

智能性生物医用高分子研究进展

肖春生^{①②}, 田华雨^①, 陈学思^{①*}, 庄秀丽^①, 景遐斌^①

① 中国科学院长春应用化学研究所高分子物理与化学国家重点实验室, 长春 130022;

② 中国科学院研究生院, 北京 100039

* 联系人, E-mail: xschen@ciac.jl.cn

收稿日期: 2008-05-26; 接受日期: 2008-06-14

国家自然科学基金面上项目(批准号: 20604028, 50573078)、杰出青年基金项目(批准号: 50425309)、国家自然科学基金重点项目(批准号: 50733003)、A3 国际合作重大基金项目(20621140369)和科技部国际合作重点项目(批准号: 20071314)资助

摘要 智能高分子材料能够响应外界环境的微小刺激, 引起自身构象, 极性, 相结构, 组成结构等物理化学变化, 表现出“智能”的特性, 已被广泛应用于生物医学和纳米技术领域. 文中将以智能水凝胶体系, 智能载药体系和智能识别体系为例, 综述智能高分子材料在生物医学上的研究进展, 并展望其应用前景.

关键词

刺激响应性
智能高分子
水凝胶
载药体系
分子识别

由蛋白质, 多糖, 核酸等生物高分子所构筑的生物体系, 能够精确地响应外界环境微小的变化, 而行使其相应的生物学功能(如单个细胞的生命活动). 许多合成高分子也具有类似的外界刺激响应性质, 而且已经被广泛研究用于智能或仿生体系, 特别是在生物医学方面, 可用于药物控制释放, 生物分离, 生物分子诊断, 生物传感器和组织工程等领域. 常见的刺激敏感型高分子材料有温度敏感, pH敏感, 光敏感, 电敏感, 生物活性分子敏感等, 以及混合敏感型. 本文将着重介绍智能水凝胶体系, 智能纳米载药体系, 以及智能识别体系. 水凝胶是生物医用材料最广泛的应用形式之一. 它是由水溶性的高分子通过物理或化学交联, 并吸收从 10%~20%到数千倍于自身重量的水分而成的凝胶材料. 含智能响应高分子的水凝胶, 能够响应外界环境的刺激, 呈现收缩-溶胀的体积变化, 或者Sol-Gel的相转变, 能够用于组织工程, 生物传感器和药物控制释放等^[1]. 智能载药体系以载药高分子纳米粒子(包括胶束, 微囊等)为例, 在

外界刺激下, 能够使纳米粒子形变、分散(胶束, 微囊), 或溶胀、收缩(微凝胶, 核/壳交联的粒子), 从而实现在病灶部位定点, 持续性的控制释放^[2,3]. 将智能高分子和具有分子识别功能的生物活性分子结合而成的智能识别体系, 不但能够识别相应的靶分子, 而且在外界刺激后, 体系会发生相分离等, 可用于生物分离, 生物传感器, 癌症分子诊断等^[4].

1 智能水凝胶体系

水凝胶根据其来源, 可分为天然凝胶和合成凝胶. 天然凝胶主要来源于胶原、透明质酸、纤维蛋白、海藻酸、琼脂糖和壳聚糖等. 合成凝胶则主要是由聚甲基丙烯酸羟乙酯(PHEMA)、聚乙烯醇(PVA)、聚乙二醇(PEG)、聚丙烯酸(PAA)、聚丙烯酰胺(PAAm)、聚N-异丙基丙烯酰胺(PNIPAM)等一系列水溶性聚合物通过物理或化学交联而成, 在水中溶胀而不溶解的三维凝胶^[1]. 智能凝胶是由于其组成的聚合物主链或侧链上含有离子解离性、极性或疏水性基团, 能够

对外界环境溶剂组分、温度、pH值、电场、光、磁场等的变化能产生可逆的、不连续(或连续)的体积变化, 因此通过控制高分子凝胶网络的微观结构与形态, 来影响其溶胀或伸缩性能, 从而使凝胶对外界刺激做出响应, 表现出智能的特性. 智能水凝胶按照响应环境的不同可分为温度敏感水凝胶、pH敏感水凝胶、电场敏感水凝胶、光敏感水凝胶、压力敏感水凝胶和复合敏感水凝胶等.

1.1 温度敏感水凝胶

温度敏感性聚合物都存在有一临界溶解温度. 常见的聚丙烯酰胺类聚合物在某一特定温度以上, 其水溶液发生相分离, 这一温度称为低临界溶解温度(lower critical solution temperature, LCST). 聚(*N*-异丙基丙烯酰胺)(PNIPAM)是其中研究最广泛的温敏性聚合物之一, 它的水溶液在 32℃(LCST)左右发生迅速的可逆相转变. 这一特性与它的链结构有着密切的关系. 它的侧链同时含有疏水基团(异丙基)和亲水基团(酰胺键), 当温度低于LCST时, 亲水基团和水分子之间的氢键作用, 使聚合物溶于水; 当温度高于LCST时, 疏水基团之间的作用得到加强, 而氢键遭到破坏, 最终结果是分子链间发生聚集而从水中沉淀出来. PNIPAM的响应温度可以通过共聚的方法调节. 当加入疏水共聚物时, 它的LCST下降; 当加入亲水共聚物时, 所得聚合物的LCST升高^[5]. PNIPAM

水凝胶是一种典型的热缩型水凝胶, 在LCST以上, 溶胀的凝胶失水收缩; 而在LCST以下, 凝胶则会再度吸水溶胀. 虽然PNIPAM的温度响应性非常灵敏, 但是单纯的PNIPAM水凝胶的响应性却并不明显, 有时甚至需要几十天才能达到平衡, 从而限制了其在实际中的应用. 许多研究通过不同的方法试图解决这一问题. Yoshida等^[6]合成了对温度变化具有快速的去溶胀响应的梳型接枝水凝胶(PNIPAM接枝PNIPAM). 这些接枝的梳型侧链可以自由运动, 当升高温度时接枝链的疏水相互作用产生多个疏水核, 大大增强了交联链的聚集, 从而使去溶胀过程由传统的一个多月缩短为大约 20 min(图 1). 最近, Xu等^[7]合成了接枝链为两亲性聚合物的梳形接枝水凝胶, 在室温下它比传统的水凝胶具有更高的溶胀度, 去溶胀速率也有很大的提高.

除了响应不灵敏外, 传统的 PNIPAM 水凝胶的另一缺点就是机械性能差, 这在很大程度上影响了它的应用. 改善机械性能的一种方法是形成互穿聚合物网络(interpenetrating polymer networks, IPN). IPN 是由两种或两种以上聚合物通过网络互穿缠结而形成的一类独特的聚合物共混物或聚合物合金. IPN 特有的强迫作用能使两种性能差异很大或具有不同功能的聚合物形成稳定的结合, 从而实现组分之间性能的互补. 同时 IPN 的特殊细胞状结构、界面互穿、双相连续等结构形态特征, 又使得它们在性能

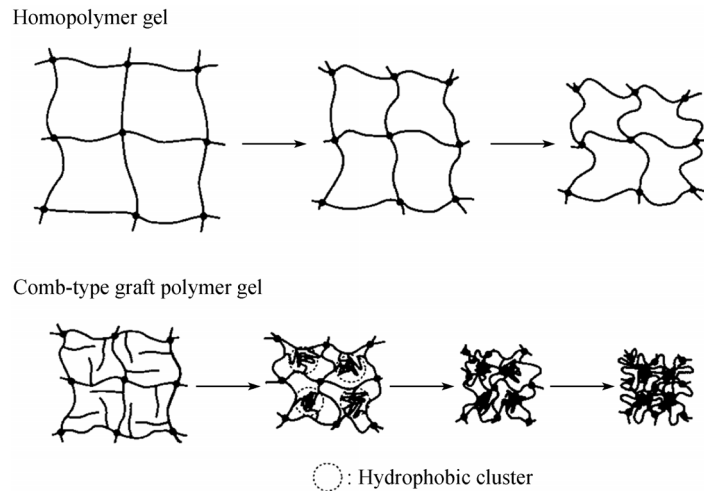


图 1 均聚N-异丙基丙烯酰胺水凝胶和梳形接枝水凝胶的去溶胀示意图^[6]

或功能上产生特殊的协同作用,从而极大地提高了水凝胶的机械强度,并可以提高它的响应性。Gil等^[8]合成了丝素蛋白和PNIPAM互穿网络水凝胶。实验结果表明丝素蛋白的 β 折叠结构加强了PNIPAM水凝胶的粘弹性,并且加快了水凝胶的去溶胀速度。另一种提高机械强度的方法是合成有机/无机杂化水凝胶。Haraguchi等^[9]合成了PNIPAM/黏土杂化水凝胶,实验表明杂化凝胶的机械性能大大优于传统的PNIPAM水凝胶。杂化水凝胶可以经受住大幅度的拉伸、弯曲和压缩而不被破坏,可以被拉长 10 倍,甚至可以打结,而这些性能是传统水凝胶所不具备的。

