

开环制备聚二硫化物及其在药物递送方面的应用

孙玉洁, 牛振田, 佟昊轩, 胡悦, 俞丙然, 徐福建

(北京化工大学材料科学与工程学院, 北京 100029)

摘要 二硫键的动态交换与重组使其易于进行开环聚合(ROP)反应得到聚二硫化物. 聚二硫化物因其还原环境敏感性而被广泛应用于药物递送领域. 本文综合评述了二硫化物的ROP策略, 主要分为开环自聚和巯基引发的双硫交换聚合; 讨论了聚二硫化物在药物递送方面的最新研究进展, 主要包括核酸递送、蛋白质递送和小分子药物递送; 最后, 对聚二硫化物的开环制备策略及其在药物递送方面的应用前景进行了展望.

关键词 双硫交换; 二硫键; 开环聚合; 药物递送

中图分类号 O633

文献标志码 A

doi: 10.7503/cjcu20240116

Ring-opening Preparation of Poly(disulfide)s for Drug Delivery

SUN Yujie, NIU Zhentian, TONG Haoxuan, HU Yue, YU Bingran*, XU Fujian*

(College of Materials Science and Engineering, Beijing University of Chemical Technology, Beijing 100029, China)

Abstract The dynamic exchange and recombination of disulfide bonds make it easy to polymerization to obtain poly(disulfide)s, among which ring-opening polymerization(ROP) is a common preparation method. The environmental sensitivity of poly(disulfide)s makes it widely used in the field of drug delivery. In this paper, the ROP strategies of disulfide are reviewed, which are mainly divided into ring-opening self-polymerization and thiol-induced disulfide exchange polymerization. Then, the latest research progress of poly(disulfide)s in drug delivery is also discussed, including nucleic acid delivery, protein delivery and small molecule drug delivery. Last, the ROP strategies and application in drug delivery of poly(disulfide)s are prospected.

Keywords Disulfide exchange; Disulfide bond; Ring-opening polymerization; Drug delivery

生物可降解聚合物因其生物相容性高、可降解性好而被广泛应用于生物医学领域. 由于传统可降解聚合物(如聚乙醇酸、聚乳酸、聚己内酯)缺乏刺激响应性, 它们在药物递送系统中的应用有限^[1,2]. 能够对内源性生理信号(如pH变化、氧化还原电位和酶)或外源性刺激(如光、温度、磁场和超声波)做出反应的响应性可降解聚合物正在被探索^[3]. 动态共价键是一类具有动态可逆特性的共价键, 它们能在特定的环境刺激下, 发生可逆“断裂”与“结合”, 从而在分子间进行热力学平衡反应, 实现分子的动态交换与重组, 形成新的共价化合物^[4-7]. 动态共价键包含二硫键(—S—S—)、席夫碱键(—C=N—)、硼氧键(—B—O—)和Diels-Alder(D-A)等, 其中, —S—S—是生物应用最为广泛的动态共价键之一^[8]. 这是由于多数动态共价键的生成、断裂和修复需要酸/碱环境、有机试剂或高温的参与, 而—S—S—可在温和的水性环境下形成, 并在生物还原性分子的作用下断裂, 更有利于生物材料的构建. —S—S—

收稿日期: 2024-03-11. 网络首发日期: 2024-04-23.

联系人简介: 俞丙然, 男, 博士, 教授, 主要从事药物、基因控释以及抗菌抗感染生物医用材料方面的研究. E-mail: yubr@mail.buct.edu.cn

徐福建, 男, 博士, 教授, 主要从事生物医用材料方面的研究. E-mail: xufj@mail.buct.edu.cn

基金项目: 国家重点研发计划项目(批准号: 2021YFB3800900)和国家自然科学基金(批准号: 22122501, 52073013, 52221006)资助.

Supported by the National Key Research and Development Program of China(No.2021YFB3800900) and the National Natural Science Foundation of China(Nos. 22122501, 52073013, 52221006).

在生命体内广泛存在,它在维持多肽和蛋白质的空间立体结构和生物活性中发挥着重要的作用^[9]. —S—S—可以由巯基氧化而形成,其在还原剂作用下能还原成巯基,而巯基又再次被氧化形成—S—S—. 基于此,本文综合评述了环状二硫化物的开环聚合方法及其近年来在生物大分子药物(如核酸和蛋白质)和小分子药物(如抗肿瘤药物和抗生素)递送方面的研究进展.

1 环状二硫化物的开环聚合

线性二硫化物的聚合反应对触发因素的要求较高,需要高真空度、高聚合温度、长反应时间和有机试剂^[10]. 1968年,Goethals等^[11]在160 °C的高温下,实现了线性二硫醇化合物在二甲基亚砜(DMSO)中的聚合反应,获得了平均分子量约为10500的聚合物. Lin等^[12]通过伯胺和脒胺衍生物的加成反应实现线性二硫化物的聚合反应,该反应在甲醇/水混合物中、惰性气体保护下进行,反应持续12 d. 与线性二硫化物相比,环状二硫化物具有独特的动力学特性,即减小的二面角增加了二硫键的反应性,表明巯基引发环状二硫化物的聚合反应速率更快、反应条件更温和,并且这些反应既可逆又可调^[13,14]. 针对环状二硫化物的开环聚合(ROP)方法的研究主要集中在热、光诱导的开环自聚和硫醇引发剂介导的双硫交换开环聚合.

1.1 开环自聚

1.1.1 热诱导的开环自聚 自20世纪50年代以来,热开环聚合一直是制备聚二硫化物常用的方法. 在高温下,二硫键均裂成硫自由基,引发聚合形成聚二硫化物. 硫辛酸(TA/LPA)是一个天然存在的1,2-二硫杂环戊烷,可参与细胞的有氧代谢^[15,16]. 近年来,TA及其衍生物的活性聚合正向着更精确地控制封端基团、聚合物长度和分子量分布的方向发展^[17]. 在TA的熔融温度(70 °C)下,由于动态二硫键的交换,含五元环的二硫键进行热引发的开环聚合,形成可流动液体状的线性共价主链,冷却后,羧基侧链间的氢键作用使线性的聚硫辛酸交联为透明的固体聚合物. 然而,固体聚合物表现出亚稳态性质,静置几分钟后会自发进行逆环闭合解聚过程^[18]. 为了克服聚硫辛酸的亚稳态不稳定问题,Tian等^[18,19]采用二乙烯基化合物1,3-二异丙烯基苯(DIB)通过反硫化猝灭聚硫辛酸的末端自由基,通过共价交联增强网络[图1(A)]. 此外,他们引入以羧基作为强络合物中心的氯化铁,取代部分氢键. 该超分子聚合物材料具有成型性、拉伸性、自修复性和黏附性的综合性能,为制造黏合剂、自修复材料以及可穿戴和可生物降解材料提供了新思路. Yamanaka等^[20]在80 °C下得到了LPA和1,2-二噻烷(DT)的开环共聚物,此共聚物在紫外光照射下,分子量显著降低,表明其光分解特性[图1(B)]; Tsarevsky等^[21]证明硫辛酸乙酯(LpOEt)的可逆自由基ROP的上限温度为139 °C,聚合物在加热到更高温度和/或存在自由基时会降解,这表明硫辛酸衍生的聚合物可以完全降解为无毒单体或其还原形式,并且还具有良好的可回收性[图1(C)]; Qu等^[22]提出了一种具有闭环可回收性的聚二硫化物系统,在120 °C下加热,在金属氯化物盐存在条件下,TA聚合得到弹性固体聚合物,在稀释的NaOH水溶液中,该聚合物降解回收成TA单体[图1(D)]. Cao等^[23]利用TA在120 °C下的开环自聚得到聚二硫化物,同时,聚二甲基硅氧烷环氧树脂进行羧酸开环,获得含有两种动态共价键TA交联网络[图1(E)]. 虽然上述聚合物能够实现降解,但需要紫外光照、高温或碱性溶液的参与,这些条件在体内难以有效实现,因而这些开环聚合物不适于生物应用.

