

自组装在多肽药物中的应用

王越^{1,2}, 丁秀仿^{1,2}, 张泗达², 张瑞华², 陈东², 徐建富^{2*}, 陈龙^{1*}

1 北京化工大学生命科学与技术学院, 北京 100029

2 国民核生化灾害防护国家重点实验室, 北京 102205

王越, 丁秀仿, 张泗达, 张瑞华, 陈东, 徐建富, 陈龙. 自组装在多肽药物中的应用[J]. 生物工程学报, 2023, 39(1): 177-191.
WANG Yue, DING Xiufang, ZHANG Sida, ZHANG Ruihua, CHEN Dong, XU Jianfu, CHEN Long. Application of self-assembly in polypeptide drugs: a review[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2023, 39(1): 177-191.

摘要: 自组装是指分子、纳米级结构材料等基本单元自发地组装成一个稳定而又紧密结构的过程。多肽可在各种非共价驱动力下自组装形成纳米纤维、纳米层状结构、胶束等不同的形貌。因多肽具有氨基酸序列明确、易于合成、便于设计等优势, 多肽自组装技术成为了近年来一个研究热点。有研究表明, 对某些多肽类药物进行自组装设计或者使用自组装肽材料作为药物递送的载体, 可以解决药物自身存在的半衰期短、水溶性差、生理屏障穿透率低等问题。本文重点介绍了自组装多肽的形成机制、自组装形貌、影响因素、自组装设计方法及其在生物医学领域的主要应用, 为多肽的高效利用提供参考。

关键词: 自组装肽; 形成机制; 影响因素; 形貌; 药物设计; 药物递送

Application of self-assembly in polypeptide drugs: a review

WANG Yue^{1,2}, DING Xiufang^{1,2}, ZHANG Sida², ZHANG Ruihua², CHEN Dong²,
XU Jianfu^{2*}, CHEN Long^{1*}

1 College of Life Science and Technology, Beijing University of Chemical Technology, Beijing 100029, China

2 State Key Laboratory of Nuclear Biological Chemical Protection for Civilian, Beijing 102205, China

Abstract: Self-assembly refers to the spontaneous process where basic units such as molecules and nanostructured materials form a stable and compact structure. Peptides can self-assemble by non-covalent driving forces to form various morphologies such as nanofibers, nano layered structures, and micelles. Peptide self-assembly technology has become a hot research topic in recent years due to the advantages of definite amino acid sequences, easy synthesis and design

资助项目: 军队生物安全研究专项(19SWAQ06); 国家重点研发计划(2021YFC2103900)

This work was supported by the Military Biosecurity Research Program (19SWAQ06) and the National Key Research and Development Program of China (2021YFC2103900).

*Corresponding authors. E-mail: XU Jianfu, jianfuxu2000@hotmail.com; CHEN Long, chenlong@mail.buct.edu.cn

Received: 2022-04-25; Accepted: 2022-09-28; Published online: 2022-10-08

of peptides. It has been shown that the self-assembly design of certain peptide drugs or the use of self-assembled peptide materials as carriers for drug delivery can solve the problems such as short half-life, poor water solubility and poor penetration due to physiological barrier. This review summarizes the formation mechanism of self-assembled peptides, self-assembly morphology, influencing factors, self-assembly design methods and major applications in biomedical field, providing a reference for the efficient use of peptides.

Keywords: peptide self-assembly; formation mechanism; influencing factor; morphology; drug design; drug delivery

自组装普遍存在于生物系统中, 在生命活动中起着至关重要的作用。例如蛋白质在 4 个结构水平上的自组装, 基于蛋白质和核酸的烟草花叶病毒(tobacco mosaic virus, TMV)通过自组装呈现出杆状、螺旋状、棒状等不同的形状, 具有亲水性头部和疏水性尾部的磷脂自组装形成具有流动性的磷脂双层膜结构等^[1]。从 1993 年 Ghadiri 等^[2]最先利用自组装技术将一种新型的环状多肽合成多肽纳米管, 到 Zhang 等^[3]发现了可进行自组装的离子短肽之后, 多肽自组装技术开始逐步地发展起来。近年来, 多肽分子自组装研究进展迅速, 其在响应型生物功能材料的构建^[4]、药物载体^[5]、多肽药物设计^[6]、组织工程支架^[7]等方面进行了探索, 多肽自组装及其应用在生物纳米材料、医学应用领域引起了极大反响^[8]。本文重点对多肽自组装的形成机制、形貌、影响因素、应用概况、自组装多肽药物的设计等研究进展进行了总结和展望。

1 多肽自组装机理

分子自组装是一种常见的自然现象, 如分子结晶。多肽可以自发或者由特定条件触发来实现自组装, 并进一步形成形态特定的结构。多肽主要借助氢键、亲/疏水相互作用、静电作用、 π - π 堆积等非共价作用力进行自组装。

1.1 亲水/疏水相互作用

疏水相互作用是分子中的非极性部分因避

开水相而彼此聚在一起的作用力, 亲水作用力和疏水作用力是两亲性肽自组装的主要驱动力, 它们在稳定二、三级构象方面承担着重要角色。类似于生物膜结构中的磷脂双分子层, 两亲肽的亲水、疏水部分会自发地根据亲疏水力靠近或远离。通过控制这 2 部分的结构, 可以设计出不同功能的自组装多肽分子以及不同形貌的聚集体。

胶原模拟肽序列中存在着大量的亲水性和疏水性的氨基酸, Luo 等^[9]通过开环反应将亲水性的缩水甘油(glycidol, GCD)和疏水性的 Y-缩水甘油醚氧丙基三甲氧基硅烷(Y-glycidyl ether oxypropyl trimethoxysilane, GLH)部分分别连接到胶原模拟肽的侧链上, 然后探究亲水、疏水相互作用分别对胶原模拟肽自组装行为和微观形态的影响。结果显示亲水性相互作用比疏水性相互作用对胶原模拟肽自组装的驱动作用更强。在亲水力的作用下, GCD 连接的胶原模拟肽形成纳米纤维结构, 而疏水相互作用则驱使 GLH 连接的胶原模拟肽形成微球结构。亲水和疏水相互作用对自组装的周期以及形态、结构具有调节作用。

1.2 氢键

氢键是由极性很强的 X-H 基上的氢原子与另一个电负性强的原子 Y (如 O、N、F 等)相互作用所产生的某种吸引力。氢键作用力具有方向性(即 X 与 Y 之间的角度接近 180°)和饱和性(即一般情况下 X-H 只能和一个 Y 结合), 可以

在分子间或分子内形成。氢键作用力是稳定蛋白质等高级结构的主要推动力。

Paramonov 等^[10]设计了一个两亲性脂肽分子,该脂肽包含 C16 疏水性烷基尾部、7 个甘氨酸组成的连接区和“ERGDS”头部序列 3 个区域。该研究用不同数量的 CH₃ 在不同位置取代甘氨酸上的 H,从而选择性地控制自组装肽之间形成的氢键网络,进而详细考察氢键在该脂肽自组装中的作用。实验结果表明靠近 C16 疏水性烷基尾部的 4 个氢键能显著影响脂肽的自组装结构,破坏这 4 处氢键后,原纳米纤维结构会变成球形胶束;而靠近头部区域的 3 个氢键则对脂肽的自组装纳米结构影响较小,当氢键改变后,原纤维结构变化不大。

