

## · 综 述 ·

## 聚赖氨酸的生物医学领域应用现状

余波, 郭一飞\*

中国医学科学院 北京协和医学院 药用植物研究所, 北京 100193

**摘要:** 聚赖氨酸是一种天然的阳离子聚酰胺聚合物, 具有良好的生物相容性和生物可降解性, 因而在生物医学应用中显示出巨大的潜力。聚赖氨酸侧链上众多的氨基基团为功能化提供了结合位点, 可形成众多衍生物。聚赖氨酸的高分子材料具有阳离子特性、生物相容性、无毒性 and 刺激响应特性, 在生物医学领域中得到实际应用。介绍了聚赖氨酸在递送系统、生物黏合剂和生物纤维等生物医学领域的应用, 希望挖掘聚赖氨酸类材料在生物医学应用方面巨大的潜力。

**关键词:** 聚赖氨酸; 递送系统; 生物黏合剂; 生物纤维

**中图分类号:** R966 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2022)10-2377-09

**DOI:** 10.7501/j.issn.1674-5515.2022.10.038

## Application status of polylysine polymer materials in biomedical field

YU Bo, GUO Yi-fei

Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences &amp; Peking Union Medical College, Beijing 100193, China

**Abstract:** Polylysine is a natural cationic polyamide polymer with good biocompatibility and biodegradability, which shows great potential in biomedical applications. A large number of amino groups in the polylysine side chain provide binding sites for functionalization and can form many derivatives. Poly-lysine-based polymer materials have water solubility, biocompatibility, non-toxicity, and stimulus response, and it has been widely used in the field of biomedicine. This paper introduces the application of polylysine in biomedical fields such as delivery systems, biological adhesives and biological fibers, hoping to tap the huge potential of polylysine materials in biomedical applications.

**Key words:** polylysine; delivery system; biological adhesive; biological fiber

聚赖氨酸是一类特殊的酰胺类高分子聚合物, 主要有  $\epsilon$ -聚赖氨酸和  $\alpha$ -聚赖氨酸两种形式存在, 见图 1<sup>[1-2]</sup>。 $\alpha$ -聚赖氨酸是由 *L*-赖氨酸和 *D*-赖氨酸化学合成的聚合物, 在生物医学应用中是有毒的<sup>[3]</sup>, 需进行修饰后使用。 $\epsilon$ -聚赖氨酸是一种以 *L*-赖氨酸为基础的由微生物产生的天然均聚酰胺聚合物<sup>[4-5]</sup>。起初  $\epsilon$ -聚赖氨酸因其抑菌活性被发现, 作为防腐剂在食品工业中应用<sup>[6]</sup>, 后因具有阳离子特性、水溶性、生物相容性和生物降解性等性质, 引起了人们在其他领域应用的兴趣<sup>[7-9]</sup>。

在生物医学应用中, 聚赖氨酸的用途被开发出

来, 如与抗叶酸剂甲氨蝶呤或其他抗癌药物结合以减轻抗癌药物的耐药性<sup>[10]</sup>; 与人工合成的双链 RNA 制备成内源性干扰素诱导剂<sup>[11]</sup>; 作为基因递送载体,

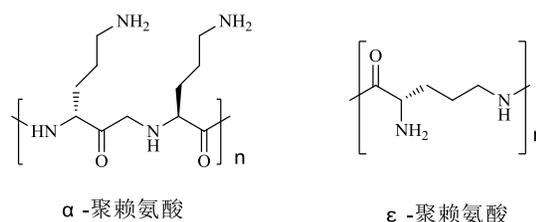


图 1 聚赖氨酸的两种形式

Fig. 1 Two forms of polylysine

收稿日期: 2022-06-15

基金项目: 国家重点研发计划中医药现代化研究重点专项 (2018YFC1706700)

作者简介: 余波 (1997—), 男, 安徽六安人, 硕士生, 研究方向为纳米制剂研究。E-mail: 892615381@qq.com

\*通信作者: 郭一飞, 女, 副研究员, 博士, 主要从事中药新药与纳米制剂研究。E-mail: ffguo@163.com

递送质粒 DNA<sup>[12]</sup>，但这些用途存在一定局限性，如溶解度降低，安全性不足。为了改善这些缺陷、优化材料特性，众多研究从聚赖氨酸侧链上的氨基可提供功能化位点出发，发展出了各种衍生物，拓展了聚赖氨酸在生物医学领域中的应用。目前研究发现聚赖氨酸及其衍生物可以对相应刺激性反应（pH 值、温度、酶、氧化还原反应）做出应答，可致力于开发刺激性反应靶向给药系统。靶向给药系统可以增强疗效，并降低不良反应<sup>[13]</sup>，具有巨大的应用价值。相关报道证实了聚赖氨酸的功能化产物可以有更高的负载效率，能更有效地将药物分子靶向到所需的位置，增强药物疗效<sup>[14]</sup>。在生物黏合剂方面，聚赖氨酸水凝胶的出现得到了广泛的报道，因为与市场上传统的生物胶相比，聚赖氨酸水凝胶上阳离子氨基的存在可以通过离子相互作用与目标组织和黏液层发生紧密的结合，因此具有更优异的黏合强度<sup>[15]</sup>。由于黏附降解在组织再生中起着至关重要的作用，聚赖氨酸水凝胶的降解性又成为它的一大优势。此外在生物纤维方面，凭借良好的生物相容性和抑菌能力等优势，聚赖氨酸纳米纤维已发展成为蛋白质固定化、抗原/抗体固定化、疫苗制备和伤口敷料的材料。本文介绍了聚赖氨酸在递送系统、生物黏合剂和生物纤维等生物医学领域的应用，希望挖掘聚赖氨酸类材料在生物医学应用方面巨大的潜力。

## 1 递送系统

递送载体可以延长治疗剂的作用时间；将治疗剂输送到体内确定的部位，提高治疗剂的选择性；降低不良反应；克服制剂过程中所遇到的问题。在临床应用中，用于靶向递送的治疗剂可以是药物和基因。靶向递送的优势在于将治疗剂在某些器官、细胞内空间或病理部位的特定环境触发释放，从而提高药物递送的特异性，并减少不良反应<sup>[16]</sup>。

