

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2022.03.041

· 专论与综述 ·

聚苹果酸及其衍生物的制备与应用研究进展 *

马争发 张丽杰[△] 余甜甜 张 涓 谭维群

(重庆理工大学药学与生物工程学院 重庆 401320)

摘要:天然和合成聚合物因优良的特性引起了越来越多研究者的兴趣,并已被广泛用于人类的日常生活中。聚苹果酸(Polymalic acid, PMLA)一种天然的高分子聚酯材料,具有良好的生物相容性和完全生物降解性,其衍生物同样具有优异的生物学性能,被广泛应用于众多领域中。本文就聚苹果酸及其衍生物的结构、性质和合成方法进行了概述,并全面总结了其在制药和其他领域的应用研究现状,最后对未来发展进行了展望。

关键词:聚苹果酸;高分子聚酯;衍生物;生物相容性;完全生物降解性

中图分类号:TS102.3 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2022)03-592-09

Progress in the Preparation and Application of Polymalic Acid
and Its Derivatives*MA Zheng-fa, ZHANG Li-jie[△], YU Tian-tian, ZHANG Mei, TAN Wei-qun

(College of pharmacy and Bioengineering, Chongqing University of Science and Technology, Chongqing, 401320, China)

ABSTRACT: Natural and synthetic polymers have attracted interests of increasing researchers due to their excellent properties, and also have been widely used in human daily life. Polymalic acid (PMLA) is a natural polymer polyester material with a good biocompatibility and complete biodegradability. Its derivatives also have excellent biological properties and hence are widely used in many fields. The structure, performance and synthetic methods of PMLA and its derivatives have been overviewed in this article. Meanwhile the application research status in pharmaceutical and other fields was comprehensively summarized. Finally the future development direction was prospected.

Key words: Polymalic acid; Polymer polyester; Derivatives; Biocompatibility; Complete biodegradability

Chinese Library Classification(CLC): TS102.3 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2022)03-592-09

前言

在各种生物可降解聚合物中,脂肪族聚酯处于领先地位,因为水解或酶解链断裂产生 ω -羟基酸,在大多数情况下, ω -羟基酸最终被代谢,无有害作用^[1]。这种可生物降解的脂肪族聚酯目前常作为生物材料应用,是性能优良以及环境友好的生物医用材料。在脂肪族聚酯中有着一种性能优良的水溶性聚酯-聚苹果酸,在药物载体、生物医用材料、食品和化妆品等领域具广泛的应用前景^[2,3]。目前,学者们一直致力于提高聚苹果酸发酵产量和降低成本,如:探究聚苹果酸的微生物合成机制,优化聚苹果酸的合成工艺,培育优良菌株;同时也在扩展聚苹果酸的应用领域,由最主要的药物载体材料领域到生物材料、化妆品、环境修复和食品添加剂等领域。本文第一部分就聚苹果酸及其衍生物的结构、性质和合成方法进行了简要的概述,第二部分全面总结了其在药物递送和其他领域的应用研究现状,以期对聚苹果酸及其衍生物未来的研究发展提供一定的参考。

1 聚苹果酸及其衍生物的结构及其性能

1.1 聚苹果酸及其衍生物的结构

1969年,微生物学家 Shimada 和 Matsushima 等^[4]在研究一种环状青霉素(Penicillium cyclopium)时推测其中有苹果酸单元的聚合物存在,同时发现葡萄和苹果中含有的 PMLA 是一种酸性蛋白酶抑制剂。1979年,Vert 等^[5]首次通过阴离子开环聚合法合成了聚苹果酸。1989年,Fischer 等^[6]从微生物多头绒泡菌 Physarum polycephalum 细胞中分离出聚苹果酸,并发现它是同源 DNA 聚合酶抑制剂。此后,科学家逐渐开启了聚苹果酸及其衍生物的特性及应用研究。

聚苹果酸是唯一一种含酯键又能快速水解的高分子聚合物,是一种性能优良的生物聚酯材料。其结构上含有很多化学性能活泼的羧基,正是这些游离的羧基赋予其良好的修饰性,其结构有3种类型: α -型、 β -型和 γ -型^[7],但在生物体内只存在 β -型 PMLA。PMLA 衍生物与 PMLA 有着相似的结构,但其

* 基金项目:国家自然科学基金项目(41502328)

作者简介:马争发(1993-),硕士研究生,研究方向:生物医用材料,E-mail: 2946379380@qq.com

[△] 通讯作者:张丽杰,副教授,研究方向:环境微生物与生化工程,E-mail: zhljtt@cqut.edu.cn

(收稿日期:2021-12-28 接受日期:2022-01-23)

相对分子质量可以更大,发挥的作用更强,PMLA 衍生物分子结构类型较多^[8],聚苹果酸及其衍生物结构如图 1 所示。

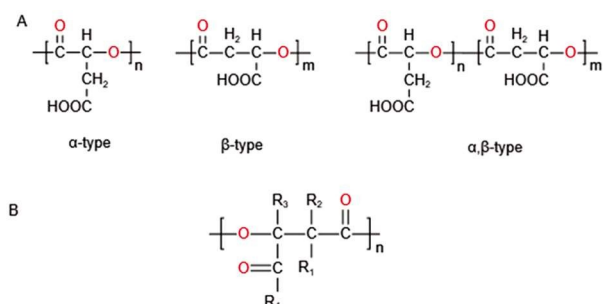


图 1 聚苹果酸及其衍生物结构(图 A 为聚苹果酸,图 B 为聚苹果酸衍生物)

Fig.1 Structure of poly malic acid and its derivatives (Fig. A shows poly malic acid, Fig. B shows poly malic acid derivatives)

1.2 聚苹果酸及其衍生物的性能

PMLA 具有许多优良特性,包括良好的生物相容性、水溶性、无毒性、非免疫原性、血液稳定性和细胞易摄取性等^[9-12]。PMLA 浓度可显著影响血液稳定性,当 0.04 mg≤ PMLA 浓度≤ 1 mg 时,可延长凝血时间和凝血活酶活化时间,浓度大于 1 mg,该特性消失^[13]。此外,可完全生物降解和易修饰性是 PMLA 受到重点关注的原因。

(1) 完全生物降解性

脂肪族聚酯类生物可降解材料种类繁多,例如:聚乙交酯(PGA)缝合线在体内 4 个月左右可完全被吸收^[14];聚乙交酯-丙交酯(PLGA)中丙交酯(LA)/乙交酯(GA)的共聚比为 50/50 时,降解最快,1-2 个月内即可完全降解^[15];聚己内酯(PCL)在体内的降解时间一般为 2-4 年,并且其降解时间随着分子量的增加而增长,这是因为其分子中含有较长的亚甲基链段^[16]。与上述脂肪族聚酯相比,聚苹果酸具有更优异的降解性能。PMLA 是一种降解性极好的酸性聚合物,可进行自催化和酸催化水解,自催化速率慢于酸催化^[7]。PMLA 在生物体内的降解是过程性的,从 PMLA 的酯端开始先降解为低聚物而后降解成苹果酸单体^[17],苹果酸单体参与生物体内的三羧酸代谢循环^[18],并最终降解为二氧化碳和水。在整过降解过程中提高温度或者改变水解液的碱酸度,都会加快降解^[19],如在 37℃ 条件下,PMLA 在磷酸盐缓冲溶液(0.13 mol/L, pH=7.4)中水解的半衰期为 5 h^[20];而在 H₂SO₄(0.1 mol/L)中水解半衰期为 2.5 h,水解降解率高达 97%^[7]。在聚苹果酸衍生物中,由于自身酸催化和扩散反应的影响,降解还会通过单体间酯键的水解来进行,从而发生非均匀降解^[21,22]。PMLA 还能作为微生物的供能物质,如真菌^[23]、黏菌^[24]、细菌和嗜酸丛毛单胞菌^[25]等微生物细胞中的水解酶(解聚酶)把 PMLA 在 6-8 小时内全部降解为 L-苹果酸,并吸收利用^[14]。

