

透明质酸纳米材料在荧光/光声成像和光疗中的应用

潘立祥^a 黄艳琴^{*,a} 盛况^a 张瑞^{a,c} 范曲立^a 黄维^{*,a,b}^(a) 南京邮电大学 有机电子与信息显示国家重点实验室 信息材料与纳米技术研究院 南京 210023)^(b) 西北工业大学 柔性电子研究院 西安 710072)^(c) 东南大学附属中大医院 眼科 南京 210009)

摘要 荧光/光声成像和光疗技术的生物医学应用引起了人们越来越多的关注,然而很多荧光/光声造影剂存在生物相容性较差,缺乏肿瘤靶向性,信噪比较低,功能单一等共性问题,严重限制其诊疗应用.透明质酸具有优异的生物相容性和主动肿瘤靶向性,可被透明质酸酶降解,并且易于化学修饰和实现多种超分子弱相互作用力协同工作.因此,人们将透明质酸与荧光/光声造影剂结合制备纳米材料,使其在细胞乃至活体的标记性能和治疗效果获得了很大的改善.本文综述了将两类物质结合制备纳米材料的方法,着重阐述了纳米材料的结构与性能关系,为其未来设计和开发提供了指导,最后对存在的主要问题以及未来的重要研究方向进行了分析和展望.

关键词 透明质酸; 荧光成像; 光声成像; 光热治疗; 光动力治疗

Applications of Hyaluronic Acid Nanomaterials in Fluorescence/Photoacoustic Imaging and Phototherapy

Lixiang Pan^a Yanqin Huang^{*,a} Kuang Sheng^a Rui Zhang^{a,c} Quli Fan^a Wei Huang^{*,a,b}^(a) State Key Laboratory of Organic Electronics and Information Displays & Institute of Advanced Materials (IAM), Nanjing University of Posts & Telecommunications, Nanjing 210023, China.)^(b) Shaanxi Institute of Flexible Electronics (SIFE), Northwestern Polytechnical University (NPU), Xi'an 710072, China)^(c) Department of Ophthalmology, Zhongda Hospital, Southeast University, Nanjing 210009, China)

Abstract The biomedical applications of fluorescence/photoacoustic imaging and phototherapy have attracted more and more attention. However, many fluorescent/photoacoustic contrast agents have some common problems, such as poor biocompatibility, lack of tumor targeting, low signal-to-noise ratio, single function and so on, which seriously limit their application in diagnosis and treatment. Hyaluronic acid (HA) exhibits excellent biocompatibility and active tumor targeting, can be degraded by hyaluronidase, and is easy to be chemically modified and realize the cooperation of a variety of supramolecular weak interactions. Therefore, HA has been combined with fluorescent/photoacoustic contrast agents to prepare nanomaterials, which greatly improves the labeling performance and therapeutic effects in cells and even *in vivo*. In this paper, the preparation methods of nanomaterials by combining these two kinds of materials are reviewed, and the relationships between the structure and performance of nanomaterials are emphasized, which provides guidance for their future design and development. Finally, the main problems and important research directions in the future are analyzed and prospected.

Keywords hyaluronic acid; fluorescence imaging; photoacoustic imaging; photothermal therapy; photodynamic therapy

1 引言

对恶性肿瘤的早期诊断和有效治疗是提高治愈率和存活率的一个重要手段^[1-2].作为用于恶性肿瘤临床早期诊断和定位的非侵入式新兴影像技术,荧光(FL)成像和光声(PA)成像在生物医学领域的研究和应用引起了人们的高度重视^[3-7].它们不需使用放射性物质,具有实时动态监测、灵敏度高和费用较低等优点,而且有可能在成像的同时进行治疗.其中,双光子、近红外(NIR)

一区(750~1000 nm)和 NIR 二区(1000~1700 nm)荧光成像的激发波长在生物光学窗口范围内,与可见光区成像相比,生物组织对光的吸收和散射比较少,光致损伤小,自发荧光更弱,信噪比高,穿透能力更强,分辨率和灵敏度大幅度提高,近年来被广泛应用于各种疾病的实验研究,主要集中在肿瘤、炎症和心血管疾病的早期诊断和治疗效果的动态监测^[8-13].光声成像则结合了光学成像的高对比度、高分辨率和超声成像的高穿透性优

* E-mail: iamyqhuang@njupt.edu.cn; provost@nwpu.edu.cn; Tel.: 025-85866396.

Received May 17, 2021; published July 28, 2021.

Project supported by the Ministry of Education of China (IRT1148), Priority Academic Program Development of Jiangsu Higher Education Institutions (PAPD), the Jiangsu National Synergetic Innovation Center for Advanced Materials (SICAM), and the open research fund of State Key Laboratory of Organic Electronics and Information Displays.

教育部创新团队(IRT1148)、江苏高校优势学科建设工程资助项目、先进生物与化学制造国家协同创新中心及有机电子与信息显示国家重点实验室开放研究基金资助课题资助。

势,其原理是生物组织在脉冲近红外激光照射下吸收光能将之转为热能,导致体积周期性膨胀,从而通过收集产生的超声信号重构生物组织影像,已经在淋巴结、毛细血管、脑部肿瘤等的成像研究中取得了较好的结果^[14-17].而且,有的荧光造影剂被光激发后能同时产生具有强氧化能力的活性氧(ROS),可以作为光敏剂(PS),有的光声造影剂能把吸收的近红外光能转化为局部高热,活性氧和局部高热在病灶部位能够有效杀伤疾病细胞.这两种光疗方法分别被称为光动力治疗(PDT)和光热治疗(PTT),不仅能进行无创疾病治疗,还可以通过对外加光源进行控制,很好地区分病灶部位和正常组织,有效提高治疗选择性,减少副作用^[18-22].

目前,人们已研究开发出多种荧光/光声造影剂,可分为无机材料(例如半导体纳米晶、贵金属 Au 和 Ag 纳米粒子、上转换纳米粒子、碳基纳米材料等)和有机材料(例如共轭材料、各种染料小分子等).将这些造影剂直接进行生物应用时,其性能常存在如下共性问题:(1)水溶性较差,导致生物相容性低;(2)缺乏肿瘤靶向性和智能化响应,信噪比较低,对正常组织的毒副作用较大;(3)功能比较单一,在多模态成像及多种治疗方式相结合提高诊疗效果方面尚需进一步探索^[7,10-11,23-26].为此,人们将荧光/光声造影剂与透明质酸(hyaluronic acid, HA)结合,使其性能获得了很大的改善. HA 是生物体内的天然成分,由葡萄糖醛酸(GlcUA)和 *N*-乙酰氨基葡萄糖(GlcNAc)的双糖单位重复连接形成的链状聚合物(图 1),分子中含有的大量羧基、羟基、酰胺基,使其在水溶液中可形成分子内和分子间氢键,并产生多级结构.因此,HA 具有优异的水溶性和生物相容性,可实现多种超分

子弱相互作用力(静电作用、氢键作用、疏水作用和空间匹配等)协同工作,其分子中的四个部位——羟基、*N*-乙酰氨基、羧基以及还原末端,均可被化学修饰^[9].尤为重要,在多种肿瘤病变局部(如乳腺癌、肝癌、脑癌、胰腺癌和膀胱癌等),若干 HA 特异性受体的表达会明显升高(其中最重要是 CD44 受体),因而 HA 衍生物具有主动肿瘤靶向性,并且能被肿瘤细胞中高浓度的透明质酸酶降解^[27].因此,人们将 HA 和抗癌药物结合起来,研究开发了大量的靶向给药体系,很好地改善了药物输送和治疗的效果^[28].

近年来,人们又将荧光/光声造影剂与 HA 的优势特性相结合,获得了具有较好生物相容性和肿瘤靶向性的纳米材料,可同时实现荧光、光声成像等多模态成像,以及光热治疗、光动力治疗或化疗的协同治疗功能.本文将主要就 HA 与荧光/光声造影剂如何结合制备纳米材料,及其在荧光、光声成像和协同治疗等方面的应用做一简要综述.

