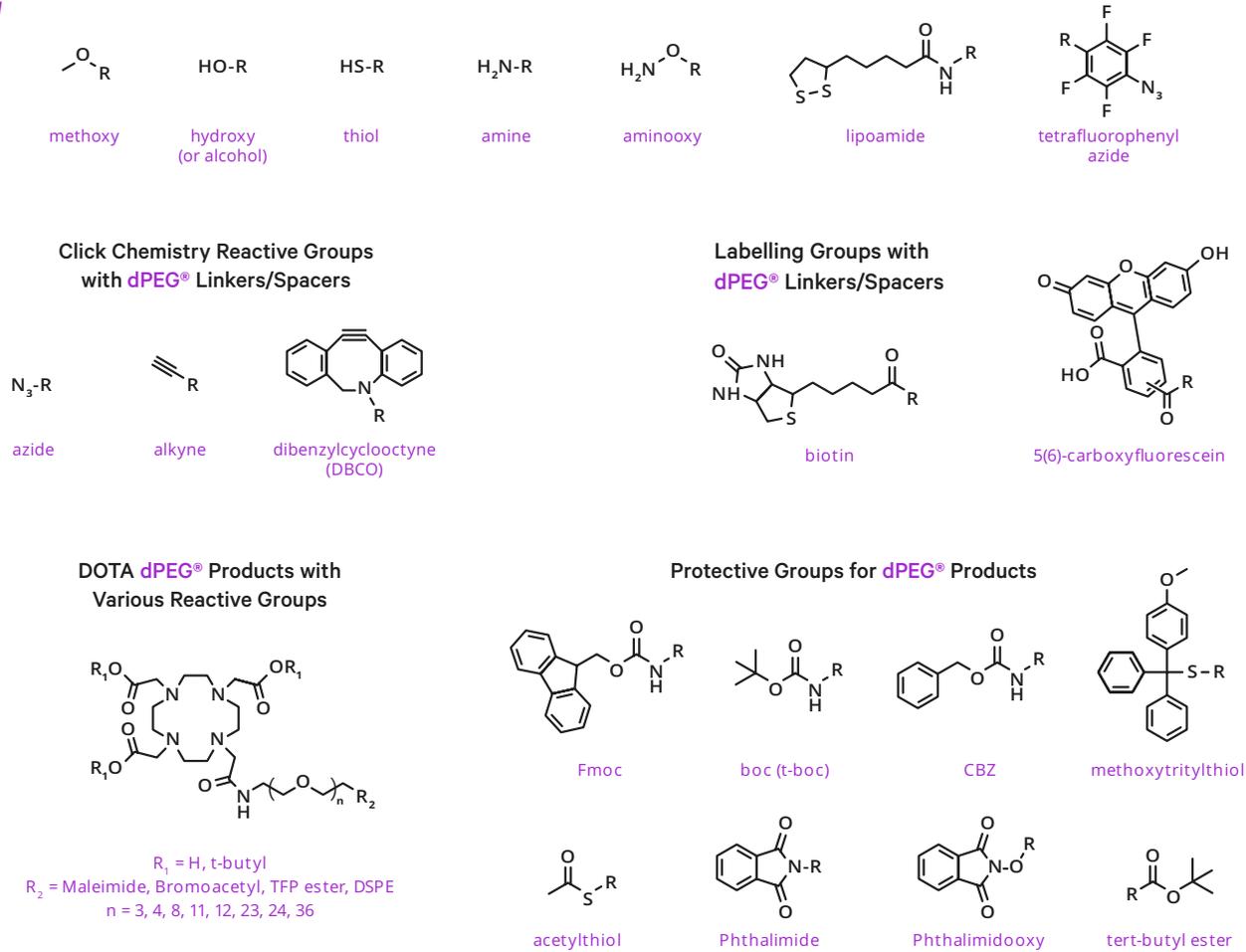


图1: dPEG®产品上的功能型、反应型、标记型和保护型基团示例

Figure 2

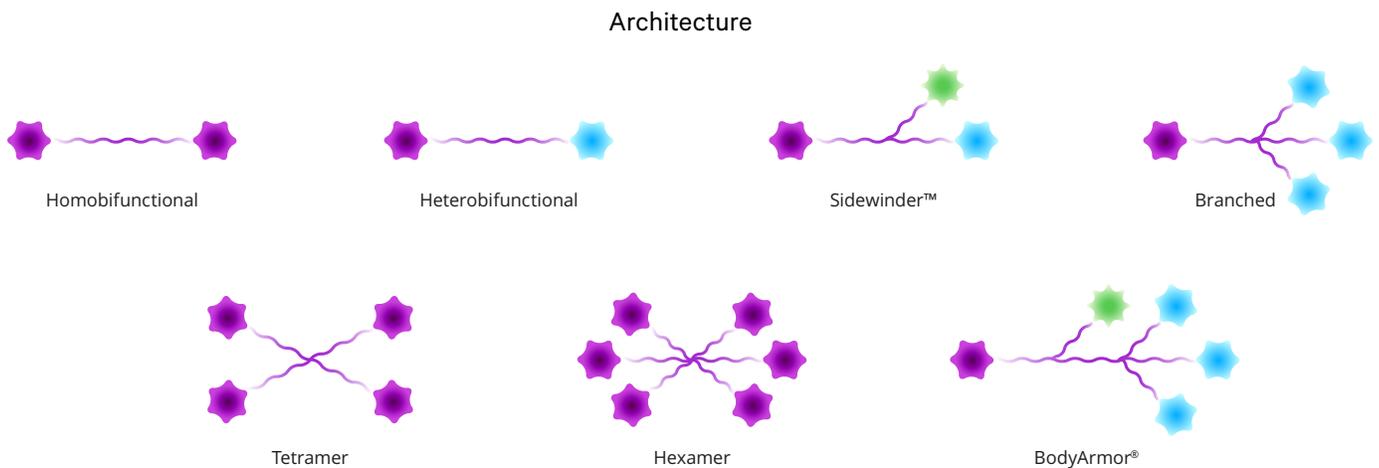


图2: dPEG®产品的可用架构。分支型dPEG®产品可以有三个 (3) 或九 (9) 个分支。我们的Sidewinder™产品是一类新型的dPEG®构建物, 提供了将dPEG®功能整合到诊断和治疗应用中的广泛新方法。BodyArmor®产品架构与Sidewinder类似, 但包括额外的正交dPEG®链。



传统PEGs VS dPEGs

在药物开发中，大型、多分散的传统PEGs的首次临床应用是将PEG化应用于蛋白质、肽和酶（如Oncaspar、Adagen、Peg-Intron等），以改善它们的药物代谢和药代动力学（DMPK）特性。现在，通过共价连接PEG来改变生理化学（PC）或DMPK特性的这种策略，已经被用于包括抗体片段、肽、小分子、寡核苷酸和纳米颗粒在内的多种治疗方式。

Vector Laboratories的dPEGs或均一化PEGs可用于进一步优化治疗剂的生理化学和吸收、分布、代谢、排泄和毒性（ADMET）特性，以实现靶向、溶解度和稳定性要求。表1展示了均一化PEG与传统PEG相比的一些优势。

传统多分散PEG	单分散dPEGs
多分散性导致纯度较低，存在多个分子量实体	高纯度，具有单一分子量实体（见图3）
通过聚合过程制造	通过专有过程制造
由于存在多个实体，分析复杂	分析简单直接
由于存在多个实体，设计机会有限	生物偶联工具的设计可能性无限
对于任何生物偶联结构，生物分布（BD）、药代动力学（PD）和药效学（PK）属性的调节灵活性有限	由于设计和制造控制，所有生物偶联结构的BD、PD和PK属性优化的灵活性高

