

文章编号: 1008-9357(2025)06-0531-14

DOI: 10.14133/j.cnki.1008-9357.20250620001

pH/ROS 双重刺激响应性微凝胶多药共载体系的构建

刘潇佩, 刘芳怡, 谢孟杨, 徐首红

(华东理工大学化学与分子工程学院, 结构可控先进功能材料及其制备教育部重点实验室, 上海 200237)

摘要: 智能响应性纳米载体作为肿瘤治疗的新兴策略, 因其高靶向性以及高生物相容性展现出显著的临床应用潜力。本文首先设计合成了两亲性共聚物: 聚硫化丙烯-聚(3-丙烯酰胺基苯硼酸-co-聚乙二醇甲醚甲基丙烯酸酯)($\text{PPS}_k\text{-P}(\text{APBA}_m\text{-co-OEGMA}_n)$), 通过自组装形成具有活性氧(ROS)响应性的聚合物胶束; 然后利用多酚类药物原花青素(PC)对亲水层 $\text{P}(\text{APBA}_m\text{-co-OEGMA}_n)$ 进行交联, 形成硼酸酯共价交联网络, 制得了微凝胶, 从而得到具有pH/ROS双重响应性的微凝胶载体。通过动态光散射仪(DLS)、扫描电子显微镜(SEM)以及紫外-可见分光光度计(UV-Vis)等对微凝胶的粒径、表面形貌以及交联情况进行表征, 并研究微凝胶对于疏水性小分子药物阿霉素(DOX)和亲水性大分子牛血清蛋白(BSA)的药物单载、多药共载及其药物释放动力学。研究表明, 该pH/ROS双重响应性的微凝胶载体具有稳定的多药独立包载和良好的药物控释行为。

关键词: 智能响应性; 纳米载体; 聚合物胶束; 核壳结构; 微凝胶; 药物控释

中图分类号: O648

文献标志码: A

Construction of pH/ROS Dual-Responsive Microgel Multidrug Co-delivery System

LIU Xiaopei, LIU Fangyi, XIE Mengyang, XU Shouhong

(Key Laboratory for Advanced Materials, School of Chemistry and Molecular Engineering, East China University of Science and Technology, Shanghai 200237, China)

Abstract: Smart responsive nanocarriers have emerged as a promising strategy for tumor therapy, demonstrating significant clinical potential due to their high targeting capability and excellent biocompatibility. An amphiphilic copolymer, poly(propylene sulfide)-poly(3-acrylamidophenylboronic acid-co-poly(ethylene glycol) methyl ether methacrylate) ($\text{PPS}_k\text{-P}(\text{APBA}_m\text{-co-OEGMA}_n)$), was designed and synthesized. Through self-assembly, reactive oxygen species (ROS)-responsive polymeric micelles were obtained. The hydrophilic $\text{P}(\text{APBA}_m\text{-co-OEGMA}_n)$ shell was further crosslinked using the polyphenolic drug proanthocyanidin (PC), forming a boronate ester covalent network that enhanced the stability of the nanocarrier while introducing pH responsiveness, and yielding dual pH/ROS-responsive microgel carriers. The particle size, surface morphology, and crosslinking behavior of the microgels were characterized using dynamic light scattering (DLS),

收稿日期: 2025-06-20

基金项目: 国家自然科学基金(22078087); 中央高校基本科研业务费(2022ZFJH004)

作者简介: 刘潇佩(1999—), 女, 河南濮阳人, 硕士生, 主要研究方向为智能型药物载体的设计与合成。E-mail: 19921311129@163.com

通信联系人: 徐首红, E-mail: xushouhong@ecust.edu.cn

引用格式: 刘潇佩, 刘芳怡, 谢孟杨, 徐首红. pH/ROS 双重刺激响应性微凝胶多药共载体系的构建 [J]. 功能高分子学报, 2025, 38(6): 531-544.

Citation: LIU Xiaopei, LIU Fangyi, XIE Mengyang, XU Shouhong. Construction of pH/ROS Dual-Responsive Microgel Multidrug Co-delivery System [J]. Journal of Functional Polymers, 2025, 38(6): 531-544.

scanning electron microscopy (SEM), and ultraviolet-visible (UV-Vis) spectroscopy. The drug-loading and release behavior of small-molecule doxorubicin (DOX) and macromolecular bovine serum albumin (BSA) were investigated, demonstrating efficient drug encapsulation and stimuli-responsive release. The results confirmed that the microgel carrier exhibited pH/ROS dual responsiveness, a stable independent loading of multiple drugs, and controlled drug release. This study provides a scientific foundation for precision drug delivery, intelligent release systems, and overcoming multidrug resistance in cancer therapy.

Key words: smart responsive; nanocarrier; polymer micelle; core-shell structure; microgel; drug controlled release

癌症是 21 世纪的重大社会、公共卫生和经济问题^[1], 其治疗障碍不仅源于癌症本身, 还涉及个体差异、免疫反应、心理及社会环境等多方面因素^[2, 3]。传统疗法如手术、化疗和放疗存在非特异靶向性、生物相容性差以及多药耐药性等局限。为克服这些不足, 许多研究团队已将研究重心转移至靶向治疗, 尤其是纳米颗粒的表面改性以及刺激响应技术的发展, 即通过将药物封装在纳米载体中, 精准控制药物的剂量、释放位置和持续时间, 可以显著提升药物的疗效与安全性。

癌症治疗的关键在于药物递送系统能否特异性地靶向肿瘤细胞而不影响正常组织。为达此目的, 通常利用肿瘤微环境(TME)与正常组织环境的生理差异^[4](如高活性氧(ROS)水平^[5]、低 pH^[6]、高浓度谷胱甘肽(GSH)^[7]以及特定酶的过表达^[8]等特征)作为智能药物递送系统(SDDSs)的触发条件, 从而达到精准抗癌的目的。利用肿瘤部位的高 ROS 特性, 疏水性的聚硫化丙烯(PPS)常被选为氧化响应材料, 它的高 ROS 环境中易被氧化, 转化为亲水性的聚砜/聚亚砜^[9], 从而实现药物的响应释放。为延长纳米载体的体内循环时间并克服免疫清除障碍^[10], 利用聚乙二醇甲醚甲基丙烯酸酯(OEGMA)对纳米颗粒进行表面包覆, 从而赋予其免疫逃逸行为^[11]。肿瘤组织因缺氧容易乳酸堆积, 导致 pH(pH= 6.5)略低于正常组织(pH= 7.4), 以及内涵体/溶酶体的强酸环境(pH= 5.0)都可引起酸响应纳米载体的降解及释放^[12]。

硼基材料^[13](如氯化硼、硼酸以及氟化硼二吡咯等)能通过特定刺激(pH、GSH、葡萄糖及温度等)实现药物的响应性释放, 已逐渐成为药物递送领域的研究热点。Zhao 等^[14]以苯硼酸修饰的壳聚糖、聚乙烯醇及醛基封端的聚乙二醇为原料, 通过席夫碱和苯硼酸的原位交联作用, 将胰岛素和成纤维细胞进行包载, 成功制备了具有 pH/葡萄糖双响应性的注射型水凝胶, 可作为促进糖尿病伤口愈合的生物活性敷料。Yoshinaga 等^[15]设计了一种具有三磷酸腺苷(ATP)响应性的聚合物胶束(PMs), 通过硼酸酯交联结构将信使核糖核酸(mRNA)包载在载体核心位置, 从而免于酶降解及免疫性受体的识别, 并且可以在细胞质的高 ATP 环境中引发硼酸酯键的断裂, 实现 mRNA 的释放, 提高翻译效率。总之, 硼基材料因其优良的响应性能, 在基因治疗以及慢性病治疗等领域展现出巨大潜力。

本文设计并合成了一种两亲性共聚物: 聚硫化丙烯-聚(3-丙烯酰胺基苯硼酸-co-聚乙二醇甲醚甲基丙烯酸酯)(PPS_k-P(APBA_m-co-OEGMA_n)), 通过自组装形成以聚硫化丙烯(PPS_k)为疏水核心、聚(3-丙烯酰胺基苯硼酸-co-聚乙二醇甲醚甲基丙烯酸酯)(P(APBA_m-co-OEGMA_n))为亲水层的胶束, 并利用多酚类药物原花青素(PC)^[16]对其亲水壳层进行交联, 形成硼酸酯共价交联网络层, 这一过程在提升载体稳定性的同时引入了 pH 响应性的硼酸酯键^[17], 得到了具有 pH/ROS 双重响应性的微凝胶。分别以疏水性小分子药物阿霉素(DOX)和亲水性大分子牛血清蛋白(BSA)为药物模型, 探究药物单载及分区共载时的响应性释放行为。研究结果表明, 该微凝胶不仅可以在正常生理条件下实现对药物的有效封锁, 而且可以在条件刺激下实现药物控释, 具有良好的“智能”响应性。本文构建的 pH/ROS 双重响应多药共载体系, 可实现不同作用机制药物的精准同步释放, 为解决临床抗肿瘤治疗中的药物副作用、多药耐药性等问题提供了可靠策略和理论依据。

1 实验部分

1.1 原料和试剂

偶氮二异丁腈(AIBN, *w* = 99%)、1,8-二氮杂双环[5.4.0]十一碳-7-烯(DBU, *w* = 97%): 上海百灵威化学技术有限公司; 聚乙二醇甲醚甲基丙烯酸酯(OEGMA, *w* = 95%)、硫化丙烯(PS, *w* = 99%)、碱性氧化铝(Al₂O₃,