另一类温敏型水凝胶,是基于高分子链的亲疏水平衡,在温度变化刺激下,改变凝胶物理交联区域的疏水性,呈现溶胶-凝胶(sol-gel)可逆转变。因此,这种不同于体积转变的相转变水凝胶,常被用作可注射型水凝胶,在无创或微创治疗领域有着广阔的应用前景。

泊洛沙姆(Poloxamers[®] 或 Pluronic[®])是一类非离子表面活性剂的统称。它们是由聚氧化乙烯(PEO, A)和聚氧化丙烯(PPO, B)形成的 ABA 型三嵌段共聚物。在水溶液中随着温度的升高逐渐形成胶束,当温度进一步升高时,胶束之间发生缠结,最终形成了凝胶^[10]。然而,这类凝胶的应用存在一定的局限性。首先,在体温下,它需要在较高的浓度下才能形成凝胶,限制了其在体内的应用。于是,更加疏水的链段如聚(1,2-氧化丁烯)(PBO)就被引进,用来代替PPO链段,使得共聚物能够在较低的浓度下形成凝胶。此外,可降解的聚酯(聚乳酸、聚乙醇酸、聚己内酯及其共聚物)也可以用来代替疏水段PPO与PEO共聚。所得的共聚物不仅具有更加良好的生物相容性和可生物降解性,而且解决了泊洛沙姆凝胶在体内表面容易受到侵蚀而成单个分子的不稳定现象^[5]。Zentner等^[11]合成了低分子量的聚(乙交酯-co-丙交酯)-聚氧化乙烯-(聚乙交酯-co-丙交酯)(PLGA-PEO-PLGA)作为药物载体。大鼠体内降解实验表明该水凝胶可以在四到六周内被吸收。体外释放实验表明水凝胶可以对紫杉醇进行大于 50 天的缓释,而泊洛沙姆 407 对紫杉醇在一天内就达到完全释放。

当温度降低时,大多数的天然高分子溶液会形成凝胶,如明胶和卡拉胶。高温时它们在溶液中成无

规卷曲状,当温度降低时形成部分的螺旋结构,进而形成物理交联网络。一些纤维素的衍生物刚好呈现相反的凝胶机制。在一定的浓度下它们在低温时是溶于水的,升温则形成凝胶。Tate等^[12]研究了包含甲基纤维素结构的聚合物作为组织工程支架材料修复脑缺损的可能性。该系列聚合物的水溶液在 23℃ 以下显出了较低的黏度,而在人体正常温度下在脑中形成凝胶。该凝胶在体内和体外都显示了良好的生物相容性。Scherlund等^[13]做了乙基羟乙基纤维素-表面活性剂体系向牙周袋释放麻醉剂的研究。实验结果表明局部麻醉剂利多卡因和丙胺卡因的加入不会影响体系的凝胶行为。凝胶在至少 60 min 内能够保持缓释,使得它们能够成为一种短期的缓释给药体系。但是由于具有生理毒性的离子性表面活性剂的存在,影响了它的临床应用。壳聚糖/甘油磷酸盐体系是另一种的多糖可逆凝胶系统。壳聚糖是一种生物相容性好的阳离子聚合物,它在酸性条件下溶解,升高其水溶液的pH值会形成一种凝胶状的沉淀,而加入多羟基化合物的盐(如甘油磷酸盐)则会形成温度敏感凝胶。该体系在室温以下是中性的液相,在人体温度下形成凝胶。Hoemann等^[14]报道了牛原代软骨细胞在固化的壳聚糖/甘油磷酸盐水凝胶中增殖的实验。体外培养三周后的机械强度测试表明出现了功能基质的沉积。当把壳聚糖/甘油磷酸盐的水溶液注射到骨缺损的兔子体内时,发现该水凝胶可以很好地粘附在骨和软骨周围。随后他们又把壳聚糖/甘油磷酸盐溶液和全血混合,用来改善软骨治疗。该混合体系被命名为CarGel[®],已经用于兔、羊和马的体内实验,并证明没有局部或全身的毒副作用。

1.2 pH 敏感水凝胶

pH 敏感水凝胶是另一类广泛研究的刺激响应敏感型水凝胶,此类水凝胶的溶胀或去溶胀是随着 pH 值的改变而变化的。在 pH 敏感型水凝胶的大分子网络结构中,一般含有大量易水解和可质子化的酸性或碱性基团,随着介质 pH 值的改变,这些基团会发生解离,造成凝胶内外离子强度的差异,并导致网络内大分子链段间氢键的破坏,使交联点减少或静电斥力增加,从而在宏观上引起凝胶溶胀,显示出 pH 敏感性。根据聚合物大分子骨架上功能基团的不同,

可分为阴离子、阳离子和两性离子三种 pH 敏感性型水凝胶。其中阴离子型 pH 敏感型水凝胶的敏感基团一般为 -COO^- ，最常用的单体为丙烯酸(AAc)及其衍生物。阳离子型 pH 敏感型水凝胶的敏感基团一般为碱性的伯胺、仲胺、叔胺等，最常用的单体是 N,N -二甲基氨基乙基甲基丙烯酸酯、乙烯基吡啶等。两性 pH 敏感型水凝胶同时含有酸碱基团，常由不同离子型聚合物交联得到。

Kadlubowski等^[15]通过光引发交联的方法合成了聚乙烯基吡咯烷酮和聚丙烯酸组成的水凝胶体系。在低pH值环境下，羧基质子化引起凝胶收缩，变为混浊状，发生相分离，而单纯含聚丙烯酸的水凝胶则没有这种性能。Khalid等^[16]合成了一种包含壳聚糖(CS)和PEO的半互穿网络水凝胶并与纯粹用CS交联而成的凝胶作对比，证明前者的溶胀对pH有高度的依赖性，溶胀性能、机械性能都比后者强。Brahim等^[17]制得了的水凝胶包含甲基丙烯酸羟乙酯(HEMA)、甲基丙烯酸-3-三甲氧硅基正丙酯(PMA)、甲基丙烯酸二甲氨基乙酯(DMAEMA)。以双丙烯酸四乙二醇酯作为交联剂。当降低溶液的pH值时，凝胶发生溶胀。由于硅烷与甲基丙烯酸羟乙酯的羟基发生偶联，增大了凝胶的交联度，因此增加PMA在单体中的摩尔含量，凝胶的最大溶胀比就会下降。该水凝胶在疏水性药物的pH敏感释放上有潜在用途。

阴离子水凝胶在酸性条件下收缩，在中性或碱性条件下溶胀，此类性质被广泛地用于多肽和蛋白类药物的口服或结肠靶向给药研究中。因为在酸性条件下收缩，可以防止多肽和蛋白类药物在胃酸中被破坏；而在结肠中性或弱碱性条件下溶胀，并具有一定的生物黏性，有利于药物的释放与吸收。Park等^[18]合成了聚乙烯醇网络骨架接枝聚丙烯酸或聚甲基丙烯酸水凝胶，该水凝胶具有pH响应性。对胰岛素的体外释放结果表明，在模拟胃液中(pH=1.2)没有观察到胰岛素的释放，而在模拟小肠液中(pH=6.8)可以实现对胰岛素的可控释放。进一步对糖尿病模型小鼠进行口服给药实验，发现在4 h内能够有效地控制其血糖水平。Murthy等^[19]合成了一种缩醛交联水凝胶和微凝胶，以牛血清白蛋白(BSA)为模型药物进行体外释药实验，发现在pH=7.4的条件下，释药速率非常缓慢，2 h后仅释放了5%，释放完全需要96 h；

而在pH=5.0的酸性条件下，由于酸解，交联点迅速被破坏，凝胶网络变为溶解的聚合物链，包裹的BSA迅速释放，2 h就达到了完全释放。而且经过凝胶电泳检测发现，释放后的BSA仍具有生物活性。

1.3 电场敏感水凝胶

电场敏感水凝胶是一类在电刺激下可以溶胀、收缩或弯曲的智能性水凝胶，其主要特点是可以将电能转化为机械能。电场敏感水凝胶一般由聚电解质构成，其响应性是由于溶液中自由离子在直流电场下的定向移动，从而造成凝胶内外离子浓度不均匀，产生渗透压变化而引起凝胶变形。将这种水凝胶置于电解质溶液中，在电场刺激下，凝胶会发生体积或形状变化，实现由电能到机械能的转化，因此可以将其作为能量转换装置应用于机器人、传感器、可控药物释放和人工肌肉等领域。

