

还原响应型药物载体的研究进展

唐忠科, 熊兴泉*, 蔡 雷, 徐源鸿

(华侨大学材料科学与工程学院, 福建省高校功能材料重点实验室, 福建 厦门 361021)

摘要: 还原响应型药物载体以其高效快速释放药物、毒副作用小、可生物降解的优良特性, 逐渐成为药物载体领域研究的热点, 也是最具临床应用潜力的智能药物载体之一。本文综述了还原响应型药物载体研究的最新进展, 包括还原响应的药物、基因与载体的偶联物及还原响应的纳米聚合物胶束、纳米囊泡、纳米中空微球、纳米脂质体等的合成和药物释放的机制以及各类载体的优缺点, 为在药剂学中的进一步应用提供理论依据。

关键词: 还原响应; 药物载体; 二硫键; 药物释放

中图分类号: R943

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2011) 09-1032-07

Recent progress in the study of reduction-sensitive drug carriers

TANG Zhong-ke, XIONG Xing-quan*, CAI Lei, XU Yuan-hong

(College of Materials Science and Engineering, Huaqiao University,
Key Laboratory for Functional Materials of Fujian Higher Education, Xiamen 361021, China)

Abstract: With rapid and efficient drug release, few side effects and excellent biodegradable properties, the reduction-sensitive carriers is not only the new hot point in the field of pharmaceutical research, but also the most promising intelligent drug carrier on clinical application. This paper reviews the latest research of reduction-sensitive drug and gene carriers, including the mechanisms of drug release and the synthesis of the reduction-sensitive conjugates, reduction-sensitive nano polymer micelles, nano vesicles, nano hollow microspheres, nano liposomes, as well as the characteristics and advantages of various kinds of carrier system. It will provide a theoretical basis for its further application.

Key words: reduction-sensitive; drug carrier; disulfide bond; drug release

智能药物载体是指能改变药物进入人体内的方式和分布、控制药物释放速度并将其输送到靶器官的体系。该体系可防止药物在短时间内降解、失活、排泄以及发生人体免疫反应^[1, 2]。药物分子与载体通常有两种交联方式: 其一是药物分子与载体通过共价键结合, 即化学交联; 其二是载体通过静电吸引、包埋等非共价键分子间作用力与药物分子结合, 即物理交联。近年来, 文献^[3-5]报道了 pH 响应型、温度响应型等智能药物载体。还原响应型的智能药物载体

由于其高效的释放效果也引起了人们极大的关注^[6]。还原响应型的药物载体是通过在载体与药物分子之间用具有还原响应性的二硫键连接或用二硫键连结的两嵌段共聚物与药物分子在溶剂中自组装形成纳米结构的微粒给药系统。二硫键具有如下特点: 在人体的正常体温、pH 和氧化等环境下非常稳定, 在一定量的谷胱甘肽 (GSH) 还原酶或二硫苏糖醇 (DTT) 等还原剂存在下被还原生成巯基。细胞内外恰好存在氧化还原电位, 细胞内的谷胱甘肽浓度 (0.5~10 mmol·L⁻¹) 是细胞外谷胱甘肽浓度 (2~20 μmol·L⁻¹) 的 200 倍以上, 细胞外的谷胱甘肽浓度不足以还原二硫键^[7]。另外, 肿瘤组织细胞比正常组织细胞缺氧, 更具有还原性环境。因此, 含有二硫键的药物和载体

收稿日期: 2011-04-07.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (21004024); 福建省青年人才创新项目 (2008F3067); 华侨大学“中央高校基本科研业务费”福建省杰出青年基金培育计划专项项目 (JB-SJ1002).

*通讯作者 Tel / Fax: 86-592-6162225, E-mail: xxqluli@hqu.edu.cn

通过细胞内吞作用进入靶细胞后被 GSH 还原, 即连接药物和载体的二硫键断裂生成巯基, 从而有效快速地释放药物, 载体材料如聚乙二醇 (PEG)、聚己内酯 (PCL)、聚苯硫醚、聚乙烯亚胺 (PEI)、碳纳米管和聚赖氨酸等大都可生物降解, 对细胞毒副作用小, 输送药物至靶细胞后便可分解或经其他组织代谢排出体外, 是理想的药物载体^[8]。

1 与药物分子基于共价键结合的还原响应载体

许多药物分子含有氨基或羧基的支链, 可以通过生成肽键的方式对药物分子进行吡啶巯基修饰, 然后通过二硫键交换反应可以制备以二硫键连接的药物与载体偶联物。研究表明, 药物经过这种修饰后并没有降低活性, 反而提高了在运输过程中的稳定性, 减少了流失, 提高了药效^[9]。但是, 若直接用巯基功能化的载体分子与巯基功能化的药物分子在氧化条件下进行偶联, 不仅会使部分药物分子失活, 而且会得到 3 种二硫键偶联产物: 药物分子间偶联物、载体分子间偶联物以及药物分子与载体分子偶联物。为了得到药物分子与载体分子的偶联物, 可以用 2-巯基吡啶功能化的载体与巯基化的药物分子进行偶联^[10]。

