

## 树形分子在 siRNA 递送载体中的应用

蔡龚莉<sup>1,2#</sup>, 陈裕<sup>1,2#</sup>, 林舒婷<sup>1,2</sup>, 朱丹丹<sup>1,2</sup>, 董怡文<sup>1,2</sup>, 李宁<sup>1,2</sup>, 刘潇璇<sup>1,2\*</sup>(中国药科大学<sup>1</sup>天然药物活性组分与药效国家重点实验室;<sup>2</sup>药物科学研究院高端药物制剂与材料研究中心, 南京 210009)

**摘要** 基于小干扰核酸分子(siRNA)的 RNA 干扰技术作为极具潜力的治疗策略吸引了越来越多的学术界和工业界的关注, 如何实现 siRNA 的临床转化日渐成为生物医药领域的研究热点。然而, 转化成功与否很大程度上依赖于安全高效的 siRNA 递送系统。树形分子作为一种新型的大分子, 具有精确可控的化学结构、可供修饰的末端基团以及纳米尺寸等独特的物理化学性质, 广泛应用于 siRNA 的递送。本文归纳和总结了不同种类的树形分子在 siRNA 递送领域的研究进展, 为后续树形分子用于 siRNA 递送的研究提供思路。

**关键词** RNA 干扰; 小干扰 RNA; 树形分子

**中图分类号** Q782 **文献标志码** A **文章编号** 1000–5048(2019)03–0274–15

doi:10.11665/j.issn.1000–5048.20190303

**引用本文** 蔡龚莉, 陈裕, 林舒婷, 等. 树形分子在 siRNA 递送载体中的应用[J]. 中国药科大学学报, 2019, 50(3): 274–288.

**Cite this article as:** CAI Gongli, CHEN Yu, LIN Shuting, et al. Application of dendrimer-based siRNA delivery systems[J]. J China Pharm Univ, 2019, 50(3): 274–288.

## Application of dendrimer-based siRNA delivery systems

CAI Gongli<sup>1,2#</sup>, CHEN Yu<sup>1,2#</sup>, LIN Shuting<sup>1,2</sup>, ZHU Dandan<sup>1,2</sup>, DONG Yiwen<sup>1,2</sup>, LI Ning<sup>1,2</sup>, LIU Xiaoxuan<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>State Key Laboratory of Natural Medicines; <sup>2</sup>Center of Advanced Pharmaceuticals and Biomaterials, Institute of Pharmaceutical Sciences, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China

**Abstract** Small interfering RNA-based RNA interference (RNAi) is an emerging treatment which has attracted more and more attention from both academia and industry. Studies on clinical translation of siRNA are popular in biomedical field, where safe and efficient carriers are necessary. As novel drug/gene vectors, dendrimers are widely used in siRNA delivery due to their unique and precise structure, multiple terminal groups and nano-sized chemophysical properties. Here, we present an overall view of current studies on dendrimer-based siRNA delivery systems, with the aim to provide an understanding of future siRNA therapeutics which could be used in clinic.

**Key words** RNA interference; small interfering RNA; dendrimers

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 51773227, No. 81701815, No. 51703245); the Natural Science Foundation of Jiangsu Province (No. BK20170735, No. BK20170733); the Recruitment Program for Youth Talents; the Recruitment Program for Senior Experts of Innovation and Entrepreneurship of Jiangsu Province, the Founding of Double First-rate Discipline Innovation Team (CPU2018GF05); the Program of State Key Laboratory of Natural Medicines at China Pharmaceutical University (No. SKLNMZZRC201804); and the Fundamental Research Funds for the Central Universities of China (No. 2632019ZD09)

# CAI Gongli and CHEN Yu contributed equally to this work

**收稿日期** 2019-05-05 **\*通信作者** Tel: 025–83271175 E-mail: xiaoxuanliucpu@163.com

**基金项目** 国家自然科学基金资助项目 (No. 51773227, No. 81701815, No. 51703245); 江苏省自然科学基金资助项目 (No. BK20170735, No. BK20170733); 中组部“千人计划”青年资助项目; 江苏省“高层次创新创业人才引进计划”资助项目; 中国药科大学“双一流”建设科技创新团队资助项目 (No. CPU2018GF05); 中国药科大学天然药物活性组分与药效国家重点实验室资助项目 (No. SKLNMZZRC201804); 中国高校基本科研业务费资助项目 (No. 2632019ZD09)

# 蔡龚莉, 陈裕对本论文的贡献相同

RNA 干扰(RNA interference, RNAi)在 1998 年由 Fire 等<sup>[1]</sup>首次报道,它是一种由小干扰 RNA (small interfering RNA, siRNA)触发的特异性基因沉默效应。在 RNAi 过程中,双链 RNA (double-stranded RNA, dsRNA) 分子被 RNase-III 类核酸内切酶 Dicer 切割成 21 ~ 23 个核苷酸的双链 siRNA, 该双链 siRNA 和 Argonaute 2 (Ago2) 蛋白、核酸内切酶 Dicer、解旋酶结合形成 RNA 诱导沉默复合物 (RNA-induced silencing complex, RISC), 双链解开, 其中正义链被降解, 反义链保留并激活 RISC。当反义链通过 Watson-Crick 碱基互补配对原则与特定的靶 mRNA 结合时, mRNA 被 RISC 中的 Dicer 切割后降解, 无法进一步翻译成蛋白质并导致基因沉默。此外, RNAi 具有级联放大效应, 在 mRNA 降解后, 活化的 RISC 再参与另一个 mRNA 降解循环<sup>[2]</sup> (图 1)。基于此, 研究人员设计特定序列的 siRNA 用于特异性沉默致病基因, 从而达到治疗的目的。2018 年美国食品药品监督管理局批准了首款 siRNA 药物 patisiran (Onpattro®) 用于治疗遗传性转甲状腺素蛋白淀粉样变性 (hATTR) 引起的周围多发性神经疾病 (polyneuropathy), 与此同时还有多种 siRNA 药物正在进行临床试验<sup>[3]</sup>。基于 siRNA 的 RNAi 疗法具有很多优点, 比如良好的安全性、特异性和高效性。但 siRNA 分子本身的一些特点, 如血浆半衰期短、易被核酶降解、易被肾脏清除、带负电荷难以自发穿过细胞膜等, 使其具有较差的成药性。因此, 提高 siRNA 成药性的关键在于发展安全高效的 siRNA 递送系统。

目前常用的 siRNA 递送载体可分为病毒类载体和非病毒类载体。病毒载体具有很高的转染效率, 但是自身的安全性不佳, 如有免疫原性等, 且生产成本高昂, 限制了其临床应用<sup>[4]</sup>。相比之下, 非病毒载体具有低免疫原性、低生产成本和低毒性等优点, 吸引了研究人员的广泛关注。这些非病毒载体主要分为阳离子脂质和阳离子聚合物两大类。阳离子载体通过静电相互作用结合 siRNA 形成稳定纳米粒, 保护 siRNA 在体循环过程中不被降解, 将其递送至靶向部位, 促进细胞摄取, 并在 siRNA/载体复合物内化后, 通过内涵体逃逸并有效将 siRNA 释放到细胞质中, 参与 RNAi 过程, 产生有效的基因沉默效应 (图 2)。

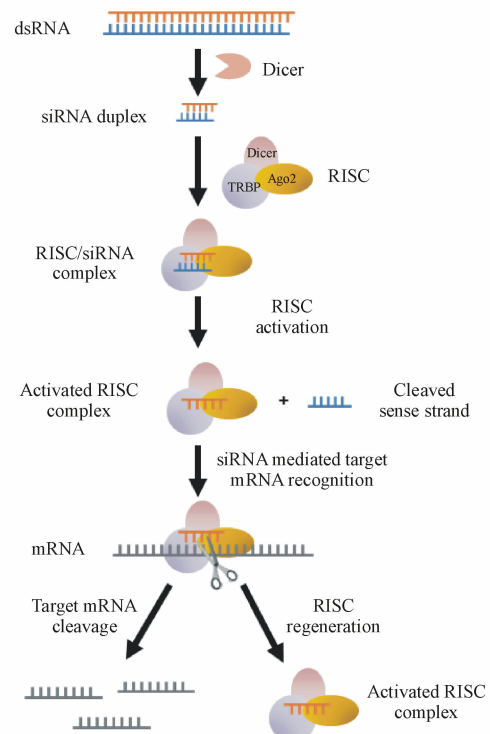


Figure 1 Mechanism of RNA interference

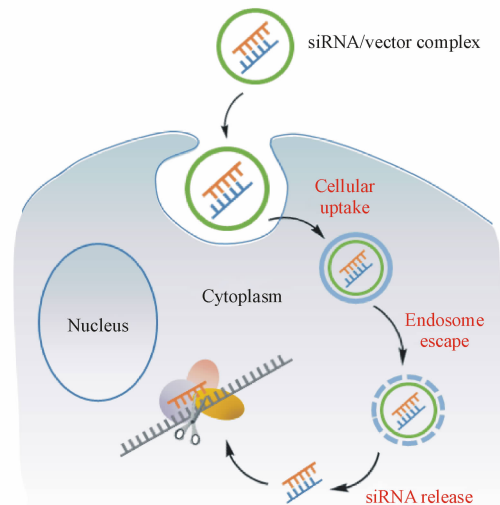


Figure 2 Non-viral vectors mediated siRNA delivery

在众多 siRNA 递送系统中, 树形分子作为聚合物载体家族中特殊的一员, 因其独特的结构和性质引起研究人员的广泛关注<sup>[5]</sup>。树形分子概念在 20 世纪 80 年代被首次提出, 其英文名 (dendrimer) 来源于希腊语 “dendron” (tree 的意思) 和 “meros” (part 的意思)。树形分子是一类球状纳米级大分子, 其结构通常可以分为 3 个部分: 中心核、分支单元和末端基团<sup>[6]</sup>。中心核位于树形分子的最里层。分支单元 (重复单元) 在中心核和分子表面之

间,是由核出发经过重复的反应得到的一系列径向分布的同心层,每一层叫做树形分子的一代(Generation, **G**)。分支单元有着精确的结构,作为树形分子的骨架参与其三维结构的变化。末端基团处于树形分子表面,可经修饰后实现不同的用途,在基因或药物递送时起着关键的作用(图3)。