1.3 静电作用

多肽分子中带正电和负电的氨基酸残基间通过静电吸引与静电排斥作用力影响多肽的自组装行为。静电作用不具有方向性,易受到离子强度和 pH 的干扰。

与阿尔茨海默病密切相关的淀粉样肽,如 A β (1-40)和 A β (1-42),经过自组装后在阿尔茨海默病人的大脑中形成纤维沉积,近些年来受到密切关注。Tao 等固相合成了 2 个 β -淀粉样蛋白[A β (16-22)]肽^[11],即不封端的 KLVFFAE 肽和封端的 Ac-KLVFFAE-NH₂ 肽,以此来探究末端封端对自组装效果的影响。序列中的赖氨酸(K)和谷氨酸(E)是 2 个带电荷的氨基酸,在 pH 2.0 的条件下,KLVFFAE 分子的 N 端会携带 2 个正电荷,C 端携带 1 个弱酸性基团,在两端的静电相互作用力下,KLVFFAE 短肽会自组装成长直状的纳米纤维。而封端后的短肽只携带 1 个正电荷,分子电荷分布发生明显变化,在静电斥力的作用下,Ac-KLVFFAE-NH₂ 自组装形成纳米带结构。静电作用易受 pH 值的影响,在这里得到了充分体现。

1.4 π - π 堆积作用

π - π 堆积发生在含有芳香性结构氨基酸的自组装多肽中,这种弱相互作用力存在于相对富电子和缺电子的 2 个分子之间,使其能够以面对面和边对边的方式进行堆叠,并且该作用力具有取向性,将 π - π 共轭双键引入多肽能显著影响分子周围的环境,进而驱动多肽形成特殊的组装形貌^[12]。

总而言之,非共价键力的强度虽弱于共价键,但是当达到一定数量以及在这些非共价驱动力联合作用下,分子依旧能形成稳定的纳米组装结构。随着自组装技术的发展,分子模拟和分子动力学模拟技术逐渐成为了辅助研究的工具,不仅可以模拟自组装多肽单体,还可以模拟多肽自组装过程等。

2 多肽自组装形貌

自组装肽的序列明确,具有良好的生物相容性、优良靶向性,能在自组装驱动力下形成纳米纤维、纳米层状结构、胶束、囊泡、纳米管、微球、水凝胶等不同的形态^[13]。最常见的表征自组装形貌的仪器有透射电子显微镜(transmission electron microscope, TEM)、原子力显微镜(atomic force microscope, AFM)、扫描电子显微镜(scanning electron microscope, SEM)。TEM 主要表征样品的平面尺寸,包括样品长度、直径等二维结构信息。TEM 不仅制样简单、可调宽放大倍数,而且图像的分辨率高、景深大。借助 TEM、SEM、AFM 等仪器所观察到的多肽自组装体的主要形貌如图 1 所示。图 1A 是通过 TEM 观察到的多功能肽 P51 负载化疗药物后的自组装纳米颗粒的形态和内部结构,近球形纳米颗粒的尺寸约为 40 nm,并包含许多小于 5 nm 的致密颗粒^[14]。AFM 是利用微悬臂检测装置与受测样品原子之间的作用力来达到

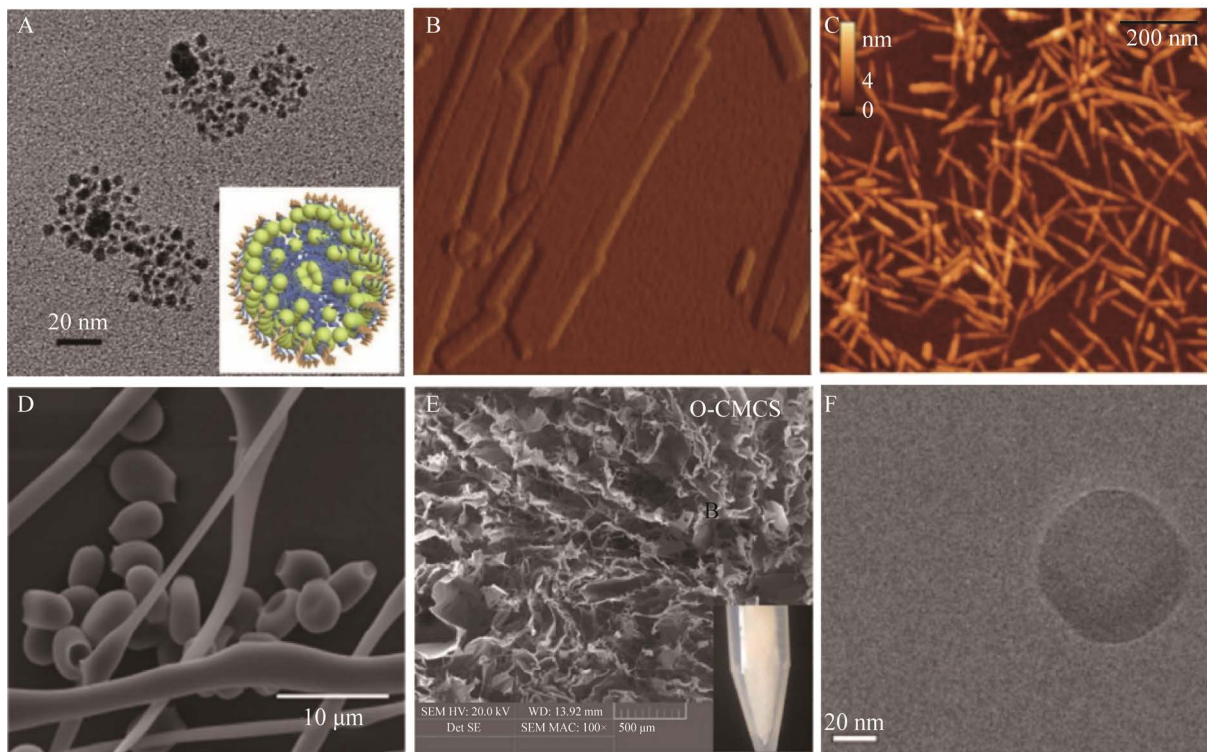


图 1 多肽自组装的主要形貌^[5,9,11,14-16] A: 纳米球(TEM 图像)^[14]. B: 纳米层状结构(AFM 图像)^[11]. C: 纳米纤维(AFM 图像)^[5]. D: 囊泡和微管(SEM 图像)^[9]. E: 水凝胶(SEM 图像)^[15]. F: 胶束(cryo-TEM 图像)^[16]
 Figure 1 Morphology of peptide self-assembly^[5,9,11,14-16]. A: Nanosphere (TEM image)^[14]. B: Nano layered structure (AFM image)^[11]. C: Nanofibers (AFM image)^[5]. D: Vesicles and microtubules (SEM image)^[9]. E: Hydrogel (SEM image)^[15]. F: Micelles (cryo-TEM image)^[16].

检测的目的, 具有原子级的分辨率, 可以较精确地测定样品的高度, 如图 1B-C 所示。TEM 和 AFM 二者结合后, 可以更加全面地反映出样品间的结构差异。图 1B 中 AFM 相图显示出 Ac-KLVFFAE-NH₂ 多肽在静电斥力的作用下自组装形成纳米层状结构^[11]。SEM 是继透射电镜之后发展起来的一种电子显微镜, 利用电子和物质的相互作用, 可以获取被测样品本身的各种物理、化学性质的信息, 如形貌、组成、晶体结构、电子结构等。图 1D-E 展示了 SEM 观察下的胶原模拟肽在亲水和疏水相互作用下形成的囊泡和微管形态^[9]以及冷冻干燥多肽水凝胶图像^[15]。相比于 TEM, SEM 图像中的多肽

形貌看起来更加具有立体感。除此之外, 还有冷冻电镜如冷冻透射电镜(cryo-transmission electron microscope, cryo-TEM)、冷冻扫描电镜、冷冻蚀刻电子显微镜等技术。cryo-TEM 是在普通透射电镜上加装样品冷冻设备, 将样品用液氮冷却到-196 °C, 用于观测蛋白、生物切片等对温度敏感的样品。经过快速冷冻可减少冰晶的产生, 从而不影响样品本身的结构, 进而得到更为真实的样品形貌, 但其仪器价格极其昂贵。图 1F 便是借助 cryo-TEM 进一步验证了弹性蛋白多肽嵌段共聚物(elastin-like polypeptides block copolymers, ELP_{BC}'s)的自组装胶束结构^[16]。

