

- entecavir dispersible tablets [J]. *Chin Pharm J*(中国药学杂志), 2009, 44(22): 1718-1722.
- [12] ALESSANDRA R, ALESSANDRA S, MARCELLA B, et al. Solid-state characterization of paracetamol metastable polymorphs formed in binary mixtures with hydroxypropyl-methylcellulose [J]. *Thermochim Acta*, 2003, 406(1/2): 55-67.
- [13] STULZER K H, RODRIGUES O P, CARDOSO M T, et al. Compatibility studies between captopril and pharmaceutical excipients used in tablets formulations [J]. *J Therm Anal Calorimetry*, 2008, 91(1): 323-328.
- [14] LIANG R C, FAN B J, SUN K X, et al. Study on compatibility between atenolol and tablet excipients by DSC [J]. *China Pharm*(中国药业), 2009, 18(10): 19-22.
- [15] LILTORP K, LARSEN T G, WILLUMSEN B, et al. Solid state compatibility studies with tablet excipients using non thermal methods [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2011, 55(3): 424-428.
- [16] GPH4-1, Chemical pharmaceutical research and basic technical guidelines [S]. 2005: 6.
- [17] WAKASAWA T, SANO K, HIRAKURA Y, et al. Solid-state compatibility studies using a high-throughput and automated forced degradation system [J]. *Int J Pharm*, 2008, 355(1/2): 164-173.
- [18] MONAJJEMZADEH F, HASSANZADEH D, VALIZADEH H, et al. Compatibility studies of acyclovir and lactose in physical mixtures and commercial tablets [J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2009, 73(3): 404-413.
- [19] HARDING L, QI S, HILL G, et al. The development of microthermal analysis and photothermal microspectroscopy as novel approaches to drug-exci-pient compatibility studies [J]. *Int J Pharm*, 2008, 354(1/2): 149-157.

收稿日期: 2011-12-13

聚磷腈免疫佐剂的研究应用概况

侯保才, 宋林花*, 姜翠玉, 刘会萍(中国石油大学(华东)理学院, 山东 青岛 266555)

摘要: 聚磷腈免疫佐剂是一类以聚磷腈骨架为基础的新型免疫佐剂, 在免疫刺激性能, 药物运输性能方面具有其他佐剂无法比拟的优点。本文从聚磷腈免疫佐剂的结构特性、合成、分类、作用机理、降解性能及其微球制备等方面, 阐述聚磷腈作为疫苗佐剂的优势和特点, 并对聚磷腈免疫佐剂的发展前景进行了展望。

关键词: 聚磷腈; 免疫佐剂; 聚[二(对羧基苯氧基)]磷腈; 聚[二(丙酸钠苯氧基)]磷腈

中图分类号: R943.5

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2012)09-0793-06

Study and Application of Polyphosphazene Immunoadjuvant

HOU Baocai, SONG Linhua*, JIANG Cuiyu, LIU Huiping(*College of Science, China University of Petroleum, Qingdao 266555, China*)

ABSTRACT: Polyphosphazene adjuvants is an emerging type of vaccine immunoadjuvants, which is based on apolyphosphazene backbone. It has many advantages than other adjuvants especially in both immune irritancy and drug delivery performance. This paper deals with some specific aspects of Polyphosphazene adjuvants, such as structural properties, synthetic strategy, systematization, mechanism of action, degradation property of polyphosphazene as vaccine immunoadjuvants and preparation of polymer microspheres. The advantage and characteristic of polyphosphazene as vaccine immunoadjuvants have also been elaborated in this research. Ultimately, the developing prospects in this field are forecasted.

KEY WORDS: polyphosphazene; immunoadjuvant; PCPP; PCEP

疫苗是目前人类可以预防控制某一传染性疾病的唯一武器, 但由于各种应激性、免疫抑制性因素的存在, 导致许多疫苗的免疫效果不佳甚至无效, 需要加入免疫佐剂来增强其效力。传统的免疫佐剂如铝佐剂、乳液佐剂、弗氏佐剂在提高疫苗的免疫反应性能方面起到了重要的作用, 但是也存在着安全性不高, 有效性低及普适性差等问题。随着合成肽疫苗、基因工程疫苗、核酸疫

苗、转基因植物口服疫苗等弱免疫原性疫苗的相继问世, 免疫佐剂又面临着前所未有的挑战, 寻求安全、高效、普适性强的新型免疫佐剂就显得尤为迫切。

聚磷腈高分子是以 P、N 原子交替排列作为主链结构的一类新型无机-有机高聚物, 具有有机高分子难以比拟的特性: ①无机骨架能够进行水解, 水解速率可通过侧基调节; ②合成方法对取代基