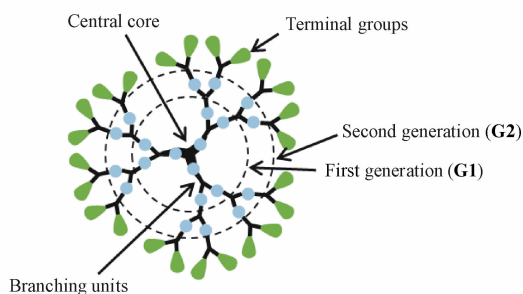


Figure 3 Dendrimer structure

树形分子一般通过发散法、收敛法或发散收敛法合成<sup>[5]</sup>(图4)。发散法是指从树形分子的中心核出发,通过与分支单元的重复反应,逐步增加分子大小和代数。这种方法的缺陷在于随着树形分

子代数的增长,由于表面的空间位阻效应使得反应难以进行完全,导致产生含有缺陷的副产物分子,这种缺陷会随着代数积累而且产物难以纯化。为了确保反应的进行和防止副产物的生成,往往需要加入过量的反应物,但这又会增加纯化难度。与之相对的收敛法是指从树形分子结构的表面出发,通过与分支单元逐步反应,形成树状单元,再将树状单元与树形分子的中心核连接形成完整的树形分子。这种方法跟发散方法相比反应易于控制,副产物容易分离,能有效降低产物的结构缺陷,可以得到较为完整的分子,但同样由于空间位阻效应很难得到高代分子。而发散收敛法是通过发散法合成树形分子的中心核,然后通过收敛法合成树状单元,再将中心核与树状单元连接得到完整的树形分子。这种方法结合发散和收敛两种合成方法优点,可以缩短合成高代树形分子的时间,同时这种方法还可以通过可控的方式将不同的树状单元结合到一起,从而得到具有特殊用途的非对称树形结构。

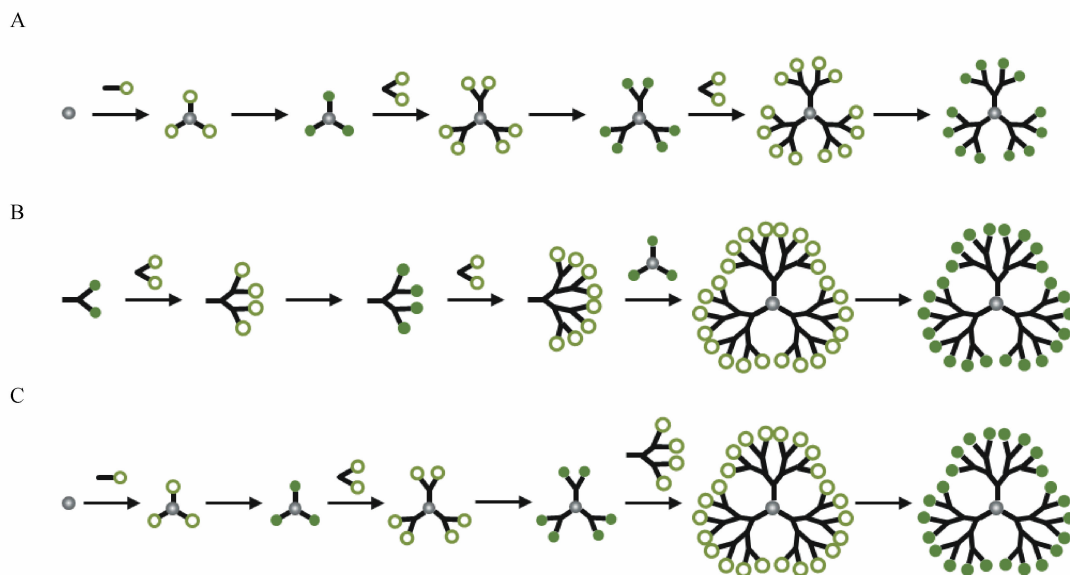


Figure 4 Strategies of dendrimer synthesis

A: Divergent approach; B: Convergent approach; C: Double-stage convergent approach

树形分子具有一些独特的物理化学性质<sup>[6]</sup>,例如具有精确的结构,良好的单分散性;同时,树形分子表面具有大量的末端基团,可以与溶剂或其他分子发生多位点的相互作用,使得树形分子具有较好的溶解性和反应活性;此外,树形分子的末端基团还可以进行多种修饰,赋予树形分子不同的性

质,例如修饰特异性配体可以增强树形分子的靶向递送能力。

目前树形分子在 siRNA 递送领域的应用日益增多<sup>[7]</sup>,聚酰胺-胺类[poly(amidoamine), PAM-AM]、聚丙烯亚胺类[poly(propyleneimine), PPI]、肽类(peptide dendrimer)、聚甘油类(polyglycerol

dendrimer, PG)、碳硅烷类(carbosilane dendrimer, CBD)、三嗪类(triazine dendrimer)、两亲类(amphiphilic dendrimer)等多种树形分子被开发用于递送 siRNA,其中 PAMAM 是目前研究得最深入和最广泛的一类。本文将对以上不同类别的树形分子在 siRNA 递送方面的应用进行综述。

## 1 聚酰胺-胺类树形分子(PAMAM)

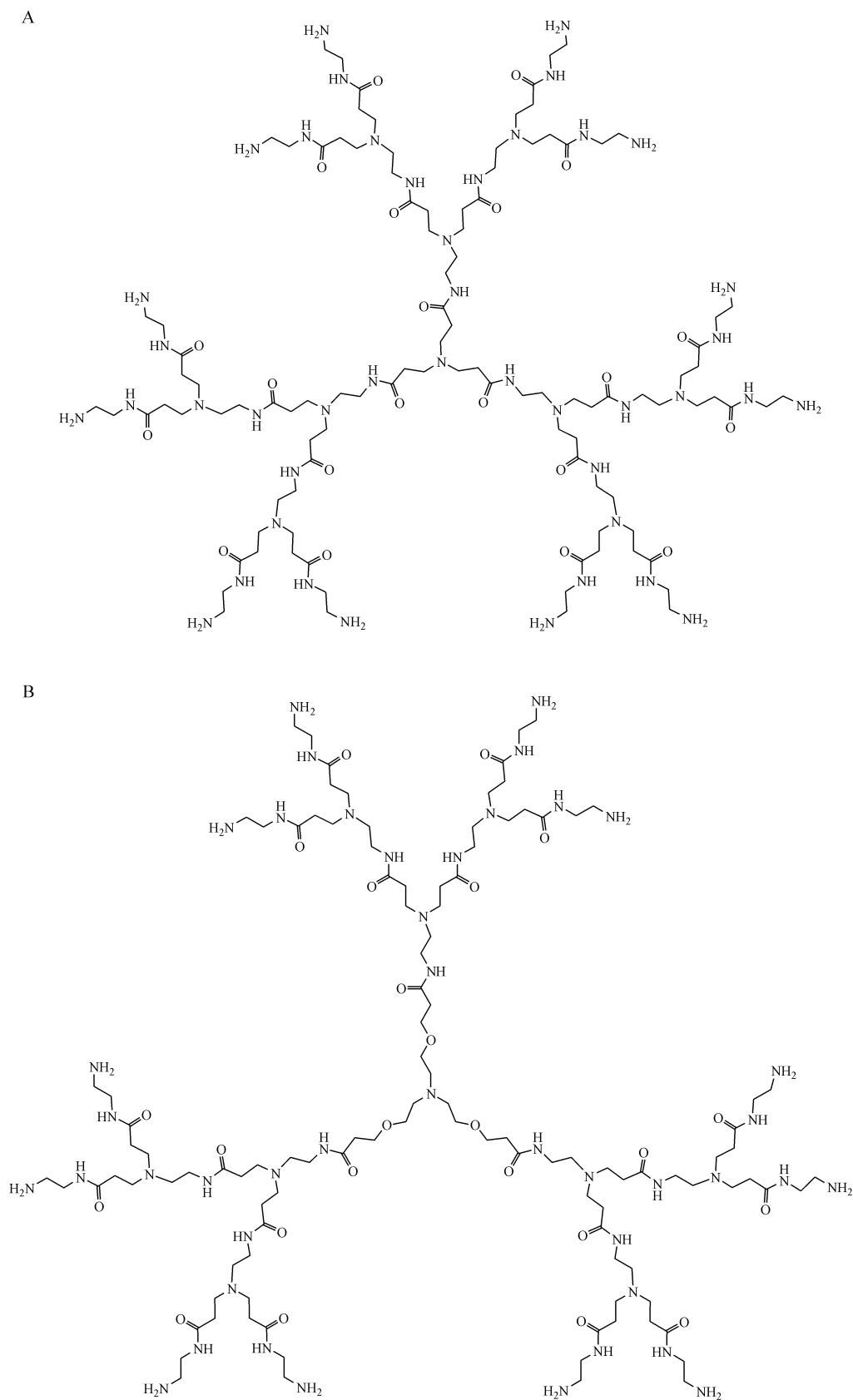
在众多树形分子载体中,聚酰胺-胺类树形分子是研究得最早和最深入的一类。Tomalia 等<sup>[8]</sup>在 1985 年首次合成了 PAMAM 树形分子(图 5-A),传统的 PAMAM 树形分子以氨为核,通过与丙烯酸甲酯的 Michael 加成和与乙二胺的酰胺化交替反应合成。在 PAMAM 树形分子递送 siRNA 的过程中,阳离子 PAMAM 树形分子表面大量的胺基基团可以通过静电相互作用结合 siRNA 并形成稳定纳米粒,从而有效保护 siRNA,避免其被核酶降解。然后,siRNA/树形分子复合物纳米粒经内吞途径被细胞摄取,被内化的纳米粒主要聚集在酸性细胞器中,如内涵体和溶酶体。树形分子结构中存在大量叔胺基团,使其具备很强的 pH 缓冲能力,可通过“质子海绵”效应实现内涵体逃逸,从而促进 siRNA 的释放,达到基因沉默效果<sup>[9]</sup>。