(2) 易修饰性

聚苹果酸具有很多活泼的羧基基团,很容易引入多种具有功能性化学基团、抗体、特异性蛋白质、靶分子和特殊药物等^[17],从而制备出具有特殊功能的产物^[26-28],例如聚苹果酸可与聚乙烯亚胺、聚 L-赖氨酸、组蛋白等^[29]结合形成具有高亲和力的复合物;可以与细胞穿膜肽(TAT)结合形成容易穿透细胞的

复合物,与聚乙二醇结合形成具 pH 敏感性的大分子药物前体。聚苹果酸分子链上游离的羧基在水溶液中易电离,形成一种高度水溶性的聚阴离子,在强静电作用下容易与多价阳离子络合。

聚 β-苹果酸苄基酯(PMLABz)是化学合成聚苹果酸反应的一种中间产物,其本身亦是一种聚苹果酸的衍生物,其分子完全氢解可以制备聚苹果酸;部分氢解可以制备苹果酸-α-苄基酯的共聚物 PMLAxHyR(100-y),这也是一种聚苹果酸衍生物,苄基酯共聚物衍生物由疏水性苄基取代基修饰的一些羧基基团引起的毒性和物理化学性质改变强烈地依赖于聚合物链上取代基的分布^[30]。PMLAxHyR(100-y)的水溶性和降解速度可随着其分子上亲水基团和疏水基团的变化而改变^[31],亲水基团所占比例越高,水溶性和降解越好。聚苹果酸酯大分子链上的酯基具有不饱和双键,利用双键的环氧化反应进行改性可合成一种新型的聚苹果酸衍生物^[32]。有的聚苹果酸衍生物可通过改变其组成调节共聚物的形态、水溶性和热稳定性;有的聚苹果酸衍生物具备生物活性,可吸附肝素等生物活性物质^[27,33]。

PMLA 及其衍生物因具备优良的特性,如缓控释能力、血流稳定性和细胞易吸收性、亲-疏水可调控性等,被认为是一种极具潜力的生物医药载体基质^[17,34-36],但目前的 PMLA 应用研究主要集中在药物递送系统上^[37-39],而在医用材料等其它领域的研究极少。

2 聚苹果酸及其衍生物的合成方法

2.1 聚苹果酸的合成方法

聚苹果酸是唯一一种含酯键又能快速水解的高分子共聚物,其制备方法有化学合成法和微生物发酵法。化学合成法又分为直接聚合法和开环聚合法,微生物发酵法中用于发酵合成 PMLA 的菌株主要有产多孢菌、出芽短梗霉和氧化黑酵母。目前,PMLA 的微生物发酵法是研究的热点,研究者们致力于将 PMLA 的微生物发酵法应用到实际生活中,但一直没有达到进行工业化生产的要求,化学合成法早已进行了工业化生产,故现在对其研究的几乎没有。

2.1.1 化学合成法

(1) 直接聚合法

聚苹果酸的直接聚合法就是苹果酸单体在真空、催化剂的条件下脱水得到聚苹果酸的方法。Otani 等^[40]首次采用直接聚合法制备出重均相对分子量为 1900 的 α,β-PMLA。Kajiyama 等^[41]改进了直接聚合法合成聚苹果酸的工艺,探索了合成条件(溶剂、催化剂、真空度)对产率的影响,得到一个最优的合成工艺:苹果酸状态为熔融状,催化剂为氯化亚锡、锡粉、氧化锡或乙酸锡,温度为 110-140℃,真空度为中度含 [N₂, 1 mmHg(1 mmHg=133.3Pa)],在此工艺下合成的 PMLA 重均相对分子量提高到 5300。直接聚合法操作简单,成本低廉,但合成的 PMLA 分子量低,副产物多,催化剂还有一定的毒性,这些限制了它的工业应用。

(2) 开环聚合法

直接聚合法尽管取得了很大进展,但由于苹果酸的三个功能性单元,高分子量的线性 PMLA 不能通过直接聚合获得^[41]。随后,通过使用二环己基碳二亚胺(DCC)作为偶联剂,尝试了

单苹果酸苄基酯的逐步增长聚合;但也只获得了低聚物^[42]。正是 β -取代的 β -内酯的成功合成,如1979年的外消旋苄基 β -苹果酸内酯(PMLABz),通过开环聚合打开了高分子量PMLA的大门。

1979年,VERT等^[9]最先使用阴离子开环聚合以溴丁二酸为起始物制备出聚苹果酸,研究者们以此为基础,对开环聚合合法合成聚苹果酸的合成工艺进行了大量的优化和创新。目前,还有两种单体可以通过开环聚合合法合成聚苹果酸,分别是:天冬氨酸^[43]和苹果酸^[44]。张雨等^[45]以L-天冬氨酸和L-苹果酸为原料,合成单体 β -苄氧羰基- β -丙内酯,再通过阴离子开环聚合制备PMLABz,完全氢化制备出PMLA,对制备工艺进行了优化,中间体 β -苄氧羰基- β -丙内酯的终产率与其他文献报道的相比提高7倍,PMLA的产率也显著提高。开环聚合合法制备的PMLA分子量大,纯度高,但制备方法繁琐,制备成本高。

(3)其它化学合成方法

以乙烯酮和烷基乙醛酸为原料,溶解在二氯甲烷中,三乙胺作催化剂,在干燥N₂的密闭环境条件下,环加成也可以形成环状的苹果酸内酯烷基酯,而后得到产物 β -PMLA^[12,46-48]。

2.1.2 微生物发酵法 聚 β -L-苹果酸(β -PMLA)被发现后首先是通过化学方法合成,随后被Fischer等^[6]发现可以从多头绒泡菌*Physarum polycephalum*细胞中分离出来。后来学者们还发现芽短梗霉和氧化黑酵母(*Aureobasidium* sp)可以合成聚苹果酸,并对聚苹果酸合成菌株的筛选和发酵工艺优化做了大量的研究。通过微生物发酵法可制备出的聚苹果酸分子量达200 ku-760 ku,而化学合成的分子量最多为174ku。微生物发酵法反应条件温和,制备的PMLA生物相容性好,但发酵法的产量低并没有进行工业化生产。目前出芽短梗菌发酵合成聚苹果酸

的最高产率为128.3 g/L^[49],远高于黏菌,发酵法产生的PMLA产物中还含有鲁兰多糖、淀粉酶、木糖醇脱氢酶、抗菌素等副产物,需要进一步地分离纯化才能使用。

Feng等^[50]在短梗霉中发现了T-DNA突变的菌株,以木糖母液为发酵底物发酵生产PMLA,研究发现,与未突变的菌株相比,突变菌株的产率提高了12.9%。章雨卉^[51],陈曦^[52],刘滨^[53],李睿颖^[54]等学者都以出芽短梗霉为研究对象,对聚苹果酸的发酵合成工艺进行了深入的研究,研究出最佳的发酵工艺条件,使PMLA的生产强度达到2.65 g/(L·h)。PMLA的产率虽有了一定的提高却依旧很低,但生长周期较长,分离纯化工艺复杂,这些阻碍了微生物发酵合成聚苹果酸的工业化发展。