3 影响多肽自组装的主要因素

3.1 氨基酸的组成和序列

多肽是由氨基酸通过肽键连接形成的,氨基酸的数目、氨基酸残基的手性、氨基酸侧链性质都可以对多肽自组装带来影响。有研究表明,改变氨基酸残基的手性有时不会影响组装体的外观形貌,却会显著改变自组装纤维结构的螺旋方向^[17]。科研工作者大都追求对组装体形貌和尺寸的控制,研究发现通过增加疏水性氨基酸的数目可以使多肽自组装形成的纳米结构由纳米囊泡转变成纳米管或纳米带,这些自组装结构可以用来包载药物以实现药物的可控释放^[18]。如 Hu 等^[19]的研究发现,对于两端带有相同电荷氨基酸的多肽 EFFFFE 或 KFFFFK,组装过程中分子间相互排斥,容易形成扭转的纳米带或者纳米纤维,当二者以不同比例混合时,多肽分子间则倾向相互吸引,形成平滑的纳米带。通过合理调整氨基酸的组成,设计不同的多肽序列,通过非共价键力的平衡来调控自组装行为。

3.2 pH 值

pH 值是最常见的影响自组装的因素,pH 可以调控蛋白质和多肽中侧链羧基和氨基的质子化/去质子化,从而控制吸引、排斥相互作用。大多数肿瘤部位、溶酶体、内小体和胃肠道等特定器官的 pH 值比正常组织的值(pH 7.4)低^[20-21],因此该响应因素多被人们研究利用,特别是在 pH 响应性自组装多肽作为药物载体来输送难溶性抗肿瘤药物方面。例如 Liang 等^[22]在两亲性肽(peptide-amphiphiles, PAs)的基础上设计了一种酸响应性两亲性多肽,序列为 VVVVVVKKGRGDS。在中性或碱性环境中,此 PAs 在氢键和疏水作用力驱动下组装成胶束。而在酸性环境下,K 残基间静电排斥力能

让自组装体发生解离。借助这种 pH 响应能力以及精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸(RGD)靶向序列,该自组装多肽能成功地将抗肿瘤药物运送至靶位,并且在偏酸性的靶位快速释放药物。pH 变化也会使肽构象发生转化,有文章报道新型抗菌多肽可在不同生理 pH 值下在螺旋-无规则卷曲构象之间进行转化,当处于无规则卷曲构象时,多肽会产生较强的毒性,便可以特异性杀灭胃中的幽门螺杆菌^[23]。

3.3 温度

温度变化也可以触发多肽的自组装进程,2007年 Dreher 等尝试设计触发式自组装纳米颗粒,他们选择了弹性肽 ELPs 作为嵌段共聚物的肽模块来开展研究,成功确定了一组 ELP 嵌段共聚物(ELP_{BC}'s),可在 37-42 °C 的温度范围内触发多肽自组装成球形胶束^[16],并且胶束外部呈现亲和靶向性,胶束核心可用于隔离药物或显像剂。为了实现纳米药物在肿瘤部位的深层渗透及有效富集,Liu 等通过分子水平的深层组织穿透和近红外激光引导的原位自组装策略设计了一种温度敏感型的多肽聚合物(polymer-peptide conjugates, PPCs)。该多肽聚合物由具有温度响应性的 poly(β -thioester)主链、细胞毒性肽、细胞穿透肽以及具有光热性质的近红外分子组成(图 2)^[24]。在体温环境下,小尺寸的多肽聚合物在分子水平上深入到肿瘤内部,之后在近红外激光照射下,光热分子引起温度升高,PPCs 进而发生原位自组装生成球形纳米颗粒。在肿瘤中积聚并有效进入细胞后,通过破坏线粒体膜诱导细胞凋亡,这为深层肿瘤治疗和诊断提供一种新的策略^[24]。此外,温度升高会破坏体系的氢键,使自组装体系稳定性减弱,从而发生构象上的改变,如四离子肽 RWDW 的自组装过程也受温度的影响,当温度从 15 °C 上升至 35 °C 时,该四离子肽紧密缠绕的纤维结构会发生崩裂。

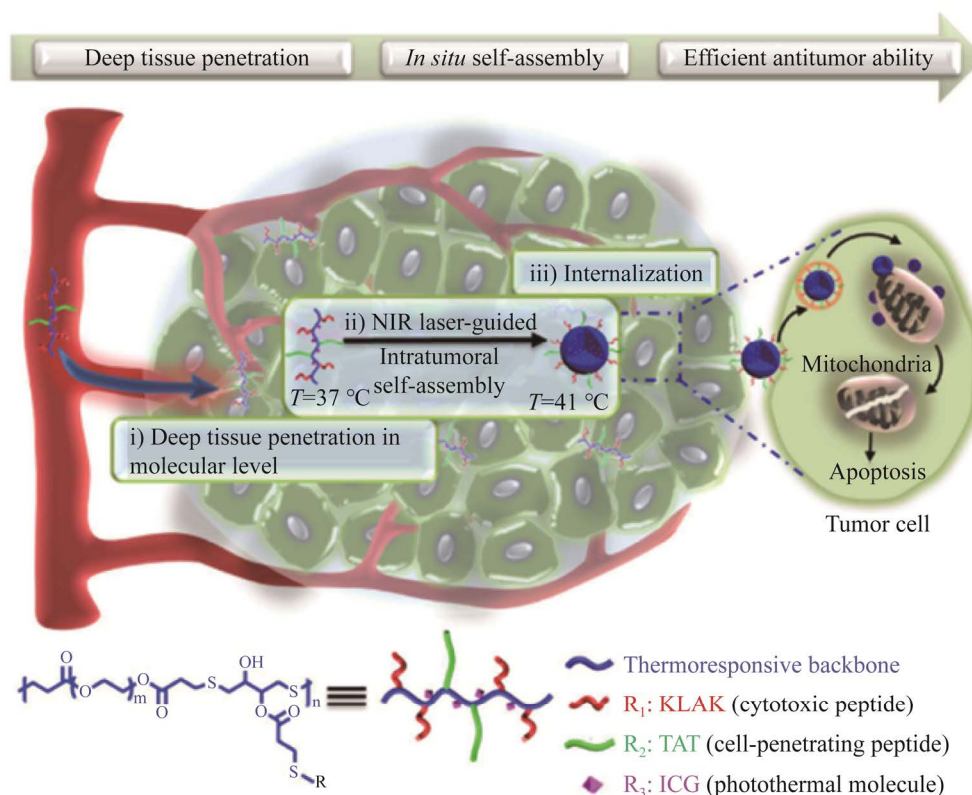


图2 多肽聚合物(PPCs)和近红外激光诱导的原位自组装深层组织渗透示意图^[24]

Figure 2 Schematic illustration of deep tissue penetration of polymer-peptide conjugates (PPCs) and the near-infrared laser induced *in situ* self-assembly^[24].