1.1.2 光诱导的开环自聚 —S—S—的键能较强(约240 kJ/mol),在高能量紫外光的照射下,—S—S—可被剪裂为硫自由基,触发开环聚合^[24]. 与线性二硫化物在短波长紫外光(254 nm)下的光切断反应不同,五元环的环应变导致二硫键吸收发生明显红移,1,2-二硫戊烷衍生物的最大吸收波长为330 nm左右,这使得光介导的环状二硫化物的开环聚合可以在365 nm,甚至是可见光下进行^[25,26]. 利用这一特性,Feringa等^[27]引入TA为胺改性的聚二甲基硅氧烷(PDMS-NH₂)的侧链,并使用波长为365 nm的紫外灯照射PDMS-TA液态聚合物,紫外光触发的开环反应得到透明的浅黄色交联材料[图2(A)]. Anseth等^[25]利用365 nm紫外光引发TA开环或TA与降冰片烯交联形成动态水凝胶,用于三维(3D)细胞培养[图2(B)]. Sumerlin等^[26]用疏水性苯基取代的1,2-二硫戊烷修饰聚乙二醇(PEG),产

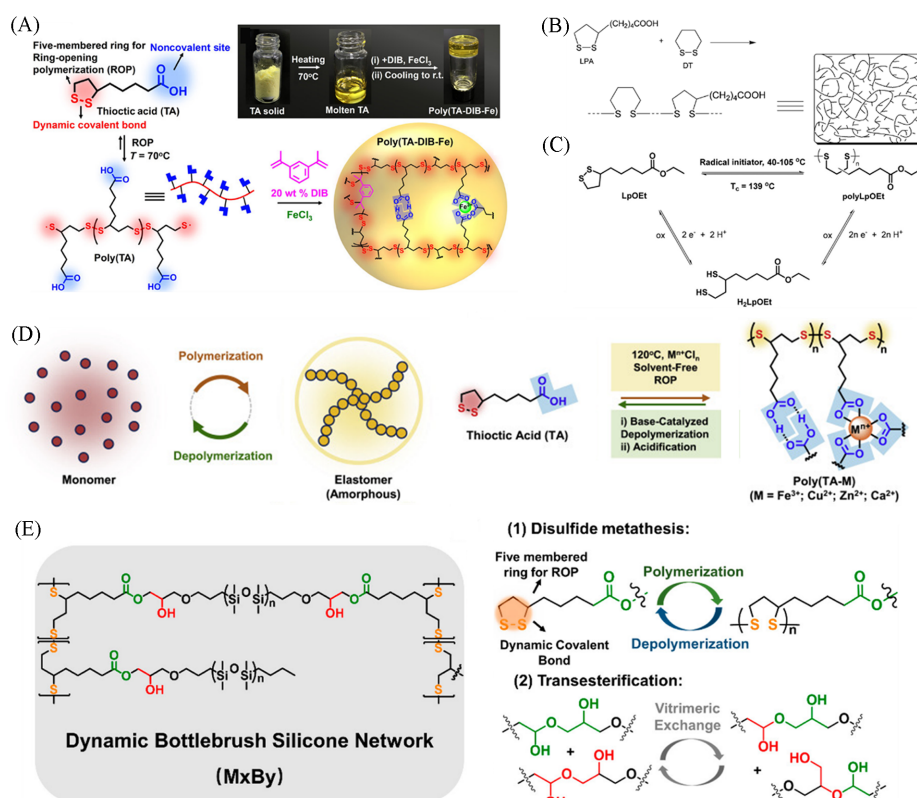


Fig. 1 Schematic representation of the synthesis route of the copolymer network and photographs of TA powder, molten TA liquid, and poly(TA-DIB-Fe) copolymer solid(A)^[18], the copolymerization of LPA and DT induced to give high-molecular-weight polymers(B)^[20], synthesis and polymerization of LpOEt, and degradation(thermal and reductive) of the corresponding polymer(C)^[21], the schematic representation and molecular structures of the interconversion between two kinds of polymeric products(D)^[22], molecular structure of dynamic network prepared using TA and possible dynamic mechanisms(E)^[23]

(A) Copyright 2018, American Association for the Advancement of Science; (B) Copyright 2006, American Chemical Society; (C) Copyright 2021, Wiley-VCH; (D) Copyright 2021, Elsevier; (E) Copyright 2023, American Chemical Society.

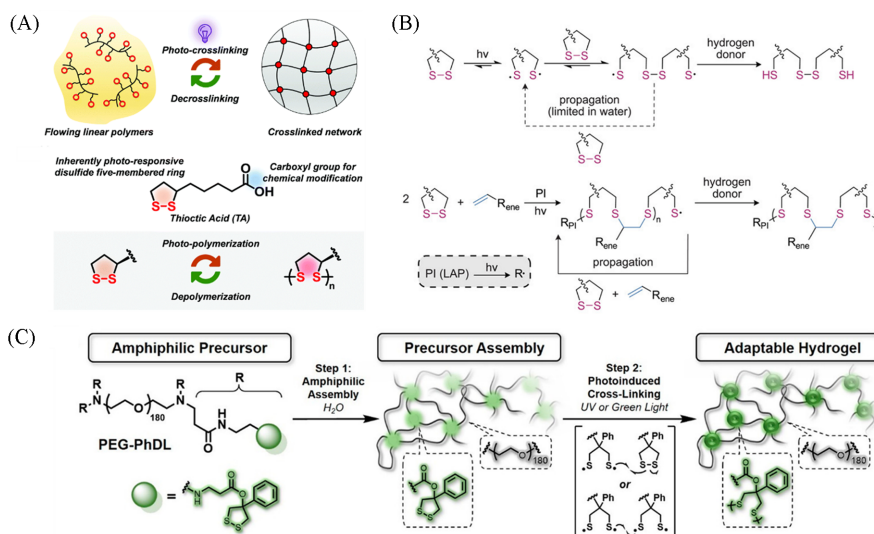


Fig. 2 Reversible photo-crosslinking strategy mediated by dynamic covalent disulfide bonds of TA(A)^[27], dithiolane-mediated photo-crosslinking mechanisms(B)^[25], the 1,2-dithiolane photochemistry ring-opening for disulfide hydrogels under light irradiation(C)^[26]

(A) Copyright 2021, the Royal Society of Chemistry; (B) Copyright 2023, Wiley-VCH; (C) Copyright 2020, American Chemical Society.

生两亲性网络前驱体, 在水中促进了1,2-二硫戊烷的聚集, 在365 nm紫外光照射下诱导交联形成水凝胶. 但使用紫外光交联的策略会限制此水凝胶在生物系统中的应用, 为了证明此系统的多功能性, 他们进一步利用曙红Y(EY)作为光催化剂, 在绿光(515 nm)的照射下交联形成水凝胶, 且验证了在绿光下产生的水凝胶比在紫外光照射下制备的水凝胶具有更低的交联密度[图2(C)]. Qu等^[28]用420 nm的可见光光源触发TA的光聚合, 且由于聚合后形成的线性二硫化物对可见光不敏感, 使得其在可见光下比较稳定.

1.2 巯基引发开环聚合

近年来, 巯基引发的双硫交换ROP成为一种很有前途的聚合方法, 因为其可以在无需光照和加热的简便温和条件下进行. 图3示出了巯基引发的双硫交换ROP的反应过程: 硫醇化合物上的巯基失去质子生成硫负离子(RS^-), RS^- 进攻环状二硫化物, 使得原有的一S—S—断裂, 生成新的一S—S—分子, 并产生一个新的 RS^- 活性位点, 继续进攻环状二硫化物, 这个过程被称为双硫交换反应^[29]. 活化的亲核试剂的浓度可通过溶剂的极性来调节, 溶剂的极性越大, 聚合速率越低^[30]. 该可逆反应条件温和、易调控实施. 值得注意的是, 巯基-双硫交换反应需要在中性或弱碱性水溶液中进行^[30-32], 大多数生物大分子在此条件下可以保持原有的活性. 因此, 巯基-双硫交换反应在构建生物响应性聚合物方面有着巨大的应用潜力.

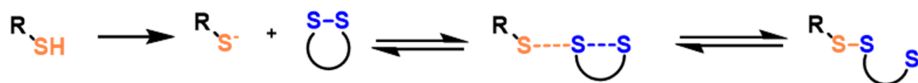


Fig. 3 Diagram of disulfide exchange ring-opening reaction mechanism

Moore等^[33]报道了一种通过改变引发剂控制聚二硫醚结构的策略[图4(A)], 研究发现, 当使用芳醇作引发剂时, 能够实现环状聚二硫化物, 而烷基硫醇作引发剂则更倾向于直链聚合物的生成. Matile等^[34,35]利用半胱氨酸衍生物为引发剂, 将几种含有胍基基团的TA衍生物进行ROP, 以得到细胞穿透性聚二硫化物(CPDs), 在室温和pH=7的条件下, 聚合反应在5 min内进行, 并发现这些聚合物可以通过内吞作用或直接易位穿过膜屏障进入细胞; Jin等^[36]在介孔二氧化硅纳米颗粒表面修饰硫醇基团, 并在纳米颗粒表面进行CPD的原位ROP, 用于进一步包封具有炎症调节作用的黄芩素, 其进入细胞后释放药物发挥对宿主反应的调节作用[图4(B)]; Li等^[37]通过二硫杂环烷官能化液晶单体的开环聚合构建交联的液晶网络和以二硫键为主链的线性液晶聚合物, 基于二硫键的解聚和再聚合, 这些液晶聚合物体现出自愈能力和可回收性[图4(C)和(D)]; Zhong等^[38]设计了带有TA的葡聚糖衍生物, 在二硫苏糖醇(DTT)的引发下, 得到交联的纳米颗粒, 实现抗癌药物的有效细胞内递送. 1,2-二硫杂环戊烷具有良好的热力学和高动力学不稳定性, 很容易通过亲核试剂催化的开环聚合反应进行聚合^[39,40]. 除了五元双硫杂环的开环聚合外, 其它的环状二硫化物也被广泛研究以构建动态可逆共价键. 如Lee等^[41]利用磷酸二苯酯(DPP)为催化剂, 以七元环的二硫内酯为单体, 在室温下合成了具有窄分子量分布(PDI<1.1)的聚二硫化物; Schlaad等^[42]将基于L-胱氨酸的大环二硫化物复分解ROP得到聚(酯-二硫键-烯炔)和聚(酰胺-二硫键-烯炔). 但是, 这些单体环应变较低, 需在高浓度下进行聚合.

