动态变构纳米组装体的设计、合成及生物医药应用

王淑颖^{1†}, 夏凡^{1,2†}, 李方园^{1,2*}, 凌代舜^{1,2,3*}

1. 浙江大学药学院; 药物制剂研究所, 杭州 310058

2. 浙江大学创新医药研究院, 杭州 310058

3. 浙江大学生物医学工程与仪器科学学院; 教育部生物医学工程重点实验室, 杭州 310058

†同等贡献

*通讯作者, E-mail: lfy@zju.edu.cn; lingds@zju.edu.cn

收稿日期: 2019-02-18; 接受日期: 2019-04-08; 网络版发表日期: 2019-05-14

国家重点研发计划(编号: 2016YFA0203600)、国家自然科学基金(编号: 31822019, 91859116, 51703195)、浙江省“一带一路”国际科技合作项目(编号: 2019C04024)、浙江省自然科学基金(编号: LGF19C100002)、中央高校基本业务费(编号: 2018QNA7020)和国家第六批“青年千人计划”资助项目

摘要 纳米技术对生物医学的发展具有重要的推动作用. 如何构建新型纳米材料, 实现其在疾病部位生物功能的最优化, 是当今纳米生物医药领域的关键问题. 智能型纳米组装体作为一类能够在特定刺激下发生响应性功能转变的纳米材料, 在该领域中受到了极大的关注. 尤其是在肿瘤等疾病的诊断与治疗中, 结合肿瘤微环境特征, 设计与合成能够根据体内过程调整结构的动态变构纳米组装体, 以达到成像信号放大、治疗效果增强以及安全性提升的目的, 为建立智能化诊疗方案提供了新策略. 本文主要讨论了纳米组装体的常用制备策略, 集中探讨了对内源性刺激响应(pH、酶、氧化还原等)的动态变构纳米组装体在肿瘤诊疗中的应用.

关键词 纳米材料, 组装, 刺激响应, 生物医药应用

1 引言

纳米材料由于其尺寸效应引起的特殊性质, 受到环境、能源、农业、医药等各领域的广泛关注与重视, 尤其在生物医药领域显示出巨大的潜在应用价值^[1~4]. 目前, 获批上市的纳米药物已达50余种. 其中, 利用生物材料制备成纳米载体负载药物的抗肿瘤纳米药物多达10余种^[5]. 纳米生物医药材料的研发, 尤其是抗肿瘤纳米材料涉及材料学、药学、肿瘤学、免疫学

等多学科交叉与融合, 已成为当今国内外研究的前沿与热点^[6~8].

随着技术的不断发展, 各种无机纳米材料作为新型生物医药材料在疾病诊断和治疗方面得到了大量的研究^[9~11]. 无机纳米粒子独特的物理化学性质, 使其有望在肿瘤诊疗方面发挥一些特殊的功能^[12,13]. 例如, 氧化铁纳米粒子因其可控的磁学性能可以在磁共振成像与磁热治疗的应用中发挥作用^[14]; 金纳米粒因其表面等离子共振性能可以被用于光声成像和光热治疗^[15,16].

引用格式: Wang S, Xia F, Li F, Ling D. Design and synthesis of dynamic nano assemblies for biomedical applications. *Sci Sin Chim*, 2019, 49: 1168–1178, doi: 10.1360/SSC-2019-0020

研究表明, 无机纳米材料的物化性质与其尺寸、形貌等结构密切相关. 例如, 氧化铁纳米粒尺寸减至20 nm时, 其磁性由亚铁磁性转变为超顺磁性(可用作T2造影剂), 继续减至4 nm以下, 表现出近顺磁性(可用作T1造影剂)^[17]; 同样尺寸下, 立方氧化铁纳米粒比球形氧化铁纳米粒具有更强的磁热性能^[18]. 因此, 调控无机纳米材料的结构可以调控其物化性质, 进一步影响其功能的发挥.

近年来, 利用物理、化学手段, 将无机材料作为基元构成的智能型纳米组装体, 有望通过组装与解组装的结构变化, 调节基元之间的相互作用, 从而有效实现功能转变^[19-21]. 例如, 氧化铁纳米组装体在组装状态下或解组装状态下, 分别对T2弛豫率或T1弛豫率发生调控作用, 使其成为能够从T2信号增强到T1信号增强转变的智能型磁共振造影剂^[22,23]. 此外, 对不同类型的无机材料进行多元组装, 不仅可以实现多功能集于一体, 同时由于不同基元之间物化性质的相互影响, 可以产生协同或拮抗作用以改善功能^[24,25].

另外, 纳米材料进行生物医药应用时, 其尺寸和表面结构是影响其体内行为的重要因素. 例如, 相比于容易被肾脏清除的小于6~8 nm的纳米粒子, 70~200 nm的纳米粒子具有较长的循环时间, 并更容易渗漏进入肿瘤部位, 实现肿瘤富集^[26,27]; 相比于表面带正电的纳米粒子, 表面带负电或电中性的纳米粒子与血液中蛋白质及正常组织细胞间的吸附作用更小, 其血液循环半衰期较长, 而细胞内化作用较弱^[28]. 因此, 调控纳米材料的尺寸和表面结构可以调控其体内行为.

理想的抗肿瘤纳米材料不仅对其在体内的安全性有高标准, 同时还需要满足对肿瘤的精确诊断与有效治疗等要求^[29]. 基于此, 设计不同的组装策略, 合成基于无机材料的智能型纳米组装体, 使其能够在特定刺激响应下发生结构变化, 在肿瘤部位功能最大化, 达到高效、可控的诊疗需求, 并实现对其体内过程的有效调控, 达到生物安全要求. 下面, 我们就纳米组装体的制备及其生物医药应用进行介绍, 并结合肿瘤微环境特征, 重点列举能够在内源性刺激下进行结构变化和功能转变的动态变构纳米组装体(图1).

2 纳米组装体的制备策略

将单一或复合的无机材料进行可控组装得到纳米

图1 动态变构无机纳米组装体的组装策略及其生物医药应用示意图(网络版彩图)

Figure 1 Schematic diagram of assembly strategies and biomedical applications of dynamic inorganic nanoassembly (color online).

