ISSN 1006－7167
CN 31－1707/T
实验室研究与探索
RESEARCH AND EXPLORATION IN LABORATORY
第 42 卷 第 3 期 2023 年 3 月
Vol. 42 No. 3 Mar. 2023

·实验教学与创新·

DOI:10.19927/j.cnki.syyt.2023.03.034

# 智能药物传输载体综合实验设计

程 度， 余东升， 陈极峰
（中山大学 材料科学与工程学院，广州 510275）

**摘 要**：智能药物传输载体是生物材料领域的前沿研究方向，将其融入本科教学是践行科教融合和培养创新型人才的重要途径。通过简便化和模块化设计，将较为成熟的科研实例聚乙二醇-聚天冬氨酸（苄胺-二异丙基氨基乙酯）［PEG-PAsp（Bza-DIP）］的合成与评价设计成综合实验，与传统药物传输载体实验相比，更侧重于训练学生掌握智能响应性聚合物的合成表征和药物控释性能的评价方法，使学生系统了解先进生物材料研究技术和启发学生创新性思维。为在高年级本科实验课程融入前沿研究技术提供新思路和新方法，利于创新型人才的培养。

**关键词**：智能药物传输载体；生物材料；药物释放；综合实验
**中图分类号**：R 318.08 **文献标志码**：A
**文章编号**：1006－7167（2023）03－0171－06

# Design of Integrated Experiment for Smart Drug Delivery Carrier

*CHENG Du*， *YU Dongsheng*， *CHEN Jifeng*
（School of Materials Science and Engineering，Sun Yat-sen University，Guangzhou 510275，China）

**Abstract**：Integrating smart drug delivery carrier，which is considered as one of frontier fields in biomaterials science，into undergraduate education is an important approach to practice the integration ideal of science and education and cultivate innovative talent. The relative mature research work about smart drug delivery carrier polyethyleneglycol-polyaspartic acid（Benzylamine-diisopropylaminoethyl）（PEG-PAsp（Bza-DIP））is used to build integrated experiment. Compared to the integrated experiment about conventional drug delivery carrier，this experiment prefers to train student to master the experimental skills of synthesis，characterization，and functional evaluation of stimulus-responsive polymer，which makes the student to learn advanced biomaterials research technology and develop innovation thinking. This integrated experiment provides a new strategy for integration of science and education，which is favor of cultivating innovative talent.

**Key words**：smart drug delivery carrier；biomaterials；controlled drug release；integrated experiment

## 0 引 言

我国目前面临的“卡脖子”难题很多与新材料密切相关，新材料的发展关系到国家重大战略的实现[1]，攻克这些“卡脖子”难题和实现国家重大战略都需要具有科研前沿视野的创新型材料人才[2]。因此，本科人才培养应着眼于服务国家重大战略需求，探索出培养具有科学前沿视野和创新性人才的新思路和新方法。科教融合是实现上述人才培养目标的有效策略，其中的关键问题是如何将前沿科研成果与本科教学客观要求相结合，依据本科教学的规律，打磨前沿科研成果并融入本科教学实践中。选用的科研成果要具有前沿性，利于拓宽学生的视野和培养学生的创新性；科研成果经过多年的打磨，成熟度相对较高，便于本科实验条件下顺利开展；另外，还需将科研成果进行简便化和模块化设计，利于因材施教和因地制宜地开展教

**收稿日期**：2022-04-21
**基金项目**：国家自然科学基金面上项目（21875289）
**作者简介**：程 度（1972－），男，河南鹤壁人，博士，教授，研究方向为生物医用材料。
Tel.：1351798335；E-mail：chengdu@mail.sysu.edu.cn

学活动。

阿霉素和紫杉醇等是治疗肿瘤的一线药物，但是这类化疗药物存在体内生物利用度低和毒副作用大[3]。近10几年以来，材料科学家发展了聚合物基药物载体包载和传输这些药物，显著提高了药物的体内利用度和减轻了药物的毒副作用[4-5]。但是，载体材料难以控制药物在肿瘤等致病部位的释放，药物浓度在短时间内难以达到治疗浓度，限制了疗效的提高。为解决此难题，近年来科学家们发展了基于刺激响应性聚合物材料的智能药物载体材料[6-12]，载体材料将药物输送到肿瘤部位后，可以响应肿瘤部位的微环境信号（如低pH和还原剂）刺激将药物快速释放出来，是药物浓度在短时间内达到工作浓度，有效提高治疗效果，是当今生物材料领域的研究热点。