粒径 49~74 μm)、二环己基碳二亚胺(DCC, $w = 98\%$): 上海麦克林生化科技股份有限公司; 2-碘乙醇($w = 98\%$)、2-(十二烷基三硫代碳酸酯)-2-甲基丙酸(MTS, $w = 98\%$)、3-丙烯酰胺基苯硼酸(APBA, $w = 98\%$)、4-二甲基氨基吡啶(DMAP, $w = 99\%$)、1-丁硫醇($w = 98\%$)、PC($w = 98\%$): 上海泰坦科技股份有限公司; 盐酸多柔比星(DOX-HCl): $w = 98\%$, 上海毕得医药科技有限公司; 荧光标记的牛血清蛋白(BSA-FITC): $w = 98\%$, 上海生物工程有限公司; 超干四氢呋喃(THF)、超干二氯甲烷(DCM)、超干二甲基亚砜(DMSO)、超干 N,N -二甲基甲酰胺(DMF): 分析纯, 上海泰坦科技股份有限公司; Cell Counting Kit-8(CCK-8): 日本同仁化学研究所。

1.2 测试及表征

通过超导傅里叶变换核磁共振波谱仪($^1\text{H-NMR}$, 瑞士布鲁克公司 ADVANCE III 型)以及傅里叶红外光谱仪(FT-IR, 美国尼高力公司 Nicolet 6700 型)对聚合物的分子结构进行表征; 通过动态光散射仪(DLS, 奥地利安东帕公司 Litesizer 500 型)对粒子的粒径以及 Zeta 电位进行表征; 通过扫描电子显微镜(SEM, 日本株式会社日立制作所 S-3400N 型)对微凝胶的表面形貌进行表征; 通过紫外-可见分光光度计(UV-Vis, 日本岛津公司 UV-2450 型)以及荧光分光光度计(FL, 日本株式会社日立制作所 F-4500 型)对药物的体外释放行为进行表征; 通过微孔板吸光度分光光度计(美国 Bio-Rad 公司 xMark 型)对载体的生物相容性进行初步评估。

1.3 两性性共聚物 $\text{PPS}_k\text{-P}(\text{APBA}_m\text{-co-OEGMA}_n)$ 的合成

链转移剂($\text{PPS}_k\text{-MTS}$)的合成参照文献[18]。首先, 制备聚硫化丙烯(PPS_k); 然后, 利用 2-碘乙醇对其进行封端, 在聚合物末端引入羟基制得 $\text{PPS}_k\text{-OH}$; 最后, 将 $\text{PPS}_k\text{-OH}$ 和 MTS 末端的羧基($-\text{COOH}$)进行酯化反应, 得到链转移剂 $\text{PPS}_k\text{-MTS}$ (图 1(a))。具体步骤如下: 首先, 向三颈烧瓶中加入 10 mL 超干 THF, 通 N_2 除氧, 外加冰水浴使反应体系降至 $0\text{ }^\circ\text{C}$; 接着, 加入 DBU(211.6 μL , 1.53 mmol)、1-丁硫醇(46 mg, 0.51 mmol)、PS(2 mL, 25.52 mmol)以及 2-碘乙醇(79.6 μL , 1.02 mmol), 30 min 后关闭氮气流并移除冰水浴, 室温反应 24 h; 然后, 真空抽滤, 用冰乙醇沉降 3 次以除去体系中残留的单体及杂质, 真空干燥得到无色透明的黏稠液体 $\text{PPS}_k\text{-OH}$; 最后, 向圆底烧瓶中加入 $\text{PPS}_k\text{-OH}$ (500 mg, 0.13 mmol)、DCC(83.5 mg, 0.4 mmol)、DMAP(49.4 mg, 0.4 mmol)、MTS(123 mg, 0.34 mmol)以及 10 mL 超干溶剂 DCM, 室温反应 48 h, 透析除杂、冰乙醇沉降, 真空干燥得到黄色透明的黏稠液体 $\text{PPS}_k\text{-MTS}$ 。

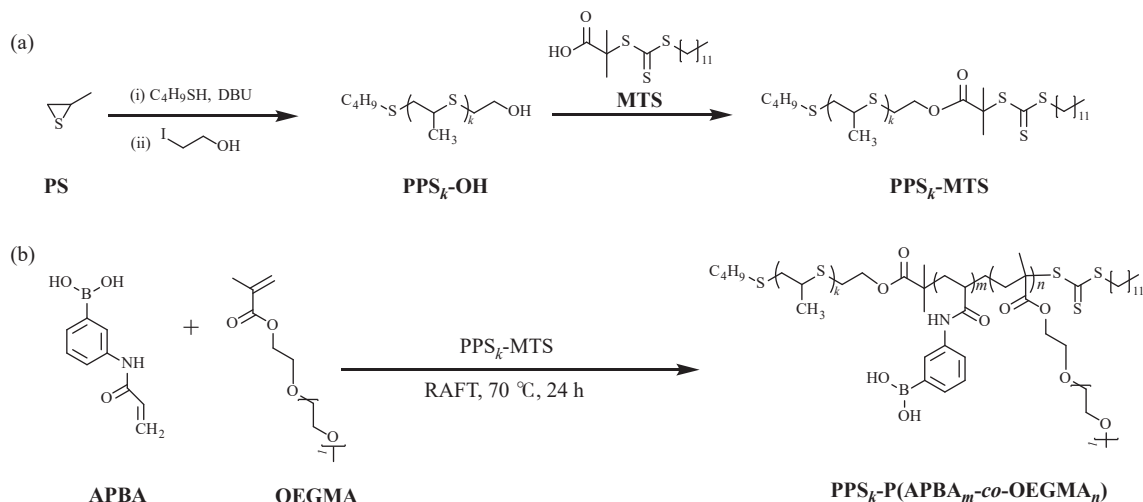


图 1 (a) $\text{PPS}_k\text{-MTS}$ 和 (b) $\text{PPS}_k\text{-P}(\text{APBA}_m\text{-co-OEGMA}_n)$ 的合成路线
Fig. 1 Synthesis routes of (a) $\text{PPS}_k\text{-MTS}$ and (b) $\text{PPS}_k\text{-P}(\text{APBA}_m\text{-co-OEGMA}_n)$

本实验采用可逆加成-断裂链转移聚合(RAFT)法, 以 $\text{PPS}_k\text{-MTS}$ 为链转移剂, 通过亲水性单体 OEGMA 以及疏水性单体 APBA 的无规共聚, 制备了聚合物 $\text{PPS}_k\text{-P}(\text{APBA}_m\text{-co-OEGMA}_n)$ (图 1(b))。具体步骤如下: 首先, 向史莱克瓶中依次加入 APBA(62.1 mg, 0.35 mmol)、AIBN(0.3 mg, 0.002 mmol)、 $\text{PPS}_k\text{-MTS}$ (22.9 mg, 0.007 mmol)、OEGMA(181.5 mg, 0.65 mmol), 以及 DMSO 和 DMF 的超干混合溶剂($V_{\text{DMSO}}:V_{\text{DMF}} = 3:2$), 超声处理至完全溶解; 然后, “液氮速冻、抽真空、通 N_2 、解冻”循环操作 3 次获得无水无氧条件, 在 $70\text{ }^\circ\text{C}$ 油浴锅中搅拌反应 24 h; 最后, 通过透析除杂、冷冻干燥得到黄色胶状固体 $\text{PPS}_k\text{-P}(\text{APBA}_m\text{-co-OEGMA}_n)$ 。

1.4 微凝胶的制备

首先,通过溶剂挥发法实现聚合物胶束的自组装:称取 3 mg 聚合物 PPS_k-P(APBA_m-co-OEGMA_n),加入 1 mL THF 后超声溶解,逐滴滴入 10 mL 磷酸盐缓冲液(PBS, pH = 7.4)中,常温搅拌过夜,使 THF 挥发完全,得到聚合物胶束溶液(0.3 mg/mL),记为 Micelle;然后,以多酚类药物 PC 为交联剂,PC 中的酚羟基和聚合物侧链亲水段中的苯硼酸基团(PA)反应,形成硼酸酯键共价交联网络;最后,量取 100~500 μL 的 PC 溶液(3 mg/mL),分别滴入新制好的聚合物胶束溶液中,密封搅拌 12 h 获得不同交联程度的微凝胶,记为 MicelleGEL-*x*(*x* = 10%~50%,其中 *x* 对应 PC 与 Micelle 的质量比)。

1.5 载药聚合物胶束及载药微凝胶的制备

分别以疏水性小分子药物 DOX 和亲水性大分子蛋白 BSA-FITC 为药物模型,进行药物的单独负载以及多药分区共载。

设计将 DOX 负载在纳米载体的疏水核心中,具体实验过程如下:首先,称取 3 mg PPS_k-P(APBA_m-co-OEGMA_n) 和 2 mg DOX·HCl,加入 1 mL THF,超声使其均匀分散;然后,加入 2 μL 三乙胺(TEA)中和 DOX·HCl 中的 HCl,通过溶剂挥发法得到 0.3 mg/mL 的载药胶束溶液,低温透析以除尽未包载的 DOX,得到负载 DOX 的聚合物胶束,记为 Micelle@DOX;最后,向 Micelle@DOX 体系中滴加不同体积的 PC 溶液(3 mg/mL, 100~500 μL),使其进一步交联,得到负载 DOX 的微凝胶,记为 MicelleGEL-*x*@DOX。

设计将 BSA-FITC 负载在无规共聚物 P(APBA_m-co-OEGMA_n) 与 PC 形成的交联层中:先制备空白胶束溶液,再向体系中分别滴加 BSA-FITC 溶液($\rho_{\text{BSA}} = 0.05 \text{ mg/mL}$)和 PC 溶液,得到负载 BSA-FITC 的微凝胶,记为 MicelleGEL-*x*@BSA。