组装体, 实现结构与功能的多样性, 对发展肿瘤诊疗等生物医药应用具有重要的研究意义. 关于纳米组装体的组装策略不胜枚举, 然而目前仍没有十分全面系统的分类规则. 这里我们根据组装作用机理分为非模板法和模板法两大类策略进行介绍.

2.1 非模板介导组装(template-free assembly)

无机纳米粒子作为基元在分子间作用力或化学键的介导下形成稳定可控的组装结构, 这种相对灵活的方式可以被称为非模板介导组装. 一般常用的是分子间弱相互作用力, 包括疏水作用、氢键、静电相互作用、偶极-偶极相互作用.

2.1.1 疏水作用

基于两亲性高分子聚合物对无机纳米粒子的接枝与包封, 利用疏水作用实现纳米粒子的组装, 是形成纳米组装体的主要方法之一. Park课题组^[30]系统研究了磁性纳米粒子与两亲性嵌段共聚物组成的自组装结构, 并通过控制溶剂-纳米粒子和聚合物-纳米粒子相互作用, 对结构进行可控调节(图2): (1) 核-壳型, 纳米粒子径向排列在聚合物形成的核壳界面交界处; (2) 胶束状, 纳米粒子均匀掺入聚合物胶束中; (3) 囊泡状, 聚合物囊泡内密集填充纳米粒子. 实验结果显示, 聚合物与纳米粒子共同组成的结构会影响其磁弛豫特性, 证明了组装体的形貌、大小以及组装体内纳米粒子排列等是调控其磁共振成像功能的重要因素. 本课题组^[31]

图 2 (a) 纳米粒子与嵌段共聚物形成三种类型组装体的示意图: (i) 核-壳型聚合物; (ii) 磁性胶束; (iii) 磁性聚合物囊泡. (b) 不同组装结构的透射电子显微镜图^[30] (网络版彩图)

Figure 2 (a) Three types of assemblies based on the self-assembly of nanoparticles and block copolymers: (i) magneto-core shell assemblies; (ii) magnetic micelles; (iii) magnetic polymer-vesicles. (b) transmission electron microscopy (TEM) image of different self-assembled structures^[30] (color online).

利用微乳法将光敏剂修饰的两亲性高分子用于上转化纳米粒子的表面配体修饰. 随后, 加入表面活性剂普朗尼克F68, 在超声下缓慢调节体系pH至7.4, 减弱静电斥力, 增强疏水作用, 从而实现两种高分子与上转化纳米粒子的自组装, 改善了传统光动力学中红光穿透不够的瓶颈问题(图3). Liu等^[32]通过控制多元组装过程中氧化铁纳米粒和金纳米粒的尺寸或含量, 构建了一系列不同形状或不同组成的Janus囊泡, 并发现金纳米粒排布更密集、氧化铁纳米粒含量更高的半球形Janus囊泡具有更强的近红外光谱吸收性能和更高的T2弛豫率, 可明显增强肿瘤部位的光声成像和磁共振成像功能.

2.1.2 氢键

对无机纳米粒子表面进行DNA修饰, 可以实现氢键介导的纳米自组装. 这种方法得益于碱基互补配对的特异性和碱基排列顺序的多样性, 尤其在金纳米组装体的制备中被广泛研究. Mirkin团队^[33]开发了一种以金纳米粒为基元、通过可编程碱基配对相互作用形成的微米级面心或体心立方体组装结构. 此外, Chan课题组^[34]设计了一系列DNA介导的纳米粒子组装结构, 于2014年报道了一种基于氢键的组装范例——“核-卫星”纳米金组装体, 由一层或多层“卫星”纳米粒子围绕中心核纳米粒子组成. “核-卫星”的每一层之间都是由独特的DNA序列编码互补连接形成有效的组装. 通过改变纳米基元的组成、大小或表面修饰等, 精确控

图 3 (a) 高分子聚合物与UCNPs的自组装示意图; (b) 单分散UCNPs的透射电子显微镜图; (c) UCNPs组装体的透射电子显微镜图^[31] (网络版彩图)

Figure 3 (a) Schematic diagram of the self-assembly of polymers and UCNPs; (b) TEM image of monodisperse UCNPs; (c) TEM image of UCNPs assembly^[31] (color online).

制“卫星”数目和“卫星”与“核”间距(图4). 该课题组^[35]于2016年进一步发表了基于金纳米棒与金纳米球的“核-卫星”组装体作为药物载体应用的研究.

2.1.3 其他

利用正负电荷的静电相互作用进行组装也是构建纳米组装体的一种有效方法. Grzybowski课题组^[36]报道了一种多元纳米组装体, 是由表面带正电的银纳米晶(4.8 nm)和表面带负电的金纳米晶(5.1 nm), 通过静电吸附, 形成较大的类金刚石晶格的非密堆积结构, 且通过更换不同尺寸的纳米粒子, 能够可控调节静电相互作用的强度和距离, 以优化组装结构.

类似地, 具有方向性的偶极-偶极相互作用可以引导纳米组装结构的可控合成. Klajn等^[37]报道了通过光响应性聚合物偶氮苯对金纳米粒进行表面改性, 在紫外光照下, 由偶氮苯的偶极-偶极相互作用引发的自组装行为. 对于磁性纳米粒子, 在磁场影响下, 通过偶极-偶极相互作用可以调节其组装成线性链状^[38]或环状结构^[39].

此外, 通过酶-底物^[40]、抗原-抗体^[41]、生物素-亲和素^[42,43]等反应介导的纳米组装也吸引了国内外相关的关注. von Maltzahn等^[40]通过平衡两种拮抗酶的活性, 构建了在酪氨酸激酶作用下响应性组装、在磷酸酶作用下响应性解组装的超顺磁性氧化铁纳米组装体, 进而实现其T2弛豫率的可控改变. 这类生物反应的方法具有高度专一性和灵敏性等优势, 尤其适合体

图 4 (a) 利用DNA碱基互补配对合成纳米组装体的示意图; (b) 双层“核-卫星”结构的透射电子显微镜图(上: 调节卫星与核心比值 $r=2, 8, 16$ 和 24 ; 下: 调节卫星PEG长度 $M_w=0, 1, 5$ 和 10 kDa)。标尺=50 nm^[34] (网络版彩图)

Figure 4 (a) Schematic diagram of designing a nanoassembly via DNA base pairing; (b) TEM image of two-layer “core-satellite” nanostructures (upper, modulating satellite to core ratio $r=2, 8, 16$ and 24 ; bottom, adjusting satellite PEG length $M_w=0, 1, 5$ and 10 kDa). Scale bars, 50 nm^[34] (color online).