3.4 酶

酶能有效催化许多生化反应,促进人体内新陈代谢,只有酶存在,人体内才能完成各项化学反应。酶的异常表达也与疾病紧密相关,如组织蛋白酶B是溶酶体内半胱氨酸内切蛋白水解酶,参与机体多种生理和病理过程。因其能促进肿瘤细胞的浸润转移,所以成为了目前诊断和治疗恶性肿瘤的一个研究热点^[25]。例如将易被酶解的多肽片段引入自组装多肽分子,制备出对酶具有响应性的多肽自组装体系,可以用于在特定部位触发原位自组装^[26],用于肿瘤靶向给药和治疗等医学领域。基质金属蛋白酶、溶酶体酶^[27]、磷酸酶等都是最常见的触发和控制小分子自组装反应的酶。例如,Gao等^[28]

在抗癌三肽(YSV)的基础上构建了新的肽基前药分子NapGDFDFpYSV,其可在碱性磷酸化酶异常表达的位置自组装形成水凝胶,可显著提高抗肿瘤的效率和效率。以及后面4.1提到的多肽前药CPT-LFPR和4.3部分提到的以GLFG寡肽为核心的自组装多肽纳米颗粒RH-(GFLG)₃均是在组织蛋白酶B会影响多肽自组装的基础上进行相关设计的。

3.5 时间

多肽自组装与时间也存在着关联,最经典的例子是将肽KFE8-I(FKFEFKFE)滴在云母片上后,早期通过原子力显微镜能观察到螺旋缎带状结构,后期此结构又转变成纳米网状结构^[29]。又如将亲水基团和疏水基团引入胶原模拟肽

后,影响了分子自主成核和生长时间,导致模拟肽最终形成不同形态结构的聚集体。原胶原模拟肽在 600 min 后自组装达到平衡阶段,形成囊泡和微管;引入亲水基团的胶原模拟肽会在 900 min 后达到组装平衡,呈现出纤维网络结构;引入疏水基团的胶原模拟肽则需要自组装 800 min,微观形态表现为微球和薄带^[9]。

除了上述几个主要影响因素以外,超声波、离子强度、肽溶液浓度、光、氧化还原剂都能影响多肽自组装的进程以及自组装的形貌,同时这些影响因素也恰恰可以赋予多肽自组装的响应性,为响应性自组装多肽在生物医学与材料领域的高效利用提供参考思路。Lee 等^[30]在文章中就主要介绍了氧化和三磷酸腺苷这 2 个新的刺激影响因素,还介绍了响应性自组装多肽在生物医学中的应用。除了单响应性外,多重响应性自组装多肽及嵌合物^[31-32]也越来越受欢迎,通过设计合成策略,可以赋予多肽材料在特定环境条件下的响应性反应。例如,本课题组就以多肽序列 RTX 为模板设计合成了一条具有 pH 和钙离子双重响应性的多肽两亲分子,pH 和钙离子的改变能够诱导 RTX 自组装形成多肽水凝胶,进一步拓宽了多肽自组装的应用方向^[6]。

4 自组装多肽的应用研究

4.1 自组装在多肽药物中应用

多肽类药物能够用于疾病的预防、治疗和诊断,可通过人工合成来满足临床应用。因其兼具小分子药物和蛋白药物的特性,所以肽类药物成为了一类热门研究的分子。自第一种肽类药物胰岛素^[33]问世以来,目前有 80 多种肽类药物进入市场,用于治疗癌症、慢性疼痛、艾滋病毒感染等各种疾病。具有代表性的早期例子是从真菌中分离的环孢素,其于 1983 年被批

准作为免疫抑制药物。从水蛭唾液中提取到的水蛭素,其是由含 3 个二硫键和 65 个氨基酸组成的肽,是一种有效的凝血酶抑制剂^[34]。目前多肽类药物主要应用于多肽疫苗、抗肿瘤多肽、抗病毒多肽、治疗心血管疾病的多肽、细胞因子模拟肽、抗菌肽、诊断用多肽等方面。

为了高效利用多肽类药物,人们尝试对多肽进行了很多类型的改进,如糖基化修饰、融合长效化片段、聚乙二醇(polyethylene glycol, PEG)修饰、缀合脂肪酸链等策略。多肽药物经过改进后常常被赋予自组装的优势,会展现出缓释、稳定性增强、环境响应性等特点。例如,为了解决抗肿瘤多肽作用机制不明确、稳定性差等问题,本课题组对新型抗肿瘤多肽进行了序列设计并研究其作用机制。在多肽 Maurioporin 的基础上设计了一条抗肿瘤多肽 ZXR-1 (FKIGGFIKKLWRSKLA),并有目的地将序列中的赖氨酸突变成亮氨酸,得到了多肽 ZXR-2 (FKIGGFIKKLWRSLLA)。研究结果表明 ZXR-2 整体抗肿瘤活性提高,两肽的作用机制也在突变前后发生明显变化。ZXR-1 可进入细胞,破坏线粒体电位,进而导致细胞凋亡,而 ZXR-2 可直接作用于细胞膜,将细胞裂解。经分析,两亲性和电荷分布的差异以及多肽序列中“异亮氨酸-亮氨酸”对(I₃-L₁₀、I₇-L₁₄)是造成多肽抗肿瘤活性和作用机制不同的原因^[6]。之后,本课题组还尝试将自组装机制应用于抗肿瘤多肽的改造上,在无自组装能力的抗肿瘤裂解肽 PTP-7 (多肽序列如图 3 所示)的两端添加谷氨酸残基和天冬酰胺残基,构建了名称为 EN 和 NE (多肽序列如图 3 所示)的 2 条自组装抗癌肽^[35]。如图 3 所示,电镜结果显示改造后的 2 条肽分别组装形成了纳米纤维和胶束结构,抗肿瘤肽的稳定性也得以提高,并显示出长效的抗肿瘤活性,增加了该 PTP-7 肽的临床应用潜力,

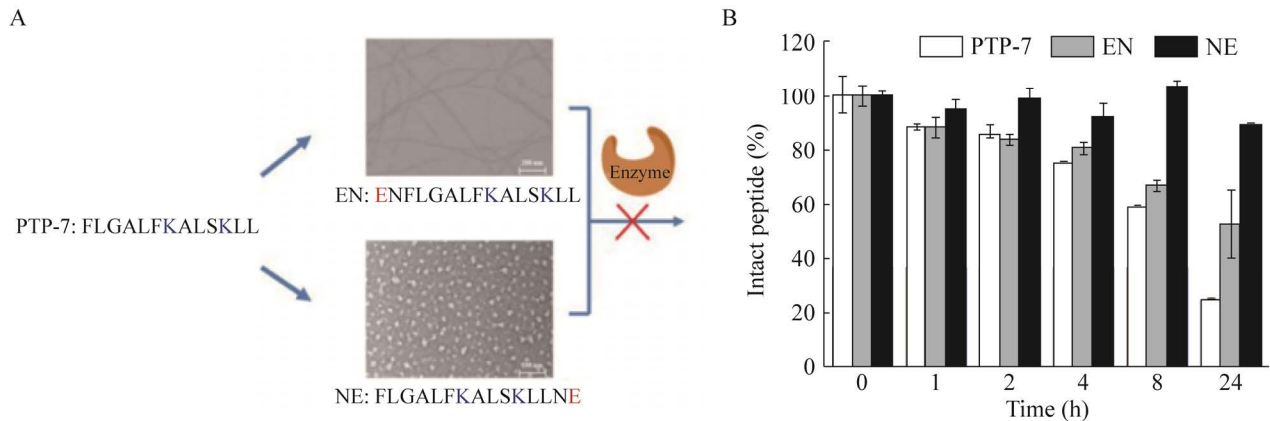


图3 本课题组设计的自组装抗癌肽^[35] A: 3条肽的序列以及EN、NE肽自组装后的TEM图像。B: 人血清中多肽降解动力学研究

Figure 3 Self-assembled anticancer peptides from our group^[35]. A: The sequences of the three peptides and TEM images of the peptide EN and NE after self-assembly. B: Kinetics of peptide degradation in human serum.