作者简介: 侯保才, 男, 硕士生 Tel: 15264259763

E-mail: houbaocai521@163.com

通信作者: 宋林花, 女, 硕士, 副教授, 硕士

Tel: (0532)86981571 E-mail: yanzfs@upc.edu.cn

选择性大, 取代基易于引入; ③聚磷腈合成方法产率较高; ④骨架具有独特的柔顺性, 能参与形成非共价键, 以及进行超分子组装。聚磷腈作为一类新兴疫苗佐剂具有高效, 安全, 普适等诸多优点, 成为国内外研究的热点。

1 聚磷腈免疫佐剂的结构特性

聚磷腈免疫佐剂是以氮磷原子单双键交替构成主链, 含有羧酸官能团的有机基团作为侧基的一类水溶性聚磷腈高分子。基本结构见图 1。

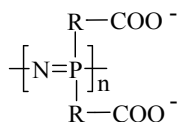


图 1 聚磷腈免疫佐剂的基本结构

Fig 1 A representative structure of polyphosphazene adjuvant

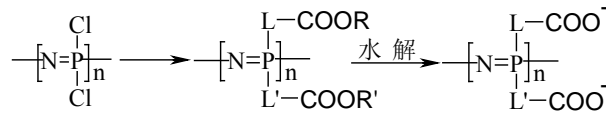
由结构所示, 聚磷腈免疫佐剂具有其它聚合电解质免疫佐剂无法比拟的特性。聚磷腈免疫佐剂的磷氮结构骨架能够发生生物降解, 保证了佐剂和抗原的同步释放; 骨架结构具有很好的柔顺性, 与抗原蛋白结合, 能够促进对抗原蛋白的呈递; 聚磷腈免疫佐剂与抗原蛋白之间通过相对温和和非共价键络合, 而不是通过较强共价键相连, 能够最大限度的保留抗体的完整性; 聚磷腈分子量较大, 离子密度高, 与抗原蛋白形成的络合物稳定性强, 对抗原装载量大。聚磷腈免疫佐剂独特的结构使其能够与疫苗组装成具有超分子结构的微粒, 对药物传输性能好等优点, 是一种极具发展潜力的疫苗佐剂。

2 聚磷腈免疫佐剂的合成方法

聚磷腈合成主要有先取代后聚合和先聚合后取代两种路线。先取代后聚合的聚合反应时间长、产率低、全取代三聚体不易或不能发生开环聚合, 应用较少; 先聚合后取代的亲核取代反应空间位阻低、生成物产率较高, 再加上聚合前体聚二氯磷腈($[\text{NPCI}_2]_n$) 在二乙二醇二甲醚中具有较好的稳定性, 省去了反复合成的繁琐, 是目前聚磷腈制备普遍采用的工艺^[1-2]。

聚磷腈免疫佐剂的制备通常是先通过聚二氯磷腈与亲核试剂发生亲核取代反应制得聚磷腈高分子, 再对聚磷腈高分子的侧基进行功能化修饰, 使侧基中含有羧基。目前聚磷腈免疫佐剂的合成普遍采用含有酯基的亲核试剂, 整个聚磷腈免疫

佐剂的制备过程包括两步: ①含有酯基亲核试剂与聚二氯磷腈的亲核取代反应; ②酯基在碱性条件下水解生成酸的反应。合成路线图见图 2。



其中L与L', R与R' 可以相同也可以不同

图 2 聚磷腈免疫佐剂的合成路线图

Fig 2 Synthetic route of polyphosphazene adjuvant

传统的制备方法把这两步分割开来, 即先通过亲核取代制备, 并分离出含有酯基的聚磷腈, 再在一定的条件下发生酯基水解反应, 这种方法不仅操作繁琐, 反应时间长, 而且处理过程产品损失较大^[3]。而采用一锅煮法就能克服上述问题, 即在单一溶剂中如二乙二醇二甲醚, 先进行亲核取代反应, 制得相应的聚酯, 然后不经过分离直接向反应混合物中加入碱液, 使酯发生水解生成相应的聚磷腈免疫佐剂^[4-5]。由于该方法操作简单、产率高为大多数研究者所采用。