表1 传统多分散聚乙二醇和dPEGs的区别

图3 传统聚乙二醇（PEG）和Vector Laboratories等质量的dPEG®的并排质谱图

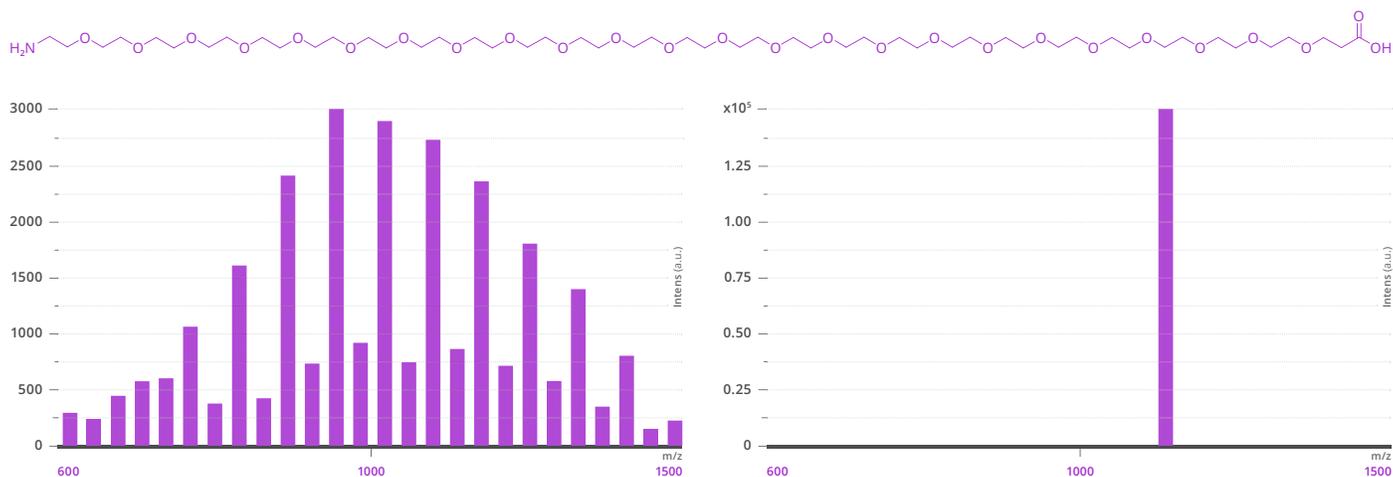


图3：传统分散型聚乙二醇（PEG，左侧谱图）与Vector Laboratories同等质量的dPEG®（右侧谱图）的实际质谱图并排比较。左侧的质谱图是PEG1000的，其分子量（ M_w ）为1027Da；数均分子量（ M_n ）为888Da；分散度（ D ）为1.16。这种分散型PEG的分子量范围在600至1500Da之间。右侧的质谱图是Vector Laboratories的产品编号QBD-10317，即氨基-dPEG®24-酸，其结构在两个质谱图的顶部显示。QBD-10317是一种单一分子量的化合物，具有单一、离散的链长。QBD-10317的分子量为1146.355Da。由于它没有分散性，分散度（ D ）为1。



dPEGs在各种应用中的广泛用途一

由于生物相容性、均一性和可设计性的独特组合，dPEGs在各种应用中优势明显，包括：

- 作为抗体药物偶联物 (ADCs)、片段药物偶联物 (FDCs)、蛋白质药物偶联物 (PDCs)、小分子药物偶联物 (SMDCs)、寡核苷酸偶联物 (OCs) 和药物递送系统 (DDS) 的连接体，避免了烷基连接体的疏水性问题和多分散连接体的不确定性 (见表2)

- 作为间隔物和空间修饰剂，以高度灵活性探索和优化接近效应

- 作为表面修饰剂，可改变小分子、寡核苷酸、肽、蛋白质、抗体、聚合物、树状分子、脂质纳米颗粒和无机表面/纳米颗粒的大小、形状、电荷、疏水性、渗透性，并赋予刺激或时间依赖性性质

性能特点	聚分散PEG	烷基交联剂	磺酰化交联剂	dPEG
纯度	+	++++	++++	++++
制造过程	聚合	合成	合成	专利
分析	复杂, 多实体	简单	简单	简单
设计灵活性	+	+	+	++++
生物偶联体构建中PK、PD属性调节灵活性	+	+	+	++++
亲水性	+	+	+	++++
遮蔽疏水基团的能力	+	+	+	++++

表2 不同类型交联剂的各种性能特点

接下来的部分，展示了在各种分子中使用均匀的PEGs或dPEGs，而不是传统PEG和烷基交联剂的一些优势

dPEGs as Linkers.