也为后续无载体多肽药物的设计和临床应用提供了参考^[35]。

新型的纳米级给药系统在医药学领域具有重要的潜力,但据报道,平均只有0.7%的给药剂量可以在肿瘤部位蓄积^[36]。有文献首次将自催化生长策略引入到药物输送系统中,以在体内靶向积累药物。Cheng等在前期研究的基础上又设计出了一个喜树碱多肽前药(camptothecin-LFPR, CPT-LFPR),该肽基前体药是由疏水药物喜树碱(camptothecin, CPT)、可形成 β -折叠纤维支架结构的LVFF肽、酶解多肽GFLG以及带有靶向多肽RGD末端的PEG连接而成。当肿瘤部位过表达组织蛋白酶B时,CPT-LFPR的疏水性PEG-RGD壳会脱落,CPT-LFPR可以“自催化组装”,快速地从纳米颗粒转变成纳米纤维结构。研究表明,多次静脉注射给药后表现出增强的纳米药物累积效果,最终,纳米纤维能够在肿瘤细胞内持续释放游离药物,从而有效地抑制肿瘤生长^[37]。

抗菌肽(antimicrobial peptide)富含正电荷

和疏水残基,可以通过静电和疏水作用与带负电荷的成分结合并插入癌细胞膜,随后通过膜破裂快速杀死癌细胞,这种独特的作用机制使抗菌肽成为潜在的抗癌药物。通过氨基酸替代、引入特殊氨基酸、骨架环化、糖基化和药物载体的利用等多种策略可提高抗菌肽的治疗效率。其中,脂肪酸修饰是一种简单有效的方法,能通过调节二级结构、疏水性和自组装倾向来影响抗菌肽的效力。还有文献研究了脂肪酸链长对抗菌肽CAMEL(CM15, KWKLFGKIGAVLKVL-NH₂)的抗癌活性、自组装和作用机制的影响^[38]。结果表明,在不同链长的脂肪酸修饰下,只有C12、C16链长修饰抗菌肽(C12/C16-CAMEL)能够自组装形成球形纳米颗粒和纳米纤维。并且初步研究表明,C12-CAMEL具有高且快速的细胞杀伤活性是受自组装的影响。总而言之,多肽自组装后的形态会受烷基链长度的影响,因此选用合适的脂肪酸修饰对提高抗菌肽的抗癌疗效具有重要意义。已知纳米自组装在多肽药物中的应用如表1汇总所示。

表 1 自组装对多肽药物的影响

Table 1 Effects of self-assembly on peptide drugs

Name	Self assembled design	Aggregations	Improvements	References
EN/NE	Addition of Glu and Asn residues	Micelles/Nanofibers	Increased stability, long lasting antitumor activity	[35]
CPT-LFPR	Polymer-peptide conjugates	Nanoparticles/Nanofibers	Significantly improved drug accumulation	[37]
PS-KFx-CAA	CAA modification	Nanoparticles	pH responsiveness	[39]
NapGDFDFpYSV	Polymer-peptide conjugates	Hydrogel	Significantly improved antitumor effect	[28]
C12-CAMEL	Fatty acid modification	Spherical-particles/Nanofibers	High and rapid cell killing activity	[38]

多肽药物的市场前景虽然可观,不少创新药已被证明安全有效。但业内也指出,不少多肽药物在开发过程中还面临着不少挑战。一是工艺研发能力不足,多肽药物的开发较为复杂,需要企业之间在不同阶段进行相关合作。其次是产能资源限制,放大复杂度高。后期临床阶段用药量大,需要更多产能支持,成本也会增加。同时还需保证质量,满足不同国家的申报需求。再者就是平台单一,如在多肽偶联的药物开发中,不仅要关注多肽领域的生产工艺、纯度等问题,还需要结合其连接子等其他领域的工艺及生产。因此,多肽药物的成功研发需要药物企业综合布局,进一步突破各种挑战。

4.2 自组装多肽在药物载体中的应用

游离形式药物的临床应用往往受到一些不利性质的限制,如水溶性低、生物分布差、降解率高^[40]。此外,一些药物不能直接给药或有诱导免疫反应的潜在风险。为了克服这些不良特性并提高治疗效率,需要将药物与合适的药物载体结合起来。在过去的几十年中,自组装肽作为纳米材料在药物输送方面取得了许多进展^[5]。自组装多肽作为药物载体的优势有很多,除了合成快速、可调控外,还可以通过提供与靶细胞受体结合的特定配体来改善细胞摄取,确保药物在特定靶点的响应性释放,不会对其他

细胞产生毒性作用,并最终从体内自由排出^[41]。

例如,多功能肽 P51 被研究用于疏水性化疗药物吡柔比星的递送^[14], P51 肽是由特异性靶向的 RGD 序列、带负电的氨基酸序列(酶响应性)、二硫键连接段(还原响应性)以及 α -螺旋 41 肽(酸响应性)组成。 α -螺旋部分借助疏水和静电驱动力进行自组装,负载吡柔比星后形成稳定的球形纳米颗粒。酸、还原剂二硫苏糖醇(dithiothreitol, DTT)和酶均可刺激自组装纳米颗粒释放疏水药物。特别是当 3 种触发因素均存在时,药物释放效率能够被显著提高。该自组装体已被证实具有肿瘤靶向性和低毒性,为自组装肽在药物递送上的应用提供了重要参考价值。另有研究团队设计了一种新型的自组装多肽药物释放系统,即以 GLFG 寡肽为核心的酶响应性纳米颗粒 RH-(GFLG)₃。通过细胞摄取实验、细胞毒性实验、乳酸脱氢酶释放等实验证明了该自组装多肽纳米颗粒作为药物载体具有更高的抗癌药物(阿霉素)递送效率,同时兼具稳定性、生物相容性以及低细胞毒性。该药物载体递送系统对组织蛋白酶 B 表现出特定的敏感性,可以有效地控制药物分子在细胞质中的释放,该自组装多肽纳米粒有望成为生物医学应用的药物载体^[42]。

此外,水凝胶具有在多孔、膨胀的结构中

吸收和保持水分的能力, 由于其广泛的物理性质和化学适应性, 使其成为一种很好的药物输送系统。虽然自组装多肽作为药物载体具有上述诸多优势, 但是组装的肽水凝胶的机械和流变性能较差, 导致注射困难, 从而限制了其进一步的应用。为此, 有研究将正电荷多肽 PLL 与自组装二肽 Fmoc-FF 进行偶联, 两者间的静电相互作用使得纤维水凝胶能够剪切变稀和自愈, 从而形成具有适于注射的流变特性的水凝胶^[43]。

生物体内的组装十分复杂, 如何设计分子精确调控自组装进程以及提高药用价值将是人们所面临的一项挑战^[26]。各种多肽材料已经被开发出来用于药物递送和癌症治疗, 但其有效性由于不能穿透细胞膜而受到限制, 这是多肽药物传递的关键瓶颈^[44]。此外, 肽基水凝胶在递送药物的过程中可能还会出现药物泄露、诱发炎症反应等问题, 为此需通过实验实时观察肽基水凝胶材料的载药行为, 设计出稳定性好的药物递送肽基材料。

4.3 自组装多肽在组织工程中的应用

多肽自组装纳米材料在生物医学领域具有广泛的应用价值, 可用于创伤修复、组织工程支架、生物材料表面工程等。与其他医学材料对比, 组装肽纳米材料不仅成分简单、易于设计, 还能为细胞提供纳米级的环境, 便于细胞的黏附、迁移、分化和增殖。目前自组装肽材料已应用于骨组织工程和神经组织工程等方面。

例如, Ananthanarayanan 等^[7]将多肽 RGD 结合在磷脂双分子层上, 然后探究其对成年海马神经干细胞粘附和增殖的影响。结果显示, 在 RGD 的存在下, 磷脂双分子层能够支持并促进神经干细胞生长, 神经干细胞在肽表面分化为成熟的神经元和星形胶质细胞, 表明在人工培养神经干细胞的系统中, 多肽 RGD 是非常好

的肽材料。自组装肽水凝胶也被报道用于椎间盘组织工程的细胞载体^[45], 在对髓核细胞进行培养后, 髓核特异性基因的上调, 组织再生成功。自组装多肽在骨组织工程中也显示出良好的应用潜力, PAs 作为一种模拟细胞外基质的生物材料, 可同时提供生化信号和纳米结构组装, 为人骨髓间充质干细胞(human bone marrow mesenchymal stem cells, hMSCs)诱导成骨分化提供了一个良好的微环境。Anderson 等^[46]制备了不同配基功能化的两亲肽支架涂层, 并在有无条件培养液的情况下与 hMSCs 共同培养 4 周。通过细胞密度、组织化学染色和表型标志物的基因表达来评价成骨活性等。结果发现两亲肽支架与碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)协同促进成骨细胞的增生, 表明肽自组装可作为解决骨组织工程问题的一个有前景的工具。

