

基于核酸两亲性化合物的纳米载药体系在抗癌方面的研究进展

范书华¹, 李川¹, 杨强强¹, 于淑娴¹, 汪娟¹, 王月霞², 洪敏¹

(1.聊城大学 化学化工学院, 山东 聊城 252059; 2. 齐鲁工业大学(山东省科学院) 山东省高校轻工精细化学品重点实验室、化学化工学院, 山东 济南 250353)

摘要 利用纳米载体实现药物向恶性肿瘤组织的靶向输送,是当前的一个研究热点。但目前报道的各类有机无机纳米载药体系存在一些不足之处,如生物相容性不好、载药量低、重复性差等问题。近年来,一种由疏水基团修饰的核酸两亲性化合物组装得到的胶束或脂质体结构,因其优良的生物相容性和高的药物包封能力,被认为是最具临床应用潜力的纳米载药系统之一。在此,我们总结了由核酸两亲性化合物组装得到的不同类型的纳米载体及其在抗癌领域的应用,分析了这些纳米组装体在负载药物用于癌症治疗时的优势和不足。最后,讨论并展望了基于核酸两亲性化合物的纳米载药体系在协同抗癌领域的未来发展趋势。

关键词 核酸两亲性化合物; 纳米药物载体; 抗癌; 靶向输送

中图分类号 R730.54.4

文献标识码 A

开放科学(资源服务)标识码(OSID)



Research Progress of Nanodrug Delivery System Based on Nucleic Acid Amphiphilic Compounds and Its Application in Anti-Cancer

FAN Shuhua¹, LI Chuan¹, YANG Qiangqiang¹, YU Shuxian¹,
WANG Juan¹, WANG Yuexia², HONG Min¹

(1.School of Chemistry and Chemical Engineering, Liaocheng University, Liaocheng 252059, China; Key Laboratory of Fine Chemicals in Universities of Shandong, School of Chemistry and Chemical Engineering, Qilu University of Technology (Shandong Academy of Sciences), Jinan 250353, China)

Abstract The use of nanocarriers to achieve targeted delivery of drugs to malignant tumor tissues is a current research hotspot. However, there are always some shortcomings in the various organic and inorganic nano-drug loading systems reported so far, such as poor biocompatibility, low drug-loading capacity, and poor repeatability. In recent years, a micelle or liposome structure assembled by a nucleic acid amphiphilic compound modified by a hydrophobic group is considered to be one of the most clinical application potential drug delivery systems due to its excellent biocompatibility and high drug encapsulation ability. Here, we summarized the different types of nanocarriers assembled from nucleic acid amphiphilic compounds modified by hydrophobic groups and their applications in the field of anticancer, and analyzed the advantages

收稿日期: 2021-07-05

基金项目: 国家自然科学基金项目(91543206); 山东省自然科学基金项目(ZR2015BM024); 山东省泰山学者研究经费和聊城大学研究基金(318012026)资助

通讯作者: 洪敏, 女, 汉族, 博士, 副教授; 研究方向: 癌症的诊疗及抗癌药物筛选, E-mail: hongmin@lcu.edu.cn.

and disadvantages of these nanoassemblies when used as drug carriers for cancer treatment. Finally, the future development trend of the nucleic acid amphiphilic compound as nanodrug delivery system in the field of collaborative anti-cancer is discussed and prospected.

Key words nucleic acid amphiphilic compounds; nanocarriers; anti-cancer; targeted-delivery

0 引言

两性性驱动的自组装,是一种通过简单的自下而上的方式,对泡孔纳米结构进行高效制备的常用策略,已被广泛用于不同类型囊泡组装体的设计中^[1-2]。核酸两性性化合物主要是一类由疏水基团修饰的寡核苷酸分子,该类物质可以通过有机合成及固相合成技术制备得到。众所周知,由于负电性磷酸骨架的存在,亲水性的核酸分子能够均匀分散在水溶液中,而疏水单元在水溶液中则趋向于形成更稳定的组装结构,使得核酸两性性化合物在水溶液中多以具有寡核苷酸冠层组装体的形式存在^[3]。因此,使得这些核酸两性性分子一方面具有分子识别、储存和传递编码信息的能力,另一方面,它们还可以自组装形成胶束、脂质体、纳米颗粒等软的聚集体。与核酸修饰的硬的纳米组装体(如金纳米粒子、量子点等)相比,软的核酸组装体的报道相对较少,这可能主要是由于其较差的稳定性,且制备处理相对较复杂的原因。目前,鉴于软材料的动态特性,其在实际应用领域已经显示出极大的价值。而对于具有软囊状结构的组装体,可以实现对亲水性或疏水性药物的负载,逐渐引起人们的关注^[4]。尤其是在癌症治疗领域,负载抗癌药物的基于核酸两性性化合物的纳米组装体,在药物的靶向输送方面被广泛报道。

两性性化合物中的核酸部分可以是寡核苷酸链(RNA),比如通过二硫键将 RNA 直接与疏水单元相连,也可以是脱氧寡核苷酸链(DNA),并且由于 DNA 良好的稳定性,已被广泛地应用到核酸两性性化合物的合成中。对于由 DNA 两性性化合物在水介质中自组装得到的纳米结构,由于其表面单链 DNA 的存在,为通过序列特异性的 DNA 互补杂交将其他功能分子整合到纳米结构表面提供了机会,例如,结合上能够进行基因调控的反义基因序列,或者具有靶向性的核酸适配体。另外,核酸两性性化合物纳米组装体的内腔,还可以装载其他一些脂溶性或水溶性药物,从而拓展了药物进入体内的路径。

为了让形成的核酸两性性化合物组装体更稳定,对于疏水单元的研究也越来越广泛。常用的疏水基团有天然脂肪烷基链、氟化烷基链^[5,6]或一些常见的表面活性剂疏水基团,它们可以以不同形式与寡核苷酸的不同部分(即戊糖环、磷酸主链或碱基基团)共价结合。通常,疏水基团可通过固相合成法被连接到寡核苷酸序列的 3'端、5'端或链的中间三个不同部位,具体连接方式如:(1) 首先将疏水基团结合到固相合成柱上,以此为起点作为核酸序列的 3'端,再进行后续核酸链的合成,从而得到 3'端修饰有疏水基团的核酸两性性化合物;(2) 先在固相合成柱上合成一段设定好的核酸序列,最后利用疏水基团修饰的亚磷酰胺分子将疏水部分结合到核酸序列的 5'端,从而得到 5'端修饰有疏水基团的核酸两性性化合物;(3) 利用固相合成法,将预先合成好且有特定基团修饰的核苷构建模块,使其结合到设定好序列的寡核苷酸序列中,随后通过修饰的特定基团与疏水基团进行共价连接^[7],得到中间部分修饰有疏水基团的核酸两性性化合物。

除了利用固相合成法制备疏水基团修饰的寡核苷酸之外,“点击化学”也被广泛应用于核酸-疏水基团结合体的合成中。通常在寡核苷酸序列的 5'端修饰一个叠氮基团,随后与疏水基团上修饰的炔基发生环加成反应,从而得到核酸两性性化合物^[8,9]。另外,亲水的核酸序列还可以通过非共价相互作用与疏水基团相连,得到核酸两性性化合物,例如 Albert 等^[10]报道了一种基于 β -环糊精(β -CD)和金刚烷之间的主-客体相互作用的非共价方法合成的一种 DNA 两性性化合物。

在常用的疏水基团中,最典型的是脂肪烷基链^[11-13],它们可以通过特殊的官能团将其与亲水性的核酸进行偶联,得到脂质-寡核苷酸偶联物。此外,胆固醇和一些高分子聚合物也可以作为疏水部分与核酸偶联^[14,15],得到的结合体已被广泛应用于锚定细胞膜、核酸纳米技术以及靶向癌细胞等领域的研究。近两年,基于疏水肽链结合一定的核酸序列组成的两性性化合物组装得到的纳米载药系统,在靶向治疗^[16]以及基因敲除研究中^[17]表现出了广阔的应用前景。

除了在核酸两性性化合物的合成方面进行探究之外,研究者在基于核酸两性性化合物组装得到的纳米结构作为药物载体方面也进行了广泛的研究。并且,由核酸-疏水基团构建的两亲性化合物因其表面结合

有致密且高度定向的功能化核酸,可以实现有针对性地给药,具有很高的靶向性,在抗癌领域可以一定程度上减少化疗药物对正常细胞的毒性,因此,在抗癌药物的靶向输送方面表现出极大的临床应用潜力。但上述工作整体来说研究不够深入,而且有限的载药量导致的癌细胞抑制率并不是太高。不过这些工作为构建多功能核酸两亲性化合物组装体的进一步深究和开发奠定了基础。

为深化该领域的研究,本文综述了近年来核酸两亲性化合物新型组装体的种类以及在抗癌方面的研究进展,分析和总结了其在抗癌方面存在的主要问题和发展趋势,以期为实现化疗药物与基因药物的同时负载,或联合光热疗法等治疗手段,构建多功能核酸组装体提供借鉴和指导。

1 核酸两亲性化合物的种类

高效纳米载体的制备是生物医学和制药领域的重要课题之一。近年来,研究者们进行了许多基于核酸两亲性化合物的纳米载药体系的研究。在已报道的这些研究工作中,核酸主要是 DNA 和 RNA。如若按照核酸上被修饰的疏水基团的种类来分类,主要分为三大类:一类是核酸功能化的低分子化合物(包括疏水烷基链及胆固醇等);第二类是被核酸修饰的高分子聚合物,这类杂交体多以聚乙二醇作为桥联,其在一定程度上提高了整体的疏水性,使组装体更稳定;第三类是结合疏水肽链的核酸两亲性化合物,它们在基因敲除方面的应用被广泛研究。尽管与核酸极性头的轮廓长度相比,组装体的亲脂性部分相对较小(例如,对于 18-聚胆固醇-寡核苷酸脂质体,亲水部分与疏水部分的比例为 $8 \text{ nm} : 1.6 \text{ nm}$)^[18],由

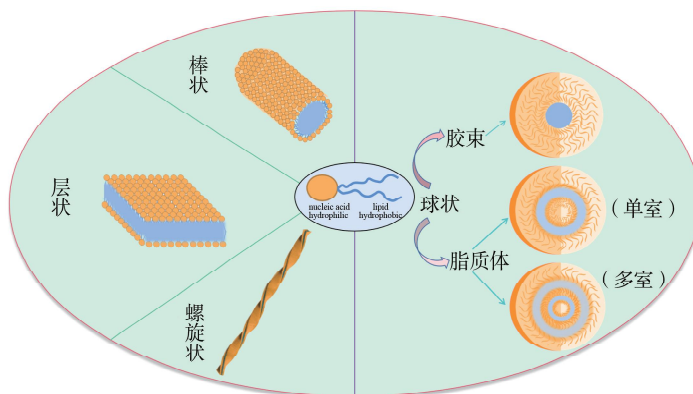


图 1 基于核酸两亲性化合物形成的不同构型的纳米组装体示意图

于疏水效应可以快速克服库仑排斥作用,两亲性化合物可以在水或缓冲液中发生自组装。然而,对于导致两亲性化合物产生聚集的疏水部分的最小尺寸(尽管十二烷基可能太短)没有明确的答案^[19]。总的来说,上述三类核酸两亲性化合物,根据其自身的个体特异性,最终可组装成不同的结构,如棒状、球状、层状^[20,21]等(见图 1)。下面就根据两亲性化合物中结合的不同的疏水基团分别进行介绍,并且为了突出其在作为抗癌药物载体方面的应用,接下来重点介绍形成球状组装体的相关工作。

1.1 核酸结合疏水性小分子的两亲性化合物体系

对于两亲性分子的研究,充当疏水部分的基团中研究最多的是链状脂肪烷基,另外,一些环状烷烃或芳烃基团(如胆固醇等)也可以与核酸形成两亲性化合物。它们通过亚磷酸酯^[22,23]、酰胺键^[24]、硫醇键^[25]或叠氮^[26]等中间体与核酸相连,形成的两亲性体系具有良好的生物相容性,常见的疏水性小分子如图 2 所示。

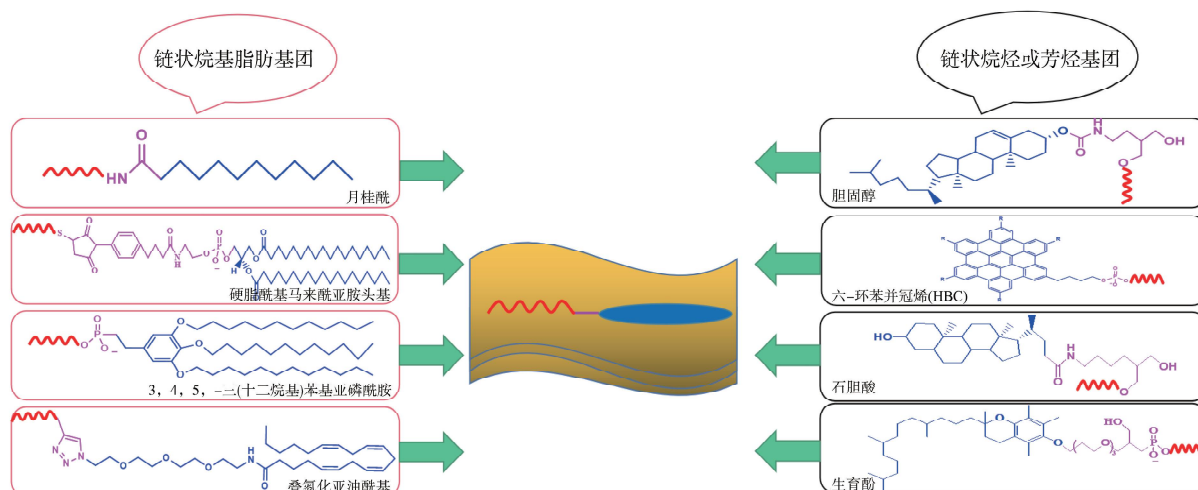


图 2 核酸结合的疏水小分子种类

通过对疏水基团的前期结构进行特殊的设计,改变其疏水性能,进而间接影响核酸两亲性化合物的自组装体的构型,使其尽可能地形成多层或多室的类似脂质体的囊状结构,为后期进行载药研究,提高其载药量提供了有利的条件。同时也要注意,锚定在囊泡上的 DNA 结构对后期 DNA 双链的形成有很大的影响,大多数报道的两亲性结构在寡核苷酸序列和脂质之间有一个间隔区,以减少其表面效应。例如,当胆固醇-DNA 插入到带负电的巨大脂质体的膜中时,需要一个 PEG 间隔子来促进后期 DNA 杂交双链的形成^[27]。