制备分区共载多药的微凝胶:将上述步骤结合,首先将 DOX 负载在聚合物胶束的疏水核心中,得到 Micelle@DOX,然后加入 BSA-FITC,使 BSA-FITC 负载在交联层,实现分区多药共载,得到的微凝胶记为 MicelleGEL-*x*@(DOX | BSA)。

1.6 体外模拟释药行为研究

以多药共载体系 MicelleGEL-*x*@(DOX | BSA) 为例,实验全程避光操作:向透析袋中注入 2 mL MicelleGEL-*x*@(DOX | BSA) 溶液,然后转移至含有 20 mL PBS 溶液(pH 7.4、pH 7.4+H₂O₂、pH 5.0、pH 5.0+H₂O₂,其中 H₂O₂ 的浓度为 300 μmol/L)的离心管中,放置于 37 °C 恒温振荡箱。通过紫外-可见分光光度计测量外部 PBS 溶液在 278 nm 和 485 nm 处的吸光度,分别对应 PC 和 DOX 的特征吸收峰,同时通过荧光分光光度计测量 515 nm 处的荧光强度,代表 FITC 的特征发射光强度,测量完毕后,回收 PBS 溶液并持续振荡。

药物释放完毕后,通过加酸、加 H₂O₂ 以及超声等方式破乳,测得药物的总紫外吸光度(或荧光强度)。根据各药物对应的紫外(或荧光)标准曲线,计算样品包载的药物质量,进而得到样品的载药量(DLC)和包封率(DLE),计算公式如下:

$$\text{DLC}(\%) = m_d / m_c \times 100\% \quad (1)$$

$$\text{DLE}(\%) = m_d / m_f \times 100\% \quad (2)$$

其中: m_d 代表药物载体中所负载的药物质量; m_c 代表药物载体的质量; m_f 代表加入药物的总质量。

根据 t 时刻测得药物的紫外吸光度(或荧光强度),结合标准曲线,计算出药物在 t 时刻的累积释放率(R_t),所有实验均独立重复 3 次,数据以均值 ± 标准差表示。

1.7 药物释放模型的建立

在本实验中,分别采用一级动力学模型、Higuchi 模型以及 Ritger-Peppas 模型对药物释放行为进行拟合,从而确定最佳的拟合模型。

一级动力学模型的公式如下:

$$R_t = R_\infty (1 - e^{-At}) \quad (3)$$

Higuchi 模型一般用于描述溶质在胶体、多孔介质或固体吸附剂表面扩散过程中的释放动力学,药物的累积释放率与时间的平方根成正比,公式如下:

$$R_t = R_\infty t^{1/2} + B \tag{4}$$

Ritger-Peppas 模型一般适用于溶蚀型载药系统, 公式如下:

$$R_t = R_\infty \cdot C t^n \tag{5}$$

公式(3~5)中: R_∞ 为最终释放率; A 为一级释放速率常数; B 为 Higuchi 扩散常数; C 为 Peppas 释放速率常数; n 为释放指数。当 $n \leq 0.45$ 时, 为 Fickian 扩散; 当 $0.45 < n < 0.89$ 时, 为非 Fickian 扩散(混合机制); 当 $n \geq 0.89$ 时, 为溶蚀控制或零级释放。将各种药物在 t 时刻的累积释放率代入各模型公式, 即可得到它们的拟合曲线, 根据拟合优度(R^2) 确定最佳拟合模型。

1.8 生物相容性实验

采用 CCK-8 试剂盒, 分别测定不同质量浓度的 MicelleGEL-50% 载体溶液与小鼠成纤维细胞(L929)以及小鼠小胶质细胞(BV2)共同孵育 24 h(37 °C, 5% CO₂)后的细胞存活率, 从而评估其生物相容性。CCK-8 测试流程如下: 使用无血清培养基配制的 CCK-8 工作液($\varphi=10\%$), 转染后的 96 孔板经 PBS 溶液洗涤后吸干, 使用排枪迅速向每孔中加入 100 μ L 的 CCK-8 工作液, 置于培养箱中孵育 30 min, 随后使用微孔板吸光度分光光度计测定其在 450 nm 处的吸光度(OD), 并根据 OD 值计算细胞存活率(所有实验均独立重复 5 次, 数据以均值 \pm 标准差表示)。公式如下:

$$\text{Cell viability} = \frac{\text{OD}_s - \text{OD}_b}{\text{OD}_c - \text{OD}_b} \times 100\% \tag{6}$$

其中: OD_s 是实验孔的 OD 值(含细胞、CCK-8 和 MicelleGEL-50%), OD_c 是对照孔的 OD 值(含细胞、CCK-8), OD_b 是空白孔的 OD 值(不含细胞和 MicelleGEL-50%、CCK-8)。

2 结果与讨论

2.1 两亲性共聚物的结构表征

通过 ¹H-NMR 对聚合物的分子结构进行表征, 结果如图 2(a) 所示。化学位移(δ) 7.26 处是氘代氯仿(CDCl₃)的溶剂峰, $\delta = 3.75$ 处对应的是与羟基(-OH)直接相连的亚甲基氢的特征峰(i, -CH₂-OH), 证明 PPS_k-OH 的成功聚合。此外, 当 PPS_k-OH 和 MTS 发生酯化反应后, 亚甲基氢的化学环境发生变化, i 峰的化学位移从 3.8 偏移至 4.2, 这是酯键形成的标志, 证明链转移剂 PPS_k-MTS 的成功合成。7.5~8.0 处是苯环上氢

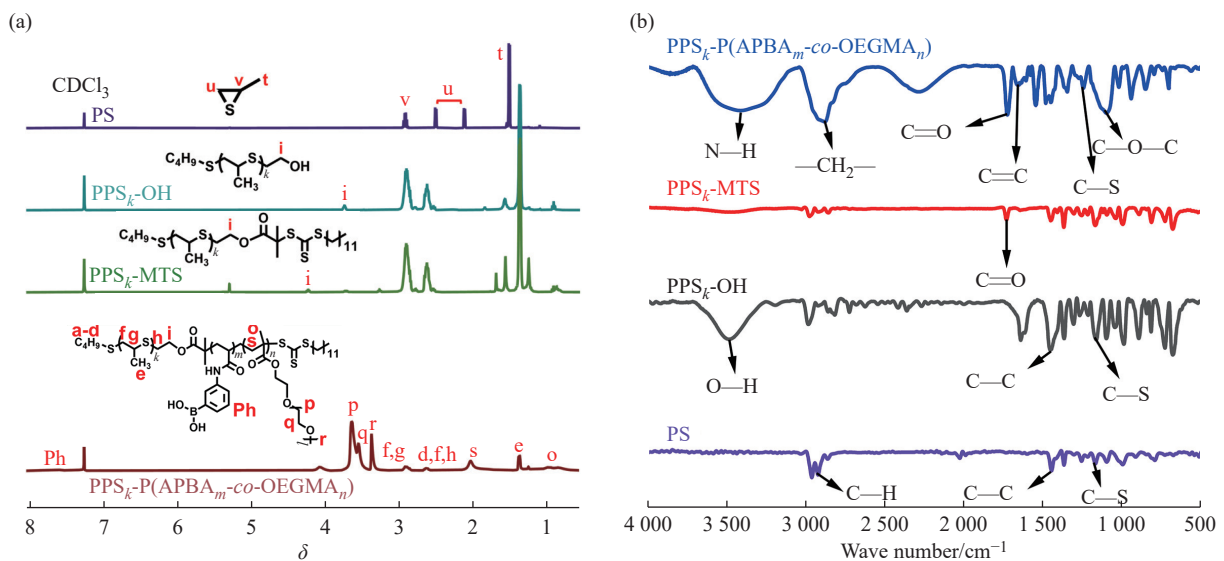


图 2 聚合物的(a)¹H-NMR 和(b)FT-IR 光谱图

Fig. 2 (a) ¹H-NMR and (b) FT-IR spectra of polymers

原子(-Ph)的特征峰, 3.5~4.0 处的峰是重复单元 OEGMA 中的亚甲基峰(p、q, -O-CH₂-), 3.3~3.5 处的峰是侧链末端与氧相连的甲基氢的特征峰(r, -O-CH₃), 1.8~2.2 处的峰是聚合物主链上的亚甲基氢的特征峰(s, -CH₂-), 0.8~1.2 处的峰是聚合物主链上的甲基氢的特征峰(o, -CH₃)。结合各特征峰的归属情况可知, 单体 APBA 和 OEGMA 在链转移剂 PPS_k-MTS 上成功实现了无规共聚。

利用 FT-IR 对聚合物的结构进一步验证(图 2(b))。3486 cm⁻¹ 处的宽峰是 O-H 伸缩振动的特征峰, 表明 2-碘乙醇成功向 PPS_k 末端引入羟基; 在 PPS_k-OH 和 MTS 反应后可以明显观察到 3486 cm⁻¹ 处宽峰的消失以及 1728 cm⁻¹ 处新峰(C=O)的产生, 说明 PPS_k-OH 末端的一OH 和 MTS 末端的一COOH 反应形成了新的酯键, 表明成功合成了 PPS_k-MTS; RAFT 反应后, 在 3415 cm⁻¹ 处产生了一个新的宽且强的峰, 是 APBA 中酰胺键上 N-H 的伸缩振动峰, 1660 cm⁻¹ 左右则是苯环骨架的特征吸收峰, 1108 cm⁻¹ 处是聚合物支链上醚氧键(C-O-C)的伸缩振动峰, 这同样可以证明聚合物 PPS_k-P(APBA_m-co-OEGMA_n) 的成功制备。