研究表明,相比于完整结构的树形分子,部分降解的树形分子具有更高的基因递送效率<sup>[10]</sup>。2005 年 Kang 等<sup>[11]</sup>尝试通过结构完整的 G5 PAMAM 树形分子来递送 siRNA,但并没有观察到基因沉默效果,他们猜测是 siRNA 在胞内的不完全释放导致的。而基于 PAMAM 树形分子的商业转染试剂 PolyFect<sup>®</sup>和 SuperFect<sup>®</sup>的活性成分是部分降解的 PAMAM 树形分子,可能是因为部分降解的树形分子具有更开放和柔顺的结构,使其更易于与核酸和水分子作用,有利于核酸的结合和释放。这些部分降解的 PAMAM 树形分子通常是将结构完整的树形分子进行碱水解或热降解的方法得到<sup>[10]</sup>。众所周知,高代树形分子(如 G5)的合成和纯化过程都相当耗时耗力,通过合成完整的高代树形分子再进行降解得到部分降解的产物用于高效的基因递送,是一种不经济又不环保的方法。因此,在 2006 年, Zhou 等<sup>[12]</sup>就报道了以三乙醇胺(TEA)为核的一类具有柔顺结构的 PAMAM 树形分子(图 5-B),与

传统氨为核的 PAMAM 树形分子相比,这种具有开放和柔顺结构的树形分子的空间位阻较低,利于其与 siRNA 的结合,同时水分子也更容易进入树形分子内部,增加内部叔胺质子化的可能,促进 siRNA 借助“质子海绵”效应的释放。实验证明,该结构柔顺型树形分子能够和 siRNA 结合形成大小约为 70 nm 的稳定纳米粒,保护 siRNA 并促进其细胞摄取<sup>[13]</sup>。在前列腺肿瘤细胞模型<sup>[13]</sup>中,这类结构柔顺的 PAMAM 树形分子在其代数等于或高于 5 时都能有效递送 siRNA,降低热休克蛋白 27(Hsp27)的表达并产生 Caspase 依赖的抗肿瘤活性。此外,这类树形分子还能有效地将 siRNA 递送到人类 T 细胞和原代 PBMC 细胞中,并产生显著的基因沉默效应<sup>[14]</sup>。同时,该树形分子能够在人源化小鼠艾滋病模型中进行系统给药,递送可以同时靶向艾滋病病毒复制和感染的 siRNA 并发挥基因沉默效应,有效预防宿主 CD4<sup>+</sup> T 细胞耗竭和病毒逃逸,产生显著抗 HIV 活性<sup>[14]</sup>。最新研究表明,这类树形分子还可将 siRNA 靶向递送至卵巢癌干细胞,显著抑制卵巢癌干细胞的扩张、黏连、侵袭转移和肿瘤的生长<sup>[15]</sup>。除了上述的前列腺癌、艾滋病和卵巢癌疾病模型,这类新型结构柔顺的树形分子介导的小 RNA 治疗还成功地应用于肝癌<sup>[16]</sup>、胶质瘤<sup>[17]</sup>等疾病模型中。

PAMAM 树形分子表面具有丰富的末端基团,围绕其末端基团可以进行多种修饰,这些修饰可以降低 siRNA/树形分子复合物在递送过程中的毒性、提高其靶向性、增加细胞摄取等。

阳离子树形分子经部分修饰后可有效降低其细胞毒性。高代 PAMAM 树形分子携带较多的表面正电荷,具有较高的转染效率,同时过多的正电荷会增加纳米复合物的细胞毒性,因此可以通过对其正电荷表面进行一定程度的修饰,在保持其递送活性的同时降低其细胞毒性。例如聚乙二醇(PEG)作为在改善阳离子载体细胞毒性中被开发最多的聚合物,能够极大地降低阳离子树形分子的细胞毒性。在 G5 或 G6 PAMAM 上进行 8% 的 PEG 修饰(图 6-A)<sup>[18]</sup>可以提高转染效率、降低毒性,其递送 siRNA 产生的基因沉默效应要远优于未修饰的树形分子,与商业转染试剂 Lipofectamine 2000(Lipo)效果相当。

**Figure 5** PAMAM dendrimersA: Amine ( $\text{NH}_3$ ) core PAMAM dendrimer; B: Triethanolamine (TEA) core PAMAM dendrimer

在树形分子表面进行特定修饰可以实现 siRNA 的靶向递送,有效减少非特异性递送,提高递送效率并降低毒性。透明质酸是一种天然的具有细胞特异性的聚合物,其受体 CD44 在 MCF-7 和 MDA-MB-231 等细胞系中高度表达,使用透明质酸修饰树形分子可以通过靶向效应增加 siRNA 在相应肿瘤细胞中的递送效率。Ma 等<sup>[19]</sup>通过修饰透明质酸四糖簇的 G4 PAMAM 树形分子实现 siRNA 的成功递送(图 6-E)。与透明质酸寡糖相比,透明质酸四糖簇与受体 CD44 的结合能力增强,修饰后的树形分子与 siRNA 形成复合物,并进一步通过 CD44 介导的胞吞作用大大增加其细胞摄取,从而发挥显著的基因沉默效应。除此之外,一些靶向肽和某些肿瘤细胞高表达的受体之间存在着特异性相互作用,也常用于修饰树形分子末端以促进 siRNA/树形分子复合物的靶向递送。如 Liu 等<sup>[20]</sup>将双靶向肽 RGDK 引入到结构柔顺型 PAMAM 树形分子的 siRNA 递送系统中,其中 RGD 可以通过与肿瘤血管上过表达的  $\alpha v \beta_3$  整合素的相互作用靶向肿瘤内皮细胞,增加 siRNA/树形分子复合物在肿瘤部位的富集,减少非特异性递送;RGDK 则可与肿瘤细胞表面的 Nrp-1 受体结合,增加细胞摄取。

对树形分子表面进行特定的修饰还可以提高细胞对复合物的摄取,从而提高 siRNA 的基因沉默效率。众所周知,含有丰富精氨酸的细胞穿透肽能够促进细胞摄取,因为在生理条件下,每个精氨酸残基都含有一个带正电荷的胍基,胍基可以通过其平面结构与细胞膜相互作用,从而促进膜的渗透。因此,将精氨酸修饰于树形分子的末端(图 6-B)<sup>[21]</sup>,能够增强树形分子与 siRNA 的相互作用,促进细胞摄取,提高转染效率。在树形分子上进行脂质修饰是另一种增加摄取的方法。脂质修饰后可以平衡树形分子的阳离子电荷和脂质含量,促进纳米粒的细胞摄取和内涵体逃逸,进而优化 siRNA 递送及转染效率。C12 饱和烷基链修饰的 PAMAM(图 6-C)<sup>[22]</sup>介导的 siRNA 的递送中,即使在低 siRNA 剂量(10 nmol/L)下,也具有 80% 的基因沉默效果。同时,脂质修饰后的树形分子还可以实现抗肿瘤药物和 siRNA 共同递送治疗多药耐药。Biswas 等<sup>[23]</sup>将 1,2-二油酰-SN-甘油-3-磷酸乙醇胺-聚乙二醇(DOPE-PEG)连在 PAMAM 树形分子

上所得的共聚物能够自组装成尺寸低于 100 nm 的胶束,其对阿霉素和 siRNA 的递送能力都有了极大的提高。除了细胞渗透肽和脂质之外,全氟烷基化合物因其独特的性质也常被用于修饰树形分子以提高递送效率。含氟化合物既疏水又疏脂,同时存在独特的氟氟相互作用,有利于 siRNA/树形分子复合物在低 N/P 比条件下实现最佳的转染效果,提高其血清稳定性,增加细胞摄取,促进内涵体逃逸。He 等<sup>[24]</sup>在不同代数 PAMAM 树形分子上缀合双尾氟化合物 2-氯-4,6-双[(全氟己基)丙氧基]-1,3,5-三嗪(CBT)显示出高 siRNA 递送功效,并且所修饰的树形分子在其最佳转染条件下表现出最低的细胞毒性。Wang 等<sup>[25]</sup>合成的七氟丁酸修饰的 PAMAM 也表现出优异的 siRNA 递送能力(图 6-D),在低剂量条件下其基因沉默效应甚至优于商业转染试剂 Lipo。

## 2 聚丙烯亚胺类树形分子(PPI)

聚丙烯亚胺类树形分子是另一类常用的树形分子(图 7)。它主要以胺为起始原料,通过与丙烯腈的 Michael 加成、腈基还原成氨基两步反应的交替进行得到。Buhleier 等<sup>[26]</sup>在 1978 年首次报道了 PPI 的合成,但存在反应不完全、副反应多、产率低等问题。在此基础上,研究人员优化了 PPI 的制备方法<sup>[27-28]</sup>,在胺和丙烯腈的 Michael 加成反应中加入水,使得过量的丙烯腈能够与水形成共沸物并除去,腈基末端的化合物可经水洗涤纯化得到;随后,使用 Raney/Cobalt 对腈基进行加氢还原,过滤后得到纯产物。优化后的制备方法显著降低了产物的纯化难度、减少了副反应、提高了产率,可应用于大量生产。PPI 结构中含有大量胺基基团,包括末端的伯胺和内部的叔胺,因此也适用于 siRNA 的递送。为了提高 PPI 的递送效率和靶向能力,研究人员常常在 PPI 结构中修饰靶向基团,期望通过受体-配体的特异性识别,以提高靶向递送能力。Tietze 等<sup>[29]</sup>开发了基于麦芽糖修饰的 PPI 树形分子的载体系统,其中,载体中的单抗片段可靶向识别肿瘤细胞过表达的表皮生长因子受体 III(EGFRvIII),实现 siRNA 的高效靶向递送。此外,促黄体激素释放激素(LHRH)也常用于修饰 PPI 以提高载体的靶向性。如 LHRH 修饰后的 PPI 靶向卵巢癌细胞递送 DJ-1 siRNA,显著降低了卵巢癌

细胞的增殖、转移和侵袭能力<sup>[30]</sup>。在利用 LHRH 提高 PPI 递送系统靶向性的同时, Taratula 等<sup>[31]</sup> 同时在 PPI 表面修饰了 PEG, 该策略有效提高了 siRNA 的血清稳定性, 促进了肿瘤细胞的特异性识别和摄取, 从而发挥基因沉默效应, 提高肿瘤治疗

的疗效。

然而, 在研究 PPI 的细胞毒性时发现, PPI 树形分子会改变 A431 和 A549 细胞的内源基因表达<sup>[32]</sup>, 因此, PPI 可能会影响人类固有基因的功能, 这也大大地限制了 PPI 在临床上的进一步应用。