近年来多种基于刺激响应性聚合物聚天冬氨酸（二异丙基氨基乙酯）[PAsp(DIP)]的载体材料得到了开发，且具有药物控释性能和抗肿瘤治疗效果[7-9,11]。为了将此研究成果融入本科教学中，对此类聚合物进行了简便化和模块化设计，简化了载体结构，突出了药物控释性能及其评价方面的设计，打造了智能药物传输载体聚乙二醇-聚天冬氨酸（苄胺-二异丙基氨基乙酯）[PEG-PAsp(Bza-DIP)]综合实验，内容涵盖了刺激响应性聚合物合成与表征等高分子化学模块、纳米粒子组装与表征和药物释放行为等高分子物理模块、聚合物药物传输和抗肿瘤性能评价等生物学功能评价模块，使学生对药物传输载体前沿研究有较为全面的了解，掌握智能药物传输载体研究的基本方法和技能，启发学生的创新性科研思维，为后续的学习和工作打下扎实的基础。

## 1 药物传输载体的制备与性能测评实验

### 1.1 实验试剂

甲基醚聚乙二醇氨基（mPEG-$NH_2$，Mn = 2 000 g/mol）和N，N-二甲基甲酰胺（DMF，无水反应级，99.8%）购自Alfa Aesar。mPEG-$NH_2$反应前于70 ℃真空干燥3 h后使用。L-天冬氨酸-4-苄酯-N-羧基环内酸酐（BLA-NCA）购自吉尔生化（上海）。盐酸多柔比星（DOX·HCl）购自浙江海正药业有限公司。N，N-二异丙基乙二胺、苄胺、MTT [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2，5-diphenyltetrazolium bromide] 均购自Sigma-Aldrich公司。透析袋（截留分子量为3.5 kDa）购自上海鸟生物科技有限公司。实验中所用试剂均为分析纯，除细胞生物学实验外，水均为双蒸水。人肺腺癌细胞A549细胞在含有10%胎牛血清（FBS）的RPMI-1640培养基及95%的空气与5%的$CO_2$混合气体环境下，于37 ℃下培养。

### 1.2 实验仪器

使用核磁共振仪（Bruker Avance II 600，Bruker Biospin，Germany）对聚合物进行氢谱$^1$H-NMR分析。25 ℃下使用动态光散射系统（90Plus/BI-MAS，Brookhaven Instruments，Holtsville，NY）测定纳米药物的粒径。旋转蒸发仪采用IKA公司（Staufen，Germany）生产的RV05-ST型号。紫外可见分光光度计采用Perkin Elmer公司（Norwalk，CT，USA）生产的PE/Lambd 750型号。采用徕卡DMi8（Leica Microsystems Inc，Buffalo Grove，USA）型号的倒置荧光显微镜观察细胞中的荧光。采用Bio Tek公司（Winooski，VT，USA）生产的Synergy2型号酶标仪进行MTT分析。采用Thermo Fisher Scientific公司（Waltham，MA，USA）生产的377型号$CO_2$培养箱培养细胞。

### 1.3 PEG-PAsp(Bza-DIP)聚合物的制备

根据已发表的文献合成嵌段共聚物PEG-PAsp(Bza-DIP)[11]，合成路线如图1所示。PEG-$NH_2$引发L-天冬氨酸-4-苄酯-N-羧基环内酸酐（BLA-NCA）开环聚合得到聚乙二醇-聚（L-天冬氨酸苄酯）（PEG-PBLA），接着分别与卞胺（Bza）和N，N-二异丙基乙二胺（DIP）进行胺解反应，将Bza和DIP引入到聚合物侧链，合成出具有酸敏响应的聚合物PEG-PAsp(Bza-DIP)。