基因疗法主要是通过将遗传分子递送到宿主细胞的细胞核，诱导基因表达<sup>[17-19]</sup>。聚赖氨酸功能化材料可与带负电荷的核酸紧密结合，并与表面膜产生强烈的相互作用，促进细胞摄取。同时聚赖氨酸功能化增强了对癌细胞的转染，作为基因递送载体具有很大的潜力。药物递送不同于基因递送，必须在细胞内释放，药物可以在细胞间质、器官等其他处发挥药效，不同的作用部位产生的环境信号不同，所需聚合物特性需求就有所不同。作为阳离子聚合物，可以合成具有各种相对分子质量、化学结

构和特殊修饰（聚乙二醇化、生物素化等）的聚赖氨酸，作为药物递送载体将引起了人们的极大关注。

功能化聚赖氨酸类材料通过响应不同刺激实现靶向递送。刺激信号可以由 pH 值、温度、氧化还原或其他能够控制释放速率的生物功能组成，见表 1<sup>[20]</sup>。因此本文将根据不同的刺激类型对聚赖氨酸类材料在递送领域的应用进行概述。

表 1 常见刺激响应递送系统

Table 1 Common stimulus response delivery system

系统种类	信号类型	响应基团（键）
pH 值刺激响应型	pH	苯甲酰亚胺键、组氨酸
温度刺激响应型	温度	PNIPAM、泊洛沙姆、弹性蛋白
氧化还原刺激响应型	氧气浓度	硝基苄基氯甲酸酯、二硫键

### 1.1 pH 值刺激响应型

在众多刺激信号类型中，pH 值响应是最主要的智能释药策略。原因在于炎症组织和肿瘤组织的 pH 值低于正常组织，且在递送载体进入细胞跨膜阶段，不同细胞成分的 pH 值也有所不同，如溶酶体 pH 值为 4.5~5.0，内涵体 pH 值为 5.5~6.0，这些微环境 pH 值的差异可以给载体的靶向递送提供前提<sup>[21]</sup>。pH 值响应材料是分子网络中具有酸性或碱性基团，或是利用交联剂中所带的 pH 值响应键，当外界 pH 值发生变化时，这些基团或连接键发生裂解，显示出聚合物材料的 pH 值响应性，外部 pH 值的微小变化可能会对 pH 值响应材料的状态产生显著的影响。聚赖氨酸本身没有与生俱来的裂解特性，但其侧链上的氨基可以作为化学附着位点提供大量的连接平台，供给 pH 值敏感特性基团。

Wang 等<sup>[22]</sup>将 4-癸氧基苯甲醛连接到甲氧基聚乙二醇-聚赖氨酸盐酸盐上以产生 pH 值响应型纳米粒。在生理条件下（pH 7.4），4-癸氧基苯甲醛的烷基通过苯甲酰亚胺键与聚赖氨酸链段相互作用，形成牙刷型结构。pH 值降低会导致苯甲酰亚胺键断裂，超两亲性结构分解为非两亲性组分，导致体系包裹的分子解体 and 释放。所以当 pH 值为 6.5（肿瘤细胞胞外 pH 值）时，纳米颗粒解体释放出药物。

用于结肠疾病的常规口服药物制剂需要施用高剂量的药物以在目标部位达到有效的药物浓度。然而，这会导致严重的全身毒性。为了克服这个问题，Nguyen 等<sup>[23]</sup>开发了一种通过装载大量的泼尼

松龙结合到 3-氨基丙基官能化的介孔二氧化硅纳米粒子 (MCM-NH<sub>2</sub>) 中, 并通过用琥珀酰化的  $\epsilon$ -聚赖氨酸包覆纳米粒子而将泼尼松龙靶向释放到结肠。 $\epsilon$ -聚赖氨酸具有在结肠的 pH 值条件下 (pH 5.5~7.4) 选择性释放泼尼松龙的 pH 值响应能力, 但在胃 (pH 1.9) 或小肠 (pH 5.0) 的更酸的条件则没有。同时实验验证了该载体可以将货物输送到免疫细胞 (RAW 264.7 巨噬细胞) 和肠上皮细胞 (LS 174T、Caco-2 腺癌细胞系) 的细胞内, 因此这种平台为用于治疗炎症性肠病和结直肠癌等结肠疾病的其他新型给药系统铺平了道路。

除去上述聚赖氨酸聚合物的功能化产物以共价键的形式结合形成外, 静电作用、氢键作用、 $\pi$  电子作用、超分子作用等也是可以作为 pH 值智能释药的引发因素。Agazzi 等<sup>[24]</sup>通过将聚赖氨酸树枝状材料与三聚磷酸盐阴离子发生静电作用来构建尺寸可收缩的聚胺盐聚集体。使用树枝状大分子作为纳米结构单元 (直径约 7 nm), 可以形成尺寸明确 (直径约 200 nm)、尺寸分布窄和封装不同分子的纳米粒, 能封装化学治疗剂如姜黄素、阿霉素。当暴露在微酸性环境中时, 聚集体为释放小分子类药物姜黄素、阿霉素提供 pH 值相关的分解, 因此静电结合的基质分解成游离的树枝状大分子单元。

以上为药物递送中的主要应用, 而基因递送要考虑将常见的治疗剂包括有质粒 DNA (pDNA)、反义 RNA (siRNA)、反义寡核苷酸 (AON) 等。将这些基因递送至细胞核需要考虑一个重要的障碍是内体, 内体中具有酸性酶会破坏基因, 因此需要引入内体逃逸功能进行保护。当聚合物具有通过质子化作用吸收质子的能力时, 就会产生质子海绵效应, 导致大量质子被泵入内体囊泡。为保持电荷中性, 反离子也会被输送到囊泡中, 并导致高渗透压, 最终使囊泡破裂, 实现内体逃逸。值得注意的是, 聚赖氨酸没有足够的吸收质子并诱导质子海绵效应, 需要将酸性内体囊泡中逃逸的能力整合到聚赖氨酸上。