这类凝胶的研究始于1965年，Hamlen等^[20]发现将离子化的聚乙烯醇水凝胶和阳极接触并置于1%NaCl溶液中，当施加5 V的直流电压后，与阳极接触的那段水凝胶发生收缩。随后，Tanaka等^[21]发现部分水解的聚丙烯酰胺凝胶浸入水-丙酮溶液中，在接触电场下，凝胶可以出现非连续的体积变化，当停止施加电场时，凝胶可恢复至初始状态。然而由单一的聚合物获得的水凝胶其力学性能往往较差，影响了它的应用。因此，通常会采取共聚或共混的方法来制备具有一定力学强度的电场敏感性水凝胶。Yao等^[22]对聚苯乙烯-聚乙烯-聚丁烯嵌段共聚物进行磺化处理，制备了带有磺酸基的交联共聚物水凝胶。当水凝胶在盐溶液中溶胀平衡后置于电场中时，水凝胶弯向阴极；但是当水凝胶在去离子水中达到溶胀平衡后，再置于盐溶液并施加电场时，水凝胶则先弯向阳极。Kim等^[23]合成了由聚苯胺和壳聚糖组成的半互穿网络水凝胶膜，研究了它在不同pH值条件下的溶胀度和电场响应性能。该水凝胶在酸性条件下有很高的溶胀度。当把凝胶膜浸泡在pH=1.0或4.0的缓冲溶液中时，施加电场时它弯向阳极；当把凝胶膜浸泡在pH=10.0的缓冲溶液中时，聚苯胺是没有电活性的，施加电场时它弯向阴极；当缓冲溶液的pH=7.0时，一种有趣的现象发生了，即在电场作用下凝胶膜在阳极和阴极间震荡弯曲，这种现象可能是

由于聚苯胺的电活性态和氧化态之间的可逆转换造成的。

1.4 光敏感水凝胶

目前, 光敏水凝胶的光响应机理主要有以下三种: 将遇光能够分解的感光性化合物添加到高分子凝胶中, 在光照作用下, 凝胶内部将产生大量离子, 引起凝胶内部渗透压的突变, 外界溶剂向内部扩散, 促使凝胶发生体积转变, 做出光响应; 在温敏性凝胶中加入感光性化合物, 当凝胶吸收一定能量的光子之后, 感光化合物将光能转化为热能, 使得凝胶内部局部温度升高, 当温度升高到凝胶的相转变温度时, 凝胶就会作出响应, 发生体积相转变; 在分子主链或侧链引入感光基团, 这些感光基团吸收了一定能量的光子之后, 就会引起某些电子从基态向激发态跃迁。此时, 处于高能激发态的分子会通过分子内部或分子间的能量转移而发生异构化作用, 引起分子构型的变化, 促使凝胶内部发生物理化学变化, 产生响应。例如, 偶氮苯及其衍生物在紫外光照射下其分子结构会发生顺-反异构变化, 不仅分子尺寸发生大的变化, 同时也改变了大分子链间距离, 从而导致凝胶体积变化。

Desponds等^[24,25]合成了NIPAM和丙烯酰氧基琥珀酰亚胺共聚物, 并在丙烯酰氧基琥珀酰亚胺的侧基上键合生色团 3-氨基丙氧基偶氮苯, 通过此方法使共聚物具备了光敏性。当侧链偶氮基以稳定的反式结构存在时, 产物的LCST为 16℃。用 330 nm 的紫外光照射时, 偶氮基转变成亲水性更强的顺式结构, 其LCST升至 18℃, 当用波长大于 440 nm 可见光照射时, 该基团又变回反式结构。从而实现了光控制的温度敏感点的变化。Zheng等^[26]则将少量的偶氮苯接枝到羟丙基甲基纤维素上, 经紫外光照射之后, 其 sol-gel 转变点向高温移动; 而当体系加入少量 α 环糊精时, 经紫外光照射后, 顺式的偶氮苯与环糊精相互作用, 反而使得 sol-gel 转变点向低温移动。这种在 α 环糊精分子存在下, sol-gel 转变点的变化差异为光控制水凝胶温度敏感点变化的研究开辟了新的研究方向。

1.5 压力敏感水凝胶

压敏水凝胶是指随外界压力的变化而出现的体

积相转变现象的凝胶。水凝胶的压力依赖性最早是由 Marchetti^[27] 通过理论计算提出的, 其计算结果表明: 凝胶在低压下出现坍塌, 在高压下出现膨胀。该预测后来被 Lee 等^[28] 通过实验方法证实。他们利用 12% 的亚甲基双丙烯酰胺作交联剂制备出了聚 *N*-异丙基丙烯酰胺(PNIPAM)凝胶, 该凝胶的体积随压力变化而变化, 并认为凝胶体积随压力的变化是由于压力对该体系自由能有贡献所致。

1.6 复合敏感水凝胶

单一敏感的水凝胶往往不能满足实际应用的需求, 如在复杂的外界环境变化以及多智能体系要求下, 复合敏感能够同时响应不同的外界刺激, 将具有更加广阔的应用前景。例如, Shim 等^[29] 合成了可注射型的温度和 pH 双敏感凝胶。他们把具有 pH 敏感功能的磺胺二甲嘧啶齐聚物接到了具有温度敏感性的聚(己内酯-co-丙交酯)-聚乙二醇-聚(己内酯-co-丙交酯)(PCLA-PEG-PCLA)的两端, 使该聚合物既对温度敏感又对 pH 敏感。该聚合物可以在很窄的人体 pH 范围内发生凝胶-溶胶转变, 它在 pH=7.4, 37℃ 时形成凝胶, 但当 pH=8.0 时在室温下它依然呈溶胶状态。Bhattacharya 等^[30] 合成了一种对温度、pH 和磁场都敏感的杂化微凝胶。在合成温度和 pH 敏感微凝胶的同时加入了磁性粒子, 磁性粒子的含量可以通过调节铁盐的浓度来控制, 最高可达到 15%, 并且不会影响凝胶的稳定性和另外两种敏感性。

2 智能载药体系

20 世纪 70 年代以前, 大多数药物都是采用药片, 滴剂, 注射液等传统的给药方式。但药物无论是作用于人体的某个器官还是整个系统, 大多数药物都有其疗效窗口, 即药物在活性部位产生疗效浓度范围, 这就要求新的载药体系能够更好的控制药物在活性部位的浓度。同时, 有些药物只能作用于身体的某一特定部位而对邻近部位具有副作用, 这时我们就必须采用一定的手段来控制药物在进入体液系统和组织后的分布。为了满足药物治疗新的要求, 智能载药体系应运而生, 所谓的智能载药体系就是这些药物载体能够按病灶信号如 pH, 温度, 或生物分子的变化定时定量定点地释放药物以达到治疗的效果。

2.1 pH 响应载药体系

药物进入人体将面临复杂的 pH 环境,例如口服制剂需要经历胃的酸性到肠道中性和弱碱性;而抗肿瘤药物需要面对的环境是肿瘤细胞外的 pH 值($\text{pH}\sim 6.8\text{--}7.2$)和细胞内的内含体、溶酶体($\text{pH}\sim 5\text{--}6$)比周围组织和血液中的 pH 值($\text{pH}\sim 7.4$)低的情况。因此,在设计 pH 敏感载药体系时,主要有以下两种类型:(i)以具有碱性(比如:胺基)基团的聚合物为核的纳米粒子,在酸性条件下,侧基质子化,使得原来疏水的核变成亲水,从而导致粒子解体或者溶胀,释放所搭载的药物,适合于组织、肿瘤细胞内药物控制释放;(ii)相反,以具有酸性(比如:羧基)基团的聚合物为核的纳米粒子,在碱性条件下,侧基去质子化而呈亲水性,适合于肠道内药物控制释放^[3,5]。

相对较多的例子集中在第一种类型的载药体系。当外界 pH 高于可质子化基团的 pK_a 时,聚合物链段显示疏水性,与亲水链段形成稳定的载药颗粒。直到外界的 pH 下降到可质子化基团的 pK_a 以下时,质子化的聚合物链段显示亲水性,且质子化后的带电基团之间的静电斥力,终将导致载药颗粒解体或溶胀,释放所搭载的药物。如聚(L-组氨酸)和 PEG($\text{pHis-}b\text{-PEG}$)所组成的胶束在 $\text{pH}=7.4$ 的生理条件下解体,而由 PLA- b -PEG 和 $\text{pHis-}b\text{-PEG}$ 共混组成的胶束在 $\text{pH}=7.4$ 的时候是稳定的,在 $\text{pH}=7.2$ 时才解体,其解体的 pH 可以通过改变 PLA- b -PEG 和 $\text{pHis-}b\text{-PEG}$ 的比例来调节^[31,32]。由聚(2-乙基吡啶)和 PEG 组成的嵌段共聚物 P2VP- b -PEG 在中性和碱性条件下,能够形成稳定的囊泡结构。当 $\text{pH}=5$ 时,囊泡解体,当 $\text{pH}=4$ 时,能够快速释放所包裹的荧光染料,显示了其在 pH 敏感药物释放上的潜在应用^[33]。最近, Irvine 等^[34]报道了利用具有 pH 敏感的聚(N, N-二乙基甲基丙烯酸胺乙酯)(PDEAEMA)为核,聚甲基丙烯酸胺乙酯为壳的交联的核壳结构纳米粒子,能够有效地将膜不通透的分子(比如钙黄绿素和卵白蛋白)输送到树突细胞的细胞质中。其原因是该纳米粒子的 pH 敏感性能够有效地瓦解内含体,从而将搭载的药物输送到细胞质内,并且没有显示明显的细胞毒性。