3 聚磷腈免疫佐剂的种类及其特点

自从 20 世纪 90 年代首次发现水溶性聚磷腈可以用作免疫佐剂以来, 目前发现具有免疫增强活性的聚磷腈已有 40 多种, 根据侧基取代基种类的不同可以分为均聚聚磷腈免疫佐剂和共聚聚磷腈免疫佐剂^[6-7], 一些常见的聚磷腈免疫佐剂结构式见图 3。

3.1 均聚聚磷腈免疫佐剂

均聚聚磷腈免疫佐剂以聚[二(对羧基苯氧基)]磷腈 {Poly[di(carboxylatophenoxy)Phosphazene]PCPP} 和聚[二(丙酸钠苯氧基)]磷腈 {Poly[di(sodiumcarboxylatoethylphenoxy)Phosphazene]PCEP} 为代表, 是侧基中只含有一种有机基团的聚磷腈, 由聚二氯磷腈与相应的单一亲核试剂反应制得。其中 PCPP 是第一个发现具有免疫增强活性的聚磷腈, 也是研究最多的一个聚磷腈免疫佐剂^[3,8]。在此基础上, Andrianov 等发现了一大批具有免疫增强活性的水溶性聚磷腈, PCEP 就是其中之一, 其免疫增强活性比 PCPP 还高^[6,9]。

3.2 共聚聚磷腈免疫佐剂

共聚聚磷腈免疫佐剂的侧基中含有两种或者多种有机基团的聚磷腈, 由聚二氯磷腈同时与不同的亲核试剂反应制得, 其侧基中至少有一类是含有

羧基官能团。和羧基官能团相比, 甲氧基乙氧基乙氧基、酚氧基、烷氧基等基团的亲水性相对较弱, 它们的引入对聚合物的溶解特性, 水解性能, 生物活性具有一定的调节作用。这类聚磷腈免疫佐剂大多是均聚聚磷腈免疫佐剂的衍生物, 如 PCPP 的衍生物 $[NP(OC_2H_4OCH_3)_x(OC_6H_4COOH)_y]_n$, $[NP(OC_2H_4OC_2H_4OCH_3)_x(OC_6H_4COOH)_y]_n$, 虽然是均聚聚磷腈免疫佐剂的衍生物但却具有较高的免疫增强活性, 有时甚至比其均聚物还要高^[10]。

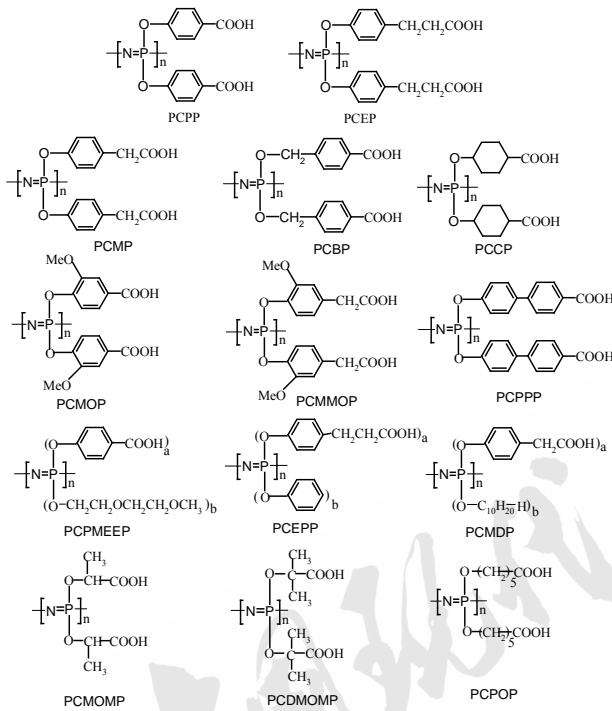


图 3 聚磷腈免疫佐剂
Fig 3 polyphosphazene immunoadjuvants

3.3 聚磷腈免疫佐剂的特点

3.3.1 免疫增强活性高, 反应迅速、持久 与传统的铝佐剂, 完全弗氏佐剂(CFA), 以及 Ribi(RAS)佐剂和皂甙类(QuilA, QS-7, QS-21)免疫刺激复合物相比, 聚磷腈免疫佐剂与疫苗结合能够降低疫苗用量, 提高疫苗的快速反应性能, 诱导产生的抗体滴度高, 持续时间长^[4,11-12]。如 PCPP 作为流感病毒 X:31 抗原佐剂免疫(小鼠)结果表明其诱导产生的抗体滴度比铝佐剂制剂高出 1 000 倍, 当抗原剂量减少为 1/25 时, 免疫反应性能并不会受到明显的影响, 接种后 3 周, 抗体滴度增加了 10 倍, 持续 21 周不发生下降^[13-14]。与同类型的带负电荷的离子型聚甲基丙烯酸和聚丙烯酸相比, 聚磷腈免疫佐剂也具有超强的免疫佐剂活性^[15]。