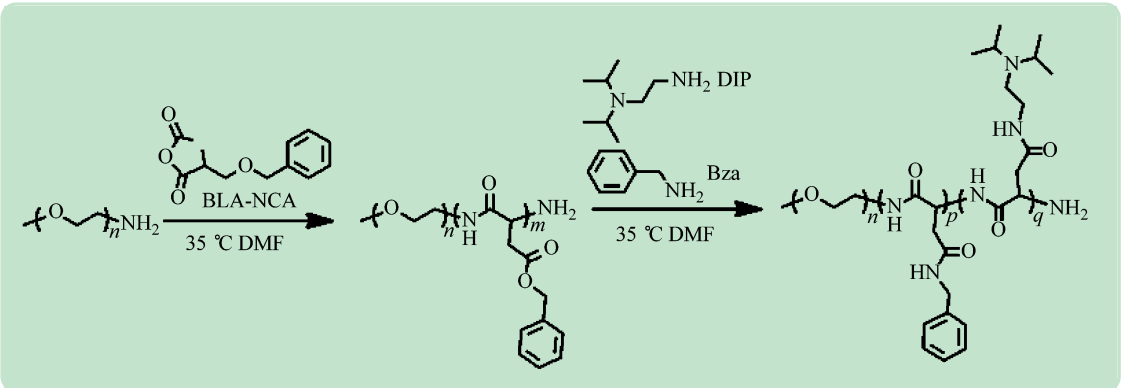



图1 嵌段共聚物PEG-PAsp(Bza-DIP)的合成路线

### 1.4　负载阿霉素纳米载体的制备

取 10 mg 的 PEG-PAsp(Bza-DIP)聚合物样品和一定量的疏水性 DOX(将水溶性 DOX·HCl 溶解在甲醇中,再向溶液中加入三乙胺,0.5 h 后用旋转蒸发仪将溶液旋干制备而成)共同溶解于 2 mL DMSO 溶液中。在超声作用下,溶有 DOX 和载体聚合物的有机相缓慢滴加入 20 mL 超纯水中形成红色透明的胶束溶液,然后将此胶束溶液装入到透析袋(截留分子量为 3.5 kDa)中透析 48 h,期间多次更换透析用的超纯水,除掉游离的 DOX 和溶剂,然后用孔径为 220 nm 的水相滤膜过滤,得到载药纳米粒子 PEG-PAsp(Bza-DIP)@DOX,命名为 PPBD@DOX。采用类似的方法制备不含 DOX 的空白纳米粒子 PPBD。

### 1.5　纳米药物理化性能的评价

(1) *粒径分析*。用动态光散射系统(DLS,参数为:25 ℃,45°入射角)分析载药纳米粒子的粒径,每个样品测量 5 次,取平均值做为该样品的粒径值。

(2) *形貌分析*。取浓度为 0.5 mg/mL 的纳米药物溶液 10 μL,滴于铜网上,在干燥器中静置风干 8 h,经 2% 的染色剂乙酰双氧铀染色 1 min 后,用滤纸吸附除去多余的染色剂,在 60 ℃下干燥过夜,制得的样品置于透射电子显微镜观测纳米粒子的形貌。

(3) *药物包封率和载药量分析*。DOX 在纳米药物中的质量百分比为药物负载量(载药量,DLC),纳米药物中 DOX 的质量占所投入 DOX 总质量的百分比为药物包封率(DLE)。纳米药物内 DOX 质量可通过紫外可见光吸收光谱进行测定,取一定量冻干的负载 DOX 的 PEG-PAsp(Bza-DIP)@DOX 的纳米药物溶于 DMSO 中,在 482.5 nm 处测定 DOX 的紫外吸收,依据 DOX 质量-吸光度值的标准曲线计算出 DOX 的质量:

$$\mathrm{DLC}=\frac{\text{纳米药物所载 DOX 质量}}{\text{包载药物后纳米药物的总质量}}\times 100\%$$

$$\mathrm{DLE}=\frac{\text{纳米药物所载 DOX 质量}}{\text{所投入 DOX 总质量}}\times 100\%$$

### 1.6　体外模拟条件下药物控释性能评价

体外模拟条件下评价药物释放性能:在体外模拟正常生理环境(pH 7.4 和 37 ℃)和肿瘤细胞溶酶体环境(pH 5.0 和 37 ℃)的条件下测定智能载体控制药物释放的性能。取 200 μL 的纳米药物溶液加入透析袋(截留分子量为 3.5 kDa)中,再加入 1.8 mL 的缓冲液。根据缓冲液 pH 值的不同分为 pH 7.4 和 pH 5.0 两组,每组设 3 个平行样品。透析袋密封后,放入 50 mL 离心管中,离心管中加入相应 pH 值的缓冲溶液,置于 37 ℃下的恒温摇床中震荡孵育。每隔一定时间从离心管中取出 3 mL 溶液,并补充等体积的具有相应 pH 值的缓冲液进入离心管。通过 DOX 质量-吸光度值的标准曲线计算出每个样品每个时间点的 DOX 释放量,DOX 释放量为 3 个平行样品中 DOX 释放量的平均值。