1.1 与药物偶联的还原响应性聚合物载体 Ranucci 等^[11]通过采用二硫键连结的方式制备聚丙烯酰胺和胆固醇的偶联物。结果表明, 该偶联物能在水中自组装成粒径为 110~260 nm 的核壳结构的粒子, 胆固醇负载量约为 16.4%。亲水的聚丙烯酰胺在壳层, 亲油的胆固醇在核层。细胞实验表明, 该偶联物具有良好的生物相容性和生物降解性, 毒副作用还有待进一步研究。聚丙烯酰胺胆固醇的偶联分子见图 1 (根据文献^[11]重绘)。

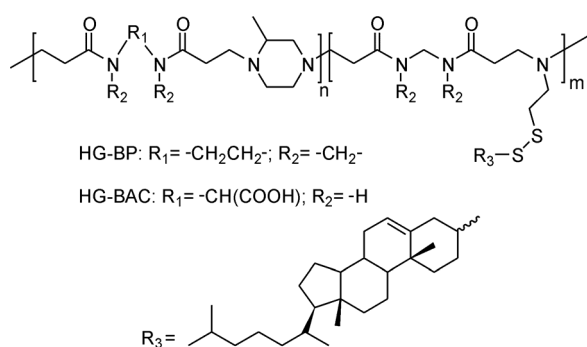


图 1 聚丙烯酰胺胆固醇偶联物^[11]

Flanary 等^[12]报道了用聚 2-丙基丙烯酸通过二硫键的方式交联卵清蛋白。具体地, 用聚 2-丙基丙烯酸巯基乙酸酯与二硫代二吡啶通过二硫键交换

反应生成聚 2-丙基丙烯酸巯基乙酸酯吡啶二硫化物 (PPAA-SS-PDSA), 再与巯基化的卵清蛋白通过二硫键交换反应生成聚 2-丙基丙烯酸卵清蛋白二硫化物 (PMAA-oalbumin) 的偶联物。研究表明, 这种偶联物不仅在 pH = 6~6.5 区间有 pH 响应性, 而且还具有还原响应性, 卵清蛋白负载量约为 53%。在巨噬细胞和 B3ZT 细胞培养液中加入一定浓度的该偶联物后, 没有发现这两种细胞数目减少, 说明该偶联物细胞毒性很小, 生物相容性较好, 从提高 CD8 免疫细胞的数量来看, 交联后的卵清蛋白活性比自由的卵清蛋白还要高 22 倍。

Vlies 等^[13]用吡啶二硫功能化的聚苯硫醚纳米粒和带巯基的小分子、生物素、多肽以及蛋白等药物通过二硫键交换反应制备了粒径在 30~50 nm 之间的纳米粒交联物, 交联后粒子粒径改变量小于 25 nm, 药物分子的性质并未改变, 在磷酸三 (2-氯乙基) 酯还原剂下断裂二硫键快速释放药物, 这种药物载体在药物运输方面有很大的应用前景。Navath 等^[14]报道用巯基修饰的六臂聚乙二醇 (6-Arm-PEG-SH) 和 S-S'-二巯基吡啶 N-乙酰半胱氨酸 (NAC-TP) 在磷酸缓冲溶液 (PBS) 中合成了一种星形聚合物载体—六臂聚乙二醇二硫乙酰半胱氨酸聚合物 (6-Arm-PEG-SS-NAC), 粒径为 30~40 nm, 分子质量 10.33 kD。细胞实验表明, 这种偶联物在 2~10 mmol·L⁻¹ 谷胱甘肽浓度中 2 h 内释放 75% 的 NAC。这种载体可以增加 NAC 的水溶性, 提高了药物在血液中的运输能力, 减少了药物流失, 增加了药效。6-Arm-PEG-SS-NAC 的合成及在细胞内被 GSH 还原释放 HS-NAC 的示意图见图 2 (根据文献^[14]重绘)。

1.2 与药物偶联的还原响应性碳纳米管 最近碳纳米管的生物医学应用价值备受关注。通过对碳纳米管进行修饰并且与生物活性物质共价结合, 可用于药物和生物大分子传递系统^[15]。研究结果显示, 利用碳纳米管负载抗肿瘤药物阿霉素, 具有很高的负载容量和对肿瘤细胞有较高的选择性, 进而能够延长阿霉素在血液中的循环时间、增加肿瘤组织对其的吸收、提高疗效并显著地降低毒副作用^[16, 17]。经巯基修饰的碳纳米管与药物通过二硫键结合后具有还原响应性。

You 等^[18]报道了通过二硫键将牛血清蛋白连结在碳纳米管上。具体做法是, 在硝酸酸化的条件下, 对碳纳米管外围进行羧酸功能化, 再将羧酸基团与二硫代吡啶功能化的半胱胺在二环己基碳二亚胺