如可将聚赖氨酸与聚乙二醇结合。聚乙二醇类聚合物由于其对药物和药物载体的药动学特性的影响, 在靶部位传递重要药物方面受到了广泛的研究。如果将聚赖氨酸类材料与聚乙二醇类材料结合, 得到的共聚物会兼具两种材料的优势, Tian 等<sup>[25]</sup>研究表明, 将聚赖氨酸连接到超支化聚乙二醇上, 得到的共聚物具有聚赖氨酸的优点, 会有比通常与超支化

聚乙二醇相关的更低毒性, 同时保持了超支化聚乙二醇逃避内质体的能力。聚赖氨酸与 pDNA 形成多聚体, 这些多聚体保护 pDNA 不受核酸酶影响, 并提高细胞内化和转染效率<sup>[26-27]</sup>。Boylan 等<sup>[28]</sup>合成了包含聚组氨酸、聚乙二醇和聚赖氨酸 3 个嵌段的 pH 值敏感的 pDNA 纳米粒, 由此产生的多聚体可以通过依赖于笼蛋白的内吞途径穿透缺乏核仁的人支气管上皮细胞, 此外实验发现组氨酸有助于内体逃逸, 而且这种复合体的表现与超支化聚乙二醇一样好, 而且没有与超支化聚乙二醇相关毒性。

不仅组氨酸有助于内体逃逸, 电荷转化聚合物也可以赋予聚赖氨酸内体逃逸的能力。Sanjoh 等<sup>[29]</sup>通过电荷转化聚合物的静电包被将高效的内体逃逸功能整合到 pDNA 与聚赖氨酸的复合物中, 以提高其基因转染效率; 电荷转化聚合物显示出响应于内体 pH 值的电荷转化功能, 导致 pDNA/聚赖氨酸多聚体释放到细胞质中; 细胞吸收完整的电荷转化聚合物整合的三元复合物, 与 pDNA/聚赖氨酸复合物相比, 其对入脐静脉内皮细胞表现出明显更高的转染效率和更低的细胞毒性。

基因治疗的另一个选择是递送 siRNA 实现基因沉默, siRNA 与胞浆蛋白协同作用, 通过降解靶向 mRNA 来抑制基因表达<sup>[30]</sup>。Li 等<sup>[31]</sup>合成并评估了新型二嵌段共聚肽作为抗癌药物和 siRNA 共递送的 pH 值敏感药物递送载体。二嵌段共聚肽以聚-2-二异丙氨基-乙基天冬氨酸和聚赖氨酸为原料合成, 可在中性 pH 值下自组装成稳定的囊泡, 在酸性内体中解体, 表现出 pH 值响应行为。细胞摄取结果表明, 囊泡可以在同一细胞内共同递送阿霉素和 siRNA, 并表现出对 pH 值敏感的释放行为。因此, 这种新型聚合物囊泡是一种很有前景的载体, 可用于共同递送抗癌药物和 siRNA, 以克服耐药性, 并增强癌症治疗。

## 1.2 温度刺激响应型

虽然聚赖氨酸本身对于温度并不敏感, 但在癌症治疗领域, 温度敏感性可以成为靶向递送和释放的有用工具<sup>[32]</sup>, 因此在聚赖氨酸上引入温敏基团也是实现温度刺激响应的方式。常见的温度响应型平台通常使用较低的临界溶液温度 (LCST), 在低于 LCST 的温度下, 聚合物是亲水性的, 具有延伸形式的聚合链, 能包埋药物。当温度高于 LCST 时, 聚合物会经历可逆的、熵驱动的相变, 此时聚合物会变得疏水, 并在自身上凝聚, 从而释放出包埋的

药物<sup>[33]</sup>。可以通过共聚和聚合物链改性来量身定制所需的 LCST，药物在此温度下释放<sup>[34]</sup>。

最广为人知的温度敏感聚合物是聚 *N*-异丙基丙烯酰胺 (PNIPAM)，它在 32 °C 下表现出 LCST 行为。Spasojevic 等<sup>[35]</sup>使用 RAFT 和开环聚合合成了基于 PNIPAM、聚谷氨酸和聚赖氨酸的温度响应性两性离子共聚物，发现 PNIPAM 的长度、聚合物端基的性质以及与其他亲水单体的共聚都会影响 LCST。Shah 等<sup>[36]</sup>利用 PNIPAM-聚丙烯酸与聚赖氨酸形成蠕虫型胶束和与聚乙二醇-聚赖氨酸形成了球形胶束，当温度高于 PNIPAM-聚丙烯酸的转变温度 35 °C 时，蠕虫状胶束失去其结构，而球形胶束保留其结构，并通过荧光标记检测发现，LCST 以上的胶束荧光测量值下降，表明两个系统都没有实质性释放，然而在 LCST 以上胶束猝灭的增加及其冷却后的持久性可以为温度触发的药物提供额外的保护环境。

除了 PNIPAM，还有其他的温敏材料，包括泊洛沙姆、聚环氧丙烷 (PPO)、弹性蛋白等。Naik 等<sup>[34]</sup>使用 1,3-偶极环加成作为偶联策略，合成基于 PPO 和聚赖氨酸的温度响应型嵌段共聚物，在这种特殊情况下，聚合物的温度响应性用于药物封装，而不是药物释放。PPO 在水中的 LCST 为 8 °C，因此，聚合物和药物都可以在 LCST 以下溶解。当温度升高到室温时，聚合物形成了一个不溶性的核心，有效地包裹了药物。由于 PPO 的 LCST 低于室温和体温，所以给药后颗粒不会发生相变<sup>[36]</sup>。