2 透明质酸与荧光/光声造影剂结合制备纳米材料的方法

2.1 化学修饰方法

HA 的化学修饰主要在以下三个位点进行(图 1a): (1) GlcUA 上的羧基,通常在水性条件下先用碳二亚胺和 *N*-琥珀酰亚胺(NHS)或 1-羟基苯并三唑(HOBT)使其活化得到活性酯,再与伯胺反应成酰胺或与醇反应成酯(图 1b); (2) GlcNAc 中 C-6 位上的羟基,用酸酐、酰氯或环氧化物等使其酯化或成醚(图 1c); (3) 二糖重复单元

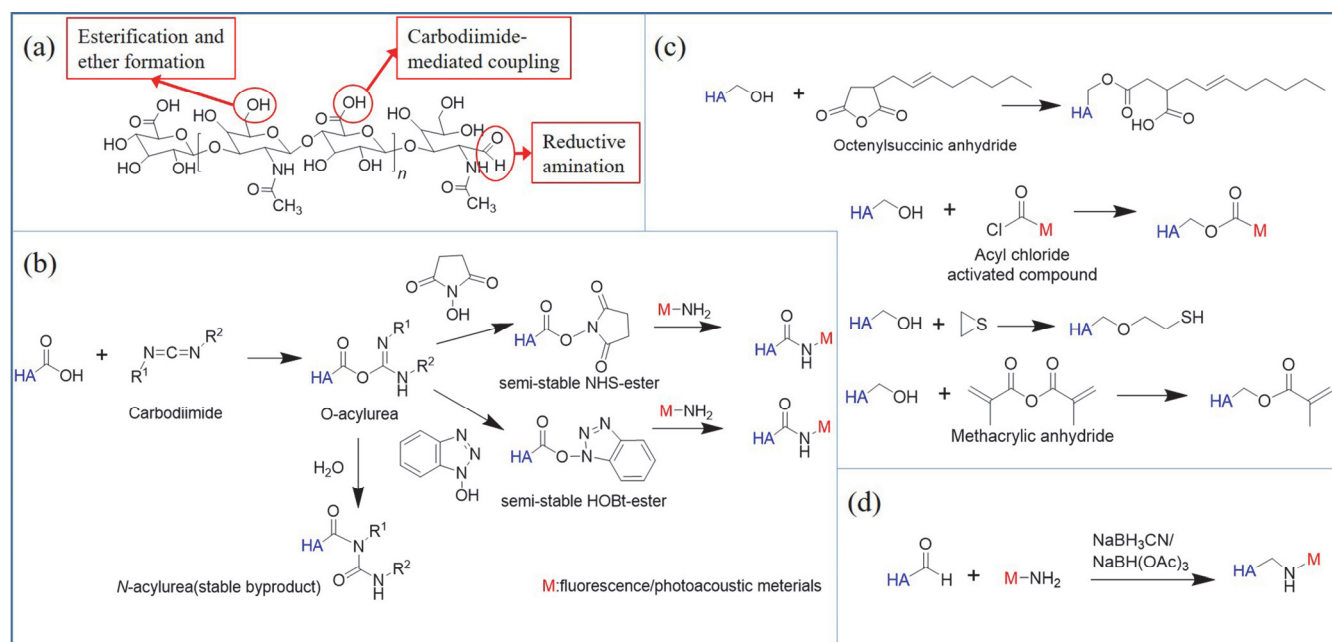


图 1 (a) HA 的化学结构及其化学修饰的主要部位. (b)羧基, (c)羟基和(d)还原末端的化学修饰反应方案^[29]

Figure 1 (a) Chemical structure of HA and its principal site for chemical modification. Reaction schemes show chemical modification of HA using (b) carboxylic acid group, (c) hydroxyl group, and (d) reducing end group^[29]

的还原端, 可以对其进行还原胺化来改性(图 1d)^[29].

目前, 大部分荧光/光声造影剂与 HA 的化学结合位在羧基, 但由于羧基在与 HA 受体的特异性相互作用中起重要作用, 需要注意控制修饰的程度, 研究表明对羧基的少量修饰(小于 25%)不影响 HA 有效识别受体^[30]. 如图 2a 所示, Luo 等^[31-32]在 HA 上通过酰胺键接枝氟化硼二吡咯甲川染料(BODIPY)得到 HA-BODIPY(图 2a), Shi 等^[33]合成了二碘苯乙烯基 BODIPY, 使其吸收和发射光谱红移, 并通过酯键接枝得到与二碘苯乙烯基 BODIPY 结合的 HA (DBHA) (图 2b).

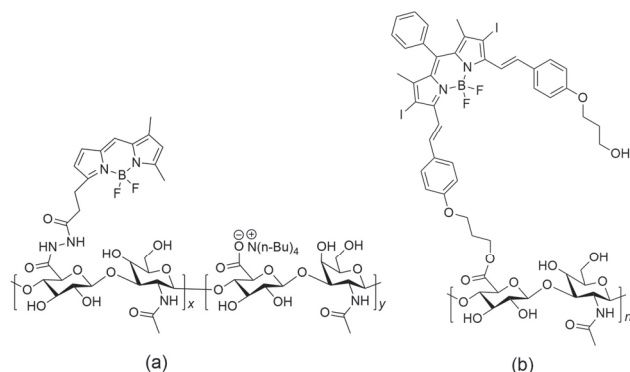


图 2 (a) HA-BODIPY 和(b) DBHA 的结构^[31-33]

Figure 2 Structures of (a) HA-BODIPY and (b) DBHA^[31-33]

2.2 物理包封方法

2.2.1 静电吸附法

Bhang 等^[34]用硫辛酸和乙二胺反应后还原的产物与半导体纳米晶(QD)进行表面配体交换, 通过二硫醇与 QD 连接, 具有正电荷的伯胺部分使 QD 表面带正电荷, 可以与 HA 上的负电产生静电吸附, 形成 HA-QD 纳米粒子(图 3). 该方法可以在 1:10 到 4:1 之间调控 $n(\text{QD}):n(\text{HA})$ 的物质的量比来获得粒径在 50~120 nm 范围的纳米粒子, 并在数周内具有良好的稳定性.

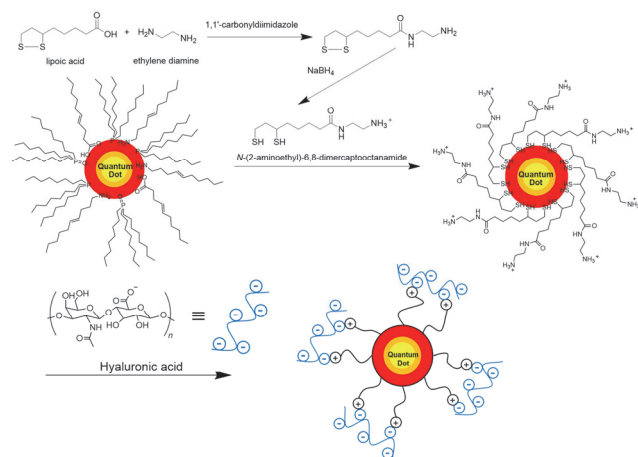


图 3 静电吸附法制备 HA-QD 纳米粒子^[34]

Figure 3 Preparation of HA-QD nanoparticles by electrostatic adsorption^[34], Copyright 2009, American Chemical Society

2.2.2 疏水组装法

先在 HA 上化学修饰各种疏水基团, 例如 5 β -胆烷酸、芳香烃或长链烷烃等, 获得两亲性 HA 衍生物, 它们在水溶液中可自组装形成核-壳纳米粒子, 其疏水性内核可用于包封造影剂及药物. 通常, 增加疏水基团的取代度会导致内核的疏水相互作用增强, 从而降低纳米粒子的尺寸; 但取代度过大时, 会导致 HA 衍生物水溶性变差, 甚至产生沉淀. Hill 等^[35]在 HA 羧基上连接芳香基作为疏水基团, 衍生物自组装包裹吲哚菁绿(ICG)形成粒径在 80~150 nm 范围的纳米粒子(图 4). Yoon 等^[36]以 5 β -胆烷酸为疏水基团, HA 衍生物自组装包裹光敏剂二氢卟吩 e6 (Ce6)获得了粒径大约 250 nm 的纳米粒子.

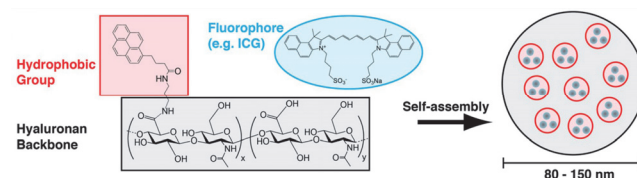


图 4 疏水基团修饰的透明质酸衍生物自组装包封吲哚菁绿形成纳米粒子^[35]

Figure 4 Hydrophobic group-modified HA derivatives self-assemble and encapsulate indocyanine green to form nanoparticles^[35], Copyright 2015, American Chemical Society

2.2.3 凝胶包封法

如图 5 所示, Jalani 等^[37]在生理 pH 条件下, 以壳聚糖(CH)和 HA 为原料, 以 β -甘油磷酸酯(BGP)和京尼平(GN)为共交联剂, 制备出高度均匀的凝胶, 用于包封二氧化硅涂覆的 $\text{LiYF}_4:\text{Yb}^{3+}/\text{Tm}^{3+}$ 上转换纳米粒子 $\text{UCNPs}@/\text{SiO}_2$. 由于 SiO_2 表面亲水, 纳米粒子可以被凝胶化的 CH-HA 包封而均匀分散.