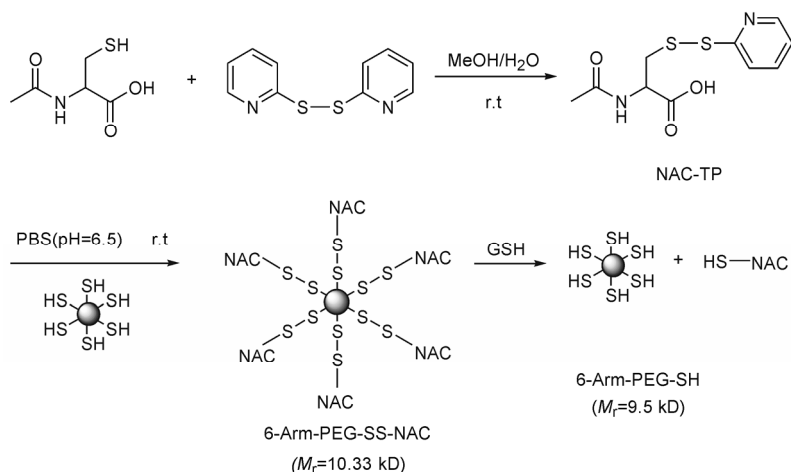


图 2 6-Arm-PEG-SS-NAC 的合成及还原释放 HS-NAC

(DCC) 的作用下进行缩合生成酰胺键, 然后通过二硫键交换反应把牛血清蛋白以二硫键连接在碳纳米管表面。结果表明, 这种碳纳米管修饰的牛血清蛋白的性质没有改变, 它的释放速率由细胞中的谷胱甘肽浓度控制。

1.3 与药物偶联的还原响应性聚赖氨酸 聚赖氨酸作为载体具有如下优点: 对生物膜有良好的穿透力, 不被溶酶体分解, 巯基修饰后生理效应不会改变, 在人体内可分解为人体必需的赖氨酸。聚赖氨酸分子含有 1 个氨基可以与 *N*-琥珀酰-3-联巯基吡啶 (SPDP) 生成肽键进行巯基修饰。甲氨蝶呤 (MTX) 具有细胞毒性, 通过将其与聚赖氨酸偶联后毒性降低, 疗效却大大提高。该药物载体进入细胞后, 连接甲氨蝶呤与载体的二硫键被还原断裂从而释放甲氨蝶呤^[19]。

Lim 等^[20]研究了含聚赖氨酸侧链的类似穿膜肽的多肽和半胱胺用二硫键交联后在细胞中的行为, 并用高效液相色谱 (HPLC) 跟踪二硫键交换反应过程, 发现其在细胞中二硫键的裂解和形成处在动态平衡状态。这种多肽释放半胱胺后被排出细胞外, 在细胞外可再与半胱胺结合又进入细胞, 为寻找一种可循环利用的药物载体提供新的思路。聚赖氨酸和半胱胺结合的平衡可逆过程见图 3 (根据文献[20]重绘)。

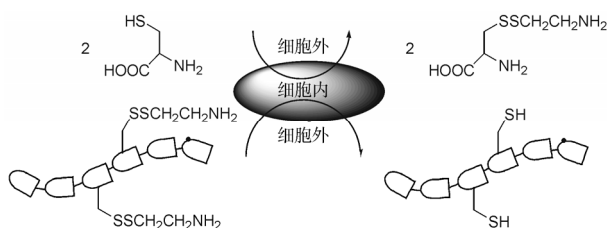


图 3 聚赖氨酸和半胱胺结合的平衡可逆过程^[20]

2 与药物分子基于非共价键结合的还原响应载体

2.1 还原响应性的纳米聚合物胶束 聚合物胶束是一类由两亲性嵌段共聚物形成的胶束体系。在水溶液中, 当两亲性嵌段共聚物或 A-B 接枝共聚物的亲水嵌段长度较长时, 共聚物能形成核-壳球形胶束^[21]。两亲性嵌段共聚物的临界胶束浓度 (CMC) 值越低, 形成的胶束在介质中越稳定, 即使在低浓度下, 也能保持胶束状^[22]。用二硫键连接的两嵌段共聚物与疏水的药物分子在水中自组装成胶束后便具有还原响应性。

钟志远等^[23]报道了用亲水的聚乙二醇和疏水的聚己内酯合成了生物可降解的 (聚乙二醇)-二硫-(聚己内酯) 两嵌段共聚物 (PEG-SS-PCL)。研究表明, 该嵌段共聚物在水溶液中能与阿霉素自组装形成粒径在 200 nm 左右的胶束, CMC 为 $9.3 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 包封率达到 60%。在 GSH 为 $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 条件下, 模拟人体生理环境的细胞实验显示, 这种载体可在 12 h 左右释放 95% 包裹的阿霉素, 而在非还原性条件下 12 h 只有 20% 阿霉素释放出来。该课题组^[24]在此研究基础上用葡聚糖代替聚乙二醇合成了 (葡聚糖)-二硫-(聚己内酯) 两嵌段共聚物, 包裹阿霉素后粒径没有很大改变, 仍在 30~50 nm 之间, 而包封率由以前的 60% 提高到了 70%。在 GSH 约为 $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 条件下, 模拟人体生理环境, 发现 10 h 左右可以完全释放阿霉素, 由于葡聚糖比聚乙二醇具有更好的生物相容性和水溶性, 所以药物释放速度更快, 抗癌效果更好 (根据文献[24]重绘)。