1.1.1 核酸-脂肪烷基链两亲性化合物。在水溶液中,由亲水性寡核苷酸——“头部”,通过一定的方法连接到疏水的脂质——“尾巴”上的核酸两亲性化合物,其在分子间疏水相互作用的诱导下能够自发地组装成单分散的具有脂质核心和核酸冠层^[28]的三维囊状纳米结构。

生物纳米技术是指使用生物分子来控制纳米材料的结构和性能。其中一个研究最多的例子是 DNA 引导的无机纳米粒子的组装,如金纳米粒子(AuNPs)。然而,对于 DNA 连接的软纳米颗粒,如脂质体,目前还缺乏系统的研究。对此,刘珏文课题组报道了 DNA 连接脂质分子(饱和或不饱和烷基脂肪链)的可编程组装和系统表征^[29]。他们的组装体包括三个组成部分:两种 DNA 功能化的脂质和一个连接体 DNA,在这里 DNA 保持不变,脂质成分可以独立改变。不同的脂质类别和 DNA 序列的连接都是基于相同的共轭化学,这表明该方法具有良好的通用性和可编程性。目前,多组分体系的融合技术已经相当成熟^[30],与已报道的系统相比,DNA 控制的脂质双层膜融合技术^[31-33]改善了膜锚定和连接物结构,提高了膜融合效率,在靶向药物输送和基因调控方面有很好的应用前景。

烷基链的疏水作用使得核酸两亲性化合物在水溶液中形成囊泡结构,为了增强其稳定性,进一步探索它们在复杂生物体系中的构象特征,Albert 等^[34]用一种基于固相“点击”化学的模块化方法合成了一种包含三组分的 DNA-生色团-脂质两亲性化合物(图 3(a)),其中,疏水性的生色团可以通过 $\pi-\pi$ 堆积作用增强该两亲性分子组装体的稳定性,表面密集的核酸使得组装体具有更强的结合亲和力和更高的熔融温度。另外,可以直接通过生色团的荧光变化,探究该纳米组装体的构象特征。与此类似,谭蔚泓课题组^[35]报道了一系列球形 DNA-双酰基脂质纳米结构(DMFs)(图 3(b)),通过组成分子信标的核酸部分的构型变化,刺激其修饰的荧光分子产生荧光信号,以此探究不同因素对两亲性分子组装体稳定性的影响。

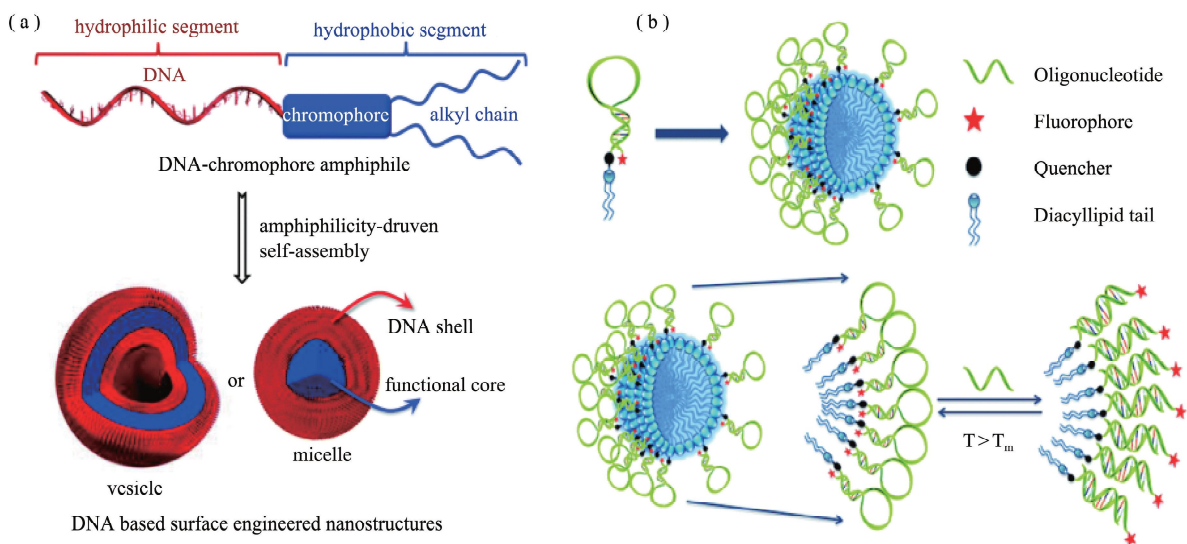


图 3 (a) 将 DNA 生色团杂交两亲物自组装为基于 DNA 的表面工程胶束或囊泡的示意图^[34];

(b) 分子信标胶束火炬纳米结构的示意图^[35]

同样,为了增强体内的稳定性,谭蔚泓课题组^[36]利用分子间 G-四链体的光可控解离设计了一种稳定性可调的 DNA 胶束耀斑(图 4(a))。在这里,脂磷酸胺作为 DNA 胶束中的疏水核心,分子间平行的 G-四链体被引入 DNA 胶束中以锁定整个结构,这使得 DNA 胶束耀斑具有强大的结构稳定性,不受血清白蛋白的破坏。然而,一旦暴露在光照的条件下,链杂交就会阻止 G-四链体的形成,同时能与 G-四链体序列互补且含有 6 个胸腺嘧啶的 C6-DNA 发生互补杂交,导致在血清白蛋白存在的情况下失去稳定性,进而被细胞摄取。这种用共价相互作用形成的在脂肪酸结合血清白蛋白存在的情况下稳定脂基胶束的可编程调节,进一步促

进了生物相容性 DNA 胶束的发展。

除了共价相互作用,谭蔚泓课题组^[12]进一步研究一种用非共价相互作用来增强纳米载体的稳定性,并且还结合了能靶向癌细胞的核酸适配体。由于脂质烷基链分子的使用,与细胞膜磷脂相似的结构也为其带来了随意嵌插膜表面的问题,一方面导致靶向癌细胞的选择性降低,另外还可能导致其内部负载的药物分子在细胞外的泄露。为此,他们利用甲基丙烯酰胺(methacrylamide)能够在紫外光下交联的特性,将其放入核酸适配体和脂质体中间,使新的两亲分子单体具有可交联的能力,得到稳定性好的胶束,该胶束也被证实拥有更专一的癌细胞靶向性(图 4(b))。

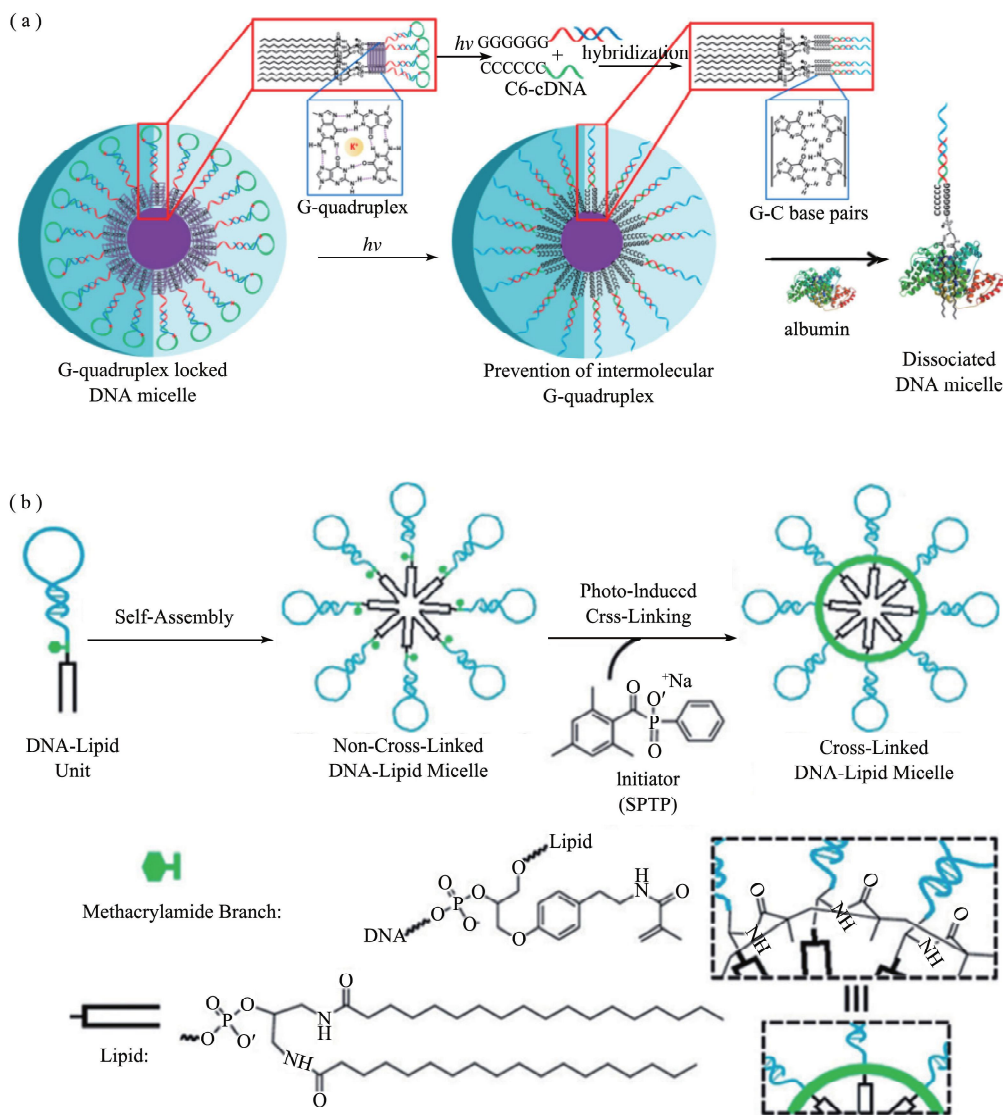


图 4 (a)稳定性可调的 DNA 胶束示意图^[36]; (b)自组装 DNA-甲基丙烯酰胺-脂质胶束的光诱导交联^[12]

同样用非共价相互作用,Albert 等^[10]合成了一种基于 β-环糊精(β-CD)和金刚烷之间的主-客体相互作用的非共价方法得到的 DNA 两亲性化合物。β-CD 通过点击化学连接到炔烃修饰的 DNA 上,然后通过主客体的相互作用把金刚烷修饰的发光团与 DNA-β-CD 结合,它们在两亲性驱动下自组装成 DNA 功能化的囊泡。由于饱和烷基链修饰的金刚烷分子有极强的疏水作用,这些囊泡具有很好的热稳定性。综合的模块化性质使其在非共价方法中的偶联效率得以提高,并在一定程度上避免了耗时的化学合成。然而,囊泡的不可逆性使得其作为纳米载体的应用受到一定限制,因此,有必要开发响应性囊泡。通常,囊泡的不可逆性主要是由于两亲性分子的高度疏水性导致,因此,可以通过降低两亲分子的疏水性或用与 β-CD 具有较小结合常数的分子取代金刚烷来使囊泡具有响应性(例如:叔丁基或正丁基)。总之,这种非共价方法结合点击化学的策略为智能 DNA 纳米结构的制备开辟了新的路径。

不只是天然存在的脂质烷基链,全氟取代烷基链也被用作疏水基团与亲水性的寡核苷酸结合,得到疏水

性更高的两亲性化合物。全氟化碳(PFs)是指仅有碳和氟组成的化学惰性有机氟化合物,由于其独特的疏水及疏脂等物理化学性质,PFs在生物医学中的应用引起了广泛的关注。例如,由于其在生物系统中的优异生物稳定性,PFs已被用作诊断超声成像的造影剂^[37]。此外,由于氟化物含量高,PFs可以用作有前途的氟磁成像示踪剂和药物输送系统^[38]。另外,鉴于其超疏水性,与亲水性的寡核苷酸结合后形成的两亲性化合物也被广泛研究。朱进课题组^[39]设计了一条全氟辛烷修饰的由12个碱基组成的核酸-氟脂质两亲性化合物,利用含氟脂质链的疏水相互作用,可以通过核酸碱基互补配对将核酸修饰的金纳米探针聚集起来,使得实验体系从红色转变成紫色或蓝色,从而实现对目标DNA的可视化检测。另外,Barthelemy课题组^[40]则利用全氟烷基链的疏水疏脂方面的特性,实现了对连接的DNA向细胞内的直接递送,鉴于该含氟脂质链的生物相容性,该氟碳偶联物可以用于核酸向细胞内输送的运载工具,从而实现功能核酸序列,如反义寡核苷酸,核酸适配体或siRNA等的细胞内直接转运。

除了上述报道的单含氟脂质链连接的核酸序列,通过一个中间官能团,还可以实现双含氟脂质链与寡核苷酸的共价连接,从而增大制备得到的两亲性化合物的疏水性,进而实现该两亲性化合物在溶液中向具有更高稳定性的纳米结构的自组装。谭蔚泓课题组在最近的一个工作中报道了一种含两条氟脂质链的DNA两亲性化合物进行组装得到的胶束体系^[41]。在这里,他们以对氨基苯酚和3-(全氟辛基)丙基碘化物为原料,最终合成出了带有两条全氟链的有机化合物,通过亚磷酸胺中间体和寡核苷酸结合,形成的两亲性化合物可以在水溶液中自组装形成DNA胶束。实验表明,这种胶束纳米结构可以提高DNA探针的靶向结合亲和力和热稳定性及抗酶性。同时,随着PF链的引入,DNA探针可以有效地锚定在细胞膜上,更重要的是,该组装体可以通过溶酶体逃逸途径进入细胞,用于生物成像和基因治疗。氟化囊泡(F-囊泡)通常由具有亲水性的极性头基和一个或多个疏水F-链的两亲分子制成的囊泡组成。F-囊泡的独特特征是由于在其脂质体内存在一个结构良好、高度疏水的氟化层^[42],因此,表现出更高的物理稳定性及药物包封能力。并且与由非氟化表面活性剂组装得到的标准囊泡相比,F-囊泡表现出更高的热稳定性,及更低的膜通透性。为推动其在临床上的实际应用,其生物相容性和稳定性还有必要进行进一步的活体验证。