内自组装。

除了以上分子间弱相互作用力, 通过动态共价键, 如腙键、二硫键、亚胺键等, 也可以构建动态变构纳米组装体^[44]。本课题组^[45]利用腙键对酸的敏感性, 制备了一种由小分子配体交联介导的酸响应型氧化铁纳米组装体。首先对油相合成的超小氧化铁纳米粒进行亲水性胍基修饰, 随后加入三醛基小分子配体, 发生交联反应形成腙键。该方法得到的组装结构具有超灵敏的pH响应性, 在酸性条件中仅需大约10 s即可完全解散; 并在肿瘤模型小鼠体内验证了酸响应的磁共振信号放大效果, 为开发针对肿瘤的高灵敏T1磁共振造影剂提供了新思路(图5)。Telfer等^[46]利用两端带有巯基的互锁结构小分子配体使独立的金纳米粒交联成金纳米组装体, 通过调节小分子配体与金纳米粒的比例, 可以对组装体的大小进行控制, 从而实现对拉曼信号的强弱调控。

2.2 模板介导组装(template-assisted assembly)

利用模板作为组装支架, 有利于对无机纳米粒子的组装进行有效指导, 使纳米组装体具有特定的结构和形状, 尤其是组装表面活性强的纳米基元或者进行多元组装等情况。根据模板的物理性质可以分为两种类型: 硬模板和软模板。

图 5 (a) IONAs组装和pH响应解组装的示意图; (b) ESIONs以及IONAs在(c) pH 7.4和(d) pH 5.5条件下的透射电子显微镜图。(c, d)插图: IONAs的水力直径^[45] (网络版彩图)

Figure 5 (a) Schematic representation of the formation and pH-triggered disassembly of IONAs; (b-d) TEM images of (b) ESIONs, IONAs at (c) pH 7.4 and (d) pH 5.5. Inset of (c, d): hydrodynamic diameter of IONAs^[45] (color online).

2.2.1 硬模板

由于硬模板通常为具有刚性几何形状的纳米材料, 如碳纳米管、石墨烯和介孔硅, 使用硬模板容易得到具有明确形状的组装结构。Liz-Marzán课题组^[47]使用多壁碳纳米管作为模板, 通过金纳米棒与其表面之间的静电作用, 形成具有端对端接触的金纳米棒串。这是纳米棒组装成线性排列的首个案例(图6)。本课题组^[48]通过将超小二氧化铈纳米晶固定于介孔二氧化硅纳米球(MSN)表面, 合成了一种活性氧清除纳米组装黏合剂。接下来, 继续使用MSN作为模板, 将氧化铁纳米晶和二氧化铈纳米晶共同组装到其表面, 成功用于阿尔茨海默病的联合治疗(图7)^[49]。Engtrakul等^[50]使用碳单壁纳米管束中的凹槽作为一维模板, 通过自组装形成CdSe和InP量子点的线性阵列。Chen等^[51]设计了一种氨基官能化的MSN与L-半胱氨酸修饰的金纳米粒通过桥联离子 Fe^{2+} 连接的纳米组装体, 并通过调控 Fe^{2+} 与MSN之间配位键的形成与断裂来实现负载药物的可控释放。

2.2.2 软模板

DNA支架^[52,53]、病毒^[54]等是一类用于无机纳米

图6 (a) 金纳米棒串的结构示意图; (b, c) 不同放大倍数下的金纳米棒串透射电子显微镜图^[47] (网络版彩图)

Figure 6 (a) Scheme of the Au nanorods assembly based on MWNTs; (b, c) TEM images of the Au nanorods assembly at various magnifications^[47] (color online).

图7 (a) 多元纳米组装体的合成示意图; (b-e) 分别为介孔硅、二氧化铈纳米粒、氧化铁纳米粒、纳米组装体的TEM图; (f) 纳米组装体的高分辨TEM图^[49] (网络版彩图)

Figure 7 (a) Schematic diagram of the assembly structure; (b-e) TEM images of MSN, cerium oxide nanocrystals, iron oxide nanocrystals and assemblies, respectively; (f) high-resolution TEM image of assemblies^[49] (color online).

材料组装的生物软模板。它们可以为组装基元提供固定的结合位点, 从而控制基元的排列方式, 包括调节基元数量和空间分布。其中, DNA由于其结构多样、序列明确以及功能丰富^[55]在介导纳米粒子组装的研究中受到了重视。Warner等^[56]报道了以DNA作为支架, 通过静电作用结合纳米粒子, 组装成线性、带状以及分枝状结构。高分辨率透射电子显微镜显示纳米粒子间隔均匀, 组装体结构紧密。Fischler等^[57]运用铜(I)催化的Huisgen环加成反应, 在炔烃修饰的DNA支架上修饰叠氮化金纳米晶, 形成了链状组装体(图8)。其中, 将DNA所含的胸腺嘧啶碱基替换成炔烃修饰的衍生物, 可以准确控制相邻两个结合位点之间的距离约为0.68 nm。这种在高度可编程的生物模板上组装无机纳米粒子的方法对研发新型纳米生物医药材料具有很大的参考价值。此外, Dujardin等^[54]利用烟草花叶病毒内外表面电荷差异实现了金属纳米粒子的多元组装, 在酸性pH下, AuCl_4^- 和 PtCl_6^- 由于静电作用力沉积在病毒带正电荷的外表面上; 而在中性pH下, Ag^+ 沉积在病毒带负电荷的内表面上, 这些离子作为前驱体进一步促

图8 (a) DNA-纳米链合成示意图; (b) 一维等距组装的DNA-纳米链的TEM图; (c) 模型显示谷胱甘肽叠氮化物配体长度的两倍是形成均匀排列的关键因素^[57]

Figure 8 (a) Scheme of the synthesis process of chain-like DNA-nanoassembly; (b) TEM image of one-dimensional, equidistantly assembled chain-like DNA-nanoassembly; (c) model showing that twice the length of glutathione azide ligand is the key factor of the uniform alignment^[57].