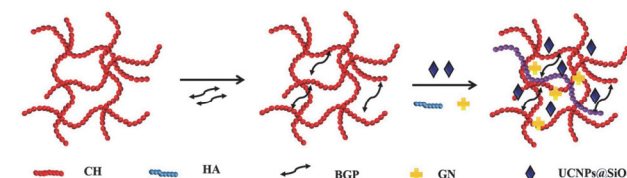


图 5 凝胶化壳聚糖-透明质酸包封二氧化硅涂覆的上转换纳米粒子^[37]

Figure 5 Gelatinization of CH-HA and its encapsulation of UCNPs@SiO₂ nanoparticles^[37], Copyright 2015, Royal Society of Chemistry

2.2.4 反胶束法

Wang 等^[38]将表面用油酸胺保护的疏水性 QD 分散在环己烷中, 半胱胺修饰的 HA 和表面活性剂 IGEPAL CO-520 溶于水中, 以四甲基氢氧化铵为相转移催化剂, 发生配体交换, 形成反胶束, 得到粒径约为 22.6 nm 的 HA-QD 纳米粒子(图 6). 这样采用简便的一步反胶束法制得的 HA-QD 在缓冲溶液中具有非常好的稳定性, 能存放超过 140 d, 并且能够在大的 pH 范围(2~12)内保持正常.

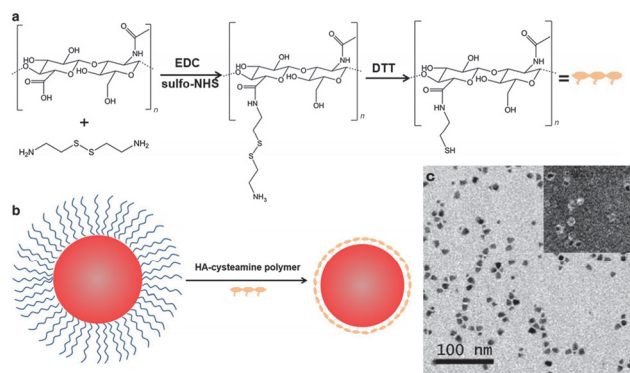


图6 (a) HA-半胱胺聚合物的合成路径; (b) HA-半胱胺聚合物包覆量子点的示意图; (c) HA-QD 的 TEM 图像^[38]

Figure 6 (a) Synthesis path of HA-cysteamine polymer; (b) schematic diagram of HA-cysteamine polymer-encapsulated quantum dots; (c) TEM image of HA-QD^[38], Copyright 2014, Springer Science Business Media Dordrecht

2.3 多种方法结合

Huang 等在 HA 羧基上通过化学修饰引入荧光素^[39]或抗癌药物阿霉素^[40], 再与阳离子型共轭聚合物一起基于静电和疏水作用结合制备得到纳米材料, 同时利用了化学修饰和物理封装方法。

3 透明质酸纳米材料应用于荧光/光声成像及光疗

3.1 HA 与无机造影剂结合

无机荧光/光声造影剂通常存在水溶性和生物相容性差的问题, 无法直接用于生物体进行成像或治疗; 或者粒径过小, 如果小于 10 nm, 在体内循环时容易被肾脏快速清除。

3.1.1 半导体纳米晶体量子点(QD)

QD 具有宽的激发光谱、窄的发射光谱、可精确调谐的发射波长以及良好的抗光漂白性能等优越特性。Bhang 等^[34]将用静电吸附法制备的 HA-QD 纳米粒子对过量表达 HA 受体的 HeLa(宫颈癌)细胞进行荧光成像, 证明其具有较好的靶向性和较小的细胞毒性。如图 7, 对裸鼠的耳朵皮下注射 HA-QD 进行淋巴管系统成像, 发现沿着血管内壁具有明亮荧光的淋巴管清晰可见, 证明其可与淋巴管内皮受体 1 (LYVE-1)等作用进入淋巴管内细胞, 具有数天的长时间成像能力, 有希望用于实时显示淋巴管生成, 而未连接 HA 的 QD 成像结果则很模糊。

3.1.2 Au、Ag 纳米粒子(NP)

Au、Ag NP 具有独特的光学性质, 包括表面增强, 距离/折射率依赖的光谱性质和抗光漂白性能, 在近红外区域有强烈的吸收和有效的光热转换。Wu 等^[41]开发了一类具有核壳结构的 Ag-Au@PEG-HA 杂化多功能纳米凝胶。它以 Ag-Au 双金属 NP 为核, 以热响应非线性

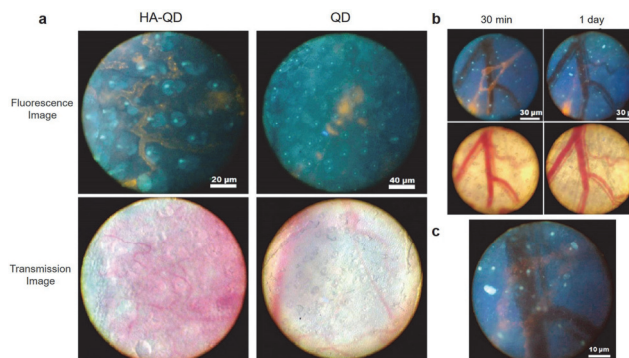


图7 (a)透明质酸-量子点和量子点在裸鼠耳朵皮下注射部位附近的荧光和透射显微镜图像; (b) 注射透明质酸-量子点 30 min 和 1 d 后拍摄的荧光和透射显微镜图像; (c) 注射透明质酸-量子点 1 d 后拍摄的放大荧光图像^[34]

Figure 7 (a) Fluorescence and transmission microscope images of HA-QD and QD near the subcutaneous injection sites; (b) fluorescence and transmission microscope images taken 30 min and 1 d after injection of HA-QD; (c) enlarged fluorescence image taken 1 d after injection of HA-QD^[34], Copyright 2009, American Chemical Society

PEG 凝胶为壳, 能响应温度变化产生可逆膨胀和收缩, 从而影响 Ag-Au NP 核的物理化学环境实现荧光传感, 同时控制抗癌药物替莫唑胺的释放; 凝胶表面通过氢键再覆上 HA, 用于靶向小鼠黑色素瘤 B16F10 细胞过量表达的 CD44 受体, 提高成像效果(图 8)。这样, Ag-Au@PEG-HA 将环境响应的荧光传感、靶向癌细胞的荧光成像、光热治疗、可控药物释放等功能结合到一

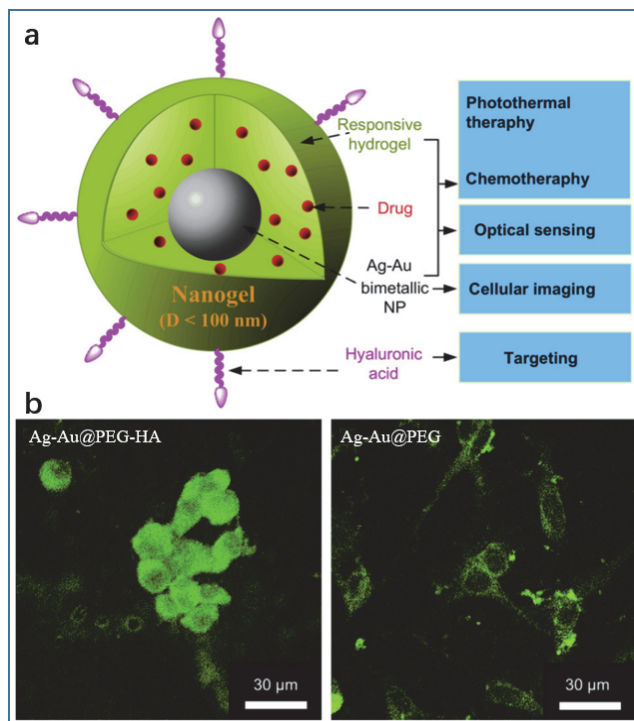


图8 (a)多功能核壳杂化纳米凝胶示意图; (b) B16F10 细胞荧光成像^[41]

Figure 8 (a) Schematic illustration of multifunctional core-shell hybrid nanogels; (b) FL imaging of B16F10 cells^[41], Copyright 2010, Elsevier Ltd.