通过对大量核酸-脂质两亲性化合物自组装体的研究发现,其亲水性:疏水性的比例影响最终得到的组装物的结构,包括胶束、囊泡状聚集体、柱状体系或复杂的纳米粒子,研究表明,这些两亲分子的聚集行为不仅复杂,而且依赖于多个参数。事实上,目前仍然很难准确预测不同的环境和分子标准对聚集现象的影响。实验条件,如离子强度、pH值或温度、疏水部分的性质及其在核酸序列上的位置,以及序列本身,无疑都在核酸两亲性化合物的聚集中起作用。因此,未来几年的一个研究重点将是确定这些非结构和分子参数对自组装的影响。之前的很多报道都表明,良好的细胞渗透性、小尺寸和天然无毒特性都使核酸-烷基链疏水分子的组装体非常适合在纳米生物技术、细胞生物学和药物输送系统中应用。遗憾的是,大多数的这种两亲性结构与多种类型的细胞膜都有一定的作用,包括体内的正常细胞。核酸适配体的引入无疑使核酸两亲性化合物的选择性有了很大的提高^[43]。总的来说,要想使核酸-脂质两亲性分子组装成的囊状结构作为药物载体投入到临床医学中,要统筹考虑它们的生物安全性、稳定性、靶向性以及药物包封率等。

1.1.2 核酸-环状烷烃或芳烃基团两亲性化合物。目前,核酸链连接低分子环状烷烃或芳烃化合物在作为超分子阵列的构建模块方面显示出巨大的前景,超分子阵列可以通过碱基配对代码预先编程的方式进行自组装。这类低分子化合物主要以胆固醇和带有联苯基的分子为主。最初报道的一个化合物是胆固醇-四乙基乙二醇-寡核苷酸结合棕榈酰基-磷酸胆碱(POPC),其在水溶液中可自组装成囊泡^[44],这种结构代表了一个成功和稳定的DNA两亲性超分子杂化的例子。为了进一步解决脂膜锚定导致的弱稳定或失稳等问题,基于胆固醇的多功能脂质膜锚定构筑块被开发^[45,46],不同链上的两个相互交叉的修饰提高了两亲性组装体的稳定性,多个锚链不仅可以稳定在细胞膜表面,还表现出理想的灵敏度。但细胞膜的结构复杂程度不受外界控制,往往导致膜锚定功能团失效。最近,一种具有DNA臂和胆固醇锚的三维DNA纳米管被报道^[47],它可以有效地定位在膜表面,简化了天然膜固有的复杂性,预测由于DNA纳米结构的表面寻址能力,可以作为一种人工细胞工程以及将DNA纳米技术与仿生学相结合的新策略。

另外,基于胆固醇-DNA杂化体系的载药体系也有广泛研究,尤其是在结合核酸适配体对肿瘤细胞的靶

向输送领域。研究表明,AS1411 核酸适配体可以与肿瘤细胞表面的核仁素特异性结合^[48],基于此,陆艺课题组^[15]研制了一种用于靶向癌细胞的脂质体给药系统。他们利用胆固醇-DNA 适配体杂交系统,制备了一种能够负载阿霉素的脂质体,并以 AS1411 适配体进行表面功能化(图 5)。实验结果表明,与非靶向脂质体相比,AS1411 适配体功能化脂质体增加了对 MCF-7 乳腺癌细胞的细胞内化和细胞毒性。此外,载药的靶向脂质体提高了对裸鼠 MCF-7 异种移植瘤的抗肿瘤效果。

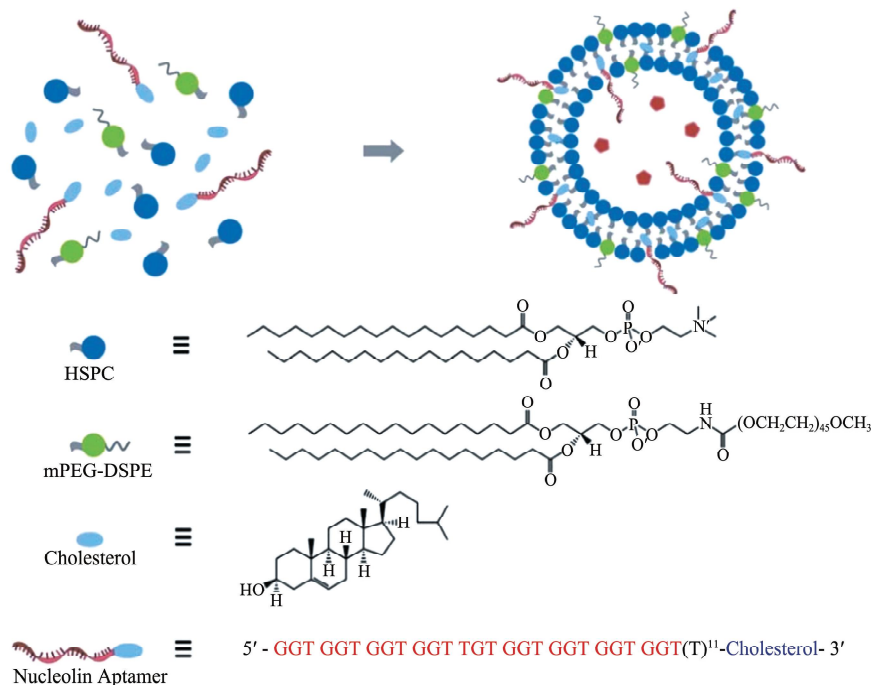


图 5 带有封装货物的 NCL 适配体偶联脂质体的示意图

基于胆固醇与核酸的偶联物,谭蔚泓课题组^[49]报道的膜检测 DNA 探针和 Osborn 等人^[50]报道的 Lipid-siRNA 中也研究了其在不同领域的应用。同时他们也提到了生育酚,石胆酸等低分子与核酸的偶联的相关性质,并且通过实验验证了它们在膜锚定和基因沉默方面的应用。除此之外,带有联苯基的低分子化合物也越来越受研究者的关注。最近 Varghese 课题组报道了一系列二维(2D)晶态 DNA 纳米片及 DNA 修饰的螺旋扭曲的纳米带,它们的疏水部分都是基于联苯基的小分子^[51-53],以非聚集的方式负载了大量的纳米粒子,因此表现出更高的催化活性。这些薄片最独特的特征是 DNA 导向的表面寻址能力,这种设计策略可以作为合成 DNA 修饰的高深宽比薄片的一般方法。

1.2 核酸结合高分子聚合物的两亲性化合物体系

高分子聚合物自组装和核酸序列的自组装都已被证明是强大的纳米技术^[54,55],大量研究表明,脂质、发色团和聚合物可以在温和的条件下高产率地与 DNA 偶联,其用到的聚合物大都是比较常见的有机高分子化合物,例如:低聚对苯乙炔(OPEs)^[56]、聚 N-异丙基丙烯酰胺(PNIPAM)^[57]、聚异戊二烯和聚苯乙烯^[58]、聚十二烷^[59]等都被证明可以和寡核苷酸以特定的方式偶联形成两亲性化合物(见图 6),它们为生物纳米技术、纳米电子学和生物医学等领域提供了新的策略。

黄玉东等人^[60]介绍了一种采用油包水乳液法制备的基于硫醇功能化的 DNA-聚(N-异丙基丙烯酰胺)偶联物(DNA-硫醇/PNIPAAm)组装得到聚合囊泡(DNAsome)的设计和自发组装,以及对小分子荧光染料(Sybr green 和菲)的有效响应。在 PBS 缓冲液中硫醇化的 DNA 与聚合物 PNIPAAm 结合形成复合物,随后与蛋白质(BSA)混合,其在一定水/油体积恒定的条件下自组装成 DNAosomes。在还原剂谷胱甘肽(GSH)作用下,该 DNAsome 可以将包裹的 BSA 释放出来。该研究结果突出了超分子和聚合物化学在 DNA 聚合囊泡的设计和构建、客体分子包裹、控制给药、识别有机多环芳烃分子和基因导向载体合成等方面的潜力。

利用点击化学将功能化的核酸与聚合物结合的技术也被报道^[54]。在这里,末端修饰有氨基的脱氧寡核

苷酸(DNA-NH₂)和聚醚(聚乙氧乙基缩水甘油醚)和聚酯(聚己内酯)进行点击偶联反应,偶联物为二嵌段或三嵌段链结构,包括作为疏水部分的合成聚合物和共价连接到聚合物的一条或两条水溶性、带负电荷的寡核苷酸链。得到的两亲性核酸-聚合物偶联物(NAPCs)在水溶液中可以自组装形成聚集体,寡核苷酸中负电荷的静电排斥相互作用保证了该结构的稳定性,从而抑制其发生进一步的聚集。同时,NAPCs 组件表面密集陈列的核酸赋予了它们对细胞的高选择性摄取,并且提高了其抗酶解性。该组装体可以通过内吞或非内吞途径进入癌细胞,从而保证了其在抗癌领域的应用潜力。

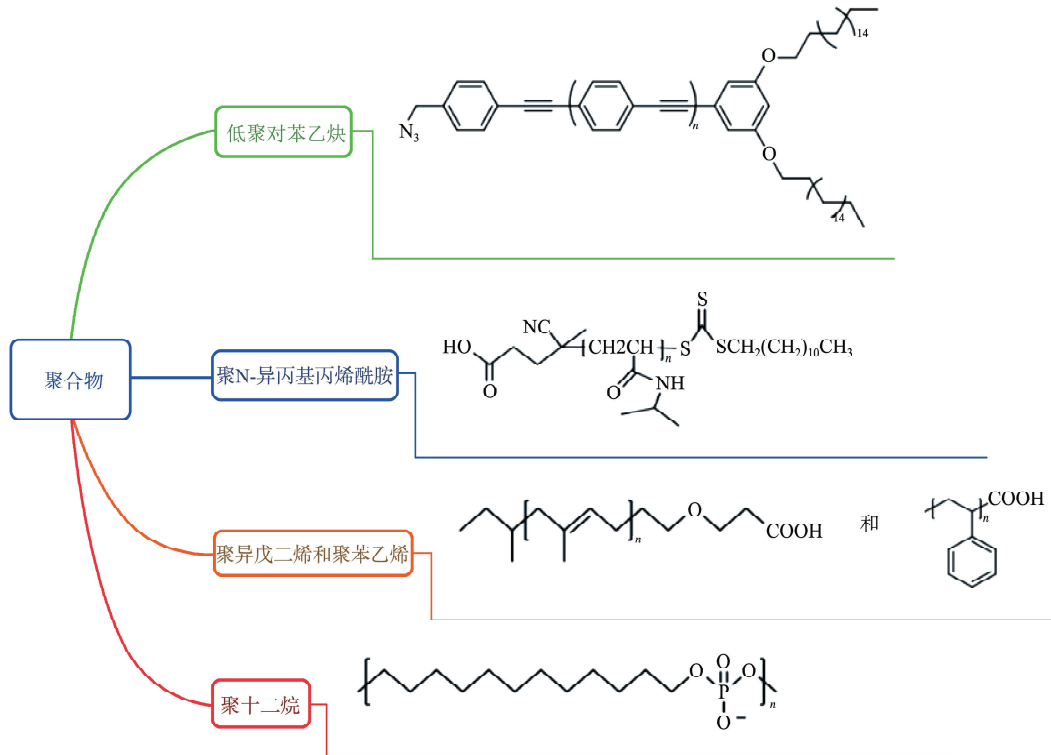


图6 核酸偶联的聚合物

1.3 核酸结合疏水肽链的两亲性化合物体系

为了在植物系统中有效地传递基因,非病毒载体和 DNA 复合体需要具有细胞外的稳定性,细胞壁/膜的转运能力,以及介导内体逃逸和细胞内 DNA 释放的能力。多肽具有与 DNA 结合、细胞穿透和内体逃逸等特性,是一种极具吸引力的基因递送载体。

在自然界中,多肽、核酸和多糖的共同组装被用来创建功能性超分子结构。肽-寡核苷酸结合物可以用 DNA 折纸模板来控制多肽和蛋白质组装的空间方向^[61],但这种杂化生物分子虽然能编制复杂的空间结构,对于组装体的稳定性却无法控制。鉴于此,Spruijt 等人^[62]以 DNA 作为模板,用寡核苷酸通过柔性连接物与多糖转运蛋白(Wza)肽相连,成功地制备出了稳定性好、电导均匀的八聚体纳米孔。另外,周迎课题组^[63]证明 DNA/肽组装体的稳定性可以通过简单的肽侧链疏水堆积作用来优化,而该稳定性会显著影响这些组装体在进行 DNA 细胞内递送时的有效性。

基于核酸-疏水肽链的组装体除了具有高的稳定性外,其在抗癌方面的应用也被广泛研究,包括化疗^[64]和基因治疗^[65,66]等领域。另外,它们在起到治疗癌症的同时,还显示出利用靶向配体来特异性选择癌细胞的功能。如宋相容等人^[67]利用 IRGD 肽(一种可促进抗癌药物渗透到最坚韧的肿瘤组织之中,但又不会增加其对正常细胞的毒性的特殊肽)制备了可以靶向肿瘤的 PEDF-DNA 脂质体(R-LP/PEDF)。近年来的研究表明,色素上皮衍生因子(PEDF)蛋白可以通过抗血管的生成和促凋亡来抑制肿瘤的生长和转移,结合了 PEDF 蛋白的 R-LP/PEDF 脂质体在体外对大肠癌细胞的侵袭、迁移和促凋亡有增强的抑制作用。此外,在转移性结直肠癌小鼠模型中,它还能减少肺内转移的肿瘤结节,延长生存周期。结果证明,以肿瘤为靶点的 R-LP/PEDF 脂质体可能成为治疗转移性大肠癌的一种有前途的候选药物。

2 基于核酸功能化两亲性化合物组装体的多元化抗癌

鉴于由核酸两亲性化合物组装得到的纳米载体可以实现对亲水或疏水药物的负载^[68],现在,基于该类载体的抗癌研究也得到了长足发展。其不仅在化疗领域有广泛的研究,在基因治疗和光热疗法等方面也被广泛报道。然而,在不影响正常组织的情况下,将药物定向输送到预期的位置,而对正常细胞的损害最小或没有损害,仍然是癌症治疗药物的主要研究方向。下面我们主要从基于核酸两亲性化合物载药体系最近在化学疗法、基因治疗、光热疗法三个方面的进展展开论述。

2.1 化学疗法

化疗是利用化学药物来破坏和阻止癌细胞的生长和扩散的一种治疗方法,旨在根除肿瘤并使其不再复发,缓解扩散性癌症病人的症状,提高其生活质量。新理论、新技术的开发应用,及学科间的交叉渗透相互结合,促进了药物化学的发展,其中基于核酸的纳米药物载体扮演着重要的角色。