使金属纳米粒子的合成与组装。

3 动态变构纳米组装体的肿瘤诊疗应用

动态变构纳米组装体在肿瘤等疾病部位可控地发生结构改变, 从而提高诊疗功能, 而在正常生理环境中保持高度稳定性, 为高效、安全的疾病治疗提供了新方案。与单分散的纳米粒子相比, 动态变构纳米组装体呈现出截然不同的物化性质, 表现出智能化的生物医药应用功能, 以及在体内不同的循环、分布、代谢、排泄等行为。特别是针对肿瘤微环境的特征, 构建内源性刺激(pH、酶、氧化还原等)响应型纳米组装体用于肿瘤诊疗具有重要的研究价值。

3.1 放大成像信号

正常细胞主要依靠线粒体氧化磷酸化产生能量。而肿瘤细胞多依赖于糖酵解途径代谢, 积累了大量乳酸^[58], 导致肿瘤微环境呈弱酸性^[59]。因此, 肿瘤微环境(pH 6.5~6.8)与血液循环以及正常组织(pH 7.2~7.4)的pH差异可以用于设计酸响应型纳米材料^[60]。在这一策略中, 常常利用有机配体上基团的质子化, 实现纳米组装体的酸响应性动态变构。例如, 本课题组^[61]使用pH响应四链螺旋(i-motif) DNA对超小氧化铁纳米粒进行组装, 制备了酸响应型氧化铁纳米组装体(RIA), 并通过原位肝癌模型证实, RIA在正常肝组织中呈现组装

状态, 保持成像区域信号降低; 而在肿瘤酸性微环境下解组装, 肿瘤区域T1成像信号增强, 与非响应型氧化铁纳米组装体相比, RIA通过酸响应动态变构产生的双重对比加强, 有望实现对小尺寸肝癌的精确诊断(图9).

酶是各种生理反应与病理活动的基础. 参与肿瘤发生、发展、转移等过程, 与肿瘤侵袭性、转移性、凋亡相关的一些酶往往在肿瘤中高度过表达^[62], 如基质金属蛋白酶^[63]、组织蛋白酶^[64]、碱性磷酸酶^[65]. 利用它们的高度选择性, 构建酶响应型动态变构纳米组装体也可以实现功能的响应性提升. Gallo等^[63]采用CXCR4靶向肽偶联聚乙二醇包覆超顺磁性氧化铁纳米粒(IONCs), 再将其分为两组, 分别进行烷基化或叠氮化表面修饰. 与CXCR4丰富的胶质瘤细胞进行孵育时, 因其高表达基质金属蛋白酶, 烷基化IONCs与叠氮化IONCs通过点击化学偶联形成组装结构. 静脉注射入荷瘤小鼠体内后, 肿瘤部位的T2弛豫时间约为原来的86%, 成像信号显著增强.

肿瘤组织和肿瘤细胞内的谷胱甘肽(GSH)含量是正常组织的4倍^[66], 利用这一差异设计氧化还原响应型纳米组装体, 是通过动态变构增强功能的另一种常用策略. Gao与Yang合作^[67]对超顺磁性氧化铁纳米粒进行多重表面修饰, 首先用磷脂聚乙二醇马来酰亚胺进行亲水化处理, 部分链末端连接肽Arg-Gly-Asp(RGD), 并通过二硫键在肽末端再连接一段自体肽, 得到了单分散的GSH响应型氧化铁纳米粒. 最外层的自体肽延缓了其被血液循环快速清除; 在肿瘤微环境中, 二硫键被GSH裂解, 巯基暴露, 并与相邻纳米粒子残留的部分马来酰亚胺基团发生原位交联反应, 引发自组装. 体内外实验均证明交联组装后的氧化铁纳米粒对肿瘤的磁共振成像性能明显增强. 在多元组装的例子中, Xu课题组^[68]报道了一种由胱氨酸连接超顺磁性氧化铁纳米粒和氧化钆纳米粒组装形成的AS1411适配体靶向纳米探针, 经过肾癌细胞特异性识别和内化后, GSH对二硫键的裂解作用, 直接导致组装体的解聚, 氧化铁纳米粒对氧化钆纳米粒造成的电子自旋干扰随之消失, 促使氧化钆纳米粒被抑制的磁共振T1信号重新被激活.

3.2 增强治疗效果

与促进成像功能的原理类似, 内源性刺激响应型

图9 (a) RIA的合成示意图; (b) USIONCs的透射电子显微镜图; RIA在(c) pH 7.4和(d) pH 5.5缓冲液中的透射电子显微镜图, 标尺=50 nm; (e) RIA和(f) IRIA用于小鼠小体积原位肝癌MR图^[61] (网络版彩图)

Figure 9 (a) Schematic representation of the construction of RIA; (b) TEM image of USIONCs. TEM images of (c) RIA in buffer (pH 7.4) and (d) buffer (pH 5.5). Scale bar=50 nm; T₁-weighted MR images of (e) RIA and (f) IRIA in mice with small hepatocellular carcinomas ^[61] (color online).