聚苹果酸在出微生物中的合成途径和调节机制已被阐明。Liu等^[55]研究发现在出芽短梗霉发酵合成PMLA的过程中异柠檬酸裂解酶和苹果酸合成酶参与了,认为PMLA的合成与柠檬酸循环有关。Lee等^[56]采用¹³C标记葡萄糖和CaCO₃,对黏菌中的PMLA合成途径和调节机制进行研究,研究结果表明用于丙二醛生产的L-苹果酸是通过丙酮酸羧基化和在CaCO₃存在下还原草酰乙酸或通过氧化三羧酸(TCA)循环在没有CaCO₃的情况下合成的,这与出芽短梗霉合成聚苹果酸的途径相似。刘双江^[57]又研究了出芽短梗霉菌株发酵合成聚苹果酸的过程,研究发现聚苹果酸的合成分为三个阶段:第一阶段发酵液的pH上升到最高点,菌种缓慢增长;第二阶段pH迅速下降,大量聚苹果酸合成;第三阶段聚苹果酸合成减慢,pH趋于稳定。同时在20 L发酵罐进行了放大试验,扩大发酵规模后聚苹果酸的产量由6.9 g/L提高到8.0g/L,研究表明扩大发酵规模有助于提高聚苹果酸的产量。

聚苹果酸有着2种合成方法,每种方法都有自己优缺点,其比较如下表1所示。

表1 PMLA合成方法的比较
Table 1 Comparison of synthesis methods of PML

	化学合成法		微生物发酵法
	直接聚合	开环聚合	
优点	步骤简单	分子量较高(最高174ku)	反应条件温和
	产率高	合成途径多	成本低,无毒性
	易于提纯和分离	合成条件低	分子量高(200ku-760ku)
缺点	分子量低	反应过程繁琐	副产物多
	催化剂有毒	成本高	产率低
	工艺条件要求高	副产物多,难分离	分离纯化困难

2.2 聚苹果酸衍生物的合成方法

聚苹果酸苄基酯(PMLABz)是开环聚合合法合成聚苹果酸反应的一种中间产物,其本身亦是一种聚苹果酸的衍生物,因而聚苹果酸的开环聚合合法也是一种聚苹果酸衍生物的合成方法。也可以通过对聚苹果酸改性和苹果酸单体、苹果酸内酯的共价聚合来制备聚苹果酸衍生物,具体的制备方法归纳如下所示:

2.2.1 化学改性

(1)基于游离羧基的改性

聚苹果酸分子上悬挂有很多游离的羧基,应用这些具有反

应活性的羧基基团,与其它功能性分子反应,制备聚苹果酸衍生物。Portilla和García等^[58]以重氮甲烷处理聚(β ,L-苹果酸)制备了不同程度甲基化的微生物聚(β ,L-苹果酸)甲酯,聚(β ,L-苹果酸)甲酯熔融性较好,并其水解速度可通过甲基化程度进行调控。

(2)部分氢化

PMLABz大分子的部分氢化也可以制备苹果酸- α -苄基酯的共聚物PMLABc(100-x)Hx。张雨等^[45]以L-天冬氨酸和L-苹果酸为原料,合成单体 β -苄氧羰基- β -丙内酯,再通过阴

离子开环聚合制备 PMLABz, 将 PMLABz 部分氢化制备出 PMLABe(100-x)Hx, 研究发现部分氢化的 PMLABe(100-x)Hx 具有两亲性, 通过改变氢化程度可以调节材料的亲水-疏水平衡。

(3) 环氧化反应

通过不饱和和双键的环氧化反应, 对聚苹果酸酯分子链上的不饱和和双键进行改性而得到一种新型的聚苹果酸衍生物^[12,59]。同理, 利用双键的其它反应也可得到不同的聚苹果酸衍生物。

2.2.2 开环聚合

(1) 均聚

均聚指的是由一种有机单体进行的聚合反应。以一种有机单体开环聚合, 可制备聚苹果酸酯的均聚物。Cammas 等^[60]先以苏氨酸-((2S,3S)-(2R,3R))-3- 甲基天冬氨酸的外消旋混合物为手性前体合成外消旋((3S,4R)-(3R,4S))-3- 甲基-4- 苄氧基羰基-2- 氧杂环丁酮, 以苯甲酸四乙基铵为引发剂, 对 α , β 取代的内酯进行了阴离子聚合, 得到了高分子量的无定形外消旋苏氨酸-聚 3- 甲基苹果酸苄基酯。

(2) 共聚

以苹果酸内酯与其它单体进行开环聚合, 可合成聚苹果酸酯衍生物。聚苹果酸苄基酯(PMLABz)是开环聚合合成聚苹果酸反应的一种中间产物, 其本身亦是一种聚苹果酸的衍生物, 因而聚苹果酸的开环聚合也是一种聚苹果酸衍生物的合成方法。此外研究者还开创了其它制备各种苹果酸内酯的方法。

Yue 等^[61]以 L- 苹果酸和 L- 赖氨酸为原料, 合成了 3 种聚(L- 苹果酸醋酸酯-co- 赖氨酸酯)(PMALs), 研究表明 PMALs 具有热敏性, 三种 PMAL 的最低临界溶解温度为 8-36℃, 且无细胞毒性。He 等^[62]报道以 β - 苄基酯- 苹果酸内酯、丙交酯和 ϵ - 己内酯为原料, 通过开环聚合合成了一系列聚(β - 苹果酸)-r- 聚酯无规共聚物。研究结果表明, 聚 β - 苹果酸(PMLA)的引入可显著降低 PLLA 和 PCL 的结晶度。

2.2.3 化学- 酶合成法 Bear 等^[63]以 C.tetanomorphum DSM528 菌中提取的 3- 甲基天冬氨酸酶催化转化(2S,3R)/(2S,3S)-3- 甲基天冬氨酸为氨基甲酸盐, 再经过一系列的化学修饰后合成唯一的(3R,4R)-3- 甲基苹果酸苄基酯, 以(3R,4R)-3- 甲基苹果酸苄基酯为单体开环聚合合成聚 β -3- 甲基苹果酸苄基酯, 最后通过保护苄基酯基的催化氢解反应, 得到了光学活性的聚 β -3 甲基苹果酸。

3 PMLA 及其衍生物在药物传递系统上的应用

纳米药物可以通过一种被称为增强渗透和保留(EPR)效应^[64-66]的被动靶向机制选择性地地在病灶中积聚。将纳米药物与特异性抗体结合, 可以与病灶细胞表面抗原结合来实现靶向性, 从而大大提高靶向性效率^[67-69], 提高药物的有效利用率, 因此纳米级的药物传递系统是现在的研究热点和重点。在不同的药物传递系统中药物与载体的结合方式也存在差异, 药物与载体的结合方式为化学方式和物理方式。化学方式就是药物通过与载体形成共价键的方式结合在一起, 物理方式就是药物与载体以物理方式(静电吸附作用、物理共混、包埋等)结合在一起。天然聚苹果酸在生理条件下的高溶解性、高自发降解速率和免疫惰性使得它优于多糖和多肽类生物高分子^[70]。通过共聚或悬挂羧基的反应调节, 用作药物载体的聚苹果酸及其衍生物大分

子链的结构或组成, 就可实现可控释放; 将疏水性药物接枝到易溶于水的 PMLA 上可以改善疏水性药物的溶解性, 提高药物的有效利用率。

3.1 基于与药物以化学方式结合的药物传递系统

药物可与 PMLA 及其衍生物以酯键、胺键或酰胺键结合在一起, 这种结合方式可以有效地保护药物, 降低药物的毒性, 提高药物利用率, 其药物的释放还具备一定的 pH 依赖性和可控性。

Patil 和 Rameshwar 等^[71]以 PMLA 为载体材料共价结合特异性靶向分子姜黄素和造影剂 Gd-DOTA 制备了一种新型磁共振造影剂用于阿尔茨海默病 AB 斑块的检测。研究表明, 该新型造影剂可以穿过血脑屏障(BBB)解决了脑部造影的一大难题, 并可识别并特异性结合阿尔茨海默 AB 斑块, 实现了无创、安全地诊断 AB 斑块。Guo 等^[72]制备了一种 pH 敏感的 PMLA/hyd-PEG5000/PEG2000-TAT/DOX (PHPTD) 纳米共轭物, 细胞穿膜肽(TAT)通过短链 PEG 与 PMLA 连接, 长链 PEG 通过 pH 敏感的胺键与 PMLA 连接以实现 TAT 的保护, 阿霉素(DOX)与 PMLA 以酰胺键结合从而具有了 pH 敏感性, 该纳米接枝物的功能性物质 TAT 和 DOX 在正常组织的环境下被保护了起来, 在肿瘤的弱酸环境下失去保护物, TAT 开始发挥穿膜作用, 提高药物和载体的入胞率, 增强药物在运送过程中的稳定性, 其药物运转如下图 2 所示。