疏水性的小分子化疗药物,如阿霉素、紫杉醇、索拉非尼等,对于很多癌症具有很好的临床治疗效果,为克服其较差的水溶性,促使其在临床有更广泛的应用,可以利用两亲性化合物组装体进行负载输送。其中基于 DNA-Lipid 的胶束给药系统在促进化疗效果,减少不良反应方面被广泛研究^[69]。另外,由生物分子制成的 DNA 纳米凝胶也是潜在的纳米载体之一^[70]。然而,为了将其作为有效的药物载体用于癌症治疗,其细胞靶向性和高效释放能力还需要改进。众所周知,核酸适配体能与多种目标物质高特异性、高选择性地结合,因此,可以利用核酸两亲性化合物的核酸序列特异性杂交的优势,将细胞靶向配体(如核酸适配体)结合到两亲性化合物组装体表面^[71],例如通过适体偶联^[72]、序列特异性互补杂交^[73]或共价结合等方法^[74]把核酸适配体直接与胶束或其它纳米结构相结合。

Golla 等^[71]报道了一种基于 DNA-Lipid 的 DNA 囊泡(DNAsome)的设计,其中 3,4,5-三(十二烷氧基)苯基化合物充当疏水基团,通过亚磷酸胺中间体连接寡核苷酸的 5'端,得到 DNA 两亲性化合物。该两亲性化合物可以在 Tris 缓冲液中自组装成脂质体的类似物—DNA 囊泡(图 7)。该纳米囊泡同时具有良好的生物相容性和高的药物包封能力和高特异性的 DNA 表面寻址能力。因此,它可以在含有一定浓度药物(DOX)的缓冲液中自组装形成包裹大量 DOX 的 DNAosomes,后期再通过 DNA 序列特异性杂交在囊泡表面修饰上核酸适配体(Sgc8),使用适配体修饰的 DNAosomes 高选择性地将抗癌药物输送到癌细胞系中。

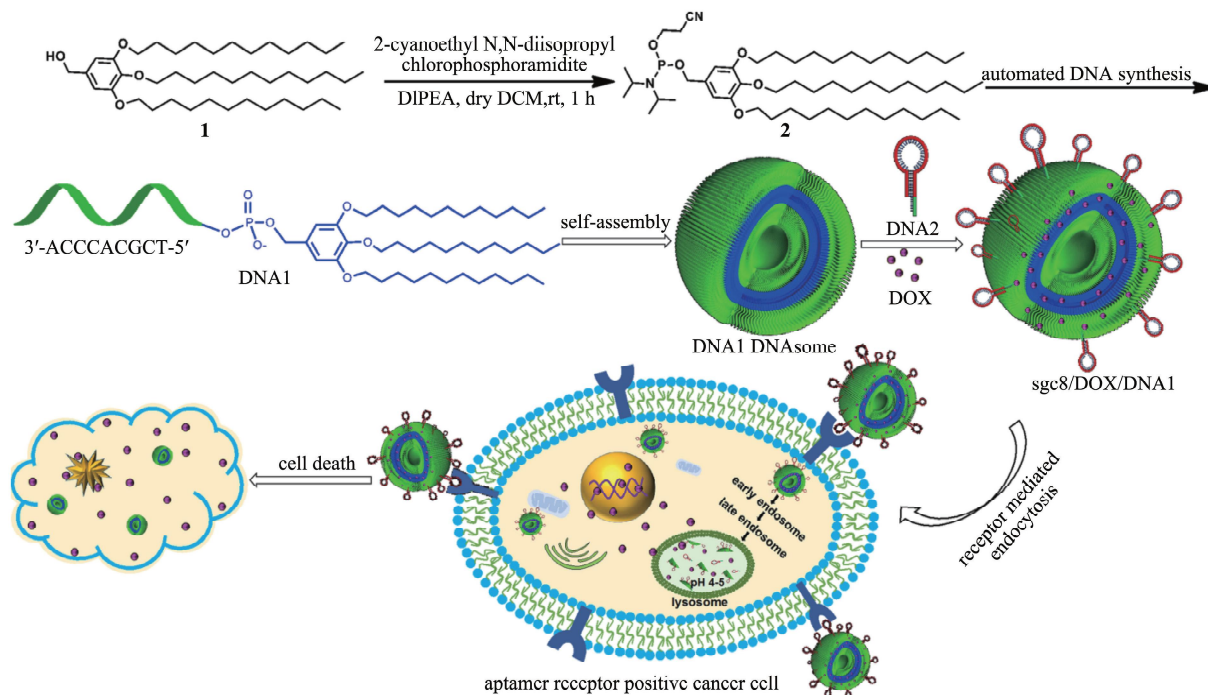


图 7 亚磷酸胺化学法合成 DNA1,描述 DNA1 自组装成 DNAsome 的示意图。图中还显示了 DOX 的负载和 DNA 的适体修饰,该适配体对具有代表性的癌细胞具有选择性。通过受体介导的内吞作用选择性地内化载药的 DNAsome,从而导致对癌细胞的靶向杀伤^[71]

为促进靶向化疗药物的开发,有效的递送系统仍面临巨大挑战。利用光子作为外部触发器实现药物的远程可控释放,优于其他细胞内或外部刺激。最近,一种几乎完全由有效载荷分子组成的核酸-前体药物纳米组装体的自我递送形式被报道。为了构建药物核心,张可课题组^[75]设计并合成了一种 DNA-喜树碱(CPT)两亲性分子,在水溶液中自组装形成球形胶束或棒状纳米结构。光激活后释放出游离的药物分子和小分子碎片,表现出了稳定性更高,摄取率更快的药物输送平台。同样涉及到光响应可控释放,谭蔚泓课题组^[76]构建了一种新的 DNA 适配体接枝的光响应性超支化聚烯烃(HBP)两亲性聚合物 DNA-HBP,其在溶液中可以自组装成纳米胶束(HDNPs),同时,药物分子在自组装的过程中被包裹在疏水核心(图 8)。该聚合物由简单的一步法自缩合烯类聚合反应(SCVP)生成。通过生物正交“点击化学”将核酸适配体有效地偶联到超支化聚合物上,使适配体和聚合物都具有良好的官能度。体外细胞研究表明,该载药体系显示出与靶癌细胞能够特异性结合,并具有高的细胞摄取率。另外,负载化疗药物阿霉素的 HDNPs 仅在接枝核酸适配体 Sgc8 和施加外部 UV 刺激的情况下才能显著抑制肿瘤细胞的增殖,从而实现了靶向给药和远程可控药物释放。

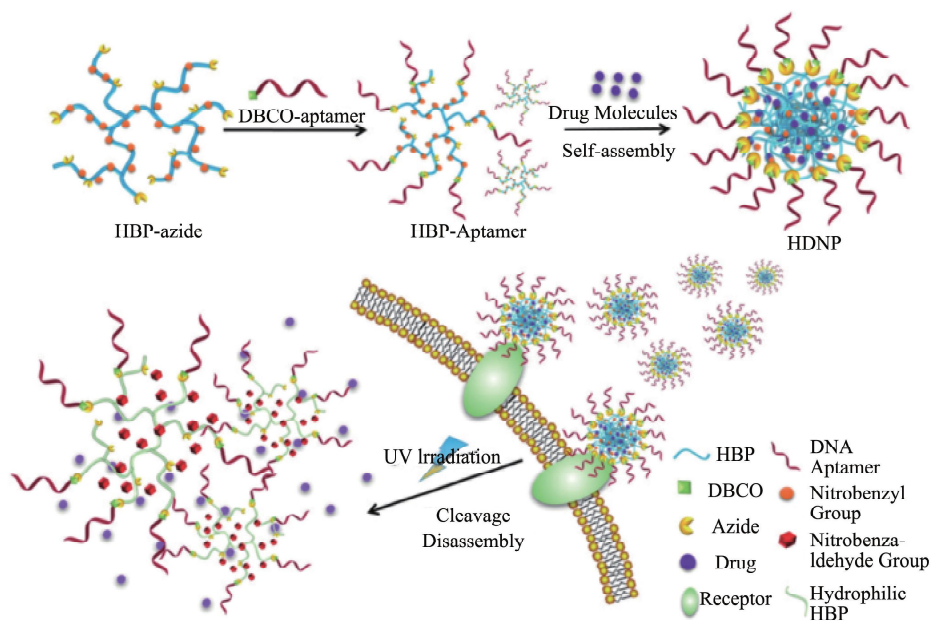


图 8 基于适配子接枝的超支化聚合物靶向和光响应性给药系统的设计与构建^[76]

除疏水小分子药物外,以往的蛋白质药物的递送同样受到了有效载体的限制。为了研究蛋白质在治疗应用中的有效性,孙乐乐等^[77]报告了一种 DNA 程序化的膜融合策略,它可以引导蛋白质高效地输送到活细胞中。这里,胆固醇修饰单链 DNA 形成的脂质体可以很容易地插入细胞膜,在蛋白质输送过程中它们可以绕过内吞作用,提高了脂质体的稳定性,并且可以通过特异性 DNA 杂交实现脂质体与不同细胞的特异性融合。该工作还证明了这种 DNA 功能化的脂质体可以包裹细胞色素 c(Cyt c),将封装 Cyt c 的脂质体导入 HeLa 和 L1210 细胞,并引起细胞活力显著下降。结果表明,这种 DNA 介导的融合策略在蛋白质药物递送、再生医学和基因编辑方面具有巨大的潜力。

为实现药物在体内的高效输送,Bousmail 等^[78]开发了一种用于负载治疗慢性淋巴细胞白血病(CLL)的抗癌药物 5-[2,6-二(4-吗啉基)-4-嘧啶基]-4-(三氟甲基)-2-吡啶胺(BKM120)的球形核酸(SNA)系统。该纳米颗粒组装单元是通过固相合成法制备的 DNA-聚合物偶联物,它们是由 12 个十二烷基单元(HE)连接的 DNA 序列组成(HE₁₂-DNA 结合物)。HE₁₂单元通过基于亚磷酸酰胺化学的自动固相合成法连接到 DNA 上,通过在水溶液中自组装形成含有密集 DNA 外壳和 HE₁₂疏水核心的纳米结构,为包裹疏水药物分子提供了有利的环境(图 9)。体外研究证明,封装 BKM120 的 HE₁₂-SNAs 纳米颗粒可促进原发患者 CLL 淋巴细胞凋亡,并可作为其它抗肿瘤药物的增敏剂,而不会引起非特异性炎症。体内评价表明,这种药物输送体系在全身循环 24 h 后会在肿瘤部位高度聚集,突出了其靶向癌症治疗的潜力。未来对该平台的研究将集中在采用交联策略来提高体内的载药量、保留时间和结构稳定性等方面。此外,利用 DNA 外壳的优势,将实

现表面修饰功能性核酸,如靶向适配体和反义寡核苷酸序列,从而实现对药物的靶向载运及化疗药物及基因药物的同时负载。

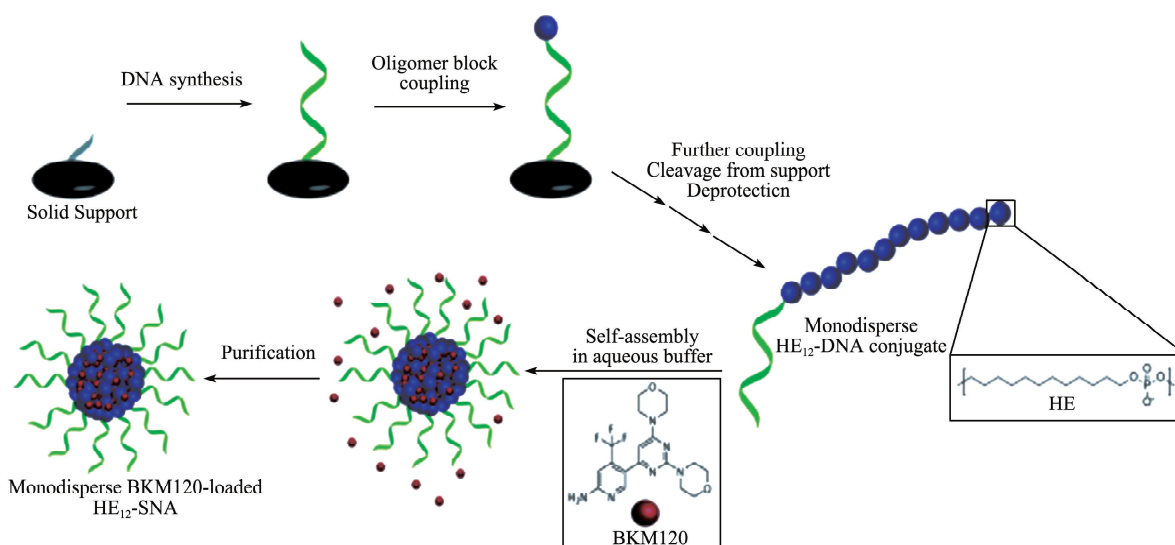


图 9 DNA-聚合物偶联物合成示意图及 BKM120 包埋方法^[78]

2.2 基因治疗

除了对化疗药物的负载,基于核酸两亲性化合物组装体的纳米载体也被用在了对基因药物的输送上。核酸链与其互补序列的杂交是最强、最特异的分子识别事件之一^[79],其极大地促进了疾病诊断和基因治疗的发展。例如,线性核酸探针^[80]和发夹核酸探针^[81]都被用来可视化检测活细胞中的特定信使 RNA(mRNAs)。许多 mRNA 是与疾病相关的,可以作为特定的生物标志物来评估这些疾病的阶段,包括癌症。通过分子工程,这些探针可以有效地将 mRNA 结合事件转化为荧光信号变化,而不需要去除未结合的游离探针。此外,包括癌症在内的大多数人类疾病都可以通过引入基因药物来治疗,比如反义寡核苷酸^[82]、小干扰 RNAs(siRNAs)^[83]、microRNAs(miRNAs)^[84]。这些核酸序列既可以提高相关基因的表达,也可以抑制有害蛋白的产生,从而使核酸探针成为基因治疗的极佳候选者。