第二种类型的载药体系显示相反的 pH 敏感性,它在较低 pH 下保持稳定,在较高的 pH 下释放药物,

常用作口服药物的控制释放。如 Leroux 等^[35,36]开发了一系列以 PEG 为亲水段,以聚(丙烯酸酯-co-甲基丙烯酸)为 pH 响应段的嵌段共聚物。根据聚合物组成的不同,在 $\text{pH}<4.5$ 时,形成从 120~350 nm 大小不等的胶束,而当 pH 从 1.2 上升到 7.2,胶束开始释放所搭载的药物。Sarmiento 等^[37]则利用硫酸葡聚糖和壳聚糖复合纳米粒子作为口服胰岛素的载体。在胃的低 pH 环境下,硫酸葡聚糖能够有效保留搭载胰岛素,而在中性的肠道环境中,将胰岛素释放出来。而且由于多糖能够黏附在肠壁上,使得该体系能够更加有效地促进胰岛素通过肠道黏膜吸收,提高药效。实验表明,体外模拟胃肠环境的胰岛素的释放高达 70%,对小鼠体内模型实验,发现药效相对于直接给药显著提高 1.6%。

近年来,具有 pH 敏感导致电荷反转的聚合物纳米粒子载药体系成为了研究的热点。Lee 等^[38]合成了 PEG 和聚天冬氨酸苄酯的嵌段共聚物,并用乙二胺胺解使得聚天冬氨酸侧链带有正电性的氨基,再与柠檬酸酐反应,侧链转变为带有负电性的羧基,同时具有可在酸性条件下水解的柠檬酰胺键。该聚合物能够与带正电的模型蛋白形成聚离子复合物(PIC)胶束。在内含体的酸性条件下,柠檬酰胺键水解,侧链由带有负电的羧基回复到带正电的氨基,使得 PIC 胶束解体,释放复合的蛋白质。因此,该 pH 敏感的嵌段共聚物有望用于蛋白质药物的传输和控制释放。类似地, Xu 等^[39]合成聚己内酯和聚乙烯亚胺的嵌段共聚物(PCL- b -PEI),并与 1, 2-环己二酸酐反应,部分覆盖 PEI 链段的初级胺和二级胺,使得聚合物在形成胶束时,表面带有负电性,而当 pH 降低时,酰胺键水解,胶束表面复呈正电性(图 2)。实验表明,载有阿霉素(DOX)的纳米粒子能够有效地杀死人卵巢癌细胞(SKOV-3),而且该纳米粒子在初始中性 pH 值环境下,表面是带负电的,能够降低与血液中蛋白质的吸附,延长其在血液循环的时间,从而提高药效,具有体内药物传输的潜在应用。

2.2 温度响应载药体系

聚(N-异丙基丙烯酰胺)(PNIPAM)是最常见也是研究最多的温度敏感高分子。当 PNIPAM 和其他的疏水性高分子形成共聚物时,在中性水溶液中可自发

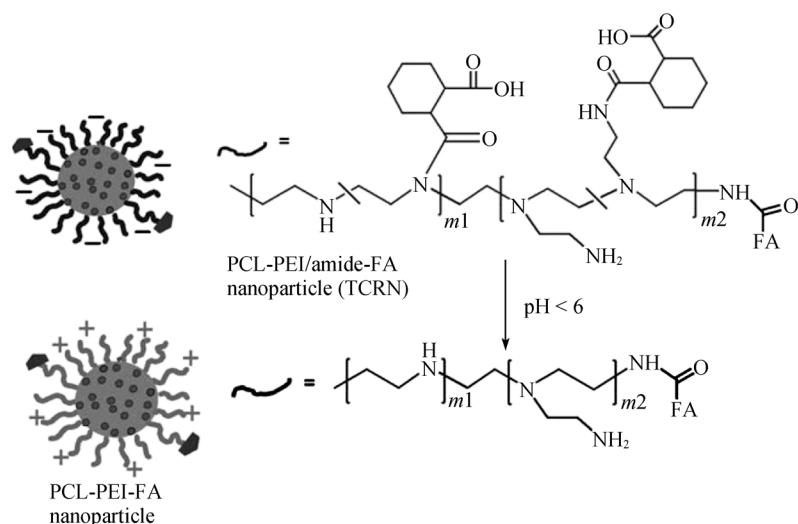


图2 具有靶向性(叶酸)电荷反转的聚合物纳米粒子结构及其pH诱导电荷反转示意图^[39]

形成以疏水高分子段为核, PNIPAM段为壳的胶束. 该类胶束具有典型的温度敏感性, 当温度高于LCST时, PNIPAM段由亲水性转变为疏水性, 在水溶液中引起胶束的破坏; 同样当温度再回到LCST以下, PNIPAM段又显示出亲水性再次形成胶束, 如此反复. 利用该类共聚物作为载药体系, 可以非常容易地通过升温/降温的方法调节胶束的结构从而达到智能控制药物释放的目的. Yang等^[40]制备了一系列的嵌段聚合物: 先将*N*-异丙基丙烯酰胺和二甲基丙烯酰胺共聚P(NIPAM-*co*-DMAAm), 丙交酯和乙交酯共聚(PLGA), 然后将两种共聚物形成嵌段聚合物P(NIPAM-*co*-DMAAm)-*b*-PLGA. 由于该系列聚合物形成的胶束在磷酸缓冲液(PBS)中的LCST均在39℃左右, 所以当DOX被负载到胶束里后, 在含有血清的PBS中时, 37℃下该类胶束保持稳定并缓慢释放DOX, 但当到达高于正常温度的39.5℃时, 胶束破坏引起DOX的快速释放. 这种结构可逆同时又具有温度敏感的胶束为治疗局部过热症提供了一种智能载药体系.

然而单纯的温度响应载药体系并不能够满足大部分临床的实际需求. 因此, 它要与pH响应, 光响应等相结合来使用. 如Serksen等^[41]制备了具有光活性的纳米金为壳的*N*-异丙基丙烯酰胺-*co*-丙烯酰胺共聚物的载药体系. 当纳米金壳吸收近红外光(1064 nm)后, 转化为热量, 使得凝胶粒子塌缩, 释放所搭载的

药物. 此外, 通过调节近红外光照该体系还可以实现对BSA模型蛋白的脉冲式释放.

2.3 葡萄糖响应载药体系

糖尿病是目前非常常见的一种疾病, 其病因主要归因于自身分泌胰岛素的缺乏, 导致不能控制血液中葡萄糖的浓度而引起的. 在治疗糖尿病时, 通常的方法是通过监测血液中葡萄糖的浓度而决定加入一定量的胰岛素以控制葡萄糖的新陈代谢, 但该方法既复杂同时效果也不理想. 于是, 人们就试图开发出新的智能的胰岛素释放体系, 它能够根据血液中葡萄糖的浓度自发地控制胰岛素的释放速度和释放量. 像这样通过葡萄糖的浓度来调节胰岛素释放的体系称之为葡萄糖响应载药体系.

最常见的葡萄糖响应载药体系是将葡糖氧化酶复合在pH敏感的水凝胶/薄膜/胶囊中. 其对胰岛素的控制基于如下的机理: 当葡萄糖进入胰岛素的释放体系时, 在葡糖氧化酶的作用下转变为葡萄糖酸, 葡萄糖酸的生成使得体系因pH值降低而发生溶胀, 从而释放出胰岛素^[42].