2.2 聚合物胶束的表征

通过调节 APBA 和 OEGMA 的物质的量之比, 可以有效控制无规共聚物 P(APBA_m-co-OEGMA_n) 的结构和功能, 在本实验中, 控制 $n_{\text{APBA}}:n_{\text{OEGMA}} = 0.35:0.65$, 得到聚合物 PPS₅₀-P(APBA₅₀-co-OEGMA₉₃), 自组装形成聚合物胶束。通过 DLS 检测, 当 pH=7.4 时, 聚合物胶束的粒径为 158 nm, 多分散指数(PDI)为 0.139, 具有良好的分散性。根据增强型渗透和滞留(EPR)效应, 当聚合物纳米颗粒的平均粒径在 100~200 nm 时, 该聚合物胶束通常具有最佳的肿瘤靶向性和药物累积效果^[19]。

对聚合物胶束的 ROS 响应性能进行探究, 结果如表 1 所示。当 pH 降为 5.0 时, 粒径为 172 nm, 比 pH=7.4 时的粒径有略微的增加, 表明弱酸性虽然会引起 PA 质子化, 但也不至于导致亲水壳层明显溶胀, pH 变化并不会对粒径产生剧烈影响。向溶液中加入一定量的 H₂O₂, 模拟 TME 的高 ROS 环境, 中性和酸性条件下胶束均发生明显的溶胀, 粒径分别增大至 391 nm 和 424 nm, 表明聚合物胶束的疏水内核 PPS 被 H₂O₂ 氧化, 实现亲疏水转换, 核心发生溶胀, 导致粒径明显增大, 证实聚合物胶束有良好的 ROS 响应性。

表 1 聚合物胶束在不同条件下的粒径

Table 1 Size of polymer micelles under different conditions

Condition	Size/nm	PDI
pH 7.4	158	0.139
pH 5.0	172	0.261
pH 7.4+H ₂ O ₂	391	0.286
pH 5.0+H ₂ O ₂	424	0.271

2.3 微凝胶的表征

由于聚合物 PPS₅₀-P(APBA₅₀-co-OEGMA₉₃) 的侧链中含有大量的 PA, 可以和多酚类药物 PC 上的邻二醇发生反应, 形成具有酸性敏感的硼酸酯键, 从而起到交联作用, 因此, 加入 PC 不仅增强了载体的稳定性, 同时还引入了 pH 响应性, 获得具有 pH/ROS 双重刺激响应性的微凝胶。

2.3.1 硼酸酯键的形成 茜素红 S(ARS)是一种常见的有机染料, 含有多个酚羟基, 可以和 PA 通过硼酸酯键形成稳定的硼酸酯化合物(图 3(a)), 从而引起结构变化, 导致紫外吸收峰的偏移及溶液颜色变化^[20]。各样品中加入 ARS 后, 随着 PC 浓度增加, 交联化程度提升, 体系中游离的 PA 减少, 被结合的 ARS 也随之减少, 游离的 ARS 则增多, 因此, 溶液的颜色逐渐变为紫红色(图 3(b)); 从混合溶液的紫外吸收光谱(图 3(c))可以看出, 游离态的 ARS 在 PBS 中的最大吸收波长(λ_{max})是 519 nm, 当体系中存在游离的 PA 时, 如 ARS+APBA 体系, λ_{max} 发生了高达 41 nm 的蓝移, 证明硼酸酯键的形成。然而, ARS+MicelleGEL-50% 的特征峰和 ARS+PBS 基本重合, 表明该微凝胶壳层的 PA 几乎被 PC 占据, 从而被用于交联。

2.3.2 微凝胶 MicelleGEL-x 的性能表征 在不同 pH 条件下, 聚合物胶束的粒径基本一致, 而微凝胶 MicelleGEL-x 则随着交联程度的提高而呈现不同的变化趋势(图 4)。当 pH=7.4 时, 粒径先增大后减小; 当 pH=5.0 时, 粒径则呈现先减小后增大的趋势, 这应该是体系中存在的氢键水合作用对粒径产生影响。在中

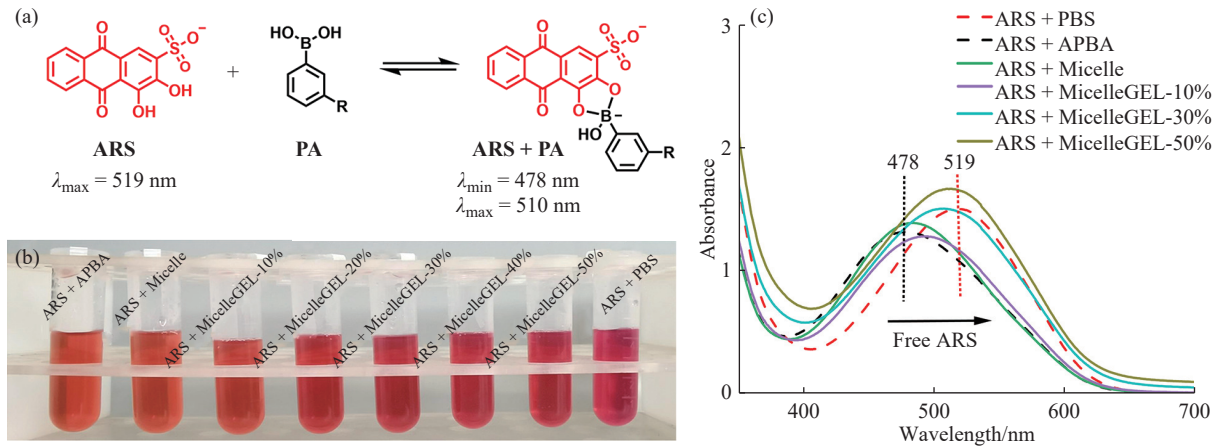


图 3 (a)ARS 和 PA 的结合示意图; ARS 工作溶液与 PBS、APBA、Micelle 及 MicelleGEL-x 混合溶液的 (b)照片及 (c)紫外-可见吸收光谱

Fig. 3 (a)Schematic diagram of the combination of ARS and PA; (b) Photographs and (c) UV-Vis absorption spectra of ARS working solution mixed with PBS, APBA, Micelle and MicelleGEL-x

性条件下加入亲水性交联剂 PC, 当 x 为 10%~30% 时, 在亲水壳层产生了较强的氢键水合作用, 导致微凝胶吸水膨胀、粒径增大; 随着 x 继续增大至 30%~50%, 硼酸酯键的交联作用逐渐增强, 交联密度增加导致结构紧致, 粒径减小。然而, 在酸性条件下, 当 PC 含量较少(x 为 10%~30%)时, 由于 H^+ 对氢键网络形成的水合层造成破坏, 导致粒径减小; 随着 x 继续增大至 30%~50%, 占据主导作用的硼酸酯键遇酸断开, 部分 PC 开始逐渐脱落释放, 交联作用减弱, 壳层结构松弛, 同时未脱落的 PC 又重新形成氢键水合作用, 导致粒径增大。粒径变化结果表明微凝胶具有一定的 pH 敏感性。后续选择 MicelleGEL-30% 和 MicelleGEL-50% 开展研究, 探讨交联程度对微凝胶结构及其功能的影响。

聚合物胶束以及两种微凝胶的 Zeta 电位如图 5(a) 所示。随着 PC 用量的增加, Zeta 电位呈现降低趋势。一方面, 聚合物侧链中的 PA 在 pH 7.4 时易去质子化, 形成带负电的苯硼酸盐, 使聚合物胶束呈负电性; 另一方面, PC 富含酚羟基, 在中性条件下可部分解离为酚氧负离子, 进一步向体系中引入负电荷, 两者叠加导致 Zeta 电位呈现负向偏移。由两种微凝胶的表面形貌(图 5(b))可以看出: 在中性条件下, 它们都呈大小较为均一的球形, 其粒径与 DLS 所测粒径结果基本一致。对不同条件下聚合物胶束及微凝胶的粒径分布(图 5(c))分析对比可知, Micelle 在 H^+ 和 H_2O_2 的共同作用下, 核心溶胀, 胶束解体, 而 MicelleGEL-30% 和 MicelleGEL-50% 分别经历亲水壳层的破坏及疏水核心的溶胀后, 虽然粒径发生显著改变, 但是粒子膨胀均匀, 始终保持均一的单峰分布, 说明微凝胶 MicelleGEL-30% 和 MicelleGEL-50% 具有良好的 pH 及 ROS 响应性, 且结构稳定性显著优于未交联的 Micelle。

纳米载体除了具备优异的刺激响应性外, 其在血液循环系统中维持良好的稳定性同样至关重要。将初始质量浓度(ρ_0)为 0.3 mg/mL 的 Micelle、MicelleGEL-30% 和 MicelleGEL-50% 分别用 PBS 溶液(pH=7.4)梯度稀释 10 倍、100 倍以及 1000 倍, 通过 DLS 检测其粒径分布结果如图 5(d) 所示。在稀释过程中, 两种微凝胶由于亲水壳层中硼酸酯键稳定的交联作用, 始终保持着均一的单峰分布, 而聚合物胶束 Micelle 则在稀释 1000 倍的时候分裂成 3 个峰, 说明微凝胶 MicelleGEL-30% 和 MicelleGEL-50% 的抗稀释性能优于 Micelle。