弹性蛋白是一种热敏蛋白，含有独特的重复序列，如 VPGVG。尽管短的弹性蛋白样肽 (ELP) 不表现出温度相关性的相变，但是将 ELP 接枝到聚合物支架上提供了温度相关性的性质。Kojima 等<sup>[37]</sup>将 ELP 与线性聚赖氨酸和聚赖氨酸树状大分子 (PLD) 结合，用于合成弹性蛋白模拟多肽的制备。聚烯丙胺和聚酰胺树状大分子也被用作弹性蛋白模拟聚合物的支架，并比较了它们的热敏性。ELP 接枝的聚赖氨酸显示出比 ELP 接枝的 PLD 更低的相变温度，即使 ELP 接枝的聚赖氨酸的相对分子质量更小。当加热时，弹性蛋白模拟聚合物的构象从无规卷曲变成  $\beta$ -转角结构。然而，当加热时，ELP 接枝的聚赖氨酸形成  $\alpha$ -螺旋。这些结果表明多肽上主链的构象变化影响它们的相变温度。

温度响应平台也具有作为 DNA 载体的潜力。Oupický 等<sup>[38]</sup>制备了聚赖氨酸和 PNIPAM 的热响应

接枝共聚物，发现这些共聚物能够在低于 32 °C 的温度下与 DNA 形成复合物。随着温度升高到 32 °C 以上，复合物分离，释放出 DNA。事实上，聚赖氨酸-PNIPAM 共聚物复合物能够比单独的聚赖氨酸复合物释放更多的 DNA。

### 1.3 氧化还原刺激响应型

缺氧是指细胞或组织中的局部氧气水平明显低于正常水平，缺氧通常与各种病理情况（中风、类风湿性关节炎、动脉粥样硬化和肿瘤）有关。这样的缺氧区远离血管，将治疗剂输送到缺氧区是一个具有挑战性的问题<sup>[39]</sup>。不同氧气水平发生氧化还原反应，从而做出响应的材料与药物构成氧化还原刺激响应型系统。这些系统有化学基团或化学键，如硝基苄基氯甲酸酯、二硫键等；当氧气水平较低时，该基团或化学键会经历氧化还原，从而触发被包裹的药物的释放。

Thambi 等<sup>[40]</sup>以聚乙二醇为亲水嵌段， $\epsilon$ -聚-4-硝基-苄氧羰基-L-赖氨酸为疏水嵌段，制备了一种两亲性嵌段共聚物，用于缺氧敏感性药物释放。由于其两亲性质，嵌段共聚物形成胶束并在水性条件下包封阿霉素。在缺氧条件下，载有阿霉素的胶束表现出快速的细胞内释放速率，这意味着该嵌段共聚物作为癌症治疗的药物载体具有很高的潜力。

基因治疗依赖于基因传递，它利用细胞机制将基因转录，并翻译成治疗性蛋白质。然而，更直接的方法是输送治疗性蛋白质或多肽。Hsiao 等<sup>[41]</sup>通过乳液制备交联的聚赖氨酸、聚乙二醇-聚赖氨酸 (PEG-b-PLL) 和聚赖氨酸-聚腺苷酸 (PLL-b-PSar) 凝胶颗粒，其尺寸主要在 100~250 nm，并且有希望用作蛋白质载体。凝胶颗粒的尺寸和溶液性质取决于聚合物相对分子质量、聚合物组成和交联度。这些凝胶颗粒在宽范围的溶液 pH 值下非常稳定，没有聚集或沉淀，并表现出增强的生物相容性。此外，它们的膨胀或收缩程度显著取决于聚合物组成和交联度。这些凝胶颗粒用于包封 3 种模型蛋白牛血清白蛋白、肌红蛋白和卵磷脂，包封率几乎为 100%，蛋白质仍具有生物活性。体外蛋白质释放研究表明，通过在凝胶网络中引入二硫键可以制备还原响应性凝胶颗粒。通过制备包含二硫化物交联的牛血清白蛋白包封的凝胶颗粒证明了将这些凝胶颗粒用于刺激响应性蛋白质递送的可行性。体外蛋白质释放研究清楚地表明，牛血清白蛋白可以在断裂二硫键时从凝胶颗粒中释放出来。

#### 1.4 多重刺激响应型

除去上述介绍的单一刺激响应型递送系统，目前也存在很多多重刺激响应型递送系统。将多重刺激信号结合以更高效准确地实现靶向目的。主要类型包括温度和 pH 值响应型、pH 值和氧化还原响应型、pH 值和酶响应型等。

Zhao 等<sup>[42]</sup>合成了一系列新型温度和 pH 值响应性嵌段共聚物，由 PNIPAM 和聚赖氨酸组成。通过浊点法、动态光散射和环境扫描电子显微镜研究了 pH 值和聚赖氨酸长度对 PNIPAM 的 LCST 的影响，以及温度、pH 值变化诱导的这些基于聚赖氨酸的共聚物的自组装。这些 PNIPAM-聚赖氨酸共聚物可以在酸性 pH 值和高温下自组装成以 PNIPAM 为疏水嵌段的胶束状聚集体；在碱性 pH 值和低温下，它们可以自组装成以聚赖氨酸为疏水嵌段的颗粒，该共聚物在生物技术和生物医学领域作为药物释放载体具有潜在的应用。

Wang 等<sup>[43]</sup>合成了聚乙二醇和聚-L-赖氨酸嵌段共聚物，并通过将吡哆醛磷酸基团连接到部分聚赖氨酸氨基上，赋予了 pH 值和酶双重响应性。由于磷酸吡哆醛的负电荷和聚赖氨酸的阳离子性质，改性后的共聚物同时具有正负电荷，形成了易于在水溶液中自组装的超两亲性聚合物，得到的纳米粒对 pH 值和磷酸酶都很敏感。在酸性 pH 值条件下，聚赖氨酸和吡哆醛磷酸酶基团之间的亚胺键被破坏，

释放带负电荷的基团，使聚合物回复到其初始状态，导致被包裹的药物释放。类似地，添加磷酸酶会裂解磷酸吡哆醛中磷酸基团，导致带负电荷的基团丢失，并导致聚赖氨酸链之间电荷排斥。反过来，电荷斥力导致颗粒的解体，随后释放了被包裹的药物。