周青^[73]以 PMLA 为载体骨架, 以共价键结合聚醚酰亚胺(PEI)、二甲基马来酸酐(DMMA)、阿霉素(DOX)和肝癌抗体片段 Fragment Hab18 F(ab)2, 制备出具有靶向和 pH 敏感性的 PMLA 纳米共轭物, 体外药物释放实验结果显示在酸性环境下, 12 小时的药物释放率(pH=5.0)为 70%, 在接近中性环境下(pH=6.8, pH=7.4)为 20%, 而游离 DOX 在接近中性环境下(pH=7.4)6 h 的释药率超过 90%, 表明该纳米共轭物能在体内转运过程中保持稳定, 降低对正常细胞的毒性; 血液相容性实验显示: PMLA 纳米共轭物血液相容性良好; 细胞毒性实验显示: 在酸性环境下 PMLA 纳米共轭物对肝癌细胞 Huh7 的细胞毒性强于同浓度下游离的 DOX。

Cheng 等^[74]合成了一种环境刺激的纳米载体使多活性位点成为高药物封装的"按需"药物释放系统, 将聚乙二醇和咪唑共价接枝到聚苹果酸基聚酯上构建 plm-g-ss-ega 纳米载体。研究表明 plm-g-ss-ega 纳米载体具有均匀的球形和高度的稳定性, 与传统的聚酯纳米载体的载药率(5-7%)相比, 新型纳米载体因单体间的相互作用导致载药效率(15%)增强了 2 倍; 刺激反应评估和体外药物释放研究表明, 这些可生物降解的纳米载体能够平衡血液循环中的细胞外稳定性和细胞内"按需"释放。体外和体内实验表明, 可生物降解的纳米载体不仅能显著提高抗肿瘤活性, 甚至可与游离 DOX·HCL 相比, 还可大大减少对其他器官的不良反应。

3.2 基于与药物以物理方式结合的药物传递系统

PLMA 及其衍生物在水溶液中易电离而带高负电荷, 与带正电荷的药物具有很好的静电吸附作用, 或者将 PLMA 及其衍生物制备成微胶囊、胶束、水凝胶等, 将药物包埋其中, 常用的制备方法有乳液法、沉淀法、复凝聚法、物理吸附法和物理共混法等。

Arif 等^[75]以聚苹果酸、壳聚糖(PMLA/CS)为载体的聚电解

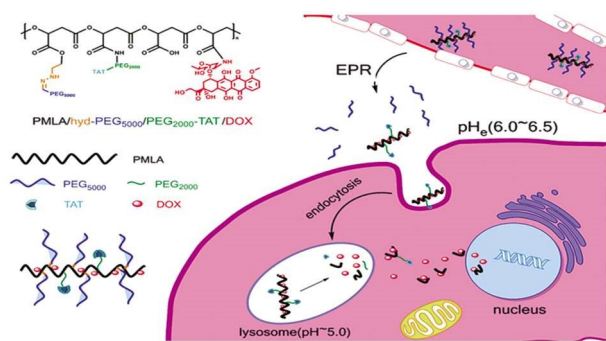


图2 PHPTD 纳米共轭药物递送示意图

Fig. 2 Schematic diagram of PHPTD nanoconjugate drug operation

质复合物(PEC)纳米粒子,以阿霉素(DOX)为模型药物,采用物理吸附法将其负载于纳米粒子上,体外药物缓释实验表明 PMLA/CS 纳米粒子在酸性介质中有较高的载药效率(16.9%)和缓释效果,在碱性介质中有加速释放的趋势,DOX 的释放具有 pH 依赖性;由细胞毒性分析可知 PMLA/CS 纳米粒子无细胞毒性,而 DOX-PMLA/CS 纳米粒子对 MDA-MB-231 细胞显示剂量依赖性细胞毒性。该纳米颗粒有望作为 pH 敏感的药物控释载体。

Arif 等^[76]以离子凝胶化方法制备出 pH 敏感性的半胱氨酸偶联壳聚糖/聚苹果酸(Cys-CS/PMLA)纳米颗粒。以阿莫西林为药物模型体的外释药研究表明 Cys-CS/PMLA 纳米粒子的释药具有 pH 依赖性,在强酸性环境下(pH=1.2)药物的释放极少,在弱酸性或者中环境下(pH=6.0, pH=7.0)药物的释放迅速且量大,其药物释放曲线如下图3所示。该纳米粒子有助于胃部疾病的治疗,有望解决一直以来聚苹果酸及其衍生物被认为不适用于作为胃肠道载药材料的问题。

β -苄基酯-苹果酸内酯(β -mlabz)是一种侧保护的苹果酸内酯单体,可作为单体,通过开环聚合制备生物可降解聚 β -苄基酯-苹果酸酯。聚(β -苄基酯苹果酸酯)脱保护后,在聚合物的侧链上暴露出大量的羧基,可用于共轭各种功能段^[77]。Huang 等^[78]先合成了聚(苹果酸苄酯)(PMLABE)、聚(乙二醇)-B-聚(苹果酸苄酯)(PEG-B-PMLABE)、生物素聚(乙二醇)-聚苹果酸苄酯(Biot-PEG-PMLABE)三种聚苹果酸衍生物,将 DOX·CL 与三种聚苹果酸衍生物共混,以沉淀法制备出三种载药纳米粒子,体外细胞毒性和释药实验表明空载的三种纳米粒子在很高的浓度下也无细胞毒性,包埋 DOX 的纳米粒子的细胞毒性与游离的 DOX 的细胞毒性相似。

Qiao 等^[79]以聚苹果酸苄基酯(PBM)和聚乙二醇(PEG)制备出 PBM-Hz-PEG3400 和 PBM-PEG2000 两种共聚物,将 TAT 半胱氨酸肽(TAT-Cys)加载到 PBM-PEG2000 共聚物上制备出 PBM-PEG2000-TAT 嵌段共聚物,将不同比例的两种嵌段共聚物与阿霉素(DOX)共混,自组装形成载药纳米胶束。研究表明聚合物链之间以及聚合物与药物之间的 π - π 堆积相互作用,提高了稳定性胶束和载药量(载药率 20%);体外和体内实验结果显示 PBM 聚合物胶束具有 pH 敏感,在酸性环境下(pH=5.6)药物能迅速地释放,在中性环境下(pH=7.4)药物释放缓慢,表明胶束在体内转运的过程中能保持好的稳定性,降低了药物的细胞毒性,同时在肿瘤的酸性环境中可以大量释放,提高治疗效果。