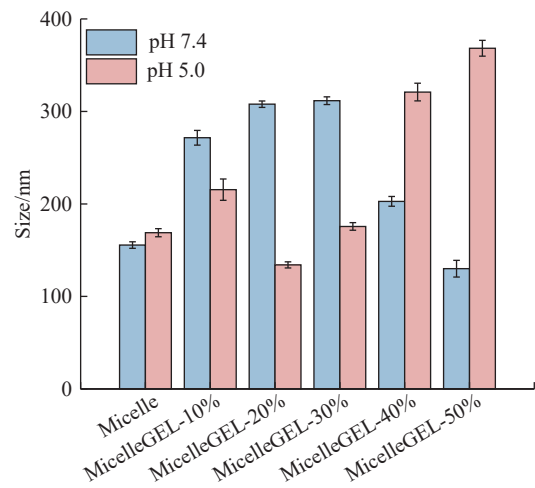


图 4 聚合物胶束及 MicelleGEL-x 在不同 pH 条件下的粒径
Fig. 4 Size of polymer micelle and MicelleGEL-x under different pH conditions

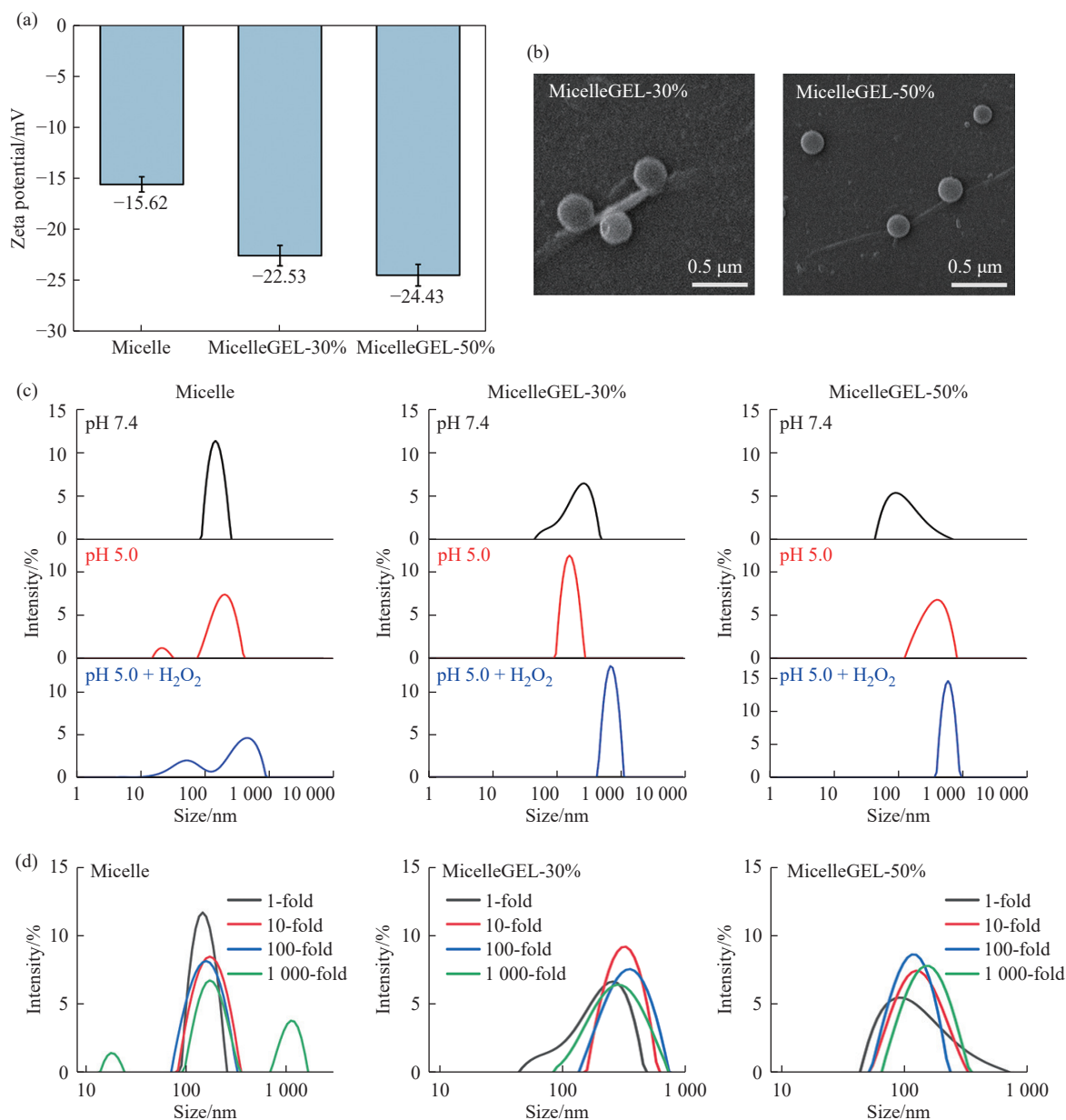


图 5 纳米载体的(a)Zeta 电位, (b)SEM 图像, (c)不同条件下的粒径分布及(d)抗稀释性能

Fig. 5 (a) Zeta potentials, (b) SEM images, (c) particle size distribution under different conditions and (d) anti-dilution performance of nanocarriers

2.4 纳米载体的体外药物释放

通过考察不同纳米载体对亲水性小分子 PC、疏水性小分子 DOX 和亲水性大分子 BSA 的单独负载与分区共载及其响应性释放动力学,探究纳米载体的药物负载及可控释放行为。

2.4.1 小分子药物 DOX 及 PC 的体外释放 将 DOX 包载在纳米载体的疏水核心中,探究不同条件下,聚合物胶束 Micelle 及微凝胶 MicelleGEL-30%、MicelleGEL-50% 分别对 PC 和 DOX 两种药物的共同释放规律。

首先,对聚合物胶束和微凝胶的 DOX 负载情况进行对比(表 2)。随着交联程度的提高,DLC 和 DLE 也逐渐增大,说明微凝胶对 DOX 具有更好的负载能力,证实凝胶层能够提升对药物的封锁效果。

两种微凝胶壳层中的 PC 释放行为如图 6(a, b)所示。在 pH 7.4 条件下, MicelleGEL-30%@DOX 中 PC 的最终释放率为 26.7%;由于 H₂O₂ 会促进硼酸酯键的水解,因此在 pH 7.4+H₂O₂ 条件下,PC 最终释放率(38.5%)略有提升;相比之下, MicelleGEL-50%@DOX 在 pH 7.4、pH 7.4+H₂O₂ 条件下的 PC 最终释放率更低,分别为 15.1% 和 18.4%,表明较高的交联密度具有更强的药物封锁效果;在 pH 5.0 条件下,由于 H⁺与硼酸酯键中的氧原子发生亲核反应,导致其断裂,进而促进 PC 的迅速释放,两种微凝胶的释放行为基本一致,最终释放率都

超过 80%; 在 H⁺和 H₂O₂ 的共同作用下, PC 的最终释放率最高, 达到 95.2%。表明交联层中 PC 释放行为主要由 pH 控制, 具有良好的 pH 响应性, 虽然 H₂O₂ 会促进硼酸酯键的水解, 但对 PC 释放的影响极小。

表 2 纳米载体中 DOX 的 DLC 和 DLE
Table 2 DLC and DLE of DOX in nanocarriers

Sample	DLC/%	DLE/%
Micelle@DOX	29.1	43.7
MicelleGEL-30%@DOX	46.3	54.9
MicelleGEL-50%@DOX	69.5	82.5

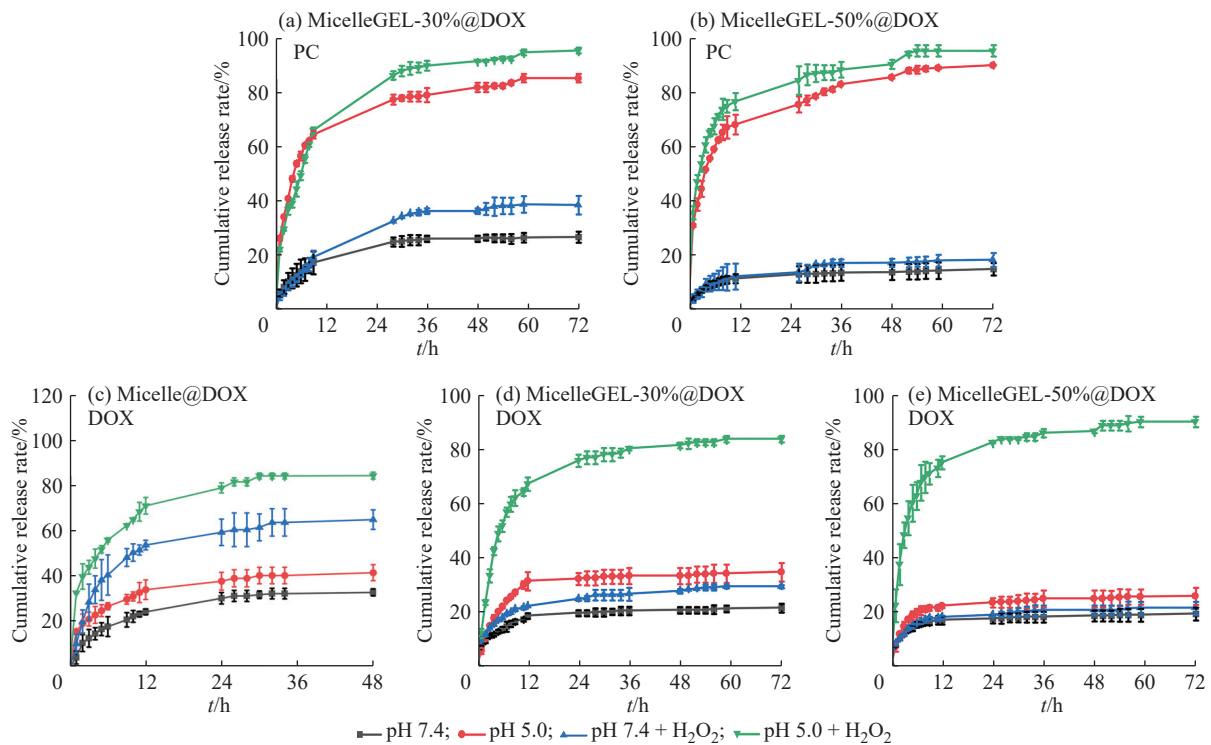


图 6 (a)MicelleGEL-30%@DOX、(b)MicelleGEL-50%@DOX 的 PC 释放曲线; (c)Micelle@DOX、(d)MicelleGEL-30%@DOX 和(e)MicelleGEL-50%@DOX 的 DOX 释放曲线