在基因递送研究方面，Cai 等<sup>[44]</sup>设计了一种 pH 值 - 氧化还原双响应的聚乙二醇化的聚赖氨酸载体用于 siRNA 的有效递送。在这种独特的结构中，二硫键连接的聚乙二醇和聚赖氨酸载体 (mPEG-SS-PLL) 的  $\epsilon$ -氨基被组氨酸基团部分取代，以形成组氨酸酰化的可逆聚乙二醇化聚赖氨酸载体 (mPEG-SS-PLH)，用于增强内体逃逸能力。二硫键的氧化还原反应特性允许聚乙二醇选择性脱离，促进有效载荷基因的细胞内释放和转移。实验结果发现对 293T、MCF-7 和 PC-3 细胞，最大转染效率分别为 75%、42%、24%。这些数据表明，转染效率可以等于甚至超过相应细胞中的已商业化产品 PEI-25k (80%、38.5%、20%)。通过荧光成像监测聚复合物的体内循环和生物分布。使用异种移植模型，通过静脉注射 pEGFP 到 BALB/c 小鼠来进行体内基因转染。体内实验结果显示 mPEG-SS-PLH/siRNA-VEGF 可有效抑制肿瘤生长，表明其具有很高的临床应用潜力。

聚赖氨酸不同刺激响应型递送载体的实例见图 2。

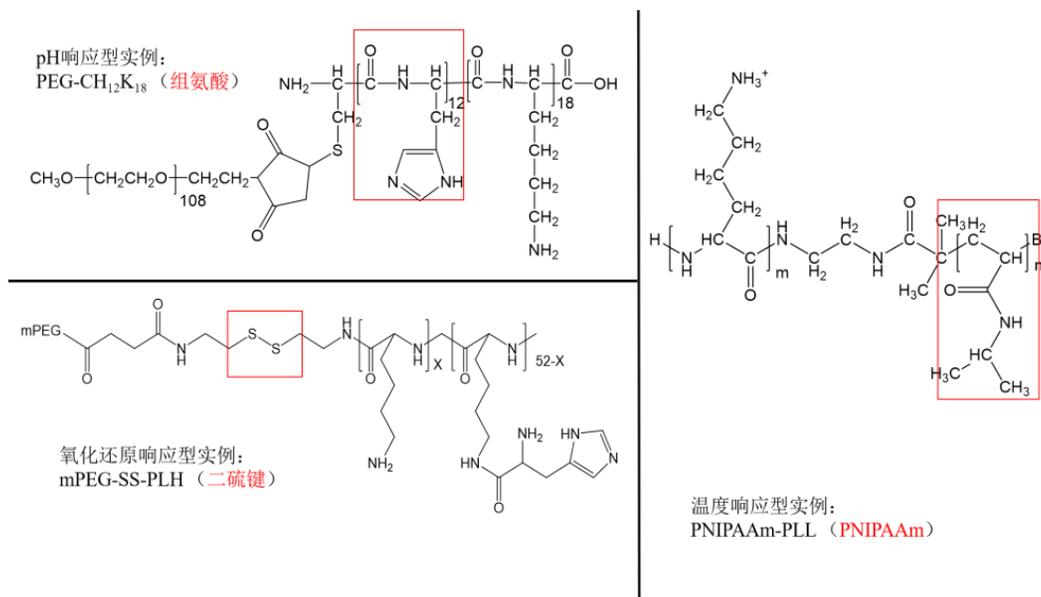


图 2 不同刺激响应型递送载体实例

Fig. 2 Stimulus responsive delivery carrier

## 2 生物黏合剂

缝合已成为外科手术中最常用的组织黏连、控制大出血和缝合伤口的技术。然而，它在止血方面效果不是很好，同时它也不适用于控制器官持续渗血、封闭空气和体液渗漏等情况。针对这些情况，生物黏合剂是一种很好的选择。纤维胶是目前商业化用于伤口愈合、组织黏合和其他生物应用的常用生物黏合剂，但这种合成的胶黏剂存在几个缺点：细胞毒性、降解率低，以及由于其降解产物的持续释放而引起的慢性炎症，限制了它的效果<sup>[45]</sup>。 $\epsilon$ -聚赖氨酸的出现使生物胶黏剂发生了革命性的变化，因为它具有更好的黏接强度、界面黏附性、低细胞毒性或无细胞毒性、生物降解性和降低胶凝时间。基于聚赖氨酸的黏合剂在组织黏合剂、止血材料和伤口愈合等领域的应用正在不断发展。

聚赖氨酸类材料用于组织黏合剂制备的方法基本有金属交联、壳聚糖添加、酶交联等。Li 等<sup>[46]</sup>受贻贝黏附环境启发，将适宜黏附环境的要素 (SAE) 引入金属交联  $\epsilon$ -聚赖氨酸胶黏剂中，获得了具有高黏接性能的金属交联 PVA-聚赖氨酸黏合剂。确定了 SAE 的组成元素为弱碱性 (pH 7.4) 和低  $\text{Fe}^{3+}$  含量。添加 SAE 元素的金属交联胶黏剂 (PLL-Cat/Fe-SAE) 的黏接强度约为纤维蛋白胶的 8 倍。高黏接强度源于 PLL-Cat/Fe-SAE 独特的界面黏附性和黏结强度。结果表明 PLL-Cat/Fe-SAE 能有效封闭皮肤切口，是一种良好的组织黏合剂。

将切断的周围神经迅速而有力地重新连接是神经再生的关键，开发比通常使用的纤维蛋白胶更坚固的生物相容性神经黏合剂将对这一领域很有价值。Zhou 等<sup>[15]</sup>设计了一种由壳聚糖和  $\epsilon$ -聚赖氨酸组成的原位形成神经黏附性水凝胶，模拟天然神经外膜基质的多糖/蛋白质结构，从而增强了与神经的相容性。马来酰亚胺和巯基之间的迈克尔型加成被用作交联反应，以消除对神经的外来损伤，并确保快速的水凝胶形成速度。凝胶化发生在 10 s 内，能很快地封闭切断的神经。与聚赖氨酸分子连接的邻苯二酚基团既增强了水凝胶的整体黏聚力，又增强了水凝胶与神经外膜之间的界面黏附力。

