

功能性聚氨基酸纳米凝胶

姜中雨^{1,2}, 刘仪轩^{1,2}, 冯祥汝^{1,2}, 丁建勋¹

(1. 中国科学院长春应用化学研究所, 中科院生态环境高分子材料重点实验室, 长春 130022;
2. 中国科学技术大学, 合肥 230026)

摘要: 聚合物纳米凝胶是纳米尺度的高分子交联网络, 具有稳定的三维结构、高载药效率、刺激响应性等特性, 在药物递送、基因治疗和生物成像等多个生物医学方向表现出优异的应用前景可期。其中, 聚氨基酸纳米凝胶由于其优异的生物相容性、性能易于调节、降解产物安全无毒等特性, 在生物医学领域获得了广泛的关注。特别地, 具有内源性刺激(例如: 还原性、活性氧、pH和酶)或外源性刺激(例如: 光和温度)响应能力的功能性聚氨基酸纳米凝胶可通过适度的转变达到可控的药物递送的目的。本文将全面介绍不同的功能性聚氨基酸纳米凝胶的制备、应用和面临的挑战。

关键词: 聚氨基酸; 纳米凝胶; 刺激响应性; 生物医学应用

中图分类号: O63

文献标志码: A

Functional Polypeptide Nanogels

JIANG Zhong-yu^{1,2}, LIU Yi-xuan^{1,2}, FENG Xiang-ru^{1,2}, DING Jian-xun¹

(1. Key Laboratory of Polymer Ecomaterials, Changchun Institute of Applied Chemistry, Chinese Academy of Sciences, Changchun 130022, China; 2. University of Science and Technology of China, Hefei, 230026, China)

Abstract: Polymer nanogels are nanosized crosslinked polymer networks, which have stable three-dimensional (3D) structures, high drug-loading efficiencies, stimuli-responsiveness, and so forth. They are part of the most promising nanoplateforms that find enormous applications in biomedicine fields, such as drug delivery, gene therapy, and bioimaging. Compared with other polymer-based nanogels, polypeptide nanogels have gained wide attention in this area due to excellent properties, such as great biocompatibility, fine stability, and nontoxicity of degradation products. Furthermore, the properties can be easily adjusted by alteration of side groups of the polypeptides using

收稿日期: 2018-06-12

基金项目: 国家自然科学基金(51673190, 51603204, 51673187, 51520105004); 吉林省科技发展计划(20160204015SF, 20160204018SF)

作者简介: 姜中雨(1993-), 男, 黑龙江鸡西人, 博士生, 主要研究方向: 功能化生物医用高分子。E-mail: zyjiang@ciac.ac.cn

通信联系人: 丁建勋, E-mail: jxding@ciac.ac.cn

ester exchange, “click”, aminolysis or other chemical reactions. There are two common routes for the preparation of polypeptide nanogels. (i) Crosslinking of the polypeptides prepared by polymerization of amino acid *N*-carboxyanhydride (NCA) with monofunctional NCA group using cross-linking agent. (ii) Polymerization of amino acid NCA with difunctional NCA groups. However, traditional polypeptide nanogels fail to meet the requirements of an appropriate drug delivery platform. For example, the drug molecules cannot remain stable in the nanocarrier during circulation until arriving at the target area. Therefore, stimuli-responsive polypeptide nanogels have been developed to improve the stability during circulation and also achieve controllable drug release. The stimuli-responsive polypeptide nanogels have the ability of responding to endogenous (*e.g.*, reduction, reactive oxygen species (ROS), pH, and enzymes) or exogenous stimuli (*e.g.*, light and temperature). In this manner, controllable drug delivery can be realized through appropriate physical or chemical transitions of polypeptide nanogels, *e.g.*, shrinking, swelling, or disassembly. As controlled drug release system continues to be a desired function, functional polypeptide nanogels play an important role in the advances of nanomedicines. In this feature article, a comprehensive introduction of the preparation, and applications of diverse stimuli-responsive polypeptide nanogels has been illustrated. The challenges regarding polypeptide nanogels applications are given and potential opportunities in solving them are also predicted.

Key words: polypeptide, nanogel, stimuli-responsiveness, biomedical application

作为纳米尺度的水凝胶, 聚合物纳米凝胶能够将水凝胶和纳米粒子的特性结合到一个体系中^[1]。同胶束、囊泡和聚合物-药前药等其他纳米级别的聚合物药物载体相比, 纳米凝胶有显著的优点^[2-3]。首先, 聚合物纳米凝胶可以由明胶 (Gelatin)、壳聚糖 (Chitosan)、聚 (*N*-异丙基丙烯酰胺) (Poly(*N*-isopropyl acrylamide); PNIPAM)、聚氨基酸 (Polypeptide) 等多种天然或合成聚合物材料制备; 此外, 纳米凝胶具有稳定的三维结构与尺寸, 具有通过高通透性和滞留效应 (EPR 效应) 而被动靶向聚集于目标区域的能力; 最后, 纳米凝胶的载药效率 (DLE) 较高, 其内部交联的网络结构可以有效减少药物的泄漏^[4], 且可通过内源或外源刺激于目标区域响应释放出药物。这些优点使得聚合物纳米凝胶在药物递送、基因治疗和生物成像等多个生物医学方向表现出诱人的应用前景^[5-6]。

纳米凝胶作为纳米载体的一种, 其化学组成需保证结构稳定性、生物相容性及降解产物安全无毒的基本要求, 以及高载药效率和药物的靶向及可控释放以增加药物的治疗指数 (半数致死量与半数有效量的比值)。在众多聚合物纳米凝胶中, 聚氨基酸纳米凝胶除了拥有稳定的三维结构和较高的载药率外^[7-13], 还具有生物相容性好、性能易于调节和降解后产物安全无毒等优异的性质^[14-20]。这些独特的性质, 尤其是高度可调节性使其在生物医用材料领域的应用具有无限的可能性, 是纳米凝胶的优选之一, 已经获得了人们广泛的关注^[10,21-27]。聚酯类纳米凝胶在降解后会导致含羧基分子在体内不断累积, 使酸度增加, 给人体修复造成一定的困难, 但聚氨基酸纳米凝胶的降解产物基本是氨基酸, 不会产生进一步的毒副作用^[28-32]。氨基酸的种类也较为繁多, 因此人们可以通过简单的调节单体的种类获得拥有相应内部和外部特性的聚氨基酸纳米凝胶^[33-36]。同时聚氨基酸的侧链还可以通过酯交换、缩合、“点击”化学或氨解等反应进一步修饰其他功能基团, 制备具有不同反应活性和生物活性的聚氨基酸^[37-38]。此外聚氨基酸纳米凝胶的制备途径也较为简单方便, 通常分为两种: 第一种是: 首先制备含必要侧基的多肽, 而后将这些侧基连接到具有多官能团的分子上形成交联结构, 最终形成纳米凝胶; 第二种是: 通过一步聚合法, 将具有两个 *N*-内羧酸酐 (NCA) 基团的氨基酸单体一步开环聚合 (ROP), 轻松地获得聚氨基酸纳米凝胶^[39-40]。

在聚氨基酸纳米凝胶的发展过程中, 具有刺激响应能力的功能性聚氨基酸纳米凝胶是其中已经被广泛应用的材料之一, 从很大程度上推动了智能药物运输体系的发展^[2,41-48]。由于在纳米凝胶体内循环直到在靶向位置聚集的过程中药物分子不能保持稳定, 因此传统的聚氨基酸纳米凝胶很难满足药物传递平台的要求^[49-50]。为了解决这一问题, 人们设计出了具有刺激响应能力的功能性聚氨基酸纳米凝胶, 并对其进行了广泛的研究以实现可控药物释放^[51-56]。凝胶的刺激响应性可根据其来源分为内源刺激响应性和外源刺激响应性两种: 内源刺激响应性主要利用生理微环境的特异性达到靶向目标区域释放的目的, pH、谷胱甘肽 (GSH) 和酶等都属于内源刺激响应性; 外源刺激响应性主要通过外加刺激以达到可控释放的目的, 如光、热等。如图 1 所示, 具有刺激响应性的功能性聚氨基酸纳米凝胶能够在刺激性条件下发生形貌或性能方面的改变, 如解组装、收缩或溶胀, 从而达到药物递送的目的。能够控制药物的释放是运载药物体系的初衷, 因此功能性聚氨基酸纳米凝胶由于其独特的性质在纳米药物的发展中起到了重要的作用^[1,57]。

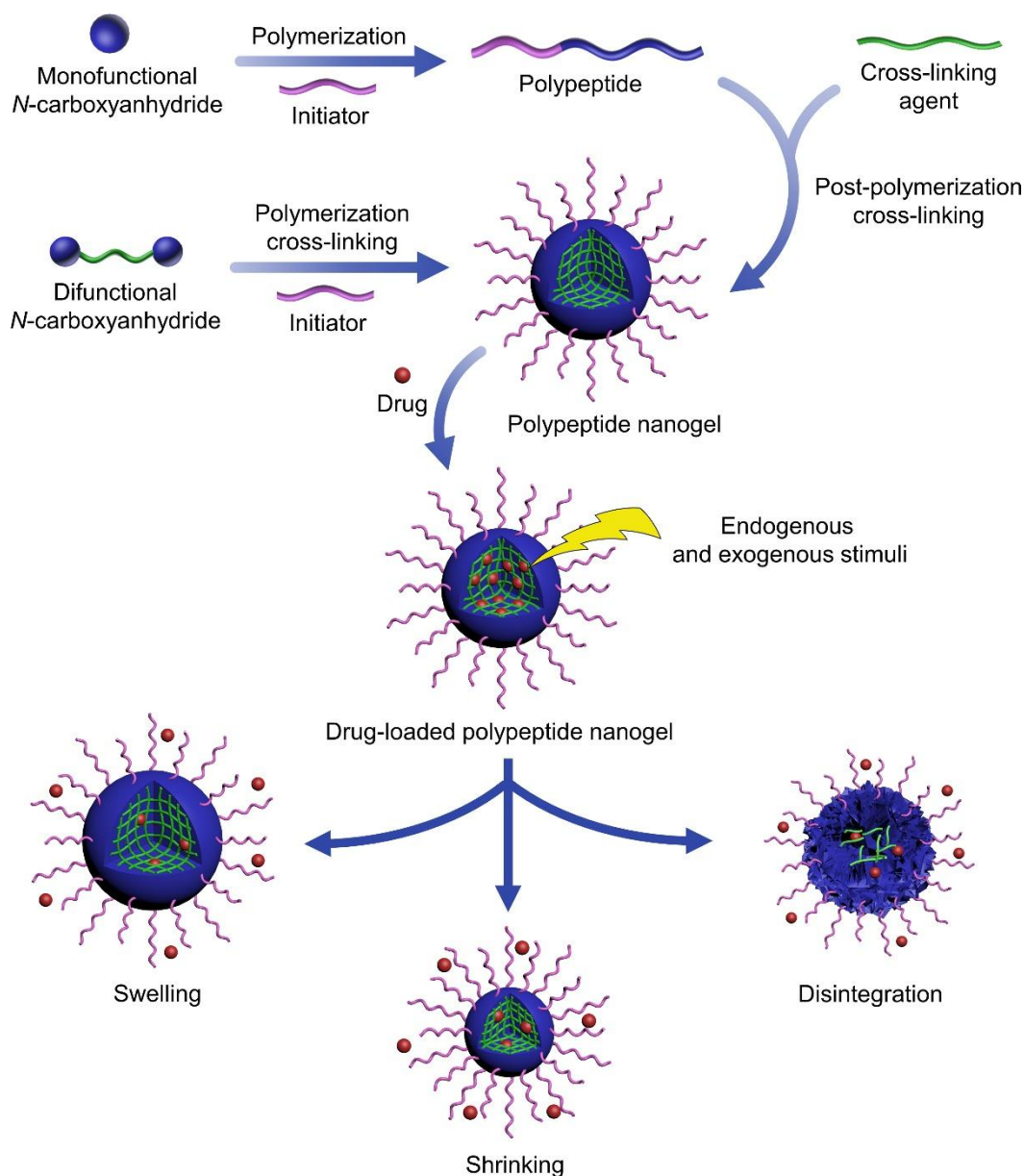


图 1 刺激响应性的聚氨基酸纳米凝胶的制备及调控药物释放

Fig. 1 Preparation of stimuli-responsive polypeptide nanogels for controlled drug delivery