Tang 等^[25]报道合成了聚己内酯和聚乙基乙烯磷酸酯 (PCL-SS-PEEP) 两嵌段共聚物, 具体是在辛酸亚锡的催化下进行己内酯的开环聚合, 然后与 2-

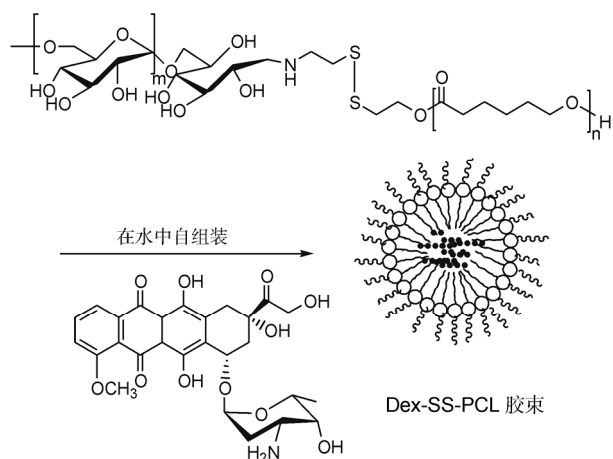


图4 Dex-SS-PCL 和 DOX 自组装形成胶束

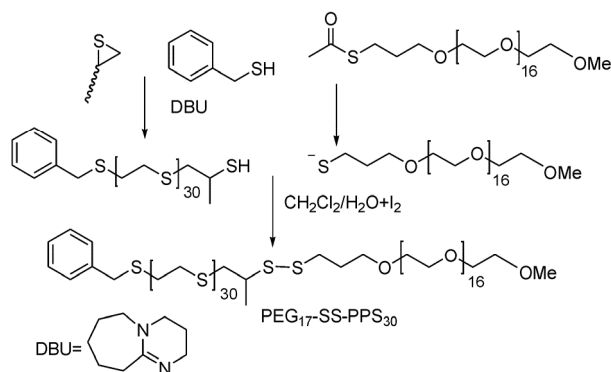
巯基乙醇生成巯基化的聚己内酯 (PCL-SH), 乙基乙磷磷酸酯开环聚合后的产物与 2-(2-吡啶二硫) 乙醇反应生成聚乙基乙烯磷酸盐 (PEEP-Py), PCL-SH 和 PEEP-Py 在氮气的保护下通过硫-硫键的交换反应生成了还原响应性的 PCL-SS-PEEP 两嵌段聚合物, 该聚合物与药物分子在水中自组装成 70 nm 左右的胶束, 其 CMC 约为 $3.1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, 包封率为 28%。研究表明, 包裹阿霉素后能提高对 A549 肿瘤细胞的抑制作用, 改善抗肿瘤药物的疗效, 但该载体对阿霉素包封率低。

Kim 等^[26]研究了聚乙二醇单甲醚和聚己内酯用 3 个半胱胺偶联的聚合物 (mPEG-Cys-PCL) 和阿霉素在水中的自组装, 发现该聚合物在其较低的临界浓度 ($0.07 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) 下能形成 210 nm 左右的胶束, 加之半胱胺上的巯基相互交联形成二硫键, 导致该载体稳定性较好, 阿霉素的包封率为 26.8%, 在模拟人体血液环境下持续释放阿霉素可达 24 h, 有望在临床上应用。

2.2 还原响应性的纳米囊泡 与简单的嵌段共聚合物胶束相比, 嵌段共聚合物缔合结构纳米囊泡的载药量更大而且可调控, 纳米囊泡具有双层膜结构, 与细胞膜有良好的相容性和渗透性, 可承载的药物类型更广泛。纳米囊泡通常是由改变大分子嵌段共聚物的亲水基和相对分子质量的大小而形成的^[27]。嵌段聚合物中含有二硫键的纳米囊泡在还原条件下二硫键被还原裂解从而使纳米囊泡解体, 其中的药物快速释放出来。

Cerritelli 等^[28]合成了聚苯丙烯硫化物和聚乙二醇嵌段共聚合物 (PEG₁₇-SS-PPS₃₀) 嵌段共聚合物, 在水中自组装形成 120 nm 囊泡包裹阿霉素, 大鼠巨噬细胞株细胞实验显示这种囊泡在细胞中 (相当于 10