4.4 自组装多肽在医学成像中的应用

在体内分子成像过程中, 纳米探针在到达靶向生物分子之前不断地与生物屏障相互作用, 之后在目标微环境中实现选择性分子识别。多肽因具有靶向性、高生物相容性, 所以可将造影剂与多肽结合来构建响应性成像的肽基纳米探针。

受绿色荧光蛋白发色团的启发, Kong 等^[47]设计了一种基于酪氨酸(Y)的肽即 Fc-YYGCGPGRC, 此肽自组装成纳米颗粒并通过分子间氢键稳定, 纳米颗粒对 pH 值敏感, 当酪氨酸的酚基团脱质子时, 可以发射强烈的绿色荧光。此外, 该肽在与人类免疫缺陷病毒的 GPGR 基序结合后, 能够有效穿透细胞膜屏障。由于其优异的光稳定性、pH 敏感性、生物相容性, 可用于稳定的细胞成像, 有望成为生物医学应用中的荧光纳米材料。酸性环境和血管生成是肿瘤的 2 个典型特征, 对低 pH 值和

血管生成的特异性响应能够增强药物和诊断探针的靶向性。有文献通过设计了一种肽(STP)和芳香分子[四苯基乙烯(tetraphenylethylene, TPE)]的缀合物,开发出了双响应自组装材料^[48],其显示出 pH 触发和血管生成靶向特性。TPE-STP 纳米结构在酸性环境下对血管内皮生长因子-2 (vascular endothelial growth factor-2, VEGFR-2)具有高灵敏度和高选择性的荧光开启,从而达到体内的靶向成像。

5 自组装多肽药物的设计与构建研究

多肽类药物活性显著,特异性较强,与受体的亲和性好,但因其半衰期短、在体内环境中易被酶解以及血脑屏障穿透率差等问题,进而阻碍了很多肽类药物的临床应用发展。例如肽类药物在治疗某些慢性疾病如慢性疼痛上需要长期给药,容易产生副作用,给患者带来了较大的心理及身体负担。所以合理进行设计,降低用药次数,改变药物剂型以及用药方式是多肽药物今后努力的方向。自组装不仅对多肽药物活性影响较小,而且自组装后还会产生一些优良特性。

5.1 基于亲水/疏水作用力驱动多肽类药物自组装的设计

通过对多肽药物进行设计,将修饰基团的性质赋予药物,有助于研发更多具有实际意义的治疗性药物,减轻病患痛苦。前面部分也提到过糖基化、脂质化、聚乙二醇化等等是常见肽类药物的化学修饰方式。脂肪酸是人脂肪、细胞膜磷脂和类脂的重要组分,能够增强药物脂溶性,便于与受体结合以及提高生理屏障穿透性。与其他设计方法相比^[49],脂肪酸修饰后能够提高生物活性、稳定性,减少免疫反应。

如临床化疗药物伊立替康^[50]是脂肪酸修饰的前体药物,其 20 个羟基通过酯化与脂肪酸部分衍生,这种结合增强了前药的亲脂性,基于疏水相互作用的驱动,自组装成具有不同形貌的纳米颗粒,使其比游离药物有更强的细胞毒性。关于抗菌多肽药物自组装设计的实例是环状肽药物-达托霉素,其应用于因革兰氏阳性菌引发的重型感染。

此外,还有研究为了提升治疗肽的肿瘤治疗效果,在亲、疏水作用力的基础上设计构建了一种 pH 响应型的多肽聚合物。他们将具有 pH 响应性的顺乌头酸酐(cis-aconitic anhydride, CAA)来修饰治疗肽,治疗肽序列为 CGGGK FxAKFxAKK FxAKFxAK,再与生物相容性较好的 β -硫代酸酯聚合物共价连接,从而得到了缀合物 PS-KFx-CAA。其中 CAA 修饰的羧基能够提高缀合物的亲水性,使得缀合物在水溶液中也维持单链状态,并凭借其小尺寸优势,到达肿瘤深处位置^[39]。在肿瘤弱酸性条件下,CAA 可响应性地引起该缀合物的自组装,形成直径约 100 nm 的颗粒。组装后的纳米颗粒能够借助内吞作用深入进肿瘤细胞中,待 CAA 完全水解后 KFxAK 便发挥出治疗作用,进而高效地杀死癌细胞。

5.2 基于静电相互作用力驱动下多肽类药物自组装的设计

静电作用也是驱动自组装的重要驱动力,有不少研究者基于此对多肽类药物进行设计。如 Liu 等^[51]设计了一种能够抗肿瘤的自组装多肽——RADA-KLA。RADA 肽序列含带有正负电荷的氨基酸残基^[52],静电相互作用力驱使其在溶液中可有序地自组装成纳米结构。KLA 能够诱导癌细胞死亡,但因其体内易被降解、细胞穿透性弱和免疫原性强,所以将 RADA 和 KLA 结合设计成了一种新型的抗癌肽支架。在

这里抗肿瘤肽 RADA-KLA 的设计也称为“共组装”，“共组装”一词常常用在自组装多肽药物的设计中^[5]，其包括 2 种相同或不同肽的组建、一个肽段与 2 个相同肽序列的组建、肽与非肽元素的组建^[53]。这种共组装策略是可以尝试解决多肽类药物自身存在的问题，促进肽药临床应用的一个重要方法。

鲑鱼降钙素(salcatonin, SCT)是一种用于治疗骨质疏松症等骨病的多肽类药物，目前，皮下或肌肉注射是 SCT 的首选给药方式，但由于需要频繁注射(半衰期约为 1 h)，患者的依从性较差，这在一定程度上限制了其在临床上的应用。因此就有研究人员尝试将 SCT 与短二肽结合起来^[54]，以期延长其单次注射后的治疗效果。短二肽中含有 1 个带负电荷的残基(天冬氨酸, D)和 1 个疏水残基(苯丙氨酸, F)。研究表明，SCT 的 K 残基与二肽的 D 残基之间存在着很强的静电相互作用，同时二肽中 F 的苯环位于 SCT 的 α -螺旋沟槽外，与 SCT 之间存在较强的疏水相互作用。因此，二肽通过静电和疏水作用协助 SCT 共组装成超分子纳米颗粒。并且自组装后的纳米颗粒不仅保留了 SCT 的生物活性，还增加了 SCT 在体内的作用时间，延长了治疗效果。短肽的种类繁多，与组装肽设计具有可行性^[54]。

此外，结合小分子化学药物和多肽药物的优点，合理地设计肽体以及两者的偶联物将是今后多肽药物研发的新方向，有报道也达到比较理想的治疗效果。同时，基于肽的体内自组装纳米药物具有高效靶标性、高透过性、可富集、清除速度慢等特点，在疾病诊断和治疗等生物学领域具有广阔的应用前景。

6 展望

本团队多年来从事对具有抗菌、抗肿瘤等

生物活性多肽的研究，随着越来越多的人关注到肽自组装，本课题组在肽自组装对活性和作用方式的影响^[55-56]、多肽序列的设计与修饰^[57]、自组装多肽药物和多肽类药物载体等方面进行了深入探究。本文主要对多肽自组装的基本原理，在药物递送、组织工程上的应用以及肽类药物设计的研究进展进行了介绍，为肽类自组装系统在生物医药、医学材料等方向的高效应用提供参考。在过去几十年中，肽治疗学取得了巨大的进步，对组装体形态的精确控制也得到了大量的研究，但自组装肽在实际应用上还面临挑战。今后多肽药物的研发将会在目前的基础上进行合理有效地设计，除了改进其在体内停留时间、靶向性等问题，也会倾向于对给药方式更加方便的肽类药物的研发。