本综述将分别对具有内源刺激响应性和外源刺激响应性的功能性聚氨基酸纳米凝胶进行阐述，并且较为详细地介绍其制备方法以及在生物医学领域的应用情况，同时进一步预测聚氨基酸纳米凝胶未来的发展以及面临的挑战。

1 内源刺激响应性聚氨基酸纳米凝胶

内源刺激响应性的聚氨基酸纳米凝胶可以通过用功能化基团修饰聚氨基酸或一步开环聚合具有功能性 NCA 的方法进行制备。由于目标区域微环境同外界区域环境相比具有特异性，因此可以在一定程度上破坏内源刺激响应性聚氨基酸纳米凝胶的内部交联网络，使凝胶整体结构发生变化，快速释放包载于其内部的药物，发挥其治疗的效果^[58]。下文中将详细介绍具有不同的内源刺激响应性的聚氨基酸纳米凝胶的制备及性质。

1.1 pH 响应性纳米凝胶

作为一种内源性刺激, pH 在聚氨基酸纳米凝胶中是较为常见的响应性之一^[9,59-64]。因为纳米凝胶在人体循环过程中的生理 pH 会恒定在 7.4 左右, 在肿瘤细胞外环境中的生理 pH 则会降至 6.5~7.2, 在被内吞后周围的 pH 会进一步降到 5.5~6.5, 而在溶酶体中, pH 甚至可以降低到 4.5~5.0^[59-60,65-69]。由于在这种传递过程中 pH 变化十分明显, 因此人们针对这种响应的纳米凝胶进行了大量的研究, 开发了各种有 pH 响应性的功能性聚氨基酸纳米凝胶^[70-75]。为了实现 pH 引发的细胞内药物释放, 可以从两个方面着手设计出 pH 敏感性的功能结构: (1) 在聚氨基酸中引入在不同 pH 条件下有亲疏水性转化的离子化基团^[9,65-66]; (2) 引入 pH 敏感键使其能够在 pH 改变时发生断裂。因此外界环境的酸化通常会导致 pH 响应性聚氨基酸纳米凝胶结构发生改变^[63], 最终使内部的药物被释放出来, 发挥治疗作用。

根据第一个方面的理论, 通过静电相互作用交联的纳米凝胶是一个合理的拥有 pH 响应性的平台^[75-78]。因为通过静电相互作用形成的纳米凝胶在 pH 变化时通常不稳定, 其静电作用力的变化引发了凝胶交联结构的变化, 最终引发药物的释放。由于聚(L-天冬氨酸)(PAsp)、聚(L-谷氨酸)(PGlu)和聚(L-赖氨酸)(PLys)等多肽的侧链可以很容易地与其他带相反电荷交联剂交联, 因此含有这些种氨基酸的聚合物嵌段可以很容易地形成 pH 敏感性聚氨基酸纳米凝胶。比如, Lv^[66]通过将带负电的聚乙二醇单甲醚-聚(L-谷氨酸-co-L-苯丙氨酸)(mPEG-P(Glu-co-Phe))和带正电的聚乙二醇单甲醚-聚(L-赖氨酸-co-L-苯丙氨酸)(mPEG-P(Lys-co-Phe))混合, 通过静电作用获得了聚氨基酸纳米凝胶, 该纳米凝胶在正常生理环境的 pH 下稳定, 而在肿瘤组织弱酸性条件下表面电荷由负电荷转变成正电荷, 使纳米凝胶更加容易的被肿瘤细胞所摄取。抗肿瘤药物阿霉素(DOX)被包载于纳米凝胶内部, 在 pH 为 7.4 和 6.8 的条件下, 156 h 只有质量分数 17% 和不到 30% 的 DOX 能够释放出, 这是由于 DOX 与纳米凝胶间存在强电荷的吸引作用以及 π - π 堆积作用。但在 pH 为 5.0 的条件下, 超过 65% 的 DOX 被释放出, 证明的聚氨基酸纳米凝胶的弱酸性条件的响应能力。证明了该纳米凝胶可以有效地应用于药物的运载与输送体系中。

基于第二个方面的设计理论, 纳米凝胶的 pH 敏感性还可以通过在体系中引入特定的可被酸裂解的化学键的方法来获得, 使其在环境酸性增加时发生键的裂解而导致交联结构的拆分。比如, Lee 等^[63]用含缩酮基团的交联剂交联了甲氧基聚(乙二醇)-聚(L-天冬氨酸)-聚(L-苯丙氨酸)(mPEG-PAsp-PPhe), 制备出了包载 DOX 的 pH 响应性聚氨基酸智能纳米凝胶。该凝胶的交联结构确保了在 pH 为 7.4 的生理环境下具有一定的稳定性。而在胞吞作用下, 凝胶周围环境的 pH 降至 5.0 左右, 交联的缩酮键会发生水解, 导致纳米凝胶的分解, 进而触发细胞内药物的加速释放。在相同条件下培养 5 h 后, 用 pH 响应性纳米凝胶处理过的细胞中的 DOX 荧光强度明显高于用非 pH 响应纳米凝胶处理的细胞中的相应值, 进一步证明了 pH 响应性的聚氨基酸纳米凝胶是一种细胞内药物传输的有效载体, 具有应用于生物医学领域的潜能。还比如, Li 等^[79]制备了一种聚(乙二醇)单甲醚-*b*-聚[N-[N-(2-氨基乙基)-2-氨基乙基]-L-谷氨酸盐](mPEG-*b*-PNLG)聚合物, 而后用疏水的对苯二甲醛使其交联成纳米凝胶进行疏水抗癌药物的包载与运输。由于将凝胶交联

起来的苯亚胺键具有 pH 响应性, 因此这种材料会在 pH 的影响下发生水解, 从而引起凝胶结构的改变。动态光散射 (DLS) 实验证实了在 pH 为 7.4 时, 纳米凝胶的粒径为 (56.83 ± 1.99) nm, 而当 pH 降低至 6.4 时, 凝胶完全降解, 聚合物的链段溶解在水中, 无法观察到纳米粒子的存在而当 pH 再次升高到 7.4 时, 溶液中又会形成粒径为 (53.26 ± 1.66) nm 的纳米凝胶, 从而证明这种凝胶对 pH 的响应性是可逆的。DOX 在凝胶中的包封率和负载量可分别达到 64.6% 和 6.07%, 且包载 DOX 后凝胶的粒径会增加至 109.1 nm, 证实了 DOX 的成功封装。如图 2 所示, 在 pH 为 7.4 的条件下, 交联的苯甲亚胺键能够较为成功地防止 DOX 泄漏, 使其在 24 h 后仅有 37.3% 的 DOX 被释放出来, 而在 pH 为 6.4 的酸性条件下 100% 的药物能够在 24 h 内被释放。实验进一步证明在 MDA-MB-231 乳腺癌细胞系中, 包载 DOX 的纳米粒子对于细胞的致死率同游离 DOX 相比也高出许多, 在 DOX 质量浓度均为 $10 \mu\text{g/mL}$ 的情况下两者孵育的细胞存活率分别为 35.13% 和 57.93%, 进一步证明了此纳米载体在药物运输方面的潜力。