PCPP 作为合成霍乱菌 TcpA4、TcpA6 的佐剂, 免

疫两次(每隔四周免疫接种一次)结果表明抗体滴度比抗原对照组的高出接近 100 倍, 无论是在 1LD50 或 10LD50 攻击下, PCPP-抗原制剂对免疫小鼠的保护效果都要高于环氧乙烷-环氧丙烷共聚物(CRL-1005)-抗原制剂^[16]。

3.3.2 广谱性高, 适用性强 聚磷腈免疫佐剂能够与多种抗原结合, 在动物实验和临床实验上都得了较好的效果, 是一种高效、广谱的免疫佐剂。如 PCPP 已与 10 种细菌和 13 种病毒抗原配伍在 11 种动物模型中进行了测试, 其中抗原有三价流感病毒疫苗、乙型肝炎表面抗原、单纯疱疹病毒糖蛋白 gD2、破伤风类毒素、B 型流感嗜血杆菌多糖(PRP)、合成多肽 TcpA4, TcpA6 菌毛蛋白毒素、轮状病毒灭活粒、福尔马林灭活 HIV-1LAI 病毒^[11-13,15-20]。

聚磷腈免疫佐剂在临床试验中也取得了较好的效果, 如 PCPP 作为艾滋病 GP160 疫苗的佐剂, 在接种 193 d 后, 在 5 个成年接种者体内都产生 HIV 的 Western Blot 反应。相比之下, 明矾为佐剂接种的 5 个成年自愿者中只有 3 个产生 HIV 的 Western Blot 反应^[21-22]。

3.3.3 与其他免疫佐剂共同使用时, 具有协同作用 聚磷腈免疫佐剂不仅能够单独使用发挥免疫增强活性, 还可以与其他佐剂混合使用。由于聚磷腈免疫佐剂和由 CpGDNA 佐剂诱导产生的免疫反应相似, PCEP 和 CpG 混合使用具有很强的协同作用, 能够激活先天免疫性能, 从而提高疫苗的免疫反应性能^[14,23]。Kovacs-Nolan 等^[24]对 CpG+ 吡啶+PCPP 作为鸡蛋清溶菌酶(HEL)抗原佐剂的研究表明, PCPP 的加入提高了先天性免疫反应应答, 促进了体内 IFN- α , TNF- α 和 IFN- γ 的分泌, 增强机体对特定抗原的体液免疫和细胞免疫应答。Mapletoft 等^[25]研究发现 PCPP 与 CPG 寡核苷酸的组合作为福尔马林灭活疫苗(Fi-RSV)佐剂诱导产生的抗体滴度远高于单一佐剂, 特别是粘膜中 IgA 和病毒中和抗体与单一佐剂具有显著的不同。

3.3.4 与疫苗结合, 可通过多种方式对机体进行免疫 聚磷腈免疫佐剂可以采用多种方式对机体接种免疫, 除可进行皮下注射免疫, 肌肉注射免疫, 粘膜免疫, 以及鼻内免疫等常规方式免疫外^[14,18,25-27], 还可以借助微针阵列技术, 通过微针进行皮内免疫。微针皮内免疫能够节省疫苗用量, 提高免疫制剂使用寿命和免疫反应能力, 但并不是所有的佐剂都适合使用这种方法, 如在免疫领

域最常用的铝佐剂就适合采用微针免疫，微针免疫需要兼容性的免疫佐剂体系。而聚磷腈免疫佐剂在微针免疫过程中既是包裹疫苗的关键纤维材料，又是疫苗的免疫佐剂。作为微针加工材料，聚磷腈免疫佐剂与抗原之间通过相对稳定的非共价键相连，在保护抗原生物活性的同时，提高了对抗原装载量；微针加工过程不需要加入表面活性剂来提高抗原-佐剂制剂的湿润性和涂层的均一性，降低了对表面活性剂的依赖，加速了免疫微针的加工工艺进程。作为免疫佐剂，聚磷腈免疫佐剂能够对抗原蛋白进行控制释放，减少疫苗用量，提高疫苗的免疫反应性能^[28-29]。

