

·药学前沿·

纳米粒跨越生物屏障研究进展

石歆莹, 范学工*

(中南大学湘雅医院, 长沙 410008)

摘要 目的 综述近年来用纳米粒载体跨越血脑屏障和细胞生物膜屏障的研究进展。方法 参阅有关文献, 对其进行分析、综合和归纳。结果和结论 机体天然的生物屏障, 如血脑屏障、血眼屏障、细胞生物膜屏障等, 有重要的保护作用, 但也不利于病变部位的治疗。以纳米粒为载体, 利用细胞的内存作用, 协助药物跨越生物屏障, 可提高药物在这些部位的治疗作用。

关键词 纳米粒; 血脑屏障; 细胞生物膜屏障; 胞内感染; 反义寡核苷酸

中图分类号: R972⁺. 4; R944. 4 文献标识码: A 文章编号: 1000-5048(2002) 03-0169-04

机体天然的生物屏障, 如血脑屏障、血眼屏障、细胞生物膜屏障等, 虽有重要的保护作用, 但使许多药物达不到治疗部位、或治疗部位的浓度远低于有效治疗浓度而不能充分发挥药效, 不利于这些部位病变的治疗。

纳米粒 (nanoparticle, NP) 是一类固态胶体粒子, 粒径为 10 1000 nm 之间, 由天然或人工的高分子物质构成。近年来研究表明, 借助于纳米粒载体的靶向性, 一些药物可通过生物屏障, 充分发挥药物在这些特殊部位的治疗作用。

本文综述了近年来以纳米粒为载体药物跨越血脑屏障和细胞生物膜屏障的研究进展。

1 纳米粒的结构和靶向性

纳米粒根据制备工艺和材料的差异, 又称为纳米球、毫微球 (nanosphere) 和纳米囊、毫微囊 (nanocapsule), 前者为基质骨架型, 药物吸附在表面、包封在内部或溶解于其中; 后者属药库膜壳型, 由高分子材料形成的外壳和液状内核构成, 药物通常集中在内层或吸附在壳层表面。

纳米粒用作药物载体的研究始于 1976 年, 从 Birnbaach 等制备了第一个纳米粒体系——聚丙烯酰胺纳米粒以来, 纳米粒的研究一直吸引人们兴

趣, 一个重要原因是它在体内的转运具有靶向性, 可改变药物在体内的分布。

纳米粒具有被动靶向性, 进入循环系统后, 通常迅速被单核吞噬细胞系统 (Mononuclear Phagocyte System, MPS) 摄取而从血流中清除, MPS 主要分布于肝, 其次是脾、肺、骨髓等。对纳米粒进行修饰处理, 则可改变其表面性质和靶向性, 由被动靶向转为主动靶向。

2 跨越血脑屏障

2.1 血脑屏障对药物通透的限制

血脑屏障是血液和大脑之间的、主要由毛细血管内皮细胞构成的结构, 与机体其他器官的毛细血管不同, 内皮细胞之间连接紧密, 可阻止病原体等外源物质的侵入, 对中枢神经系统起到保护作用。

许多药物, 如抗菌药物、抗肿瘤药物和其他作用于中枢神经系统的药物难以越过血脑屏障, 使治疗药物的转运受阻而影响疗效。虽然有些药物具有亲脂性, 可以扩散的方式透过内皮细胞, 但又迅速被血脑屏障上的外排泵系统泵回毛细管血流, P-糖蛋白就属于这类泵系统。为了克服血脑屏障对药物转运的限制, 有学者曾用渗透压来打开内皮细胞间的紧密连接, 但这样做极具侵袭性, 易使不需