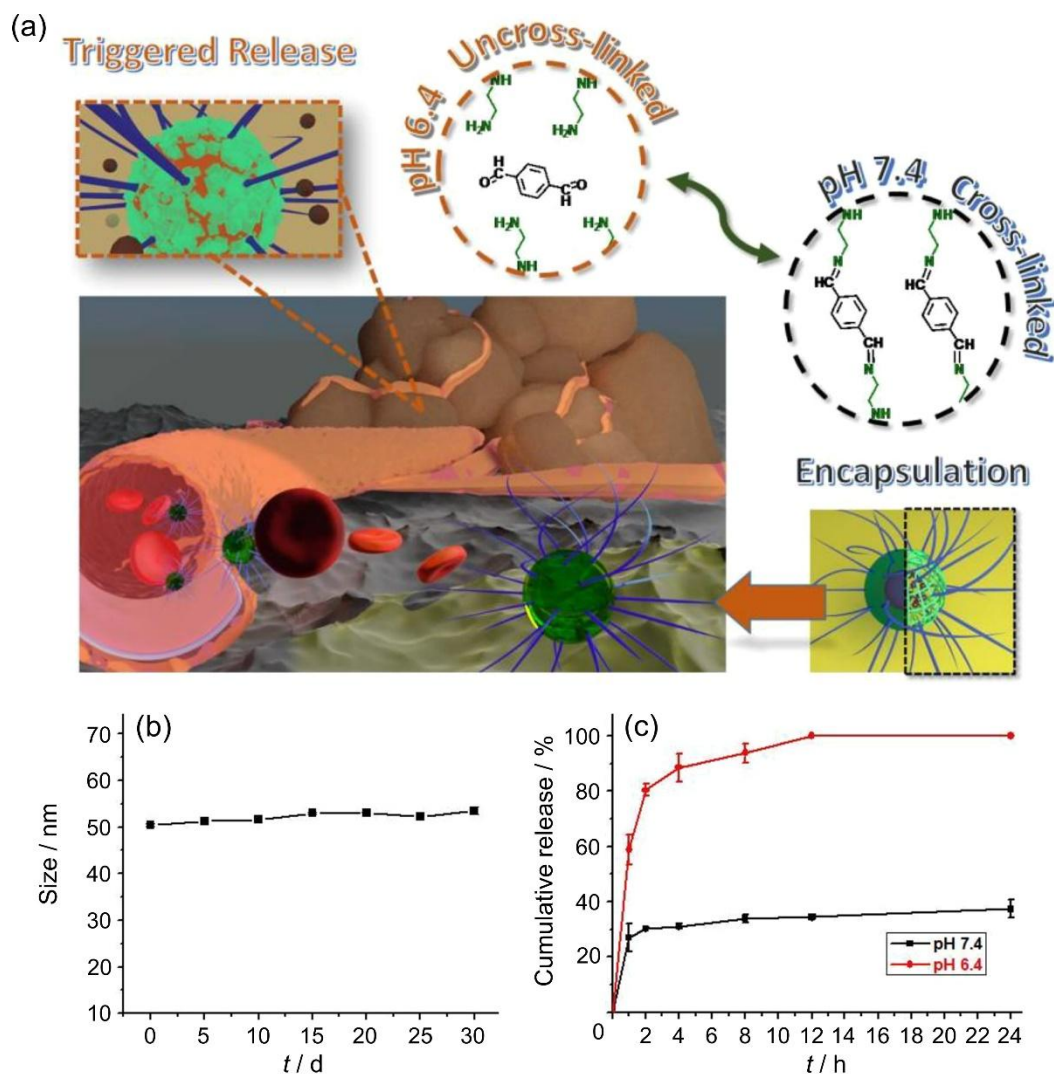


图 2 pH 响应的 mPEG-*b*-PNLG 纳米凝胶性能^[79]: (a) pH 响应的 mPEG-*b*-PNLG 纳米凝胶的构成和药物释放机制; (b) 纳米凝胶在 PBS 中稳定性随时间变化; (c) 载有 DOX 的聚氨基酸纳米凝胶的药物释放曲线

Fig. 2 Performance of pH-responsive mPEG-*b*-PNLG nanogels^[79]: (a) Formation of pH-responsive mPEG-*b*-PNLG nanogels and drug delivery mechanism; (b) Stability of mPEG-*b*-PNLG nanogels in PBS versus time; (c) Release

profiles of DOX from mPEG-*b*-PNLG nanogels

1.2 还原响应性纳米凝胶

除却 pH 响应外, 还原响应性也在响应性聚氨基酸纳米凝胶中得到了广泛应用^[80-86]。研究表明, 细胞内的 GSH 浓度约 2.0~10.0 mmol/L, 而细胞外的 GSH 浓度则仅有 2.0~20.0 $\mu\text{mol/L}$, 两者相差近千倍, 因此 GSH 可以作为内源性刺激使得聚氨基酸纳米凝胶发生响应^[87-90]。由于 GSH 具有还原性, 这种响应性凝胶也被称为还原响应性聚氨基酸纳米凝胶。目前人们对这种在细胞内药物释放的方法已经进行了大量研究, 其中二硫键作为典型的还原敏感化学键在这种类型的纳米凝胶中得到了较为广泛的应用^[91-98]。制备二硫键交联的聚氨基酸纳米凝胶的方法一般可分为 3 种: (1) 在聚氨基酸中添加含有二硫键的交联剂使其交联以制备二硫键交联的聚氨基酸纳米凝胶; (2) 直接使含有二硫键的胱氨酸聚合以制备交联的聚氨基酸纳米凝胶; (3) 对含有巯基的聚氨基酸进行氧化反应以制备二硫键交联的聚氨基酸纳米凝胶。

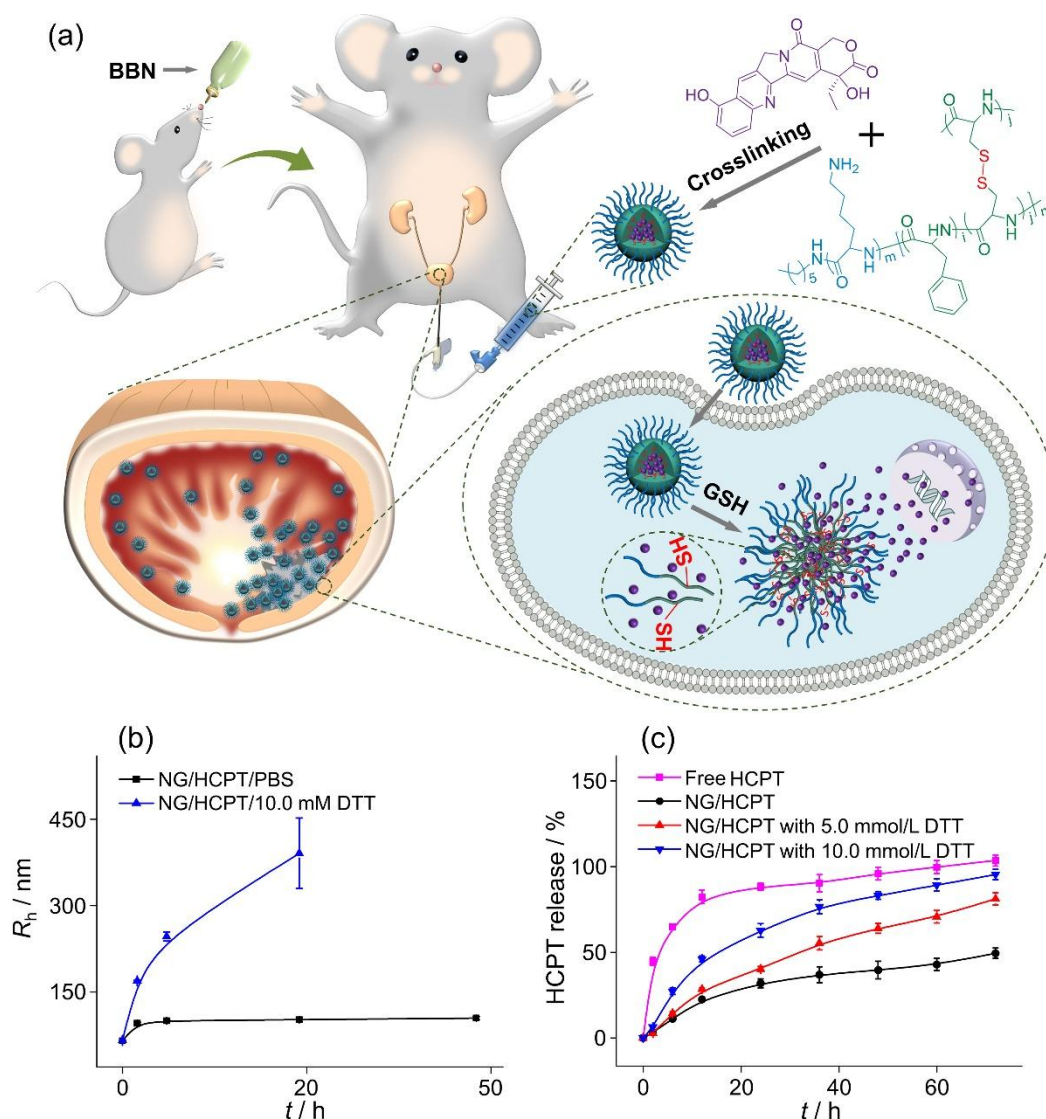


图3 载有 10-羟基喜树碱 (HCPT) 的聚 (赖氨酸)-聚 (苯丙氨酸-co-胱氨酸) 体系的示意图及纳米凝胶性能^[99]: (a) 载药纳米凝胶的制备及在原位小鼠膀胱癌诱导的肿瘤组织中选择性积累并 GSH 触发细胞内 HCPT

释放示意图; (b) 纳米凝胶在 PBS 及含有 $c(\text{DDT})=10.0 \text{ mmol/L}$ 的 PBS 中稳定性随时间的变化; (c) 载有 HCPT 的聚氨基酸纳米凝胶的 HCPT 释放曲线

Fig. 3 The schematic illustration and performance of PLys-P(Phe-co-Cys)/HCPT^[99]: (a) Schematic illustration for preparation of nanogel (NG)/HCPT, orthotopic mouse bladder cancer induction, selective accumulation of NG/HCPT in tumor tissue after intravesical instillation, and final GSH-triggered intracellular HCPT release; (b) Stability of NG/HCPT in PBS without or with 10.0 mmol/L DTT versus time; (c) Release profiles of HCPT from NG/HCPT

在第一种制备方法中,常用含二硫键的交联剂包括:3,3'-二硫代双(磺基琥珀酰亚胺基丙酸酯)(DTSSP)^[100]、双(2-叠氮基乙基)二硫化物^[101-103]、双(2-二甲氨基乙基)二硫化物^[45]、3-(2-吡啶二硫代)丙酸 *N*-琥珀酰亚胺酯^[81,89]、硫辛酸^[85,96]等。使用交联剂的方法一般是将其直接加入聚氨基酸中,通过化学反应制备出二硫键交联的具有还原响应性的聚氨基酸纳米凝胶。比如, Koo 等^[100]通过聚乙二醇单甲醚-聚(*L*-赖氨酸)-聚(*L*-苯丙氨酸)(mPEG-PLys-PPhe)与 DTSSP 的聚合后交联反应合成了聚氨基酸纳米凝胶。该纳米凝胶具有 3 个不同的功能域:(1)由聚乙二醇形成的外电晕允许长时间循环;(2)含有的聚苯丙氨酸序列的内核实现有效载药量;(3)二硫键交联的内核用于还原加速药物释放。交联后得到的纳米凝胶具有稳定的结构,会在一定程度上阻止药物的泄露,因此非交联的纳米载体在循环中会释放多于 27.0%的多西紫杉醇(DTX),而交联的纳米凝胶仅释放 13.2%的 DTX。此外 GSH 对二硫键的切割可以加速细胞内 DTX 的释放,纳米凝胶在 10.0 mmol/L GSH 中释放的 DTX 的速度比在 2.0 $\mu\text{mol/L}$ GSH 中释放 DTX 的速率快得多。实验也进一步证实了在细胞内加速释放的 DTX 确实能够导致包载 DTX 的纳米凝胶在 10.0 mmol/L GSH 预处理的人肺癌 A549 细胞中的细胞毒性有所增强。又比如 Cavalieri 等^[104]将聚赖氨酸吸附在介孔二氧化硅模板上,而后用含有二硫键的聚乙二醇-*N*-羟基琥珀酰亚胺交联剂使之交联,最后用氢氟酸浸泡除去模板得到还原响应性以及溶酶体蛋白响应的纳米多孔聚乙二醇-聚赖氨酸(NPEG-PLL)凝胶。该纳米凝胶可以有效负载小分子干扰 RNA(siRNA)并将其输送到前列腺癌细胞中,导致癌细胞中发生有效的基因沉默,其生存素沉默效率在 $59\% \pm 8\%$,而另一种运载 siRNA 的阳离子脂质体 2000 中沉默素的沉默效率则在 75%左右。这种载体的交联结构导致其在血清中较为稳定,在血清中静置 4 h 后,只有 5%的 siRNA 被负电荷的血清蛋白置换掉,而其还原性响应的二硫键则导致这种纳米凝胶在 PC-3 前列腺癌细胞中会很快降解,达到基因沉默的目的。