个体系中。

Lee 等^[42-44]设计了一系列纳米 Au 与 HA 复合的荧光探针。例如, 将荧光素标记的 HA 在还原末端修饰上多巴胺后, 通过多巴胺与 Au 形成比 Au-S 键更加稳定的 Au-儿茶酚键, 并且由于纳米粒子 HFAuNPs 表面能量转移使荧光素猝灭; 而活性氧(ROS), 如超氧阴离子($O_2^{\cdot-}$)和羟基自由基($\cdot OH$), 能降解 HA, 使荧光素的绿色荧光恢复, 从而能实时定量检测 ROS。与常用市售 2',7'-二氯二氢荧光素(DCFH)等 ROS 探针相比, 该探针监测细胞内 ROS 的性能更优异^[42], 可以作为 ROS 的细胞成像探针(图 9)。

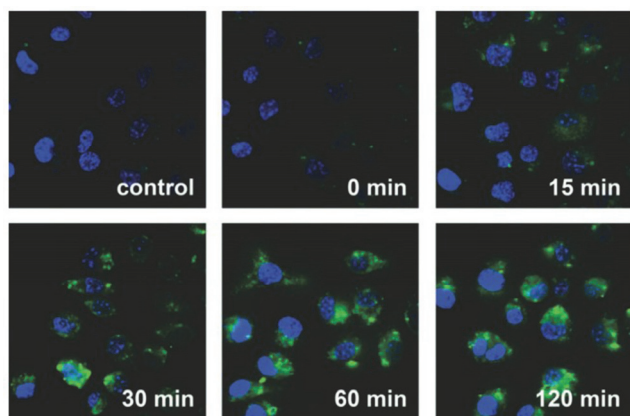


图 9 巨噬细胞内在脂多糖(LPS)刺激下产生 ROS, HFAuNPs 的绿色荧光逐渐恢复。Hoechst 33628(蓝色)用于细胞核染色^[42]

Figure 9 Intracellular ROS was generated in macrophage cells upon LPS stimulation, and the green fluorescence recovery from HFAuNPs was monitored. Hoechst 33628 (blue) was used for staining the nucleus of cells^[42], Copyright 2009, Wiley-VCH

3.1.3 CuS

CuS 具有强近红外吸收和光热效应, 是很好的光声成像造影剂和光热治疗剂。Zhang 等^[45]在透明质酸羧基上连接 5 β -胆烷酸和荧光染料 Cy5.5, 通过疏水自组装得到纳米粒子 HANP, 并用高压均质机将 CuS 加载到 HANP 中获得复合纳米材料 HANPC。HANPC 中 Cy5.5 的荧光被 CuS 猝灭, 当 HA 被小鼠鳞状细胞癌 SCC7 细胞中高表达的透明质酸酶降解后, 荧光被激活, 从而实现智能化荧光响应。HANPC 光声成像和光热治疗效果大大优于 CuS, 5 d 肿瘤抑制率可达 89.74%(图 10)。

3.1.4 上转换纳米粒子(UCNPs)

UCNPs 通常在近红外波段吸收两个或多个相对较低能量的入射光子后转换成一个具有较高能量的光子发射。Wang 等^[46]首次将 UCNPs 与 HA 结合, 用一步溶剂热法简便地合成了均匀单分散的 HA-UCNPs($NaYF_4: Yb, Gd, Tm$); 在模型荷瘤老鼠(MDA-MB-231 人乳腺癌肿瘤)中进行了成像, 显示优异的化学稳定性和生物相容性; 通过与普通裸鼠成像和用二甘醇-UCNPs (DEG-UCNPs)成像效果对比, 证明其具有良好的 NIR 荧光靶向成像能力(图 11), 同时也具有磁共振(NMR)成

像能力。HA 与 UCNPs 结合还被证明能够很好地应用于深层生物组织成像^[35]和 ROS 检测^[47]等领域。

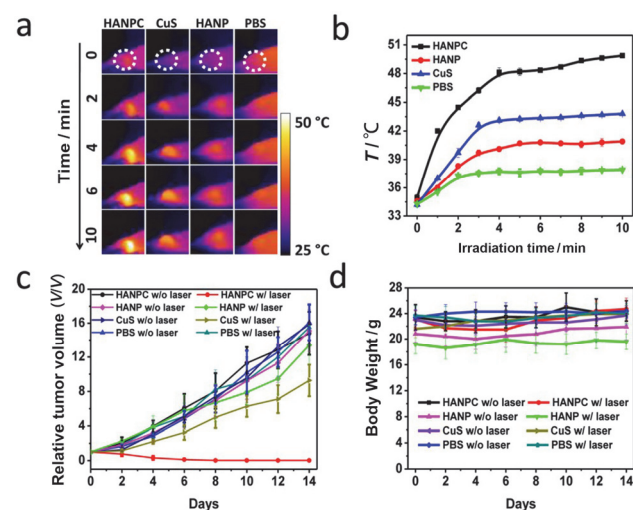


图 10 SCC7 荷瘤小鼠的体内光热治疗。(a)热成像; (b)肿瘤温度随时间变化曲线; (c)肿瘤体积随时间变化曲线; (d)小鼠体重随时间变化曲线^[45]

Figure 10 *In vivo* photothermal therapy of SCC7 tumor-bearing mice. (a) Thermal images; (b) temperature changes in tumor area at different time points; (c) SCC7 tumor growth rate; (d) body weight curves^[45], Copyright 2014, American Chemical Society

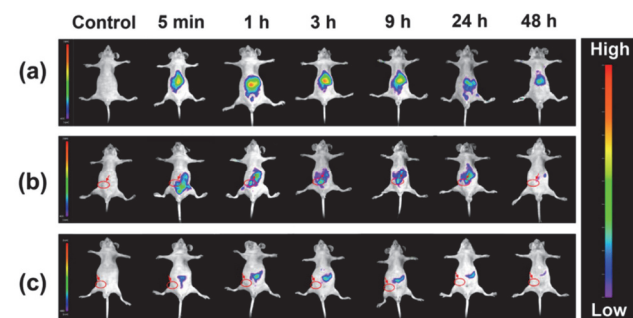


图 11 普通裸鼠(a)和模型荷瘤老鼠(b)静脉注射 HA-UCNPs 后的荧光成像和(c)模型荷瘤老鼠注射 DEG-UCNPs 后的荧光成像^[46]

Figure 11 FL imaging of normal nude mice (a) and model mice (b) after intravenous injection of HA-UCNPs, and model mice (c) after intravenous injection of DEG-UCNPs^[46], Copyright 2013, American Chemical Society

3.1.5 碳基纳米材料

碳基纳米材料主要是指由碳原子组成的零维、一维、二维纳米材料^[48-50], 具有独特的光电性能, 高抗光漂白性和较好的生物相容性等优势。其中, 碳纳米管(CNTs)^[51-52], 碳点^[53]和石墨烯^[54]在生物医学研究与应用领域已经受到广泛关注。Swierczewska 等^[55]用 5 β -胆烷酸修饰的透明质酸通过疏水和 π - π 相互作用对单壁碳纳米管(SWCNTs)进行简单的一步包覆, 获得了具有很好的生物相容性、肿瘤靶向性和细胞通透性的多功能材料 HA-NT。其中, SWCNTs 可以用于光声成像、光热治疗和载药, 通过在 HA 上标记 ^{64}Cu 和 Cy5.5, 还能同时实现小鼠 SCC7 肿瘤的正电子发射断层扫描成像(PET)和透明质酸酶激活的近红外荧光成像(图 12)。

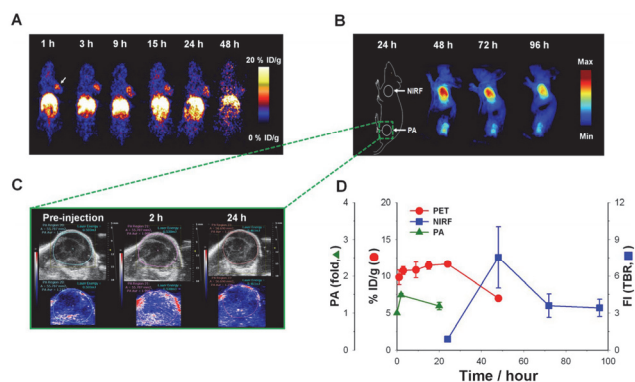


图 12 SCC7 荷瘤小鼠的(A) PET 成像; (B) NIR 荧光成像; (C) 超声(上)和光声成像(下); (D) 肿瘤部位各成像模式强度随时间的变化^[55]

Figure 12 (A) PET imaging, (B) NIR fluorescence imaging, (C) ultrasound (top) and photoacoustic imaging (bottom) of SCC7 tumor-bearing mice; (D) quantitative analysis of the intensity of all imaging modes at the tumor site over time^[55], Copyright 2012, American Chemical Society

3.2 HA 与有机造影剂结合

与无机材料相比, 有机荧光/光声造影剂易于通过结构设计调控光谱范围, 进行功能化修饰, 生物毒性较低; 但是水溶性仍需要改善, 小分子在体内循环时间短, 易被化学分解。

3.2.1 共轭材料

共轭材料包括共轭小分子和聚合物, 具有摩尔吸收系数大、荧光量子产率高、光稳定性好和生物毒性较低的优点^[24,56]。人们将 HA 与共轭小分子^[57-59]、共轭聚合物^[39-40,60]等结合制备了一系列的纳米材料。如图 13, Huang 等^[40]在 HA 上共价连接阿霉素(DOX), HA-DOX 与阳离子型 2,7-芴乙炔-1,4-苯交替共聚物(PFEP)通过静电作用形成纳米粒子, 同时 PFEP 的荧光被 DOX 猝灭。当纳米粒子进入 HeLa 细胞后, HA 被透明质酸酶(HAase)降解, 因此 PFEP 荧光被激活, 并由此实现对 HAase 的定量荧光检测, 以及靶向荧光成像和药物控制释放。