要的、甚至是有害的物质进入颅内;有学者用高亲脂性的前体药物,以便更好地透过亲脂性内皮细胞屏障,但这种方法通常不容易实现^[1]。

2.2 药物纳米粒通过血脑屏障的研究

纳米粒载体有望克服血脑屏障对药物转运的限制。

聚氰基丙烯酸正丁酯(polybutylcyanoacrylate, PBCA)纳米粒是目前唯一能透过血脑屏障的纳米粒。以 PBCA 为载体,已成功地将达拉根(dalargin)、kytorphin、洛哌丁胺、筒箭毒碱、阿霉素和 *N*-甲基-*D* 天门冬氨酸(NMDA)受体拮抗剂 MRZ2/576 等药物输送到了颅内。达拉根是第一个以纳米粒为载体实现脑部靶向给药的药物,它是亮脑肽类药物,不能透过血脑屏障。将 PBCA 纳米粒与达拉根结合,用聚山梨酯醇 80 包被后,以游离药物和未包被的达拉根纳米粒作对照,静脉注射小鼠,然后进行热板试验和甩尾测痛法试验,表明给药后有止痛效应^[2-4],而游离药物和未包被的纳米粒药物均无止痛效应^[4]。Kytorphin 和洛哌丁胺也是难以透过血脑屏障的镇痛药,与纳米粒结合后,动物实验表明具有与达拉根相似的生物学效应^[5]。

纳米粒不仅能帮助药物通过血脑屏障输送至颅内,而且还能延长某些药物在中枢神经系统的作用时间。MRZ2/576 (8-chloro-4-hydroxy-1-oxol, 2-dihydropyridazino[4, 5-b] quinoline-5-oxide choline salt) 是 NMDA 受体的一种新型拮抗剂,有明显的药效,可防止电休克引发的惊厥,但作用时间短,很可能是因为药物进入中枢神经系统后,又迅速被泵回血流。丙磺舒可抑制泵回,用丙磺舒预处理动物,MRZ2/576 抗惊厥作用可延长至 15~150 min。如果以纳米粒为载体,经静脉注射给药,作用时间可延长至 210 min;若在丙磺舒预处理后注射 MRZ2/576 纳米粒,作用时间可延长至 270 min^[6]。

纳米粒能透过血脑屏障,实现脑位靶向给药,将有助于脑部肿瘤的治疗。与其他系统的肿瘤相比,脑部肿瘤因血脑屏障的存在而难以施治。Gulyaev 等用阿霉素与纳米粒结合、表面活性剂包被后,药物在肝、脾、肺、心和肾的分布降低,颅内的浓度增加了 60 倍,而游离和未包被的药物纳米粒在颅内的浓度极低^[7]。颅内移植成胶质细胞瘤 101/8 的小鼠,通常在 10~20 d 全部死亡;静脉注射阿霉素纳米粒,小鼠的存活率可达到 40%^[8]。

3 跨越细胞生物膜屏障

3.1 抗菌药物纳米粒与胞内感染治疗

细胞膜是细胞与外环境间的选择透性膜,对物质进出细胞有选择性调节作用。许多抗菌药物不易渗透至胞内,对于细胞内感染,由于胞内药物浓度低而难以根除。巨噬细胞通常是最先被感染的宿主细胞,而且也是导致感染复发的重要原因。

纳米粒因其对 MPS 的被动靶向性,可借此治疗与 MPS 相关的细胞内感染。将抗菌药物吸附或包裹到纳米粒载体,利用巨噬细胞的内吞作用摄取药物纳米粒,从而消除生物膜的屏障作用,提高感染细胞内的药物浓度,实现胞内给药,有效清除胞内致病菌。

张强等以鼠伤寒沙门菌感染 C57BL/6j 小鼠制作了细胞内感染的动物模型,对庆大霉素聚氰基丙烯酸正丁酯纳米粒进行体内抗菌活性评价,发现肝、脾、肾中活菌数分别减至游离药物组的 1/426, 1/141 和 1/30,小鼠存活率提高了 10 倍^[9]。以氨苄西林纳米粒注射鼠伤寒沙门菌感染的小鼠,氨苄西林纳米粒在腹腔巨噬细胞内的浓度是游离氨苄西林药物的 20 倍^[10]。Fontana 等用等量的氨苄西林,以纳米粒方式和游离药物方式,检测药物的最小抑菌浓度(MIC),发现携带氨苄西林的纳米粒 MIC 低于游离氨苄西林药物,表明以纳米粒方式给药,药物的抗菌活性增强^[11]。