3.3.5 聚磷腈免疫佐剂具有良好的安全、稳定性 首先聚磷腈免疫佐剂具有较好的生物相容性，生物降解性能，降解产物不会对机体产生毒害作用。如 PCPP 降解产生的磷酸盐，铵盐以及羟基苯甲酸类物质可随机体代谢排出体外。其次，聚磷腈免疫佐剂和疫苗共同使用时不会产生副作用。如 PCPP 作为疫苗佐剂和治疗 HIV 疫苗混合使用，能够提高机体的免疫性能，而不会产生毒副作用和安全问题^[22]。更重要的是聚磷腈免疫佐剂在水溶液中对蛋白抗原具有较高的稳定性，与蛋白质结合时不会对其活性产生影响，有利于提高疫苗的有效保质期，同时降低对疫苗运输、储藏过程对温度的依赖^[30]。

4 聚磷腈微球的应用

用微球包裹疫苗可使抗原蛋白在体内免受酸、碱及生物酶的破坏，避免母源抗体的中和作用，同时微球对抗原的控制释放，延长了疫苗的免疫期，减少了免疫次数。聚磷腈免疫佐剂具有良好的生物相容性、生物降解性、电解质特性和离子络合性能，可在温和的条件下(较低温度，无需有机溶剂)通过与其它试剂进行交联来制备成包裹抗原的微球疫苗。聚磷腈既是微球制备所需的“载体材料”，又是所包裹疫苗的佐剂，温和的制备条件保证了抗原蛋白生物活性的完整性，因此把聚磷腈免疫佐剂制备成包裹抗原的微球，可极大地提高对疫苗运输性能及疫苗免疫活性^[31]。

包裹在聚磷腈微球中的疫苗可通过扩散作用，聚磷腈聚合物骨架的降解，以及由于交联剂的离子交换作用所导致的聚合物的溶解作用从聚磷腈微球中脱离出来。疫苗的释放速度可以通过包封参数的改变，交联剂的不同，或者通过聚合

阳离子对微球进行包衣来调节^[32-35]。把聚磷腈免疫佐剂制备成包裹抗原的微球，拓展了聚磷腈免疫佐剂在粘膜免疫及疫苗控制释放领域的应用。

5 聚磷腈免疫佐剂的作用机理

聚磷腈免疫佐剂的作用机理目前尚不清楚，但是与矿物胶体、乳剂类佐剂通过在注射部位形成抗原储池，以延缓抗原释放，延长免疫反应，提高免疫记忆细胞数量的机理不同，把 PCPP-疫苗制剂从注射部位切除并不会对抗体诱导产生任何影响^[13]；也不同于其他聚合电解质通过共价键与抗原结合来发挥其免疫效能的机理，聚磷腈免疫佐剂与抗原之间并没有形成共价键，却具有较高的免疫佐剂活性。对此，Andrianov 等根据目前水溶性聚合电解质络合物的知识，提出聚磷腈能够与抗原形成一种水溶性非共价键络合物，这种络合物能够吸附在细胞表面，使膜蛋白质发生聚集，刺激细胞内的离子通量，最终增强了免疫反应。在这过程中抗原蛋白数量，“蛋白质呈递”的效率，以及佐剂的特性对络合物的生物活性起着关键作用^[36-37]。

但是，通过用 PCEP 和 CPG 寡核苷酸共同作为佐剂实验发现，PCEP 和 CPG 寡核苷酸佐剂是通过激活先天免疫细胞分泌产生与免疫反应相关细胞因子来达到提高免疫反应的性能。因此，Mutwiri 等^[14]认为通过激活先天免疫来发挥其作为佐剂的活性也是 PCEP 发挥起免疫佐剂活性的机理之一。

也有人认为聚磷腈免疫佐剂的活性是由于聚磷腈与抗原蛋白的非共价键络合作用较为温和，保存了抗原的完整性，以及聚磷腈免疫佐剂接种后在生物体内仍然保持着水溶性使其具有高生物活性的原因^[13]。

虽然聚磷腈免疫佐剂的具体作用机理还有待进一步研究，但是可以肯定的是聚磷腈免疫佐剂结构的不同，其免疫反应性能也不同。PCPP 免疫佐剂主要和 Th2 免疫反应反应有关；而其他多种聚磷腈免疫佐剂，包括 PCPP 共聚物以及 PCEP 免疫佐剂主要和 Th1/Th2 的混合免疫反应有关^[4,10,13-14]。对于结构相同或相似的聚磷腈免疫佐剂来说，聚合物分子量，聚合物中羧基的含量不同，其免疫增强活性不同。聚合物分子量越高，与抗原形成的络合越稳定，一般来讲聚磷腈免疫的分子量在 5 000~10 000 000 g·mol⁻¹ 之间，如 PCPP 作为三价流感疫苗佐剂，当分子量为 1 000 000 g·mol⁻¹ 时，