第二种制备方法是直接通过 *L*-胱氨酸 *N*-内羧酸酐(*L*-Cys NCA)的一步开环聚合反应制备出二硫键交联的聚氨基酸纳米凝胶,这比将具有二硫键的分子聚合后再进行交联更为简单方便^[33-36,105-109]。首先将含有二硫键的 *L*-胱氨酸制备成 *L*-Cys NCA,由于 *L*-Cys NCA 含有两个内羧酸酐,因此将 *L*-Cys NCA 开环聚合后能够直接得到通过二硫键交联的聚氨基酸纳米凝胶^[110]。例如, Guo 等^[99]通过一步开环聚合的方法合成了 PLys-P(Phe-co-Cys)的带正电二硫键交联的纳米凝胶体系,该体系通过疏水作用将 HCPT 包载于纳米凝胶内

部。该纳米凝胶展现出了很高的载药能力(载药量和载药效率分别高达 30.6% 和 88.2%), 并且其在膀胱的滞留时间有所延长, 有对膀胱癌肿瘤细胞较高的组织渗透能力以及精准而迅速的药物释放能力。如图 3 所示, 在缺乏还原性的二硫苏糖醇(DTT)的环境中, 纳米凝胶内部的 HCPT 在 72 h 的释放不足 50%, 而当 DTT 的浓度为 5.0 mM 和 10.0 mM 时, 分别有 81.2% 和 95.4% 的 HCPT 被释放出来, 进一步证明了 DTT 的存在会使纳米凝胶内部的二硫键断裂, 导致纳米凝胶膨胀, 释放出包载的药物。因此同游离 HCPT 相比, 载药纳米凝胶具有更好的抑制膀胱癌细胞生长的能力。又比如, Chen 等^[7]开发了可用于靶向高转移性黑素瘤的新型 GSH 敏感纳米凝胶。如图 4 所示, 该纳米凝胶通过氨基酸 NCA 的 ROP 合成, 通过将含有苯基硼酸(PBA)和吗啉(MP)基团的引发剂进行组合, 最终得到了同时对 pH 以及 GSH 敏感的反应性凝胶(PMNG)。该设计基于以下几个考虑: (1) PBA 可以靶向在转移细胞膜上过表达的唾液酸表位; (2) pH 敏感的 MP 的可电荷转化性质被用于增强肿瘤部位的细胞内化性能; (3) 由于纳米凝胶中具有还原敏感的二硫键, 该纳米凝胶的结构可以被 GSH 破坏, 从而可以选择性释放载药模型药物 DOX。PMNG/DOX 在 pH 为 7.4 时表现出最小的 DOX 的释放(<25%), 而在 10.0 mmol/L 的 GSH 的环境下, 药物释放增加至 90% 以上。且由于此纳米凝胶中存在 pH 敏感性的 MP 基团, 因此 PMNG/DOX 表现出最佳的靶向能力。PMNG/DOX 组中转移性结节累积的 DOX 也被证实多于 DOX 和 PNG/DOX 组。这种双重响应的新策略不仅可以用于控制药物释放, 还可以作为可能导致多响应性纳米凝胶的下一代革命的靶向过程。由此证明了还原性响应的聚氨基酸纳米凝胶还可以同其他的响应结合, 进一步说明还原性响应已被广泛应用于纳米凝胶智能药物传输体系的设计当中。

第三种制备的方法是对含有巯基的聚氨基酸进行氧化, 使巯基反应成具有交联能力的二硫键^[111-113]。一般这种方法适用于含有半胱氨酸嵌段的聚氨基酸纳米凝胶。比如, Wang 等^[113]制备了聚乙二醇-聚(L-半胱氨酸)-聚(L-苯丙氨酸) (PEG-PCys-PPhe) 三嵌段共聚物, 使其在水溶液中自组装成具有核壳结构的胶束, 而后将聚半胱氨酸嵌段中的巯基用稀释的过氧化氢溶液进行氧化, 最终制得了二硫键交联的且有还原响应性的纳米凝胶。在这个体系中, 聚乙二醇形成的外壳结构保证了凝胶在体内拥有较长的循环时间, 且交联的内核结构可以有效地减少药物在细胞外环境中的损失, 同时进一步保证胶束的稳定性。包载了 DOX 的纳米凝胶载药量和载药效率分别为 4.2% 和 42.0%。在不含 GSH 和含有 2 $\mu\text{mol/L}$ GSH 的 PBS 溶液处理下, 凝胶在 48 h 后都仅释放了 15% 的 DOX, 而在含有 10 mmol/L GSH 的 PBS 溶液中凝胶可以在 24 h 内释放 40% 的 DOX, 因此这种树脂对细胞内的 GSH 浓度有较好的响应性, 是一种良好的载药体系。

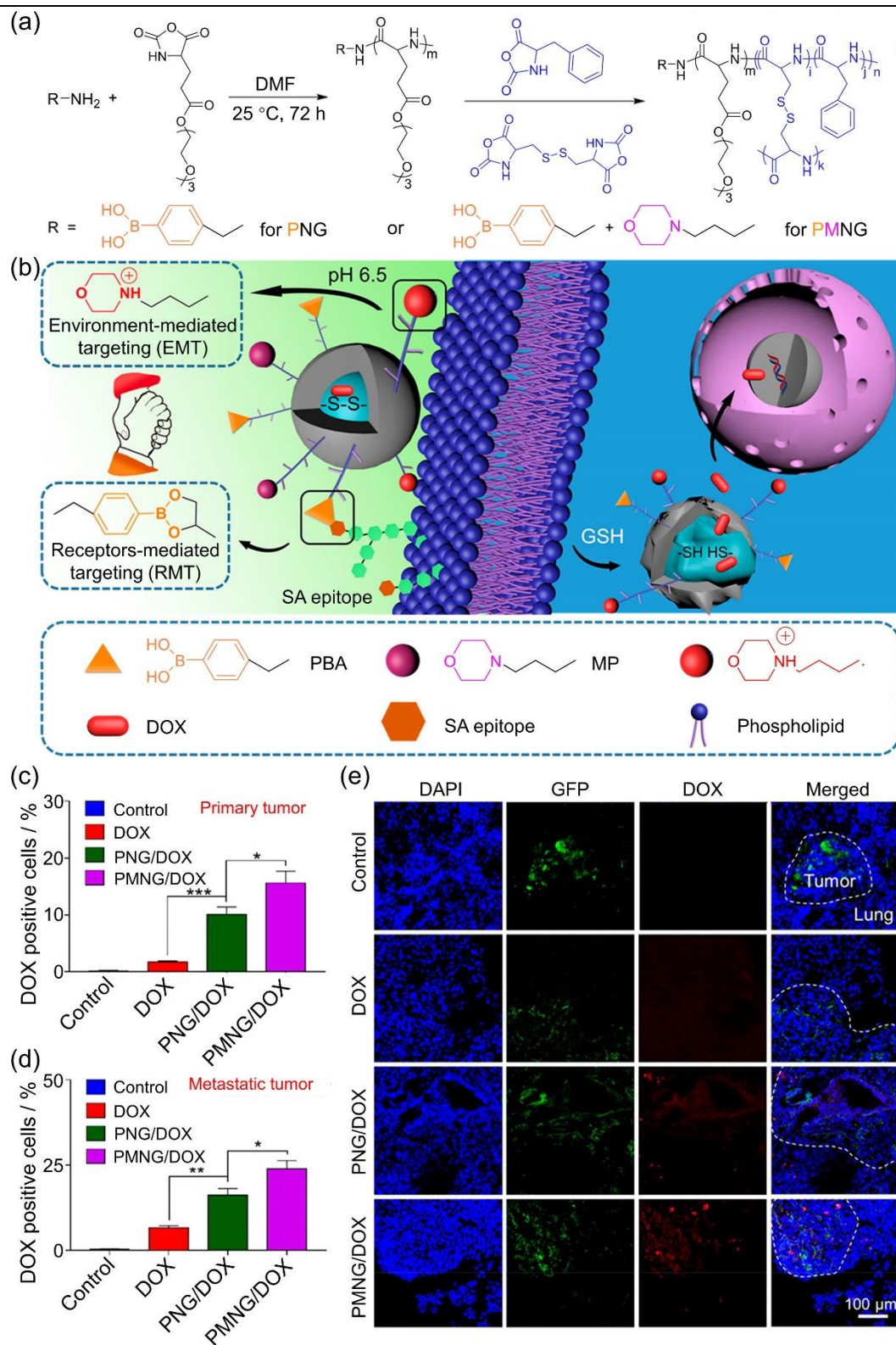


图 4 同时具备环境介导靶向 (EMT) 以及受体介导靶向 (RMT) 的 PMNG 聚氨基酸纳米凝胶体系^[7]: (a) PBA 修饰的纳米凝胶 (PNG) 和 PMNG 的合成路线; (b) PMNG 的靶向机理; (c) 原代肿瘤细胞的不同载体处理 12 h 后的细胞流式细胞术分析; (d) 肿瘤转移细胞的不同载体处理 12 h 后的细胞流式细胞术分析; (e) 治疗 12 h 后转移性肺部截面的激光共聚焦显微镜 (CLSM) 图像。

Fig. 4 Engineered PMNG with both environment-mediated targeting (EMT) and receptors-mediated targeting (RMT)^[7]: (a) Synthesis routes of PNG and PMNG; (b) Targeting mechanism of PMNG; (c) Flow cytometry

analyses of primary tumor cells after 12 h treated by different formulations; (d) Flow cytometry analyses of metastatic tumor cells after 12 h treated by different formulations; (e) CLSM images of metastatic lung sections at 12 h posttreatment.