3.3 PMLA 作为载体材料的优势与缺点

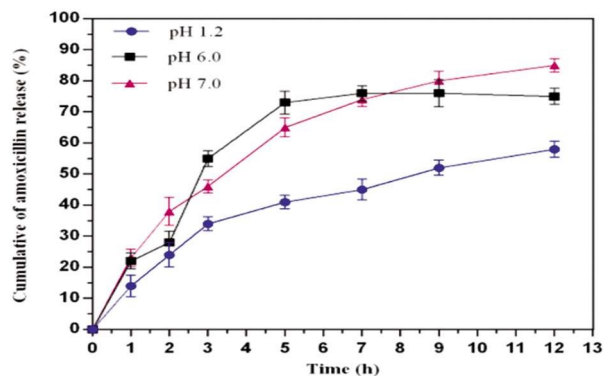


图3 阿莫西林 Cys-CS/PMLA 纳米粒的释药曲线

Fig. 3 Release curve of amoxicillin Cys-CS/PMLA nanoparticles

与其它的可生物降解的聚酯载药材料相比,例如聚乳酸、聚乳酸酯或聚己内酯等,这些聚酯结晶度高,在特定部位释放慢,降解慢,更重要的是这些聚酯链上缺乏活性位点。PMLA 是一种功能性聚合物,通过对侧羧基进行化学改性,其性能可调,不仅可以通过部分酯化反应来控制聚合物的整体疏水性,而且还可以通过与适当的试剂相互作用来实现生物活性。与蛋白基载药材料相比,例如明胶、灭活病毒等,PMLA 无免疫原性低,无致敏性,无需急性或慢性宿主免疫应答。与其它的高分子载药材料相比,如壳聚糖、纤维素等,PMLA 有着良好的透过性,不仅容易透过细胞膜进入细胞,还能透过血脑屏障。PMLA 以胺键和酰胺键连接药物,使递药系统具有了 pH 敏感性,能在酸性环境下大量释放药物,在中性环境中保持递药系统的稳定性,降低了药物的细胞毒性。

PMLA 作为药物载体,使递药系统具有了良好的性能,但载药率依然很低,这一问题也是目前递药系统的共同问题。要提高 PMLA 的载药率,首先需要提高 PMLA 的分子量,随着分子量地增加 PMLA 上的活性位点也增加,载药率也有望增加。目前的市场上所售的 PMLA 来源于人工合成,其分子量低;微生物合成的 PMLA 分子量高,但目前只能靠自己发酵生产,其产量低,杂质多纯化难度大,难以满足大量应用的要求。

4 PMLA 及其衍生物作为生物材料的应用

生物材料是用于与生命系统接触和发生相互作用的,并能对其细胞、组织和器官进行诊断治疗、替换修复或诱导再生的一类天然或人工合成的特殊功能材料,又称生物医用材料,材料本身需要具备良好的生物相容性,其降解产物亦对机体本身无毒副作用,广泛应用于创伤敷料、手术缝合线和组织工程等医疗领域。PMLA 及其衍生物被认为是一系列性能良好的生物材料,在医疗领域有着广泛的应用前景。

唐友红等^[80]将多巴胺(DA)以酰胺键连接在 PMLA 上,制备出一种生物活性粘合剂,实验结果显示:该粘合剂对猪皮的粘合强度(22.68 kPa)高于市场所售的纤维蛋白胶的粘合强度(15.38 kPa);对小鼠成纤维细胞无毒性,有望用于临床伤口的粘连。Qiang 等^[80]采用热诱导液相分离法合成了聚己内酯-苹果酸-聚乳酸嵌段共聚物,再以嵌段共聚物制备出纳米纤维支架,采用多种手段对共聚物的结构和性能进行表征,研究表明

该纳米纤维基质具有共价结合组织工程生物活性分子的设计潜力。

目前,用于创伤敷料、手术缝合线和组织工程等领域的生物材料主要人工合成材料(聚乳酸,聚羟基乙酸等)和胶原类(羊肠或牛肠黏膜内的胶原),人工合成的生物材料具有优异的力学性能,在生物体内降解慢,可满足组织生物的需求,但人工合成材料的生物相容性较差;胶原类材料可促进细胞生长,生物相容性较好,但其来源于动物,溯源性较差^[81]。聚苹果酸有着良好的生物相容性,但在创伤敷料、手术缝合线和组织工程等领域的研究比较缺乏,这是由于聚苹果酸优异的降解性和极差的力学性能所致。制备创伤敷料和手术缝合线的材料需要有良好的生物相容性外还需要一定的力学性能,聚苹果酸和别的天然高分子材料一样在这方面存在弱势;作为组织工程材料需要有着与组织生长所匹配的降解性,但聚苹果酸的降解速度太快,无法为组织生长提高支撑作用。因此,聚苹果酸要在创伤敷料、手术缝合线和组织工程等领域中应用,就需要对其降解性和力学性能进行改性研究,或者与人工合成的高分子材料合用。

5 PMLA 及其衍生物在其他方面的应用

聚苹果酸无毒害、易溶于水,分子上悬挂有许多游离的羧基在水溶液中易电离释放出氢离子,短梗霉属菌株合成的聚苹果酸的2%(质量分数)水溶液的pH为2.0,酸性比聚丙烯酸强^[82]。可用于油田输水管线,蒸汽机车锅炉,中低压锅炉,海水淡化,循环冷却水,作阻垢分散剂。龚伟等^[83]以三羟甲基丙烷(TMP)和苹果酸为单体,采用熔融聚合法制备出了苹果酸型超支化聚合物(HBP),以硫酸钙(CaSO_4)为结垢物模型,研究了苹果酸型超支化聚合物的阻垢能力,研究表明(HBP)的分散性能良好,对 CaSO_4 垢的阻垢效率达到95.2%。与其它天然高分子阻垢剂相比,例如:聚丙烯酸淀粉接枝共聚物(St-g-PAA)对 CaCO_3 的阻垢率约为94%^[84];经羧甲基化和N-季铵盐改性的壳聚糖对 CaSO_4 的阻垢率在80%^[85],聚苹果酸衍生物的阻垢效率更高。

PLMA及其衍生物对一些生物物质(如豌豆、土豆、蛋清蛋白等)的蛋白酶和一些微生物的DNA聚合酶有抑制作用,阻止某些生物的生长和繁殖。Doerhoefer等^[86]为探究聚(β -l-苹果酸)对DNA聚合酶a的抑制性与细胞周期之间的关联性,将从多头疟原虫中提取的DNA聚合酶a以荧光物质标记加入到含PMLA的核提取物中,同时加入3H-胸苷5 ϵ -单磷酸转化为酸可沉淀的尼克活化鲑鱼睾丸DNA,研究表明在细胞分裂的S期,聚(β -l-苹果酸)对DNA聚合酶a的抑制性最小。

聚苹果酸因其游离的羧基在水溶液中电离而带高密度的负电荷,在强静电相互作用下容易与多价阳离子络合,如铜离子、铬离子、镉离子等,可用于金属离子的吸附、洗脱,在化学化工和环境处理领域有着广泛的应用前景。Feng等^[90]以发酵生产的PMLA淋洗含重金属镉(Cd)的土壤,研究发现同浓度下PMLA对土壤中Cd的去除率(86.0%)与乙二胺四乙酸(EDTA)的去除率(88.7%)基本相当,有望成为一款环境友好型的土壤修复整合剂。

PMLA和其单体苹果酸无毒,无免疫原性,其良好的金属

离子螯合能力除了用于重金属的去除,还可以螯合人体所需微量元素(锌、铜、铁、锡、钴等)作为微量元素添加剂,补充人体所需微量元素。赵芝琼等^[87]研究发现以聚苹果酸钙作为肉鸡的补钙剂,可有效提高肉鸡血液中钙离子的浓度和钙磷比,但对血液中磷的浓度没有影响,研究表明聚苹果酸钙作为补钙剂有效促进了机体对钙的吸收。

PMLA具有较大的溶水性、吸水性和极强的缓释能力,可以应用于化妆品和香精香料等领域。马霞和吴艳丽等^[88,89]以聚苹果酸、壳聚糖为壁材,以晚香玉香精为芯材,采用复凝聚法合成了载香精PMLA/CS微胶囊,体外释放实验结果显示载香精PMLA/CS微胶囊缓释时间长达69h,PMLA/CS微胶囊的缓释效果良好。