活性达到最大；羧酸基的含量会影响聚合物的离子密度、亲疏水性、酸敏性等特性，进而影响免疫增强活性^[5,10,17]。

6 聚磷腈免疫佐剂的水解性能

生物降解性能是药用高分子材料的一个重要特性，即能够在生理环境中以一定的速率进行生物降解，降解产物无毒或者低毒，可通过人体的正常代谢排出体外。对免疫佐剂来说可生物降解特性尤为重要，即要求佐剂与抗原混合能延长抗原在局部组织的存留时间，减低抗原的分解速度，使抗原缓慢释放至淋巴系统中，持续刺激机体产生高滴度的抗体；又要求佐剂的本身及其降解产物对机体不会产生毒副作用。聚磷腈免疫佐剂具有良好的生物相容性，物理化学性质相对稳定，在生物体内降解为对细胞无毒害作用的磷酸盐、氨和相应的侧基，降解产物不易导致炎症反应。通过对 PCPP 与 PCEP 降解研究表明，聚磷腈免疫佐剂降解过程是酸催化过程。pH 越小，其降解速率越大；初始降解速度较快；如果取代不完全，残留的氯原子和羟基会对水解速率产生严重的影响，残留氯原子或羟基越多，其降解越快；向其水溶液中加入能形成氢键的水溶性物质，能够显著加速降解，而无机盐(如氯化钠，氯化钾)的加入则对降解起到一定的阻碍作用^[38]。

对聚磷腈免疫佐剂降解速率的调节，既可以利用聚磷腈的“结构缺陷”，通过严格控制残留氯原子或羟基的量来调节聚磷腈的降解速率，也可以通过向聚合物骨架中引入易于水解的侧基来对降解速率进行调节。

7 展望

聚磷腈高分子结构多样，理化性质灵活可调，合成方法简单、产量高，应用范围广。聚磷腈免疫佐剂能够与蛋白质形成络合物用来运载、稳定、保护配体，可以说无论是在免疫刺激特性，还是药物运输性能方面，聚磷腈免疫佐剂都表现出了传统佐剂和同类型佐剂所不具备的优点，如生物活性高，适用范围广，安全性能好，性价比高等。可以预见，随着新型弱免疫原性疫苗的不断出现，聚磷腈免疫佐剂将为新型疫苗佐剂的开发和应用提供前所未有的机遇。

REFERENCES

[1] ANDRIANOV A K, CHEN J P, LEGOLVAN M P.

Poly(dichlorophosphazene) as a precursor for biologically active polyphosphazenes: synthesis, characterization, and stabilization [J]. *Macromolecules*, 2004, 37(2): 414-420.