Huang 等^[58]还将双光子光敏剂——共轭小分子双(芴乙炔苯基)苯并噻二唑(BFVPBT)通过含二硫键的短链共价连接到 HA 上, 得到 HA-SS-BFVPBT(图 14), 并通过疏水组装法制备了负载抗癌药物喜树碱的纳米粒子 HSBNPs, 此时 BFVPBT 的荧光由于聚集效应被部分猝灭。HSBNPs 中二硫键可与肿瘤内高浓度的还原性谷胱甘肽反应而断裂, 同时由于透明质酸酶对 HA 的降解, 从而能够实现双重智能化响应的荧光激活和药物控制释放。如图 15, HSBNPs 实现了对 HeLa 细胞的高对比度靶向双光子荧光成像, 对 HeLa 荷瘤小鼠尾静脉注射 7.5 h 后荧光信号基本上富集在右前肢腋窝肿瘤处, 同时具有光动力治疗和化疗的协同治疗功能。

3.2.2 花菁染料

通过共轭链长度的调节, 花菁染料的光谱可以从可见光区一直延伸到近红外区, 且对外界微环境的变化极

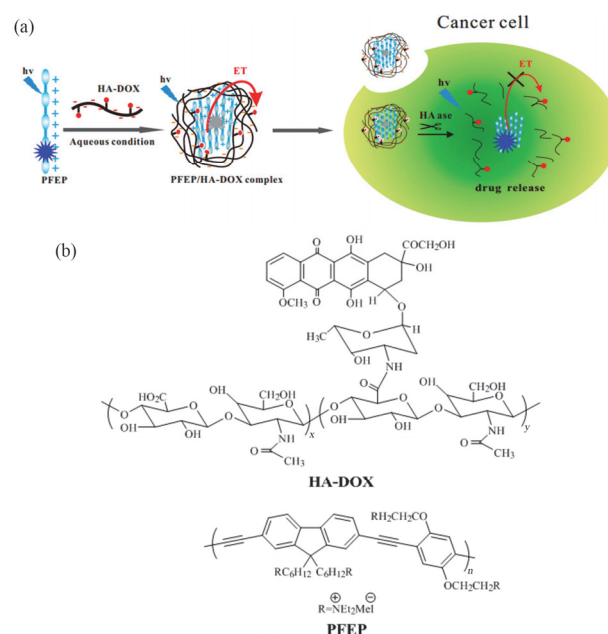


图 13 (a)检测透明质酸酶、荧光细胞成像和阿霉素控制释放的示意图; (b) HA-DOX 和 PFEP 的化学结构^[40]

Figure 13 (a) Schematic illustration of the overall strategy for HAase detection, fluorescence cell imaging and controlled DOX release; (b) chemical structures of HA-DOX and PFEP^[40], Copyright 2015, American Chemical Society

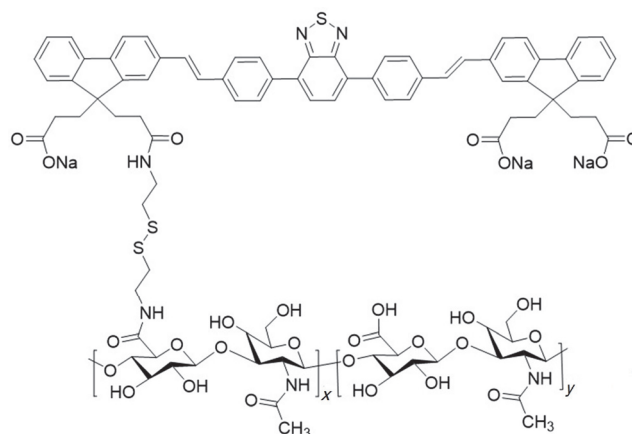


图 14 HA-SS-BFVPBT 的化学结构^[58]

Figure 14 Chemical structure of HA-SS-BFVPBT^[58], Copyright 2019, American Chemical Society

为敏感, 非常适合生物样品的分析^[61], 常用的有花菁染料 Cy5.5^[62-63]、七甲川吡啶花菁染料 IR825^[64]和吡啶菁绿 ICG 等^[64-71]。

Liang 等^[63]设计将 IR825 与 HA 共价连接, 再通过分子自组装将全氟辛基溴(PFOB)封装在纳米粒子内部, 制备了 PFOB@IR825-HA-Cy5.5 复合纳米材料; 如图 16, Cy5.5 通过静电等相互作用进一步吸附在纳米粒子外部, 其荧光被内部的 IR825 部分猝灭, 但后来由于 HA 被肿瘤中的透明质酸酶(Hyal-1)降解, 导致强烈的荧光增强。IR825 能够用于光声成像和光热治疗, PFOB 增

强了计算机断层扫描(CT)对比度. 因此, PFOB@IR825-HA-Cy5.5 可以很好地实现 NIR FL/CT/PA 靶向成像引导的光热治疗.

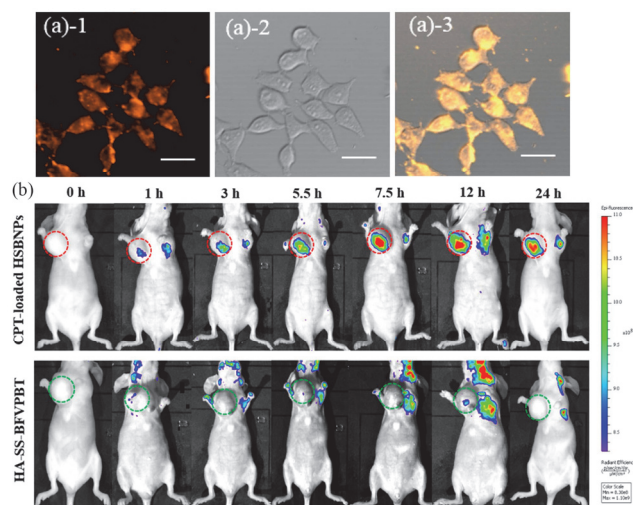


图 15 负载喜树碱的 HSBNPs 用于(a) HeLa 细胞双光子激发荧光成像; (b) HeLa 荷瘤小鼠体内荧光成像^[58]

Figure 15 CPT-loaded HSBNPs were used for (a) two-photon excitation images of HeLa cells; (b) *in vivo* FL imaging of HeLa-tumor-bearing mice^[58], Copyright 2019, American Chemical Society

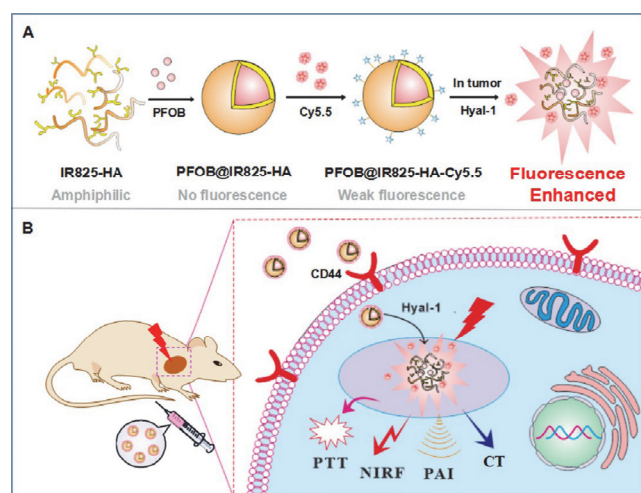


图 16 (A) PFOB@IR825-HA-Cy5.5 纳米粒子的制备; (B)复合纳米材料用于 NIRFL/PA/CT 三模态成像引导的光热肿瘤消融示意图^[63]

Figure 16 (A) Preparation of PFOB@IR825-HA-Cy5.5 nanoparticles; (B) schematic diagram of the nanocomposite used for photothermal tumor ablation guided by NIRFL/PA/CT trimodal imaging^[63], Copyright 2017, Elsevier Ltd.

ICG 是被美国食品药品监督管理局(FDA)批准临床使用的 NIR 荧光染料. Wang 等^[69]将 ICG 与透明质酸纳米颗粒(HANP)偶联, 再与 SWCNTs 复合, 形成了 ICG-HANP/SWCNTs 纳米复合物(IHANPT). 如图 17, 通过对比用 HANP、游离 ICG、HANPT(未与 ICG 偶联但与 SWCNTs 复合的 HANP)和 IHANPT 分别静脉注射 SCC7 肿瘤荷瘤小鼠的光声成像效果, 发现 IHANPT 对肿瘤血管的成像效果最好, 因为 IHANPT 中的 ICG 和

SWCNTs 都能产生光声信号, 而游离 ICG 未显示清晰的光声信号, 因为它不能在肿瘤区域富集, 这充分证明了 HA 靶向作用的重要性; 而且, 光声信号显示, 注射 24 h 后 IHANPT 在肿瘤中的累积达到峰值, 为进行光疗提供了一个优化时间点.