Kim和Park^[43]则通过共混含有葡萄糖的高分子聚合物和PEG化的伴刀豆球蛋白制得了葡萄糖敏感的水凝胶, 用于胰岛素的可控释放. 实验发现胰岛素在葡萄糖敏感的水凝胶薄膜和水凝胶基质中的释放速度依赖于外界葡萄糖的浓度, 随着葡萄糖的浓度

从 1 mg/mL 增加到 4 mg/mL, 胰岛素的释放速度增加, 但当葡萄糖的浓度降低到 1 mg/mL 时, 其释放速度随之降低。

2.4 抗原响应载药体系

对于传染性疾病, 癌症以及过敏症的治疗, 直接引起适当的免疫反应是治疗的最终效果。随着分子生物技术的提高, 纯的小分子量的蛋白质, 缩氨酸或者 DNA 的发展, 研究适合的传输体系已变得越来越重要, 而在大多数情况下控制释放体系又集中在抗原或治疗过敏症药物的研究方面。

根据抗原物质所具备的性能可分为完全抗原 (complete antigen) 和半抗原 (hapten) 两类。同时具有免疫原性和免疫反应性的抗原称为完全抗原, 如细菌、病毒、异种动物血清等。仅具有与相应抗原或致敏淋巴细胞结合的免疫反应性, 而无免疫原性的物质称为半抗原, 如大多数的多糖、类脂及一些简单的化学物质, 它们本身不具免疫原性, 但当与蛋白质大分子结合形成复合物后, 便获得了免疫原性, 这种能够与半抗原结合并赋予它免疫原性的蛋白质大分子称为载体 (carrier)。

不稳定的肾脏癌细胞 (RCC) 对于目前所有的治疗方式而言都是一种非常顽固的疾病, 确定新的标识以监测疾病的发展情况并实现对 RCC 的靶向药物释放必将有利于对 RCC 的治疗。Wahl 等^[44]采用抗 CD70 作为药物的载药体系, 其中 CD70 为淋巴细胞的活化点, 其表达存在于 RCC 的不稳定位点上。该抗-CD70 抗体和药物的复合体系 (ADC) 能够选择性地识别 RCC 上的 CD70 分子, 使药物到达合适的亚细胞组织并释放药物将癌细胞杀死。

2.5 靶向载药体系

大多数的治疗性药物都存在令人担忧的毒副作用, 特别是抗癌药物, 它在杀死癌细胞的同时, 也导致了其他正常细胞的死亡。因此, 智能载药体系不但要求能够根据病灶部位的生物学微环境进行控制释放, 而且要求在载体进入人体后, 能够选择性地进入病变组织或细胞。相对于裸露的药物在进入人体后均一分散在各个器官和组织, 纳米载药体系在进入人体后能够相对选择性地病变组织聚集, 这种现

象称之为 EPR 效应 (enhanced permeability and retention effect, EPR)^[45, 46]。其原理是: 在肿瘤组织, 快速和非正常的血管增生, 导致血管的通透性增强, 纳米粒子更容易进入; 同时, 在此部位的免疫系统受到破坏, 淋巴细胞对代谢物质的清除能力大大降低, 使得纳米粒子得以保存, 聚集, 并释放所携带的药物。利用不同尺寸的脂质体研究表明, 大约 400 nm 左右的脂质体囊泡容易从血管渗入肿瘤组织, 然而也有研究表明, 直径 < 200 nm 的粒子更加有效^[47]。虽然, 已经有很多的研究和临床实验倾向于这种基于 EPR 效应的被动靶向, 但是它同时也存在有许多的局限性。比如, 这种载药粒子在肿瘤组织内的分布是不可控的, 它会导致局部位置的药物浓度过高而产生癌细胞对药物耐受 (多药耐药 multiple-drug resistance, MDR) 的不良后果。另外, 不是所有的肿瘤组织都具有 EPR 效应, 而且在组织内部, 其血管对载药粒子的通透性也不尽相同^[48]。

不同于被动靶向, 主动靶向则没有上述的局限性。它是通过将具有靶向性的分子通过化学键连接到载药体系上, 而这种靶向分子能够特异识别细胞表面的受体分子, 达到将药物定点输送到靶向细胞的目的。一般来说, 所选的靶向分子必须对目标细胞的表面受体有高度的选择性, 而且所选择的这种细胞受体又恰是在某种疾病细胞表面特异地过表达。依目前的研究来看, 靶向分子主要有以下几种^[48, 49]: (1) 单克隆抗体或抗体片段; (2) 小分子蛋白/类抗体: 融合蛋白 (fusion proteins)、Avimers、亲和蛋白等; (3) Aptamers: 短单链的 DNA 或者 RNA; (4) 其他的受体识别的配体: 生长因子、叶酸、铁传递蛋白 (Tf)、RGD 短肽等。具体例子如: 为了能够在感染部位靶向释放抗风湿药物 (消炎痛) 并研究载药体系在邻近部位的分布, Diwan 等^[50]利用含叶酸的超支化聚合物作为载体首次将抗风湿药物靶向传输到了感染组织。叶酸通过 CDI 连接到 G4-PAMAM 超支化化合物的表面氨基上, 并负载了消炎痛。体外释放试验表明药物在叶酸结合的超支化载体中比在没有叶酸结合的超支化载体中释放速率低, 而药物在发炎部位的半衰期以及持续时间都是叶酸结合的超支化载体更长, 而且有叶酸结合的载体药物在发炎部位作用的时间和靶向释放的效率都比没有叶酸结合的载体更好, 可见具

有叶酸结合的药物载体对抗风湿药物的靶向传输具有很高的实用价值。

3 智能识别体系

分子识别在自然界的生命过程中广泛存在, 例如酶/底物结合, 抗原/抗体相互作用, 受体/配体相互作用, 互补的 RNA 或 DNA 之间的杂交等. 具有分子识别功能的高分子材料, 能够很好地模拟这种生命过程, 并通过对高分子组成和结构的设计, 实现识别特异靶向目标的目的, 作为智能的生物医用材料已被广泛应用于药物传递, 疾病分子诊断, 生物分离等领域^[4, 51~54].

制备具有分子识别功能的高分子最直接的方法就是把官能化的智能高分子和生物活性分子通过化学键键合, 形成生物键合/杂化体系. 能够用于生物键合的生物分子包括有: 蛋白质和多肽, 糖和多糖, 单/双链寡聚核苷酸和质粒 DNA, 简单脂类和磷脂, 以及一些广谱的识别受体和药物分子. 同时, 官能化的智能高分子又具有外界刺激响应性(温度, pH 和光响应等), 两者的结合, 形成的“双智能”(“doubly smart”)体系, 整合了两种组成的性质, 使其在生物医用领域有着诱人的应用前景.

生物亲和分离是分离、纯化蛋白质, 核酸等生物活性物质的重要手段. 将生物活性分子无规键合到聚合物侧链, 让它与靶分子特异结合后, 再通过外界刺激, 使得聚合物发生相转变, 导致体系相分离, 从而达到分离纯化靶分子的目的. 目前, 基于这种原理

的亲和沉淀体系, 已被用于分离和纯化蛋白质和核酸等生物分子. 以具有低临界温度(LCST)的温敏性聚合物聚(*N*-异丙基丙烯酰胺)(PNIPAM)的生物键合体系为例(图 3), 当 LCST 高分子-配体结合物与对应的亲和受体结合后, 升高温度(stimulus)使得亲和复合物从水相中沉淀出来, 再通过洗脱, 可得到纯化的亲和受体, 而 LCST 高分子-配体结合物也可回收, 重新利用. 因此, 亲和沉淀分离作为一种简便, 经济的生物活性分子纯化方法, 受到了科学家们的青睐. 如 Hoffman 等人利用 PNIPAM-蛋白质生物结合物, 从反应液中回收酶和用于亲和沉淀分离人免疫球蛋白 IgG^[4, 53]. 同理, Maeda 等^[55]将单链 DNA(dT)₈ 键接到甲基丙烯酸衍生物上, 得到的乙烯基(dT)₈ 衍生物与 NIPAM 在 pH 为 7.4 的缓冲溶液中共聚, 得到 PNIPAM-(dT)₈ 共聚物. 实验结果表明, 该共聚物能够有效地亲和沉淀与(dT)₈ 序列互补的(dA)₈ 单链 DNA, 回收率达 84%, 而无(dT)₈ 键合的体系的回收率只有 6%. 同时对(dA)₈ 和(dA)₃ dT(dA)₄ 共存的体系的亲和沉淀实验表明, PNIPAM-(dT)₈ 共聚物能够特异沉淀与其序列互补的(dA)₈ 单链 DNA, 而不是序列没有互补的(dA)₃ dT(dA)₄. 此外, 也可以利用亲和相分离的概念, 用作选择分离和检测更复杂的体系, 比如说血清. 通过引入另一个免疫标记的抗体, 吸附到靶抗原上, 这样由聚合物-抗体, 靶抗原和标记的抗体组成的三元夹心复合物, 在外加刺激以后, 产生相分离, 可用于水溶液的酶联免疫吸附检测(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)^[4, 53].