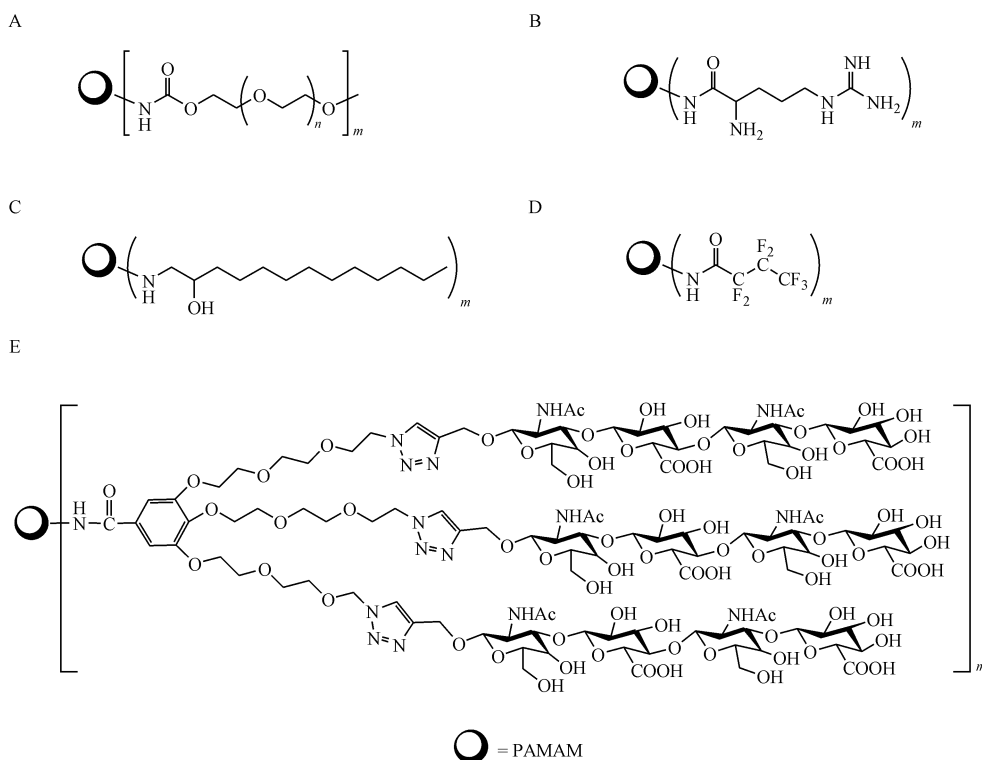


Figure 6 Surface-modified PAMAM dendrimers

A: PEG-modified PAMAM dendrimer; B: Arginine-modified PAMAM dendrimer; C: Lipid-modified PAMAM dendrimer; D: Fluorinated PAMAM dendrimer; E: Hyaluronic acid-modified PAMAM dendrimer

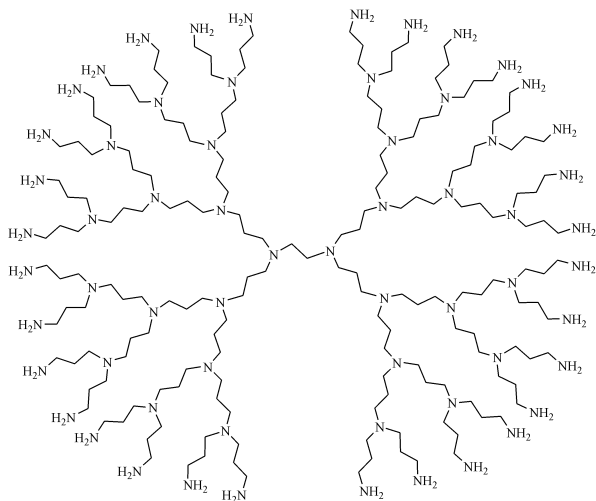


Figure 7 Poly(propylene imine) dendrimer (PPI)

### 3 肽类树形分子

肽类树形分子在广义上是指在中心核、分支单

元或者末端基团含有氨基酸或肽序的树形分子, 而在狭义上则是指树形分子的整个结构均由氨基酸构成<sup>[33]</sup>, 其中聚 L-赖氨酸树形分子(PLL)就是一种典型的肽类树形分子(图 8)。PLL 由赖氨酸组成, 一般以胺为核心, 通过带有保护基的赖氨酸之间的缩合-脱保护两个交替的反应, 得到不同代数的 PLL 树形分子<sup>[34]</sup>。PLL 具有良好的生物相容性, 可以在生物体内经过酶或者酸的作用发生降解<sup>[33]</sup>。虽然 PLL 表面的胺基在生理条件下便可发生质子化携带正电荷, 能与 siRNA 通过静电相互作用形成复合物, 但其结构中不含有与 PAMAM 和 PPI 类似的叔胺结构, 致使 siRNA 无法通过“质子海绵”效应从内涵体中逃逸出来发挥基因沉默效应<sup>[35]</sup>。研究人员开始尝试通过对 PLL 进行结构改造以提高其 siRNA 递送能力。例如, 对 PLL 表面进行脂质修饰可以提高 siRNA 递送能力, C18 不饱



和烷基链修饰的 PLL 树形分子在体内表现出有效的 RNA 干扰能力而无明显的细胞毒性<sup>[36]</sup>。同时,氟化修饰也能增强 PLL 的递送能力。Cai 等<sup>[37]</sup>设计了基于氟化 G2 PLL 树形分子递送系统,可以提

高 siRNA 在递送过程中的生理稳定性和血清抗性,促进 siRNA/树形分子复合物的肿瘤内富集、细胞内化及内涵体逃逸。

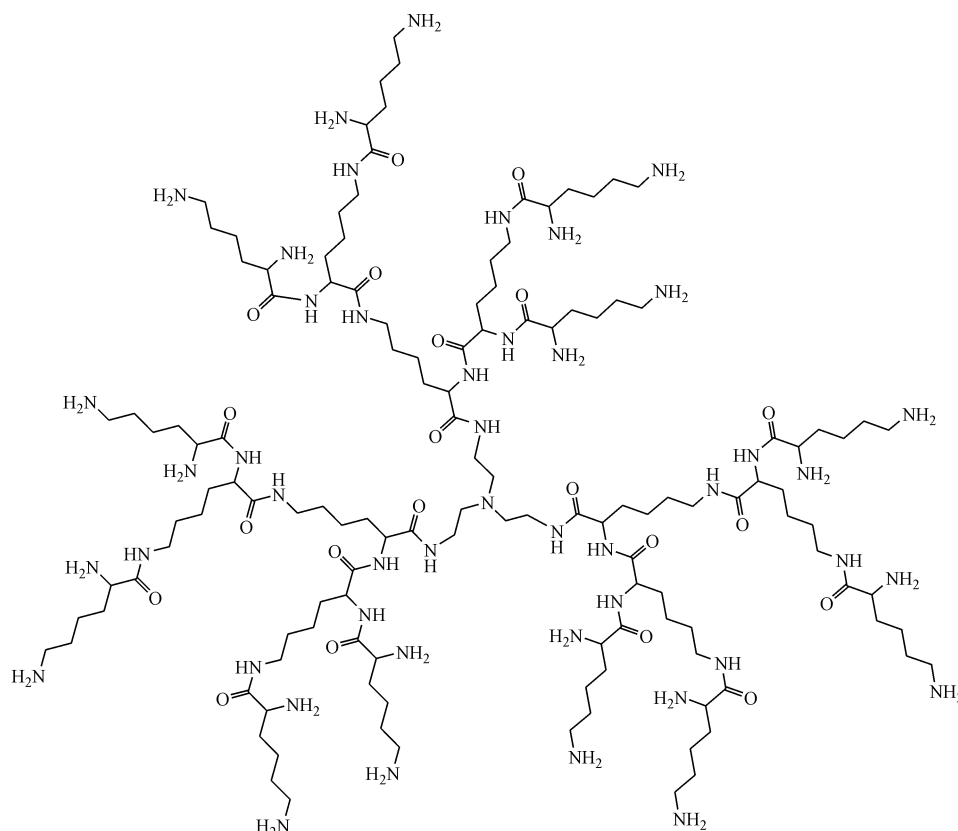


Figure 8 Poly (L-lysine) dendrimer (PLL)

#### 4 聚甘油类树形分子 (PG)

聚甘油类树形分子的研究也较为广泛,其分支单元为甘油,一般以醇为起始原料,通过醇的烯丙基化、烯丙基双键的催化二羟基化两步反应交替可以得到<sup>[38]</sup>。阳离子胺基末端的聚甘油树形分子表现出良好的 siRNA 递送能力。Haag 课题组一直致力于聚甘油树形分子的研究,Fischer 等<sup>[39]</sup>设计了含有各种阳离子胺基末端的聚甘油树形分子,其中 PG-NH<sub>2</sub> (图 9) 在转染效率和细胞毒性之间表现出最佳平衡。PG-NH<sub>2</sub> 可以通过将聚甘油树形分子上的羟基以胺基替代得到。研究表明,PG-NH<sub>2</sub> 中胺基取代程度对其递送能力有着显著影响,50% 胺基取代的 PG-NH<sub>2</sub> 的核酸亲和力最强。与此同时,体内外转染研究结果也表明,只有 50% 胺基取代的 PG-NH<sub>2</sub> 才能有效转染 siRNA<sup>[40]</sup>。为了进一步提高转染效率,Zeng 等<sup>[41]</sup>还对 PG-NH<sub>2</sub> 进行了进

一步的氨基酸修饰研究。通过在 PG-NH<sub>2</sub> 末端修饰不同种类的氨基酸,同时调整氨基酸的组合、氨基酸的数量和 PG-NH<sub>2</sub> 的代数,发现组氨酸和色氨酸比例为 3/1 的双功能化 PG-NH<sub>2</sub> 比未修饰的 PG-NH<sub>2</sub> 具有更高的递送效率和更低的细胞毒性。这是因为组氨酸中的咪唑基团在弱酸性条件下可质子化,增加 siRNA/树形分子复合物的 pH 缓冲能力,从而促进其内涵体逃逸;同时咪唑基团具有化学惰性,可提高其血清稳定性<sup>[42]</sup>。疏水性氨基酸色氨酸则发挥与脂质相似的作用,平衡树形分子的电荷及疏水性,从而促进细胞摄取,提高转染效率。因此,氨基酸双功能化修饰可达到协同增效的作用,进一步增强 PG-NH<sub>2</sub> 的 siRNA 递送效果。相似的,组氨酸与精氨酸比例为 3/1 的双功能化的 PG-NH<sub>2</sub> 在 NIH 3T3 细胞系中也表现出高效的 siRNA 转染效率和较低的细胞毒性(细胞存活率为 90%)<sup>[43]</sup>。