$\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ DTT 还原条件) 10 min 后可检测到用钙黄绿素标记的阿霉素发出的荧光。在载药囊泡细胞毒性实验中, 并没有观察到细胞显著减少, 表明这种载体没有明显的细胞毒性。用 PEG₁₇-PPS₃₀-PEG₁₇ 形成的囊泡包裹阿霉素做对照实验, 在 2 h 后才检测到微量的荧光, 这可能是因为囊泡溶胀致使阿霉素释放出来。由此可知, 还原响应性的囊泡能迅速释放药物, 这对临床应用快速杀死癌细胞具有积极的意义。PEG₁₇-SS-PPS₃₀ 的合成路线见图 5 (根据文献^[28]重绘)。

图5 PEG₁₇-SS-PPS₃₀ 的合成路线^[28]

Park 等^[29]研究用表面巯基修饰的葫芦[6]脲 (CB[6]) 制备还原响应性的纳米囊泡。这种纳米囊泡负载阿霉素后通过细胞高选择性的内吞作用进入肿瘤细胞, 在肿瘤细胞的 GSH 还原性环境下二硫键裂解致使纳米囊泡解体从而迅速释放阿霉素。

2.3 还原响应性的纳米中空微球 聚合物中空微球在结构上类似于囊泡, 但是中空微球并非由嵌段共聚合物制得, 而是用层层自组装 (LBL) 技术制得。还原响应的中空微球是用生物可降解的且带有二硫键的聚合物材料作为球壳, 内部负载多肽和蛋白类药物。当在细胞内的还原条件下, 壳层二硫键裂解释放药物^[30]。

Chong 等^[31]通过 LBL 技术构建了聚丙烯酸 (PMA) 聚乙烯吡咯烷酮 (PVPON) 二硫偶联的中空微球, 壁厚由聚丙烯酸和聚乙烯吡咯烷酮的投料比决定。当在细胞还原条件下, 二硫键交联的壳层随二硫键的裂解而层层地脱落, 从而释放药物。Shu 等^[32]报道采用 LBL 技术合成了一种梯级交联的具有还原响应和 pH 响应的纳米中空微球。先用 β -环糊精修饰的硅球吸附胱氨酸交联的壳聚糖或巯基修饰葡聚糖形成壳层, 再用氢氟酸去掉硅核, 牛血清蛋白则留在 β -环糊精的空腔里面。这种微球粒径分布在 90~120 nm,

能被细胞膜内吞,在细胞内还原环境下脱除外壳,释放牛血清蛋白。

2.4 还原响应性的脂质体 脂质体具有两亲性,药物被脂质体包封后,具有以下主要特点:溶解性增强、毒性降低、靶向性增强以及缓释作用增加。因此,如用脂质体将对正常细胞有毒性的抗癌药物包封后,可明显降低药物的毒性^[33]。还原响应性的脂质体是由二硫键连结两亲性物质构成的^[34]。包裹疏水性药物后,在细胞还原性物质下(如 DTT 或 GSH)断裂二硫键快速释放药物。Maeda 等^[35]先用 3-(2-吡啶二硫基)丙酸 *N*-羧基琥珀酰亚胺酯 (SPDP) 处理过的二油酰基磷酸基乙醇胺 (DOPE) 和巯基化的单甲醚聚乙二醇 (mPEG-SH) 通过二硫键交换反应合成了 mPEG-SS-DOPE, 再在 4-羟乙基哌嗪乙磺酸 (HEPES) 缓冲溶液中及二棕榈酰磷脂酰胆碱 (DPPC) 的存在下合成了一种含有二硫键的脂质体 (mPEG-SS-liposomes), 该脂质体在 HEPES 缓冲溶液中和精氨酸八聚体 (R_8) 结合生成了一种还原响应性的脂质体 (mPEG-S-S- R_8 -liposomes), 经过动态光散射测定其粒径在 100 nm 左右。细胞实验结果表明,在 10 mmol·L⁻¹ GSH 条件下,4 h 后可检测到 100% A431 肿瘤细胞内吞的钙黄绿素发出的荧光。该类脂质体对药物的包封率最高,且毒副作用最小。该脂质体的结构示意图见图 6 (根据文献^[35]重绘)。

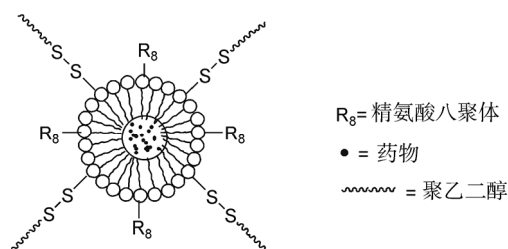


图 6 mPEG-SS- R_8 -liposomes 结构^[35]