### 1.7　细胞吸收和细胞内药物控释性能评价

以 $5\times10^2$ 个/孔的密度将 A549 细胞接种于细胞培养皿中,于 37 ℃培养培养过夜后,加入负载 DOX 的纳米药物(DOX 终浓度为 2 μM),孵育 6 h 后,细胞培养基中加入 Hoechst 33342(1 μg/mL)染料对细胞核染色 15 min。弃去培养基,用 PBS 液洗涤细胞 3 次,除去未被细胞吸收的纳米药物及细胞核染色剂 Hoechst 33342。置于倒置荧光显微镜下观察,Hoechst 33342 标记的细胞核发出蓝色荧光,DOX 发出红色荧光。

### 1.8　细胞存活率分析

将 A549 细胞以 $1\times10^3$ 个/孔的密度接种于 96 孔板上,在 5% $CO_2$ 和 37 ℃环境下的恒湿恒温细胞培养箱中培养过夜,然后将负载 DOX 的纳米药物 PPBD@DOX 和未负载 DOX 的空白纳米粒子 PPBD 按照不同剂量加入培养基中(每组处理设 3 个复孔),共孵育 48 h 后,弃去培养基。将 100 μL 含 MTT 的培养基(MTT 浓度为 5 mg/mL)加入培养孔中,在 5% $CO_2$ 和 37 ℃环境下的恒温恒湿培养箱中孵育 3 h,弃去培养基后,加入 90 μL 的二甲基亚砜震荡溶解生成的固体后,用酶标仪测定每孔在 570 nm 的吸光度值,依据下式计算出细胞的存活率,每组设 3 个平行重复。即

$$\text{细胞存活率}=\frac{\text{实验组吸光度值}}{\text{对照组吸光度值}}\times 100\%$$

## 2　实验结果与分析

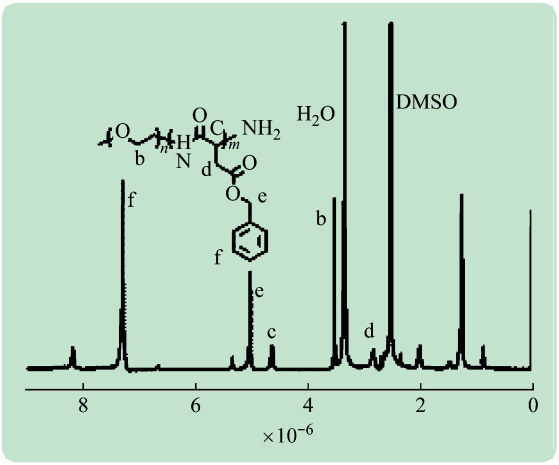
### 2.1　聚合物材料的制备与表征

聚乙二醇 - 聚(*L*-天冬氨酸苄酯)(PEG-PBLA)的 $^1$H-NMR 图谱如图 2(a)所示,$3.5\times10^{-6}$ 为 PEG 中的(—$OCH_2CH_2$—),$4.6\times10^{-6}$(—CHCONH—),$(2.5\sim2.9)\times10^{-6}$ 为主链上(—$CH_2$CHCONH—),$5.0\times10^{-6}$ 为侧链上靠近苯环的亚甲基峰(—$COOCH_2C_6H_5$),$7.2\times10^{-6}$ 为苯环峰(—$COOCH_2C_6H_5$),这些峰的位置与研究文献报道的一致[11]。根据 PEG 段亚甲基峰与 PBLA 段苯环峰的面积积分值计算,PBLA 的聚合度为 51。