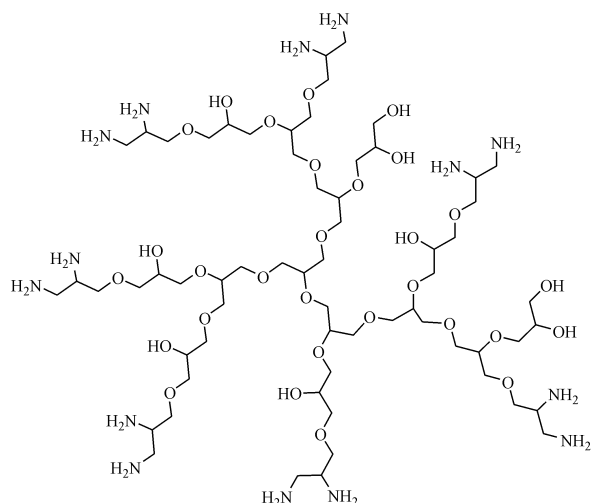


Figure 9 Polyglycerolamine dendrimer (PG-NH<sub>2</sub>)

## 5 碳硅烷类树形分子 (CBD)

碳硅烷类树形分子具有一个含硅的核心,其骨架通常由碳碳键和碳硅键构成,形成高度疏水的树形分子结构。它的合成通常以带烯基的硅烷为中心核,与甲基二氯硅烷进行硅氢加成反应;随后与格氏试剂反应得到烯基末端树状物,两步反应交替进行得到不同代数的树形分子<sup>[44]</sup>。碳硅烷树形分子表面连接铵盐后(图 10),可以通过静电相互作用结合 siRNA,用于 siRNA 递送。Weber 等<sup>[45]</sup>的研究表明,G2 铵盐末端的碳硅烷树形分子可有效递送 siRNA。在对比氧硅键碳硅烷树形分子(CBD-OS)和碳硅键碳硅烷树形分子(CBD-CS)后发现,两者都可有效递送 siRNA 用于 HIV 基因治疗<sup>[46]</sup>,但也都存在各自的不足,氧硅键在水溶液中不稳定,容易缓慢发生水解,影响 CBD-OS 的广泛应用;CBD-CS 不含氧硅键,相对较稳定,但存在 siRNA 释放困难的问题<sup>[47]</sup>。此外,铵盐末端的碳硅烷树形分子表面带有大量正电荷,在递送过程中也可能带来毒性问题。为了降低其毒性,研究人员尝试将铵盐连接的一个甲基用羟甲基替代,发现树形分子表面电荷略微降低,其毒性也随之降低<sup>[48]</sup>;同时还发现利用三甲基磷盐替代铵盐进行修饰后得到的磷盐末端的碳硅烷树形分子具有相对较低的体内毒性,在鱼类胚胎模型中其半数致死量(LD<sub>50</sub>)比其他阳离子树形分子高 10 倍以上<sup>[49]</sup>。

## 6 三嗪类树形分子

三嗪类树形分子是以卤代 1,3,5-三嗪环为分

支单元,利用氨基化合物的氨基和卤素之间的反应,将三嗪环连接起来得到不同代数的树形分子<sup>[50]</sup>。Merkel 等<sup>[51]</sup>研究发现,三嗪类树形分子的中心核结构、末端基团和代数都会影响 siRNA 的递送。其中刚性的 G2 三嗪类树形分子比柔性结构类似物表现出更好的基因沉默效应;在刚性三嗪类树形分子上修饰精氨酸或者短链脂质(图 11)可以促进其内涵体逃逸以及 siRNA 在胞质中释放,从而有效提高了基因沉默效率。Pavan 等<sup>[52]</sup>进一步通过计算机模拟研究了三嗪类树形分子与 siRNA 之间的相互作用,研究人员预期柔性结构的三嗪类树形分子能够利用其结构的灵活性,增加树形分子与 siRNA 的结合,但研究结果表明,柔性结构的三嗪类树形分子反而形成了更紧密的球形构象,弱化了树形分子与 siRNA 的结合。与其他类型的树形分子相比,三嗪类树形分子在 siRNA 递送方面的应用相对较少一些,进一步的研究仍在进行之中。

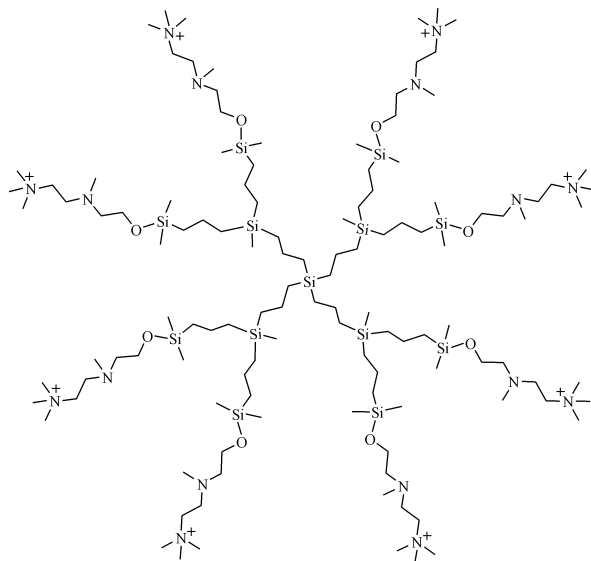


Figure 10 Ammonium-terminating carbosilane dendrimer (CBD)

## 7 两亲类树形分子

在 siRNA 递送中,树形分子的代数与递送效率有着直接关系,较高代数的树形分子具有更好的 siRNA 结合能力,其递送效率也较高。但因空间位阻等因素的影响,高代树形分子的制备难度相对较大,批量化生产困难。为了解决树形分子载体“高代高效但难制备”这一共性问题,研究人员制备具有两亲性的较低代数的树形分子,运用自组装的策略,使其组装形成超分子树形分子组装体,以实现高效的 siRNA 递送。

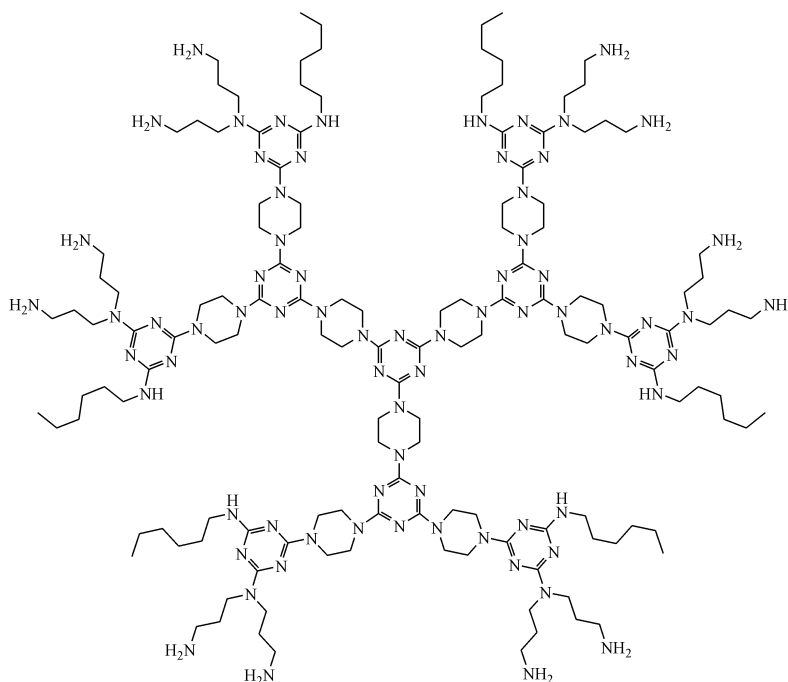


Figure 11 Lipid-modified triazine dendrimer

Yu 等<sup>[53]</sup>结合脂质分子和树形分子载体的优势设计了一系列低代数的两亲性 PAMAM 树形分子,这类树形分子含有疏水性的烷基长链和亲水性的低代 PAMAM 树形结构(图 12-A),这两部分是通过 click 反应连接到一起,在保留树形分子结构明确和独特的多价特性优点的同时,显著降低制备难度;同时,两亲性树形分子自组装形成树形分子纳米胶束以模拟高代球型树形分子,高效地将 siRNA 递送至人源的原代细胞和干细胞等多种类型的细胞中,展现出优异的 siRNA 递送能力。深入的构效关系研究表明此类两亲性树形分子结构中的亲水部分 PAMAM 的代数和疏水部分烷基链的长度对递送效率都有影响<sup>[54]</sup>。疏水链缺失或者以亲水性 PEG 链替代疏水部分所构建的树形分子都不具备两亲性,无法自组装形成胶束递送 siRNA;减少亲水部分的末端胺基数量或者缩短疏水部分的烷基链长度,也无法产生显著的基因沉默效应。其主要原因为 PAMAM 代数过低,表面正电荷基团偏少,则无法与 siRNA 形成有效的静电相互作用;烷基链长度太短,则组装时的疏水相互作用也会减弱,无法与 siRNA 形成稳定的组装体;疏水链过长则会使疏水作用增强,形成的复合物过于致密和稳定,siRNA 无法实现有效的胞内释放,导致其递送效率也较低。在此构效关系的研究基础上,