3 还原响应型药物载体在基因给药系统中的应用

基因治疗是在细胞生物学、分子生物学以及病毒学等学科飞速发展的基础上建立起来的一项新技术。利用该技术将人或动物的正常基因或有治疗作用的基因通过一定方式转入人体靶细胞内表达,以纠正基因缺陷或发挥治疗作用。基因治疗的一个关键技术是基因传递载体的设计。非病毒的还原响应型聚合物载体具有低毒、低免疫原性、能携带大量 DNA 分子、易大量生产和费用低廉等特点,引起了人们极大的兴趣^[36]。

3.1 基于静电作用的还原响应型基因传递系统 聚乙烯亚胺 (PEI) 是目前在基因给药载体领域非病毒载体应用最广泛的一类高分子载体,它价格低廉、体内外转染效率较高。PEI 单体中含有两个碳原子和 1 个氮原子,分枝状的 PEI 分子中可含有伯胺、仲胺和叔胺,每个胺都可以质子化,从而带上大量的正电荷,通过静电作用包裹 DNA 或 siRNA。与二硫键形成的分枝状和线型的 PEI 包裹 DNA 后,在靶细胞中的 GSH 还原下,随着二硫键断裂而分散,从而释放 DNA^[37]。这种载体在细胞外稳定性较好,但高分子量的 PEI 毒性较大,若用 PEG、PCL、壳聚糖等修饰 PEI,既降低了毒性又增加了其转染效率^[38]。还原响应的枝化和线型 PEI 见图 7 (根据文献^[39]绘制)。

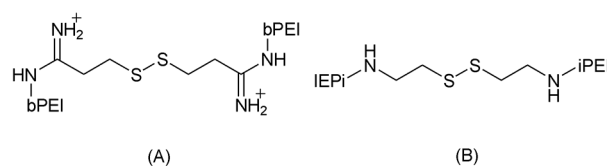


图 7 (A) 与二硫键形成的枝化 PEI 和 (B) 与二硫键形成的线型 PEI

Ou 等^[40]用 *N*, *N*'-二丙烯酰脲胺 (CBA) 分别与精胺 (SP)、三乙烯四胺 (TETA)、*N*, *N*'-双(2-氨基乙基)丙三胺 (AEPD)、*N*, *N*'-双(2-氨基乙基)乙二胺 (APED) 等合成了一系列含有二硫键的聚合物,研究发现聚合链的长度并不影响基因的转染效率,该聚合物比枝状的聚乙烯亚胺具有更高的质子化程度,更低的细胞毒性、更强的细胞靶向性。

Kim 等^[41]发现用精氨酸接枝的聚二硫胺能与质粒 DNA 通过静电作用形成小于 200 nm 的纳米粒,通过奎宁处理后发现其转染效率并没有改变,这说明不是由于精氨酸的接枝增加了该载体的细胞膜穿透能力,而是增加了核定向能力。Waite 等^[42]利用 RGD 肽作为药物靶向配体的性质,研究用聚酰胺 (PAMA)、RGD 肽的偶联物 (PAMA-SS-RGD) 和 siRNA 形成复合物来运载目的基因,既消除了细胞外基质的相互作用,又提高了 siRNA 的传递作用。

3.2 基于共价键和非共价键双重作用的还原响应型基因传递系统 基于静电作用的基因传递系统虽然易于细胞内在化、从内涵体逃逸、保护 DNA 免受 DNA 酶的降解,但是强烈的静电作用限制了基因进入细胞核后从复合物中释放,基于共价键和非共价键双重作用的还原响应基因传递系统在一定程度上解决了这个问题。

Kim 等^[43]用巯基化的聚乙二醇 (mPEG-SH, $M_r = 5\ 000$) 和血管内皮生长因子 siRNA 经 SPDP 处理后的 2-吡啶基二硫 siRNA 合成了 siRNA-SS-PEG 的偶联物, 该偶联物和 PEI 组装成的聚电解质复合物胶束 (PEC) 在血管内皮生长因子 siRNA 降解酶存在下表现良好的稳定性, 而在细胞内 GSH 的还原下能够迅速释放携带的 siRNA。这类载体综合了 PEI 的高转染性和 PEG 的低毒性, 具有较大的应用前景。PEG 和 siRNA 的偶联物合成路线图见图 8 (根据文献^[43]重绘)。

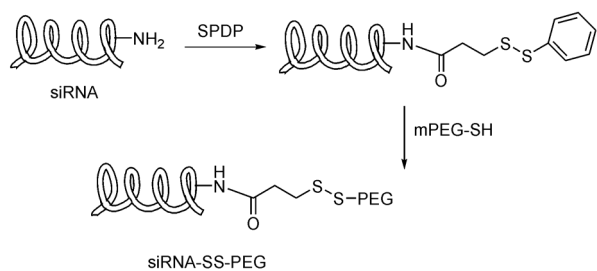


图 8 siRNA-SS-PEG 的合成路线^[43]