但核酸的稳定性以及细胞对它们的低摄取率等限制了其在生物学方面的应用。幸运的是,脂质体或小分子与核酸的偶联物作为基因纳米载体被开发出来^[85]。其中一种是脂质分子与反义寡核苷酸直接相连,它们组装成的纳米粒子在表面显示出致密的核酸外壳,当与靶 mRNA 杂交时,可以通过不同的机制特异性地抑制基因的表达,从而抑制癌细胞的生长^[86]。例如,Rocchi 课题组^[87]设计合成了一个靶向翻译控制的肿瘤蛋白(TCTP)的反义寡核苷酸(ASO),来抑制 TCTP 蛋白的表达。TCTP 蛋白参与了与细胞生长、细胞周期进展、恶性转化和抑制凋亡相关的一系列重要的细胞过程。为了解决寡核苷酸在细胞内递送和沉默活性,他们利用双 C15 缩酮核脂结构通过典型的亚磷酸酯化学和寡核苷酸偶联,在水介质中自组装形成脂质寡核苷酸(LASO)纳米胶束。实验表明,该纳米胶束在体外和体内都可以在不使用其他转染试剂的情况下,有效地提高了细胞穿透性,以及对 TCTP 表达效率的抑制。转染 TCTP-LASO 后,巨噬细胞吞噬功能迅速增强,TCTP 表达下调,细胞存活率显著下降。在小鼠异种移植模型中,还发现 LASO 导致肿瘤生长缓慢,且没有观察到明显的毒性效应,这些结果说明 LASO 在癌症治疗方面有着很大的潜力。但这种纳米胶束也有不足之处,TCTP-LASO 有诱导转氨酶增加的风险,要想使其成功地应用到临床,还需要对这类脂质纳米载药系统进一步优化,改善它们的细胞毒性。

除上述 Lipid-ASO 复合物外,另一种常见的用于基因疗法的核酸两亲性化合物是 siRNA 与脂质分子的结合体。比如最近 Osborn 等^[50]证明了 Lipid-siRNAs 针对脂蛋白受体丰富的组织(肝脏、肾上腺、卵巢和肾脏),可以有效沉默细胞内 mRNA 的表达。他们通过结合不同的脂质分子,如石胆酸、碳六烯酸、胆固醇等,用于调节 hsiRNA(疏水修饰的 siRNAs)的两亲性。在体内给药时,疏水部分优先自发地与循环系统中的低密度脂蛋白(LDL)结合,而亲水部分则与高密度脂蛋白(HDL)结合。在体外,他们将 Lipid-hsiRNAs 转染到 HeLa 细胞中,并检测了一种有效的管家基因亲环素 B(PPIB)mRNA 的表达水平,发现这些具有不

同程度疏水性的 Lipid-hsiRNAs 偶联物在体外保持了基因沉默活性。活体实验进一步表明,通过皮下注射靶向 PPIB 的 Lipid-hsiRNA,对 PPIB 的 mRNA 有很好的沉默作用。

另外,为了提高 RNA 在基因沉默过程中的稳定性,Sleiman 课题组^[65]以 DNA 两亲分子为合成模板,合成了两类在水溶液中自组装成球形纳米粒子并具有基因沉默活性的 DNA/RNA 杂化两亲性分子组装体(图 10)。首先,用 DNA 胶束模板法将载脂蛋白 ApoB 的 siRNA 中正义链偶联到二苯并环辛炔(DBCO)功能化的 HE₁₂ 聚合物上,得到 HE₁₂-rApoBs,然后将反义链(rApoBas)退火得到双链 siRNA 两亲性化合物,在此基础上又合成了带有聚醚酰亚胺(PEI)的荧光素酶蛋白 siRNA 两亲性分子,它们在含 Mg²⁺ 的水溶液中形成球形结构。实验表明,球形 siRNA 纳米颗粒显示出与未修饰的 siRNA 相同或更好的基因沉默效果,且对细胞存活率没有不良影响。另一项研究表明,将 DNA 反义链与其互补的 RNA 链退火杂交,得到的 DNA/RNA 杂化纳米颗粒在基因沉默方面进一步改善。总之,该方法提高了含杂化 RNA 分子的产率,扩大了杂化 RNA 分子的范围。通过将亲水和疏水片段的合成分成独立的步骤,然后以 DNA 模板的方式将它们有效地结合在一起,创造了一种保证能对产品结构 and 功能有更好控制的方法。它们的组装体只有在一定条件下(如 DNA 酶)才能释放出 RNA 序列,并随后进行治疗,极大的提高了 RNA 的稳定性,在基因疗法领域性,在基因疗法领域中发挥着重要的作用。此外,该结构为疏水性小分子药物的包埋提供了可能性,并可用作联合疗法的递送载体。

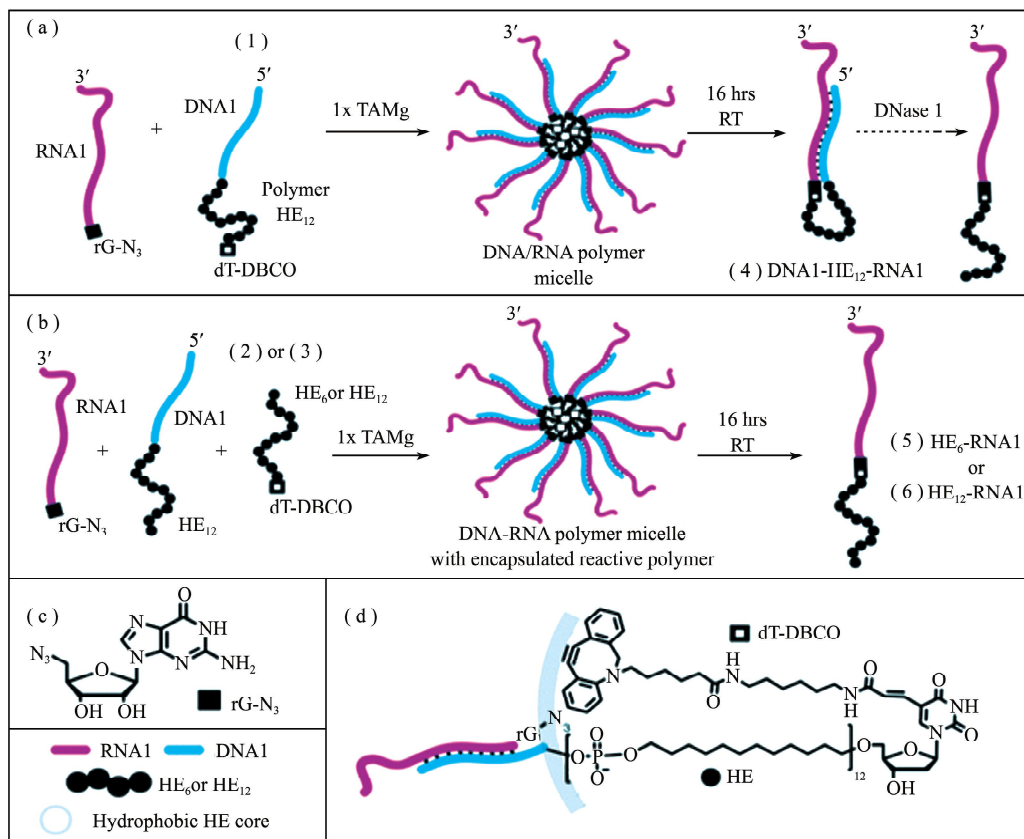


图 10 用 DNA 模板法合成核糖核酸两亲性化合物的示意图^[65]

siRNA 在核酸两亲性化合物的应用作为一种给药平台虽然有很多优点,但它也有局限性,其中最主要的是缺乏针对性及对不同细胞类型进行特异性的给药。此类载体虽然对生物学上的基因疗法提供了合理的设计并指明了通向临床试验的方向,但稳定性好、靶向性强、摄取率高的承载基因药物的可行性载体还有待开发。好的一面是,这之前已经有可靶向肿瘤组织的适体-脂质-siRNA 结合体的报道^[88],针对表皮生长因子受体(EGFR)的适体分子偶联到脂质纳米粒的末端,为载体提供了肿瘤特异性识别能力,因此对于靶向给药是可预见的。

2.3 光热疗法

作为除化疗和基因疗法之外的非常有前景的抗癌方法之一——光热疗法,近年来被广泛研究。其中,选

用合适的载体对光敏剂进行体内靶向输送成为该领域的研究热点之一。

由于多巴胺强大的近红外吸收能力和高的光热转换效率,聚多巴胺(PDA)可以作为光热试剂用于癌症治疗。在光热疗法(PTT)治疗过程中,在相对较低的温度(42-45℃)下获得有效的抗肿瘤效果至关重要。为此,张川课题组^[89]设计了一种包覆多巴胺(PDA)的核酸纳米凝胶,作为 siRNA 介导的低温 PTT 的治疗复合物。首先,针对热休克蛋白 70(Hsp70)的 siRNA 作为交联剂,引导 DNA 接枝的聚己内酯(DNA-g-PCL)通过核酸杂交组装成纳米水凝胶颗粒。然后,将得到的 siRNA 包埋的纳米凝胶进一步包覆一层聚多巴胺,这不仅增强了纳米凝胶的生理稳定性和对核糖核酸酶降解的抵抗力,延长了纳米凝胶的循环时间,而且赋予了纳米凝胶光热能力,导致 PTT 过程中温度迅速升高,热引发的内酶体逃逸,有效地抑制了 Hsp70 的基因表达,从而在体内实现了 siRNA 介导的低温 PTT 抗肿瘤作用。

刘景丰等人^[90]的一项研究中,多巴胺被用来辅助对用于细胞内 microRNA 成像和增强光热治疗的核酸探针的多功能修饰。在弱碱性条件下,聚多巴胺(PDA)可以通过迈克尔加成反应与硫醇末端的核酸探针共价连接,最终在水溶液中得到了稳定性更好、核酸负载量更高的纳米探针。这种类型的核酸纳米探针不仅可以轻松进入细胞,通过荧光恢复实现细胞内 miRNA 的成像,也适用于其它基于核酸响应的成像和治疗,只需简单地改变相关的核酸序列。此外,PDA 的包覆可以提高纳米探针的光热转换效率,使其适用于肿瘤的光热治疗。

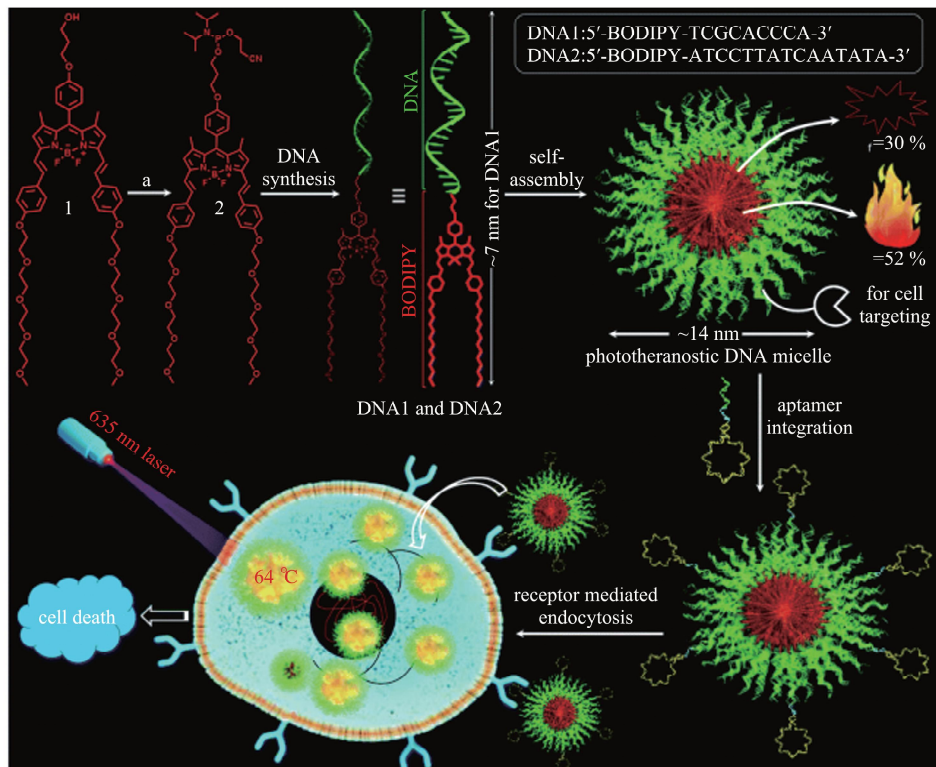


图 11 亚磷酸胺化学合成 DNA1 和 DNA2 两亲性化合物。并展示了两亲性分子在近红外光照射下自组装成胶束和靶向 PTT 的原理图^[91]

BODIPY(氟硼二吡咯)是另一种常用的用于癌症治疗的纳米光敏剂。Varghese 课题组报道了一种基于 DNA-BODIPY 两亲性驱动自组装的一步法设计的一种具有三种功能的新型胶束^[91]。BODIPY 做为两亲性分子的疏水链段,通过亚磷酸胺与亲水链段的寡核苷酸进行偶联,它们通过典型的 90 °C 退火反应在水溶液中自组装成 DNA 胶束。其三种功能包括:(1) 用于成像的近红外强发射,(2) 用于 PTT 的高光热转化率,以及(3) 用于整合细胞靶向部分的基于 ssDNA 的外壳(图 11)。以 HeLa 细胞为代表,研究了纳米胶束的细胞通透性,并且胶束用专门用于靶向 PTK7 受体的 Sgc8 适配体修饰,然后共同作用到 CCRF-CEM(受体阳细胞系)和 Ramos(受体阴细胞系)细胞中,发现胶束的强荧光表现在 CCRF-CEM 细胞中,而 Ramos 细胞中的荧光相对较弱,这表明 Sgc8 适配体修饰的 DNA 胶束选择性地内化到了 CCRF-CEM 细胞中。值得

注意的是,纳米胶束显示出光疗试剂所需的所有特征,包括(I)高荧光量子产率(II)优异的光热效应和(III)允许通过 DNA 杂交整合细胞靶向部分,这种前所未有的在一步自组装过程中展示光疗试剂所需的三种基本功能的纳米胶束设计方法,优化了以往所报道的涉及多个繁琐的合成步骤。此外,该胶束具有良好的生物相容性、超小的纳米尺寸和高度的稳定性,在治疗方面具有良好的体内应用前景。

3 基于核酸两亲性化合物组装体的协同抗癌

研究表明,单一的治疗方法很难彻底消除癌细胞的生长,例如,到目前为止,临床上广泛采用的化学疗法仍然因耐药问题而受到限制。化学疗法、基因疗法、光热疗法或 pH 响应抗癌方法等的联合治疗代表了一种新兴的策略,可以通过协同作用来改善抗癌效果,但是可共同装载两种及以上药物的纳米材料还需有待进一步开发或完善,根据最近的一些报道,基于核酸两亲性化合物组装形成的纳米载体表现很多优异的性能。