Fig. 6 Release curves of PC in (a)MicelleGEL-30%@DOX、(b)MicelleGEL-50%@DOX; Release curves of DOX in (c)Micelle@DOX、(d)MicelleGEL-30%@DOX and (e)MicelleGEL-50%@DOX

3 种载体 (Micelle@DOX、MicelleGEL-30%@DOX、MicelleGEL-50%@DOX) 的 DOX 释放规律如图 6 (c, d, e) 所示。聚合物胶束 Micelle@DOX 在 pH 7.4 条件下最终释放率为 33.1%, 相比之下, 微凝胶 MicelleGEL-30%@DOX 和 MicelleGEL-50%@DOX 在中性条件下的 DOX 最终释放率 (21.6%、19.4%) 显著降低, 这是由于亲水壳层中硼酸酯键交联网络有效阻碍了药物泄漏, 提高了药物封锁性能。当 pH 5.0 时, Micelle@DOX 的 DOX 最终释放率 (41.8%) 略有提升, 这是因为酸性条件下氨基质子化导致 DOX 溶解度增大, 与疏水核心的相互作用减弱, 更容易从胶束中释放; 随着 PC 的增加, 微凝胶的交联密度提升, DOX 最终释放率 (MicelleGEL-30%@DOX: 34.7%、MicelleGEL-50%@DOX: 25.9%) 也逐渐降低, 说明此时 H⁺ 虽然对微凝胶的交联层造成了破坏, 但 DOX 由于疏水核心的包覆, 导致最终释放率仍处于较低水平。在 pH 7.4+H₂O₂ 的条件下, 因 PPS 疏水核心被氧化, 实现了亲疏水转换, Micelle@DOX 结构松散且迅速溶胀, DOX 最终释放率 (66.8%) 大幅上升; 而两种载药凝胶 MicelleGEL-30%@DOX 和 MicelleGEL-50%@DOX 虽然核心氧化溶胀, 由于交联层的存在仍能维持相对稳定的结构, 限制 DOX 的释放, 其最终释放率分别仅为 29.4% 和 21.5%。在 pH 5.0+H₂O₂ 的条件下, 由于硼酸酯键被破坏和疏水核心的溶胀, 3 种载体均实现高效释放, 达到 80% 以上。因

此, 聚合物胶束在单一 ROS 环境中即可实现 DOX 的大量释放, 而微凝胶只有在 H^+ 和 H_2O_2 的双重刺激下才能实现, 说明微凝胶对 DOX 具有双重的封锁和可控释放的效果, 可以有效防止药物在递送过程中的泄漏。

综上所述, 从载药量、包封率以及 DOX 的释放规律分析, 微凝胶均表现出更好的药物负载及控释效果, 且交联程度越高, 效果越好。

2.4.2 大分子蛋白质 BSA 的体外释放 利用 PC 作为交联剂, 将 BSA-FITC 负载在微凝胶的交联壳层中, 由 PC 及 BSA-FITC 的负载情况(表 3)可知, 与 DOX 包裹情况(表 2)相似, 交联程度越高, 其药物负载及包封效果越好。

表 3 MicelleGEL- x @BSA 的 DLC 和 DLE
Table 3 DLC and DLE of MicelleGEL- x @BSA

Sample	DLC/%		DLE/%	
	PC	BSA-FITC	PC	BSA-FITC
MicelleGEL-30%@BSA	8.7	11.4	28.9	68.4
MicelleGEL-50%@BSA	15.2	12.5	30.4	74.7

微凝胶 MicelleGEL- x @BSA 的 PC 释放规律如图 7 (a, b) 所示, 和图 6(a, b) 中 MicelleGEL- x @DOX 的 PC 释放规律基本一致, 与 ROS 刺激相比, pH 刺激显示出更优异的响应性。虽然 BSA 在凝胶壳层中和 PC 共处一室, 但并不影响 PC 的释放行为。

BSA-FITC 的释放趋势(图 7(c, d))与 PC 相似。在中性条件下, BSA-FITC 几乎不释放; 降低体系 pH 后, 由于硼酸酯键的断裂, 交联层被破坏, 促使 BSA-FITC 大量释放, 尤其是在 $pH\ 5.0+H_2O_2$ 条件下, 最终释放率均

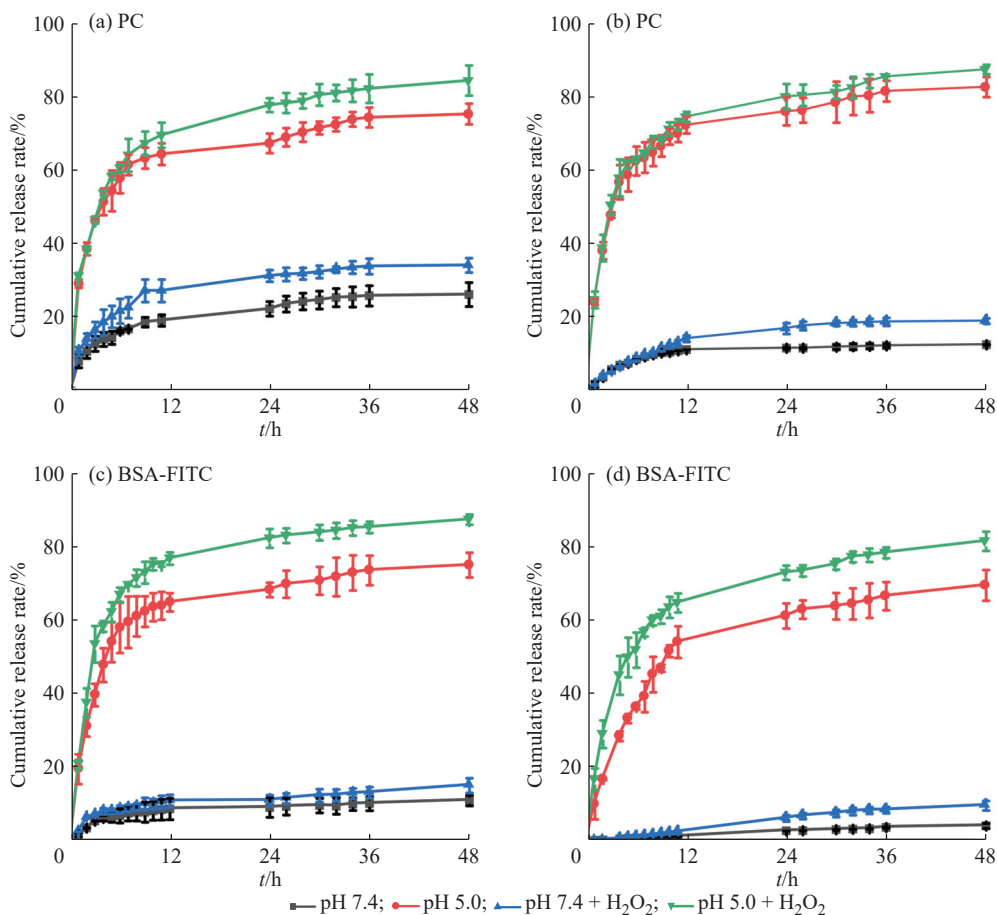


图 7 (a, c) MicelleGEL-30%@BSA 和 (b, d) MicelleGEL-50%@BSA 在不同条件下的 PC 和 BSA-FITC 释放曲线

Fig. 7 Release curves of PC and BSA-FITC in (a, c) MicelleGEL-30%@BSA and (b, d) MicelleGEL-50%@BSA under different conditions

达到 80% 以上。值得注意的是, 该系列微凝胶载体, 特别是交联程度较高的 MicelleGEL-50%, 对于大分子 BSA 表现出极高的封锁效果, 其在 pH 7.4 时最终释放率不到 5%。然而, 在相同条件下, DOX 的最终释放率约为 20%(图 6(d, e)), 表明凝胶网络层对于小分子药物来说仍有部分泄漏, 证实了凝胶载体对于大分子药物的包载具有较高的应用前景。

对载药凝胶的 DLC、DLE 以及药物释放规律综合分析可知, 无论是疏水性小分子药物 DOX 还是亲水性大分子 BSA, 微凝胶 MicelleGEL-50% 均具有更好的药物负载效率及控释效果, 因此采用 MicelleGEL-50% 进行后续的多药共载实验。

2.4.3 多药共载的体外释放 本研究设计将 DOX 和 BSA-FITC 分别载入微凝胶 MicelleGEL-50% 的疏水核心以及凝胶壳层中, 从而实现多种药物的分区包载, 并探究其多药共载的可控释放行为。对该共载体系进行多种药物同时释放、独立检测获得的释放动力学结果如图 8 所示。将图 8 所示结果和图 6、7 结果进行对比, 在各种条件下, 多药共载体系中药物(PC、DOX、BSA-FITC)的释放行为与其单载时相似。