4 结语

随着科技的发展, 人们对疾病的治疗效果和手段的要求也日益提高。提高药物的生物利用度、延长药物作用时间、实现药物体内靶向定位, 降低毒副作用一直是药物载体领域研究的重点。以还原响应型药物载体为代表的可控的缓释智能药物载体以其高效释放药物、毒副作用小和生物可降解的优点将具有更广阔的发展前景, 智能释放和可控程度是这一体系的关键。就目前情况来看, 许多药物载体仍存在研制成本高、包封率低、适用范围窄、临床应用率不高等问题。今后的研究方向应是进一步提高药物载体的可控程度、提高载药性、降低毒副作用、提高生物降解能力及靶向定位等。相信在不久的将来, 还原响应型等智能型药物载体将在临床上得到广泛的应用, 成为人类征服疾病的有力武器。

References

- [1] Saito G, Swanson JA, Lee KD. Drug delivery strategy utilizing conjugation *via* reversible disulfide linkages: role and site of cellular reducing activities [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2003, 55: 199–215.
- [2] Zhou BJ, Deng SQ, Gong QF. Recent development of targeted drug delivery system [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2010, 45: 300–306.
- [3] Wang CH, Wang CH, Hsiue GH. Polymeric micelles with a pH-responsive structure as intracellular drug carriers [J]. *J Control Release*, 2005, 108: 140–149.
- [4] Lowman AM, Morishtita M, Kajita M, et al. Oral delivery of insulin using pH-responsive complexation gels [J]. *J Pharm Sci*, 1999, 88, 933–937.
- [5] Xu JX, Tang JB, Zhao LH, et al. Advances in the study of tumor pH-responsive polymeric micelles for cancer drug targeting delivery [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2009, 44: 1328–1335.
- [6] Wu G, Fang YZ, Yang S, et al. Glutathione metabolism and its implications for health [J]. *Nutrition*, 2004, 134: 489–492.
- [7] Raina S, Missiakas D. Making and breaking disulfide bonds [J]. *Annu Rev Microbiol*, 1997, 51: 179–202.
- [8] Meng FH, Hennink WE, Zhong ZY, et al. Reduction-sensitive polymers and bioconjugates for biomedical applications [J]. *Biomaterials*, 2009, 30: 2180–2198.
- [9] West KR, Otto SB. Reversible covalent chemistry in drug delivery [J]. *Curr Drug Discov Technol*, 2005, 2: 123–160.
- [10] Rajeeva S, Lamoureux GV, Lees WJ, et al. Reagents for rapid reduction of disulfide bonds [J]. *Methods Enzymol*, 1995, 251: 167–173.
- [11] Ranucci L, Suardi MA, Annunziata R, et al. Poly(amidoamine) conjugates with disulfide-linked cholesterol pendants self-assembling into redox-sensitive nanoparticles [J]. *Biomacromolecules*, 2008, 9: 2693–2704.
- [12] Flanary U, Hoffman AS, Stayton PS. Delivery with poly (propylacrylic acid) conjugation enhances MHC-1 presentation and T-Cell activation [J]. *Bioconjug Chem*, 2009, 20: 241–248.
- [13] Vlies VD, O'Neil CP, Hubbell JA, et al. Synthesis of pyridyl disulfide functionalized nanoparticles for conjugating thiol-containing small molecules, peptides, and proteins [J]. *Bioconjug Chem*, 2010, 21: 653–662.
- [14] Navath RS, Wang B, Kannan S, et al. Stimuli-responsive star poly (ethylene glycol) drug conjugates for improved intracellular delivery of the drug in neuroinflammation [J]. *J Control Release*, 2010, 142: 447–456.
- [15] Shi Kam NW, Liu Z, Dai HJ. Functionalization of carbon nanotubes *via* cleavable disulfide bonds for efficient intracellular delivery of siRNA and potent gene silencing [J]. *J Am Chem Soc*, 2005, 127: 12492–12493.
- [16] Liu Z, Cai WB, He L, et al. *In vivo* biodistribution and highly efficient tumour targeting of carbon nanotubes in mice [J]. *Nat Nanotechnol*, 2007, 2: 47–52.
- [17] Liu Z, Sun XM, Dai HJ, et al. A pilot toxicology study of single-walled carbon nanotubes in a small sample of mice [J]. *Nat Nanotechnol*, 2008, 3: 216–221.