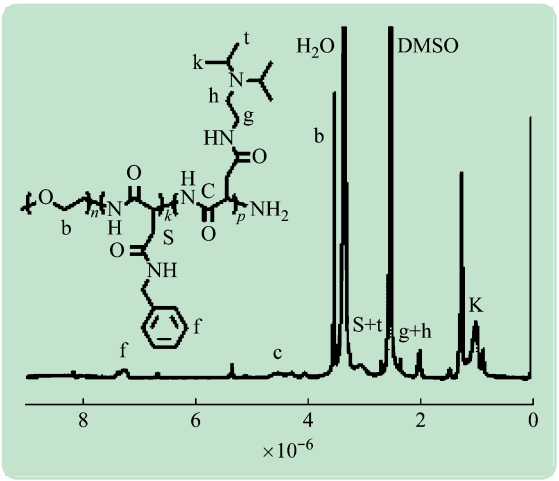
PEG-PAsp(Bza-DIP)的 $^1$H-NMR 图谱如图 2(b)所示,$0.95\times10^{-6}$ 为 DIP 中末端(—$CH_3$)的峰,$7.2\times10^{-6}$ 为苯环峰(—$COOCH_2C_6H_5$),根据 PEG 段亚甲基峰与 Bza 段苯环峰以及 DIP 中末端甲基峰的积分面积之比,得出 Bza 和 DIP 的重复单元数分别为 8 和 42。

### 2.2　纳米药物 PPBD@DOX 的粒径和形貌

如图 3 所示,采用动态光散射(DLS)方法测定纳米药物 PPBD@DOX 的水合粒径为(54 ± 40) nm;透射电子显微镜下 PPBD@DOX 粒子的形貌为大小均匀的球形,粒径约为 50 nm,其结果与 DLS 测出的粒径一致。




（a）PEG-PBLA




（b）PEG-PAsp（Bza-DIP）

图 2　聚合物 $^1$H-NMR 图谱（DMSO，300 MHz）

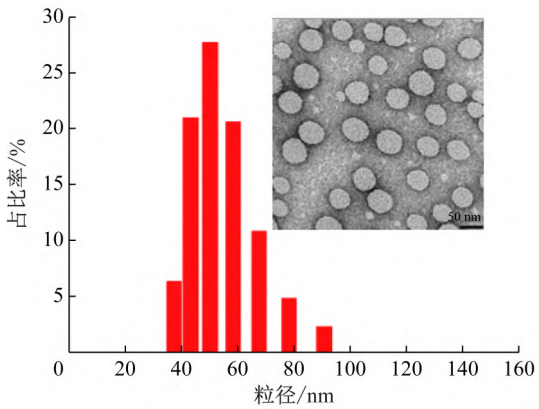



图 3　纳米药物 PPBD@ DOX 的粒径分布和透射电子显微图

### 2.3　载体材料对药物的包封率和载药量

通过测定纳米药物 PPBD@ DOX 中的 DOX 的质量得出智能药物传输载体 PEG-PAsp（Bza-DIP）对 DOX 的包封率和载药量，PEG-PAsp（Bza-DIP）对 DOX 的包封率为 64.2%，纳米药物 PPBD@ DOX 中 DOX 的载药量为 6.4%。

### 2.4　药物体外释放性能

通过体外模拟肿瘤细胞微环境评价传输载体控制 DOX 释放的性能。纳米药物通过内吞途径进入肿瘤细胞后，分布于溶酶体中，而溶酶体是酸性微环境（pH 5.0）。智能药物传输载体 PEG-PAsp（Bza-DIP）中的 DIP 具有酸敏性，在 pH 7.4 的条件下呈现出疏水性，而在 pH 5.0 条件下表现为亲水性。利用其酸敏性，可以在 pH 7.4 条件下通过亲疏水作用包载疏水性 DOX，制备出纳米药物，并且使药物在血液循环（pH 7.4）等正常生理条件下基本不释放药物，减少对正常组织的毒副作用；进入肿瘤细胞后则响应溶酶体的酸性微环境（pH 5.0），DIP 发生质子化由疏水转变为亲水，使纳米药物解体，从而将 DOX 快速释放出来，使细胞内药物浓度快速达到有效治疗浓度，提高药物的治疗效果。

如图 4 所示，在血液模拟（pH 7.4）的条件下，8 h 内 DOX 释放量仅有 6.9%，在随后的时间段内 DOX 的释放量没有明显提高仍维持在低水平，表明纳米药物 PPBD@ DOX 在 pH 7.4 的条件下释放的药物非常少；而在溶酶体模拟（pH5.0）的条件下，在 8 h 内 DOX 释放的速度最快，释放量达到 40.2%，在 24 h 时约 60% 的 DOX 从纳米药物中释放出来，证实 PPBD 载体具有很好的 pH 响应性，能够响应肿瘤细胞溶酶体酸性微环境快速释放 DOX。