对于 PC 而言, 在 pH 7.4 及 pH 7.4+H₂O₂ 条件下, 最终释放率(分别为 24.4%、28.3%)较低; 在酸性环境下, 由于硼酸酯键遇酸断开, PC 逐渐从亲水壳层脱落, 最终释放率达到 80.8%; 在 H⁺和 H₂O₂ 的双重刺激下, PC 的最终释放率增至 86.5%, pH 的响应性远大于 ROS。

对于核心中包载的 DOX, 在 pH 7.4 和 pH 7.4+ H₂O₂ 条件下, 最终释放率(分别为 22.3% 和 27.2%)较低, 这归因于即使疏水核心 PPS 被氧化后发生溶胀, 但壳层中交联网络仍维持封锁状态; 在 pH 5.0 时, DOX 的最终释放率升高至 36.9%, 这是因为酸性条件下 DOX 溶解度增大, 但疏水核心仍保持 DOX 包封状态, 阻碍其释放; 而在 H⁺和 H₂O₂ 的双重作用下, 疏水核心发生 ROS 响应, 溶胀的同时交联层也被打开, 导致 DOX 迅速释放, 最终释放率为 75.9%。

和 PC 共处一室的 BSA-FITC 的释放趋势与 PC 相似, 在 pH 7.4 及 pH 7.4+H₂O₂ 条件下的最终释放率比 DOX 的最终释放率低得多, 分别只有 10.1%、10.2%, 表明对于大分子药物, 凝胶层的网络结构起到了更优异的封锁效果; 在酸性条件下, 交联网络被破坏, 导致 BSA-FITC 大量释放, 最终释放率为 71.9%, 并在 H⁺和 H₂O₂ 的共同刺激下达到最高释放水平, 最终释放率为 85.7%。研究结果证实, 该微凝胶能够实现 3 种药物独立包载、共同释放, 且释放行为互不干扰。

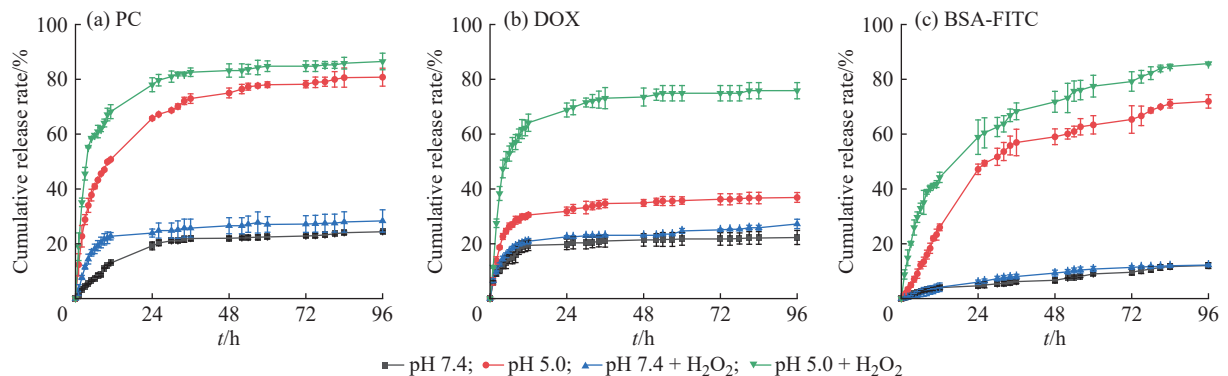


图 8 MicelleGEL-50@(DOX | BSA) 在不同条件下的药物释放曲线

Fig. 8 Drug release curves of MicelleGEL-50@(DOX | BSA) under different conditions

综上所述, 微凝胶 MicelleGEL-50% 是一种具有良好 pH/ROS 双重刺激响应性的药物载体, 既能实现对 DOX 和 BSA 的单独负载, 又能实现分区共载, 有望达到协同治疗的效果。除此之外, 其疏水核心 PPS 以及硼酸酯键凝胶层可以实现对药物的双重封锁, 在正常生理条件下有效防止药物泄漏, 而在模拟 TME 时实现药物的刺激响应性释放, 从而达到预期的药物控释效果。

2.5 药物释放模型

为了探究药物释放机制, 分别采用一级动力学(First-Order Kinetic)模型、Higuchi 模型以及 Ritger-Peppas 模型对图 6、图 7 中 PC、DOX 及 BSA-FITC 的释放结果进行拟合, 结果如图 9 所示, 所有释药数据均与一级动力学模型具有最优的拟合优度(R^2 最高), 可以得出以下结论: (1) 聚合物胶束及微凝胶的药物释放均遵循

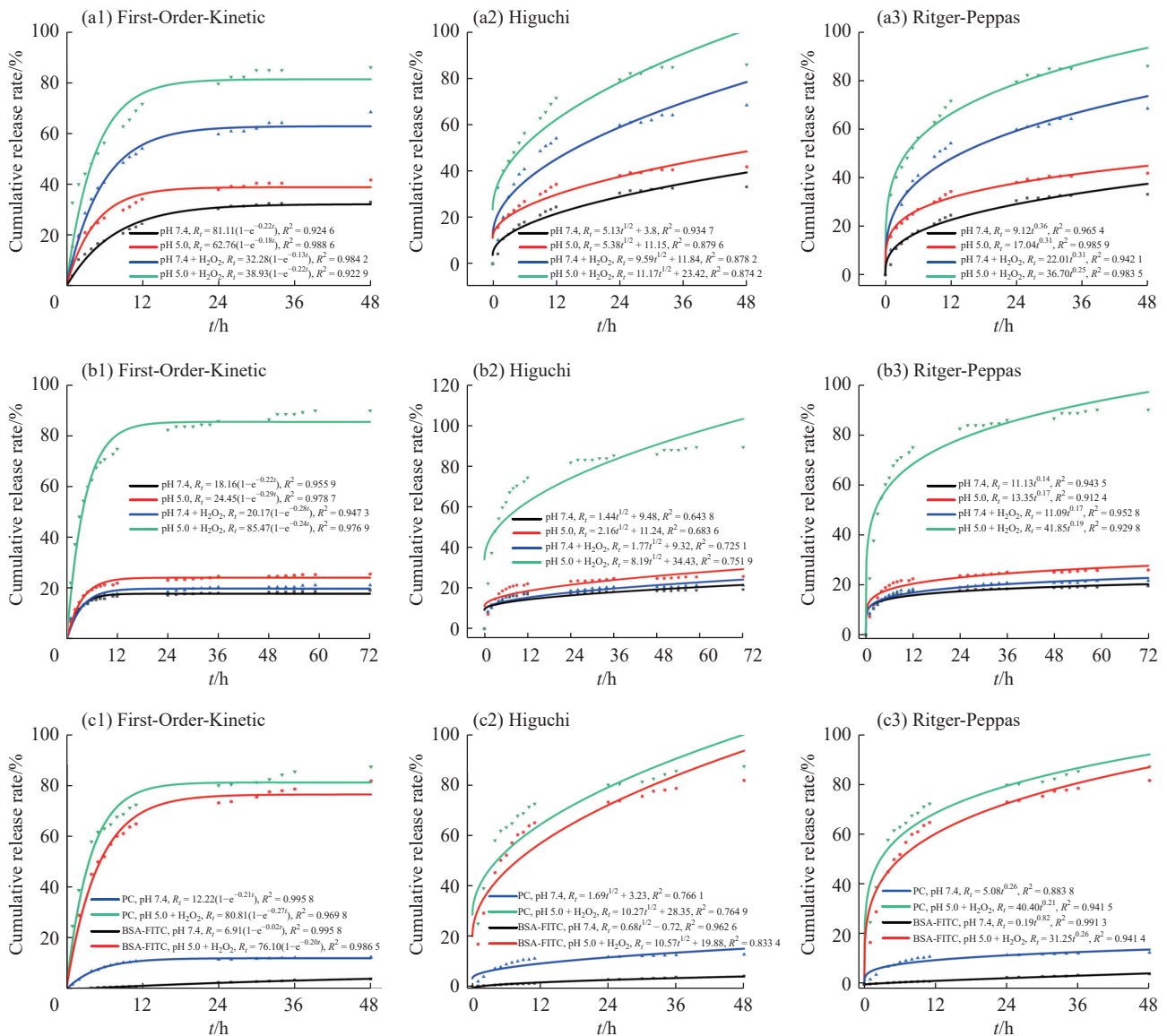


图9 (a) Micelle@DOX、(b) MicelleGEL-50%@DOX 以及 (c) MicelleGEL-50%@BSA 在不同模型下的药物释放拟合曲线(点: 实验数据, 实线: 拟合曲线)

Fig. 9 Drug release fitting curves of (a) Micelle@DOX, (b) MicelleGEL-50%@DOX, and (c) MicelleGEL-50%@BSA under different model (Dots: experimental data, Solid lines: fitted curves)

一级动力学规律; (2) 载体结构变化(环境刺激诱导)和药物包载位置(小分子和大分子共载)对释放行为为无显著影响; (3) 释放过程主要受扩散机制主导, 其速率与剩余药物浓度成正比, 表现出典型的先快后慢的特征。总之, 本研究开发的药物载体系统具有稳定的释放动力学特性, 其释放行为具有良好的可控性和可预测性, 研究结果为设计高效可控的药物递送系统提供了重要理论依据。

2.6 生物相容性

为了检测微凝胶 MicelleGEL-50% 本身的生物相容性, 通过 CCK-8 法分别测定小鼠成纤维细胞 L929 以及小胶质细胞 BV2 与不同质量浓度的 MicelleGEL-50% 溶液共同孵育 24 h 后的细胞存活率, 从而评估其细胞毒性, 实验结果如图 10 所示。