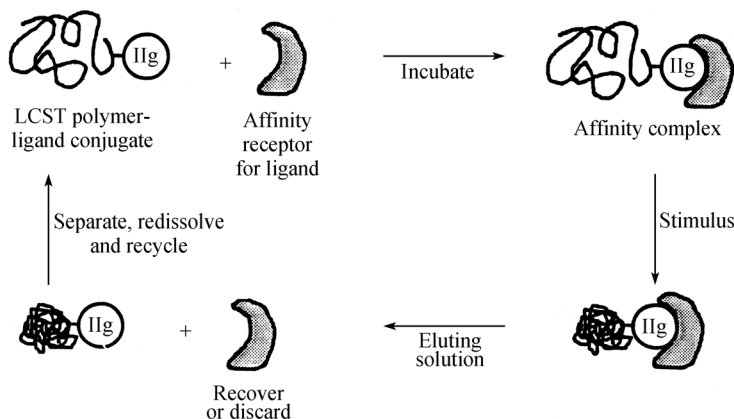


图 3 分子识别亲和沉淀分离示意图^[4]

然而, 这种无规键合方法存在一个很大的缺点, 特别是对于蛋白质类物质, 那就是当把蛋白质键接到聚合物上之后, 其空间位阻, 以及自身构象都有可能发生改变, 从而降低甚至失去其生物活性^[4,54]。因此, 制备具有可控和精确结构聚合物-蛋白质键合体系, 是发展更多生物医用领域应用的前提。通过基因工程在蛋白质特定部位引入具有反应性的半胱氨酸残基(Cys), 可以特异将聚合物键接到蛋白质的特定部位, 从而保持生物活性, 甚至通过对其识别位点位阻的调控实现对蛋白质活性的调控^[56]。此外, 最近的可控聚合方法的发展, 也给制备具有精确聚合物-蛋白质键合体系带来方便。比如原子转移自由基聚合(atom transfer radical polymerization, ATRP)和可逆加成断裂链转移自由基聚合(reversible addition-fragmentation chain transfer polymerization, RAFT), 都可以通过在蛋白质上引入引发基团, 然后以蛋白质为大分子引发剂, 温和条件下, 在PBS缓冲溶液中, 直接引发聚合, 一步法制得结构精确的聚合物-蛋白质键合物^[57-59]。同时利用基因工程技术和可控聚合方法将给我们带来更多的具有精确结构的聚合物-蛋白质键合体系, 其特殊的性能将使其获得更广泛的应用。

随着糖化学和糖生物学(糖组学, Glycomics)的发展, 人们逐渐认识到糖类在诸如细菌感染, 细胞相互作用和信息分子传递等生命过程中的重要作用^[60,61]。然而由于其合成和分离的困难, 大大限制了其在糖分子生物学研究和临床病原体诊断, 抗感染药物和疫苗研制中的应用^[60]。利用聚合方法获得带有糖侧基均聚物以及其与刺激响应型高分子的共聚物(含糖聚合物, Glycopolymers)有望能够模拟寡糖和多糖的功能, 应用于糖组学, 大分子药物, 分子诊断和微生物分离等领域^[61-63]。已有研究表明, 含糖聚合物通过细菌表面受体识别相互作用, 黏附到细菌表面, 能够用于检测病原体和阻断细菌生物活性^[64-66]。最近, Alexander等^[63], 合成以PNIPAM为主体成分的含单糖侧基的含糖聚合物(糖: NIPAm<0.22 mol%), 所得的两组聚合物的LCST分别为41℃和44℃。在室温下, 该聚合物通过糖侧基与大肠杆菌(*E.coli*)表面fim H蛋白受体相互作用, 导致大肠杆菌的聚集。升高体系

温度, 糖共聚物发生从无规线团到球状(coil- globules)的构象转变。由于在globule构象下, 糖侧基的识别位阻大大增加, 不能够再与fim H蛋白受体相互作用, 大肠杆菌不再聚集。这种温度控制大肠杆菌(*E.coli*)可逆聚集的模型有望应用于病原体的分离和检测。Miura等^[62]则通过直接聚合侧基寡糖取代的乙烯基衍生物, 所获得的含糖聚合物, 被用于研究与蛋白受体的特异识别和相互作用。研究表明, 含糖聚合物不但能够特异识别相应的蛋白质受体, 而且其结合常数(binding constant)比单个寡糖侧基单元大10多倍。更有趣的是, 含糖聚合物与蛋白质毒素, 细菌, 病毒等病原体结合后, 可以有效地阻断它们的生物学活性, 有望用于毒素抑制剂和抗感染药物的研究。

分子印迹是近年来发展迅速的一种能够在聚合物基质上制造人工识别位点的有效方法。它是通过将带有官能团的单体, 交联剂与模板(识别目标)预先形成复合物后原位聚合, 形成交联的体系, 再将模板从体系移去, 留下具有分子识别能力的空穴。其所得的分子印迹聚合物具有能与天然产物相比拟的亲数和常数, 而且可以根据选择不同的官能化单体, 交联剂和模板, 制备具有识别不同靶向的聚合物, 并具有能在较恶劣的外部条件下(高温, 压力, 极端pH值和有机溶剂等)使用, 廉价, 可批量生产, 容易长久保存等特点, 作为替代天然生物分子的“人工抗体”, 被广泛应用于临床分析诊断, 色谱分离, 环境监测和智能药物传递体系等^[51,67-69]。

Miyata等就是创造性地利用在只有很少量交联剂存在下的分子印迹法获得具有分子识别响应的水凝胶, 用于检测α胎蛋白(AFP, 其血清异常水平常用于临床诊断肝细胞瘤和肝硬化)^[70]。以往的分子印迹法, 大都使用较多的交联剂, 以使所获得分子印迹聚合物(molecular imprinting polymer, MIP)具有较好的机械性能, 能够保持模板分子印迹留下的空腔结构, 使得该MIP具有较好的分子识别特异性。然而, 这种高度交联的MIP, 却因为分子在其中不能很好扩散, 不利于模板清除, 也会很大程度上降低亲和容量。Miyata等克服了上述缺点, 只使用少量的交联剂, 而把模板分子(AFP)以及对应的分子识别配体的相互作用也充当交联作用, 这样, 当洗脱模板蛋白AFP后,

体系因交联度降低而发生溶胀, 又在亲和吸附 AFP 以后, 可重回收缩状. 因此, 这种由分子识别亲和作用而引起宏观体积变化的水凝胶可望用于临床的分子诊断.

4 结语与展望

由于智能凝胶在环境刺激下的独特响应性, 在细胞培养基质、药物控释载体、组织工程、分子诊断等生物医学方面具有良好的应用前景, 因此设计和合成具有刺激响应性的新型水凝胶将被不断开发用于生物医学和纳米技术领域. 新型的智能水凝胶必需同时拥有符合要求的化学、力学和生物学功能. 由合成聚合物与天然蛋白或多糖通过复合制作的生物杂化水凝胶以及有机/无机杂化水凝胶正是以其优良的力学和生物学功能而引起越来越多的关注.

如何简单、高效、副作用小的将药物传输到特定的治疗部位, 并实现智能的释放是智能载药体系的最终要求. 因此, 制备多功能化的响应体系, 将是智能载药体系的首要任务. 然而, 目前为止, 对于物理化学敏感(如 pH, 温度等)的智能载药体系研究较多. 但随着材料学和生物学的日益结合, 生物敏感的载药体系已经变得越来越重要, 如由于多糖, 蛋白质等可以作为观测生理变化的标识, 故对于多糖, 蛋白质敏感的体系便有了实现在特定部位或组织释放药物的可能. 从研究结果来看, 分子间的相互作用如血凝素和葡萄糖, 抗原和抗体的相互作用为智能载药体

系提供了有利的工具. 结合生物分子和 pH, 温度敏感的聚合物载药体系以其特有的性质必将在生物学和生物医学领域拥有更多的应用, 同时对于这些载药体系的基础研究也将对我们了解生物大分子的生物学功能具有很大的贡献.

将具有生物识别功能的生物分子引入到高分子材料, 使所得的聚合物具有生物识别功能, 同时可以通过对聚合物结构和形态的调整, 使其能够满足在不同的生物医学领域中应用, 如生物亲和分离和疾病分子诊断等. 虽然通过基因工程获得的具有特定官能化和已知结构的蛋白质, 以及通过可控聚合获得的具有可控结构的聚合物, 为制备高性能的具有分子识别功能的智能高分子提供了可能. 但是, 目前制备具有分子识别功能的方法及应用种类仍然有限, 制备具有可控和精确结构的生物结合高分子仍旧充满挑战. 这里还值得一提的是, 近年来随着糖组学的快速发展, 更深入地了解了糖类分子在细菌、病毒等病原体感染, 以及细胞相互作用和细胞信息传递等生命过程中的重要作用. 但是, 由于糖单元的多官能性(一般含有多个羟基)以及寡糖的空间结构多样性, 给人工制备多糖分子带来了很大的困难. 因此, 通过简单的聚合方法制备含糖聚合物, 能够在一定程度上模拟多糖的结构, 并期望拥有相类似的生物学功能, 将是制备具有分子识别功能高分子材料的重点发展的领域之一.