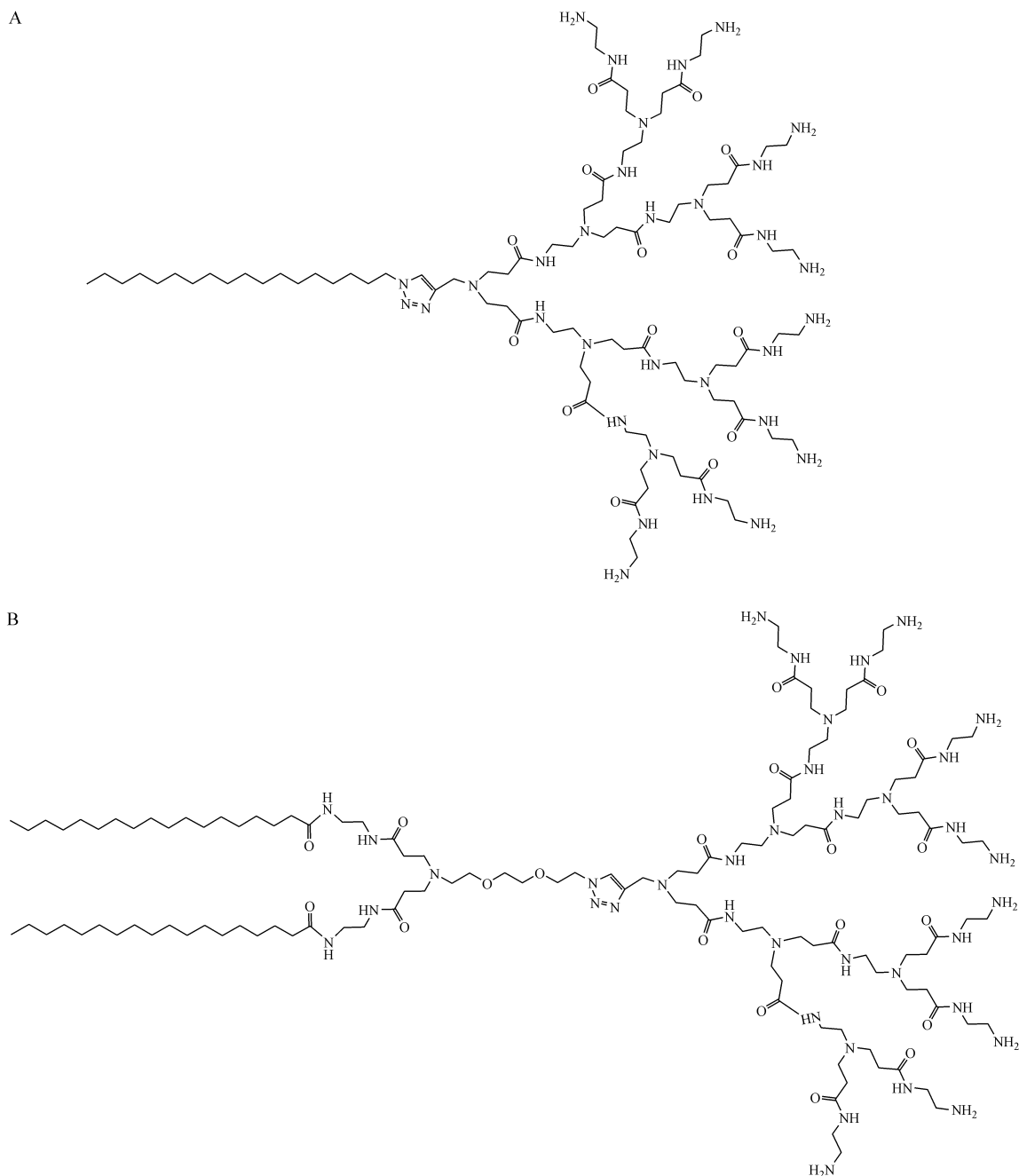
Liu 等<sup>[55]</sup>进一步调整疏水部分烷基链的数目构建了一类含有两条烷基链的两亲性树形分子(图 12-B),这类两亲性树形分子自组装形成纳米囊泡结构,但在与 siRNA 相互作用时能自适应重排形成球形胶束结构。这种从囊泡到胶束结构的转变可以实现末端正电荷基团的最大化暴露,有利于与 siRNA 的静电相互作用,从而更好地结合和保护 siRNA。为了提高两亲性树形分子的递送效率,他们将精氨酸修饰于两亲性树形分子的亲水端以提高细胞对 siRNA/树形分子复合物的摄取,从而显著增强其基因沉默效率<sup>[56]</sup>。为了更进一步增加递送系统的靶向性,Dong 等<sup>[57]</sup>利用双靶向肽 RGDK 对两亲性树形分子递送系统进行修饰,体内实验结果证明使用此靶向递送系统的 siRNA 有效剂量降低了 91.7% (由 3 mg/kg 降低至 0.25 mg/kg)。此外,Liu 等<sup>[58]</sup>还设计了一种含氟 bola 型两亲性树形分子(图 12-C),在分子中引入缩硫醛键,能够响应于肿瘤细胞中高水平活性氧(ROS),实现 siRNA 的按需递送。同时,该分子结构中的氟原子还可以实现氟谱示踪树形分子介导的 siRNA 递送过程。

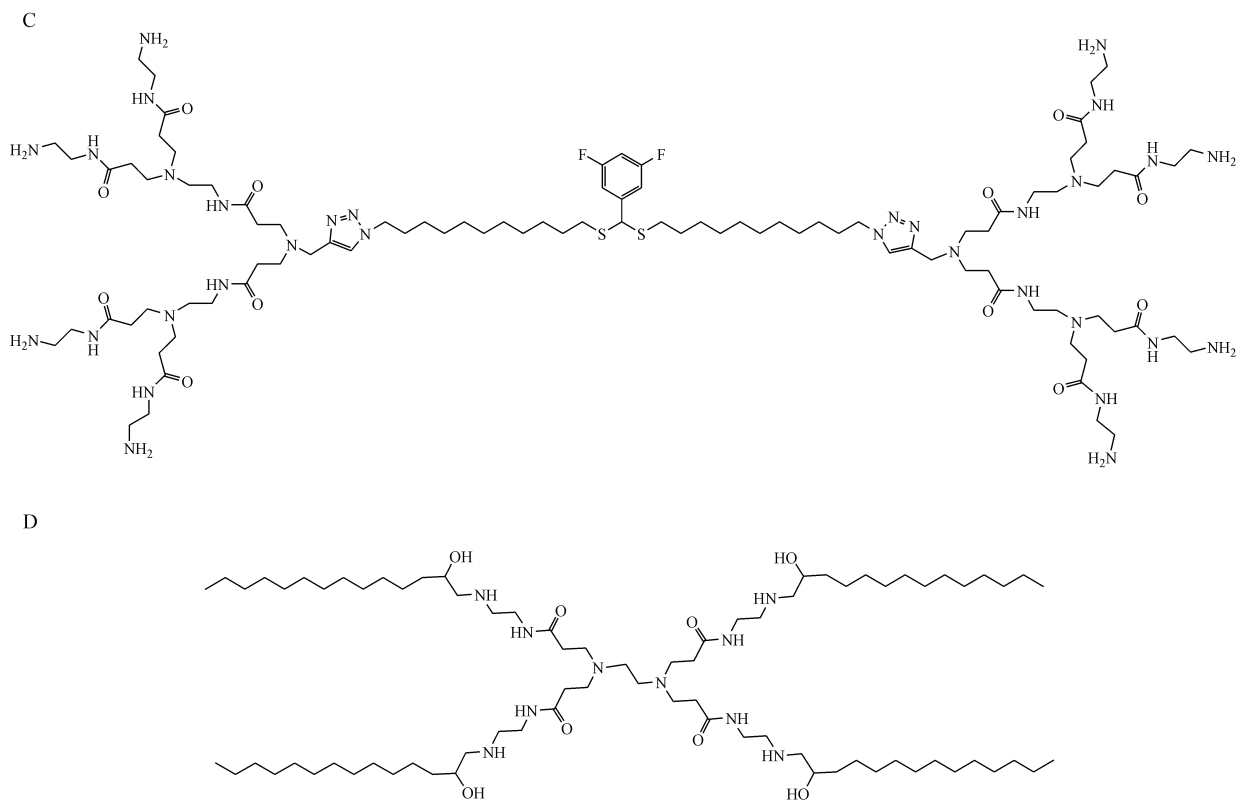
此外,这类两亲性树形分子结构中疏水部分的存在使得这类分子能够用于疏水性药物和基因药物的共递送,实现多种药物协同治疗。Li 等<sup>[59]</sup>建立了肿瘤微环境敏感多肽(TMSP)修饰的两亲性

树形分子(**G0-C14**)递送系统(图 12-D),实现 siRNA 和紫杉醇的共递送。TMSP 由细胞穿透肽和屏蔽肽组成,其中屏蔽肽含有基质金属蛋白酶-2/9(MMP-2/9)敏感的肽段 PVGLIG。TMSP 被 MMP-2/9 活化后暴露细胞穿透肽部分,进一步促进纳米复合物的细胞摄取,该共递送系统在人黑色素瘤中表现出协同治疗的效果。

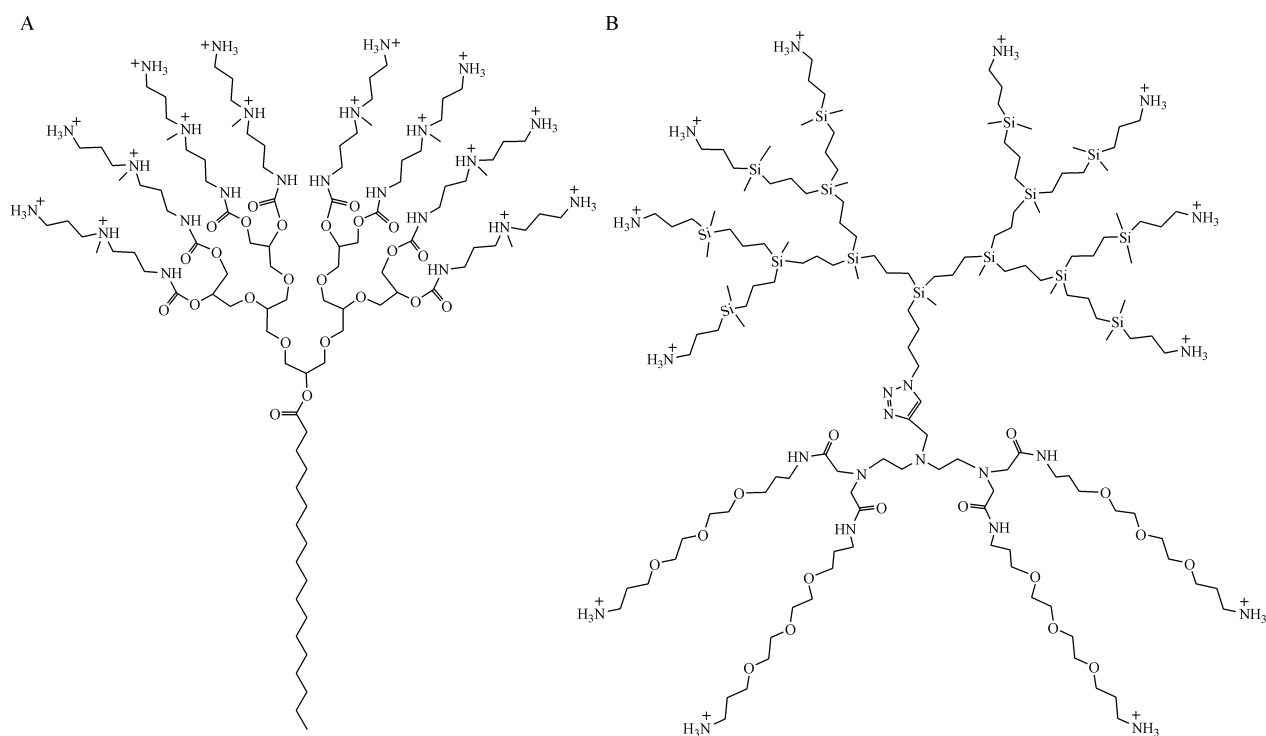
除此之外,其他种类的树形分子如聚甘油类和碳硅烷类也被设计成两亲性的结构用于 siRNA 的递送。研究人员构建了不同代数的聚甘油两亲性