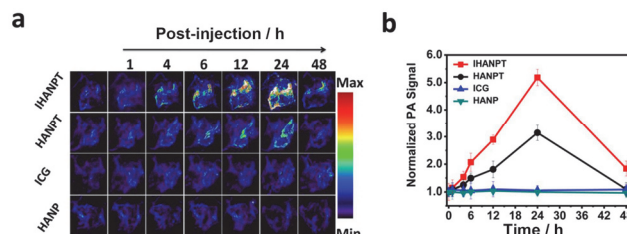


图 17 (a)分别用 HANP、ICG、HANPT 和 IHANPT 静脉注射 SCC7 肿瘤荷瘤小鼠后肿瘤血管随时间变化的光声成像; (b)不同时间点肿瘤组织的光声信号强度^[69]

Figure 17 (a) *In vivo* PA imaging of blood vessels in the tumor sites were captured at different time points after intravenous injection of IHANPT, HANPT, free ICG, and HANP; (b) photoacoustic intensity of tumor tissues at different time points^[69], Copyright 2016, American Chemical Society

3.2.3 BODIPY

BODIPY 是氟化硼络合二吡咯甲川染料及其衍生物的统称, 具有较高的耐光漂白性、摩尔吸收系数和荧光量子产率, 吸收和发射峰较窄, 对环境的酸碱度不敏感^[72]. Shi 等^[33]合成了 DBHA(图 2b)及其纳米粒子, 用于靶向荧光成像诊断肿瘤, 并通过透明质酸酶激活的光动力治疗有效抑制了肿瘤生长. Miki 等^[73]制备了荧光发射能够达到 800 nm 的噻吩桥连 BODIPY 二聚体(TBD), 然后与 PEG 修饰的 HA 共价连接获得 TBD-HA-PEG(图 18), 再自组装成纳米粒子. 由于 TBD 的强烈聚集形成了 HA 凝胶支架中的交联核, 显著增强了组装体弹性模

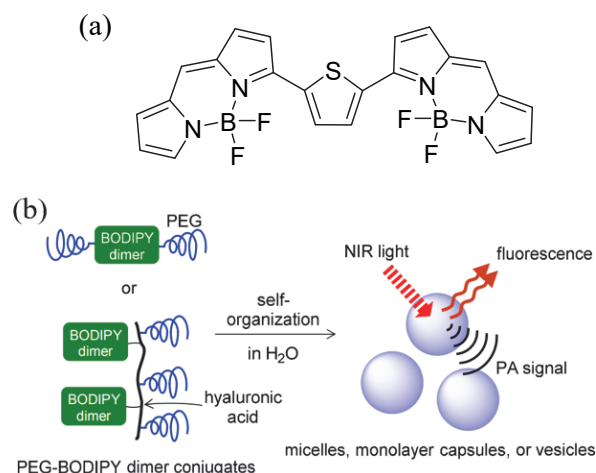


图 18 (a) TBD 的化学结构; (b) TBD-HA-PEG 纳米粒子用于光声和荧光成像的示意图^[73]

Figure 18 (a) Chemical structure of TBD; (b) schematic diagram of the TBD-HA-PEG nanoparticles as a contrast agent for PA and FL tumor imaging^[73], Copyright 2017, American Chemical Society

量,从而产生了比 ICG 和 ICG-HA-PEG 衍生物强得多的光声信号,显示更清晰的成像效果。

3.2.4 其它

HA 还与一些其它的有机荧光染料,如罗丹明^[74]、荧光素^[39,75]和卟啉^[76-77]等结合,通过荧光成像等证明纳米材料在体内的靶向摄取,或同时进行光疗。例如, Yang 等^[77]通过卟啉与偶联环糊精的 HA (HApCD)形成主-客体相互作用,将卟啉修饰的紫杉醇前药(ProTaxol)包裹在环糊精的疏水空腔中,再通过自组装形成纳米材料(HATXP),可用于荧光成像引导光动力/化疗的协同治疗。如图 19,对于 SKOV-3 人卵巢癌细胞, HATXP 呈现出与紫杉醇接近的疗效,但对 NIH3T3 小鼠胚胎成纤维正常细胞的毒性比紫杉醇小。可见,由于 HA 的靶向作用, HATXP 的治疗副作用远低于紫杉醇。

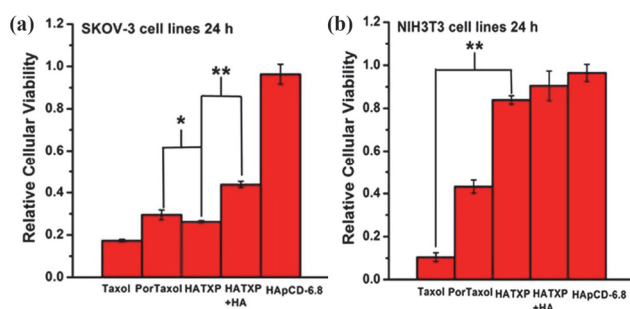


图 19 (a) SKOV-3 细胞和(b) NIH3T3 细胞体外 24 h 细胞毒性实验结果^[77]

Figure 19 Cytotoxicity experiment results of (a) SKOV-3 cells and (b) NIH3T3 cells in 24 h^[77], Copyright 2016, The Author(s)

4 总结与展望

HA 具有优异的水溶性、生物相容性,能与多种恶性肿瘤表达的受体特异性结合,可被透明质酸酶降解,并且易于化学修饰,可实现多种超分子弱相互作用力协同工作。人们利用这些优势特性,能够通过简便的方法将 HA 与各种无机、有机荧光/光声造影剂结合制备纳米材料,提高造影剂的生物相容性,改善化学稳定性和光稳定性,延长在体内循环时间从而增强渗透与保留效应,并能实现对乳腺癌、宫颈癌、肝癌、脑癌、胰腺癌、结肠癌和膀胱癌等肿瘤的主动靶向;另外,利用透明质酸酶对 HA 的降解实现智能化可激发响应,进一步提高灵敏度和信噪比;而且,还易于同时负载其它类型造影剂或抗癌药物制备复合纳米材料,从而实现 FL、PA、NMR、CT 或 PET 成像等多模态靶向成像,以及光热治疗、光动力治疗或化疗的协同治疗功能,显著提高了细胞乃至活体标记效能和诊疗效率,减小治疗的副作用。因此,该类纳米材料具有很好的潜在临床应用前景。

迄今为止,该领域基本还处在实验室研究阶段,仍然存在很大研究空间。新型荧光/光声造影剂的研究开发方兴未艾,灵敏度、穿透性和安全性等性能更好的

NIR-II 荧光造影剂和光声造影剂有待进一步开发;为了减少背景噪音、浓度干扰,准确反映影像信号和疾病状态的实时关系,将造影剂分子设计与 HA 结合,研制对肿瘤温度、pH 值、还原性物质、活性氧、酶等产生多重可激发智能响应的 HA 衍生物及其纳米材料,将成为今后的重要发展方向。然而,该类纳米材料要实现临床转化,也面临着很多亟待解决的问题和挑战。体内研究还处于起步阶段,需要进一步探索其与其它生物的系统相互作用,深入研究纳米材料的结构、形貌、尺寸等对细胞摄取、造影能力和治疗效果的影响,提高体内诊疗效率;对其在生物体内的分布、生物毒性、体内的降解及排除机理需要进行更系统的评估,获得长期生物安全、免疫反应和药物代谢动力学等更全面的体内研究结果,为临床实际应用提供重要支撑。相信通过化学、材料、生物和医学多学科领域科研工作者的合作和努力,这类材料可望在临床诊断和疾病治疗上产生重要的应用价值。

作者简介



潘立祥,男,汉族,1997 年出生于江苏,2019 年本科毕业于盐城工学院,随后加入南京邮电大学黄艳琴课题组攻读硕士学位,研究方向为基于近红外有机共轭材料的纳米诊疗剂及其生物应用。



黄艳琴,南京邮电大学教授,2006 年获复旦大学博士学位,2006 年 7 月起就职于南京邮电大学信息材料与纳米技术研究院。主要研究方向是有机/聚合物光电材料及其在化学与生物传感、生物成像与诊疗中的应用。承担和参与国家省部级各类项目 6 项,在 *Biosensors and Bioelectronics*、*ACS Appl. Mater. & Interfaces*、*Polymer Chemistry*、*Langmuir* 等国际期刊上发表 SCI 论文 30 余篇。2016 年获江苏省科学技术奖二等奖,2009 年获江苏省科技进步奖二等奖。



盛况, 男, 汉族, 1996 年出生于江苏, 2018 年本科毕业于南京工业大学, 随后加入南京邮电大学黄艳琴课题组攻读硕士学位, 研究方向为水溶性共轭材料生物成像和光疗试剂设计、合成与应用。