除了聚二硫化物均聚物外, 可控构建两种或多种环状二硫化物的共聚物仍具有挑战. Tang等^[43]报道了通过阴离子ROP合成阳离子两亲性无规共聚物的方法[图4(E)], 调整两种单体的初始投料比以控制聚二硫醚的阳离子和疏水平衡, 从而调节其抗菌性[图4(F)]. 除此以外, 研究者们也把注意力放在了支链含有二硫键的共聚物上, 将二硫键掺入聚合物中使聚合物具有黏附性、弯曲强度、适应性、降解性和自我修复等特性^[44]. Waymouth等^[16]构建了ABA三嵌段共聚物, 该共聚物包含中心聚环氧乙烷嵌段和具有1,2-二硫杂环戊烷侧链的末端嵌段, 在水溶液中, 这些两亲性嵌段共聚物在高浓度下自组装成花形胶束. 硫醇的加入引发了胶束核心中二硫键侧链的可逆开环聚合, 交联形成动态水凝胶, 并表现出自愈、可注射和形变后机械性能的恢复等动态行为. 进一步, 他们设计了具有不同二硫杂环烷基团侧链的ABA三嵌段共聚物衍生的水凝胶, 发现二硫杂环戊烷的巯基-二硫化物交换速率的细微调

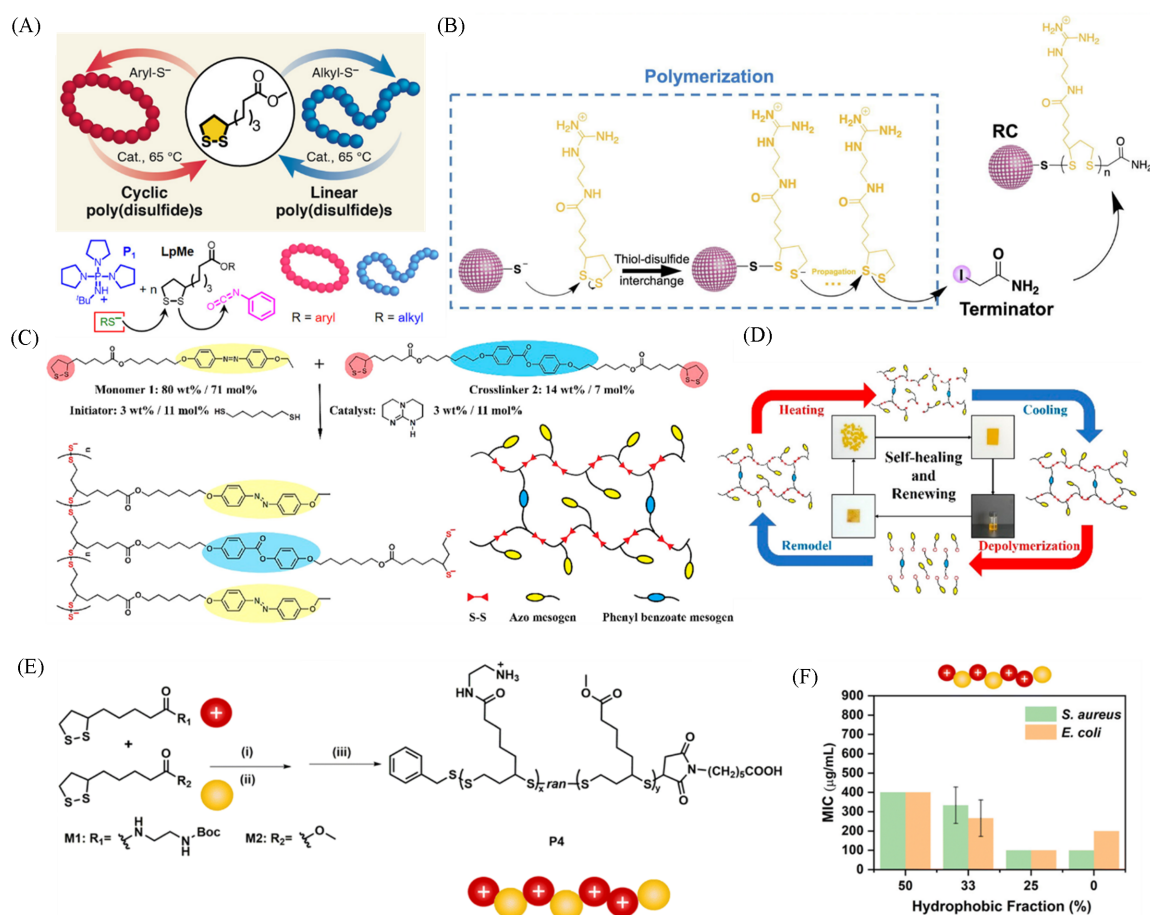


Fig. 4 Aryl thiol and alkyl thiols yield poly(disulfide)s by ring-opening polymerization(A)^[33], schematic illustration of *in-situ* polymerization on the thiol-functionalized nanoparticles via thiol-disulfide interchange reaction(B)^[36], molecular design and chemical structures of the liquid crystal networks film(C), schematic illustration of the reversible polymerization and depolymerization of the liquid crystal networks(LCNs)(D)^[37], random copolymerization of cationic amphiphilic poly(disulfide)s (E), minimal inhibitory concentration(MIC) of poly(disulfide)s with a different hydrophobic fraction of hydrophobic groups and similar M_n (F)^[43]

(E) Reaction conditions: (i) benzyl mercaptan(BnSH), phosphazene base P1-*t*-Bu-tris(tetramethylene), tetrahydrofuran(THF), 0 °C, 2 h; (ii) 6-maleimidohexanoic acid, r. t., 30 min; (iii) hydrogen chloride(HCl), dioxane/ methyl alcohol(MeOH), 0 °C, 4 h.

(A) Copyright 2019, American Chemical Society; (B) Copyright 2022, Elsevier; (C, D) Copyright 2021, American Chemical Society; (E, F) Copyright 2022, the Royal Society of Chemistry.

整会导致凝胶材料性质的显著差异, 由此系统地调整水凝胶的模量、应力松弛速率和降解曲线^[45,46].

尽管对于阴离子ROP的研究已经取得了巨大的进展, 但实现可控聚合仍具有挑战, 这是由于1,2-二硫杂环烷的ROP是由硫醇盐(RS⁻)引发, 而非游离硫醇(RSH)^[39,47], 高度亲核的RS⁻很容易与单体或聚合物上的二硫键反应, 选择性低, 从而导致严重的链转移反应^[48]. Liu等^[48]发现氢键相互作用会减弱RS⁻的负电荷链段, 从而提高ROP的选择性, 而非链转移反应. 通过筛选合适的碱和氢键催化剂, 得到窄分散性的二硫聚合物($M_w/M_n \approx 1.1$). 我们课题组^[30]利用阴离子ROP, 设计了一种简单、安全、可控的双硫交换聚合物[图5(A)], 将胍基基团改性的TA作为单体, 甲氧基聚乙二醇硫醇(mPEG-SH)为引发剂, 通过调节反应时间和*N,N*-二甲基甲酰胺(DMF)的比例, 得到一系列不同聚合度的聚二硫化物. 研究发现, 当聚合体系中不含DMF时, 反应时间与聚合度之间没有成正比关系, 即反应无法控制; 当缓冲溶液与DMF体积比为85:15时, 活化的亲核试剂浓度高, 聚合速度快, 适于获得高聚合度的聚二硫

化物；而当缓冲溶液与DMF体积比为70:30时，活化的亲核试剂浓度低，聚合反应速率受到抑制，有利于可控聚合；当DMF的含量进一步提高时，聚合反应无法进行。基于上述实验结果，提出了一种可能的反应机理，即在缓冲液和DMF的混合体系中，硫醇的H⁺发生可逆解离，生成活化的亲核试剂硫醇盐(PEG-S⁻)，其攻击二硫杂环戊烷单体中的二硫键，同时形成高反应性的硫醇盐，进一步沿—S—S—轴攻击其余单体的二硫键，实现聚合^[30]。调节溶剂体系的比例，可以改变活化的硫醇盐的浓度，并且聚合速率在非极性溶剂中加快，在可控的聚合速率下，不同聚合度的聚二硫化物通过调节反应时间获得，从而实现了可控聚合。且在还原性谷胱甘肽(GSH)作用下，能够实现降解[图5(B)]。随后，我们课题组^[49]合成了一系列星形阳离子聚二硫化物(β -CD-g-PSS₂₀)[图5(C)]。除了调节反应时间和DMF的比例外，缓冲溶液的pH值也会改变亲核试剂的浓度。当缓冲液pH值升高时，活化的亲核试剂浓度高，聚合度增加；而当pH值为6或7时，聚合反应不受控制，这是由于亲核试剂的浓度过高，反应速率太快。可能的反应机理是亲核试剂硫醇盐进攻单体中的二硫键，形成新的硫醇盐，继而引发双硫聚合反应。活化的硫醇盐的浓度由缓冲液pH值和溶剂极性调节，这两者共同决定了双硫交换聚合的速率常数，因此，可控聚合发生在较低的DMF含量和微酸性的缓冲溶液体系中。通过核磁共振氢谱和凝胶色谱的表征，都表明了此聚二硫化物在GSH作用下可实现响应性降解[图5(D)和(E)]。