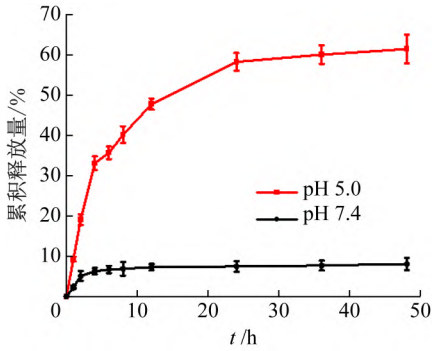


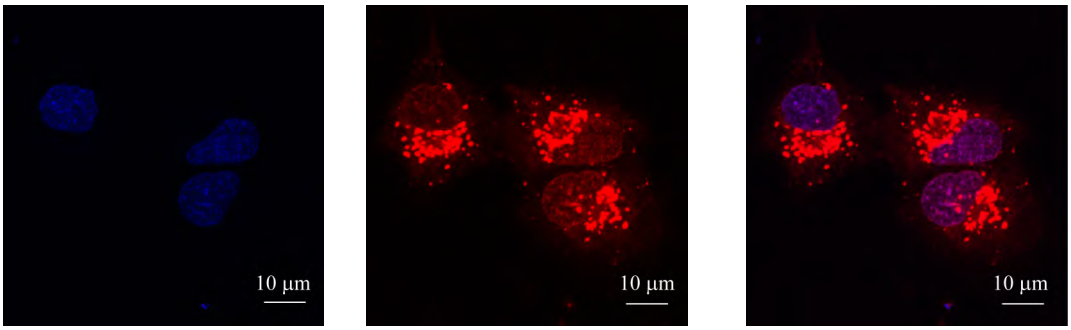

图 4　DOX 在不同模拟条件下的累计释放量曲线

纳米药物的粒径和形貌表征、纳米药物的 DOX 载药量和 DOX 体外释放行为表明智能药物传输载体 PEG-PAsp（Bza-DIP）能够有效包载 DOX 形成纳米粒子，在血液循环等正常生理条件下减少 DOX 的释放，并可智能响应肿瘤细胞内溶酶体酸性微环境而快速释放 DOX，利于减少毒副作用的同时提高抗肿瘤治疗效果。

### 2.5　细胞吸收和细胞内药物分布

通过荧光显微镜观察纳米药物 PPBD@ DOX 被细胞吸收情况以及 DOX 在细胞内的分布情况（见图 5），A549 细胞与 PPBD@ DOX 共同孵育 6 h 后，用 Hoechst 33342（蓝色荧光）标记细胞核，DOX 荧光在整个细胞分布，并且与细胞核的荧光重叠呈现出紫色。纳米药物 PPBD@ DOX 具有一定的粒径，不能进入到细胞核

中,只有从纳米载体中释放出来的游离 DOX 才能进入细胞核[4]。细胞核中 DOX 红色荧光与细胞核的蓝色荧光重叠,表明 DOX 从纳米药物中释放出来,并进入细胞核。这些研究结果表明智能药物传输载体 PEG-PAsp(Bza-DIP)能够将 DOX 输送进肿瘤细胞,并在肿瘤细胞中响应溶酶体酸性微环境将 DOX 释放出来。




(a) Hoechst 33342 标记　　(b) DOX 发出的红色荧光　　(c) (a)和(b)的叠合图像细胞核的蓝色荧光

图 5　智能药物传输载体 PEG-PAsp(BzA-DIP)输送 DOX 进入 A549 细胞和 DOX 在细胞内分布的荧光

### 2.6　抗肿瘤细胞增殖活性

肿瘤细胞 A549 分别与一系列不同浓度的空白纳米粒子 PPBD 和负载 DOX 的纳米药物 PPBD@DOX 孵育后,通过 MTT 法对细胞存活率进行测定分析(见图 6),从而评价纳米药物对肿瘤细胞的毒性。空白纳米粒子 PPBD 未表现出明显的细胞抑制作用,在聚合物浓度高达到 32 μg/mL 时,细胞存活率仍然约为 100%,表明未负载 DOX 的空白纳米粒子 PPBD 具有非常小的细胞毒性,证实载体材料 PEG-PAsp(Bza-DIP)具有非常好的生物安全性。负载 DOX 的纳米药物 PPBD@DOX 则显著降低了肿瘤细胞的存活,在 16 μg/mL DOX 浓度下,细胞存活率约 40%,32 μg/mL DOX 浓度则将细胞存活率降低至约 20%。这些研究结果表明负载 DOX 的纳米药物 PPBD@DOX 具有显著的杀灭肿瘤细胞的能力。