使用交联剂将不同的实体结合在一起的能力已被证明是诊断和药物递送系统中极其有用的技术。由多分散聚乙二醇 (PEG) 组成的交联剂已被用于制造多聚体并将靶向配体共轭到纳米颗粒上。这通常在需要非常大尺寸以提供有利的药代动力学 (DMPK) 属性，并且受多分散性影响较小的应用中是必需的。然而，一些属性，如目标结合或细胞内吞作用，可能会受到大尺寸的不利影响。还存在治疗敏感性对PEG链长变化的潜在影响。因此，在这些情况下，更小且均匀的dPEG可以提供有效的解决方案。

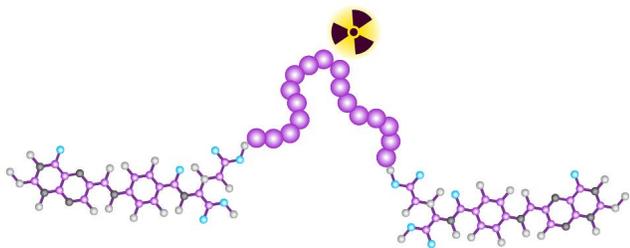
由小的烷基组成的传统交联剂 (例如SPDP、SIAB、SMCC、EMCS等) 多年来也一直是生物偶联的主要选择，然而它们的固有疏水性在偶联设计变得更加复杂时会带来显著的限制。例如，当多个实体偶联在一起或进行接近性分析时，克服连接体组分的疏水性至关重要，需要一些亲水性修饰。有几种烷基连接体以磺酰化形式提供，虽然这可以提高较小连接体的水溶性，但它们对较大结构的应用是值得怀疑的。此外，许多带负电荷的磺酰基团的存在可能会导致非特异性相互作用。

dPEG产品组合结合了烷基连接体的精确性和PEG的生物相容性，没有任何疏水性负担，具有高度的灵活性，以及各种独特的结构来确定结构-功能关系并优化偶联物属性。在以下示例中，我们将展示均一的dPEG交联剂的一些优势。

小分子偶联物

有几项研究记录了使用dPEG将小分子与成像剂偶联用于诊断应用的优势。例如，当使用2 kDa PEG、1 kDa PEG或dPEG24交联剂制备荧光素标记的叶酸二聚体时，使用dPEG24交联剂的二聚体显示出最高的细胞摄取率。在另一项关于肽多聚体的研究中，两个PCMA二聚体。

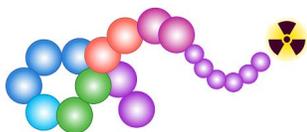




靶向配体通过两个均一的PEG4连接体共轭到DOTA上，提供了一个四聚体，其药代动力学（PK）和肿瘤靶向能力优于二聚体和单体共轭物。

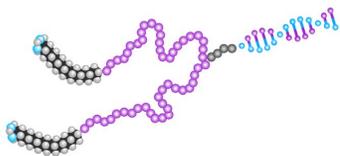
多肽偶联

研究表明，dPEG间隔物可以改善肽药物共轭物的性质。例如，通过包含一个均匀的PEG4间隔物，可以提高RGD-隐球菌素共轭物的溶解度；通过包含一个均一的PEG4间隔物，也可以促进RGD-Glu-MMAE共轭物的有效载荷释放。



寡核苷酸偶联物

递送已成为寡核苷酸的主要障碍，因此设计了几种共轭物作为递送系统，其中包含作为交联剂的dPEGs，包括抗体共轭物、肽共轭物和脂质共轭物。



例如，有多种脂质-ON共轭物，它们结合了线性和SideWinder®类型的均匀PEG4间隔物，以调节药代动力学行为和跨膜递送。

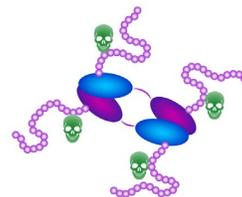
降解剂和降解剂偶联物

邻近诱导降解是针对难以成药靶标的有前景的新药物模式，PROTACs是更受欢迎的降解剂类别之一。连接连接酶的配体和感兴趣的蛋白质之间的连接体通常是烷基连接体或短的均匀PEG4连接体，它们在PROTAC开发中起着关键作用。dPEG的长度可以针对有效降解进行优化，一些基于dPEG的连接体促进了“可点击”PROTACs的设计，以便更快速地优化配体组合。



片段偶联物

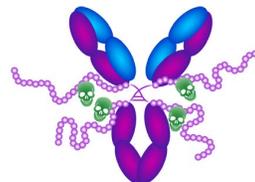
片段共轭物的开发有望克服抗体尺寸较大的相关问题，如较差的渗出和肿瘤穿透性。由于抗体片段的尺寸较小，连接体的特性在优化偶联物的特性方面可以发挥更大的作用。