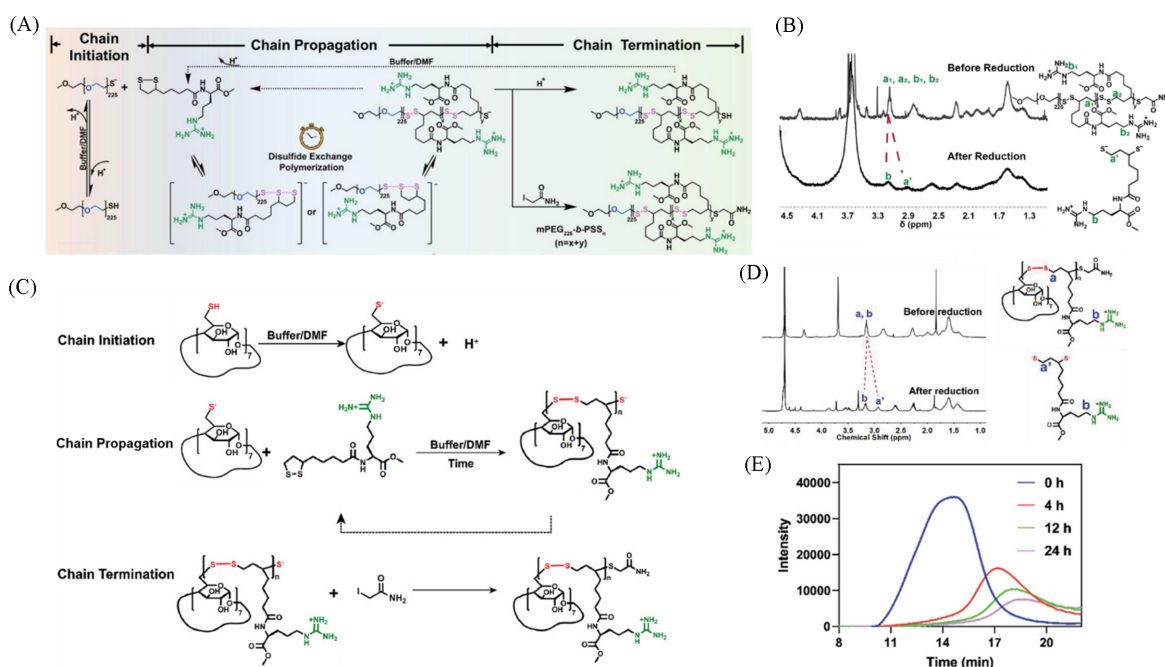


Fig. 5 Controllable disulfide exchange polymerization of mPEG₂₂₅-b-PSS_n(A), typical ¹H NMR(400 MHz) spectra of mPEG₂₂₅-b-PSS_n before and after reduction(B)^[30], the reaction mechanism of controllable disulfide exchange polymerization between β -CD-SH and La-Arg monomer(C), typical ¹H NMR(400 MHz) spectra of β -CD-g-PSS₂₀ before and after reduction(D), gel permeation chromatography(GPC) curves of β -CD-g-PSS₂₀ in the presence of GSH at different time periods(E)^[49]

(A, B) Copyright 2022, Wiley-VCH; (C—E) Copyright 2023, Wiley-VCH.

相比于碱性条件下的阴离子ROP，对于酸性条件下的阳离子ROP的报道并不多见。如Qu等^[13]报道了1,2-二硫杂环戊烷的阳离子ROP，质子化二硫键形成的硫阳离子是聚合引发和延伸的活性位点，硫阳离子超快引发酸性单体TA得到高分子量聚合物(超过1000000)。此聚合反应允许酸性单体在没有惰性气体保护的情况下进行，为二硫键的活化提供了全新的思路。

综上，ROP是利用环状二硫化物获得聚合物的有效方法，二硫键的动态可逆特性激励着研究者们开发多种策略来获得聚二硫化物。考虑到聚二硫化物在生物医药领域的重要应用，未来的双硫交换聚合反应将向着更加温和和可控的方向发展，探索可精确调控的双硫聚合反应条件将成为研究者们探索的

方向.

2 聚二硫化物在药物递送方面的应用

生物大分子药物(包括核酸和蛋白质等)在生物医学领域有着越来越广阔的应用前景^[50],其优点在于优良的特异性和生物安全性,用较少的剂量以达到较好的治疗效果^[51].但生物大分子药物需要利用载体帮助其穿过多重生物屏障,达到病灶部位.小分子药物是现阶段临床最常用的治疗手段之一,但多数小分子药物,尤其是抗癌药物,具有疏水性.聚二硫化物因其制备方法简单温和、易于修饰,而被广泛用于药物载体的构建^[52].

2.1 核酸递送

基因治疗是人类面对重大疾病的治疗策略之一,核酸不仅有望作为药物在治疗遗传性疾病中发挥关键作用,还可以治疗许多获得性疾病^[53].将核酸递送至其作用位点并实现胞内表达是发挥治疗效果的前提,但有效地完成这些过程仍然存在障碍^[54].这是由于核酸的细胞内化和溶酶体逃逸困难,生理环境中还存在着核酸酶,这些因素都会降低核酸治疗的效果.聚二硫化物载体在核酸递送方面具有独特的地位.它们能够负载核酸,在一段时间内保持稳定,递送核酸穿透生物屏障,同时在细胞内的还原性环境中断裂、释放核酸^[55],其生物可降解性有利于核酸在细胞质的释放,提高转染效率^[56],同时也降低对正常组织和细胞的毒性.

受阴离子ROP的启发,我们课题组^[30]将双硫交换开环聚合与基因治疗相结合,设计了一系列可生物降解的细胞穿透性聚二硫化物(mPEG₂₂₅-b-PSS),在实现了可控聚合后,对mPEG₂₂₅-b-PSS的生物功能展开了探究.结果表明,mPEG₂₂₅-b-PSS具有优异的GSH响应降解性、生物相容性和转染性能[图6(A)和(B)],同时,该聚合物上的胍基基团对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌展示出明显的抗菌性能.进一步,为了验证mPEG₂₂₅-b-PSS在核酸递送方面的作用,设计了两种功能质粒:pKR-p53[同时表达出光敏蛋白KillerRed(KR)和细胞凋亡相关蛋白(P53)]和pEGF[表达出表皮生长因子(EGF)].在递送pKR-p53质粒后,mPEG₂₂₅-b-PSS对4T1肿瘤产生了显著的光动力/基因联合治疗效果[图6(C)];在递送pEGF质粒后,mPEG₂₂₅-b-PSS首先有效杀灭了皮肤缺损伤口的致病菌,进而表达出EGF,促进伤口愈合

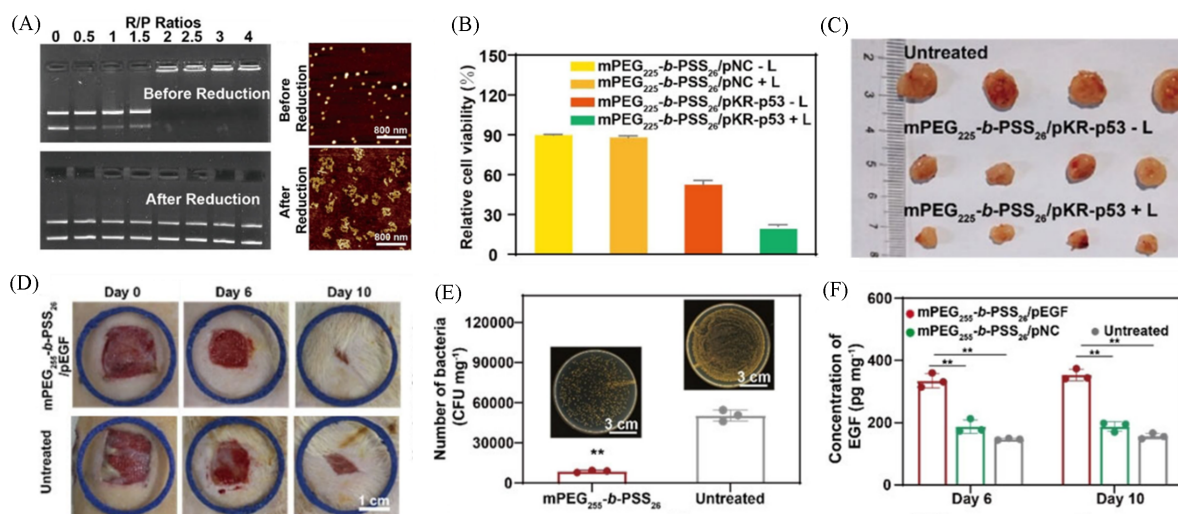


Fig. 6 Electrophoretic mobility and atomic force microscope(AFM) images of mPEG₂₂₅-b-PSS₂₆/pDNA before and after degradation(A), relative cell viabilities of mPEG₂₂₅-b-PSS₂₆/pDNA complexes in 4T1 cells with or without irradiation(B), images of 4T1 tumors after different treatments on day 14(C), photographs of wound healing in the rat model on day 0, day 6 and day 10(D), statistical analysis of bacterial colonies cultured from infected tissues on day 2(E), concentration of epidermal growth factor(EGF) in the harvested tissues with different treatments on day 6 and day 10(F)^[30]

Copyright 2022, Wiley-VCH.