纳米组装体在受到相应刺激后, 组成纳米组装体的基元所对应的治疗功能也能得到提升. 本课题组^[69]在合成超小铂纳米簇的基础上, 结合pH响应聚合物介导其组装, 并在表面偶联肝癌靶向肽SP94, 制备了一种对酸响应解聚的肝癌细胞靶向型铂纳米组装体(Pt-NA). 在正常pH条件下, Pt-NA释放Pt²⁺的过程受到抑制; 在肿瘤酸性微环境中, Pt-NA解组装, 得到单分散的超小铂纳米簇, 快速释放大量的Pt²⁺, 扩散至细胞核内破坏DNA结构, 最终达到治疗目的. 通过与临床化疗药物顺铂以及索拉菲尼比较的实验证明, Pt-NA对耐药的肿瘤干细胞有更大杀伤作用, 有望克服顺铂耐药等问题(图10). 此外, Kim等^[70]研发了一种酸响应组装的金纳米组装体. 用GI序列DNA (含有i-motif结构和G-四重结构)修饰金纳米粒, 再引入与i-motif序列互补的DNA (cDNA)形成双链, 并在之间负载阿霉素; 该纳米粒在肿瘤酸性刺激下, i-motif/cDNA双链解开释放阿霉素, 同时, 相邻的纳米粒之间通过i-motif序列形成互补结构, 最终得到的组装结构有利于金纳米粒聚集发

图 10 (a) Pt-NA 的合成示意图; (b) 超小铂纳米簇和(c, d) Pt-NA 的透射电子显微镜图; (e) Pt-NA 和顺铂对顺铂耐药 HCCLM3 细胞系的细胞毒性; (f) 不同给药方案结束时原位荷瘤肝脏的生物发光信号^[69] (网络版彩图)

Figure 10 (a) Schematic representation of Pt-NA assembly; TEM images of (b) Pt nanoclusters and (c, d) Pt-NA; (e) cell cytotoxicity of Pt-NA and cisplatin on the cisplatin-resistant HCCLM3 cell lines; (f) bioluminescence signals of the orthotopic HCC tumor at the end of different treatments^[69] (color online).

挥光热治疗作用, 协同阿霉素化疗作用, 大大提高了其对三阴性乳腺癌的治疗效果。

He和Gao等^[71]开发了一种生物配体介导的酶响应型金纳米组装体用于治疗脑胶质瘤。在金纳米粒的表面分别修饰Ala-Ala-Asn-Cys-Asp/R8-RGD或6-氨基-2-苯并噻唑甲腈/R8-RGD, 得到两种不同的纳米粒: AuNPs-AK-R和AuNPs-CABT-R。在R8-RGD作用下, 它们可以靶向原位脑胶质瘤, 进一步由于肿瘤部位高表达的豆蔻蛋白诱导它们之间发生生物正交化学反应, 激活自组装, 提高了其治疗效果(图11)。

3.3 成像介导治疗及生物安全性

成像介导治疗在获得肿瘤体积、位置等信息的基础上, 对治疗过程进行实时监测, 有利于调整与制定合理的个体化治疗方案, 是研究肿瘤治疗的一个重要发展方向。最近, Zheng等^[72]在中空介孔硅纳米粒孔内负载阿霉素, 并在其表面通过二硫键桥接Cu_{2-x}Se纳米粒, 形成了组装结构。在聚焦超声协助下, 该组装体通过血

图 11 (a) 豆蔻蛋白诱导金纳米组装体合成的示意图; AuNP-A&C-R与豆蔻蛋白(b)孵育前和(c)孵育后的粒径分布; (d) Cy5.5-AuNP-A&C-R (1), Cy5.5-AuNP-A&C (2), Cy5.5-AuNP-R (3)和Cy5.5-AuNP-P (4)处理24 h后脑胶质瘤模型小鼠的脑部荧光成像图; (e) 不同治疗组脑胶质瘤模型小鼠的生存曲线^[71] (网络版彩图)

Figure 11 (a) Schematic representation of the legumain induced Au assembly; size distribution of AuNP-A&C-R (b) before and (c) after incubation with legumain; (d) fluorescence imaging of the brain of the glioblastoma-bearing mice treated with Cy5.5-AuNP-A&C-R (1), Cy5.5-AuNP-A&C (2), Cy5.5-AuNP-R (3) and Cy5.5-AuNP-P (4) for 24 h; (e) survival curves of glioblastoma-bearing mice with different treatments^[71] (color online).

脑屏障有效靶向至原位脑胶质瘤。在高浓度GSH作用下, 二硫键发生断裂, 释放阿霉素, 结合Cu_{2-x}Se纳米粒近红外吸附作用, 实现了对原位脑胶质瘤光声成像指导下的有效化疗。本课题组^[73]利用两种不同的高分子配体对超小氧化铁纳米粒进行组装, 研发了一种pH响应型“纳米手榴弹”(PMNs), 在血液和正常组织的pH环境下带负电荷, 其成像和治疗功能处于“休眠”状态; 然而, 在肿瘤酸性环境下, 电荷发生转变, 表面带正电荷, 有利于将其递送进入表面带负电荷的肿瘤细胞; 最终在肿瘤细胞内涵体内, 由于酸性导致的配体电荷排斥, 发生“爆炸”, 释放出T1核磁共振和荧光信号, 并激活所携带的光敏药物的光动力学活性, 杀死肿瘤细胞。其抗肿瘤效果在异质性大的恶性肿瘤模型上成功得到了验证。Chen课题组^[74]将超小氧化铁纳米粒与硅包金纳米花通过二硫键形成了一种磁性多元组装体(AuNWs)。静脉注射到达胶质瘤后, 二硫键被高水平GSH切断, 超小氧化铁纳米粒从组装体上解散, 响应性“打开”磁共振T1信号, 结合金纳米花的强光声信号, 实现了磁共振和光声双模成像指导下的光热治疗(图12)。

图 12 (a) AuNWs组装/解组装的示意图; (b, c) AuNWs透射电子显微镜图(标尺=50 nm); (d) AuNWs用于肿瘤模型小鼠T₁加权MR图; (e) 静脉注射AuNWs前后肿瘤的光声成像图; 治疗期间不同治疗组(f)肿瘤体积变化和(g)生存曲线^[74] (网络版彩图)

Figure 12 (a) Schematic representation of the assembly/disassembly of AuNWs; (b, c) TEM images of AuNWs (Scale bar=50 nm); (d) T₁-weighted MR images of AuNWs in tumor bearing mice; (e) photoacoustic images of tumor before and after i.v. injection of AuNWs; (f) tumor volume changes and (g) survival curves of different groups during treatments ^[74] (color online).