张瑞, 2001 年 7 月起就职于东南大学附属中大医院, 从事眼科临床与教学工作, 2019 年获得东南大学博士学位。主要研究方向是眼科新型药物研发及激光在眼科的临床应用。承担和参与国家自然科学基金、有机电子与信息显示国家重点实验室开放研究基金等科研项目。



范曲立, 南京邮电大学教授, 2003 年于新加坡国立大学获得博士学位, 2003 年至 2006 年在复旦大学工作, 2006 年 8 月起就职于南京邮电大学。主要研究方向是面向纳米生物医学领域有机半导体材料的制备与临床前的应用研究, 近五年来以第一或通讯作者在 *Nature Communications*、*Journal of the American Chemical Society*、*Advanced Materials*、*ACS Nano* 等国际期刊发表 SCI 论文 80 余篇; 承担和参与国家省部级各类项目 10 余项, 2012 年获国家优秀青年科学基金, 2013 年获国家自然科学基金二等奖(排名第四), 2014 年入选国家百千万人才工程, 2019 年入选国家万人计划中青年科技创新领军人才。



黄维, 教授, 博导, 有机电子、塑料电子、印刷电子、生物电子及柔性电子学家, 中国科学院院士、俄罗斯科学院外籍院士、亚太材料科学院院士、东盟工程与技术科学院外籍院

士、巴基斯坦科学院外籍院士。历任复旦大学先进材料研究院院长, 南京邮电大学副校长、党委常委, 南京工业大学校长、党委副书记, 2017 任西北工业大学党委常委、常务副校长。曾两次获得国家自然科学奖二等奖、三次获得高等学校科学研究优秀成果奖(科学技术)自然科学奖一等奖、多次获得江苏省科学技术奖一等奖和二等奖, 以及何梁何利基金“科学与技术进步奖”。

References

- [1] Torre, L. A.; Bray, F.; Siegel, R. L.; Ferlay, J.; Lortet-Tieulent, J.; Jemal, A. *Ca-Cancer J. Clin.* **2015**, 65, 87.
- [2] Chen, W. Q.; Zheng, R. S.; Baade, P. D.; Zhang, S. W.; Zeng, H. M.; Bray, F.; Jemal, A.; Yu, X. Q.; He, J. *Ca-Cancer J. Clin.* **2016**, 66, 115.
- [3] Kobayashi, H.; Ogawa, M.; Alford, R.; Choyke, P. L.; Urano, Y. *Chem. Rev.* **2010**, 110, 2620.
- [4] Kim, D.; Ryu, H. G.; Ahn, K. H. *Org. Biomol. Chem.* **2014**, 12, 4550.
- [5] Wang, X.; Xie, X.; Ku, G.; Wang, L. V. *J. Biomed. Opt.* **2006**, 11, 024015.
- [6] Luo, S. L.; Zhang, E. L.; Su, Y. P.; Cheng, T. M.; Shi, C. M. *Bio-materials* **2011**, 32, 7127.
- [7] Lu, X. M.; Chen, P. F.; Hu, W. B.; Tang, Y. F.; Huang, W.; Fan, Q. L. *Prog. Chem.* **2017**, 29, 119.
- [8] Gao, P.; Pan, W.; Li, N.; Tang, B. *Chem. Sci.* **2019**, 10, 6035.
- [9] Antaris, A. L.; Chen, H.; Diao, S.; Ma, Z. R.; Zhang, Z.; Zhu, S. J.; Wang, J.; Lozano, A. X.; Fan, Q. L.; Chew, L. L.; Zhu, M.; Cheng, K.; Hong, X. C.; Dai, H. J.; Cheng, Z. *Nat. Commun.* **2017**, 8, 11.
- [10] Ren, X. J.; Lu, X. M.; Fan, Q. L.; Huang, W. *Prog. Chem.* **2013**, 25, 1739.
- [11] Sang, R. Y.; Xu, X. P.; Wang, Q.; Fan, Q. L.; Huang, W. *Acta Chim. Sinica* **2020**, 78, 901.
- [12] Ren, T. B.; Wang, Z. Y.; Xiang, Z.; Lu, P.; Lai, H. H.; Yuan, L.; Zhang, X. B.; Tan, W. H. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2021**, 60, 800.
- [13] Lei, Z. H.; Zhang, F. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2021**, 60, 16294.
- [14] Song, K. H.; Stein, E. W.; Margenthaler, J. A.; Wang, L. V. *J. Biomed. Opt.* **2008**, 13, 054033.
- [15] Pu, K. Y.; Shuhendler, A. J.; Jokerst, J. V.; Mei, J. G.; Gambhir, S. S.; Bao, Z. N.; Rao, J. H. *Nat. Nanotechnol.* **2014**, 9, 233.
- [16] Fan, Q. L.; Cheng, K.; Yang, Z.; Zhang, R. P.; Yang, M.; Hu, X.; Ma, X. W.; Bu, L. H.; Lu, X. M.; Xiong, X. X.; Huang, W.; Zhao, H.; Cheng, Z. *Adv. Mater.* **2015**, 27, 843.
- [17] Yang, Z.; Dai, Y. L.; Yin, C.; Fan, Q. L.; Zhang, W. S.; Song, J.; Yu, G. C.; Tang, W.; Fan, W. P.; Yung, B. C.; Li, J.; Li, X.; Li, X. C.; Tang, Y. F.; Huang, W.; Song, J. B.; Chen, X. Y. *Adv. Mater.* **2018**, 30, 8.
- [18] Liu, Y. J.; Bhattarai, P.; Dai, Z. F.; Chen, X. Y. *Chem. Soc. Rev.* **2019**, 48, 2053.
- [19] Hu, W. B.; He, T. C.; Jiang, R. C.; Yin, J.; Li, L.; Lu, X. M.; Zhao, H.; Zhang, L.; Huang, L.; Sun, H. D.; Huang, W.; Fan, Q. L. *Chem. Commun.* **2017**, 53, 1680.
- [20] Wang, Q.; Dai, Y. N.; Xu, J. Z.; Cai, J.; Niu, X. R.; Zhang, L.; Chen, R. F.; Shen, Q. M.; Huang, W.; Fan, Q. L. *Adv. Funct. Mater.* **2019**, 29, 12.
- [21] Li, J.; Jiang, R. C.; Wang, Q.; Li, X.; Hu, X. M.; Yuan, Y.; Lu, X. M.; Wang, W. J.; Huang, W.; Fan, Q. L. *Biomaterials* **2019**, 217, 9.
- [22] Wang, Q.; Xia, B.; Xu, J. Z.; Niu, X. R.; Cai, J.; Shen, Q. M.; Wang, W. J.; Huang, W.; Fan, Q. L. *Mat. Chem. Front.* **2019**, 3, 650.
- [23] Xie, N.; Feng, K.; Chen, B.; Zhao, M.; Peng, S.; Zhang, L. P.; Tung, C. H.; Wu, L. Z. *J. Mater. Chem. B* **2014**, 2, 502.
- [24] Garland, M.; Yim, J. J.; Bogoy, M. *Cell Chem. Biol.* **2016**, 23, 122.
- [25] Li, K.; Liu, B. *Chem. Soc. Rev.* **2014**, 43, 6570.
- [26] Yan, T.; Liu, Z. H.; Song, X. Y.; Zhang, S. S. *Acta Chim. Sinica* **2020**, 78, 657.
- [27] Toole, B. P. *Nat. Rev. Cancer* **2004**, 4, 528.
- [28] Tripodo, G.; Trapani, A.; Torre, M. L.; Giammona, G.; Trapani, G.; Mandracchia, D. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **2015**, 97, 400.
- [29] Saravanakumar, G.; Deepagan, V. G.; Jayakumar, R.; Park, J. H. *J. Biomed. Nanotechnol.* **2014**, 10, 17.
- [30] Jiang, G.; Park, K.; Kim, J.; Kim, K. S.; Hahn, S. K. *Mol. Pharm.* **2009**, 6, 727.
- [31] Luo, Y.; Prestwich, G. D. *Bioconjugate Chem.* **1999**, 10, 755.