1.3 活性氧响应性纳米凝胶

与还原性响应相对应的氧化性响应也属于内源刺激响应性^[114-115]。由于肿瘤区域内细胞中存在过表达的活性氧自由基 (ROS), 因此对于 ROS 敏感的化学键可以被用于聚氨基酸纳米凝胶当中, 得到氧化响应的凝胶体系。人们发现与硫同组的硒元素形成的二硒键可以达到这一要求, 由于二硒键会被 ROS 氧化裂解, 因此通过二硒键交联的纳米凝胶能够在肿瘤区域内 ROS 存在的情况下发生解交联过程, 从而使凝胶膨胀, 释放出包载的药物, 达到靶向运载药物的目的。比如, Deepagan 等^[114]合成了由二硒化物交联的 ROS 响应性纳米凝胶, 该纳米凝胶由含有 PEG 和多肽衍生物的含硒醇三嵌段共聚物衍生而来。他们首先通过 mPEG-NH₂ 大分子引发剂引发 NCA 单体的开环聚合, 合成了聚乙二醇单甲醚-*block*-聚(γ -3-氯丙烷-L-谷氨酸)-*block*-聚(γ -苄基-L-谷氨酸)。而后将该聚合物与二硒化钠反应合成含硒醇的三嵌段共聚物。最后通过硒原子之间的自发交联制备出了由二硒键交联的二硒化物纳米凝胶。DOX 作为治疗药物可以有效地封装在这种交联的二硒化物纳米凝胶中, 其载药率为 72%。在没有过氧化氢 (H₂O₂) 存在的情况下将纳米凝胶置于 37 °C 的溶液中, 72 h 内仅有 17.3% 的 DOX 会从纳米凝胶中释放出来, 而在 100.0 μ mol/L H₂O₂ 存在下, 65% 的 DOX 会从纳米凝胶中较为迅速地释放出来。进一步证明了当纳米载体富集在肿瘤区域时, 纳米凝胶中的二硒键将发生断裂, 从而使 DOX 被释放出来, 有效地抑制肿瘤生长。这种响应性的纳米凝胶尚未被广泛地进行深入研究, 具有较大的发展潜力。

1.4 其他内源刺激响应性纳米凝胶

细胞内外的物质构成有很大的不同, 因此除了上述提到的 pH、GSH、ROS 等响应性的纳米凝胶外, 还有许多其他的内源刺激能够引发聚氨基酸纳米凝胶的结构性能变化, 其中包括酶、葡萄糖等。

酶是一种会在肿瘤的侵入边缘处过表达的生物相关刺激物, 也可以用作控制药物释放的触发因素^[116-117]。比如, Nishimura 等^[116]先制备了麦芽五糖功能化的胆甾醇基聚(L-赖氨酸)纳米凝胶, 而后通过糖原分支酶和磷酸化酶的串联聚合在凝胶上接枝了直链淀粉的支链。这种纳米凝胶能够较为成功地将抗血管内皮生长因子 (VEGF) 的 siRNA 运载至小鼠肾癌 (Renca) 细胞中。因为该纳米凝胶带有多糖壳结构时, 具有中性的 ζ 电势且结构十分稳定, 对于细胞来说毒性较小, 而当凝胶的壳结构被细胞中表达的 α -淀粉酶降解后, 其表面电荷会变为阳性, 其阳离子表面促进纳米凝胶的细胞内化, 从而将 siRNA 运载至小鼠 Renca 细胞中, 达到运载药物的目的。实验证实, 当纳米凝胶与 Renca 细胞单独孵育时, VEGF 的信使 RNA (mRNA) 表达水平仅下降了 20%, 与之形成对比的是, 添加 α -淀粉酶后 mRNA 表达水平降低至 50%, 证实了酶反应性纳米凝胶作为药物输送平台的潜力。

对葡萄糖敏感的聚氨基酸纳米凝胶可以用来包载胰岛素以达到治疗糖尿病的目的^[118-119]。作为继心血管

疾病和癌症后危及人类健康的第 3 大疾病, 糖尿病是一种身体无法在正常生理水平内调节血糖浓度的慢性疾病, 因此用于葡萄糖水平异常时胰岛素按需释放的葡萄糖响应性胰岛素递送系统 (GRIDS) 得到了快速的发展, 葡萄糖响应的聚氨基酸纳米凝胶可以达到这一要求^[118,120]。比如, Zhao 等^[118]用己二酰胺基苯基硼酸 (AAPBA) 使糖肽发生交联, 制备了一种葡萄糖敏感的纳米凝胶。随着葡萄糖浓度的增加, 胰岛素会从载有胰岛素的纳米凝胶中释放出来。实验证实, 这种凝胶在含有 0、0.5、1、2、3 mg/mL 葡萄糖的 PBS 溶液中浸泡 2 h, 最终会分别释放出 12.3%、24.6%、33.2%、45.7% 和 56.5% 的胰岛素。这进一步表明了将聚氨基酸纳米凝胶在作为治疗糖尿病的葡萄糖响应递送载体具有较好的发展前景。

2 外源刺激响应性聚氨基酸纳米凝胶

外源刺激也可以影响纳米凝胶的结构, 从而达到释放药物的目的^[58]。同内源刺激相比, 外源性的刺激最大的优势是可以通过人为操作控制其有无。因此外源刺激响应性的聚氨基酸纳米凝胶可以同内源刺激响应性互相弥补, 在时间和空间上双重控制药物的释放, 从而更为准确地运输药物^[2]。常用的外源性刺激有温度、光等, 其响应性的原理同内源刺激响应性类似, 也是通过破坏聚氨基酸纳米凝胶的内部交联网络, 使其发生膨胀或断裂等整体结构上的变化, 迫使载于其内部的药物快速释放^[72,121-122]。下面将大致介绍不同的外源刺激响应性的聚氨基酸纳米凝胶的性质及制备。

2.1 温度响应性纳米凝胶

温度是一种能够很容易进行人为调控的外界条件, 因此将温度作为一种改变纳米凝胶形貌结构的调控手段是一种较为常见的方法^[123-125]。目前已经成功设计了多种温度响应的聚氨基酸纳米凝胶体系^[76-78,126]。一般情况下, 温度的变化会引起纳米凝胶尺寸的变化, 从而导致治疗药物的释放。比如, Ko 等^[125]将温度响应的聚氨基酸纳米凝胶作为一种细胞内递送的纳米载体向细胞内递送了一种生物大分子药物, 异硫氰酸酯荧光素偶联牛血清白蛋白。这种热响应性的聚氨基酸纳米凝胶由带正电荷的甲氧基聚(乙二醇)-(L-聚赖氨酸)-聚(L-丙氨酸) (PEG-PLys-PAla) 和带负电荷的透明质酸 (HA) 的离子复合制备而成 (PEG-PLys-PAla/HA)。在 20 °C 下, PEG-PLys-PAla/HA 纳米凝胶的粒径为 220 nm, 而在 37 °C 下, 粒径会收缩至 160 nm, 温度的升高导致纳米载体的直径减小, 且通过调节比例, 使纳米凝胶整体显正电荷, 可增强纳米凝胶内化到肿瘤细胞中的可能性, 加速药物的传递。这种可以依赖温度调控尺寸的纳米凝胶有望应用于智能药物递送。

2.2 光敏感响应性纳米凝胶

除了温度响应的聚氨基酸纳米凝胶外, 近年来也有人对具有光敏感响应性的此类材料进行了研究。比如, Xu 等^[121]设计并合成了一种糖端的聚乙二醇-聚半胱氨酸/金复合纳米凝胶, 并在其中包载了 DOX 和 6-巯嘌呤 (6-MP) 两种抗肿瘤药物。这种载体有很强的近红外光吸收能力及光热效果, 是一种还原和近红外光双响应的载药纳米凝胶。由图 5 可看出, 这种凝胶因其二硫键可以被 GSH 降解, 也能够发生近红外光响应, 从而释放出其内部的抗肿瘤药物。近红外光会同时产生光热效果, 使化疗与光热两者相结合, 协

同抑制肿瘤生长。实验中 DOX 和 6-MP 的协同指数达到了 0.76 和 0.33, 展示出了良好的协同抗肿瘤效果。这种材料证明了用外界的光来影响纳米凝胶的药物运输释放的可行性, 在癌症治疗方面具有一定的潜力, 也可以将光响应与其他响应性结合以进一步提高载药纳米凝胶的治疗效果。

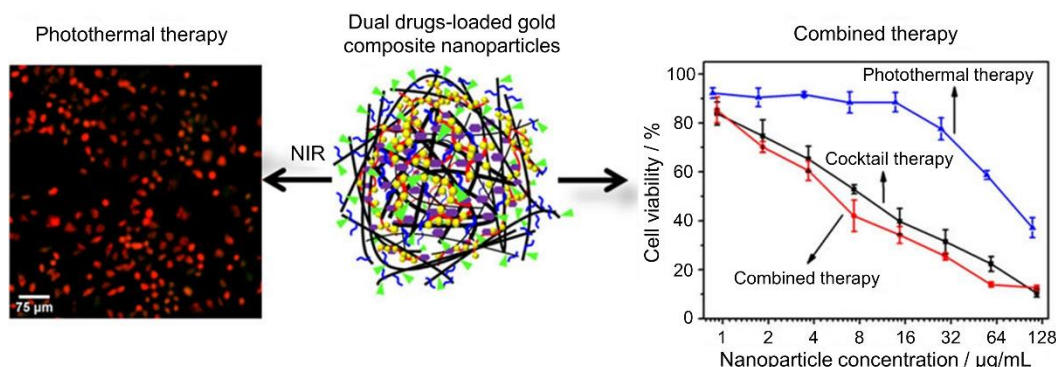


图 5 化疗—光热协同抑制肿瘤细胞生长示意图^[121]

Fig. 5 Scheme of synergistic cocktail chemotherapy with photothermal therapy to suppress tumor^[121]

总结与展望

尽管拥有很多优异的特性, 响应性的功能性聚氨基酸纳米凝胶在实际应用的过程中仍然存在许多亟待解决的问题以期能够达到理想的临床应用治疗效果, 包括其安全性、特异性和运载效率等。到目前为止, 由于体内复杂的微环境, 单响应和多响应的功能性纳米凝胶尚不足以完全准确地靶向释放药物, 且多响应性纳米凝胶中不同刺激响应的整合及其协同效应的探索仍然有待深入。而且, 多响应纳米凝胶的制备过程较为复杂, 导致其成本高而产量低, 也限制了其进一步的临床应用。

因此, 功能性聚氨基酸纳米凝胶仍然需要技术或者材料上的突破来克服这些缺点。除文中所述的刺激性响应外, 可以寻找新型更高效的刺激响应性载体, 使得聚氨基酸纳米凝胶能更好地控制药物递送, 克服脱靶效应。比如, Zhu 等^[127]开发了一种对于二氧化硫响应的可反复吸收与生成的聚氨基酸纳米凝胶体系, 证明了该纳米凝胶对气体有较为明显的响应, 也许这种独特性能也可以在治疗药物的运载方面有所应用。人们还可以在未来的研究中进一步探索不同刺激反应基团的协同作用, 获得高效的多响应刺激组合。比如将聚氨基酸纳米凝胶的化学疗法与其他治疗途径(光动力学疗法、光热疗法和放射疗法等)相结合, 建立治疗癌症的创新方法。此外, 寻找新的高效可控的聚氨基酸的合成途径也可以使这一平台得到新发展, 制备方法的简化可以在一定程度上提高载体的产量、降低成本, 对分子量的精准控制也能够对载体的性能进行更加规范的调控, 同时也可以为功能化基团的引入提供新思路。

除智能药物运输体系外, 聚氨基酸纳米凝胶在生物医学领域中还可用于基因递送、免疫工程等较新的研究领域。比如聚氨基酸纳米凝胶可以作为纳米工程材料保护和递送包括肽和蛋白质等在内的抗原, 以刺激 T 细胞免疫和 B 细胞介导的免疫调节抗体应答。目前, 这种材料尚未在生物医学应用中发挥其全部潜力, 还有许多新颖的想法等待人们去研究和实践。只有通过不断发展和创新, 聚氨基酸纳米凝胶才能在生物医学的应用保持并优化其潜力。