随着抗菌药物的广泛使用,耐药菌株不断出现,耐药性的研究是医学界的一个热点课题。借助纳米粒载体的靶向性和控释作用,抗菌药物在感染部位释放所达到的浓度远大于一般致病菌的最小抑菌浓度,且能维持较长作用时间,可有效清除包括耐药菌株在内的致病菌。耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)通常对喹诺酮类抗生素耐药,以纳米粒为载体给药可改变其耐药性。Kanellakopoulou 等以 MRSA 感染兔建立了骨髓炎动物模型,以聚乳酸为载体荷载培氟沙星局部给药,药物的释放时间可持续 33 天,细菌数量从 10^8 减至不足 10^2 ,有效地治疗了 MRSA 引起的骨髓炎^[12]。因此,抗菌药物纳米粒将不仅能有效清除病变部位的耐药菌,而且还将避免新的耐药菌株的产生。

3.2 反义寡聚核苷酸纳米粒与基因治疗

基因治疗是近年来发展起来的一种补充人体

缺失基因或关闭异常基因的新疗法。反义寡核苷酸可在蛋白质翻译水平抑制基因的表达, 在病毒感染和癌症的治疗上具有应用价值。然而, 寡核苷酸的胞内渗透能力弱, 胞内外稳定性差, 因此寡核苷酸的临床应用受到限制。而以纳米粒为载体, 可显著增加寡核苷酸的胞内渗透力, 增强胞内稳定性。

寡核苷酸纳米粒可以内吞作用方式被细胞摄取, 将荧光色素标记纳米粒, 在显微镜下可见纳米粒聚集在吞噬体或溶酶体中^[13]。将 15mer 胸腺嘧啶寡核苷酸片段吸附到聚氰基丙烯酸异丁酯纳米粒, 与游离的寡核苷酸片段为对照分别与 U937 细胞孵育, 发现与纳米粒结合的寡核苷酸片段被摄取量比游离的寡核苷酸片段高 8 倍^[13]。Berton 研究了聚乳酸纳米粒输运反义寡核苷酸对感染 HIV-1 的细胞的影响, 发现感染的 CEM 细胞中, 仅纳摩尔水平浓度的 gag 反义寡核苷酸纳米粒就可有效地抑制病毒复制, 且随浓度增加抑制作用增强; 即使是 gag 寡核苷酸纳米粒也同样可抑制逆转录。然而游离的 gag 反义寡核苷酸或游离的 gag 寡核苷酸序列, 在同样浓度水平却对感染细胞逆转录酶活性无影响^[14]。

将寡核苷酸与纳米粒结合, 不但增加了细胞对这些大分子颗粒的摄取, 同时还有效地保护寡核苷酸, 使其不被 3'-核酶外切酶降解, 提高寡核苷酸的稳定性。研究表明, 将游离的寡核苷酸与细胞孵育 1.5 h, 就已检测不到完整的寡核苷酸了; 而将吸附了寡核苷酸 PIBCA 纳米粒与细胞孵育 6.5 h 后, 仍可检测到完整的寡核苷酸^[13]。

此外, 体内研究表明, 纳米粒还可显著改变寡核苷酸在体内的分布, 使其靶向肝或肺等器官, 且不同的纳米粒载体靶向输送寡核苷酸的能力不同, 为纳米粒治疗这些部位的肿瘤或病毒感染提供了可能。以氰基丙烯酸异丁酯 (PIBCA) 纳米粒作为载体, 可使寡核苷酸主要被肝脏细胞摄取, 减少了其他器官寡核苷酸的分布^[15]; 以海藻酸盐纳米粒为载体, 聚集在肺的寡核苷酸浓度是以 PIBCA 为载体的 10 倍^[16]。