例如，使用不同长度的dPEG间隔物将靶向TAG72的双特异性抗体（diabody）交联到DOTA上。dPEG间隔物能够增加双特异性抗体的水动力学体积，以减少肾脏清除率并提高肿瘤摄取量，而dPEG48间隔物提供了最高的肿瘤/肾脏比例。Vector实验室的SideWinder®交联剂也在diabody-TCO-MMAE共轭物中证明是有益的，因为生物分子的较小尺寸需要一个正交的PEG修饰剂来防止TCO触发器在体内的失活。

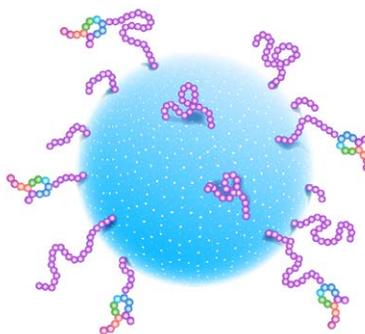
抗体偶联物

ADCs正在利用dPEG间隔物的性质来抵消疏水性有效载荷的缺陷，并改善药物的药代动力学（PC）、药代动力学（PK）、生物分布（BD）和毒性。虽然线性dPEG交联剂已经提供了降低疏水性的有效载荷（例如，tesirine），但像Sidewinder这样的交联剂已被证明可以增加肿瘤摄取量，减少非靶向摄取，并改善带有各种有效载荷的ADCs的耐受性。此外，BodyArmor™类型的连接体已被证明可以提供额外的结构变量，这些变量可以用来控制有效载荷的保护和酶介导的有效载荷释放。



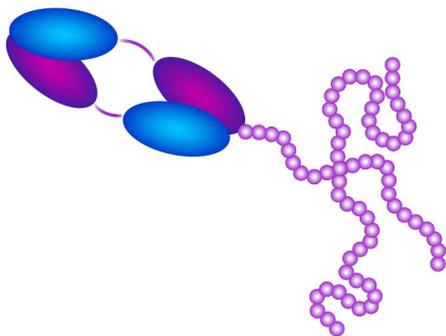
纳米颗粒偶联物

NPs通常通过被动靶向改善药物递送，但正在通过偶联靶向实体来探索主动靶向。传统上，这是通过使用多分散PEG连接体来实现的，然而抗原结合和内吞作用都受到PEG涂层中EO单元数量和交联剂的影响。一项关于使用不同长度的dPEG交联剂共轭靶向整合素或HER2的肽的靶向胶束和脂质体的研究发现，细胞内吞作用依赖于dPEG的长度、靶向的抗原和NP的类型。即使是4个环氧乙烷单元的变化也会产生明显的差异，只有使用dPEGs，才能在这种粒度上优化靶向NPs的性能。



dPEGs的共价连接作为PC和ADMET性质的修饰剂

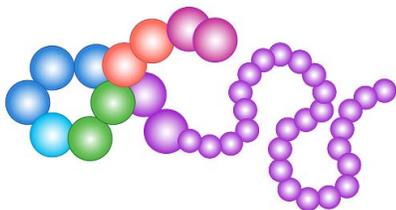
抗体片段



工程化抗体片段的PEG化通常使用较大的多分散PEG（例如 Cimzia、Dapirolizumab Pegol等）来延长这些小蛋白的半衰期。最近，Genentech的研究人员指出，将多种Fab偶联物与16 kDa分支型dPEG（QBD-11487）偶联，得到的水动力学半径约为5纳米，这超过了肾脏滤过要求的尺寸限值。Astra Zeneca的研究人员准备了一组双特异性抗体偶联物，并指出通过与较小的5 kDa分支型dPEG（例如QBD-11471）偶联，可以将双特异性抗体的尺寸从2.9纳米增加到3.3纳米。尽管偶联物仍然显示出显著的肾脏积累，但与其母体Fab相比，其半衰期增加了7.5倍，并且在肺部、脾脏和皮肤中相对于使用较大多分散PEG的偶联物，具有更有利的组织/肿瘤比例。