参考文献:

- [1] VICARIO-DE-LA-TORRE M, FORCADA J. The potential of stimuli-responsive nanogels in drug and active molecule delivery for targeted therapy[J]. *Gels*, 2017, 3(2): 16.
- [2] HE C L, ZHUANG X L, TANG Z H, *et al.* Stimuli-sensitive synthetic polypeptide-based materials for drug and gene delivery[J]. *Advanced Healthcare Materials*, 2012, 1(1): 48-78.
- [3] HUANG J, HEISE A. Stimuli responsive synthetic polypeptides derived from *N*-carboxyanhydride (NCA) polymerisation[J]. *Chemical Society Reviews*, 2013, 42(17): 7373-7390.
- [4] WU H Q, WANG C C. Biodegradable smart nanogels: A new platform for targeting drug delivery and biomedical diagnostics[J]. *Langmuir*, 2016, 32(25): 6211-6225.
- [5] SHEN Y, FU X H, FU W X, *et al.* Biodegradable stimuli-responsive polypeptide materials prepared by ring opening polymerization[J]. *Chemical Society Reviews*, 2015, 44(3): 612-622.
- [6] ZHANG Y, WANG F, LI M, *et al.* Self-stabilized hyaluronate nanogel for intracellular codelivery of doxorubicin and cisplatin to osteosarcoma[J]. *Advanced Science*, 2018, 5(5): 1700821.
- [7] CHEN J, DING J, XU W, *et al.* Receptor and microenvironment dual-recognizable nanogel for targeted chemotherapy of highly metastatic malignancy[J]. *Nano Letters*, 2017, 17(7): 4526-4533.
- [8] CHEN J J, DING J X, XIAO C S, *et al.* Emerging antitumor applications of extracellularly reengineered polymeric nanocarriers[J]. *Biomaterials Science*, 2015, 3(7): 988-1001.
- [9] CHIANG W H, HUANG W C, SHEN M Y, *et al.* Dual-layered nanogel-coated hollow lipid/polypeptide conjugate assemblies for potential pH-triggered intracellular drug release[J]. *Plos One*, 2014, 9(3): e92268.
- [10] DING J, SHI F, LI D, *et al.* Enhanced endocytosis of acid-sensitive doxorubicin derivatives with intelligent nanogel for improved security and efficacy[J]. *Biomaterials Science*, 2013, 1(6): 633-646.
- [11] DING J X, LI C, ZHANG Y, *et al.* Chirality-mediated polypeptide micelles for regulated drug delivery[J]. *Acta Biomaterialia*, 2015, 11: 346-355.
- [12] DING J X, SHI F H, LI D, *et al.* Enhanced endocytosis of acid-sensitive doxorubicin derivatives with intelligent nanogel for improved security and efficacy (vol 1, pg 633, 2013)[J]. *Biomaterials Science*, 2015, 3(2): 414-414.
- [13] DING J X, SHI F H, XIAO C S, *et al.* One-step preparation of reduction-responsive poly(ethylene glycol)-poly(amino acid)s nanogels as efficient intracellular drug delivery platforms[J]. *Polymer Chemistry*, 2011, 2(12): 2857-2864.
- [14] DING J X, XIAO C S, HE C L, *et al.* Facile preparation of a cationic poly(amino acid) vesicle for potential drug and gene co-delivery[J]. *Nanotechnology*, 2011, 22(49): 494012.
- [15] DING J X, XIAO C S, LI Y C, *et al.* Efficacious hepatoma-targeted nanomedicine self-assembled from

- galactopeptide and doxorubicin driven by two-stage physical interactions[J]. *Journal of Controlled Release*, 2013, 169(3): 193-203.
- [16] NAGARSHETH N, WICHA M S, ZOU W P. Chemokines in the cancer microenvironment and their relevance in cancer immunotherapy[J]. *Nature Reviews Immunology*, 2017, 17(9): 559-572.
- [17] RAEMDONCK K, DEMEESTER J, DE SMEDT S. Advanced nanogel engineering for drug delivery[J]. *Soft Matter*, 2009, 5(4): 707-715.
- [18] ZHANG J C, DING J X, XIAO C S, *et al.* Synthesis and characterization of tumor-acidity-sensitive poly(L-lysine)-doxorubicin conjugates[J]. *Chemical Journal of Chinese Universities-Chinese*, 2012, 33(12): 2809-2815.
- [19] ZHANG Q L, DING J X, LV C W, *et al.* Epirubicin-complexed polypeptide micelle effectively and safely treats hepatocellular carcinoma[J]. *Polymers*, 2015, 7(11): 2410-2430.
- [20] JING T, LI T, RUAN Z, *et al.* Imaging-guided pHe and glutathione dual responsive polypeptide nanogel for smart drug delivery[J]. *Macromolecular Materials and Engineering*, 2018, DOI: 10.1002/mame.201800060.
- [21] DING J, CHEN J, LI D, *et al.* Biocompatible reduction-responsive polypeptide micelles as nanocarriers for enhanced chemotherapy efficacy *in vitro*[J]. *Journal of Materials Chemistry B*, 2012, 1(1): 69-81.
- [22] DING J, LI C, ZHANG Y, *et al.* Chirality-mediated polypeptide micelles for regulated drug delivery[J]. *Acta Biomaterialia*, 2015, 11: 346-355.
- [23] DING J, XIAO C, ZHUANG X, *et al.* Direct formation of cationic polypeptide vesicle as potential carrier for drug and gene[J]. *Materials Letters*, 2012, 73: 17-20.
- [24] DING J, XIAO C, LI Y, *et al.* Efficacious hepatoma-targeted nanomedicine self-assembled from galactopeptide and doxorubicin driven by two-stage physical interactions[J]. *Journal of Controlled Release*, 2013, 169(3): 193-203.
- [25] CHEN J, DING J, XIAO C, *et al.* Emerging antitumor applications of extracellularly reengineered polymeric nanocarriers[J]. *Biomaterials Science*, 2015, 3(7): 988-1001.
- [26] ZHANG Q, DING J, LV C, *et al.* Epirubicin-complexed polypeptide micelle effectively and safely treats hepatocellular carcinoma[J]. *Polymers*, 2015, 7(11): 2410-2430.
- [27] GORDON M R, ZHAO B, ANSON F, *et al.* Matrix metalloproteinase-9-responsive nanogels for proximal surface conversion and activated cellular uptake[J]. *Biomacromolecules*, 2018, 19(3): 860-871.
- [28] DING J, XIAO C, HE C, *et al.* Facile preparation of a cationic poly(amino acid) vesicle for potential drug and gene co-delivery[J]. *Nanotechnology*, 2011, 22(49): 494012.
- [29] DING J, SHI F, XIAO C, *et al.* Facile preparation of pH and reduction responsive PEGylated polypeptide

- nanogel for efficient doxorubicin loading and intracellular delivery[J]. *Journal of Controlled Release*, 2013, 1(172): e40-e41.
- [30] DING J, XIAO C, TANG Z, *et al.* Highly efficient "grafting from" an α -helical polypeptide backbone by atom transfer radical polymerization[J]. *Macromolecular Bioscience*, 2011, 11(2): 192-198.
- [31] SHI F, DING J, XIAO C, *et al.* Intracellular microenvironment responsive PEGylated polypeptide nanogels with ionizable cores for efficient doxorubicin loading and triggered release[J]. *Journal of Materials Chemistry*, 2012, 22(28): 14168-14179.
- [32] SHI B, HUANG K, DING J, *et al.* Intracellularly swollen polypeptide nanogel assists hepatoma chemotherapy[J]. *Theranostics*, 2017, 7(3): 703-716.
- [33] XING T, LAI B, YE X D, *et al.* Disulfide core cross-linked pegylated polypeptide nanogel prepared by a one-step ring opening copolymerization of *N*-carboxyanhydrides for drug delivery[J]. *Macromolecular Bioscience*, 2011, 11(7): 962-969.
- [34] XING T, LAI B, YAN L F. Disulfide cross-linked polypeptide nanogel conjugated with a fluorescent probe as a potential image-guided drug-delivery agent[J]. *Macromolecular Chemistry and Physics*, 2013, 214(5): 578-588.
- [35] LIU X G, WANG J M, XU W G, *et al.* Glutathione-degradable drug-loaded nanogel effectively and securely suppresses hepatoma in mouse model[J]. *International Journal of Nanomedicine*, 2015, 10: 6587-6602.
- [36] SHI F H, DING J X, XIAO C S, *et al.* Intracellular microenvironment responsive PEGylated polypeptide nanogels with ionizable cores for efficient doxorubicin loading and triggered release[J]. *Journal of Materials Chemistry*, 2012, 22(28): 14168-14179.
- [37] ZHOU J, CHEN P, DENG C, *et al.* A simple and versatile synthetic strategy to functional polypeptides *via* vinyl sulfone-substituted *L*-cysteine *N*-carboxyanhydride[J]. *Macromolecules*, 2013, 46(17): 6723-6730.
- [38] LU H D, SORANNO D E, RODELL C B, *et al.* Secondary photocrosslinking of injectable shear-thinning dock-and-lock hydrogels[J]. *Advanced Healthcare Materials*, 2013, 2(7): 1028-1036.
- [39] ZHAN Y, GON ALVES M, YI P, *et al.* Thermo/redox/ph-triple sensitive poly(*N*-isopropylacrylamide-*co*-acrylic acid) nanogels for anticancer drug delivery[J]. *Journal of Materials Chemistry B*, 2015, 3(20): 4221-4230.
- [40] CHEN J J, DING J X, WANG Y C, *et al.* Sequentially responsive shell-stacked nanoparticles for deep penetration into solid tumors[J]. *Advanced Materials*, 2017, 29(32), 1701170.
- [41] MAYA S, SARMENTO B, NAIR A, *et al.* Smart stimuli sensitive nanogels in cancer drug delivery and imaging: A review[J]. *Current Pharmaceutical Design*, 2013, 19(41): 7203-7218.
- [42] DENG C, WU J T, CHENG R, *et al.* Functional polypeptide and hybrid materials: Precision synthesis *via* α -amino acid *N*-carboxyanhydride polymerization and emerging biomedical applications[J]. *Progress in*