Wang 等<sup>[47]</sup>以聚赖氨酸接枝聚乙二醇和酪胺为原料，通过酶促交联，设计并制备了一种新型的仿生原位水凝胶作为组织黏合剂和止血材料。酶交联方法可以在几秒钟内快速凝胶化，这为其治疗应用提供了便利。通过改变交联条件，可以调节水凝胶

的储能模量，机械强度影响水凝胶的组织黏附性。此外，水凝胶具有良好的网络结构和合适的孔径，这被认为是造成黏附性强的原因之一。由于聚赖氨酸接枝聚乙二醇和酪胺水凝胶具有较强的力学性能和良好的网络结构，与传统医用材料和商品化医用材料相比，具有更好的创面愈合和止血能力。间接细胞毒性实验表明，聚乙二醇和酪胺接枝的聚赖氨酸水凝胶对 L929 细胞无毒性，说明酶促原位交联聚赖氨酸水凝胶在组织封闭剂和止血材料方面具有很高的应用前景。

## 3 生物纤维

纳米纤维的发展一直是生物医学应用发展的关键，因为它在治疗并发症方面具有高效和精确的性能。根据生物医学应用所需的形态要求，纳米纤维的形成已经出现了各种形态的纤维，如芯鞘纤维、共混纤维、中空纤维、单一纤维和复合纤维<sup>[48]</sup>。随着离心纺丝等先进技术的引入，电纺纳米纤维已经发展成为一种专门的医疗保健应用材料，主要用于蛋白质固定和固定抗原/抗体和伤口敷料，见图 3。

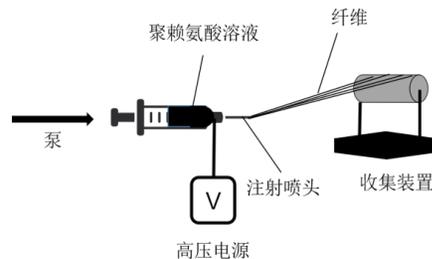


图 3 电纺聚赖氨酸纤维示意图

Fig. 3 Schematic diagram of electrospun polylysine fiber

Lu 等<sup>[49]</sup>开发了用于蛋白质固定化和蛋白质分离纯化的新型生物活性纤维垫。将生物素化聚乙二醇-聚丙交酯-聚赖氨酸两亲三嵌段共聚物与聚丙交酯-乙交酯共电纺成直径约 2  $\mu\text{m}$  的超细纤维，并在纤维表面涂覆一层封闭剂，以阻止蛋白质非特异性结合。在 MTT 实验中没有记录到明显的细胞毒性，证实了纤维在生物医学应用中的良好生物相容性。生物素保留了选择性识别和结合链霉素的能力，而固定化链霉素与抗原、生物素标记的抗体和其他生物部分结合。用甘氨酸/盐酸溶液将固定化抗原从纤维底物上脱除，脱除的抗原保持其生物活性。由此产生的电纺生物素纤维垫能够分离和纯化抗原/抗体、选择性固定蛋白质和制备疫苗。

Amariei 等<sup>[50]</sup>将  $\epsilon$ -聚赖氨酸静电结合到聚丙烯酸 (PAA)/聚乙烯醇 (PVA) 静电纺丝纳米纤维中，

用于伤口敷料。在孵育 14 d 后,这种敷料导致细菌定植比非功能化 PAA-PVA 的敷料低两个数量级。在 24 h MTT 测定中未显示出对人角膜上皮细胞 HCEpC 的细胞毒性,但相同条件下,快速生长的肿瘤 HeLa 细胞的活力降低了大于 50%,显示出这种聚赖氨酸功能化纳米纤维具有优秀的生物相容性、抗菌、抗肿瘤能力,有望成为伤口敷料和生物医学应用的材料。

#### 4 其他

除了在递送载体、生物黏合剂、生物纤维领域的应用,在生物医学其他领域,聚赖氨酸类聚合物凭借其优良的特性也有所应用。如在生物成像中,Liu 等<sup>[51]</sup>报道了用于荧光成像的 pH 值和热敏多离子络合物胶束的合成。胶束是由带相反电荷的聚赖氨酸、聚谷氨酸组成的核,由亲水的 P(NIPAAmco-HMAAm)组成的壳,该 P(NIPAAmco-HMAAm)在正常生理温度下具有相分离温度。荧光胶束是通过引入两种不同颜色的荧光分子来实现的。照片和共聚焦激光扫描显微镜结果表明,荧光标记胶束表现出热和 pH 值相关性荧光,这可能在复杂微环境中的生物成像中得到广泛应用。

在心血管植入物的细胞外基质上进行仿生表面修饰是改善血液相容性的有前途的方法。Li 等<sup>[52]</sup>将胶原蛋白(Col)和硫酸化壳聚糖(SCS)使用逐层自组装技术涂覆在纯钛上。Col-SCS 多层生长的过程如下:首先在 NaOH 处理的钛基板上沉积单层带正电的聚赖氨酸,然后交替沉积带负电的 SCS 和带正电的 Col,并由 SCS 的最外层终止。之后通过实验测定体外血小板黏附情况、部分活化凝血活酶时间(APTT)和凝血酶原时间(PT)用于评估 Col-SCS 多层涂层钛的血液相容性。与未经处理的钛相比,经过多层处理的表面显示出血小板黏附和活化减少,APTT、PT 延长。

#### 5 结语

对聚赖氨酸聚合物材料的深入研究表明,基于聚赖氨酸材料本身的生物相容性、生物降解性、可功能化等优势发展出的众多衍生化产物在生物医学领域应用越来越广泛。聚赖氨酸及其功能化产物与人体功能相互作用的过程中提高了疗效,降低了毒性,在靶向给药系统中发挥了重要作用。生物黏合剂聚赖氨酸水凝胶通过其侧链上阳离子基团与靶组织和黏液层发生离子相互作用而紧密结合,具有更强的黏合性。电纺聚赖氨酸纳米纤维也凭借