- [2] ANDRIANOV A K, SARGENT J R, SULE S S, et al. Polyhalophosphazene solutions stable Against Gelation: US, 5707597 [P]. 1998-01-13.
- [3] ALLCOCK H R, KWON S. An ionically cross-linkable polyphosphazene: poly [bis(carboxylatophenoxy)phosphazene] and its hydrogels and membranes [J]. *Macromolecules*, 1989, 22(1): 75-79.
- [4] ANDRIANOV A K, MARIN A, CHEN J. Synthesis, properties, and biological activity of poly[di(sodiumcarboxylatoethylphenoxy) phosphazene] [J]. *Biomacromolecules*, 2006, 7(1): 394-399.
- [5] ANDRIANOV A K, SVIRKIN Y Y, LEGOLVAN M P. Synthesis and biologically relevant properties of polyphosphazene polyacids [J]. *Biomacromolecules*, 2004, 5(5): 1999-2006.
- [6] ANDRIANOV A K, MARIN A. Immunostimulating polyphosphazene compounds: US, 355737 [P]. 2006-08-31.
- [7] ANDRIANOV A K. Water-soluble polyphosphazenes for biomedical applications [J]. *J Inorg Organometallic Poly Mater*, 2006, 16(4): 397-406.
- [8] ALLCOCK H R, ANDRIANOV A K, LANGER R S, et al. Phosphazene polyelectrolytes as immunoadjuvants: US, 5562909 [P]. 1996-10-08.
- [9] ANDRIANOV A K, JENKINS S A, PAYNE L G, et al. Phosphazene polyelectrolytes as immunoadjuvants: US, 5494673 [P]. 1996-02-27.
- [10] ANDRIANOV A K, SARGENT J R, SULE S S, et al. Synthesis, physico-chemical properties and immunoadjuvant activity of water-soluble phosphazene polyacids [J]. *J Bioactive Compatible Polymers*, 1998, 13(4): 243-256.
- [11] PAYNE L G, JENKINS S A, ANDRIANOV A, et al. Water-soluble phosphazene polymers for parenteral and mucosal vaccine delivery [J]. *Pharm Biotechnol*, 1995, 6: 473-493.
- [12] MCNEAL M M, RAE M N, WARD R L. Effects of different adjuvants on rotavirus antibody responses and protection in mice following intramuscular immunization with inactivated rotavirus [J]. *Vaccine*, 1999, 17 (11-12): 1573-1580.
- [13] PAYNE L G, JENKINS S A, WOODS A L, et al. Poly[di(carboxylatophenoxy) phosphazene] (PCPP) is a potent immunoadjuvant for an influenza vaccine [J]. *Vaccine*, 1998, 16(1): 92-98.
- [14] MUTWIRI G, BENJAMIN P, SOITA H, et al. Poly[di(sodium carboxylatoethylphenoxy) phosphazene] (PCEP) is a potent enhancer of mixed Th1/Th2 immune responses in mice immunized with influenza virus antigens [J]. *Vaccine*, 2007, 25(7): 1204-1213.
- [15] PAYNE L G, VAN NEST G, BARCHFELD G L, et al. PCPP as a parenteral adjuvant for diverse antigens [J]. *Dev Biol Stand*, 1998, 92: 79-87.
- [16] WU J Y, WADE W F, TAYLOR R K. Evaluation of cholera vaccines formulated with toxin-coregulated pilin peptide plus polymer adjuvant in mice [J]. *Infect Immun*, 2001, 69(12): 7695-7702.
- [17] PAYNE L G, JENKINS S A, ANDRIANOV A, et al. Xenobiotic polymers as vaccine vehicles [J]. *Adv Exp Med Biol*, 1995, 371B: 1475-1480.
- [18] ANDRIANOV A K, MARIN A, ROBERTS B E. Polyphosphazene polyelectrolytes: a link between the formation of noncovalent complexes with antigenic proteins