REFERENCES

- [1] MENDES AC, BARAN ET, REIS RL, AZEVEDO HS. Self-assembly in nature: using the principles of nature to create complex nanobiomaterials[J]. Wiley Interdisciplinary Reviews Nanomedicine and Nanobiotechnology, 2013, 5(6): 582-612.
- [2] GHADIRI MR, GRANJA JR, MILLIGAN RA, MCREE DE, KHAZANOVICH N. Self-assembling organic nanotubes based on a cyclic peptide architecture[J]. Nature, 1993, 366(6453): 324-327.
- [3] ZHANG S, LOCKSHIN C, COOK R, RICH A. Unusually stable beta-sheet formation in an ionic self-complementary oligopeptide[J]. Biopolymers, 1994, 34(5): 663-672.
- [4] 沙翔宇. 多肽自组装在构建响应型生物功能材料中的应用[D]. 镇江: 江苏大学硕士学位论文, 2020. SHA XY. The role of peptide self-assembly in the construction of responsive biofunctional materials[D]. Zhenjiang: Master's Thesis of Jiangsu University, 2020 (in Chinese).
- [5] LA MANNA S, DI NATALE C, ONESTO V, MARASCO D. Self-assembling peptides: from design to biomedical applications[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2021, 22(23): 12662.
- [6] 周希蕊. 自组装抗肿瘤多肽的设计合成、表征和作用机制研究[D]. 北京: 北京化工大学博士学位论文,

- 2017.
- ZHOU XR. Design, characterization and acting mechanism studies of self-assembling anticancer peptides[D]. Beijing: Doctoral Dissertation of Beijing University of Chemical Technology, 2017 (in Chinese).
- [7] ANANTHANARAYANAN B, LITTLE L, SCHAFFER DV, HEALY KE, TIRRELL M. Neural stem cell adhesion and proliferation on phospholipid bilayers functionalized with RGD peptides[J]. *Biomaterials*, 2010, 31(33): 8706-8715.
- [8] KUANG Y, SHI J, LI J, YUAN D, ALBERTI KA, XU Q, XU B. Pericellular hydrogel/nanonets inhibit cancer cells[J]. *Angewandte Chemie: International Ed in English*, 2014, 53(31): 8104-8107.
- [9] LUO XM, HUO QQ, LIU XH, ZHENG C, LIU Y. Effect of hydrophilic or hydrophobic interactions on the self-assembly behavior and micro-morphology of a collagen mimetic peptide[J]. *Journal of Leather Science and Engineering*, 2021, 3: 11.
- [10] PARAMONOV SE, JUN HW, HARTGERINK JD. Self-assembly of peptide-amphiphile nanofibers: the roles of hydrogen bonding and amphiphilic packing[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2006, 128(22): 7291-7298.
- [11] TAO K, WANG JQ, ZHOU P, WANG CD, XU H, ZHAO XB, LU J. Self-assembly of short $\alpha\beta$ (16-22) peptides: effect of terminal capping and the role of electrostatic interaction[J]. *Langmuir*, 2011, 27(6): 2723-2730.
- [12] 谢子龙. 芳香基团对多肽自组装的影响[D]. 东营: 中国石油大学(华东)硕士学位论文, 2017.
- XIE ZL. The effect of aromatic group on peptide self-assembly[D]. Dongying: Master's Thesis of China University of Petroleum (Huadong), 2017 (in Chinese).
- [13] WANG TT, XIA YY, GAO JQ, XU DH, HAN M. Recent progress in the design and medical application of *in situ* self-assembled polypeptide materials[J]. *Pharmaceutics*, 2021, 13(5): 753.
- [14] JIANG XL, FAN XB, XU W, ZHAO CG, WU HL, ZHANG R, WU GQ. Self-assembled peptide nanoparticles responsive to multiple tumor microenvironment triggers provide highly efficient targeted delivery and release of antitumor drug[J]. *Journal of Controlled Release*, 2019, 316: 196-207.
- [15] HUAN YC, KONG Q, TANG QJ, WANG YM, MOU HJ, YING R, LI CJ. Antimicrobial peptides/ciprofloxacin-loaded O-carboxymethyl chitosan/self-assembling peptides hydrogel dressing with sustained-release effect for enhanced anti-bacterial infection and wound healing[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2022, 280: 119033.
- [16] DREHER MR, SIMNICK AJ, FISCHER K, SMITH RJ, PATEL A, SCHMIDT M, CHILKOTI A. Temperature triggered self-assembly of polypeptides into multivalent spherical micelles[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2008, 130(2): 687-694.
- [17] 王蒙. 氨基酸手性及侧链性质对多肽自组装行为影响的研究[D]. 东营: 中国石油大学(华东)博士学位论文, 2017.
- WANG M. The effect of amino acid chirality and side chain property on peptide self-assembly[D]. Dongying: Doctoral Dissertation of China University of Petroleum (Huadong), 2017 (in Chinese).
- [18] SANTOSO S, HWANG W, HARTMAN H, ZHANG SG. Self-assembly of surfactant-like peptides with variable glycine tails to form nanotubes and nanovesicles[J]. *Nano Letters*, 2002, 2(7): 687-691.
- [19] HU Y, LIN R, ZHANG P, FERN J, CHEETHAM AG, PATEL K, SCHULMAN R, KAN C, CUI H. Electrostatic-driven lamination and untwisting of β -sheet assemblies[J]. *ACS Nano*, 2016, 10(1): 880-888.
- [20] YUAN YY, MAO CQ, DU XJ, DU JZ, WANG F, WANG J. Surface charge switchable nanoparticles based on zwitterionic polymer for enhanced drug delivery to tumor[J]. *Advanced Materials*, 2012, 24(40): 5476-5480.
- [21] MURA S, NICOLAS J, COUVREUR P. Stimuli-responsive nanocarriers for drug delivery[J]. *Nature Materials*, 2013, 12(11): 991-1003.
- [22] LIANG J, WU WL, XU XD, ZHUO RX, ZHANG XZ. pH responsive micelle self-assembled from a new amphiphilic peptide as anti-tumor drug carrier[J]. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2014, 114: 398-403.
- [23] XIONG MH, BAO Y, XU X, WANG H, HAN ZY, WANG ZY, LIU YQ, HUANG SY, SONG ZY, CHEN JJ, PEEK RM Jr, YIN LC, CHEN LF, CHENG JJ. Selective killing of *Helicobacter pylori* with pH-responsive helix-coil conformation transitionable antimicrobial polypeptides[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2017, 114(48): 12675-12680.
- [24] LIU FH, CONG Y, QI GB, JI L, QIAO ZY, WANG H. Near-infrared laser-driven *in situ* self-assembly as a general strategy for deep tumor therapy[J]. *Nano*