6 总结与展望

聚苹果酸一种生物高分子材料,具有良好的生物相容性,无毒性和非免疫原性,易溶于水,分子上悬挂的羧基在水溶液中电离形成一种高度水溶性的聚阴离子,在强静电作用下容易与多价阳离子络合。聚苹果酸的降解性良好,降解产物苹果酸不仅无毒还能参与三羧酸循环被吸收利用。聚苹果酸分子上游离的羧基赋予其良好的修饰性,使其能与天然材料或合成材料发生相互作用。聚苹果酸具有生物相容性,生物可降解性,无毒性等良好的特性使其在创伤敷料、手术缝合线,组织工程等医疗领域和食品领域具备极大的应用潜力;同时其良好的吸附、络合能力,可使其能在化学化工和环境处理方面得到广泛的应用。

从以往的研究来看,由于应用于创伤敷料、手术缝合线,组织工程等领域的材料的降解性要求缓慢并能根据环境而发生改变,同时水溶性具有可控性;使得聚苹果酸及其衍生物的研究主要集中在制药领域。当前,聚苹果酸微生物发酵产量低的问题限制了其在化学化工和环境等领域的应用。未来研究中,研究者们首先需要提高聚苹果酸微生物发酵产率,并逐步进行工业化生产;其次,改善聚苹果酸及其衍生物的水溶性和降解性能,使水溶性和降解性能根据需要进行调控,将聚苹果酸及其衍生物实际应用到生物医药等众多领域中。

参考文献(References)

- [1] Coulembier O, Degee P, Hedrick J L, et al. From controlled ring-opening polymerization to biodegradable aliphatic polyester: Especially poly (β -malic acid) derivatives [J]. PROGRESS IN POLYMER SCIENCE, 2006, 31(8): 723-747
- [2] Zou Xiang, Li Shanshan, Wang Pan, et al. Sustainable production and biomedical application of polymalic acid from renewable biomass and food processing wastes. [J]. Critical reviews in biotechnology, 2020
- [3] Zhang Jianguo, Chen Deyu, Liang Guoxin, et al. Biosynthetic Poly-malic Acid as a Delivery Nanoplatform for Translational Cancer Medicine[J]. Trends in Biochemical Sciences, 2020(prepublish)
- [4] Kin'Ichi M, Kyo S. A Protease Inhibitor from *Penicillium cyclopium* [J]. Agricultural and Biological Chemistry, 1970, 34(1): 47-52
- [5] VERT M, LENZ R W. Preparation and properties of poly-malic acid: a functional polyester of potential biomedical importance [J]. ACS

- Polym Preprints, 1979, 20(1): 608-611
- [6] Fischer H, Erdmann S, Holler E. An unusual polyanion from *Physarum polycephalum* that inhibits homologous DNA-polymerase. *alpha. in vitro*[J]. *Biochemistry*, 1989, 28(12): 5219-5226
- [7] Nagata N, Nakahara T, Tabuchi T. Fermentative Production of Poly (BETA-L-malic acid), a Polyelectrolytic Biopolyester, by *Aureobasidium* sp. [J]. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 1993, 57(4): 638-642
- [8] Robert W, Lenze. Malic acid polymers [P]. U S No: 4, 265, 247. 1981-5-5
- [9] Ljubimova J Y, Portilla-Arias J, Patil R, et al. Toxicity and efficacy evaluation of multiple targeted polymalic acid conjugates for triple-negative breast cancer treatment [J]. *Journal of Drug Targeting*, 2013, 21(10): 956-967
- [10] Patil R, Gangalum P R, Wagner S, et al. Curcumin Targeted, Polymalic Acid-Based MRI Contrast Agent for the Detection of A β Plaques in Alzheimer's Disease[J]. *Macromolecular Bioscience*, 2015, 15(9): 1212-1217
- [11] Yang Y, Li N, Nie Y, et al. Folate-Modified Poly (malic acid) Graft Polymeric Nanoparticles for Targeted Delivery of Doxorubicin: Synthesis, Characterization and Folate Receptor Expressed Cell Specificity [J]. *Journal of Biomedical Nanotechnology*, 2015, 11(9): 1628-1639
- [12] 丁锐, 李光吉. 生物高分子聚苹果酸及其衍生物的合成与应用前景[J]. *高分子通报*, 2005(02): 47-56
- [13] Ljubimova J Y, Portilla-Arias J, Patil R, et al. Toxicity and efficacy evaluation of multiple targeted polymalic acid conjugates for triple-negative breast cancer treatment [J]. *Journal of Drug Targeting*, 2013, 21(10): 956-967
- [14] 李宝玉. 生物医学材料[M]. 北京:化学工业出版社, 2003: 222
- [15] Nair L S, Laurencin C T. Biodegradable polymers as biomaterials[J]. *Progress in Polymer Science*, 2007, 32(8-9): 762-798
- [16] 刘潇, 李彦锋, 崔彦君, 等. 脂肪族聚酯类可生物降解医用高分子材料的研究进展[J]. *化学通报*, 2010, 73(003): 220-226
- [17] Braud C, Bunel C, Vert M. Poly (β -malic acid) : a new polymeric drug-carrier[J]. *Polymer Bulletin*, 1985, 13(4): 293-299
- [18] Kajiyama T, Taguchi T, Kobayashi H, et al. Physicochemical properties of high-molecular-weight poly (α , β -malic acid) synthesized by direct polycondensation[J]. *Polymer Bulletin*, 2003, 50(1-2): 69-75
- [19] Nagata N, Nakahara T, Tabuchi T, et al. Characterization of Poly (β -L-malic acid) Produced by *Aureobasidium* sp. A-91[J]. *Polymer J*, 1993, 25(6): 585-592
- [20] Mauduit J, Boustta M, Vert M. *Journal of Biomaterials Science Polymer Edition*, 1995, 7(3): 207-220
- [21] Stolnik S, Garnett M C, Davies M C, et al. *Journal of Materials Science Materials in Medicine*, 1996, 7(3): 161-166
- [22] Braud C, Vert M. Poly(β -malic acid) based biodegradable polyesters aimed at pharmacological uses[J]. *Trend Polym Sci*, 1993, 3: 57-65
- [23] Rathberger K, Reisner H, Willibald B, et al. Comparative synthesis and hydrolytic degradation of poly (L-malate) by myxomycetes and fungi[J]. *Mycological Research*, 1999, 103(5): 513-520
- [24] Gasslmaier B, Holler E. Specificity and Direction of Depolymerization of β -Poly (L-malate) Catalysed by Polymalate from *Physarum polycephalum*[J]. *FEBS Journal*, 1997, 250(2): 308-314
- [25] Carolin Gddde, Matthias Liebergesell, Alexander Steinbchel. Isolation of poly (β -L-malic acid)-degrading bacteria and purification and characterization of the PMA hydrolase from *Comamonas acidovorans* strain 7789[J]. *FEMS Microbiology Letters*, 1999, 173(2): 365-372
- [26] Chang X L, Ma Q G, Wang J M. Study on the reaction of polymalic acid grafted with oleic acid[J]. *Shandong Chemical Industry*, 2020, 49(07): 36-37
- [27] 常西亮, 马庆国, 王俊梅. 油酸接枝改性聚苹果酸反应研究 [J]. *山东化工*, 2020, 49(07): 36-37
- [28] 唐友红, 孙彦, 贺欣, 等. 基于聚苹果酸的贻贝仿生粘合剂的制备及性能研究[J]. *现代生物医学进展*, 2020, 20(05): 818-821+826
- [29] Holler E, Angerer B, Achhammer G, et al. Biological and biosynthetic properties of poly-l-malate [J]. *FEMS Microbiology Letters*, 1992, 103(2-4): 109-118
- [30] Braud C, Bunel C, Garreau H, et al. Evidence of the amphiphilic structure of partially hydrogenolyzed poly (β -malic acid benzylester) [J]. *Polymer Bulletin*, 1983, 9(4): 198-203
- [31] Caron A, Braud C, Bunel C, et al. Blocky structure of copolymers obtained by Pd/C-catalysed hydrogenolysis of benzyl protecting groups as shown by sequence-selective hydrolytic degradation in poly(β -malic acid) derivatives[J]. *Polymer*, 1990, 31(9): 1797-1802
- [32] Marie-Agnès Leboucher-Durand, Valérie Langlois, Philippe Guérin. Poly(β -malic acid) derivatives with unsaturated lateral groups: epoxidation as model reaction of the double bonds reactivity[J]. *Reactive & Functional Polymers*, 1996, 31(1): 57-65
- [33] Jeanbat-Mimaud V, Barbaud C, Caruelle J P, et al. Functionalized and degradable polymers of malic acid stimulate bone repair [J]. *Comptes Rendus de l Académie des Sciences - Series IIC - Chemistry*, 1999, 2(7): 393-401
- [34] Israel L L, Braubach O, Galstyan A, et al. A Combination of Tri-Leucine and Angiopep-2 Drives a Poly-Anionic Polymalic Acid Nanodrug Platform Across the Blood-Brain Barrier [J]. *Acs Nano*, 2019, 13(2): 1253-1271
- [35] Yang Y, Li N, Nie Y, et al. Folate-Modified Poly (malic acid) Graft Polymeric Nanoparticles for Targeted Delivery of Doxorubicin: Synthesis, Characterization and Folate Receptor Expressed Cell Specificity [J]. *Journal of Biomedical Nanotechnology*, 2015
- [36] Dominique, Domurado, Philippe, et al. In Vivo Fates of Degradable Poly (β -Malic Acid) and of its Precursor, Malic Acid [J]. *Journal of Bioactive and Compatible Polymers*, 2003, 18: 23-32
- [37] Chi Z, Liu G L, Liu C G. Poly (β -L-malic acid)(PMLA) from *Aureobasidium* spp. And its scurrent proceedings. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2016, 100: 3841-3851
- [38] Lanz-Landázuri, Alberto, de Ilarduya, et al. Modification of microbial polymers by thiol-ene click reaction: Nanoparticle formation and drug encapsulation [J]. *Reactive and Functional Polymers*, 2016, 106: 143-152
- [39] Chuysinuan P, Chimnoi N, Reuk-Ngam N, et al. Development of gelatin hydrogel pads incorporated with *Eupatorium adenophorum* essential oil as antibacterial wound dressing[J]. *Polymer Bulletin*, 2018: 701-724