参考文献

- 1 Peppas N A, Hilt J Z, Khademhosseini A, Langer R. Hydrogels in biology and medicine: From molecular principles to bionanotechnology. *Adv Mater*, 2006, 18(11): 1345—1360 [\[DOI\]](#)
- 2 Ganta S, Devalapally H, Shahiwala A, Amiji M. A review of stimuli-responsive nanocarriers for drug and gene delivery. *J Control Release*, 2008, 126(3): 187—204 [\[DOI\]](#)
- 3 Rijcken C J F, Soga O, Hennink W E, van Nostrum C F. Triggered destabilisation of polymeric micelles and vesicles by changing polymers polarity: An attractive tool for drug delivery. *J Control Release*, 2007, 120(3): 131—148 [\[DOI\]](#)
- 4 Hoffman A S. Bioconjugates of intelligent polymers and recognition proteins for use in diagnostics and affinity separations. *Clin Chem*, 2000, 46(9): 1478—1486
- 5 Gil E S, Hudson S M. Stimuli-responsive polymers and their bioconjugates. *Prog Polym Sci*, 2004, 29(12): 1173—1222 [\[DOI\]](#)
- 6 Yoshida R, Uchida K, Kaneko Y, Sakai K, Kikuchi A, Sakurai Y, Okano T. Comb-type grafted hydrogels with rapid De-swelling response to temperature-changes. *Nature*, 1995, 374(6519): 240—242 [\[DOI\]](#)
- 7 Xu X D, Zhang X Z, Yang J, Cheng S X, Zhuo R X, Huang Y Q. Strategy to introduce a pendent micellar structure into poly(N-isopropylacrylamide) hydrogels. *Langmuir*, 2007, 23(8): 4231—4236 [\[DOI\]](#)

- 8 Gil E S, Hudson S M. Effect of silk fibroin interpenetrating networks on swelling/deswelling kinetics and rheological properties of poly(N-isopropylacrylamide) hydrogels. *Biomacromolecules*, 2007, 8(1): 258—264 [\[DOI\]](#)
- 9 Haraguchi K, Takehisa T, Ebato M. Control of cell cultivation and cell sheet detachment on the surface of polymer/clay nanocomposite hydrogels. *Biomacromolecules*, 2006, 7(11): 3267—3275 [\[DOI\]](#)
- 10 Zhang K W, Khan A. Phase-behavior of poly(ethylene oxide)-poly(propylene oxide)-poly(ethylene oxide) triblock copolymers in water. *Macromolecules*, 1995, 28(11): 3807—3812 [\[DOI\]](#)
- 11 Zentner G M, Rath R, Shih C, McRea J C, Seo M H, Oh H, Rhee B G, Mestecky J, Moldoveanu Z, Morgan M, Weitman S. Biodegradable block copolymers for delivery of proteins and water-insoluble drugs. *J Control Release*, 2001, 72(1-3): 203—215 [\[DOI\]](#)
- 12 Tate M C, Shear D A, Hoffman S W, Stein D G, LaPlaca M C. Biocompatibility of methylcellulose-based constructs designed for intracerebral gelation following experimental traumatic brain injury. *Biomaterials*, 2001, 22(10): 1113—1123 [\[DOI\]](#)
- 13 Scherlund M, Brodin A, Malmsten M. Nonionic cellulose ethers as potential drug delivery systems for periodontal anesthesia. *J Colloid Interf Sci*, 2000, 229(2): 365—374 [\[DOI\]](#)
- 14 Hoemann C D, Sun J, Légaré A, McKee M D, Ranger P, Buschmann M D. A thermosensitive polysaccharide gel for cell delivery in cartilage repair. *Trans Orthop Res Soc*, 2001, 26: 626
- 15 Kadlubowski S, Henke A, Ulanski P, Rosiak J M, Bromberg L, Hatton T A. Hydrogels of polyvinylpyrrolidone (PVP) and poly(acrylic acid) (PAA) synthesized by photoinduced crosslinking of homopolymers. *Polymer*, 2007, 48(17): 4974—4981 [\[DOI\]](#)
- 16 Khalid M N, Agnely F, Yagoubi N, Grossiord J L, Couarraze G. Water state characterization, swelling behavior, thermal and mechanical properties of chitosan based networks. *Eur J Pharm Sci*, 2002, 15(5): 425—432 [\[DOI\]](#)
- 17 Brahim S, Narinesingh D, Guiseppi-Elie A. Synthesis and hydration properties of pH-sensitive p(HEMA)-based hydrogels containing 3-(trimethoxysilyl)propyl methacrylate. *Biomacromolecules*, 2003, 4(3): 497—503 [\[DOI\]](#)
- 18 Park S E, Nho Y C, Lim Y M, Kim H I. Preparation of pH-sensitive poly(vinyl alcohol-g-methacrylic acid) and poly(vinyl alcohol-g-acrylic acid) hydrogels by gamma ray irradiation and their insulin release behavior. *J Appl Polym Sci*, 2004, 91(1): 636—643
- 19 Murthy N, Thng Y X, Schuck S, Xu M C, Frechet J M J. A novel strategy for encapsulation and release of proteins: Hydrogels and microgels with acid-labile acetal cross-linkers. *J Am Chem Soc*, 2002, 124(42): 12398—12399 [\[DOI\]](#)
- 20 Hamlen R P, Kent C E, Shafer S N. Electrolytically activated contractile polymer. *Nature*, 1965, 206: 1149—1150 [\[DOI\]](#)
- 21 Tanaka T, Nishio I, Sun S-T, Ueno-Nishio S. Collapse of gels in an electric field. *Science*, 1982, 218: 467—469 [\[DOI\]](#)
- 22 Yao L, Krause S. Electromechanical responses of strong acid polymer gels in DC electric fields. *Macromolecules*, 2003, 36(6): 2055—2065 [\[DOI\]](#)
- 23 Kim S J, Kim M S, Kim S I, Spinks G M, Kim B C, Wallace G G. Self-oscillatory actuation at constant DC voltage with pH-sensitive chitosan/polyaniline hydrogel blend. *Chem Mater*, 2006, 18(24): 5805—5809 [\[DOI\]](#)
- 24 Desponds A, Freitag R. Synthesis and characterization of photoresponsive N-isopropylacrylamide cotelomers. *Langmuir*, 2003, 19(15): 6261—6270 [\[DOI\]](#)
- 25 Desponds A, Freitag R. Light-responsive bioconjugates as novel tools for specific capture of biologicals by photoaffinity precipitation. *Biotechnol Bioeng*, 2005, 91(5): 583—591 [\[DOI\]](#)
- 26 Zheng P J, Hu X, Zhao X Y, Li L, Tam K C, Gan L H. Photoregulated sol-gel transition of novel azobenzene-functionalized hydroxypropyl methylcellulose and its alpha-cyclodextrin complexes. *Macromol Rapid Comm*, 2004, 25(5): 678—682 [\[DOI\]](#)
- 27 Marchetti M. Thermodynamics of temperature sensitive gels. Ph. D. thesis, University of Minnesota, 1989
- 28 Lee K K, Cussler E L. Pressure-dependent phase transitions in hydrogels. *Chem Eng Sci*, 1990, 45(3): 766—767 [\[DOI\]](#)
- 29 Shim W S, Yoo J S, Bae Y H, Lee D S. Novel injectable pH and temperature sensitive block copolymer hydrogel. *Biomacromolecules*, 2005, 6(6): 2930—2934 [\[DOI\]](#)
- 30 Bhattacharya S, Eckert F, Boyko V, Pich A. Temperature-, pH-, and magnetic-field-sensitive hybrid microgels. *Small*, 2007, 3(4): 650—657 [\[DOI\]](#)
- 31 Lee E S, Na K, Bae Y H. Polymeric micelle for tumor pH and folate-mediated targeting. *J Control Release*, 2003, 91(1-2): 103—113 [\[DOI\]](#)
- 32 Lee E S, Shin H J, Na K, Bae Y H. Poly(L-histidine)-PEG block copolymer micelles and pH-induced destabilization. *J Control Release*, 2003, 90(3): 363—374 [\[DOI\]](#)
- 33 Borchert U, Lippardt U, Bilanz M, Kimpfler A, Rank A, Peschka-Suss R, Schubert R, Lindner P, Forster S. pH-induced release from