[图6(D)~(F)]. 进一步, 我们课题组^[49]构建了具有 β -环糊精核心的星形阳离子聚二硫醚(β -CD-*g*-PSS_{*n*}), 以此为载体递送双功能融合质粒 pCATKR[可表达出KR和过氧化氢酶(CAT)的融合蛋白], 实现了级联催化治疗, 并对聚二硫化物载体进入细胞的通路进行研究. 研究表明, β -CD-*g*-PSS_{*n*}具有优异的生物可降解性, 促进了 pCATKR 的表达[图7(A)]. 由图7(B)可见, β -CD-*g*-PSS₂₀/pDNA 通过小窝蛋白介导的途径内吞进入细胞, 通过细胞内机制转运至高尔基体和内质网, 在肿瘤细胞内的还原环境中发生降解, 最后递送至细胞核产生高效的蛋白表达. 光敏蛋白KR可以在光照的条件下将O₂转化为活性氧物质(ROS)来达到细胞杀伤的目的, 但在乏氧肿瘤微环境中, 严重限制了光动力治疗的效果. 而CAT可以催化过氧化氢分解产生O₂, 缓解肿瘤乏氧, 进而提高KR的光动力治疗效果. 运载融合质粒 pCATKR 进入细胞表达出融合蛋白CATKR, 由于CAT与KR催化中心距离的拉近, 进而产生了更多ROS, 提高了乏氧条件下光动力治疗(PDT)的疗效[图7(C)和(D)].

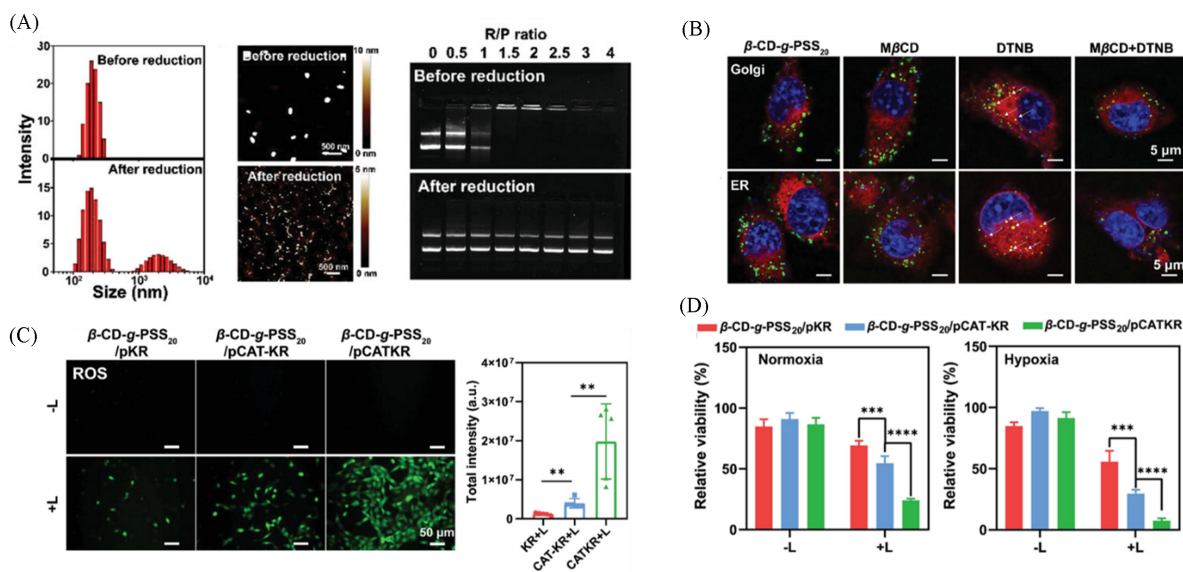


Fig. 7 Size distribution, representative AFM images and electrophoretic mobility retardation assays of β -CD-*g*-PSS₂₀/pDNA complexes before and after reduction(A), co-localization of β -CD-*g*-PSS₂₀/pDNA complexes with Golgi or endoplasmic reticulum compartments(B), representative images of intracellular ROS accumulation after different treatment(C), *in vitro* relative SCC-7 cell viability treated with complexes in normoxic or hypoxic atmospheres, with or without irradiation(D)^[49]
Copyright 2023, Wiley-VCH.

除了DNA外, 聚二硫化物载体也被广泛应用于其它核酸的胞内递送. Yao等^[57]在介孔二氧化硅纳米颗粒表面修饰反义寡核苷酸(ASO)和硫醇引发CPDs, 构建具有高载药量和内吞非依赖性细胞摄取的介孔二氧化硅纳米系统, 以取决于肿瘤细胞中存活素表达水平的方式释放载荷药物阿霉素(Dox); Zhang等^[58]设计了一种锌与二吡啶胺类似物配位改性的TA与CPD单体通过光诱导的双硫共聚得到的聚二硫化物, 作为质粒DNA和siRNA的还原响应性载体; Wu等^[59]开发了一种新的星形聚合物, 它由巯基基团改性的 β -环糊精引发CPD单体聚合得到, 随后通过电荷相互作用与miRNA复合, 并与喜树碱(CPT)共递送, 在抗肿瘤治疗中实现协同治疗效果.

2.2 蛋白质递送

与基因治疗相比, 蛋白质类药物具有起效快、生物活性高和特异性好等显著优势, 多种多肽、酶和抗体已显示出显著的抗癌或抗炎特性^[60]. 然而, 与核酸递送类似, 作用于细胞内靶点的蛋白质药物在临床实践也面临着巨大的挑战, 如循环系统稳定性差、细胞摄取不足和体内逃逸失败^[61]. 同时, 蛋白质药物需在细胞内释放后才能发挥活性, 过早或过晚的释放都会影响其治疗效率. 大多数蛋白质都含有半胱氨酸残基, 这使得聚二硫化物尤其适用于递送蛋白质. 已有研究表明, 聚二硫化物可用于蛋白质在体液循环中安全稳定的运输和活性的可控恢复^[62].

Yao等^[63]的研究一直聚焦于构建CPDs并递送生物大分子药物, CPDs可以被认为是聚精氨酸CPPs的合成模拟物, 其中多肽骨架被二硫键取代[图8(A)], 可见, 3种含有硫醇的引发剂通过双硫交换聚合反应得到聚二硫化物, 再利用共价或非共价作用与蛋白质偶联, 并经过非内吞依赖的方式有效将蛋白质递送进入细胞. 在还原性的细胞质环境中, CPD解聚并释放蛋白质. 该方案的优势在于其多功能性和灵活性、偶联速度快等. 之后, 他们报道了两种新型CPD递送天然蛋白质的策略[图8(B)]^[64], 第一种策略依靠基因工程将人工标签引入重组蛋白中得到糖蛋白, 将糖蛋白中天然存在的聚糖转化为生物正交标签, 然后与相应的CPD进行生物正交偶联; 第二种策略中, 两种可切割连接子(NBL和TCOL)来可逆地标记蛋白质中的赖氨酸, 这两种连接剂含有容易与赖氨酸中的伯胺反应的对硝基苯碳酸酯. 通过CPD辅助的内吞非依赖性途径成功递送到细胞后, GSH催化的二硫键裂解导致天然蛋白质的成功释放.