除了提升肿瘤诊疗效率之外, 纳米生物医药材料的安全性一直是其走向临床转化的前提条件与基本要求. Chen等^[75]构建了一种基于铁的动态变构纳米组装体包载花青素, 再引入去铁胺触发解组装, 在乳腺癌模型中, 实现光声和磁共振双模成像介导光热治疗的同时, 有效提高了其生物安全性. 近期, 本课题组^[76]制备了一种基于超小碳酸氧铋纳米点组装而成的中空碳酸氧铋纳米管(BNTs). 一方面, BNTs经过X射线照射可以实现CT成像和放疗增敏, 其中空的纳米管结构还可以携载阿霉素实现化疗. 细胞和动物实验均证实, 与单一放疗或化疗相比, 放化疗协同治疗可以显著提高对肿瘤的杀伤效果; 另一方面, BNTs具备较长的纵横比, 在体内有较长的循环时间, 较易靶向肿瘤; 随后, 在肿瘤微酸环境中解组装, 得到的超小尺寸纳米点则较易经肾脏清除(图13). 通过设计这样的动态变构纳米组装体集中实现了肿瘤靶向递送和肾清除, 平衡了纳米粒子长期蓄积带来的潜在毒性和小尺寸纳米粒子快速清除导致的肿瘤靶向效果差的两难问题.

4 总结与展望

针对临床疾病诊疗面临的难题, 伴随材料学、药

剂学、肿瘤学等交叉领域的技术进步, 发展了智能型纳米组装体的设计理念. 其中, 利用无机材料作为基元构建动态变构纳米组装体, 通过刺激响应性的结构变化调节其物化性质以及生物功能, 以实现智能化的生物医药应用, 是新的跨学科研究方向. 迄今, 关于动态变构纳米组装体的合成与应用研究已经取得了许多进展. 然而, 该方向仍处于发展初期阶段, 在未来的研究中还需要重视以下几点: (1) 在合成方面, 仍需要不断完善纳米粒子的高产率合成方法, 以获得高质量的纳米基元; 需要深入开展对纳米粒子表面修饰的研究, 包括基团的位置、计量等, 为构建精密的组装结构打下良好的基础; 目前的组装策略大部分仍停留在实验室阶段, 为了实现其产业化发展, 需要促进与企业界的合作, 以扩大规模, 并同时解决过程控制、长期稳定性等可能出现的生产问题. (2) 在应用方面, 现阶段在设计纳米组装体用于肿瘤诊疗时, 主要考虑的是其结构与肿瘤之间的直接相互作用以及该作用对其诊疗功能的影响. 然而, 在全身给药时, 还需要考虑血液内蛋白质、免疫细胞等带来的影响, 是否会在体内消除甚至逆转纳米组装体的动态变构行为. 此外, 关于纳米组装体在其他重大疾病诊疗中的应用, 包括新型造影剂、治疗剂、生物传感器等的开发, 也逐渐受到了

图 13 BNTs组装/解组装的示意图; (b) 在pH 5.5缓冲液中孵育0, 6, 12, 48 h时BNTs的透射电子显微镜图; (c) 注射BNTs的小鼠体内重建三维CT成像; (d) 治疗期间不同组肿瘤体积变化; (e) 注射BNTs后小鼠体内铋元素的肾清除^[76] (网络版彩图)

Figure 13 (a) Schematic representation of the assembly/disassembly of BNTs; (b) TEM images of BNTs incubated in PBS (pH 5.5) for 0, 6, 12 and 48 h; (c) *in vivo* reconstructed 3D CT images of mice treated with BNTs; (d) tumor volume changes in different groups during treatments; (e) renal clearance of mice after i.v. injection of BNTs ^[76] (color online).

重视。最后, 进一步加强材料与临床的合作, 促进相关交叉学科知识与技术的融合, 有望实现纳米组装药物

的临床转化研究, 为推动疾病诊疗的智能化发展提供新策略。

参考文献

- Chen H, Gu Z, An H, Chen C, Chen J, Cui R, Chen S, Chen W, Chen X, Chen X, Chen Z, Ding B, Dong Q, Fan Q, Fu T, Hou D, Jiang Q, Ke H, Jiang X, Liu G, Li S, Li T, Liu Z, Nie G, Ovais M, Pang D, Qiu N, Shen Y, Tian H, Wang C, Wang H, Wang Z, Xu H, Xu JF, Yang X, Zhu S, Zheng X, Zhang X, Zhao Y, Tan W, Zhang X, Zhao Y. *Sci China Chem*, 2018, 61: 1503–1552
- Dewhirst MW, Secomb TW. *Nat Rev Cancer*, 2017, 17: 738–750
- Smith AM, Mancini MC, Nie S. *Nat Nanotech*, 2009, 4: 710–711
- Mitchell MJ, Jain RK, Langer R. *Nat Rev Cancer*, 2017, 17: 659–675
- Ventola CL. *Pharmacol Ther*, 2017, 42: 742–755
- Fan W, Yung B, Huang P, Chen X. *Chem Rev*, 2017, 117: 13566–13638
- Qi GB, Gao YJ, Wang L, Wang H. *Adv Mater*, 2018, 30: 1703444
- Chen G, Roy I, Yang C, Prasad PN. *Chem Rev*, 2016, 116: 2826–2885
- Tian G, Zhang X, Gu Z, Zhao Y. *Adv Mater*, 2015, 27: 7692–7712
- Wang Q, Wang S, Hu X, Li F, Ling D. *Biomater Sci*, 2019, 7: 480–489
- Zhao R, Han X, Li Y, Wang H, Ji T, Zhao Y, Nie G. *ACS Nano*, 2017, 11: 8103–8113
- Lee DE, Koo H, Sun IC, Ryu JH, Kim K, Kwon IC. *Chem Soc Rev*, 2012, 41: 2656–2672
- Kim D, Kim J, Park YI, Lee N, Hyeon T. *ACS Cent Sci*, 2018, 4: 324–336
- Wu J, Huang J, Kuang S, Chen J, Li X, Chen B, Wang J, Cheng D, Shuai X. *Adv Sci*, 2019, 6: 1801809
- Cobley CM, Chen J, Cho EC, Wang LV, Xia Y. *Chem Soc Rev*, 2011, 40: 44–56
- Li J, Liu J, Chen C. *ACS Nano*, 2017, 11: 2403–2409
- Ling D, Lee N, Hyeon T. *Acc Chem Res*, 2015, 48: 1276–1285