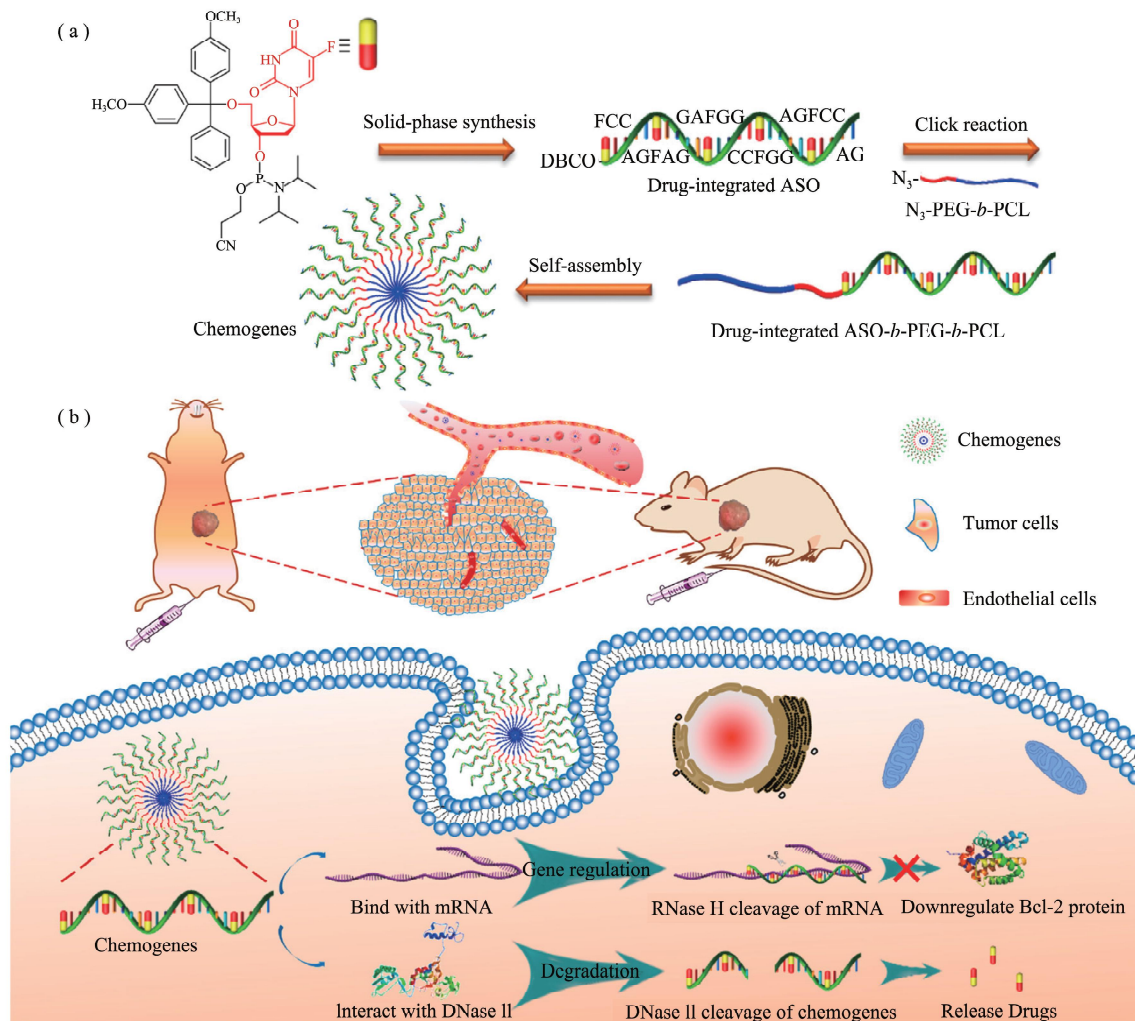


图 12 药物整合 ASO-b-PEG-b-PCL 构建 SNA 样二合一逆转耐药基因示意图^[94]

同时负载两种不同化疗药物或基因药物进行联合治疗^[92,93],虽然优化了抗肿瘤的效率和增强了抗肿瘤的效果,但药物的单一性阻碍了后期防止肿瘤复发的相关治疗。因此,解决癌细胞的多药耐药性在治疗后期显得尤为重要,其中联合基因疗法沉默多药耐药性蛋白^[94],恢复细胞对化疗药物的敏感性,是逆转化疗耐药性的一个重要研究方向,其中使用带有反义序列的基因药物协同小分子化学药物是目前癌症治疗领域最普遍的方式。张瑞利等^[95]设计了一种基于核酸分子信标(MB)的抗多药耐药蛋白(MDR1)的 α -MBM-DOX 纳米系统,该纳米系统由紧密包裹着 MB 冠层的二酰基脂质核组成,阿霉素(DOX)被包裹在胶束的疏水核心和 MB 的茎序列中。由于其相对较高的酶稳定性, α -MBM-DOX 最初促进了细胞内多药耐药蛋白(MDR1)mRNA 的成像,随后的反义作用下调了 MDR1 基因的表达,通过细胞内酶的降解破坏胶束结构,释放出阿霉素。由于沉默了耐药基因的表达,成功地恢复了癌细胞对化疗药物的敏感性,具有较好的抗癌效

果。另外, Sleiman 课题组^[96]报道了一种单分散的 DNA-聚合物组装的球形核酸(SNA),这种载体不仅有装载疏水药物的能力,还提供额外的反义基因治疗,刺激响应的方式释放装载药物提高了药物的特异性水平。重要的是,这些复杂的功能是通过简单、经济、高效的三条 DNA 链设计实现的,这类新的响应性药物输送载体对相关刺激反应非常灵敏,并且造价低廉,能够同时输送疏水性化疗药物和核酸药物。不过该纳米载体在释放药物的效率方面还需要改进,而且在活体内的双重递送能力,以及使其具备靶向性,进而获得有利的生物分布等问题还需要完善。

除了采用包裹的形式负载化疗药物之外,将化疗药物以共价结合的形式通过合理设计连接到核酸两亲性化合物分子上,并进一步形成纳米组装体,可以更有效地解决化疗药物的非靶点泄露问题。为了更加突出脂质-反义寡核苷酸结合物(Lipid-ASO)和化疗药物在体内治疗的协同效果,张川等^[94]设计合成了一段共价连接有化疗药物氟尿嘧啶核苷(F)的反义核酸药物(图 12),再通过“点击化学”与连接有聚乙二醇(PEG)的疏水分子聚己内酯(PCL)发生结合反应,得到核酸两亲性化合物可以组装成胶束,该胶束进入癌细胞后既可以下调耐药相关蛋白 Bcl-2 的表达,同时靶向释放反义序列中代替胸腺嘧啶(T)的化疗药物氟尿嘧啶核苷(F)进行协同抗癌。活体实验验证了该纳米体系在用于治疗皮下和原位肝移植耐药肿瘤,有效地逆转化疗耐药性方面的优异的抗肿瘤效果。当然,该研究策略还可以扩展到对许多其他核苷类似物的研究上,以优化联合癌症治疗的有效性。

最近一篇报道同样用球形核酸(SNA)结合反义寡核苷酸的两亲性化合物在减少黑色素瘤细胞中达到了协同增进作用^[97]。苯乙基间苯二酚(PR)是一种特别有效的酪氨酸酶抑制剂。该策略在叠氮官能化前药聚合物 PR 的基础上加入了生物还原的、自焚的二硫键连接物,和功能性寡核苷酸(ASO)通过点击化学连接,形成的聚集体可以在细胞内还原条件下被裂解,并释放药物。这种具有酪氨酸酶抑制剂前药核心和 ASO 外壳的双功能 SNA 胶束纳米颗粒,可以抑制参与黑素合成的关键受体的表达。两种成分的协同工作,增加了寡核苷酸细胞摄取,增强了药物溶解性,促进皮肤渗透。这里展示的工作应该广泛适用于药物/寡核苷酸联合疗法,通过局部应用来针对各种皮肤相关疾病。

除协同反义寡核苷酸外,化疗药物和 siRNA 的联合治疗,同样可以通过协同作用来提高抗癌效果^[98,99]。通常,大部分化疗药物都是疏水的,它们利用负载到两亲性化合物组装得到的载体上进入细胞,而核酸功能化的脂质体不仅可以载着疏水药物进入细胞,而且同时发挥着核酸的基因治疗功能,这种多功能载体在纳米载体工程,在协同效应和基因整合等方面具有远大的应用前景。

索拉菲尼(SF)也是一种临床上常用的化疗药物,但它在癌症化疗的效果因耐药性受到限制,在帅心涛等^[100]报道的通过薄膜水合法制备聚醚酰亚胺(PEI)修饰的脂质体中,将其与靶向 GPC3 基因的 siRNA (siGPC3)和索拉菲尼共转染,达到了更好的联合治疗肝癌的目的。在优化的实验条件下,SF 和 siGPC3 被有效地负载到脂质体(SF-PL/siGPC3)中。尺寸优化后的 SF-PL/siGPC3 组装体有效地聚集在肿瘤部位并进入肝癌细胞。通过以 HepG2 癌细胞为研究对象,评价脂质体纳米药物的性能。发现纳米药物(SF-PL/siGPC3)的共传递在体内外均获得了较高的 SF 和 siRNA 共传递效率。实验表明,SF-PL/siGPC3 能有效下调 HepG2 细胞中 GPC3 和细胞周期 D1 蛋白的过表达,从而大大提高肿瘤对 SF 的敏感性。静脉注射 SF-PL/siGPC3 到人肝癌细胞株 HepG2 皮下移植瘤的裸鼠体内,有效地抑制了肿瘤的生长,并提高了动物的存活率。这些结果揭示了携带 SF 和 siGPC3 的 PEI 修饰脂质体纳米药物在提高肝癌治疗方面的巨大潜力。结果表明作为共给药平台,siRNA 介导的新型脂质体在有效联合治疗方面发挥着不可替代的作用。

在化疗和基因疗法协同抗癌的研究领域越来越成熟的同时,光热响应材料由于具有高的时空选择性而成为精确控制药物传递的理想载体,也逐步地走进了我们的视野^[89,101]。然而,缓释动力学、固有毒性和缺乏靶向性等缺点阻碍了其向临床应用的转化。

传统的光敏剂(PSS)通常在聚集状态下表现为荧光猝灭和活性氧(ROS)生成受损,这使得它们不太适合于图像引导的 ROS 生成和光动力疗法(PDT)。为了解决这个问题,刘斌课题组^[102]构建了一种核壳结构的 SNA。在该体系中,抗凋亡蛋白(Bcl-2)反义寡核苷酸(OSA)偶联到聚集体诱导发射(AIE)光敏剂(PS)纳米粒子表面(图 13)。Bcl-2 SNA 的设计从 AIE PS 开始,为了实现 AIE PSS 在白光照射下的远红光/近红

外发射和有效产氧量,采用 D(给体)-A'(辅助受体)- Π (Π 间隔基)-A(实受体)结构进行设计,合成了端乙炔基团的聚苯乙烯,这使得后续的 PEG 共轭可以得到含有末端-N₃ 基团的两亲性聚合物。

在水介质中,暴露有-N₃ 的两亲性聚合物形成纳米粒子,进一步与靶向 Bcl-2 mRNA 的反义 OSA 偶联,形成核壳 SNA。为了实现 Bcl-2 OSA 的智能释放,在 OSA 和 AIE PS 之间引入了可生物降解的酯键。光照射下,Bcl-2 SNA 可产生适量的单线态¹O₂ 破坏溶酶体结构,促进 Bcl-2 OSA_s 有效逃逸溶酶体。实验结果分析表明,释放的 Bcl-2 OSA_s 可降低靶 Bcl-2 mRNA 的表达,下调 Bcl-2 蛋白的表达。最终,Bcl-2 mRNA 的降解可诱导肿瘤细胞凋亡。此外,Bcl-2 蛋白下调可增加肿瘤细胞对 PS 的敏感性,显著促进 PDT 效应。基于突出的体外和体内实验结果,这种新型核壳 SNA 具有很好的应用前景,为未来的功能核酸传递开发了一个潜在的平台。

在基于核酸两亲性化合物的纳米载药体系的协同抗癌方面,除了对化疗药物、基因药物以及光热疗法的协同抗癌的研究,最近 Charbgoon 等人新开发出了一种新颖的核酸适配体胶束体系,利用该胶束可将阿霉素和促凋亡多肽 KLA 定向共传递到肿瘤细胞^[103],其中促凋亡多肽不仅可以减少化疗的副作用,并提高了化疗效果,而且防止了癌症的复发,是一种非常有前途的协同载体。

基于以上论述可以看出,虽然目前对于癌症的治疗手段还未达到彻底根除的地步,但有了之前的实践经验和诸多研究领域的进一步研究,对于未来人类最终攻克癌症方面是可预见的。

4 结论与展望

目前,核酸两亲性化合物在材料科学和生物技术中变得越来越常见。与无核酸修饰的胶束、脂质体和囊泡相比,核酸两亲性化合物具有更好的水溶性、载药量和细胞穿透力,这有利于药物等在细胞内的高效递送。通过不同的合成方法,如固相合成法(SPS)、非共价相互作用和点击化学等可以将疏水脂质链段在不同的位点偶联到核酸上。到目前为止,疏水链段与寡核苷酸的偶联主要依赖于 SPS,这种方法虽然能够实现寡核苷酸的简便性合成,同时所需有机化学的困难和高成本对寡核苷酸上的疏水修饰提出了挑战,主要是因为这种修饰需要经受住在 SPS 期间进行的不同条件,同时仍然需要特定的脂磷酰胺。相反,当用酶反应或点击反应结合时,修饰的寡核苷酸和脂质可以在缓冲溶液中连接,但可能会导致低产量和高成本。因此,在大规模制备具有良好重复性的核酸两亲性化合物的过程中,仍需要努力克服挑战。

解决涉及核酸两亲性化合物稳定性和特异性的限制是未来的另一项工作。应尽量减少特定酶或 pH 环境下脂质、寡核苷酸的消化和降解,以提高运输治疗药物的体内利用效率和药代动力学。优化后的核酸两亲性化合物可以与生物相容性聚合物和纳米粒子等其他材料混合或设计,实现协同功能,从而进一步抑制纳米结构的解离和药物沉淀。除了增加材料类型,与 G-四链体结合或甲基丙烯酸酰胺交联等方法在纳米结构之间构建基于共价或刺激响应连接物的网络也可以提供一种解决方案来延缓外界的干扰。