多肽

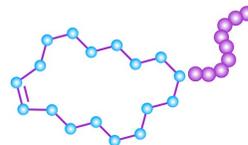
将PEG通过PEG化或共价偶联到肽类上，仍然是改善肽类药物代动力学（DMPK）性质的有吸引力的方法。



目前一些正在进行临床试验的肽-PEG偶联物包括exenatide、adrenomedullin和sihematide。最近，将较小的均匀PEG如dPEGs共价连接到肽类上以改变其物理化学性质和ADMET（吸收、分布、代谢、排泄和毒性）特性，已经取得了更多成功。例如，临床前研究表明，将dPEG24（QBD-11304）偶联到galatin和NPY肽上，可以通过阻止它们穿过血脑屏障（BBB），从而将中枢和外周作用解耦，同时促进镇痛活性。将均一的PEG24纳入Zilucoplan的结构中，也被证明能够赋予有利的PC和DMPK特性，这种治疗最近获得了FDA批准，用于治疗成人全身型重症肌无力（gMG）。

小分子

早期的临床前研究通常使用大分子PEG作为载体，以延长易受肾脏清除的小分子的半衰期，改善小疏水性分子的水溶性，并通过被动积累改善肿瘤靶向性。有一些成功的案例，其中小分子dPEG可以偶联到小分子上，以改善药代动力学（PC）特性或体内行为。



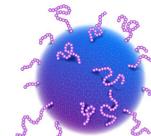
例如，2014年批准的Movantik，使用小分子均匀PEG7共轭到 μ -阿片受体拮抗剂上，以防止穿过血脑屏障（BBB），便于治疗阿片类药物引起的便秘（OIC），而不会产生中枢神经系统活性。

寡核苷酸（ONs）



尽管许多治疗性ONs的潜在缺陷已通过核苷或磷酸骨架的化学衍生化得到解决，但包括反义核酸、核酸适配体、小干扰RNA（siRNA）和微小RNA（miRNA）在内的多种ONs都已进行PEG化。研究发现，短的小分子dPEG12可以共轭到siRNA的正义链或反义链上，对mRNA的敲低没有不利影响，且短的小分子dPEG12共轭到两个磷酸二酯和硫代磷酸反义剂上，对基因沉默能力没有不利影响。因此，小分子dPEG可能能够增强ON的化学衍生化。

纳米颗粒（NPs）和药物递送系统



纳米颗粒有多种形式，包括树状分子、聚合物纳米颗粒、脂质纳米颗粒和无机颗粒。虽然它们各自有特定的考虑侧重，但通过PEG化纳米颗粒表面，已证明对大多数形式都有益，因为它可以防止被免疫系统识别和清除，并减少血清蛋白的非特异性吸附。有几种PEG化的NPs正在临床使用（如Spikevax、Comirnaty等），还有更多的正在临床试验中（如Promitil、ThermoDox等），所有这些都使用了2 kDa PEG。虽然这通常是多分散PEG的领域，但dPEG产品也有这种分子量，并且许多研究已经表明，包括PEG长度在内的变量可以有益于血清蛋白的吸附、通过粘液和细胞外基质的运输，以及加速血液清除现象。



dPEG在化学与生物学的交叉点

总之，dPEG技术是众多生物偶联治疗剂和临床诊断检测的基础。众多出版物已经展示了基于dPEG的连接体的实用性，并引用了这些连接体更好的目标特异性、改善的肿瘤摄取和更低的毒性。

总体而言，使用dPEG作为连接体、修饰剂、嵌段共聚物或功能标签的竞争力在于其离散性，这是传统PEG所不具备的。

Vector Laboratories拥有深厚的技术专长和生产能力，可以帮助您设计和开发独特的基于dPEG的实体，以整合到您的共轭策略中。通过BioDesign服务，我们可以为您提供个性化的、专家指导的咨询，将您的生物共轭治疗剂提升到更高的水平。

探索 BioDesign™

Quanta BioDesign

中国区总代理，艾美捷科技

400-6800-868

www.amyjet.com



©2024 Vector Laboratories. All rights reserved.

For research use only. Not intended for animal or human therapeutic or diagnostic use.

dPeg and Sidewinder are registered trademarks of Vector Laboratories. BioDesign and BodyArmor are trademarks by Vector Laboratories.



Quanta BioDesign | 中国区总代理，艾美捷科技 400-6800-868, www.amyjet.com