- Polymer Science, 2014, 39(2): 330-364.
- [43] DING J, ZHUANG X, XIAO C, *et al.* Preparation of photo-cross-linked pH-responsive polypeptide nanogels as potential carriers for controlled drug delivery[J]. Journal of Materials Chemistry, 2011, 21(30): 11383-11391.
- [44] HUANG K, SHI B, XU W, *et al.* Reduction-responsive polypeptide nanogel delivers antitumor drug for improved efficacy and safety[J]. Acta Biomaterialia, 2015, 27: 179-193.
- [45] DING J, XU W, ZHANG Y, *et al.* Self-reinforced endocytoses of smart polypeptide nanogels for "on-demand" drug delivery[J]. Journal of Controlled Release, 2013, 172(2): 444-455.
- [46] ZHANG J-C, DING J-X, XIAO C-S, *et al.* Synthesis and characterization of tumor-acidity-sensitive poly(L-lysine)-doxorubicin conjugates[J]. Chemical Journal of Chinese Universities-Chinese, 2012, 33: 2809-2815.
- [47] DING J, ZHAO L, LI D, *et al.* Thermo-responsive "hairy-rod" polypeptides for smart antitumor drug delivery[J]. Polymer Chemistry, 2013, 4(11): 3345-3356.
- [48] JIANG Z, CHEN J, CUI L, *et al.* Advances in stimuli-responsive polypeptide nanogels[J]. Small Methods, 2018, 2(3): 1700307.
- [49] CHEN J, DING J, ZHANG Y, *et al.* Polyion complex micelles with gradient pH-sensitivity for adjustable intracellular drug delivery[J]. Polymer Chemistry, 2015, 6(3): 397-405.
- [50] GU X, DING J, ZHANG Z, *et al.* Polymeric nanocarriers for drug delivery in osteosarcoma treatment[J]. Current Pharmaceutical Design, 2015, 21(36): 5187-5197.
- [51] BAURI K, NANDI M, DE P. Amino acid-derived stimuli-responsive polymers and their applications[J]. Polymer Chemistry, 2018, 9(11): 1257-1287.
- [52] DING J, CHEN L, XIAO C, *et al.* Noncovalent interaction-assisted polymeric micelles for controlled drug delivery[J]. Chemical Communications, 2014, 50(77): 11274-11290.
- [53] DING J, SHI F, XIAO C, *et al.* One-step preparation of reduction-responsive poly(ethylene glycol)-poly(amino acid)s nanogels as efficient intracellular drug delivery platforms[J]. Polymer Chemistry, 2011, 2(12): 2857-2864.
- [54] DING J, XIAO C, YAN L, *et al.* pH and dual redox responsive nanogel based on poly(L-glutamic acid) as potential intracellular drug carrier[J]. Journal of Controlled Release, 2011, 152: e11-e13.
- [55] DING J, HE C, XIAO C, *et al.* pH-responsive drug delivery systems based on clickable poly(L-glutamic acid)-grafted comb copolymers[J]. Macromolecular Research, 2012, 20(3): 292-301.
- [56] CHEN J, ZHANG Y, DING J, *et al.* pH-sensitive polyion complex micelles for tunable intracellular drug delivery[J]. Journal of controlled release: official journal of the Controlled Release Society, 2015, 213: e55.
- [57] SONI G, YADAV K S. Nanogels as potential nanomedicine carrier for treatment of cancer: A mini review of the

- state of the art[J]. Saudi Pharmaceutical Journal, 2016, 24(2): 133-139.
- [58] MURA S, NICOLAS J, COUVREUR P. Stimuli-responsive nanocarriers for drug delivery[J]. Nature Materials, 2013, 12(11): 991-1003.
- [59] DING J X, ZHUANG X L, XIAO C S, *et al.* Preparation of photo-cross-linked pH-responsive polypeptide nanogels as potential carriers for controlled drug delivery[J]. Journal of Materials Chemistry, 2011, 21(30): 11383-11391.
- [60] LEE E S, GAO Z G, BAE Y H. Recent progress in tumor pH targeting nanotechnology[J]. Journal of Controlled Release, 2008, 132(3): 164-170.
- [61] LEE E S, OH K T, KIM D, *et al.* Tumor pH-responsive flower-like micelles of poly(L-lactic acid)-*b*-poly(ethylene glycol)-*b*-poly(L-histidine)[J]. Journal of Controlled Release, 2007, 123(1): 19-26.
- [62] LEE H J, BAE Y. Cross-linked nanoassemblies from poly(ethylene glycol)-poly(aspartate) block copolymers as stable supramolecular templates for particulate drug delivery[J]. Biomacromolecules, 2011, 12(7): 2686-2696.
- [63] LEE S J, MIN K H, LEE H J, *et al.* Ketall cross-linked poly(ethylene glycol)-poly(amino acid)s copolymer micelles for efficient intracellular delivery of doxorubicin[J]. Biomacromolecules, 2011, 12(4): 1224-1233.
- [64] LI D, FENG X, CHEN L, *et al.* One-step synthesis of targeted acid-labile polysaccharide prodrug for efficiently intracellular drug delivery[J]. ACS Biomaterials Science & Engineering, 2018, 4(2): 539-546.
- [65] LU C C, LI B Q, LIU N, *et al.* A hydrazone crosslinked zwitterionic polypeptide nanogel as a platform for controlled drug delivery[J]. Rsc Advances, 2014, 4(92): 50301-50311.
- [66] LV S X, SONG W T, TANG Z H, *et al.* Charge-conversional PEG-polypeptide polyionic complex nanoparticles from simple blending of a pair of oppositely charged block copolymers as an intelligent vehicle for efficient antitumor drug delivery[J]. Molecular Pharmaceutics, 2014, 11(5): 1562-1574.
- [67] PERES L B, DOS ANJOS R S, TAPPERTZHOFEN L C, *et al.* pH-responsive physically and chemically cross-linked glutamic-acid-based hydrogels and nanogels[J]. European Polymer Journal, 2018, 101: 341-349.
- [68] ZHAO K, LI D, XU W, *et al.* Targeted hydroxyethyl starch prodrug for inhibiting the growth and metastasis of prostate cancer[J]. Biomaterials, 2017, 116: 82-94.
- [69] ZHANG Y, CAI L, LI D, *et al.* Tumor microenvironment-responsive hyaluronate-calcium carbonate hybrid nanoparticle enables effective chemotherapy for primary and advanced osteosarcomas[J]. Nano Research, DOI: 10.1007/s12274-018-2066-0.
- [70] YI S H, YANG B, LIAO R Q. Synthesis, characterization, and cytotoxicity studies of novel pendant polymers: Amino acid beta-cyclodextrin-conjugated poly(epsilon-lysine) derivatives[J]. International Journal of Polymer Analysis and Characterization, 2017, 22(3): 247-255.

- [71] YAN S, SUN Y, CHEN A, *et al.* Templated fabrication of pH-responsive poly(L-glutamic acid) based nanogels *via* surface-grafting and macromolecular crosslinking[J]. Rsc Advances, 2017, 7(24): 14888-14901.
- [72] YAN L S, YANG L X, HE H Y, *et al.* Photo-cross-linked mPEG-poly(γ -cinnamyl-L-glutamate) micelles as stable drug carriers[J]. Polymer Chemistry, 2012, 3(5): 1300-1307.
- [73] SULISTIO A, BLENCOWE A, WANG J P, *et al.* Stabilization of peptide-based vesicles *via in situ* oxygen-mediated cross-linking[J]. Macromolecular Bioscience, 2012, 12(9): 1220-1231.
- [74] SHIM M S, KWON Y J. Acid-transforming polypeptide micelles for targeted nonviral gene delivery[J]. Biomaterials, 2010, 31(12): 3404-3413.
- [75] XIAO J, TAN J Y, JIANG R J, *et al.* A pH and redox dual responsive homopolypeptide: Synthesis, characterization, and application in "smart" single-walled carbon nanotube dispersion[J]. Polymer Chemistry, 2017, 8(45): 7025-7032.
- [76] ZHAO C W, GAO X Y, HE P, *et al.* Facile synthesis of thermo- and pH-responsive biodegradable microgels[J]. Colloid and Polymer Science, 2011, 289(4): 447-451.
- [77] ZHAO C W, HE P, XIAO C S, *et al.* Synthesis of temperature and pH-responsive crosslinked micelles from polypeptide-based graft copolymer[J]. Journal of Colloid and Interface Science, 2011, 359(2): 436-442.
- [78] LI L Y, HE W D, LI J A, *et al.* Shell-cross-linked micelles from pnipam-*b*-(PLL)₂ Y-shaped miktoarm star copolymer as drug carriers[J]. Biomacromolecules, 2010, 11(7): 1882-1890.
- [79] LI Y, BUI Q N, DUY L T M, *et al.* One-step preparation of pH-responsive polymeric nanogels as intelligent drug delivery systems for tumor therapy[J]. Biomacromolecules, 2018, 19(6): 2062-2080.
- [80] MORIMOTO N, YAMAZAKI M, TAMADA J, *et al.* Polysaccharide-hair cationic polypeptide nanogels: Self-assembly and enzymatic polymerization of amylose primer-modified cholesteryl poly(L-lysine)[J]. Langmuir, 2013, 29(24): 7509-7514.
- [81] OBA M, AOYAGI K, MIYATA K, *et al.* Polyplex micelles with cyclic rgd peptide ligands and disulfide cross-links directing to the enhanced transfection *via* controlled intracellular trafficking[J]. Molecular Pharmaceutics, 2008, 5(6): 1080-1092.
- [82] SHI B, HUANG K X, DING J X, *et al.* Intracellularly swollen polypeptide nanogel assists hepatoma chemotherapy[J]. Theranostics, 2017, 7(3): 703-716.
- [83] SULISTIO A, WIDJAYA A, BLENCOWE A, *et al.* Star polymers composed entirely of amino acid building blocks: A route towards stereospecific, biodegradable and hierarchically functionalized stars[J]. Chemical Communications, 2011, 47(4): 1151-1153.
- [84] YANG J, YAO M H, WEN L, *et al.* Multifunctional quantum dot-polypeptide hybrid nanogel for targeted