4 纳米粒跨越生物屏障的机制

纳米粒介导的跨越血脑屏障的药物转运机制尚不十分清楚。可能与血脑屏障内皮细胞通过低

密度脂蛋白 (LDL) 受体介导的内吞作用有关。LDL 受体既能结合 LDL 的载脂蛋白 B (apolipoprotein B, apoB), 又可结合载脂蛋白 E (apoE)。研究发现, 纳米粒的摄取与 apoE 密切相关。apoE 缺陷的 Apo-Etm1Unc 小鼠在注射达拉根纳米粒后, 药物的镇痛作用明显低于 C57BL/6J 小鼠, 表明 apoE 参与了纳米粒的脑部药物输送过程^[1]。apoE 可吸附于纳米粒, 且通常只吸附于被表面活性剂包被的纳米粒。Kreuter 研究发现未包被的达拉根纳米粒不能吸附 apoE, 没有止痛效应^[2], 表明要使纳米粒药物主动靶向脑部, 必须对纳米粒进行表面修饰。以标记物示踪法, 可观察到进入脑血管内皮细胞内的聚山梨酯醇-80 包被的 PIBCA 纳米粒^[17, 18]。因此, 在纳米粒介导颅内药物输送时, 纳米粒可能类似于低密度脂蛋白颗粒, 聚山梨酯醇-80 包被的纳米粒吸附血浆中的 apoE 至颗粒表面, 在与血脑屏障内皮细胞低密度脂蛋白 (LDL) 受体作用后, 被内皮细胞识别并摄取, 内化后药物在内皮细胞中释放, 并扩散至颅内。可能还有其他作用机制并存或相互协同, 如调节细胞间的紧密连接; 抑制 P-糖蛋白的泵回作用, 使药物顺利输送至颅内。

大多数细胞能以内吞方式摄入大分子颗粒。药物纳米粒作为超微异物, 可被单核巨噬细胞摄取, 单核巨噬细胞的摄取作用有益于治疗与 MPS 相关疾病。同样, 细胞也能以内吞作用方式摄取含寡核苷酸的纳米粒, 不仅可增加细胞对寡核苷酸的摄取, 而且还有效地保护寡核苷酸, 使其不被核酸外切酶降解。

药物纳米粒的被动靶向性可用于治疗与 MPS 相关疾病, 但多数疾病的病因并不在此。为使纳米粒靶向 MPS 以外的部位, 需对纳米粒进行修饰处理, 以减少 MPS 对纳米粒的摄取。通常在载药纳米粒中加入磁性物质, 通过外加磁场将其导向靶位; 或将单克隆抗体共价交联或吸附到纳米粒表面, 形成具有免疫活性的纳米粒; 或对纳米粒进行表面修饰, 改变其表面性质和靶向性, 变被动靶向为主动靶向。

纳米粒作为药物载体, 可消除或减弱血脑屏障和生物膜屏障等对药物转运的限制, 甚至将药物选择性地靶向分布于病变部位, 是一种很有前景的给药系统。虽然目前大多数研究还处于体外和动物体内实验阶段, 但随着研究的深入, 纳米粒有望在

不久的将来应用于临床,成为人类征服疾病的又一有力武器。

参考文献

- [1] Kreuter J. Nanoparticulate systems for brain delivery of drugs[J] . *Adv Drug Deliv Rev*, 2001, **47**(1): 65-81.
- [2] Kreuter J, Petrov VD, Kharkevich DA, *et al*. Influence of the type of surfactant on the analgesic effects induced by the peptide dalargin after its delivery across the blood-brain barrier using surfactant-coated nanoparticles[J] . *J Control Rel*, 1997, **49**(1): 81-87.
- [3] Alyautdin R, Gothier D, Petrov V, *et al*. Analgesic activity of the hexapeptide dalargin adsorbed on the surface of polysorbate 80-coated poly(butylcyanoacrylate) nanoparticles[J] . *Eur J Pharm Biopharm*, 1995 **41**(1): 44-48.
- [4] Range P, Kreuter J, Lemmer B. Circadian base independent antinociceptive reaction in mice after i. v. injection of dalargin-loaded nanoparticles determined by the hot-plate test and the tail-flick test [J] . *Chronbiol Int*, 1999, **16**(6): 767-777.
- [5] Schroeder U, Sommerfeld P, Ulrich S, *et al*. Nanoparticle technology for delivery of drugs across the blood-brain barrier[J] . *J Pharm Sci*, 1998 **87**(11): 1305-1307.
- [6] Friese E, Seiler G, Quack B, *et al*. Increase of the duration of the anticonvulsive activity of a novel NMDA receptor antagonist using poly-butylyanoacrylate nanoparticles as a parenteral controlled release delivery system[J] . *Eur J Pharm Biopharm*, 2000, **49**(2): 103-109.
- [7] Gulyaev AE, Gelperina SE, Skidan IN, *et al*. Significant transport of doxorubicin into the brain with polysorbate 80-coated nanoparticle [J] . *Pharm Res*, 1999, **16**(10): 1564-1569.
- [8] Gelperina SE, Smimova ZS, Khalanskiy AS, *et al*. Chemotherapy of brain tumours using doxorubicin bound to polysorbate 80-coated nanoparticles[M] . *Proceedings of the 3rd World Meeting APV/ AP-GI*, Berlin, 2000 3/6th April 2000, pp 441-442.
- [9] 张 强(Zhang Q), 廖工铁(Liao GT). 庆大霉素聚氰基丙烯酸