- [40] Otani N, Kimura V, Kitao T. Preparation of poly (malic acid) and its ester derivatives by direct poly condensation of malic acid and β 2 ethyl malate[J]. *Kobunshi Ronbunshu*, 1961, 44: 701-706
- [41] Kajiyama T, Kobayashi H, Taguchi T, et al. Improved Synthesis with High Yield and Increased Molecular Weight of Poly(α , β -malic acid) by Direct Polycondensation[J]. *Biomacromolecules*, 2004, 5(1): 169-174
- [42] Nakashima R, Okuda T, Okazaki M, et al. Synthesis of malic acid polymers. *Rep Fac Eng Tottori Univ* 1977, 8(1): 124-127
- [43] Sandrine Cammas, Isabelle Renard, Karine Boutault, et al. A novel synthesis of optically active 4-benzyloxy and 4-alkyloxycarbonyl-2-oxetanones[J]. *Tetrahedron Asymmetry*, 1993, 4: 1925-1930
- [44] Sandrine Cammas, Isabelle Renard, V. Langlois et al. Poly(β -malic acid): obtaining high molecular weights by improvement of the synthesis route[J]. *Polymer*, 1996, 37: 415-420
- [45] 张雨, 乔友备, 周青, 等. 聚苹果酸合成新方法及其聚苹果酸苄基酯用作药物载体的研究[J]. *现代生物医学进展*, 2018, 18(10): 59-63
- [46] Marie, Agnes. Poly(β -malic acid), derivatives with unsaturated lateral group: epoxidation as model reaction of the double bonds reactivity [J]. *Reactive Functional Polymers*, 1996, 31: 57-65
- [47] Philippe G, M. Vert. Enantiomeric purity of RS benzyl malolactonate monomers as determined by nuclear magnetic resonance [J]. *Polymer communication*, 1987, 28: 11-13
- [48] P. Ramiandrasoa. Poly (β -malic acid alkyl esters) derived from 4-alkyloxycarbonyl-2-oxetanones obtained via ketene route[J]. *Polym Bull*, 1993, 30: 501-505
- [49] Zou X, Li T, Zhang X, et al. Optimization of the status of cell growth guided by an on-line biomass sensor for polymalic acid fermentation [J]. *Process Biochemistry*, 2019, 79(APR.): 11-17
- [50] Feng J, Li T, Zhang X, et al. Efficient production of polymalic acid from xylose mother liquor, an environmental waste from the xylitol industry, by a T-DNA-based mutant of *Aureobasidium pullulans*[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2019, 103(4): 6519-6527
- [51] 章雨卉, 吕磊磊, 陈林杰, 等. 培养基成分和培养条件对出芽短梗霉 ZUST-I13 产聚苹果酸的影响 [J]. *发酵科技通讯*, 2020, 49(01): 7-10
- [52] 陈曦, 鲍文娜, 黄美娟, 等. 出芽短梗霉产聚苹果酸发酵条件的优化[J]. *微生物学通报*, 2018, 45(02): 231-237
- [53] 刘滨, 于海峰. 短梗霉筛选鉴定及溶氧对其发酵的影响[J]. *食品工业科技*, 2018, 39(6): 102-107, 113
- [54] 李睿颖, 杨殿林, 王慧, 等. 割罐法发酵聚苹果酸的工艺优化[J]. *食品工业科技*, 2020, 41(05): 175-181+187
- [55] Liu S J, Alexander Steinbu"chel. Production of poly (malic acid) from different carbon sources and its regulation in *Aureobasidium pullulans*[J]. *Biotechnology Letters*, 1997, 19(1): 11-14
- [56] Lee B S, Maurer T, Kalbitzer H R, et al. β -Poly(l-malate) production by *Physarum polycephalum*[J]. *Applied Microbiology & Biotechnology*, 1999, 52(3): 415-420
- [57] 刘双江. 出芽短梗霉菌株 CBS591. 75 和 DSM2404 发酵生产聚苹果酸的研究[J]. *生物工程学报*, 1997, 13(3): 279-283
- [58] Portilla-Arias JA, García-Alvarez M, dellarduya AM, et al. Synthesis, degradability, and drug releasing properties of methylesters of fungal poly (β , L-malic acid)[J]. *Macromolecular Bioscience*, 2010, 8(6): 540-550
- [59] Marie-Agnès Leboucher-Durand, Valérie Langlois, Philippe Guérin. Poly(β -malic acid) derivatives with unsaturated lateral groups: epoxidation as model reaction of the double bonds reactivity[J]. *Reactive & Functional Polymers*, 1996, 31(1): 57-65
- [60] Cammas S, Renard I, Girault J P, et al. Poly (β -3-methylmalic acid): A new degradable functional polyester with two stereogenic centers in the main chain[J]. *Polymer Bulletin*, 1994, 33(2): 149-158
- [61] Yue Y, Fan Z, Zheng C, et al. Synthesis and properties of non-cytotoxic poly (l-malic acid acetate-co-l-lysine ester)s with thermo-sensitivity as hydrophobic drug nanocarrier: Research Article[J]. *Journal of Applied Polymer science*, 2017, 135(11): 45984
- [62] He B, Chan-Park M B. Synthesis and Characterization of Functionalizable and Photopatternable Poly(ϵ -caprolactone-co-RS- β -malic acid) [J]. *Macromolecules*, 2005, 38(20): 8227-8234
- [63] Bear M M, Karine Lozac'h, Randriamahefa S, et al. Biosynthetic stereocopolymer of 3-methylmalic acid as hydrolyzable and biocompatible polyester for temporary therapeutic applications [J]. *Polymer*, 1999, 40(23): 6521-6528
- [64] Xu F, Huang X, Wang Y, et al. A Size-Changeable Collagenase-Modified Nanoscavenger for Increasing Penetration and Retention of Nanomedicine in Deep Tumor Tissue [J]. *Advanced Materials*, 2020, 32(16)
- [65] Yoshikawa T, Mori Y, Feng H, et al. Rapid and continuous accumulation of nitric oxide-releasing liposomes in tumors to augment the enhanced permeability and retention (EPR) effect [J]. *International Journal of Pharmaceutics*, 2019: 565
- [66] Jingdong, Rao, Ling, et al. Size-adjustable micelles co-loaded with a chemotherapeutic agent and an autophagy inhibitor for enhancing cancer treatment via increased tumor retention[J]. *Acta biomaterialia*, 2019, 15, 89: 300-312
- [67] Mahira S, Kommineni N, Husain G M, et al. Cabazitaxel and silibinin co-encapsulated cationic liposomes for CD44 targeted delivery: A new insight into nanomedicine based combinational chemotherapy for prostate cancer [J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2019, 110: 803-817
- [68] Jihwan Son, Gawon Yi, Jihye Yoo, et al. Light-responsive nanomedicine for biophotonic imaging and targeted therapy [J]. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2019, 138: 133-147
- [69] Zhang Z, Cheng W, Pan Y, et al. An anticancer agent-loaded PLGA nanomedicine with glutathione-response and targeted delivery for the treatment of lung cancer[J]. *Journal of Materials Chemistry B*, 2020, 8
- [70] Kajiyama T, Taguchi T, Kobayashi H, et al. Physicochemical properties of high-molecular-weight poly (α , β -malic acid) synthesized by direct polycondensation[J]. *Polymer Bulletin*, 2003, 50(1-2): 69-75
- [71] Patil R, Gangalum P R, Wagner S, et al. Curcumin Targeted, Poly-malic Acid-Based MRI Contrast Agent for the Detection of A β Plaques in Alzheimer's Disease[J]. *Macromolecular Bioscience*, 2015, 15(9): 1212-1217
- [72] Guo S, Zhou Q, Yang T, et al. Optimal Design of Novel Functionalized Nanoconjugates Based on Polymalic Acid for Efficient Tumor