- 18 Noh SH, Na W, Jang JT, Lee JH, Lee EJ, Moon SH, Lim Y, Shin JS, Cheon J. *Nano Lett*, 2012, 12: 3716–3721
- 19 Glotzer SC, Solomon MJ. *Nat Mater*, 2007, 6: 557–562
- 20 Zhang Z, Horsch MA, Lamm MH, Glotzer SC. *Nano Lett*, 2003, 3: 1341–1346
- 21 Li F, Lu J, Kong X, Hyeon T, Ling D. *Adv Mater*, 2017, 29: 1605897
- 22 Wang L, Huang J, Chen H, Wu H, Xu Y, Li Y, Yi H, Wang YA, Yang L, Mao H. *ACS Nano*, 2017, 11: 4582–4592
- 23 Zhou Z, Yang L, Gao J, Chen X. *Adv Mater*, 2019, 31: 1804567
- 24 Wang J, Liu J, Liu Y, Wang L, Cao M, Ji Y, Wu X, Xu Y, Bai B, Miao Q, Chen C, Zhao Y. *Adv Mater*, 2016, 28: 8950–8958
- 25 Huang Z, Liu Y, Zhang Q, Chang X, Li A, Deng L, Yi C, Yang Y, Khashab NM, Gong J, Nie Z. *Nat Commun*, 2016, 7: 12147
- 26 Cabral H, Matsumoto Y, Mizuno K, Chen Q, Murakami M, Kimura M, Terada Y, Kano MR, Miyazono K, Uesaka M, Nishiyama N, Kataoka K. *Nat Nanotech*, 2011, 6: 815–823
- 27 Liu J, Yu M, Zhou C, Yang S, Ning X, Zheng J. *J Am Chem Soc*, 2013, 135: 4978–4981
- 28 Sharifi S, Behzadi S, Laurent S, Laird Forrest M, Stroeve P, Mahmoudi M. *Chem Soc Rev*, 2012, 41: 2323–2343
- 29 Hu X, Li F, Wang S, Xia F, Ling D. *Adv Healthc Mater*, 2018, 7: 1800359
- 30 Hickey RJ, Haynes AS, Kikkawa JM, Park SJ. *J Am Chem Soc*, 2011, 133: 1517–1525
- 31 Li F, Du Y, Liu J, Sun H, Wang J, Li R, Kim D, Hyeon T, Ling D. *Adv Mater*, 2018, 30: 1802808
- 32 Liu Y, Yang X, Huang Z, Huang P, Zhang Y, Deng L, Wang Z, Zhou Z, Liu Y, Kalish H, Khachab NM, Chen X, Nie Z. *Angew Chem Int Ed*, 2016, 55: 15297–15300
- 33 Park SY, Lytton-Jean AKR, Lee B, Weigand S, Schatz GC, Mirkin CA. *Nature*, 2008, 451: 553–556
- 34 Chou LYT, Zagorovsky K, Chan WCW. *Nat Nanotech*, 2014, 9: 148–155
- 35 Raeesi V, Chou LYT, Chan WCW. *Adv Mater*, 2016, 28: 8511–8518
- 36 Kalsin AM, Fialkowski M, Paszewski M, Smoukov SK, Bishop KJM, Grzybowski BA. *Science*, 2006, 312: 420–424
- 37 Klajn R, Bishop KJM, Grzybowski BA. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104: 10305–10309
- 38 Tanase M, Bauer LA, Hultgren A, Silevitch DM, Sun L, Reich DH, Searson PC, Meyer GJ. *Nano Lett*, 2001, 1: 155–158
- 39 Tripp SL, Pusztay SV, Ribbe AE, Wei A. *J Am Chem Soc*, 2002, 124: 7914–7915
- 40 von Maltzahn G, Min DH, Zhang Y, Park JH, Harris TJ, Sailor M, Bhatia SN. *Adv Mater*, 2007, 19: 3579–3583
- 41 Wu X, Xu L, Liu L, Ma W, Yin H, Kuang H, Wang L, Xu C, Kotov NA. *J Am Chem Soc*, 2013, 135: 18629–18636
- 42 Waldeisen JR, Wang T, Ross BM, Lee LP. *ACS Nano*, 2011, 5: 5383–5389
- 43 Connolly S, Fitzmaurice D. *Adv Mater*, 1999, 11: 1202–1205
- 44 Maeda T, Otsuka H, Takahara A. *Prog Polymer Sci*, 2009, 34: 581–604
- 45 Li F, Liang Z, Liu J, Sun J, Hu X, Zhao M, Liu J, Bai R, Kim D, Sun X, Hyeon T, Ling D. *Nano Lett*, 2019, doi: 10.1021/acs.nanolett.8b04411
- 46 Otter CA, Patty PJ, Williams MAK, Waterland MR, Telfer SG. *Nanoscale*, 2011, 3: 941–944
- 47 Correa-Duarte MA, Pérez-Juste J, Sánchez-Iglesias A, Giersig M, Liz-Marzán LM. *Angew Chem Int Ed*, 2005, 44: 4375–4378
- 48 Wu H, Li F, Wang S, Lu J, Li J, Du Y, Sun X, Chen X, Gao J, Ling D. *Biomaterials*, 2018, 151: 66–77
- 49 Chen Q, Du Y, Zhang K, Liang Z, Li J, Yu H, Ren R, Feng J, Jin Z, Li F, Sun J, Zhou M, He Q, Sun X, Zhang H, Tian M, Ling D. *ACS Nano*, 2018, 12: 1321–1338
- 50 Engtrakul C, Kim YH, Nedeljković JM, Ahrenkiel SP, Gilbert KEH, Alleman JL, Zhang SB, Mičić OI, Nozik AJ, Heben MJ. *J Phys Chem B*, 2006, 110: 25153–25157
- 51 Jin R, Liu Z, Bai Y, Zhou Y, Gooding JJ, Chen X. *Adv Funct Mater*, 2018, 28: 1801961
- 52 Artemyev M, Kisiel D, Abmiotko S, Antipina MN, Khomutov GB, Kislov VV, Rakhnyanskaya AA. *J Am Chem Soc*, 2004, 126: 10594–10597
- 53 Dong L, Hollis T, Connolly B, Wright N, Horrocks B, Houlton A. *Adv Mater*, 2007, 19: 1748–1751
- 54 Dujardin E, Peet C, Stubbs G, Culver JN, Mann S. *Nano Lett*, 2003, 3: 413–417
- 55 Liu X, Zhang F, Jing X, Pan M, Liu P, Li W, Zhu B, Li J, Chen H, Wang L, Lin J, Liu Y, Zhao D, Yan H, Fan C. *Nature*, 2018, 559: 593–598
- 56 Warner MG, Hutchison JE. *Nat Mater*, 2003, 2: 272–277
- 57 Fischler M, Sologubenko A, Mayer J, Clever G, Burley G, Gierlich J, Carell T, Simon U. *Chem Commun*, 2008, 0: 169–171
- 58 Vander Heiden MG, Cantley LC, Thompson CB. *Science*, 2009, 324: 1029–1033
- 59 Webb BA, Chimenti M, Jacobson MP, Barber DL. *Nat Rev Cancer*, 2011, 11: 671–677