正丁酯毫微粒的理化性质[J] . 华西医科大学学报(*J WUUMS*). 1995; **26**(2): 172-176.

- [10] Balland O, Pinto-Alphandary H, Pecquet S, *et al*. The uptake of ampicillin loaded nanoparticles by murine macrophages infected with *Salmonella typhimurium*[J] . *J Antimicrob Chemother*, 1994 **33**(3): 509-522.
- [11] Fontana G, Pitarresi G, Tomarchio V, *et al*. Preparation, characterization and in vitro antimicrobial activity of ampicillin-loaded poly-ethylcyanoacrylate nanoparticles[J] . *Biomaterials*, 1998; **19**(11-12): 1009-1017.
- [12] Kanellakopoulou K, Giamarellos-Bourboulis EJ. Carrier systems for the local delivery of antibiotics in bone infections[J] . *Drugs*, 2000; **59**(6): 1223-1232.
- [13] Lambert G, Fattal E, Couvreur P. Nanoparticulate systems for the delivery of antisense oligonucleotides[J] . *Adv Drug Deliv Rev*, 2001, **47**(1): 99-112.
- [14] Berton M, Turelli P, Trono D, *et al*. Inhibition of HIV-1 in cell culture by oligonucleotide-loaded nanoparticles[J] . *Pharm Res*, 2001; **18**(8): 1096-1101.
- [15] Nakada Y, Fattal E, Foulquier M, *et al*. Pharmacokinetics and biodistribution of oligonucleotide adsorbed onto polyisobutylcyanoacrylate nanoparticles after intravenous administration in mice [J] . *Pharm Res*, 1996, **13**(1): 38-43.
- [16] Aynie I, Vauthier C, Chacun E, *et al*. Sponglike alginate nanoparticles as a new potential system for the delivery of antisense oligonucleotides[J] . *Antisense Nucleic Acid Drug Dev*, 1999, **9**(3): 301-312.
- [17] Alyautdin RN, Reichel A, Lobenberg R, *et al*. Interaction of poly-butylyanoacrylate nanoparticles with the blood-brain barrier in vivo and in vitro[J] . *J Drug Target*, 2001, **9**(3): 209-221.
- [18] Range P, Unger RE, Oltrogge JB, *et al*. Polysorbate 80-coating enhances uptake of polybutylcyanoacrylate nanoparticles by human, bovine and murine primary brain capillary endothelial cells[J] . *Eur J Neuro*, 2001, **12**(6): 1935-1940.

中国药科大学三个学科列入国家高等学校重点学科

根据国家教育部教研函(2002)2号“教育部关于公布高等学校重点学科点名单的通知”,中国药科大学三个学科列入国家高等学校重点学科。有关药学五个重点学科与高校分别为:

- | | |
|--------------|-------------------------|
| 1. 药物化学 | 北京大学、中国协和医科大学、中国药科大学 |
| 2. 药剂学 | 中国药科大学、沈阳药科大学 |
| 3. 生药学 | 北京大学、中国药科大学 |
| 4. 微生物学与生化药学 | 中国协和医科大学 |
| 5. 药理学 | 北京大学、中国协和医科大学、中南大学、中山大学 |