- Endocytosis with Enhanced Anticancer Activity [J]. Journal of Biomedical Nanotechnology, 2018, 14(6): 1039-1051
- [73] 周青. 肿瘤微环境响应性纳米药物的构建及高效靶向转运特性研究[D]. 中国人民解放军空军军医大学, 2018
- [74] Cheng F, Su T, Cao J, et al. Environment-stimulated Nanocarriers Enabling Multi-active Sites for High Drug Encapsulation as "On Demand" Drug Release System [J]. Journal of Materials Chemistry B, 2018, 6(15): 2258-2273
- [75] Arif M, Raja M A, Zeenat S, et al. Preparation and characterization of polyelectrolyte complex nanoparticles based on poly (malic acid), chitosan. A pH-dependent delivery system[J]. Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition, 2017, 28(1): 50-62
- [76] Arif M, Dong Q J, Raja M A, et al. Development of novel pH-sensitive thiolated chitosan/PMLA nanoparticles for amoxicillin delivery to treat, *Helicobacter pylori* [J]. Materials Science and Engineering: C, 2018, 83: 17-24
- [77] Loyer P, Cammas-Marion S. Natural and synthetic poly (malic acid)-based derivatives: a family of versatile biopolymers for the design of drug nanocarriers[J]. Journal of Drug Targeting, 2014, 22(7): 556-575
- [78] Huang Z W, Véronique Laurent, Chetouani G, et al. New functional degradable and bio-compatible nanoparticles based on poly (malic acid) derivatives for site-specific anti-cancer drug delivery[J]. International Journal of Pharmaceutics, 2012, 423(1): 84-92
- [79] Youbei Qiao, Chaoli Wang, Bao Liu, et al. Enhanced Endocytic and pH-Sensitive Poly (malic acid) Micelles for Antitumor Drug Delivery [J]. Journal of Biomedical Nanotechnology, 2019, 15(1): 28-41
- [80] Qiang N, Yang W, Li L, et al. Synthesis of pendent carboxyl-containing poly (ϵ -caprolactone-co- β -malic acid)-block-poly (l-lactide) copolymers for fabrication of nano-fibrous scaffolds [J]. Polymer, 2012, 53(22)
- [81] 胡煜雯. 不同可吸收性外科缝线的介绍和降解研究 [J]. 中国医疗器械信息, 2019, 25(05): 53-54+168
- [82] Naoki N, Tadaatsu N, Takeshi T. Fermentative production of poly (β -L-malic acid), a polyelectrolytic biopolyester, by *Aureobasidium* sp [J]. Biosci Biotech Biochem, 1993, 57(4): 638-642
- [83] 龚伟, 李美兰, 路玉娇, 等. 苹果酸型超支化共聚物的制备及其阻垢性能的研究[J]. 中国塑料, 2019, 33(04): 26-32
- [84] Du Q, Wang Y, Li A, et al. Scale-inhibition and flocculation dual-functionality of poly (acrylic acid) grafted starch [J]. Journal of Environmental Management, 2018, 210: 273-279
- [85] Zhang H, Sun D, Zhu Y, et al. Preparation of carboxymethyl-quaternized oligochitosan and its scale inhibition and antibacterial activity [J]. Journal of Water Reuse and Desalination, 2014, 4(2): 65-75
- [86] Doerhoefer S, Windisch C, Angerer B, et al. The DNA-polymerase inhibiting activity of poly(β -l-malic acid) [J]. FEBS Journal, 2002, 269(4): 1253-1258
- [87] 赵芝琼, 鲍文梅, 杨林, 等. 聚苹果酸钙对肉鸡血清钙、磷含量的影响[J]. 安徽科技学院学报, 2019, 33(06): 12-16
- [88] 马霞, 吴艳丽, 俞鸿千. β -聚苹果酸/壳聚糖在香精微胶囊制备中的应用[J]. 科技导报, 2013, 31(04): 54-59
- [89] 吴艳丽, 马霞, 俞鸿千. β -聚苹果酸/明胶微胶囊的制备 [J]. 食品工业科技, 2013, 34(15): 234-237
- (上接第 569 页)
- [22] Seldin MM, Tan SY, Wong GW. Metabolic function of the CTRP family of hormones [J]. Rev Endocr Metab Disord, 2014, 15 (2): 111-123
- [23] 张丽秀, 梁红萍. C1q 肿瘤坏死因子相关蛋白 1 在肥胖相关代谢性疾病及心血管疾病中作用的研究进展 [J]. 安徽医学, 2021, 42 (5): 580-583
- [24] Hasegawa N, Fujie S, Horii N, et al. Aerobic exercise training-induced changes in serum C1q/TNF-related protein levels are associated with reduced arterial stiffness in middle-aged and older adults[J]. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, 2018, 314(1): R94-R101
- [25] 王明友, 张忠涛. CT 冠状动脉成像与冠状动脉造影诊断冠心病对照研究[J]. 中国医学影像学杂志, 2014, 22(11): 846-848+852
- [26] Rampidis GP, Benetos G, Benz DC, et al. A guide for Gensini Score calculation[J]. Atherosclerosis, 2019, 287: 181-183
- [27] 王华茹, 吴小妹. 中老年女性冠心病患者心血管危险因素与干预 [J]. 中国老年学杂志, 2021, 41(9): 1805-1808
- [28] Drakopoulou M, Toutouzas K, Stathogiannis K, et al. Managing the lipid profile of coronary heart disease patients[J]. Expert Rev Cardiovasc Ther, 2016, 14(11): 1263-1271
- [29] Rocio de la Iglesia R, Lopez-Legarrea P, Crujeiras AB, et al. Plasma irisin depletion under energy restriction is associated with improvements in lipid profile in metabolic syndrome patients [J]. Clin Endocrinol (Oxf), 2014, 81(2): 306-311