- 60 Harris RJ, Cloughesy TF, Liau LM, Prins RM, Antonios JP, Li D, Yong WH, Pope WB, Lai A, Nghiemphu PL, Ellingson BM. *Neuro-Oncology*, 2015, 17: 1514–1524
- 61 Lu J, Sun J, Li F, Wang J, Liu J, Kim D, Fan C, Hyeon T, Ling D. *J Am Chem Soc*, 2018, 140: 10071–10074
- 62 Mohamed MM, Sloane BF. *Nat Rev Cancer*, 2006, 6: 764–775
- 63 Gallo J, Kamaly N, Lavdas I, Stevens E, Nguyen QD, Wylezinska-Arridge M, Aboagye EO, Long NJ. *Angew Chem Int Ed*, 2014, 53: 9550–9554
- 64 Li H, Wang P, Deng Y, Zeng M, Tang Y, Zhu WH, Cheng Y. *Biomaterials*, 2017, 139: 30–38
- 65 Huang P, Gao Y, Lin J, Hu H, Liao HS, Yan X, Tang Y, Jin A, Song J, Niu G, Zhang G, Horkay F, Chen X. *ACS Nano*, 2015, 9: 9517–9527
- 66 Karimi M, Ghasemi A, Sahandi Zangabad P, Rahighi R, Moosavi Basri SM, Mirshekari H, Amiri M, Shafaei Pishabad Z, Aslani A, Bozorgomid M, Ghosh D, Beyzavi A, Vaseghi A, Aref AR, Haghani L, Bahrami S, Hamblin MR. *Chem Soc Rev*, 2016, 45: 1457–1501
- 67 Gao Z, Hou Y, Zeng J, Chen L, Liu C, Yang W, Gao M. *Adv Mater*, 2017, 29: 1701095
- 68 Li J, Wang S, Wu C, Dai Y, Hou P, Han C, Xu K. *Biosens Bioelectron*, 2016, 86: 1047–1053
- 69 Xia H, Li F, Hu X, Park W, Wang S, Jang Y, Du Y, Baik S, Cho S, Kang T, Kim DH, Ling D, Hui KM, Hyeon T. *ACS Cent Sci*, 2016, 2: 802–811
- 70 Park H, Kim J, Jung S, Kim WJ. *Adv Funct Mater*, 2018, 28: 1705416
- 71 Ruan S, Xiao W, Hu C, Zhang H, Rao J, Wang S, Wang X, He Q, Gao H. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2017, 9: 20348–20360
- 72 Wu M, Chen W, Chen Y, Zhang H, Liu C, Deng Z, Sheng Z, Chen J, Liu X, Yan F, Zheng H. *Adv Sci*, 2018, 5: 1700474
- 73 Ling D, Park W, Park SJ, Lu Y, Kim KS, Hackett MJ, Kim BH, Yim H, Jeon YS, Na K, Hyeon T. *J Am Chem Soc*, 2014, 136: 5647–5655
- 74 Liu Y, Yang Z, Huang X, Yu G, Wang S, Zhou Z, Shen Z, Fan W, Liu Y, Davisson M, Kalish H, Niu G, Nie Z, Chen X. *ACS Nano*, 2018, 12: 8129–8137
- 75 Xu C, Wang Y, Yu H, Tian H, Chen X. *ACS Nano*, 2018, 12: 8255–8265
- 76 Hu X, Sun J, Li F, Li R, Wu J, He J, Wang N, Liu J, Wang S, Zhou F, Sun X, Kim D, Hyeon T, Ling D. *Nano Lett*, 2018, 18: 1196–1204

Design and synthesis of dynamic nano assemblies for biomedical applications

Shuying Wang^{1†}, Fan Xia^{1,2†}, Fangyuan Li^{1,2*}, Daishun Ling^{1,2,3*}

¹ College of Pharmaceutical Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China

² Hangzhou Institute of Innovative Medicine, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China

³ Key Laboratory of Biomedical Engineering of the Ministry of Education, College of Biomedical Engineering and Instrument Science, Zhejiang University, Hangzhou 310027, China

†These authors contributed equally to this work.

*Corresponding authors (email: lffy@zju.edu.cn; lingds@zju.edu.cn)

Abstract: Nanotechnology has emerged as a powerful tool and plays an important role in the development of biomedicine. The construction of novel nanomaterials to optimize their functionality in lesions is the key issue in nanomedicine. Smart nanoassemblies have received intensive attention due to their tunable function intrigued by certain stimuli. Especially for the diagnosis and treatment of tumors, the design and synthesis of dynamic nanoassemblies based on the microenvironment of tumors can achieve the dynamic transformation of their structures *in vivo*, and consequently amplify the imaging signals, enhance the therapeutic efficiency and improve the biosafety, which provides a new strategy for intelligent theranostics. In this review, we summarize the advanced assembly strategies and discuss the application of dynamic nanoassemblies that response to endogenous stimuli (pH, enzymes and redox) in the diagnosis and treatment of tumor.

Keywords: nanomaterials, assembly, stimuli-responsive, biomedical applications

doi: [10.1360/SSC-2019-0020](https://doi.org/10.1360/SSC-2019-0020)