- imaging and drug delivery[J]. *Nanoscale*, 2014, 6(19): 11282-11292.
- [85] ZHANG Y X, CHEN Y F, SHEN X Y, *et al.* Reduction- and pH-sensitive lipoic acid-modified poly(*L*-lysine) and polypeptide/silica hybrid hydrogels/nanogels[J]. *Polymer*, 2016, 86: 32-41.
- [86] SUN H, ZHANG Y, ZHONG Z. Reduction-sensitive polymeric nanomedicines: An emerging multifunctional platform for targeted cancer therapy[J]. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2018, DOI: 10.1016/j.addr.2018.05.007.
- [87] KWOK K Y, PARK Y, YANG Y S, *et al.* *In vivo* gene transfer using sulfhydryl cross-linked PEG-peptide/glycopeptide DNA co-condensates[J]. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2003, 92(6): 1174-1185.
- [88] LI M Q, TANG Z H, SUN H, *et al.* pH and reduction dual-responsive nanogel cross-linked by quaternization reaction for enhanced cellular internalization and intracellular drug delivery[J]. *Polymer Chemistry*, 2013, 4(4): 1199-1207.
- [89] MIYATA K, KAKIZAWA Y, NISHIYAMA N, *et al.* Block cationer polyplexes with regulated densities of charge and disulfide cross-linking directed to enhance gene expression[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2004, 126(8): 2355-2361.
- [90] MIYATA K, KAKIZAWA Y, NISHIYAMA N, *et al.* Freeze-dried formulations for *in vivo* gene delivery of pegylated polyplex micelles with disulfide crosslinked cores to the liver[J]. *Journal of Controlled Release*, 2005, 109(1-3): 15-23.
- [91] BILALIS P, VARLAS S, KIAFA A, *et al.* Preparation of hybrid triple-stimuli responsive nanogels based on poly(*L*-histidine)[J]. *Journal of Polymer Science Part a-Polymer Chemistry*, 2016, 54(9): 1278-1288.
- [92] CHEN J, DING J, XU W, *et al.* Receptor and microenvironment dual-recognizable nanogel for targeted chemotherapy of highly metastatic malignancy[J]. *Nano Letters*, 2017, 17(7): 4526-4533.
- [93] CHENG W Y, CHENG H, WAN S S, *et al.* Dual-stimulus-responsive fluorescent supramolecular prodrug for antitumor drug delivery[J]. *Chemistry of Materials*, 2017, 29(10): 4218-4226.
- [94] CHRISTIE R J, MATSUMOTO Y, MIYATA K, *et al.* Targeted polymeric micelles for sirna treatment of experimental cancer by intravenous injection[J]. *Acs Nano*, 2012, 6(6): 5174-5189.
- [95] DAI J, LIN S D, CHENG D, *et al.* Interlayer-crosslinked micelle with partially hydrated core showing reduction and pH dual sensitivity for pinpointed intracellular drug release[J]. *Angewandte Chemie-International Edition*, 2011, 50(40): 9404-9408.
- [96] HOW S C, CHEN Y F, HSIEH P L, *et al.* Cell-targeted, dual reduction- and pH-responsive saccharide/lipoic acid-modified poly(*L*-lysine) and poly(acrylic acid) polyionic complex nanogels for drug delivery[J]. *Colloids*

- and Surfaces B-Biointerfaces, 2017, 153: 244-252.
- [97] KAKIZAWA Y, HARADA A, KATAOKA K. Environment-sensitive stabilization of core-shell structured polyion complex micelle by reversible cross-linking of the core through disulfide bond[J]. Journal of the American Chemical Society, 1999, 121(48): 11247-11248.
- [98] KOO A N, LEE H J, KIM S E, *et al.* Disulfide-cross-linked PEG-poly(amino acid)s copolymer micelles for glutathione-mediated intracellular drug delivery[J]. Chemical Communications, 2008, (48): 6570-6572.
- [99] GUO H, XU W, CHEN J, *et al.* Positively charged polypeptide nanogel enhances mucoadhesion and penetrability of 10-hydroxycamptothecin in orthotopic bladder carcinoma[J]. Journal of Controlled Release, 2017, 259: 136-148.
- [100] KOO A N, MIN K H, LEE H J, *et al.* Tumor accumulation and antitumor efficacy of docetaxel-loaded core-shell-corona micelles with shell-specific redox-responsive cross-links[J]. Biomaterials, 2012, 33(5): 1489-1499.
- [101] ZHANG Y, DING J X, LI M Q, *et al.* One-step "click chemistry"-synthesized cross-linked prodrug nanogel for highly selective intracellular drug delivery and upregulated antitumor efficacy[J]. Acs Applied Materials & Interfaces, 2016, 8(17): 10673-10682.
- [102] CHENG Y L, HE C L, XIAO C S, *et al.* Reduction-responsive cross-linked micelles based on PEGylated polypeptides prepared *via* click chemistry[J]. Polymer Chemistry, 2013, 4(13): 3851-3858.
- [103] ZHANG Z H, YIN L C, TU C L, *et al.* Redox-responsive, core cross-linked polyester micelles[J]. Acs Macro Letters, 2013, 2(1): 40-44.
- [104] CAVALIERI F, BERETTA G L, CUI J W, *et al.* Redox-sensitive PEG-polypeptide nanoporous particles for survivin silencing in prostate cancer cells[J]. Biomacromolecules, 2015, 16(7): 2168-2178.
- [105] XING T, MAO C Q, LAI B, *et al.* Synthesis of disulfide-cross-linked polypeptide nanogel conjugated with a near-infrared fluorescence probe for direct imaging of reduction-induced drug release[J]. Acs Applied Materials & Interfaces, 2012, 4(10): 5662-5672.
- [106] HUANG K X, SHI B, XU W G, *et al.* Reduction-responsive polypeptide nanogel delivers antitumor drug for improved efficacy and safety[J]. Acta Biomaterialia, 2015, 27: 179-193.
- [107] JING T T, FU L Y, LIU L, *et al.* A reduction-responsive polypeptide nanogel encapsulating NIR photosensitizer for imaging guided photodynamic therapy[J]. Polymer Chemistry, 2016, 7(4): 951-957.
- [108] HE L, LI D, WANG Z T, *et al.* L-cystine-crosslinked polypeptide nanogel as a reduction-responsive excipient for prostate cancer chemotherapy[J]. Polymers, 2016, 8(2): 36.
- [109] GUO H, LI F, XU W, *et al.* Mucoadhesive cationic polypeptide nanogel with enhanced penetration for efficient

- intravesical chemotherapy of bladder cancer[J]. *Advanced Science*, 2018, 5(6): 1800004.
- [110] LI S, ZHANG T, XU W, *et al.* Sarcoma-targeting peptide-decorated polypeptide nanogel intracellularly delivers shikonin for upregulated osteosarcoma necroptosis and diminished pulmonary metastasis[J]. *Theranostics*, 2018, 8(5): 1361-1375.
- [111] SUN J, CHEN X S, LU T C, *et al.* Formation of reversible shell cross-linked micelles from the biodegradable amphiphilic diblock copolymer poly(*L*-cysteine)-*block*-poly(*L*-lactide)[J]. *Langmuir*, 2008, 24(18): 10099-10106.
- [112] SUN J, CHEN X S, WEI J Z, *et al.* Application of the biodegradable diblock copolymer poly(*L*-lactide)-*block*-poly(*L*-cysteine): Drug delivery and protein conjugation[J]. *Journal of Applied Polymer Science*, 2010, 118(3): 1738-1742.
- [113] WANG K, LUO G F, LIU Y, *et al.* Redox-sensitive shell cross-linked PEG-polypeptide hybrid micelles for controlled drug release[J]. *Polymer Chemistry*, 2012, 3(4): 1084-1090.
- [114] DEEPAGAN V G, KWON S, YOU D G, *et al.* *In situ* diselenide-crosslinked polymeric micelles for ROS-mediated anticancer drug delivery[J]. *Biomaterials*, 2016, 103: 56-66.
- [115] LI C T, HUANG W, ZHOU L Z, *et al.* PEGylated poly(diselenide-phosphate) nanogel as efficient self-delivery nanomedicine for cancer therapy[J]. *Polymer Chemistry*, 2015, 6(36): 6498-6508.
- [116] NISHIMURA T, YAMADA A, UMEZAKI K, *et al.* Self-assembled polypeptide nanogels with enzymatically transformable surface as a small interfering RNA delivery platform[J]. *Biomacromolecules*, 2017, 18(12): 3913-3923.
- [117] KIM K, BAE B, KANG Y J, *et al.* Natural polypeptide-based supramolecular nanogels for stable noncovalent encapsulation[J]. *Biomacromolecules*, 2013, 14(10): 3515-3522.
- [118] ZHAO L, XIAO C S, DING J X, *et al.* Competitive binding-accelerated insulin release from a polypeptide nanogel for potential therapy of diabetes[J]. *Polymer Chemistry*, 2015, 6(20): 3807-3815.
- [119] ZHAO L, XIAO C, GAI G, *et al.* Glucose-sensitive polymer nanoparticles for self-regulated drug delivery[J]. *Chemical Communications*, 2016, 52(49): 7633-7652.
- [120] ZHAO L, XIAO C S, DING J X, *et al.* Facile one-pot synthesis of glucose-sensitive nanogel *via* thiol-ene click chemistry for self-regulated drug delivery[J]. *Acta Biomaterialia*, 2013, 9(5): 6535-6543.
- [121] WU X J, ZHOU L Z, SU Y, *et al.* Plasmonic, targeted, and dual drugs-loaded polypeptide composite nanoparticles for synergistic cocktail chemotherapy with photothermal therapy[J]. *Biomacromolecules*, 2016, 17(7): 2489-2501.
- [122] KOTHARANGANNAGARI V K, SANCHEZ-FERRER A, RUOKOLAINEN J, *et al.* Photoresponsive

- reversible aggregation and dissolution of rod-coil polypeptide diblock copolymers[J]. *Macromolecules*, 2011, 44(12): 4569-4573.
- [123] CHENG Y L, HE C L, XIAO C S, *et al.* Versatile synthesis of temperature-sensitive polypeptides by click grafting of oligo(ethylene glycol)[J]. *Polymer Chemistry*, 2011, 2(11): 2627-2634.
- [124] DESALE S S, RAJA S M, KIM J O, *et al.* Polypeptide-based nanogels co-encapsulating a synergistic combination of doxorubicin with 17-AAG show potent anti-tumor activity in ErbB2-driven breast cancer models[J]. *Journal of Controlled Release*, 2015, 208: 59-66.
- [125] KO D Y, MOON H J, JEONG B. Temperature-sensitive polypeptide nanogels for intracellular delivery of a biomacromolecular drug[J]. *Journal of Materials Chemistry B*, 2015, 3(17): 3525-3530.
- [126] GE C, ZHAO L, LING Y, *et al.* Thermo and pH dual responsive polypeptides derived from "clickable" poly(γ -3-methylthiopropyl-L-glutamate)[J]. *Polymer Chemistry*, 2017, 8(12): 1895-1905.
- [127] ZHU M, WU Y, GE C, *et al.* SO₂-induced solution phase transition of water-soluble and α -helical polypeptides[J]. *Macromolecules*, 2016, 49(9): 3542-3549.



丁建勋，博士，中国科学院长春应用化学研究所副研究员。研究的方向为（1）刺激响应性智能高分子纳米载体、（2）细胞基纳米药物传输平台和（3）再生医学，并取得了几个阶段性研究成果。已主持国家自然科学基金青年科学基金、面上项目、吉林省科技发展计划青年科研基金、重点科技攻关项目等 8 项。已在 *Advanced Materials*、*Nano Letters*、*ACS Nano*、*Advanced Science*、*Biomaterials*、*Journal of Controlled Release* 等学术期刊发表研究论文 100 余篇，其中影响因子大于 7 的 27 篇，被引用达 3400 余次，h 因子 35。工作期间，荣获 2014 年度吉林省自然科学学术成果奖等 6 项奖励。申请中国发明专利 70 余项，其中 50 余项已授权，并荣获 2013 年度中国专利优秀奖。2015 年入选吉林省拔尖创新人才。