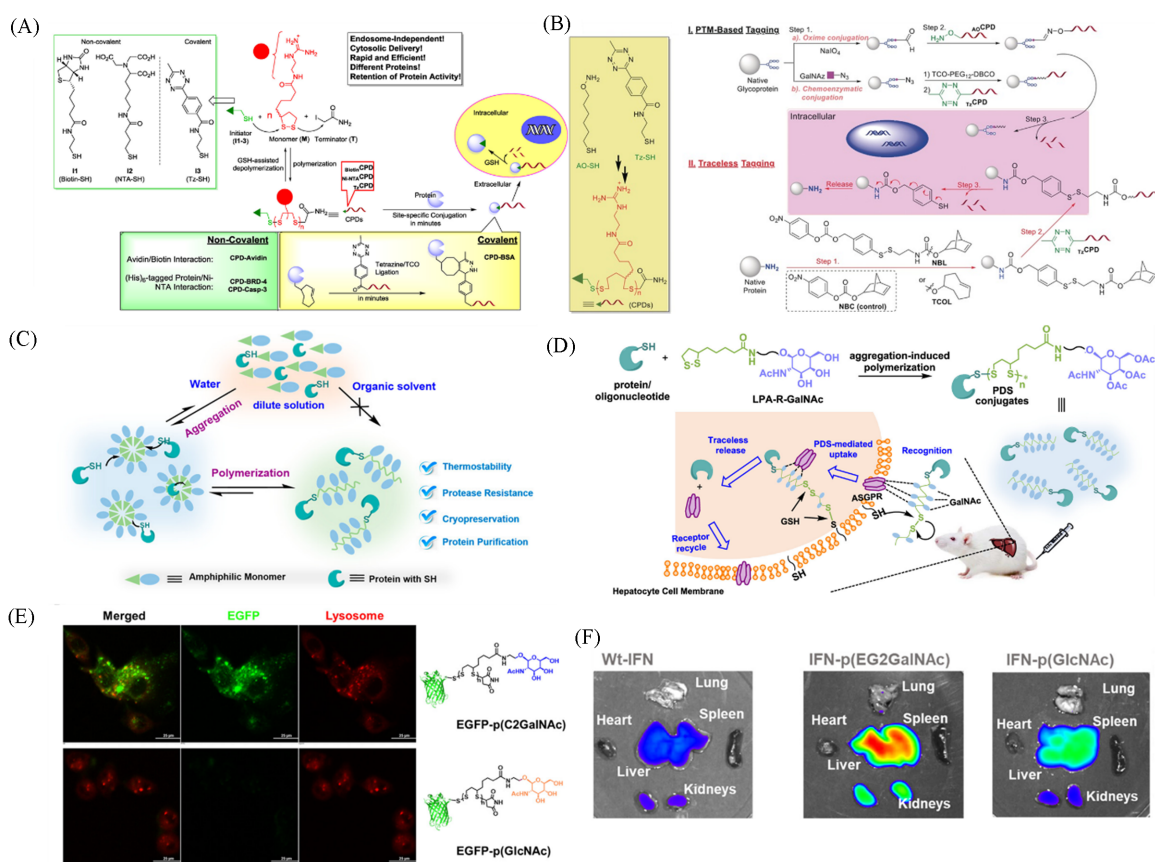


Fig. 8 Polymerization/depolymerization process of CPDs, and the two-step approach for conjugation of protein cargos with CPDs in non-covalent and covalent approaches(A)^[63], overview of CPD-facilitated intracellular delivery of native proteins(B)^[64], the protein-mediated, aggregation-induced polymerization(AIP) of amphiphilic LPA-derived monomers at room temperature(C)^[66], schematic illustration of the grafting-from synthesis and targeted intracellular delivery of protein/oligonucleotide-cell-penetrating polydisulfides(PDS) conjugates into liver cells(D), representative images of HepG2 cells incubated with EGFP-p(C2GalNAc) or EGFP-p(GlcNAc)(E), fluorescent images of the extracted organs at 24 h(F)^[67]

(A) Copyright 2015, American Chemical Society; (B) Copyright 2018, Wiley-VCH; (C) Copyright 2022, American Chemical Society; (D–F) Copyright 2024, American Chemical Society.

半胱氨酸的硫醇基团可引发1,2-二硫杂环烷的开环聚合, 这为获得蛋白质-聚二硫化物偶联物提供了可能. 2020年, Lu等^[65]利用冷冻聚合的技术, 通过增加局部单体浓度, 首次实现了通过 Grafting from 的方法在蛋白质表面原位生长聚二硫化物. 这种方法简单、通用, 且可在温和的条件下释放蛋白

质并保持蛋白质功能。然而，冷冻条件并非完全无害，蛋白质在溶液中的冷冻会引起冷冻应激，尤其是在反复的冻融循环后，有引起蛋白质失活和变性的风险。2022年，该课题组^[66]提出了蛋白质在室温下引发两亲性的TA衍生物单体的聚集诱导聚合(AIP)[图8(C)]。两亲性的TA衍生物在水溶液中的聚集使得聚合单体浓度远低于单体平衡浓度，产生了与模板聚合相似的浓缩效果。这种稳定的偶联物的开发有望为递送蛋白质、动态和可逆调节蛋白质功能、酶保存和回收开辟新的途径。随后，基于以上理论，该课题组^[67]通过室温下的AIP，制备了窄分散的穿透细胞的聚二硫醚偶联物(PDSs)[图8(D)]，将增强绿色荧光蛋白(EGFP)和干扰素(IFN)靶向递送至肝细胞中[图8(E)和(F)]，为肝脏疾病的诊断和治疗开辟了新的途径。

2.3 小分子药物递送

与生物大分子药物相比，临床上更加常用的是小分子化疗药物。亲水性药物可通过口服或全身给药后快速分布全身，被组织或器官迅速吸收，由此带来的后果是药物半衰期短、清除率高和对正常组织的潜在毒性；而疏水性药物的溶解性难以保证，导致其吸收率低^[68]。因此，需要开发纳米药物递送系统，以提高药物的溶解度和包封率、缓释药物，从而降低副作用^[69]。考虑到疾病微环境下高的GSH水平，研究者们不断开发新型聚二硫化物，以期实现小分子药物的响应性释放。

Molla等^[70]提出一种LPA为疏水头部、表面活性剂为亲水尾部的单体[图9(A)]，其在水环境中通过熵驱动的过程自组装成纳米聚集体，聚集体的疏水核心适于负载疏水性小分子药物(如Dox)。在还原剂DTT存在下，聚集体通过双硫交换开环聚合(RODEP)交联产生一个纳米聚合物网络，该网络由核心内的多个动态共价二硫键组成。此交联的纳米网络具有高血清稳定性和高封装稳定性，这被认为是药物递送载体的基本标准。在GSH和pH作用下，Dox实现快速释放。Zhu等^[71]创新性地开发了一个拉链式的pH/热/GSH响应的智能纳米载体以实现近红外引导的Dox递送和体内控释。RGD肽引发的带有胍基的细胞穿透性聚二硫化物与带有磷酸盐残基的热敏聚合物共同构成拉链，体内GSH通过切割双硫键解开聚合物拉链，从而释放负载的Dox[图9(B)]。

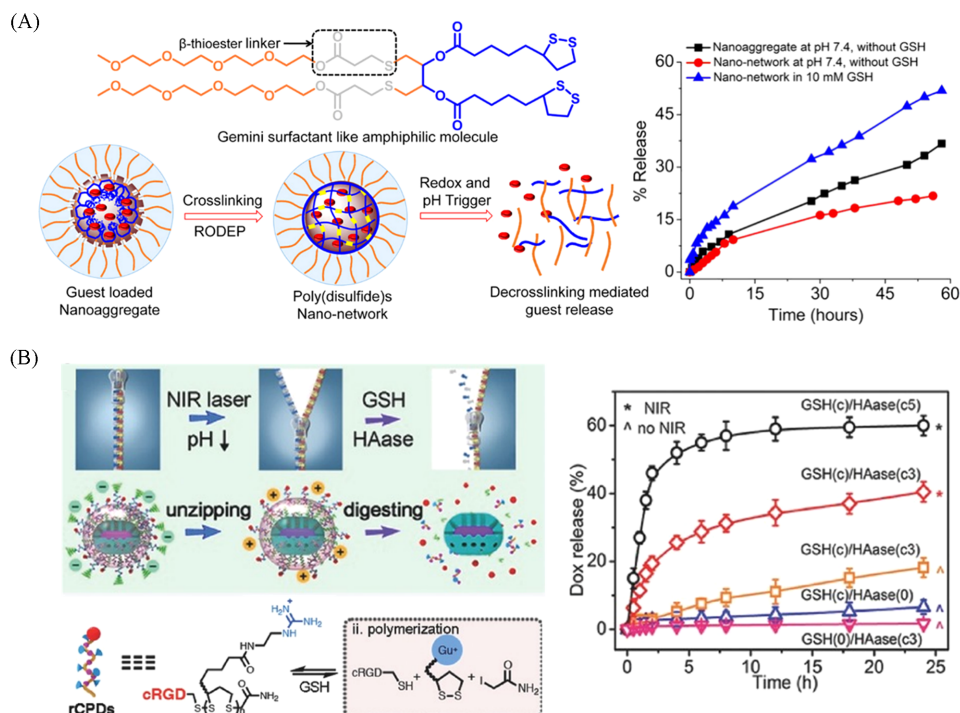


Fig. 9 Chemical structure of the Gemini surfactant-like molecule and redox-responsive release profile of the doxorubicin-loaded nanonetwork(A)^[70], the surface state variations during drug delivery (the polymer zipper decoding and the sandwich protective shell degradation) and the drug release profiles of pPTP@DMSGRs(B)^[71]

(A) Copyright 2023, American Chemical Society; (B) Copyright 2017, Wiley-VCH.

抗生素是临床治疗细菌感染疾病的首选药物,具有高效、低毒的特点.然而,近些年,抗生素的滥用和误用造成了各类多药耐药菌的出现,使传统抗生素的治疗效率迅速下降,对人类生命健康构成严重威胁.而新型抗生素的研发周期长,难以应对临床多药耐药菌感染的治疗需求.尽管研究者们已经开发了多种应对耐药菌的新策略,但抗生素治疗仍然是首选方案,如何恢复抗生素的治疗效果成为了一个紧迫的问题.基于以上难题,近期, Xu 等^[72]通过双硫交换反应设计并合成一种多糖基胍基阳离子聚合物 Dex-g-PSS_n[图 10(A)],作为抗生素佐剂对抗多药耐药菌.该 ROP 聚合反应在温和的水相条件下进行,胍基基团能够通过静电相互作用破坏细菌膜, Dex-g-PSS_n单独使用时表现出对多药耐药菌的抗菌性能.除此之外, Dex-g-PSS₃₀与临床一线抗生素利福平(RIF)联合使用时,能够恢复抗生素的治疗效果,同时,能够克服细菌产生新的耐药性[图 10(B)和(C)].机制研究结果表明, Dex-g-PSS₃₀能够干扰细菌外排泵,减少抗生素外排,提高细菌内抗生素浓度,从而恢复了抗生素的杀菌效果[图 10(D)和(E)].最后,在多药耐药鲍曼不动杆菌(MDR-AB)诱导的小鼠肺炎模型中, Dex-g-PSS₃₀+RIF 在体内表现出良好的杀菌作用[图 10(F)].