- P2VP-PEO block copolymer vesicles. *Langmuir*, 2006, 22(13): 5843—5847 [\[DOI\]](#)
- 34 Hu Y, Litwin T, Nagaraja A R, Kwong B, Katz J, Watson N, Irvine D J. Cytosolic delivery of membrane-impermeable molecules in dendritic cells using pH-Responsive core-shell nanoparticles. *Nano Lett*, 2007, 7(10): 3056—3064 [\[DOI\]](#)
 - 35 Sant V P, Smith D, Leroux J C. Enhancement of oral bioavailability of poorly water-soluble drugs by poly(ethylene glycol)-block-poly(alkyl acrylate-co-methacrylic acid) self-assemblies. *J Control Release*, 2005, 104(2): 289—300
 - 36 Sant V P, Smith D, Leroux J C. Novel pH-sensitive supramolecular assemblies for oral delivery of poorly water soluble drugs: preparation and characterization. *J Control Release*, 2004, 97(2): 301—312 [\[DOI\]](#)
 - 37 Sarmiento B, Ribeiro A, Veiga F, Ferreira D, Neufeld R. Oral bioavailability of insulin contained in polysaccharide nanoparticles. *Biomacromolecules*, 2007, 8(10): 3054—3060 [\[DOI\]](#)
 - 38 Lee Y, Fukushima S, Bae Y, Hiki S, Ishii T, Kataoka K. A protein nanocarrier from charge-conversion polymer in response to endosomal pH. *J Am Chem Soc*, 2007, 129(17): 5362—5363 [\[DOI\]](#)
 - 39 Xu P S, van Kirk E A, Zhan Y H, Murdoch W J, Radosz M, Shen Y Q. Targeted charge-reversal nanoparticles for nuclear drug delivery. *Angew Chem Int Edit*, 2007, 46(26): 4999—5002 [\[DOI\]](#)
 - 40 Liu S Q, Tong Y W, Yang Y Y. Incorporation and *in vitro* release of doxorubicin in thermally sensitive micelles made from poly(N-isopropylacrylamide-co-N,N-dimethylacrylamide)-b-poly(D,L-lactide-co-glycolide) with varying compositions. *Biomaterials*, 2005, 26(24): 5064—5074 [\[DOI\]](#)
 - 41 Serksen S R, Westcott S L, Halas N J, West J L. Temperature-sensitive polymer-nanoshell composites for photothermally modulated drug delivery. *J Biomed Mater Res*, 2000, 51(3): 293—298 [\[DOI\]](#)
 - 42 Miyata T, Uragami T, Nakamae K. Biomolecule-sensitive hydrogels. *Adv Drug Deliver Rev*, 2002, 54(1): 79—98 [\[DOI\]](#)
 - 43 Kim J J, Park K. Modulated insulin delivery from glucose-sensitive hydrogel dosage forms. *J Control Release*, 2001, 77(1-2): 39—47 [\[DOI\]](#)
 - 44 Law C L, Gordon K A, Toki B E, Yamane A K, Hering M A, Cervený C G, Petroziello J M, Ryan M C, Smith L, Simon R, Sauter G, Oflazoglu E, Doronina S O, Meyer D L, Francisco J A, Carter P, Senter P D, Copland J A, Wood C G, Wahl A F. Lymphocyte activation antigen CD70 expressed by renal cell carcinoma is a potential therapeutic target for anti-CD70 antibody-drug conjugates. *Cancer Res*, 2006, 66(4): 2328—2337 [\[DOI\]](#)
 - 45 Iyer A K, Khaled G, Fang J, Maeda H. Exploiting the enhanced permeability and retention effect for tumor targeting. *Drug Discov Today*, 2006, 11(17-18): 812—818 [\[DOI\]](#)
 - 46 Matsumura Y, Maeda H. A new concept for macromolecular therapeutics in cancer chemotherapy: Mechanism of tumoritropic accumulation of proteins and the antitumor agent smancs. *Cancer Res*, 1986, 46: 6387—6392
 - 47 Yuan F, Dellian M, Fukumura D, Leunig M, Berk D A, Torchilin V P, Jain R K. Vascular-permeability in a human tumor xenograft-molecular-size dependence and cutoff size. *Cancer Res*, 1995, 55(17): 3752—3756
 - 48 Peer D, Karp J M, Hong S, Farokhzad O C, Margalit R, Langer R. Nanocarriers as an emerging platform for cancer therapy. *Nat Nanotechnol*, 2007, 2(12): 751—760 [\[DOI\]](#)
 - 49 Gu F X, Karnik R, Wang A Z, Alexis F, Levy-Nissenbaum E, Hong S, Langer R S, Farokhzad O C. Targeted nanoparticles for cancer therapy. *Nano Today*, 2007, 2(3): 14—21 [\[DOI\]](#)
 - 50 Chandrasekar D, Sistla R, Ahmad F J, Khar R K, Diwan P V. The development of folate-PAMAM dendrimer conjugates for targeted delivery of anti-arthritic drugs and their pharmacokinetics and biodistribution in arthritic rats. *Biomaterials*, 2007, 28(3): 504—512 [\[DOI\]](#)
 - 51 Bossi A, Bonini F, Turner A P F, Piletsky S A. Molecularly imprinted polymers for the recognition of proteins: The state of the art. *Biosens Bioelectron*, 2007, 22(6): 1131—1137 [\[DOI\]](#)
 - 52 Goddard J M, Hotchkiss J H. Polymer surface modification for the attachment of bioactive compounds. *Prog Polym Sci*, 2007, 32(7): 698—725 [\[DOI\]](#)
 - 53 Hoffman A S, Stayton P S. Bioconjugates of smart polymers and proteins: Synthesis and applications. *Macromol Symp*, 2004, 207: 139—151 [\[DOI\]](#)
 - 54 Klok H A. Biological-synthetic hybrid block copolymers: Combining the best from two worlds. *J Polym Sci, Polym Chem*, 2005, 43(1): 1—17 [\[DOI\]](#)
 - 55 Umeno D, Mori T, Maeda M. Single stranded DNA-poly(N-isopropylacrylamide) conjugate for affinity precipitation separation of oligonucleotides. *Chem Commun*, 1998, 14: 1433—1434 [\[DOI\]](#)

- 56 Stayton P S, Shimoboji T, Long C, Chilkoti A, Chen G H, Harris J M, Hoffman A S. Control of protein-ligand recognition using a stimuli-responsive polymer. *Nature*, 1995, 378(6556): 472—474[DOI]
- 57 Boyer C, Bulmus V, Liu J Q, Davis T P, Stenzel M H, Barner-Kowollik C. Well-defined protein-polymer conjugates via in situ RAFT polymerization. *J Am Chem Soc*, 2007, 129(22): 7145—7154[DOI]
- 58 Heredia K L, Bontempo D, Ly T, Byers J T, Halstenberg S, Maynard H D. *In situ* preparation of protein- “Smart” polymer conjugates with retention of bioactivity. *J Am Chem Soc*, 2005, 127(48): 16955—16960[DOI]
- 59 Heredia K L, Maynard H D. Synthesis of protein-polymer conjugates. *Org Biomol Chem*, 2007, 5(1): 45—53[DOI]
- 60 Seeberger P H, Werz D B. Synthesis and medical applications of oligosaccharides. *Nature*, 2007, 446(7139): 1046—1051[DOI]
- 61 Spain S G, Gibson M I, Cameron N R. Recent advances in the synthesis of well-defined glycopolymers. *J Polym Sci, Polym Chem*, 2007, 45(11): 2059—2072[DOI]
- 62 Miura Y. Synthesis and biological application of glycopolymers. *J Polym Sci, Polym Chem*, 2007, 45(22): 5031—5036[DOI]
- 63 Pasparakis G, Cockayne A, Alexander C. Control of bacterial aggregation by thermoresponsive glycopolymers. *J Am Chem Soc*, 2007, 129(36): 11014—11015[DOI]
- 64 Dohi H, Nishida Y, Mizuno M, Shinkai M, Kobayashi T, Takeda T, Uzawa H, Kobayashi K. Synthesis of an artificial glycoconjugate polymer carrying P-k-antigenic trisaccharide and its potent neutralization activity against Shiga-like toxin. *Bioorgan Med Chem*, 1999, 7(9): 2053—2062[DOI]
- 65 Owen R M, Gestwicki J E, Young T, Kiessling L L. Synthesis and applications of end-labeled neoglycopolymers. *Org Lett*, 2002, 4(14): 2293—2296[DOI]
- 66 Polizzotti B D, Kiick K L. Effects of polymer structure on the inhibition of cholera toxin by linear polypeptide-based glycopolymers. *Biomacromolecules*, 2006, 7(2): 483—490[DOI]
- 67 Alexander C, Andersson H S, Andersson L I, Ansell R J, Kirsch N, Nicholls I A, O'Mahony J, Whitcombe M J. Molecular imprinting science and technology: a survey of the literature for the years up to and including 2003. *J Mol Recognit*, 2006, 19(2): 106—180[DOI]
- 68 Peppas N A, Huang Y. Polymers and gels as molecular recognition agents. *Pharmaceut Res*, 2002, 19(5): 578—587[DOI]
- 69 Wei S, Mizaikoff B. Recent advances on noncovalent molecular imprints for affinity separations. *J Sep Sci*, 2007, 30(11): 1794—1805[DOI]
- 70 Miyata T, Jige M, Nakaminami T, Urugami T. Tumor marker-responsive behavior of gels prepared by biomolecular imprinting. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103(5): 1190—1193[DOI]