- [32] Luo, Y.; Prestwich, G. D. *Bioconjugate Chem.* **2001**, *12*, 1085.
- [33] Shi, H. X.; Sun, W. C.; Liu, C. B.; Gu, G. Y.; Ma, B.; Si, W. L.; Fu, N. N.; Zhang, Q.; Huang, W.; Dong, X. C. *J. Mater. Chem. B* **2016**, *4*, 113.
- [34] Bhang, S. H.; Won, N.; Lee, T. J.; Jin, H.; Nam, J.; Park, J.; Chung, H.; Park, H. S.; Sung, Y. E.; Hahn, S. K.; Kim, B. S.; Kim, S. *ACS Nano* **2009**, *3*, 1389.
- [35] Hill, T. K.; Abdulahad, A.; Kelkar, S. S.; Marini, F. C.; Long, T. E.; Provenzale, J. M.; Mohs, A. M. *Bioconjugate Chem.* **2015**, *26*, 294.
- [36] Yoon, H. Y.; Koo, H.; Choi, K. Y.; Lee, S. J.; Kim, K.; Kwon, I. C.; Leary, J. F.; Park, K.; Yuk, S. H.; Park, J. H.; Choi, K. *Biomaterials* **2012**, *33*, 3980.
- [37] Jalani, G.; Naccache, R.; Rosenzweig, D. H.; Lerouge, S.; Haglund, L.; Vetrone, F.; Cerruti, M. *Nanoscale* **2015**, *7*, 11255.
- [38] Wang, H. N.; Sun, H. F.; Wei, H.; Xi, P.; Nie, S. M.; Ren, Q. S. *J. Nanopart. Res.* **2014**, *16*, 13.
- [39] Huang, Y. Q.; Yao, X.; Zhang, R.; Lang, O. Y.; Jiang, R. C.; Liu, X. F.; Song, C. X.; Zhang, G. W.; Fan, Q. L.; Wang, L. H.; Huang, W. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2014**, *6*, 19144.
- [40] Huang, Y. Q.; Song, C. X.; Li, H. C.; Zhang, R.; Jiang, R. C.; Liu, X. F.; Zhang, G. W.; Fan, Q. L.; Wang, L. H.; Huang, W. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2015**, *7*, 21529.
- [41] Wu, W. T.; Shen, J.; Banerjee, P.; Zhou, S. Q. *Biomaterials* **2010**, *31*, 7555.
- [42] Lee, H.; Lee, K.; Kim, I. K.; Park, T. G. *Adv. Funct. Mater.* **2009**, *19*, 1884.
- [43] Lee, H.; Lee, K.; Kim, I. K.; Park, T. G. *Biomaterials* **2008**, *29*, 4709.
- [44] Jeong, E. H.; Jung, G.; Hong, C. A.; Lee, H. *Arch. Pharm. Res.* **2014**, *37*, 53.
- [45] Zhang, L. W.; Gao, S.; Zhang, F.; Yang, K.; Ma, Q. J.; Zhu, L. *ACS Nano* **2014**, *8*, 12250.
- [46] Wang, X.; Chen, J. T.; Zhu, H. M.; Chen, X. Y.; Yan, X. P. *Anal. Chem.* **2013**, *85*, 10225.
- [47] Chen, Z. W.; Liu, Z.; Li, Z. H.; Ju, E. G.; Gao, N.; Zhou, L.; Ren, J. S.; Qu, X. G. *Biomaterials* **2015**, *39*, 15.
- [48] Gong, H.; Peng, R.; Liu, Z. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2013**, *65*, 1951.
- [49] Mani, V.; Chen, S. M.; Lou, B. S. *Int. J. Electrochem. Sci.* **2013**, *8*, 11641.
- [50] Lim, S. Y.; Shen, W.; Gao, Z. Q. *Chem. Soc. Rev.* **2015**, *44*, 362.
- [51] Hou, L.; Yang, X. M.; Ren, J. X.; Wang, Y. C.; Zhang, H. J.; Feng, Q. H.; Shi, Y. Y.; Shan, X. N.; Yuan, Y. J.; Zhang, Z. Z. *Int. J. Nanomed.* **2016**, *11*, 607.
- [52] Xie, L. S.; Wang, G. H.; Zhou, H.; Zhang, F.; Guo, Z. D.; Liu, C.; Zhang, X. Z.; Zhu, L. *Biomaterials* **2016**, *103*, 219.
- [53] Liu, S. Y.; Zhao, N.; Cheng, Z.; Liu, H. G. *Nanoscale* **2015**, *7*, 6836.
- [54] Abdullah-Al, N.; Lee, J. E.; Jeong, J. H.; Park, S. Y. *Biomacromolecules* **2013**, *14*, 4082.
- [55] Swierczewska, M.; Choi, K. Y.; Mertz, E. L.; Huang, X.; Zhang, F.; Zhu, L.; Yoon, H. Y.; Park, J. H.; Bhirde, A.; Lee, S.; Chen, X. *Nano Lett.* **2012**, *12*, 3613.
- [56] Zhu, C. L.; Liu, L. B.; Yang, Q.; Lv, F. T.; Wang, S. *Chem. Rev.* **2012**, *112*, 4687.
- [57] Song, W.; Yin, C.; Jiang, R.; Lu, X.; Quan, Y.; Tian, C.; Li, J.; Hu, W.; Sun, P.; Deng, W.; Fan, Q.; Huang, W. *Polym. Chem.* **2015**, *6*, 5295.
- [58] Huang, Y. Q.; Sun, L. J.; Zhang, R.; Hu, J.; Liu, X. F.; Jiang, R. C.; Fan, Q. L.; Wang, L. H.; Huang, W. *ACS Appl. Bio Mater.* **2019**, *2*, 2421.
- [59] Wang, Y. F.; Zhang, W. S.; Sun, P. F.; Cai, Y.; Xu, W. G.; Fan, Q. L.; Hu, Q. G.; Han, W. *Theranostics* **2019**, *9*, 391.
- [60] Huang, Y. Q.; Zhang, R.; Zhao, Y. K.; Chen, H.; Jiang, R. C.; Liu, X. F.; Fan, Q. L.; Wang, L. H.; Huang, W. *New J. Chem.* **2017**, *41*, 4998.
- [61] Wang, X. C.; Chang, G.; Cao, R. J.; Meng, L. J. *Prog. Chem.* **2015**, *27*, 794.
- [62] Cho, H. J.; Yoon, H. Y.; Koo, H.; Ko, S. H.; Shim, J. S.; Cho, J. H.; Park, J. H.; Kim, K.; Kwon, I. C.; Kim, D.-D. *J. Controlled Release* **2012**, *162*, 111.
- [63] Liang, X. L.; Fang, L.; Li, X. D.; Zhang, X.; Wang, F. *Biomaterials* **2017**, *132*, 72.
- [64] Sun, W.; Guo, S. G.; Hu, C.; Fan, J. L.; Peng, X. J. *Chem. Rev.* **2016**, *116*, 7768.
- [65] Mok, H.; Jeong, H.; Kim, S. J.; Chung, B. H. *Chem. Commun.* **2012**, *48*, 8628.
- [66] Kim, J.; Chong, Y.; Mok, H. *Macromol. Biosci.* **2014**, *14*, 881.
- [67] Park, H. S.; Lee, J. E.; Cho, M. Y.; Hong, J. H.; Cho, S. H.; Lim, Y. T. *Macromol. Rapid Commun.* **2012**, *33*, 1549.
- [68] Miki, K.; Inoue, T.; Kobayashi, Y.; Nakano, K.; Matsuoka, H.; Yamauchi, F.; Yano, T.; Ohe, K. *Biomacromolecules* **2015**, *16*, 219.
- [69] Wang, G.; Zhang, F.; Tian, R.; Zhang, L.; Fu, G.; Yang, L.; Zhu, L. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2016**, *8*, 5608.
- [70] Zhang, H. J.; Pei, Y. M.; Zhang, X. G.; Zhu, L.; Hou, L.; Chang, J. B.; Zhang, Z. Z. *Appl. Mater. Today* **2020**, *18*, 15.
- [71] Yu, F.; Zhu, M. S.; Li, N. N.; Ao, M. T.; Li, Y.; Zhong, M. Y.; Yuan, Q.; Chen, H. Y.; Fan, Z. X.; Wang, Y.; Hou, Z. Q.; Qi, Z. Q.; Shen, Y. M.; Chen, X. D. *Chem. Eng. J.* **2020**, *380*, 12.
- [72] Boens, N.; Leen, V.; Dehaen, W. *Chem. Soc. Rev.* **2012**, *41*, 1130.
- [73] Miki, K.; Enomoto, A.; Inoue, T.; Nabeshima, T.; Saino, S.; Shimizu, S.; Matsuoka, H.; Ohe, K. *Biomacromolecules* **2017**, *18*, 249.
- [74] Sun, H.; Benjaminsen, R. V.; Almdal, K.; Andresen, T. L. *Bioconjugate Chem.* **2012**, *23*, 2247.
- [75] Baier, G.; Fichter, M.; Kreyes, A.; Klein, K.; Maeilaender, V.; Gehring, S.; Landfester, K. *Biomacromolecules* **2016**, *17*, 148.
- [76] Song, Y. C.; Wang, Z.; Li, L. H.; Shi, W.; Li, X. H.; Ma, H. M. *Chem. Commun.* **2014**, *50*, 15696.
- [77] Yang, Y.; Zhang, Y. M.; Chen, Y.; Chen, J. T.; Liu, Y. *Sci. Rep.* **2016**, *6*, 10.

(Cheng, B.)