树形分子<sup>[60–61]</sup>,其疏水部分是 C18 疏水烷基链,亲水部分的聚甘油表面修饰了不同数量的甘氨酸或 *N,N*-二-(3-氨基丙基)-*N*-(甲基)胺(DAPMA)以通过静电相互作用结合 siRNA(图 13-A)。进一步研究发现,在疏水部分加入硫辛酸结构使树形分子可以自组装形成生物交联型胶束,在还原条件下交联键断裂实现 siRNA 的进一步释放<sup>[62]</sup>。疏水性碳硅烷和亲水性 PEG 连接也可以形成新型两亲性杂交树形分子(图 13-B),可有效递送 siRNA 至外周血单核细胞用于 HIV 治疗<sup>[63]</sup>。



**Figure 12** Amphiliphic PAMAM dendrimers

A: Amphiliphic PAMAM dendrimer carrying a hydrophobic C18 alkyl chain; B: Amphiliphic PAMAM dendrimer carrying two hydrophobic C18 alkyl chains; C: Bola amphiliphic PAMAM dendrimer; D: G<sub>0</sub>-C14 amphiliphic PAMAM dendrimer

**Figure 13** Amphiliphic polyglycerol dendrimer (A) and amphiliphic carbosilane dendrimer (B)

## 8 结 语

基于 siRNA 的 RNAi 疗法因其特异的基因沉默效应受到广泛关注, 2018 年首款 siRNA 药物 Onpatro® 上市, 标志着 RNAi 疗法从概念走向临床实际应用。然而 siRNA 分子本身不能在体内发挥其基因沉默效应, 需要载体对其进行保护和递送。树形分子作为一种高效的非病毒 siRNA 递送载体, 引起了越来越多的关注。它们的优势在于结构精确可控, 具有独特的多价性等等, 这些特性使其成为理想的 siRNA 递送载体。研究学者们对传统树形分子进行了一系列的结构改造, 以此开发了各种用于 siRNA 递送的多功能树形分子递送平台, 以期待最大限度地提高递送的有效性和特异性, 并将毒性降至最低。在上述各类树形分子递送平台中, 聚丙烯亚胺类、碳硅烷类、三嗪类树形分子由于分子本身的毒性或生物相容性不佳等原因使它们在 siRNA 递送中的应用相对较少; 而聚酰胺-胺类、肽类和聚甘油类树形分子具有相对较好的生物相容性, 其中聚酰胺-胺类树形分子的研究最为深入, 其 siRNA 递送效果也最为理想。这主要是因为一方面在生理条件下 PAMAM 树形分子中带正电的胺基基团可与带负电的 siRNA 通过静电相互作用结合并透过细胞膜将其输送到目标细胞内, 另一方面 PAMAM 树形分子内部的叔胺基团通过“质子海绵”效应促进 siRNA/树形分子纳米粒的内涵体逃逸和 siRNA 的有效释放; 反观传统的肽类和聚甘油类树形分子, 因无法同时具备结合 siRNA 和促进其内涵体逃逸及 siRNA 释放的结构, 所以在一定程度上限制了这两类树形分子在 siRNA 递送中的应用。虽然目前树形分子进行 siRNA 递送的研究已经取得了一些令人鼓舞的实验结果, 但在推进其临床转化的过程中仍存在一些亟待解决的问题: 例如如何实现符合药品生产质量管理规范(GMP)要求的树形分子的工业化生产, 以及缺乏树形分子体内代谢过程和安全性的认知研究等。相信在化学、生物、物理、医学等各领域专家的协同合作下, 将会有越来越多的树形分子被开发和研究作为 siRNA 递送载体, 其在临床应用中也将日益广泛。

## 参 考 文 献

[1] Fire A, Xu S, Montgomery MK, et al. Potent and specific genetic

interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans* [J]. *Nature*, 1998, **391**(6669): 806–811.

[2] Hannon GJ. RNA interference [J]. *Nature*, 2002, **418**(6894): 244–251.

[3] Setten RL, Rossi JJ, Han SP. The current state and future directions of RNAi-based therapeutics [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2019. DOI:10.1038/s41573-019-0017-4.

[4] Yin H, Kanasty RL, Eltoukhy AA, et al. Non-viral vectors for gene-based therapy [J]. *Nat Rev Genet*, 2014, **15**(8): 541–555.

[5] Mintzer MA, Grinstaff MW. Biomedical applications of dendrimers; a tutorial [J]. *Chem Soc Rev*, 2011, **40**(1): 173–190.

[6] Tomalia DA. Birth of a new macromolecular architecture: dendrimers as quantized building blocks for nanoscale synthetic polymer chemistry [J]. *Prog Polym Sci*, 2005, **30**(3/4): 294–324.

[7] Biswas S, Torchilin VP. Dendrimers for siRNA Delivery [J]. *Pharmaceuticals*, 2013, **6**(2): 161–183.

[8] Tomalia DA, Baker H, Dewald J, et al. A new class of polymers: starburst-dendritic macromolecules [J]. *Polym J*, 1985, **17**(1): 117–132.

[9] Liu X, Rocchi P, Peng L. Dendrimers as non-viral vectors for siRNA delivery [J]. *New J Chem*, 2012, **36**: 256–263.

[10] Tang MX, Redemann CT, Jr SF. *In vitro* gene delivery by degraded polyamidoamine dendrimers [J]. *Bioconjug Chem*, 1996, **7**(6): 703–714.

[11] Kang H, DeLong R, Fisher MH, et al. Tat-conjugated PAMAM dendrimers as delivery agents for antisense and siRNA oligonucleotides [J]. *Pharm Res*, 2005, **22**(12): 2099–2106.

[12] Zhou J, Wu J, Hafdi N, et al. PAMAM dendrimers for efficient siRNA delivery and potent gene silencing [J]. *Chem Commun*, 2006, **22**: 2362–2364.

[13] Liu X, Rocchi P, Qu F, et al. PAMAM dendrimers mediate siRNA delivery to target Hsp27 and produce potent antiproliferative effects on prostate cancer cells [J]. *ChemMedChem*, 2009, **4**(8): 1302–1310.

[14] Zhou J, Neff CP, Liu X, et al. Systemic administration of combinatorial dsRNAs via nanoparticles efficiently suppresses HIV-1 infection in humanized mice [J]. *Mol Ther*, 2011, **19**(12): 2228–2238.

[15] Ma J, Kala S, Yung S, et al. Blocking stemness and metastatic properties of ovarian cancer cells by targeting p70 (S6K) with dendrimer nanovector-based siRNA delivery [J]. *Mol Ther*, 2018, **26**(1): 70–83.

[16] Reebye V, Saetrom P, Mintz PJ, et al. Novel RNA oligonucleotide improves liver function and inhibits liver carcinogenesis *in vivo* [J]. *Hepatology*, 2014, **59**(1): 216–227.

[17] Cui Q, Yang S, Ye P, et al. Downregulation of TLX induces TET3 expression and inhibits glioblastoma stem cell self-renewal and tumorigenesis [J]. *Nat Commun*, 2016, **7**: 10637–10652.

[18] Tang Y, Li YB, Wang B, et al. Efficient *in vitro* siRNA delivery and intramuscular gene silencing using PEG-modified PAMAM