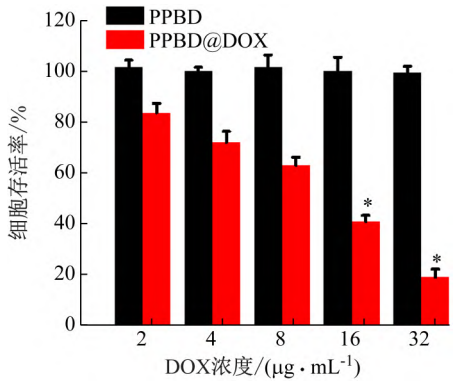



图 6　不同浓度下空白纳米粒子 PPBD 和载 DOX 纳米药物 PPBD@DOX 对 A549 细胞存活率的影响($p < 0.01$,与 8 μg/mL DOX 条件下的细胞存活率相比)

## 3　讨　论

具有微环境响应性的智能药物传输载体是生物材料的研究热点,属于材料科学的前沿研究方向。近年来开发的多种智能药物传输载体材料,可以响应内源微环境信号(如低 pH、富含还原剂、活性氧和肿瘤基质内基质金属蛋白酶等信号)[7-9,12,15]和外源信号(如红外光、热、超声等信号)[6,10-11,16]控制药物的释放,并在载体结构中进一步引入二硫键交联中间层[13]、pH 敏感中间层[7]以及酶敏感中间层[14],使药物在血液循环中不释放,到达肿瘤组织中则可快速释放,不仅减少了药物在血液循环中泄漏所引起的毒副作用,也提高了药物在肿瘤组织中的有效浓度,显著提高了药物杀灭肿瘤细胞的能力和降低了潜在的毒副作用。为了践行通过科教融合培养创新型人才的教学理念,在生物材料理论教学中对智能药物传输载体材料的相关知识进行了介绍和分析,为了加深学生对智能药物传输载体材料的理解和掌握,并利用前沿研究启发其创新性科学思维,将智能药物传输载体的研究成果设计成综合实验,训练高年级本科生利用所学的高分子化学、高分子物理以及材料制备与表征技术进行综合研究的能力。

为了便于本科生实验的开展,对智能药物传输载体材料方面的研究成果进行简便化和模块化设计,一方面在突出药物控释性能基础上尽量简化载体结构,便于本科实验的开展和推广;另一方面也通过模块化设计,既保证模块之间的相互衔接,也使各模块具有一定的独立性,可以分时段分别完成,便于本科课程的安排与管理。因此,在已有研究成果的基础上,设计了具有酸敏响应性的聚合物材料 PEG-PAsp(Bza-DIP),通过 NCA 开环聚合和胺解两步反应即可制备出载体聚合物,并通过后续的纳米药物制备与表征模块、药物控释行为表征模块以及生物学功能评价模块,使学生较为系统地了解智能药物传输载体的研究方法和思路,培养学生进行前沿科学研究的兴趣和能力。

酸敏响应性的聚合物材料 PEG-PAsp(Bza-DIP)可高效负载抗癌药物 DOX,所形成的载药纳米粒子结构稳定且均一,进入肿瘤细胞后在酸性的溶酶体中实现

DOX 的暴释，有效地提高了肿瘤细胞内药物浓度，降低对健康组织的毒副作用。这种酸敏纳米药物作为一种高效的纳米医药平台在肿瘤治疗中具有代表性。同时简便化和模块化设计也提供了一种简便和完整的纳米药物实操体系，使其在本科教学中成为可能，可以完整地训练学生认识、学习、制备智能药物传输载体的过程，培养学生的前沿科研思维。

## 4 结 语

在已有前沿科学研究成果的基础上，通过简便化和模块化策略，设计了基于酸敏聚合物 PEG-PAsp（Bza-DIP）的智能药物传输载体本科生综合实验，训练本科生较为全面了解和掌握智能药物传输载体材料的制备、表征、控释性能和生物功能评价方面的基本知识和实验方法，启发学生的科学思维。通过简便化和模块化设计策略等教学实践，探索将前沿科学研究成果引入本科教学的有效手段。

**参考文献（References）：**


[1] 孟 徽，孟 磊，张 兵. 构建我国材料领域科技创新发展新格局的思考[J]. 科学管理研究，2021，39(3)：45-48.