- and immunostimulating activity [J]. *Biomacromolecules*, 2005, 6(3): 1375-1379.
- [19] ANDRIANOV A K. Polyphosphazenes for biomedical applications [M]. New Jersey: John Wiley & Sons Inc., 2009: 45-115.
- [20] LU Y, SALVATO M S, PAUZA C D, et al. Utility of SHIV for testing HIV-1 vaccine candidates in macaques [J]. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol*, 1996, 12(2): 99-106.
- [21] GILBERT P B, CHIU Y L, ALLEN M, et al. Long-term safety analysis of preventive HIV-1 vaccines evaluated in AIDS vaccine evaluation group NIAID-sponsored phase I and II clinical trials [J]. *Vaccine*, 2003, 21(21-22): 2933-2947.
- [22] KIM J H, KIRSCH E A, GILLIAM B, et al. A phase I, open label, dose ranging trial of the Pasteur Merieux Connaught (PMC) oligomeric HIV-1 Gp160mn/LAI-2 vaccine in HIV seronegative adults: Abstracts of the 37th Annual Meeting of the Infectious Diseases Society of America, Philadelphia, November 17-21, 1999 [C]. p1028.
- [23] MUTWIRI G, GERDTS V, LOPEZ M, et al. Innate immunity and new adjuvants [J]. *OIE Rev Sci Tech*, 2007, 26(1): 147-156.
- [24] KOVACS-NOLAN J, MAPLETOFT J W, LATIMER L, et al. CpG oligonucleotide, host defense peptide and polyphosphazene act synergistically, inducing long-lasting, balanced immune responses in cattle [J]. *Vaccine*, 2009, 27(14): 2048-2054.
- [25] MAPLETOFT J W, OUMOUNA M, KOVACS-NOLAN J, et al. Intranasal immunization of mice with a formalin-inactivated bovine respiratory syncytial virus vaccine co-formulated with CpG oligodeoxynucleotides and polyphosphazenes results in enhanced protection [J]. *J Gen Virol*, 2008, 89(Pt 1): 250-260.
- [26] ENG N F, GARLAPATI S, GERDTS V, et al. PCEP enhances IgA mucosal immune responses in mice following different immunization routes with influenza virus antigens [J]. *J Immune Based Ther Vaccines*, 2010, 8(4): 1-11.
- [27] PAYNE L G, JENKINS S A, WOODS A L, et al. Poly[di(carboxylatophenoxy) phosphazene](PCPP) is a potent immunoadjuvant for an influenza vaccine [J]. *Vaccine*, 1998, 16(1): 92-98.
- [28] ANDRIANOV A K, DECOLLIBUS D P, GILLIS H A, et al. Poly[di(carboxylatophenoxy)phosphazene] is a potent adjuvant for intradermal immunization [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106(45): 18936-18941.
- [29] ANDRIANOV A K, MARIN A, DECOLLIBUS D P. Microneedles with intrinsic immunoadjuvant properties microfabrication, protein stability, and modulated release [J]. *Pharm Res*, 2011, 28(1): 58-65.
- [30] MARIN A, DECOLLIBUS D P, ANDRIANOV A K. Protein stabilization in aqueous solutions of polyphosphazene polyelectrolyte and non-ionic surfactants [J]. *Biomacromolecules*, 2010, 11(9): 2268-2273.
- [31] COHEN S, BERNSTEIN H. Microparticulate systems for the delivery of proteins and vaccines [M]. New York: Marcel Dekker Inc., 1996: 127-147.
- [32] ANDRIANOV A K, CHEN J. Polyphosphazene microspheres: Preparation by ionic complexation of phosphazene polyacids with spermine [J]. *J Appl Polym Sci*, 2006, 101(1): 414-419.
- [33] ANDRIANOV A K, PAYNE L G. Protein release from polyphosphazene matrices [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 1998, 31(3): 185-196.
- [34] ANDRIANOV A K, PAYNE L G. Polymeric carriers for oral uptake of microparticulates [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 1998, 34(2-3): 155-170.
- [35] ANDRIANOV A K, COHEN S, VISSCHER K B, et al. Controlled release using ionotropic polyphosphazene hydrogels [J]. *J Controlled Release*, 1993, 27(1): 69-77.
- [36] SINGH M. Vaccine Adjuvants and Delivery Systems [M]. New Jersey: John Wiley & Sons Inc., 2007: 355-378.
- [37] KABANOV V A. From synthetic polyelectrolytes to polymer-subunit vaccines [J]. *Pure Appl Chem*, 2004, 76(9): 1659-1677.
- [38] DECOLLIBUS D P, MARIN A, ANDRIANOV A K. Effect of environmental factors on hydrolytic degradation of water-soluble polyphosphazene polyelectrolyte in aqueous solutions [J]. *Biomacromolecules*, 2010, 11(8): 2033-2038.

收稿日期: 2012-01-05

本刊有关斜体的使用说明

撰写规范是给论文增光添色的一部分,也有利于普通读者阅读。因此,本刊在此给出斜体的使用说明,供广大读者参考。斜体可适用于下述情况:

(1)数学变量符号,如 a , b , c , x , y , z 等;变动附标如 $\sum_{i=1}^n a_i$ 中的 i 与 n 。

(2)坐标图中的原点 O 及 x , y , z 轴。

(3)函数符号 f , g , D , N , F , E 等。

(4)物理量符号,如 p , P , V , T , η , I , R , S 等。

(5)化合物英文名称、缩写符号或少数中文名称前表示位置、异构方式、结合方式等意义的词汇。如 n -(正), i -(异), cis -(顺式), $trans$ -(反式), o -(邻), m -(间), p -(对), sec -(仲), $tert$ -或 t -(叔), sym -(对称,均), $unsym$ -(不对称,偏), d -(右旋), dl -(外消旋), l -(左旋)、(E)-苯甲醛中的 E 、(Z)-2-甲基-2-丁烯酸中的 Z 、(R)-甘油醛中的 R 、(S)-甘油-1-甲醚中的 S 等。

(6)化合物名称中表示与特定原子相连的符号。如 N -(与氮原子连接,大斜), O -(与氧原子连接,大斜), S -(与硫原子连接,大斜)等。

(7)化学命名中表示基团位置的 α -, β -, γ -, ω -, 稠环化合物中母体各边编号用 a , b , c 等表示。

(8)配合物配体中的 π 键以及配体名称前所冠的词头 η -, σ -均为斜体。

(9)生物分类学中表示属名和种名的拉丁文字母。这在动物学、植物学、微生物学、中草药和病名中较为常见。