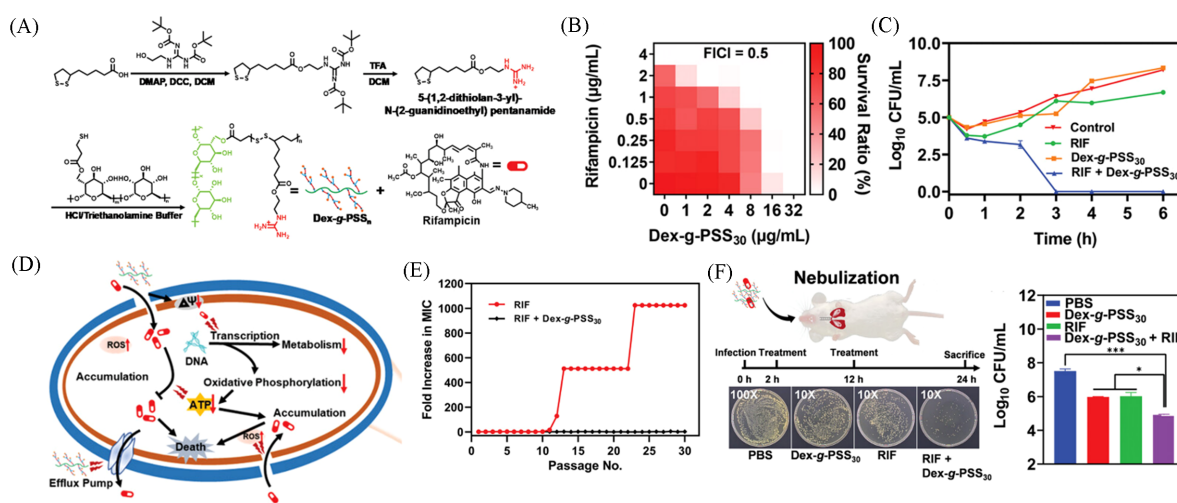


Fig. 10 Schematic illustration of cationic polysaccharide conjugates Dex-g-PSS_n(A), synergism between rifampicin(RIF) and Dex-g-PSS₃₀ against MDR-AB(B), time-dependent killing against MDR-AB after different treatment(C), schematic illustration of associated preventative mechanisms toward bacterial resistance(D), dex-g-PSS₃₀ addition preventing rifampicin(RIF) resistance in MDR-AB(E), representative Luria-Bertani agar plates and statistical analysis of bacterial colonies cultured from MDR-AB infected lungs(F)^[72]

(A—F) Copyright 2022, Wiley-VCH

综上,不论是生物大分子药物还是小分子化学药物,都需要载体的保护、递送和在病灶环境下的响应性释放,以克服稳定性差和水溶性差等缺点,提高药物利用率,有效地发挥治疗作用,并降低生物毒性.聚二硫化物因其温和的制备条件和GSH响应性降解的特点,尤其适用于各类疾病药物的递送,在生物医药领域具有广阔的发展空间.尽管可降解的聚二硫化物在小分子和生物大分子药物的递送方面取得了巨大进步,但若要进一步实现临床转化,需要评估聚二硫化物递送系统的药代动力学和体内降解代谢、降低药物在胞外少量还原物质的存在下提前释放的风险、提高聚二硫化物在弱还原性病灶部位的响应能力等,因此,仍然有待开发更加智能、高效的聚二硫化物递送载体.

3 总结与展望

介绍了聚二硫化物的几种开环制备策略,包括光、热引起的自聚合和巯基引发的双硫交换聚合.双硫交换聚合反应条件温和、可控,工艺简单,水相的制备条件更是有利于生物大分子保持活性.另外,—S—S—的动态重组特性使聚二硫化物对还原环境具有响应性,能够在还原性的病灶部位按需释

放药物, 这些优势促使聚二硫化物在小分子或生物大分子药物递送领域取得了卓越的成果. 本文重点总结了聚二硫化物在开环制备和药物递送应用方面的进展, 旨在启发研究人员灵活选择合成方法, 设计和开发具有可调特性和多功能性的新型聚二硫化物, 以满足生物医学的不同需求.

同时, 聚二硫化物的分子结构和功能仍然具有巨大的开发空间, 如开发多组分聚二硫化物仍然是一项挑战, 研究者们正试图在可控的反应条件下得到二硫共聚物; 掺入协同官能团有望实现聚二硫化物的多功能应用拓展; 某些 GSH 水平不足的病理微环境要求聚二硫化物对还原环境具有更高的敏感性^[73]. 总体而言, 聚二硫化物在按需释放药物和治疗各类疾病方面具有广阔的应用前景, 并因其可逆性和灵活性, 未来聚二硫化物会在各研究领域有更大的发展.

参 考 文 献

- [1] Arun Y., Ghosh R., Domb A. J., *Adv. Funct. Mater.*, **2021**, 31(44), 2010284
- [2] Kamaly N., Yameen B., Wu J., Farokhzad O. C., *Chem. Rev.*, **2016**, 116(4), 2602—2663
- [3] Yang P., Zhu F., Zhang Z. B., Cheng Y. Y., Wang Z., Li Y. W., *Chem. Soc. Rev.*, **2021**, 50(14), 8319—8343
- [4] Jin Y., Yu C., Denmana R. J., Zhang W., *Chem. Soc. Rev.*, **2013**, 42(16), 6634—6654
- [5] Komáromy D., Stuart M. C. A., Santiago G. M., Tezcan M., Krasnikov V. V., Otto S., *J. Am. Chem. Soc.*, **2017**, 139(17), 6234—6241
- [6] Fan F. Q., Ji S. B., Sun C. X., Liu C., Yu Y., Fu Y., Xu H. P., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2018**, 57(50), 16426—16430
- [7] Li D. D., Zhang R. H., Liu G. T., Kang Y., Wu J., *Adv. Healthcare Mater.*, **2020**, 9(20), 2000605
- [8] Karandish F., Mamnoon B., Feng L., Haldar M. K., Xia L., Gange K. N., You S., Choi Y., Sarkar K., Mallik S., *Biomacromolecules*, **2018**, 19(10), 4122—4132
- [9] Bechtel T. J., Weerapana E., *Proteomics*, **2017**, 17(6), 1600391
- [10] Yan C. M., Yang F., Wu M. J., Yuan Y., Chen F. Y., Chen Y. L., *Macromolecules*, **2019**, 52(23), 9376—9382
- [11] Goethals E. J., Sillis C., *Die Makromolekulare Chemie*, **1968**, 119, 249—251
- [12] Lin C., Zhong Z. Y., Lok M. C., Jiang X. L., Hennink W. E., Feijen J., Engbersen J. F. J., *Bioconjugate Chem.*, **2007**, 18(1), 138—145
- [13] Wang B. S., Zhang Q., Wang Z. Q., Shi C. Y., Gong X. Q., Tian H., Qu D. H., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2023**, 62(11), e202215329
- [14] Felber J. G., Poczka L., Scholzen K. C., Zeisel L., Maier M. S., Busker S., Theisen U., Brandstädter C., Becker K., Amér E. S. J., Thorn-Seshold J., Thorn-Seshold O., *Nat. Commun.*, **2022**, 13, 1754
- [15] Maczurek A., Hager K., Kenklies M., Sharman M., Martins R., Engel J., Carlson D. A., Münch G., *Adv. Drug Deliver. Rev.*, **2008**, 60(13/14), 1463—1470
- [16] Barcan G. A., Zhang X. Y., Waymouth R. M., *J. Am. Chem. Soc.*, **2015**, 137(17), 5650—5653
- [17] Zhang Q., Qu D. H., Feringa B. L., Tian H., *J. Am. Chem. Soc.*, **2022**, 144(5), 2022—2033
- [18] Zhang Q., Shi C. Y., Qu D. H., Long Y. T., Feringa B. L., Tian H., *Sci. Adv.*, **2018**, 4(7), eaat8192
- [19] Deng Y. X., Zhang Q., Feringa B. L., Tian H., Qu D. H., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2020**, 59(13), 5278—5283
- [20] Endo K., Yamanaka T., *Macromolecules*, **2006**, 39(12), 4038—4043
- [21] Raeisi M., Tsarevsky N. V., *J. Polym. Sci.*, **2021**, 59(8), 675—684
- [22] Zhang Q., Deng Y. X., Shi C. Y., Feringa B. L., Tian H., Qu D. H., *Matter*, **2021**, 4(7), 1352—1364
- [23] Zheng S. J., Xue H. Y., Yao J., Chen Y., Brook M. A., Noman M. E., Cao Z. H., *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **2023**, 15(34), 41043—41054
- [24] Fan F. Q., Ji S. B., Sun C. X., Liu C., Yu Y., Fu Y., Xu H. P., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2018**, 57(50), 16426—16430
- [25] Nelson B. R., Kirkpatrick B. E., Miksch C. E., Davidson M. D., Skillin N. P., Hach G. K., Khang A., Hummel S. N., Fairbanks B. D., Burdick J. A., Bowman C. N., Anseth K. S., *Adv. Mater.*, **2024**, 36, 2211209
- [26] Scheutz G. M., Rowell J. L., Ellison S. T., Garrison J. B., Angelini T. E., Sumerlin B. S., *Macromolecules*, **2020**, 53(10), 4038—4046
- [27] Sieredzinska B., Zhang Q., Berg K. J., Flapper J., Feringa B. L., *Chem. Commun.*, **2021**, 57(77), 9838—9841
- [28] Shi C. Y., Zhang Q., Wang B. S., Chen M., Qu D. H., *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **2021**, 13(37), 44860—44867
- [29] Singh R., Whiteside G. M., *J. Am. Chem. Soc.*, **1990**, 112(3), 1190—1197
- [30] Zhu Y. W., Lin M. Y., Hu W. T., Wang J. K., Zhang Z. G., Zhang K., Yu B. R., Xu F. J., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2022**, 61(23), e202200535
- [31] An S. Y., Noh S. M., Oh J. K., *Macromol. Rapid Commun.*, **2017**, 38(8), 1600777
- [32] Yu H. S., Wang Y. N., Yang H. Y., Peng K., Zhang X. Y., *J. Mater. Chem. B*, **2017**, 5(22), 4121—4127
- [33] Liu Y., Jia Y., Wu Q., Moore J. S., *J. Am. Chem. Soc.*, **2019**, 141(43), 17075—17080
- [34] Gasparini G., Bang E. K., Molinard G., Tulumello D. V., Ward S., Kelley S. O., Roux A., Sakai N., Matile S., *J. Am. Chem. Soc.*, **2014**, 136(16), 6069—6074
- [35] Bang E. K., Gasparini G., Molinard G., Roux A., Sakai N., Matile S., *J. Am. Chem. Soc.*, **2013**, 135(6), 2088—2091