- [18] You YZ, Hong CY, Pan CY. Covalently immobilizing a biological molecule onto a carbon nanotube *via* a stimuli-sensitive bond [J]. *J Phys Chem B*, 2007, 111: 16161–16166.
- [19] Shen WC, Ryser HJ, LaManna L. Disulfide spacer between methotrexate and poly(*D*-lysine). A probe for exploring the reductive process in endocytosis [J]. *J Biol Chem*, 1985, 260: 10905–10908.
- [20] Lim J, Pellois JP, Simanek EE. A retro-inverso TAT-like peptid designed to deliver cysteamine to cells [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2010, 20: 6321–6323.
- [21] Xiang M, Bian FL, Liu MZ. Research on nano-micelles used as drug carriers based on thermosensitive amphiphilic block copolymers [J]. *Chin Poly Bull (高分子通报)*, 2008, 5: 20–27.
- [22] Chen D, Ding PT, Deng YH, et al. Advances in the study of polymeric micelles used in oral administration [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2010, 45: 560–564.
- [23] Sun HL, Guo BN, Zhong ZY, et al. Biodegradable micelles with sheddable poly (ethylene glycol) shells for triggered intracellular release of doxorubicin [J]. *Biomaterials*, 2009, 30: 6358–6366.
- [24] Sun HL, Guo BN, Zhong ZY, et al. Shell-sheddable micelles based on dextran-ss-poly(ϵ -caprolactone) diblock copolymer or efficient intracellular release of doxorubicin [J]. *Biomacromolecules*, 2010, 11: 848–854.
- [25] Tang LY, Wang YC, Li Y, et al. Shell-detachable micelles based on disulfide-linked block copolymer as potential carrier for intracellular drug delivery [J]. *Bioconjug Chem*, 2009, 20: 1095–1099.
- [26] Kim JE, Cha EJ, Ahn CH. Reduction-sensitive self-aggregates as a novel delivery system macromol [J]. *Chem Phys*, 2010, 211: 956–961.
- [27] Yu N, Sun D, Han ZR, et al. Spontaneous formation and polymerization of CTAB/SDBS vesicles [J]. *Acta Chem Sin (化学学报)*, 2008, 66: 315–320.
- [28] Cerritelli S, Velluto D, Hubbell JA. PEG-SS-PPS reduction-sensitive disulfide block copolymer vesicles for intracellular drug delivery [J]. *Biomacromolecules*, 2007, 8: 1966–1972.
- [29] Park KM, Lee WD, Sarkar B, et al. Reduction-sensitive robust vesicles with a noncovalently modifiable surface as a multifunctional drug-delivery platform [J]. *Small*, 2010, 6: 1430–1441.
- [30] Luo FS, Ding JD. Preparation of hollow porous microsphere by seeding emulsion polymerization [J]. *J Funct Poly (功能高分子学报)*, 2001, 14: 341–343.
- [31] Chong SF, Chandrawati R, Städler B, et al. Stabilization of polymer-hydrogel capsules *via* thiol-disulfide exchange [J]. *Small*, 2009, 5: 2601–2610.
- [32] Shu SJ, Zhang XG, Wu ZM, et al. Gradient cross-linked biodegradable polyelectrolyte nanocapsules for intracellular protein drug delivery [J]. *Biomaterials*, 2010, 31: 6039–6049.
- [33] Ji JM, Xie WL. Progress in the study of liposome as drug carrier [J]. *J Zhengzhou Institute Technol (郑州工程学院学报)*, 2002, 23: 68–72.
- [34] Wetzer B, Byk G, Frederic M, et al. Reducible cationic lipids for gene transfer [J]. *Biochem J*, 2001, 356: 747–756.
- [35] Maeda T, Fujimoto K. A reduction-triggered delivery by a liposomal carrier possessing membrane-permeable ligands and a detachable coating [J]. *Colloids Surf B: Biointerf*, 2006, 49: 15–21.
- [36] Fischer D, Li YX, Ahlemeyer B, et al. *In vitro* cytotoxicity testing of polycations: influence of polymer structure on cell viability and hemolysis [J]. *Biomaterials*, 2003, 24: 1121–1131.
- [37] Manickam DS, Oupicky' D. Multiblock reducible copolypeptides containing histidine-rich and nuclear localization sequences for gene delivery [J]. *Bioconjug Chem*, 2006, 17: 1395–1403.
- [38] Han M, Bae Y, Nishiyama N, et al. Transfection study using multicellular tumor spheroids for screening non-viral polymeric gene vectors with low cytotoxicity and high transfection efficiencies [J]. *J Control Release*, 2007, 121: 38–48.
- [39] Gosselin MA, Guo WJ, Lee RJ. Efficient gene transfer using reversibly cross-linked low molecular weight polyethylenimine [J]. *Bioconjug Chem*, 2001, 12: 989–994.
- [40] Ou M, Wang XL, Xu RZ, et al. Novel biodegradable poly(disulfide amine)s for gene delivery with high efficiency and low cytotoxicity [J]. *Bioconjug Chem*, 2008, 19: 626–633.
- [41] Kim T, Ou M, Lee M, et al. Arginine-grafted bioreducible poly(disulfide amine) for gene delivery systems [J]. *Biomaterials*, 2009, 30: 658–664.
- [42] Waite CL, Roth CM. PAMAM-RGD conjugates enhance siRNA delivery through a multicellular spheroid model of malignant glioma [J]. *Bioconjug Chem*, 2009, 20: 1908–1916.
- [43] Kim SH, Jeong JH, Lee SH, et al. PEG conjugated VEGF siRNA for anti-angiogenic gene therapy [J]. *J Control Release*, 2006, 116: 123–129.