[2] 吴朝晖. 加快培养能够解决“卡脖子”问题的创新型人才[J]. 中国高等教育，2021(12)：7-8.

[3] 程 度，陈极峰，余东升. 小分子药物传输载体综合实验设计[J]. 实验技术与管理，2021，38(12)：43-47.

[4] Cheng D，Cao N，Chen J F，*et al*. Multifunctional nanocarrier mediated co-delivery of doxorubicin and siRNA for synergistic enhancement of glioma apoptosis in rat[J]. Biomaterials，2012，33(4)：1170-1179.

[5] Zou S Y，Cao N，Cheng D，*et al*. Enhanced apoptosis of ovarian cancer cells via nanocarrier-mediated codelivery of siRNA and doxorubicin[J]. International Journal of Nanomedicine，2012，2012：3823-3835.

[6] Deng S，Li X，Cheng D，*et al*. Codelivery of CRISPR-Cas9 and chlorin e6 for spatially controlled tumor-specific gene editing with synergistic drug effects[J]. Science Advances，2020，6(29)：eabb4005.

[7] Wang W，Cheng D，Gong F，*et al*. Design of multifunctional micelle for tumor-targeted intracellular drug release and fluorescent imaging[J]. Advanced Materials，2012，24(1)：115-120.

[8] Wu J，Huang J，Cheng D，*et al*. Synergistic microRNA therapy in liver fibrotic rat using MRI-visible nanocarrier targeting hepatic stellate cells[J]. Advanced Science，2019，6(5)：1801809.

[9] Huang J，Lin C，Fang J，*et al*. pH-sensitive nanocarrier-mediated codelivery of simvastatin and noggin siRNA for synergistic enhancement of osteogenesis[J]. ACS Applied Materials & Interfaces，2018，10(34)：28471-28482.

[10] Yin T，Wang P，Li J，*et al*. Tumor-penetrating codelivery of siRNA and paclitaxel with ultrasound-responsive nanobubbles hetero-assembled from polymeric micelles and liposomes[J]. Biomaterials，2014，35(22)：5932-5943.

[11] Yu D，Wang Y，Chen J，*et al*. Co-delivery of NIR-II semiconducting polymer and pH-sensitive doxorubicin-conjugated prodrug for photothermal/chemotherapy[J]. Acta Biomaterialia，2022，137：238-251.

[12] An H W，Li L L，Wang Y，*et al*. A tumour-selective cascade activatable self-detained system for drug delivery and cancer imaging[J]. Nature Communications，2019，10(1)：1-15.

[13] Dai J，Lin S，Cheng D，*et al*. Interlayer-crosslinked micelle with partially hydrated core showing reduction and pH dual sensitivity for pinpointed intracellular drug release[J]. Angewandte Chemie International Edition，2011，50(40)：9404-9408.

[14] Huang J，Xu Y，Xiao H，*et al*. Core-shell distinct nanodrug showing on-demand sequential drug release to act on multiple cell types for synergistic anticancer therapy[J]. ACS Nano，2019，13(6)：7036-7049.

[15] Yu Y，Chen J，Liu S，*et al*. ROS-responsive organosilica nanocarrier for the targeted delivery of metformin against cancer with the synergistic effect of hypoglycemia[J]. Journal of Materials Chemistry B，2021，9(30)：6044-6055.

[16] Wang L，Yuan Y，Cheng D，*et al*. Photothermo-chemotherapy of cancer employing drug leakage-free gold nanoshells[J]. Biomaterials 2016，78：40-49.


·名人名言·

提出一个问题往往比解决一个问题更重要，因为解决问题也许仅是一个数学上或实验上的技能而已。而提出新的问题新的可能性，从新的角度去看旧的问题，都需要有创造性的想象力，而且标志着科学的真正进步。

——爱因斯坦