尽管核酸两亲性化合物已具备优异的细胞通透性和药物封装性,但由于脂类的疏水性和细胞膜模拟特性,设计更具创新性的具有分子识别和催化能力的基于核酸两亲性化合物的纳米结构是加速其在生物传感、生物医学诊断和治疗中应用的当务之急。核酸适配体、siRNA、胞嘧啶-鸟嘌呤核苷(CpG)等功能性基团的加入可提高靶向能力,有助于提高治疗效果。此外,脱氧核酶(DNAzyme)、G-四链体和聚乙二醇等其他功能

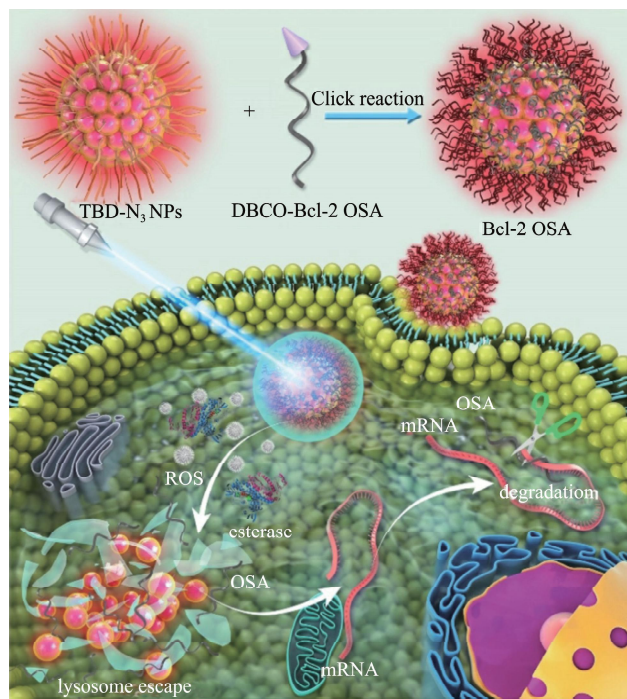


图 13 基于 Bcl-2SNA 的 AIE PS 制备,肿瘤细胞摄取 Bcl-2 SNA 的示意图^[102]

结构也可以与脂类结合来开发新的柔性复合材料,利用它们的构象变化和与微环境中生物量的关系来实现多种刺激响应功能(例如,精准的药物释放)。

更重要的是,基于核酸两亲性化合物的纳米载药系统在抗癌方面的工作逐渐完善。化疗的本质是通过诱导细胞凋亡来清除癌细胞,从而减轻患者的肿瘤负担,基因治疗的本质是通过下调某种 mRNA 来控制蛋白的合成,两者进行协同抗癌在一定程度上减少了癌细胞的抗药性提高了单一疗法的抗癌效果。另外,核酸功能化的光热^[104]、pH 响应性材料^[105]、促凋亡多肽^[106]等多功能核酸纳米载体也慢慢兴起,它们有望结合成协同疗法来完善抗癌的工作。尽管上述多种类型的两种协同疗法显示出比单药更高的抗癌功效,但通过建立在三种疗法之间的协同增强相互作用基础上的协同疗法,以及通过将三种治疗剂整合在一个单一纳米结构中的三联疗法可以进一步提高治疗功效^[107,108]。此外,三联疗法的另一个优点是在低剂量的治疗剂使用下实现了最佳的治疗功效,这有望进一步减小副作用。

综上所述,通过对之前工作经验的总结,加上最近对含氟脂质和铁死亡的报道^[41,109],我们预计,带有全氟化的烷基链有机体通过与功能核酸偶联,由此形成的核酸两亲性化合物,有望自组装成含有小分子药物的多室类似脂质体的囊状结构,后期可在组装体上修饰可调控铁死亡、光热、pH 响应性等基因,这种多响应功能的核酸两亲性纳米载体在细胞凋亡和铁死亡的协同抗癌方面,将实现载药量更多,治疗通路更广的智能化纳米体系,在彻底消除肿瘤方面有很大的潜力,为未来在给药系统,生物医学领域开辟出了更为广阔的前进道路。

参 考 文 献

- [1] TANIGUCHI Y, TAKISHITA T, KOBAYASHI Y, et al. Amphiphilic self-assembly of semiconductor nanocrystals with heterogeneous compositions[J]. *Europhys Lett*, 2017, 118(6): 60081-60098.
- [2] FAKIH H H, KATOLIK A, MALEK-ADAMIAN E, et al. Design and enhanced gene silencing activity of spherical 20-fluoroarabinose nucleic acids (FANA-SNAs) [J]. *Chem Sci*, 2021, 12: 2993-3003.
- [3] 金程. 基于核酸双亲化合物的新型组装体的构建及应用研究[D]. 长沙:湖南大学,2018.
- [4] DONG Y C, SUN Y W, WANG L Y, et al. Frame-guided gssembly of vesicles with programmed geometry and dimensions[J]. *Angew Chem*, 2014, 126: 2645-2653.
- [5] GODEAU G, ARNION H, BRUN C, et al. Fluorocarbon oligonucleotide conjugates for nucleic acids delivery[J]. *Med Chem Commun*, 2010, 1(1): 76-78.
- [6] PARK S M, YANG H, PARK S K, et al. Design, synthesis, and anticancer activities of novel perfluoroalkyltriazole-appended 20-deoxyuridines[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2010, 20(19): 5831-5834.
- [7] PATWA A, GISSOT A, BESTEL I, et al. Hybrid lipid oligonucleotide conjugates: synthesis, self-assemblies and biomedical applications [J]. *Chem Soc Rev*, 2011, 40(12): 5844-5854.
- [8] FANTONI N Z, EL-SAGHEER A H, BROWN T, et al. A hitchhiker's guide to click-chemistry with nucleic acids[J]. *Chem Rev*, 2021, 121(12): 7122-7154.
- [9] PANATTONI A, POHL R, HOCEK M, et al. Flexible alkyne-linked thymidine phosphoramidites and triphosphates for chemical or polymerase synthesis and fast postsynthetic DNA functionalization through copper-catalyzed alkyne-azide 1,3-dipolar cycloaddition[J]. *Org Lett*, 2018, 20: 3962-3965.
- [10] ALBERT S K, THELU H V P, GOLLA M, et al. Modular synthesis of supramolecular DNA amphiphiles through host-guest interactions and their self-assembly into DNA-decorated nanovesicles[J]. *Nanoscale*, 2017, 9(17): 5425-5432.
- [11] YUAN W, MA J H, ZHAO Z, et al. Self-assembly of supramolecular DNA amphiphiles through host - guest interaction and their stimuli-responsiveness[J]. *Macromol Rapid Comm*, 2020, 41: 2000012.
- [12] LI X W, FIGG C A, WANG R W, et al. Cross-linked aptamer-lipid micelles for excellent stability and specificity in target-cell recognition [J]. *Angew Chem*, 2018, 57(36): 11589-11593.
- [13] JIN C, HE J X, ZOU J M, et al. Phosphorylated lipid-conjugated oligonucleotide selectively anchors on cell membranes with high alkaline phosphatase expression[J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 2704-2711.
- [14] ZHOU X, PATHAK P, JAYAWICKRAMARAJAH J, et al. Design, synthesis, and applications of DNA-macrocylic host conjugates [J]. *Chem Commun*, 2018, 54(83): 11668-11680.
- [15] XING H, TANG L, YANG X J, et al. Selective delivery of an anticancer drug with aptamer-functionalized liposomes to breast cancer cells

- in vitro and in vivo[J]. *J Mater Chem B*, 2013, 1(39): 5288-5297.
- [16] SMITH J D, CARDWELL L N, PORCIANI D, et al. Therapeutic peptide delivery via aptamer-displaying, disulfide-linked peptide amphiphile Micelles[J]. *Mol Syst Des Eng*, 2020, 5(1): 269-283.
- [17] HAN X, KOU Z R, JIANG F Q, et al. Interactions of designed trp-containing antimicrobial peptides with DNA of multidrug-resistant pseudomonas aeruginosa[J]. *DNA Cell Biol*, 2021, 40(2): 414-424.
- [18] GAMBINOSSI F, BANCHELLI M, DURAND A, et al. Modulation of density and orientation of amphiphilic DNA anchored to phospholipid membranes in supported lipid bilayers[J]. *J Phys Chem B*, 2010, 114(21): 7338-7347.
- [19] LAING B M, LAING L B, HARRINGTON M, et al. Properties of double-stranded oligonucleotides modified with lipophilic substituents [J]. *Bioconjugate Chem*, 2010, 21(8): 1537-1544.
- [20] VYBORNYYI M, VYBORNA Y, HANER R, et al. DNA-inspired oligomers: from oligophosphates to functional materials[J]. *Chem Soc Rev*, 2019, 48(16): 4347-4360.
- [21] ALBERT S K, GOLLA M, KRISHNAN N, et al. DNA- π amphiphiles: a unique building block for the crafting of DNA-decorated unilamellar nanostructures[J]. *Acc Chem Res*, 2020, 53(11): 2668-2679.
- [22] LI X W, FENG K J, LI L, et al. Lipid-oligonucleotide conjugates for bioapplications[J]. *Natl enc Rev*, 2020, 7(12): 1933-1953.
- [23] MENG Z J, YANG J, LIU Q, et al. Efficient fusion of liposomes by nucleobase quadruple-anchored DNA[J]. *Chem Eur J*, 2017, 23(39): 9391-9396.
- [24] COZZOLI L, GJONAJ L, STUART M C A, et al. Responsive DNA G-quadruplex micelles[J]. *Chem Commun*, 2018, 54(3): 260-263.
- [25] MULLER A, KONIG B. Vesicular aptasensor for the detection of thrombin[J]. *Chem Commun*, 2014, 50(84): 12665-12668.
- [26] BANGA R J, MECKES B, NARAYAN S P, et al. Cross-linked micellar spherical nucleic acids from thermoresponsive templates[J]. *J Am Chem Soc*, 2017, 139(12): 4278-4281.
- [27] SHOYDA K, TOYOTA T, YOMO T, et al. Direct visualization of DNA duplex formation on the surface of a giant liposome[J]. *Chem-biochem*, 2003, 4(8): 778-781.
- [28] KWAK M, HERRMANN A. Nucleic acid amphiphiles: synthesis and self-assembled nanostructures[J]. *Chem Soc Rev*, 2011, 40(12): 5745-5755.
- [29] DAVE N, LIU J. Programmable assembly of DNA-functionalized liposomes by DNA[J]. *ACS Nano*, 2011, 5(2): 1304-1312.
- [30] HERNANDEZ-AINSA S, RICCI M, HILTON L, et al. Controlling the reversible assembly of liposomes through a multistimuli responsive anchored DNA[J]. *Nano Lett*, 2016, 16(7): 4462-4466.
- [31] YANG Y, WANG J, SHIGEMATSU H, et al. Self-assembly of size-controlled liposomes on DNA nanotemplates[J]. *Nat Chem*, 2016, 8(5): 476-483.
- [32] RIES O, LÖFFLER P M G, RABE A, et al. Efficient liposome fusion mediated by lipid-nucleic acid conjugates[J]. *Org Biomol Chem*, 2017, 15(42): 8936-8945.
- [33] LOFFLER P M G, Ries O, Rabe A, et al. A DNA-programmed liposome fusion cascade[J]. *Angew Chem Int Edit*, 2017, 56(43): 13228-13231.
- [34] ALBERT S K, GOLLA M, THELU H V P, et al. Synthesis and self-assembly of DNA-chromophore hybrid Amphiphiles[J]. *Org Biomol Chem*, 2016, 14(29): 6960-6969.
- [35] WANG Y Y, WU C C, CHEN T, et al. DNA micelle flares: a study of the basic properties that contribute to enhanced stability and binding affinity in complex biological systems[J]. *Chem Sci*, 2016, 7(9): 6041-6049.
- [36] JIN C, LIU X J, BAI H R, et al. Engineering stability-tunable DNA micelles using photocontrollable dissociation of an intermolecular G-quadruplex[J]. *ACS Nano*, 2017, 11(12): 12087-12093.
- [37] HUANG Y R, VEZERIDIS A M, WANG J, et al. Polymer-stabilized perfluorobutane nanodroplets for ultrasound imaging agents[J]. *J Am Chem Soc*, 2017, 139(1): 15-18.
- [38] RAPOPORT N. Phase-shift, stimuli-responsive perfluorocarbon nanodroplets for drug delivery to cancer[J]. *Nanomed Nanobi*, 2012, 4(5): 492-510.
- [39] HONG M, ZHOU X, LU Z Q, et al. Nanoparticle-based, fluorine-tag-driven DNA detection[J]. *Angew Chem Int Edit*, 2009, 48(50): 9503-9506.
- [40] GODEAU G, ARNION H, BRUN C, et al. Fluorocarbon oligonucleotide conjugates for nucleic acids delivery[J]. *Med chem commun*, 2010, 1(1): 76-78.
- [41] ZOU J M, JIN C, WANG R W, et al. Fluorinated DNA micelles: synthesis and properties[J]. *Anal Chem*, 2018, 90(11): 6843-6850.
- [42] KRAFFT M P, RIESS J G. Chemistry, physical chemistry, and uses of molecular fluorocarbon-hydrocarbon diblocks, triblocks, and related compounds unique "apolar" components for self-assembled colloid and interface engineering[J]. *Chem Rev*, 2009, 109(5): 1714-1792.