- Letters, 2018, 18(10): 6577-6584.
- [25] 卢士英, 任洪林, 柳增善, 赵广英, 华育平. 组织蛋白酶 B 研究进展[J]. 河北师范大学学报(自然科学版), 2004, 28(3): 306-309.
LU SY, REN HL, LIU ZS, ZHAO GY, HUA YP. The progress of study on the cathepsin B[J]. Journal of Hebei Normal University (Natural Science Edition), 2004, 28(3): 306-309 (in Chinese).
- [26] KARAVASILIS C, FATOUROS DG. Self-assembling peptides as vectors for local drug delivery and tissue engineering applications[J]. Advanced Drug Delivery Reviews, 2021, 174: 387-405.
- [27] YANG Z, LIANG G, XU B. Enzymatic hydrogelation of small molecules[J]. Accounts of Chemical Research, 2008, 41(2): 315-326.
- [28] GAO Y, ZHANG C, CHANG J, YANG C, LIU J, FAN S, REN C. Enzyme-instructed self-assembly of a novel histone deacetylase inhibitor with enhanced selectivity and anticancer efficiency[J]. Biomaterials Science, 2019, 7(4): 1477-1485.
- [29] MARINI DM, HWANG W, LAUFFENBURGER DA, ZHANG SG, KAMM RD. Left-handed helical ribbon intermediates in the self-assembly of a β -sheet peptide[J]. Nano Letters, 2002, 2(4): 295-299.
- [30] LEE D, REJINOLD NS, JEONG SD, KIM YC. Stimuli-responsive polypeptides for biomedical applications[J]. Polymers, 2018, 10(8): E830.
- [31] SHI YG, LI D, DING JF, HE CL, CHEN XS. Physiologically relevant pH- and temperature-responsive polypeptide hydrogels with adhesive properties[J]. Polymer Chemistry, 2021, 12(19): 2832-2839.
- [32] ABDELGHANI M, SHAO J, LE DHT, WU H, van HEST JCM. Self-assembly or coassembly of multiresponsive histidine-containing elastin-like polypeptide block copolymers[J]. Macromolecular Bioscience, 2021, 21(6): e2100081.
- [33] MORODER L, MUSIOL HJ. Insulin-from its discovery to the industrial synthesis of modern insulin analogues[J]. Angewandte Chemie: International Ed in English, 2017, 56(36): 10656-10669.
- [34] ABDUALKADER AM, GHAWI AM, ALAAMA M, AWANG M, MERZOUK A. Leech therapeutic applications[J]. Indian Journal of Pharmaceutical Sciences, 2013, 75(2): 127-137.
- [35] ZHOU XR, CAO YM, ZHANG Q, TIAN XB, DONG H, CHEN L, LUO SZ. Self-assembly nanostructure controlled sustained release, activity and stability of peptide drugs[J]. International Journal of Pharmaceutics, 2017, 528(1/2): 723-731.
- [36] BLANCO E, SHEN HF, FERRARI M. Principles of nanoparticle design for overcoming biological barriers to drug delivery[J]. Nature Biotechnology, 2015, 33(9): 941-951.
- [37] CHENG DB, WANG D, GAO YJ, WANG L, QIAO ZY, WANG H. Autocatalytic morphology transformation platform for targeted drug accumulation[J]. Journal of the American Chemical Society, 2019, 141(10): 4406-4411.
- [38] MA L, HUANG SJ, XIE H, MA PP, JIA B, YAO YF, GAO YX, LI WY, SONG JJ, ZHANG W. Influence of chain length on the anticancer activity of the antimicrobial peptide CAMEL with fatty acid modification[J]. European Journal of Medicinal Chemistry, 2022, 239: 114557.
- [39] 吉垒, 张雪豪, 杨子欣, 乔增莹, 王浩. 肿瘤微环境诱导多肽聚合物原位组装行为研究[J]. 高分子学报, 2019, 50(6): 642-652.
JI L, ZHANG XH, YANG ZX, QIAO ZY, WANG H. Microenvironment-induced *in situ* self-assembly of polymer-peptide conjugates[J]. Acta Polymerica Sinica, 2019, 50(6): 642-652 (in Chinese).
- [40] ALLEN TM, CULLIS PR. Drug delivery systems: entering the mainstream[J]. Science, 2004, 303(5665): 1818-1822.
- [41] MAKVANDI P, JAMALEDIN R, CHEN GJ, BAGHBANTARAGHDARI Z, ZARE EN, di NATALE C, ONESTO V, VECCHIONE R, LEE J, TAY FR, NETTI P, MATTOLI V, JAKLENEC A, GU Z, LANGER R. Stimuli-responsive transdermal microneedle patches[J]. Materials Today, 2021, 47: 206-222.
- [42] SONG SJ, CHOI JS. Enzyme-responsive amphiphilic peptide nanoparticles for biocompatible and efficient drug delivery[J]. Pharmaceutics, 2022, 14(1): 143.
- [43] XING RR, LI SK, ZHANG N, SHEN GZ, MÖHWALD H, YAN XH. Self-assembled injectable peptide hydrogels capable of triggering antitumor immune response[J]. Biomacromolecules, 2017, 18(11): 3514-3523.
- [44] GUO RC, ZHANG XH, FAN PS, SONG BL, LI ZX, DUAN ZY, QIAO ZY, WANG H. *In vivo* self-assembly induced cell membrane phase separation for improved peptide drug internalization[J]. Angewandte Chemie: International Ed in English, 2021, 60(47): 25128-25134.

- [45] WAN S, BORLAND S, RICHARDSON SM, MERRY CLR, SAIANI A, GOUGH JE. Self-assembling peptide hydrogel for intervertebral disc tissue engineering[J]. *Acta Biomaterialia*, 2016, 46: 29-40.
- [46] ANDERSON JM, VINES JB, PATTERSON JL, CHEN HY, JAVED A, JUN HW. Osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells synergistically enhanced by biomimetic peptide amphiphiles combined with conditioned medium[J]. *Acta Biomaterialia*, 2011, 7(2): 675-682.
- [47] KONG J, ZHANG J, WANG Y, QI W, RAO H, HU L, SU R, HE Z. Bioinspired pH-sensitive fluorescent peptidyl nanoparticles for cell imaging[J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2020, 12(4): 4212-4220.
- [48] QIAN YX, WANG WZ, WANG ZH, JIA XQ, HAN QJ, ROSTAMI I, WANG YH, HU ZY. pH-triggered peptide self-assembly for targeting imaging and therapy toward angiogenesis with enhanced signals[J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2018, 10(9): 7871-7881.
- [49] ZHAO W, XIONG Y, ZHANGSUN D, LUO S. DSPE-PEG modification of α -conotoxin TxID[J]. *Marine Drugs*, 2019, 17(6): E342.
- [50] ZHANG C, JIN S, XUE X, ZHANG T, JIANG Y, WANG PC, LIANG XJ. Tunable self-assembly of irinotecan-fatty acid prodrugs with increased cytotoxicity to cancer cells[J]. *Journal of Materials Chemistry B*, 2016, 4(19): 3286-3291.
- [51] LIU T, LI P, JIN H, DING Q, ZOU Z, PENG G. Influence of designer self-assembling nanofiber scaffolds containing anti-cancer peptide motif on hepatoma carcinoma cells[J]. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 2017, 105(8): 2329-2334.
- [52] ZHANG SG. Fabrication of novel biomaterials through molecular self-assembly[J]. *Nature Biotechnology*, 2003, 21(10): 1171-1178.
- [53] BOOTHROYD S, SAIANI A, SAIANI A, MILLER AF. Controlling network topology and mechanical properties of co-assembling peptide hydrogels[J]. *Biopolymers*, 2014, 101(6): 669-680.
- [54] CAO SQ, LIU YP, SHANG H, LI SY, JIANG J, ZHU XF, ZHANG P, WANG XL, LI JS. Supramolecular nanoparticles of calcitonin and dipeptide for long-term controlled release[J]. *Journal of Controlled Release*, 2017, 256: 182-192.
- [55] TIAN X, SUN F, ZHOU XR, LUO SZ, CHEN L. Role of peptide self-assembly in antimicrobial peptides[J]. *Journal of Peptide Science*, 2015, 21(7): 530-539.
- [56] CHEN L, PATRONE N, LIANG JF. Peptide self-assembly on cell membranes to induce cell lysis[J]. *Biomacromolecules*, 2012, 13(10): 3327-3333.
- [57] FAN RR, YUAN YY, ZHANG Q, ZHOU XR, JIA LL, LIU ZQ, YU CY, LUO SZ, CHEN L. Isoleucine/leucine residues at "a" and "d" positions of a heptad repeat sequence are crucial for the cytolytic activity of a short anticancer lytic peptide[J]. *Amino Acids*, 2017, 49(1): 193-202.

(本文责编 陈宏宇)