抗菌效果,阳离子提供的黏附性,发展成为蛋白质固定化、抗原/抗体固定化、疫苗制备和伤口敷料等领域重要的材料。

聚赖氨酸作为一种已经存在了 50 多年的聚合物仍然是研究的热点。通过将各种基团接连到聚赖氨酸上形成的众多聚赖氨酸衍生物满足了不同领域的各种需求,随着不断地研究,相信会有越来越多成熟的、可商业化的聚赖氨酸产品出现。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] Patil N A, Kandasubramanian B. Functionalized polylysine biomaterials for advanced medical applications: A review [J]. *Eur Polym J*, 2021, 146: 110248.
- [2] Manouchehri S, Zarrintaj P, Saeb M R, et al. Advanced delivery systems based on lysine or lysine polymers [J]. *Mol Pharm*, 2021, 18(10): 3652-3670.
- [3] Sela M, Katchalski E. Biological properties of poly- $\alpha$ -amino acids [J]. *Adv Protein Chem*, 1959, 14: 391-478.
- [4] Wang C, Ren X, Yu C, et al. Physiological and transcriptional responses of streptomyces albus to acid stress in the biosynthesis of epsilon-poly-L-lysine [J]. *Front Microbiol*, 2020, 11: 1379.
- [5] Shi C, He Y, Feng X, et al. E-polylysine and next-generation dendrigraft poly-L-lysine: Chemistry, activity, and applications in biopharmaceuticals [J]. *J Biomater Sci Polym Ed*, 2015, 26(18): 1343-1356.
- [6] Ren B, Wu W, Soladoye O P, et al. Application of biopreservatives in meat preservation: A review [J]. *Int J Food Sci Technol*, 2021, 56(12): 6124-6141.
- [7] Shukla S C, Singh A, Pandey A K, et al. Review on production and medical applications of  $\epsilon$ -polylysine [J]. *Biochem Eng J*, 2012, 65: 70-81.
- [8] Shi C, He Y, Feng X, et al. Epsilon-polylysine and next-generation dendrigraft poly-L-lysine: Chemistry, activity, and applications in biopharmaceuticals [J]. *J Biomater Sci Polym Ed*, 2015, 26(18): 1343-1356.
- [9] Shih I L, Shen M H, Van Y T. Microbial synthesis of poly(epsilon-lysine) and its various applications [J]. *Bioresour Technol*, 2006, 97(9): 1148-1159.
- [10] Ryser H J, Shen W C. Conjugation of methotrexate to poly(L-lysine) increases drug transport and overcomes drug resistance in cultured cells [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1978, 75(8): 3867-3870.
- [11] Levy H B, Baer G, Baron S, et al. A modified polyriboinosinic-polyribocytidylic acid complex that induces interferon in primates [J]. *J Infect Dis*, 1975,

- 132(4): 434-439.
- [12] Ledley F D. Nonviral gene therapy: The promise of genes as pharmaceutical products [J]. *Hum Gene Ther*, 1995, 6(9): 1129-1144.
- [13] Prabahar K, Alanazi Z, Qushawy M. Targeted drug delivery system: Advantages, carriers and strategies [J]. *Indian J Pharm Educ*, 2021, 55(2): 346-353.
- [14] Rhim T, Lee D Y, Lee M. Hypoxia as a target for tissue specific gene therapy [J]. *J Control Release*, 2013, 172(2): 484-494.
- [15] Zhou Y, Zhao J, Sun X, *et al.* Rapid gelling chitosan/polylysine hydrogel with enhanced bulk cohesive and interfacial adhesive force: Mimicking features of epineurial matrix for peripheral nerve anastomosis [J]. *Biomacromolecules*, 2016, 17(2): 622-630.
- [16] Danhier F, Feron O, Preat V. To exploit the tumor microenvironment: Passive and active tumor targeting of nanocarriers for anti-cancer drug delivery [J]. *J Control Release*, 2010, 148(2): 135-146.
- [17] Jones C H, Chen C K, Ravikrishnan A, *et al.* Overcoming nonviral gene delivery barriers: Perspective and future [J]. *Mol Pharm*, 2013, 10(11): 4082-4098.
- [18] Guo X, Huang L. Recent advances in nonviral vectors for gene delivery [J]. *Acc Chem Res*, 2012, 45(7): 971-979.
- [19] Yahya E B, Alqadhi A M. Recent trends in cancer therapy: A review on the current state of gene delivery [J]. *Life Sci*, 2021, 269: 119087.
- [20] Badi N. Non-linear peg-based thermoresponsive polymer systems [J]. *Prog Polym Sci*, 2017, 66: 54-79.
- [21] Gao W W, Chan J M, Farokhzad O C. Ph-responsive nanoparticles for drug delivery [J]. *Mol Pharm*, 2010, 7(6): 1913-1920.
- [22] Wang C, Wang G, Wang Z, *et al.* A ph-responsive superamphiphile based on dynamic covalent bonds [J]. *Chemistry (Easton)*, 2011, 17(12): 3322-3325.
- [23] Nguyen C T, Webb R I, Lambert L K, *et al.* Bifunctional succinylated epsilon-polylysine-coated mesoporous silica nanoparticles for ph-responsive and intracellular drug delivery targeting the colon [J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2017, 9(11): 9470-9483.
- [24] Agazzi M L, Herrera S E, Cortez M L, *et al.* Self-assembled peptide dendrigraft supraparticles with potential application in ph/enzyme-triggered multistage drug release [J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2020, 190: 110895.
- [25] Tian H, Lin L, Jiao Z, *et al.* Polylysine-modified polyethylenimine inducing tumor apoptosis as an efficient gene carrier [J]. *J Control Release*, 2013, 172(2): 410-418.
- [26] Bikram M, Ahn C-H, Chae S Y, *et al.* Biodegradable poly(ethylene glycol)-co-poly(l-lysine)-g-histidine multiblock copolymers for nonviral gene delivery [J]. *Macromolecules*, 2004, 37(5): 1903-1916.
- [27] Pack D W, Hoffman A S, Pun S, *et al.* Design and development of polymers for gene delivery [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2005, 4(7): 581-593.
- [28] Boylan N J, Kim A J, Suk J S, *et al.* Enhancement of airway gene transfer by DNA nanoparticles using a ph-responsive block copolymer of polyethylene glycol and poly-l-lysine [J]. *Biomaterials*, 2012, 33(7): 2361-2371.
- [29] Sanjoh M, Hiki S, Lee Y, *et al.* Pdna/poly(l-lysine) polyplexes functionalized with a ph-sensitive charge-conversional poly(aspartamide) derivative for controlled gene delivery to human umbilical vein endothelial cells [J]. *Macromol Rapid Commun*, 2010, 31(13): 1181-1186.
- [30] Elbashir S M, Harborth J, Weber K, *et al.* Analysis of gene function in somatic mammalian cells using small interfering rnas [J]. *Methods*, 2002, 26(2): 199-213.
- [31] Li Z R, Li J G, Huang J S, *et al.* Synthesis and characterization of ph-responsive copolypeptides vesicles for sirna and chemotherapeutic drug co-delivery [J]. *Macromol Biosci*, 2015, 15(11): 1497-1506.
- [32] Nakayama M, Okano T. Multi-targeting cancer chemotherapy using temperature-responsive drug carrier systems [J]. *React Funct Polym*, 2011, 71(3): 235-244.
- [33] Zarrintaj P, Jouyandeh M, Ganjali M R, *et al.* Thermo-sensitive polymers in medicine: A review [J]. *Eur Polym J*, 2019, 117: 402-423.
- [34] Naik S S, Ray J G, Savin D A. Temperature- and ph-responsive self-assembly of poly(propylene oxide)-b-poly(lysine) block copolymers in aqueous solution [J]. *Langmuir*, 2011, 27(11): 7231-7240.
- [35] Spasojevic M, Vorenkamp J, Jansen M, *et al.* Synthesis and phase behavior of poly(n-isopropylacrylamide)-b-poly(l-lysine hydrochloride) and poly(n-isopropylacrylamide-co-acrylamide)-b-poly(l-lysine hydrochloride) [J]. *Materials (Basel)*, 2014, 7(7): 5305-5326.
- [36] Shah S, Leon L. Structural transitions and encapsulation selectivity of thermoresponsive polyelectrolyte complex micelles [J]. *J Mater Chem B*, 2019, 7(41): 6438-6448.
- [37] Kojima C, Sk U H, Fukushima D, *et al.* Effect of main chain conformation on thermosensitivity in elastin-like peptide-grafted polylysine [J]. *RSC Adv*, 2015, 5(127): 104900-104906.
- [38] Oupický D, Reschel T, Koňák Č, *et al.* Temperature-controlled behavior of self-assembly gene delivery vectors based on complexes of DNA with poly(l-lysine)-graft-