体外细胞毒性实验结果表明, 微凝胶 MicelleGEL-50% 具有良好的生物相容性。当 MicelleGEL-50% 的质量浓度为 25~250 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时, L929 及 BV2 细胞均保持较高的细胞存活率(高于 80%), 说明该微凝胶对正常组织细胞 L929 及免疫细胞 BV2 均具有良好的细胞安全性, 为其在生物医学领域的潜在应用提供了一定的安全性依据。

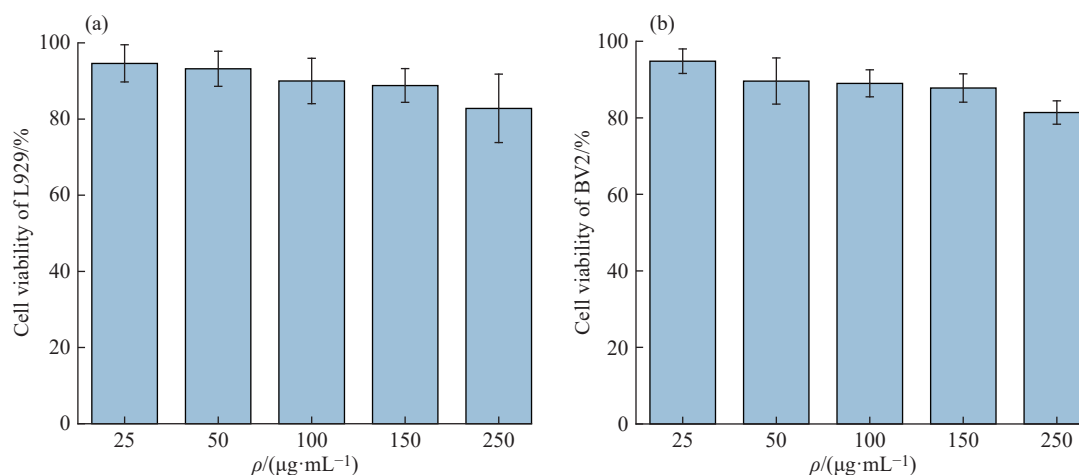


图 10 (a) L929 细胞和(b) BV2 细胞与不同质量浓度的 MicelleGEL-50% 共同孵育后的细胞存活率

Fig. 10 Cell viability of (a) L929 cells and (b) BV2 cells co-incubated with MicelleGEL-50% at different mass concentrations

3 结 论

(1)设计并制备了具有 ROS 敏感性的两亲性共聚物 $PPS_k\text{-P}(\text{APBA}_m\text{-co-OEGMA}_n)$, 通过自组装形成聚合物胶束; 利用多酚类药物 PC 对胶束的亲水层进行交联, 获得核壳结构微凝胶, 在进一步增强载体稳定性的同时引入了 pH 响应性。

(2)该微凝胶为粒径均一的球体, 通过对粒径随环境变化的系统研究, 证明其具有 pH/ROS 双重响应性, 并证实由于交联壳层的构建, 微凝胶的抗稀释稳定性能优于未交联胶束。

(3)疏水核心和硼酸酯键交联网络层对药物起到了双重封锁作用, 对疏水小分子 DOX 和亲水大分子 BSA 均展现出高负载与可控释放能力, 并可实现多种药物的独立包载、同步释放, 为协同治疗奠定基础。

(4)采用一级动力学、Higuchi 以及 Ritger-Peppas 模型分别对聚合物胶束以及微凝胶的药物释放曲线进行拟合, 一级动力学模型拟合效果最佳, 说明该微凝胶体系中的药物释放过程主要受扩散机制主导, 与药物特性及包载位置无关。

(5)通过 CCK-8 法分别采用 L929 和 BV2 细胞对微凝胶 MicelleGEL-50% 的生物相容性进行评估, 该微凝胶在 25~250 µg/mL 的质量浓度范围内具有良好的生物相容性。

参考文献:

- [1] BRAY F, LAVERSANNE M, SUNG H, FERLAY J, SIEGEL R L, SOERJOMATARAM I, JEMAL A. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 2024, 74(3): 229-263.
 - [2] CHEN F, QI X, QIAN M, DAI Y, SUN Y. Tackling the tumor microenvironment: What challenge does it pose to anticancer therapies? [J]. *Protein & Cell*, 2014, 5(11): 816-826.
 - [3] KHAN M I, HOSSAIN M I, HOSSAIN M K, RUBEL M H K, HOSSAIN K M, MAHFUZ A M U B, ANIK M I. Recent progress in nanostructured smart drug delivery systems for cancer therapy: A review [J]. *ACS Applied Bio Materials*, 2022, 5(3): 971-1012.
 - [4] BHALADHARE S, BHATTACHARJEE S. Chemical, physical, and biological stimuli-responsive nanogels for biomedical applications (mechanisms, concepts, and advancements): A review [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2023, 226: 535-553.
 - [5] NAKAMURA H, TAKADA K. Reactive oxygen species in cancer: Current findings and future directions [J]. *Cancer Sci*, 2021, 112(10): 3945-3952.
 - [6] 陈昊文, 陈森鑫, 刘晔宏, 张钰华, 徐首红. pH/温度刺激响应型核-壳结构介孔二氧化硅纳米颗粒的设计与制备 [J]. *功能高分子学报*, 2022, 35(2): 155-163.
- CHEN H W, CHEN M X, LIU Y H, ZHANG Y H, XU S H. Design and preparation of pH/temperature stimulated responsive core-

- shell mesoporous silica nanoparticles [J]. *Journal of Functional Polymers*, 2022, 35(2): 155-163.
- [7] 李国栋, 李高阳, 安珍慧, 徐首红, 刘洪来. 可共载两种抗肿瘤药物的双重响应型聚合物囊泡 [J]. *功能高分子学报*, 2023, 36(5): 435-445.
- LI G D, LI G Y, AN Z H, XU S H, LIU H L. Dual-responsive polymer vesicles capable of co-loading two antitumor drugs [J]. *Journal of Functional Polymers*, 2023, 36(5): 435-445.
- [8] ALAVI S E, ALHARTHI S, ALAVI S Z, RAZA A, SHAHMABADI H E. Bioresponsive drug delivery systems [J]. *Drug Discovery Today*, 2024, 29(1): 103849.
- [9] REHOR A, HUBBELL J A, TIRELLI N. Oxidation-sensitive polymeric nanoparticles [J]. *Langmuir*, 2005, 21(1): 411-417.
- [10] GLASSMAN P M, VILLA C H, MARCOS-CONTRERAS O A, HOOD E D, WALSH L R, GREINER C F, MYERSON J W, SHUVAEVA T, PUENTES L, BRENNER J S, SIEGEL D L, MUZYKANTOV V R. Targeted *in vivo* loading of red blood cells markedly prolongs nanocarrier circulation [J]. *Bioconjug Chem*, 2022, 33(7): 1286-1294.
- [11] XIANG H, XIA M, CUNNINGHAM A, CHEN W, SUN B, ZHU M. Mechanical properties of biocompatible clay/P(MEO₂MA-co-OEGMA) nanocomposite hydrogels [J]. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 2017, 72: 74-81.
- [12] 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.
- [13] DAS B C, CHOKKALINGAM P, MASILAMANI P, SHUKLA S, DAS S. Stimuli-responsive boron-based materials in drug delivery [J]. 2023, 24(3): 2757.
- [14] ZHAO L, NIU L, LIANG H, TAN H, LIU C, ZHU F. pH and glucose dual-responsive injectable hydrogels with insulin and fibroblasts as bioactive dressings for diabetic wound healing [J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2017, 9(43): 37563-37574.
- [15] YOSHINAGA N, UCHIDA S, DIRISALA A, NAITO M, OSADA K, CABRAL H, KATAOKA K. mRNA loading into ATP-responsive polyplex micelles with optimal density of phenylboronate ester crosslinking to balance robustness in the biological milieu and intracellular translational efficiency [J]. *Journal of Controlled Release*, 2021, 330: 317-328.
- [16] RAUF A, IMRAN M, ABU-IZNEID T, IAHTISHAM U L H, PATEL S, PAN X, NAZ S, SANCHES S A, SAEED F, SULERIA H A R. Proanthocyanidins: A comprehensive review [J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 116: 108999.
- [17] STUBELIUS A, LEE S, ALMUTAIRI A. The chemistry of boronic acids in nanomaterials for drug delivery [J]. *Accounts of Chemical Research*, 2019, 52(11): 3108-3119.
- [18] GUPTA M K, MARTIN J R, WERFEL T A, SHEN T, PAGE J M, DUVALL C L. Cell protective, ABC triblock polymer-based thermoresponsive hydrogels with ROS-triggered degradation and drug release [J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2014, 136(42): 14896-14902.
- [19] EJIGAH V, OWOSANI O, BATAILLE-BACKER P, OGUNDIPE O D, FISUSI F A, ADESINA S K. Approaches to improve macromolecule and nanoparticle accumulation in the tumor microenvironment by the enhanced permeability and retention effect [J]. *Polymers : Basel*, 2022, 14(13): 2601.
- [20] LIU L, WANG W, HUANG L, XIAN Y, MA W, FAN J, LI Y, LIU H, ZHENG Z, WU D. Injectable pathological microenvironment-responsive anti-inflammatory hydrogels for ameliorating intervertebral disc degeneration [J]. *Biomaterials*, 2024, 306: 122509.

(责任编辑: 王吉晶)