- [43] XIE S T, AI L L, CUI C, et al. Functional aptamer-embedded nanomaterials for diagnostics and therapeutics[J]. *ACS Appl Mater Inter*, 2021, 13(8): 9542-9560.
- [44] BANCHELLI M, BETTI F, BERTI D, et al. Phospholipid membranes decorated by cholesterol-based oligonucleotides as soft hybrid nanostructures[J]. *J Phys Chem B*, 2008, 112(35): 10942-10952.
- [45] RIES O, LÖFFLER P M G, VOGEL S, et al. Convenient synthesis and application of versatile nucleic acid lipid membrane anchors in the assembly and fusion of liposomes[J]. *Org Biomol Chem*, 2015, 13(37): 9673-9680.
- [46] LIU L, DOU C X, LIU J W, et al. Cell surface-anchored DNA nanomachine for dynamically tunable sensing and imaging of extracellular pH[J]. *Anal Chem*, 2018, 90(19): 11198-11202.
- [47] PENG R Z, WANG H J, LYU Y, et al. Facile assembly/disassembly of DNA nanostructures anchored on cell-mimicking giant vesicles [J]. *J Am Chem Soc*, 2017, 139(36): 12410-12413.
- [48] SOUNDARARAJAN S, CHEN W, SPICER E K, et al. The nucleolin targeting aptamer AS1411 destabilizes bcl-2 messenger RNA in human breast cancer cells[J]. *Cancer Res*, 2008, 68: 2358.
- [49] YOU M X, LYU Y, HAN D, et al. DNA probes for monitoring dynamic and transient molecular encounters on live cell membranes[J]. *Nat Nanotechnol*, 2017, 12: 453-459.
- [50] OSBORN M F, COLES A H, BISCANS A, et al. Hydrophobicity drives the systemic distribution of lipid-conjugated siRNAs via lipid transport pathways[J]. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47: 1070-1081.
- [51] ALBERT S K, SIVAKUMAR I, GOLLA M, et al. DNA-decorated two-dimensional crystalline nanosheets[J]. *J Am Chem Soc*, 2017, 139: 17799-17802.
- [52] KRISHNAN N, GOLLA M, THELU H V P, et al. Self-assembly of DNA-tetraphenylethylene amphiphile into DNA-grafted nanosheet as a support for the immobilization of gold nanoparticles: A recyclable catalyst with enhanced activity[J]. *Nanoscale*, 2018, 10: 17174-17181.
- [53] GOLLA M, ALBERT S K, ATCHIMNAIDU S, et al. DNA-decorated, helically twisted nanoribbon: a scaffold for the fabrication of one-dimensional, chiral, plasmonic nanostructures[J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2019, 58: 3865-3869.
- [54] BAKARDZHIEV P, TONCHEVA-MONCHEVA N, MLADENOVA K, et al. Assembly of amphiphilic nucleic acid-polymer conjugates into complex superaggregates: Preparation, properties, and in vitro performance[J]. *Eur Polym J*, 2020, 131: 109692-109703.
- [55] WHITFIELD C J, ZHANG M, WINTERWERBER P, et al. Functional DNA-polymer conjugates[J]. *Chem Rev*, 2021, 49(1): 87-95.
- [56] ALBERT S K, THELU H V P, GOLLA M, et al. Self-assembly of DNA-oligo(*p*-phenylene-ethynylene) hybrid amphiphiles into surface-engineered vesicles with enhanced emission[J]. *Angew Chem Int Edit*, 2014, 126: 8492-8497.
- [57] KIM C J, HU X L, PARK S J. Multi-modal shape transformation of dual-responsive DNA block copolymers[J]. *J Am Chem Soc*, 2016, 138: 14941-14947.
- [58] LIU K, ZHENG L F, LIU Q, et al. Nucleic acid chemistry in the organic phase: from functionalized oligonucleotides to DNA side chain polymers[J]. *J Am Chem Soc*, 2014, 136: 14255-14262.
- [59] RAHBANI J F, VENGUT-CLIMENT E, CHIDCHOB P, et al. DNA nanotubes with hydrophobic environments: toward new platforms for guest encapsulation and cellular delivery[J]. *Adv Healthc Mater*, 2018, 7: 1701049-1701058.
- [60] WU G Y, LIU X M, ZHOU P, et al. The construction of thiol-functionalized DNA sponges with small molecules response and protein release[J]. *Mat Sci Eng C-Mater*, 2019, 99: 1153-1163.
- [61] JIN J, BAKER E G, WOOD C W, et al. Peptide assembly directed and quantified using megadalton DNA nanostructures[J]. *ACS Nano*, 2019, 13: 9927-9935.
- [62] SPRUIJT E, TUSK S E, BAYLEY H. DNA scaffolds support stable and uniform peptide nanopores[J]. *Nat Nanotechnol*, 2018, 13: 739-745.
- [63] NI R, CHAU Y. Tuning the inter-nanofibril interaction to regulate the morphology and function of peptide/DNA co-assembled viral mimics [J]. *Angew Chem Int Edit*, 2017, 56: 9356-9365.
- [64] YANG X, HE D G, HE X X, et al. A dopamine responsive nano-container for the treatment of pheochromocytoma cells based on mesoporous silica nanoparticles capped with DNA-templated silver nanoparticles[J]. *J Mater Chem B*, 2015, 3: 7135-7142.
- [65] DORE M D, FAKHOURY J J, LACROIX A, et al. Templated synthesis of spherical RNA nanoparticles with gene silencing activity[J]. *Chem Commun*, 2018, 54: 11296-11299.
- [66] ZENG X H, DE GROOT A M, SIJTS A J, et al. Surface coating of siRNA-peptidomimetic nano-self-assemblies with anionic lipid bilayers: enhanced gene silencing and reduced adverse effects in vitro[J]. *Nanoscale*, 2015, 7: 19687-19698.
- [67] BAO X T, ZENG J, HUANG H, et al. Cancer-targeted pedf-DNA therapy for metastatic colorectal cancer[J]. *Int J Pharmaceut*, 2019, 576: 118999-119008.
- [68] KAMALY N, XIAO Z, VALENCIA P M, et al. Targeted polymeric therapeutic nanoparticles: design, development and clinical transla-

- tion[J]. *Chem Soc Rev*, 2012, 41: 2971-3010.
- [69] LIU Y, BOS I S T, OENEMA T A, et al. Delivery system for budesonide based on lipid-DNA[J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2018; 130: 123-127.
- [70] THELU H V P, ALBERT S K, GOLLA M, et al. Size controllable DNA nanogels from the self-assembly of DNA nanostructures through multivalent host-guest interactions[J]. *Nanoscale*, 2018, 10: 222-230.
- [71] GOLLA M, THADDI S P, PERUMAL D, et al. Aptamer-decorated DNAsome for targeted cancer therapy[J]. *ChemNanoMat*, 2018, 4: 1153-1159.
- [72] KANG S J, JEONG H Y, KIM M W, et al. Anti-EGFR lipid micellar nanoparticles co-encapsulating quantum dots and paclitaxel for tumor-targeted theranosis[J]. *Nanoscale*, 2018, 10: 19338-19350.
- [73] RYU Y, HONG C A, SONG Y, et al. Modular protein-DNA hybrid nanostructures as a drug delivery platform[J]. *Nanoscale*, 2020, 12: 4975-4981.
- [74] CHEN W H, YU X, CECCONELLO A, et al. Stimuli-responsive nucleic acid-functionalized metal-organic framework nanoparticles using pH-and metal-ion-dependent DNAzymes as locks[J]. *Chem Sci*, 2017, 8: 5769-5780.
- [75] TAN X Y, LI B B, LU X G, et al. Light-triggered, self-immolative nucleic acid-drug nanostructures[J]. *J Am Chem Soc*, 2015, 137: 6112-6115.
- [76] YANG L, SUN H, LIU Y, et al. Self-Assembled Aptamer-grafted hyperbranched polymer nanocarrier for targeted and photoresponsive drug delivery[J]. *Angew Chem Int Ed*, 2018, 57: 17048-17052.
- [77] SUN L L, GAO Y J, WANG Y G, et al. Guiding protein delivery into live cells using DNA-programmed membrane fusion [J]. *Chem Sci*, 2018, 9: 5967-5975.
- [78] BOUSMAIL D, AMREIN L, FAKHOURY J J, et al. Precision spherical nucleic acids for delivery of anticancer drugs[J]. *Chem Sci*, 2017, 8: 6218-6229.
- [79] WANG K M, TANG Z W, YANG C J, et al. Molekulartechnische DNA-modifizierung: molecular beacons[J]. *Angew Chem*, 2009, 121: 870-885.
- [80] OKABE K, HARADA Y, ZHANG J, et al. Real time monitoring of endogenous cytoplasmic mRNA using linear antisense 20-O-methyl RNA probes in living cells[J]. *Nucleic Acids Res*, 2010, 39: e20-e26.
- [81] MONROY-CONTRERAS R, VACA L. Molecular beacons: powerful tools for imaging RNA in living cells[J]. *Nucleic Acids*, 2011, 2011:1-15.
- [82] SEFEROS D S, GILJOHANN D A, HILL H D, et al. Nano-flares: probes for transfection and mRNA detection in living cells[J]. *J Am Chem Soc*, 2007, 129: 15477-15479.
- [83] GILJOHANN D A, SEFEROS D S, PRIGODICH A E, et al. Gene regulation with polyvalent siRNA-nanoparticle conjugates[J]. *J Am Chem Soc*, 2009, 131: 2072-2073.
- [84] PADDISON P J, CAUDY A A, BERNSTEIN E, et al. Short hairpin RNAs (shRNAs) induce sequence-specific silencing in mammalian cells[J]. *Genes Dev*, 2002, 16: 948-958.
- [85] HALMAN J R, KIM K T, GWAK S J, et al. A cationic amphiphilic co-polymer as a carrier of nucleic acid nanoparticles (Nanps) for controlled gene silencing, immunostimulation, and biodistribution[J]. *Nanomedicine*, 2020, 23: 102094-102106.
- [86] RUSH A M, NELLES D A, BLUM A P, et al. Intracellular mRNA regulation with self-assembled locked nucleic acid polymer nanoparticles[J]. *J Am Chem Soc*, 2014, 136: 7615-7618.
- [87] KARAKI S, BENIZRI S, MEJIAS R, et al. Lipid-oligonucleotide conjugates improve cellular uptake and efficiency of TCTP-antisense in castration-resistant prostate cancer[J]. *J Control Release*, 2017, 258: 1-9.
- [88] KIM M W, JEONG H Y, KANG S J, et al. Cancer-targeted nucleic acid delivery and quantum dot imaging using EGF receptor aptamer-conjugated lipid nanoparticles[J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 9474-9486.
- [89] DING F, GAO X H, HUANG X G, et al. Polydopamine-coated nucleic acid nanogel for siRNA-mediated low-temperature photothermal therapy[J]. *Biomaterials*, 2020, 245: 119976-119981.
- [90] ZHENG A X, ZHANG X L, HUANG Y B, et al. Polydopamine-assisted versatile modification of a nucleic acid probe for intracellular microRNA imaging and enhanced photothermal therapy[J]. *Rsc Advances*, 2018, 8: 6781-6788.
- [91] ATCHIMNAIDU S, PERUMAL D, HARIKRISHANAN K S, et al. Phototheranostic DNA micelles from the self-assembly of DNA-BODIPY amphiphiles for the thermal ablation of cancer cells[J]. *Nanoscale*, 2020, 12: 11858-11862.
- [92] HUANG F J, YOU M X, CHEN T, et al. Self-assembled hybrid nanoparticles for targeted co-delivery of two drugs into cancer cells[J]. *Chem Commun*, 2014, 50: 3103-3105.
- [93] YAN H Y, GUO W H, LI K, et al. Combination of DESI2 and endostatin gene therapy significantly improves antitumor efficacy by accumulating DNA lesions, inducing apoptosis and inhibiting angiogenesis[J]. *Exp Cell Res*, 2018, 371: 50-62.

- [94] MOU Q B, MA Y, DING F, et al. Two-in-One chemogene assembled from drug-integrated antisense oligonucleotides to reverse chemoresistance[J]. *J Am Chem Soc*, 2019, 141: 6955-6966.
- [95] ZHANG R, GAO S, WANG Z L, et al. Multifunctional molecular beacon micelles for intracellular mRNA imaging and synergistic therapy in multidrug-resistant cancer cells[J]. *Adv Funct Mater*, 2017, 27: 1701027-1701038.
- [96] FAKIH H H, FAKHOURY J J, BOUSMAIL D, et al. Minimalist design of a stimuli-responsive spherical nucleic acid for conditional delivery of oligonucleotide therapeutics[J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2019, 11: 13912-13920.
- [97] FANG Y, LU X G, WANG D L, et al. Spherical nucleic acids for topical treatment of hyperpigmentation[J]. *J Am Chem Soc*, 2021, 143: 1296-1300.
- [98] LEE S H, LEE J Y, KIM J S, et al. Amphiphilic siRNA conjugates for Co-delivery of nucleic acids and hydrophobic drugs[J]. *Bioconjugate Chem*, 2017, 28: 2051-2061.
- [99] SUN X Y, CHEN Y, ZHAO H, et al. Dual-modified cationic liposomes loaded with paclitaxel and survivin siRNA for targeted imaging and therapy of cancer stem cells in brain glioma[J]. *Drug Deliv*, 2018, 25: 1718-1727.
- [100] SUN W T, WANG Y, CAI M Y, et al. Codelivery of sorafenib and GPC3 siRNA with PEI-modified liposomes for hepatoma therapy[J]. *Biomater Sci*, 2017, 5: 2468-2479.
- [101] DUAN R L, LI T, DUAN Z J, et al. Near-infrared light activated nucleic acid cascade recycling amplification for spatiotemporally controllable signal amplified mRNA imaging[J]. *Anal Chem*, 2020, 92: 5846-5854.
- [102] SHI L L, WU W B, DUAN Y K, et al. Light-induced self-escape of spherical nucleic acid from endo/lysosome for efficient non-cationic gene delivery[J]. *Angew Chem Int Ed*, 2020, 59: 19168-19174.
- [103] CHARBGOO F, ALIBOLANDI M, TAGHDISI S M, et al. MUC1 aptamer-targeted DNA micelles for dual tumor therapy using doxorubicin and KLA peptide[J]. *Nanotechnol*, 2018, 14: 685-697.
- [104] ZHENG A X, ZHANG X L, HUANG Y B, et al. Polydopamine-assisted versatile modification of a nucleic acid probe for intracellular microRNA imaging and enhanced photothermal therapy[J]. *RSC Advances*, 2018, 8: 6781-6788.
- [105] ALBERT S K, GOLLA M, THELU H V P, et al. A pH-responsive DNAsome from the self-assembly of DNA-phenyleneethynylene hybrid amphiphile[J]. *Chemistry*, 2017, 23: 8348-8352.
- [106] BRAVO-ANAYA L M, GARBAY B, NANDO-RODRIGUEZ J L E, et al. Nucleic acids complexation with cationic elastin-like polypeptides; Stoichiometry and stability of nano-assemblies[J]. *Colloid Interface Sci*, 2019, 557: 777-792.
- [107] DING Y P, SU S S, ZHANG R R, et al. Precision combination therapy for triple negative breast cancer via biomimetic polydopamine polymer core-shell nanostructures[J]. *Biomaterials*, 2017, 113: 243-252.
- [108] WANG D G, WANG T T, LIU J P, et al. Acid-activatable versatile micelleplexes for PD-L1 blockade-enhanced cancer photodynamic immunotherapy[J]. *Nano Lett*, 2016, 16: 5503-5513.
- [109] WANG S F, LIAO H W, LI F Y, et al. A mini-review and perspective on ferroptosis-inducing strategies in cancer therapy[J]. *Chinese Chem Lett*, 2019, 30: 847-852.