- poly(n-isopropylacrylamide) [J]. *Macromolecules*, 2003, 36(18): 6863-6872.
- [39] Zheng X, Wang X, Mao H, *et al.* Hypoxia-specific ultrasensitive detection of tumours and cancer cells *in vivo* [J]. *Nat Commun*, 2015, 6: 5834.
- [40] Thambi T, Son S, Lee D S, *et al.* Poly(ethylene glycol)-b-poly(lysine) copolymer bearing nitroaromatics for hypoxia-sensitive drug delivery [J]. *Acta Biomater*, 2016, 29: 261-270.
- [41] Hsiao L W, Lai Y D, Lai J T, *et al.* Cross-linked polypeptide-based gel particles by emulsion for efficient protein encapsulation [J]. *Polymer*, 2017, 115: 261-272.
- [42] Zhao C, Zhuang X, He C, *et al.* Synthesis of novel thermo- and ph-responsive poly(l-lysine)-based copolymer and its micellization in water [J]. *Macromol Rapid Commun*, 2008, 29(22): 1810-1816.
- [43] Wang C, Kang Y, Liu K, *et al.* Ph and enzymatic double-stimuli responsive multi-compartment micelles from supra-amphiphilic polymers [J]. *Polym Chem-UK*, 2012, 3(11): 3056-3059.
- [44] Cai X, Zhu H, Dong H, *et al.* Suppression of VEGF by reversible-pegylated histidylated polylysine in cancer therapy [J]. *Adv Healthc Mater*, 2014, 3(11): 1818-1827.
- [45] Mark A M. Surgical adhesives and sealants: Current technology and applications [J]. *Br J Plast Surg*, 1997, 50(6): 1780-1781.
- [46] Li S, Chen N, Li Y, *et al.* Metal-crosslinked varepsilon-poly-l-lysine tissue adhesives with high adhesive performance: Inspiration from mussel adhesive environment [J]. *Int J Biol Macromol*, 2020, 153: 1251-1261.
- [47] Wang R, Zhou B, Liu W, *et al.* Fast in situ generated varepsilon-polylysine-poly (ethylene glycol) hydrogels as tissue adhesives and hemostatic materials using an enzyme-catalyzed method [J]. *J Biomater Appl*, 2015, 29(8): 1167-1179.
- [48] Mahalingam S, Matharu R, Homer-Vanniasinkam S, *et al.* Current methodologies and approaches for the formation of core-sheath polymer fibers for biomedical applications [J]. *Appl Phys Rev*, 2020, 7(4): 041302.
- [49] Lu T, Chen X, Shi Q, *et al.* The immobilization of proteins on biodegradable fibers via biotin-streptavidin bridges [J]. *Acta Biomater*, 2008, 4(6): 1770-1777.
- [50] Amariei G, Kokol V, Vivod V, *et al.* Biocompatible antimicrobial electrospun nanofibers functionalized with  $\epsilon$ -poly-l-lysine [J]. *Int J Pharm*, 2018, 553(1-2): 141-148.
- [51] Liu Y, Li C, Wang H Y, *et al.* Synthesis of thermo- and ph-sensitive polyion complex micelles for fluorescent imaging [J]. *Chemistry (Easton)*, 2012, 18(8): 2297-2304.
- [52] Li Q L, Huang N, Chen J, *et al.* Anticoagulant surface modification of titanium via layer-by-layer assembly of collagen and sulfated chitosan multilayers [J]. *J Biomed Mater Res A*, 2009, 89(3): 575-584.

[责任编辑 解学星]