- [36] Li X., Wang C., Wang L. L., Huang R., Li W. C., Wang X. N., Wong S. S. W., Cai Z. W., Leung K. C. F., Jin L. J., *J. Colloid Interface Sci.*, **2022**, *614*, 322—336
- [37] Huang S., Shen Y. K., Bisoyi H. K., Tao Y., Liu Z. C., Wang M., Yang H., Li Q., *J. Am. Chem. Soc.*, **2021**, *143*(32), 12543—12551
- [38] Li Y. L., Zhu L., Liu Z. Z., Cheng R., Meng F. H., Cui J. H., Ji S. J., Zhong Z. Y., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2009**, *48*(52), 9914—9918
- [39] Houk J., Whitesides G. M., *J. Am. Chem. Soc.*, **1987**, *109*(22), 6825—6836
- [40] Singh R., Whitesides G. M., *J. Am. Chem. Soc.*, **1990**, *112*(17), 6304—6309
- [41] Kim S., Wittek K. I., Lee Y., *Chem. Sci.*, **2020**, *11*(19), 4882—4886
- [42] Behrendt F. N., Schlaad H., *Macromol. Rapid Commun.*, **2018**, *39*(6), 1700735
- [43] Guo J., Zhang S. Q., Tao Y. Q., Fan B. E., Tang W., *Polym. Chem.*, **2022**, *13*(48), 6637—6649
- [44] Pięta M., Purohit V. B., Pietrasik J., Plummer C. M., *Polym. Chem.*, **2023**, *14*(1), 7—31
- [45] Zhang X. Y., Waymouth R. M., *J. Am. Chem. Soc.*, **2017**, *139*(10), 3822—3833
- [46] Margulis K., Zhang X. Y., Joubert L. M., Bruening K., Tassone C. J., Zare R. N., Waymouth R. M., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2017**, *56*(51), 16357—16362
- [47] Carmine A., Domoto Y., Sakai N., Matile S., *Chem. Eur. J.*, **2013**, *19*(35), 11558—11563
- [48] Du T. Y., Shen B. M., Dai J. Y., Zhang M. M., Chen X. J., Yu P. Y., Liu Y., *J. Am. Chem. Soc.*, **2023**, *145*(50), 27788—27799
- [49] Yu D., Wang Y. C., Qu S., Zhang N., Nie K. L., Wang J. K., Huang Y. C., Sui D. D., Yu B. R., Qin M., Xu F. J., *Adv. Mater.*, **2023**, *35*(52), 2307190
- [50] Zhang Y. M., Røise J. J., Lee K., Li J., Murthy N., *Curr. Opin. Biotechnol.*, **2018**, *52*, 25—31
- [51] Hasan M., Khatun A., Kogure K., *Pharmaceutics*, **2022**, *14*(3), 525
- [52] Zhao Y., Cao W. Q., Liu Y., *Chem. J. Chinese Universities*, **2020**, *41*(5), 909—923 (赵宇, 曹琬晴, 刘阳. 高等学校化学学报, **2020**, *41*(5), 909—923)
- [53] Bauhuber S., Hozsa C., Breunig M., Göpferich A., *Adv. Mater.*, **2009**, *21*(32/33), 3286—3306
- [54] Wang F., Gao L., Meng L. Y., Xie J. M., Xiong J. W., Luo Y., *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **2016**, *8*(49), 33529—33538
- [55] Won Y. W., Yoon S. M., Lee K. M., Kim Y. H., *Mol. Ther.*, **2011**, *19*(2), 372—380
- [56] Bang E. K., Lista M., Sforazzini G., Sakaia N., Matile S., *Chem. Sci.*, **2012**, *3*(6), 1752—1763
- [57] Yuan P. Y., Mao X., Chong K. C., Fu J. Q., Pan S. J., Wu S. Z., Yu C. M., Yao S. Q., *Small*, **2017**, *13*(27), 1700569
- [58] Hei M. W., Zhan Y. R., Chen P., Zhao R. M., Tian X. L., Yu X. Q., Zhang J., *Mol. Pharmaceutics*, **2023**, *20*(6), 3210—3222
- [59] Yang W. H., Yu C. M., Wu C. X., Yao S. Q., Wu S. Z., *Polym. Chem.*, **2017**, *8*(27), 4043—4051
- [60] Cheng L., Yang L., Meng F. H., Zhong Z. Y., *Adv. Healthcare Mater.*, **2018**, *7*(20), 1800685
- [61] Chen C. Y., Gao P., Wang H., Cheng Y. Y., Lv J., *Biomater. Sci.*, **2023**, *11*(5), 1765—1775
- [62] Yang Y. X., Zuo S. Y., Zhang J. X., Liu T., Li X. M., Zhang H. T., Cheng M. S., Wang S. J., He Z. G., Sun B. J., Sun J., *Nano Today*, **2022**, *44*, 101480
- [63] Fu J. Q., Yu C. M., Li L., Yao S. Q., *J. Am. Chem. Soc.*, **2015**, *137*(37), 12153—12160
- [64] Qian L. H., Fu J. Q., Yuan P. Y., Du S. B., Huang W., Li L., Yao S. Q., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2018**, *57*(6), 1532—1536
- [65] Lu J. H., Wang H., Tian Z. Y., Hou Y. Q., Lu H., *J. Am. Chem. Soc.*, **2020**, *142*(3), 1217—1221
- [66] Lu J. H., Xu Z., Fu H. L., Lin Y., Wang H., Lu H., *J. Am. Chem. Soc.*, **2022**, *144*(34), 15709—15717
- [67] Lu J. H., Dai Y. H., He Y. H., Zhang T., Zhang J., Chen X. M., Jiang C. T., Lu H., *J. Am. Chem. Soc.*, **2024**, *146*(6), 3974—3983
- [68] Zhang R. H., Nie T. Q., Fang Y. F., Huang H., Wu J., *Biomacromolecules*, **2022**, *23*(1), 1—19
- [69] Chen Z., *Trends Mol. Med.*, **2010**, *16*(12), 594—602
- [70] Mondal A., Das S., Ali S. M., Kolay S., Sengupta A., Molla M. R., *Bioconjugate Chem.*, **2023**, *34*(3), 489—500
- [71] Zhang P. H., Wang Y., Lian J., Shen Q., Wang C., Ma B. H., Zhang Y. C., Xu T. T., Li J. X., Shao Y. P., Xu F., Zhu J. J., *Adv. Mater.*, **2017**, *29*(36), 1702311
- [72] Mu S. W., Zhu Y. W., Wang Y., Qu S., Huang Y. C., Zheng L., Duan S., Yu B. R., Qin M., Xu F. J., *Adv. Mater.*, **2022**, *34*(41), 2204065
- [73] Son S., Namgung R., Kim J., Singha K., Kim W. J., *Acc. Chem. Res.*, **2012**, *45*(7), 1100—1112

(Ed.: Y, K, S)