- dendrimers[J]. *Mol Pharmaceutics*, 2012, **9**(6):1812–1821.
- [19] Ma Y, Sha M, Cheng S, *et al.* Construction of hyaluronic tetrasaccharide clusters modified polyamidoamine siRNA delivery system [J]. *Nanomaterials*, 2018, **8**(6):433–446.
- [20] Liu X, Liu C, Chen C, *et al.* Targeted delivery of dicer-substrate siRNAs using a dual targeting peptide decorated dendrimer delivery system [J]. *Nanomedicine*, 2014, **10**(8):1627–1636.
- [21] Liu C, Liu X, Rocchi P, *et al.* Arginine-terminated generation 4 PAMAM dendrimer as an effective nanovector for functional siRNA delivery *in vitro* and *in vivo* [J]. *Bioconjug Chem*, 2014, **25**(3):521–532.
- [22] Chang H, Zhang YM, Li L, *et al.* Efficient delivery of small interfering RNA into cancer cells using dodecylated dendrimers [J]. *J Mater Chem B*, 2015, **3**:8197–8202.
- [23] Biswas S, Deshpande PP, Navarro G, *et al.* Lipid modified triblock PAMAM-based nanocarriers for siRNA drug co-delivery [J]. *Biomaterials*, 2013, **34**(4):1289–1301.
- [24] He B, Wang Y, Shao N, *et al.* Polymers modified with double-tailed fluorinated compounds for efficient DNA and siRNA delivery [J]. *Acta Biomater*, 2015, **22**:111–119.
- [25] Wang M, Cheng Y. Structure-activity relationships of fluorinated dendrimers in DNA and siRNA delivery [J]. *Acta Biomater*, 2016, **46**:204–210.
- [26] Buhleier E, Wehner W, Voegtle F. “Cascade”- and “nonskid-chain-like” syntheses of molecular cavity topologies [J]. *Chem Informationsdienst*, 1978, **9**(25):155–158.
- [27] de Brabander-van den Berg E, Meijer E. Poly(propylene imine) dendrimers; large-scale synthesis by heterogeneously catalyzed hydrogenations [J]. *Angew Chem Int Ed*, 1993, **32**(9):1308–1311.
- [28] Wörner C, Mülhaupt R. Polynitrile- and polyamin-functional poly(trimethylene imine) dendrimers [J]. *Angew Chem Int Ed*, 1993, **32**(9):1306–1308.
- [29] Tietze S, Schau I, Michen S, *et al.* A poly(propyleneimine) dendrimer-based polyplex-system for single-chain antibody-mediated targeted delivery and cellular uptake of siRNA [J]. *Small*, 2017, **13**(27):1700072–1700088.
- [30] Schumann C, Chan S, Khalimonchuk O, *et al.* Mechanistic nanotherapeutic approach based on siRNA-mediated DJ-1 protein suppression for platinum-resistant ovarian cancer [J]. *Mol Pharmaceutics*, 2016, **13**(6):2070–2083.
- [31] Taratula O, Garbuzenko OB, Kirkpatrick P, *et al.* Surface-engineered targeted PPI dendrimer for efficient intracellular and intratumoral siRNA delivery [J]. *J Control Release*, 2009, **140**(3):284–293.
- [32] Omid Y, Hollins AJ, Drayton RM, *et al.* Polypropyleneimine dendrimer-induced gene expression changes; the effect of complexation with DNA, dendrimer generation and cell type [J]. *J Drug Target*, 2005, **13**(7):431–443.
- [33] Santos SS, Gonzaga RV, Silva JV, *et al.* Peptide dendrimers: drug/gene delivery and other approaches [J]. *Can J Chem*, 2017, **95**(9):907–916.
- [34] Tam JP, Spetzler JC. Synthesis and application of peptide dendrimers as protein mimetics [J]. *Curr Protoc Protein Sci*, 2001. doi:10.1002/0471140864.ps1805S17.
- [35] Inoue Y, Kurihara R, Tsuchida A, *et al.* Efficient delivery of siRNA using dendritic poly(L-lysine) for loss-of-function analysis [J]. *J Control Release*, 2008, **126**(1):59–66.
- [36] Baigude H, Su J, McCarroll J, *et al.* *In vivo* delivery of RNAi by reducible interfering nanoparticles (iNOPs) [J]. *ACS Med Chem Lett*, 2013, **4**(8):720–723.
- [37] Cai X, Zhu H, Zhang Y, *et al.* Highly efficient and safe delivery of VEGF siRNA by bioreducible fluorinated peptide dendrimers for cancer therapy [J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2017, **9**(11):9402–9415.
- [38] Haag R, Sunder A, Stumpe JF. An approach to glycerol dendrimers and pseudo-dendritic polyglycerols [J]. *J Am Chem Soc*, 2000, **122**(12):2954–2955.
- [39] Fischer W, Calderon M, Schulz A, *et al.* Dendritic polyglycerols with oligoamine shells show low toxicity and high siRNA transfection efficiency *in vitro* [J]. *Bioconjug Chem*, 2010, **21**(10):1744–1752.
- [40] Mehrabadi FS, Hirsch O, Zeisig R, *et al.* Structure-activity relationship study of dendritic polyglycerolamines for efficient siRNA transfection [J]. *RSC Adv*, 2015, **5**:78760–78770.
- [41] Zeng H, Schlesener C, Cromwell O, *et al.* Amino acid-functionalized dendritic polyglycerol for safe and effective siRNA delivery [J]. *Biomacromolecules*, 2015, **16**(12):3869–3877.
- [42] Wen Y, Guo Z, Du Z, *et al.* Serum tolerance and endosomal escape capacity of histidine-modified pDNA-loaded complexes based on polyamidoamine dendrimer derivatives [J]. *Biomaterials*, 2012, **33**(32):8111–8121.
- [43] Mehrabadi FS, Zeng HX, Johnson M, *et al.* Multivalent dendritic polyglycerolamine with arginine and histidine end groups for efficient siRNA transfection [J]. *Beilstein J Org Chem*, 2015, **11**:763–772.
- [44] Krska SW, Seyferth D. Synthesis of water-soluble carbosilane dendrimers [J]. *J Am Chem Soc*, 1998, **120**:3604–3612.
- [45] Weber N, Ortega P, Clemente MI, *et al.* Characterization of carbosilane dendrimers as effective carriers of siRNA to HIV-infected lymphocytes [J]. *J Control Release*, 2008, **132**(1):55–64.
- [46] Pedziwiatr-Werbicka E, Fuentes E, Dzmitruk V, *et al.* Novel ‘Si-C’ carbosilane dendrimers as carriers for anti-HIV nucleic acids: studies on complexation and interaction with blood cells [J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2013, **109**:183–189.
- [47] de Las Cuevas N, Garcia-Gallego S, Rasines B, *et al.* *In vitro* studies of water-stable cationic carbosilane dendrimers as delivery vehicles for gene therapy against HIV and hepatocarcinoma [J]. *Curr Med Chem*, 2012, **19**(29):5052–5061.
- [48] Fuentes-Paniagua E, Hernandez-Ros JM, Sanchez-Milla M, *et al.*

- Carbosilane cationic dendrimers synthesized by thiol-ene click chemistry and their use as antibacterial agents[J]. *RSC Adv*, 2014, **4**:1256–1265.
- [49] Herma R, Wrobel D, Liegertova M, et al. Carbosilane dendrimers with phosphonium terminal groups are low toxic non-viral transfection vectors for siRNA cell delivery[J]. *Int J Pharm*, 2019, **562**:51–65.
- [50] Chen HT, Neerman MF, Parrish AR, et al. Cytotoxicity, hemolysis, and acute *in vivo* toxicity of dendrimers based on melamine, candidate vehicles for drug delivery[J]. *J Am Chem Soc*, 2004, **126**(32):10044–10048.
- [51] Merkel OM, Mintzer MA, Librizzi D, et al. Triazine dendrimers as nonviral vectors for *in vitro* and *in vivo* RNAi: the effects of peripheral groups and core structure on biological activity[J]. *Mol Pharmaceutics*, 2010, **7**(4):969–983.
- [52] Pavan GM, Mintzer MA, Simanek EE, et al. Computational insights into the interactions between DNA and siRNA with “rigid” and “flexible” triazine dendrimers[J]. *Biomacromolecules*, 2010, **11**(3):721–730.
- [53] Yu T, Liu X, Bolcato-Bellemin AL, et al. An amphiphilic dendrimer for effective delivery of small interfering RNA and gene silencing *in vitro* and *in vivo*[J]. *Angew Chem Int Ed*, 2012, **51**(34):8478–8484.
- [54] Chen C, Posocco P, Liu X, et al. Mastering dendrimer self-assembly for efficient siRNA delivery: from conceptual design to *in vivo* efficient gene silencing[J]. *Small*, 2016, **12**(27):3667–3676.
- [55] Liu X, Zhou J, Yu T, et al. Adaptive amphiphilic dendrimer-based nanoassemblies as robust and versatile siRNA delivery systems[J]. *Angew Chem Int Ed*, 2014, **53**(44):11822–11827.
- [56] Liu X, Liu C, Zhou J, et al. Promoting siRNA delivery via enhanced cellular uptake using an arginine-decorated amphiphilic dendrimer[J]. *Nanoscale*, 2015, **7**(9):3867–3875.
- [57] Dong Y, Yu T, Ding L, et al. A dual targeting dendrimer-mediated siRNA delivery system for effective gene silencing in cancer therapy[J]. *J Am Chem Soc*, 2018, **140**(47):16264–16274.
- [58] Liu X, Wang Y, Chen C, et al. A fluorinated bola-amphiphilic dendrimer for on-demand delivery of siRNA, via specific response to reactive oxygen species[J]. *Adv Funct Mater*, 2016, **26**(47):8594–8603.
- [59] Li X, Sun AN, Liu YJ, et al. Amphiphilic dendrimer engineered nanocarrier systems for co-delivery of siRNA and paclitaxel to matrix metalloproteinase-rich tumors for synergistic therapy[J]. *Npg Asia Mater*, 2018, **10**:238–254.
- [60] Malhotra S, Bauer H, Tschiche A, et al. Glycine-terminated dendritic amphiphiles for nonviral gene delivery[J]. *Biomacromolecules*, 2012, **13**(10):3087–3098.
- [61] Tschiche A, Staedtler AM, Malhotra S, et al. Polyglycerol-based amphiphilic dendrons as potential siRNA carriers for *in vivo* applications[J]. *J Mater Chem B*, 2014, **2**:2153–2167.
- [62] Tschiche A, Thota BN, Neumann F, et al. Crosslinked redox-responsive micelles based on lipoic acid-derived amphiphiles for enhanced siRNA delivery[J]. *Macromol Biosci*, 2016, **16**(6):811–823.
- [63] Sanchez-Nieves J, Fransen P, Pulido D, et al. Amphiphilic cationic carbosilane-PEG dendrimers: synthesis and applications in gene therapy[J]. *Eur J Med Chem*, 2014, **76**:43–52.

## · 本刊讯 ·

### 《中国药科大学学报》再次入选 中国科学引文数据库(CSCD)核心库

据中国科学院文献情报中心的最新消息,我校主办的学术期刊《中国药科大学学报》再次被中国科学引文(CSCD)数据库(2019–2020)收录为来源期刊,并进入核心库(全国药学期刊仅9种入选核心库)。

中国科学引文数据库(Chinese Science Citation Database,简称CSCD)由中国科学院文献情报中心与中国学术期刊(光盘版)电子杂志社联合主办,并由清华同方光盘电子出版社正式出版。通过清华大学和中国科学院资源与技术的优势结合和多年的数据积累,CSCD已发展成为我国规模最大、最具权威性的科学引文索引数据库,为中国科学文献计量和引文分析研究提供了强大工具。

经过中国科学引文数据库(CSCD)定量遴选、专家定性评估,2019–2020年度中国科学引文数据库收录来源期刊1230种,其中中国出版的英文期刊229种,中文期刊1001种。CSCD数据库来源期刊分为核心库和扩展库两部分,其中核心库908种(备注栏中标记C);扩展库322种(备注栏中标记E)。

(本刊讯)