

## · 综述 ·

中药靶向递药入脑策略的研究进展<sup>△</sup>程怡<sup>1</sup>, 刘德文<sup>1</sup>, 欧则民<sup>1</sup>, 严林<sup>1,2</sup>, 王艳静<sup>1,3</sup>, 张瑶<sup>1,3</sup>, 王梓丞<sup>4</sup>, 仝燕<sup>1</sup>, 常鹏飞<sup>1\*</sup>, 王锦玉<sup>1\*</sup>

1. 中国中医科学院 中药研究所, 北京 100700;

2. 江西中医药大学 药学院, 江西 南昌 330004;

3. 天津中医药大学 药学院, 天津 301617;

4. 北京城市学院 生物医药学部, 北京 100089

**[摘要]** 血脑屏障是中枢神经系统的一层特殊屏障, 调节中枢神经系统稳态, 允许正常的神经元功能, 保护中枢神经系统免遭毒素、病原体和炎症的侵害。然而, 脑毛细血管内皮细胞紧密连接的特性在保护的同时也极大程度限制了药物分子向内的递送效果。近年来, 纳米制剂在中药靶向递药领域被广泛应用, 较大的系统结构受制于血脑屏障导致疗效并不理想。基于血脑屏障上各种内源性受体及转运蛋白的发现, 以及血脑屏障表面荷负电的生理特征, 构建安全高效的靶向递药系统, 从而设计受体介导、载体介导及吸附介导的转运途径实现血脑屏障的跨越, 使药物制剂富集于脑部病变组织, 有效提高疾病的治疗效果。受芳香中药“通关开窍”的传统功效启发, 阐述其调节血脑屏障通透性的机制, 并将这一功效与新兴纳米制剂结合, 发挥中药特色进而实现制剂透过血脑屏障入脑释药。

**[关键词]** 血脑屏障; 受体介导; 载体介导; 吸附介导; 芳香开窍

**[中图分类号]** R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1673-4890(2023)03-0686-09

**doi:**10.13313/j.issn.1673-4890.20220928002

**Targeted Drug Delivery Strategy of Chinese Medicine into Brain: A Review**CHENG Yi<sup>1</sup>, LIU De-wen<sup>1</sup>, OU Ze-min<sup>1</sup>, YAN Lin<sup>1,2</sup>, WANG Yan-jing<sup>1,3</sup>, ZHANG Yao<sup>1,3</sup>, WANG Zi-cheng<sup>4</sup>,  
TONG Yan<sup>1</sup>, CHANG Peng-fei<sup>1\*</sup>, WANG Jin-yu<sup>1\*</sup>

1. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China;

2. School of Pharmacy, Jiangxi University of Chinese Medicine, Nanchang 330004, China;

3. School of Chinese Materia Medica, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617, China;

4. Department of Biomedical Sciences, Beijing City University, Beijing 100089, China

**[Abstract]** The blood-brain barrier is a special barrier of the central nervous system, which regulates the homeostasis of the central nervous system, allows normal neuronal function, and protects the central nervous system from toxins, pathogens, and inflammation. However, the tight junction of brain capillary endothelial cells greatly limits the inward delivery effect of drug molecules while protecting it. In recent years, nano-preparations have been widely used in the field of targeted drug delivery of Chinese medicine, but the curative effect is not ideal because their large system structure is restricted by the blood-brain barrier. Based on the discovery of various endogenous receptors and transporters on the blood-brain barrier and the physiological characteristics of negative charge on the surface of the blood-brain barrier, a safe and efficient targeted drug delivery system was constructed. Therefore, receptor-mediated, carrier-mediated, and adsorption-mediated transport pathways were designed to achieve the leapfrogging of the blood-brain barrier, so that drug preparations were enriched in brain lesions, thus effectively improving the therapeutic effect of the disease. Inspired by the traditional efficacy of aromatic Chinese medicine in "clearance and opening", this paper expounded its mechanism of regulating the permeability of blood-brain barrier and combined this effect with new nano-preparations to give full play to the characteristics of Chinese medicine, thereby releasing drugs into the brain through the blood-brain barrier.

<sup>△</sup> **[基金项目]** 中国中医科学院优秀青年科技人才(创新类)项目(ZZ14-YQ-024)

\* **[通信作者]** 常鹏飞, 助理研究员, 研究方向: 中药科学监管; E-mail: pfchang@icmm.ac.cn

王锦玉, 研究员, 硕士生导师, 研究方向: 中药新药研发及新剂型; E-mail: jinyu024@163.com

[Keywords] blood-brain barrier; receptor-mediated; carrier-mediated; adsorptive-mediated; resuscitation with aromatics

药物靶向入脑效率的关键阻碍是血脑屏障 (blood-brain barrier, BBB) 的存在, BBB由紧密连接的脑毛细血管内皮细胞组成, 外被一层连续的基底膜、周细胞和星形胶质细胞末端足突所覆盖, 细胞渗透性明显降低。基于BBB独特的生理结构, 脂溶性小分子物质可以通过跨膜扩散进入, 水溶性小分子物质经细胞旁通路入脑。然而脑部疾病的疗效药物多为多肽、蛋白质和基因等大分子, 无法直接穿透BBB输送到病灶部位以实现疾病的治疗, 因此开发跨越BBB的脑部递药策略极为关键。目前入脑释药的方式, 包括干扰BBB的生理屏障功能 (外部刺激打开BBB、抑制外排转运系统)、改变给药途径绕过BBB、构建纳米递药系统<sup>[1]</sup>。侵入式方法虽然可以暂时性提高BBB渗透性增加脑内药物浓度, 但其他异物也会同时伴随进入, 对中枢神经系统产生损害作用, 不稳定系数增加。因此构建安全、高效的纳米递送系统是研究的重点。一方面BBB是药物输送的制约点, 另一方面, 内皮细胞表面丰富的受体及转运蛋白的发现, 以及其负电荷的质膜结构, 为跨越BBB实现药物输送提供了可能, 使“屏障”转化为“接口”。穿过BBB实现靶向给药的关键点, 一是递送系统的载体材料选择, 二是BBB的靶向分子选择, 本文将基于BBB独特的生理结构, 从分子靶向机制出发, 探索穿透BBB实现递药入脑的具体策略。

## 1 BBB的结构及功能

BBB是血液与脑实质之间的一层具有高度选择性的动态界面, 由内而外依次为脑内皮细胞、连续的基底膜、周细胞、星形胶质细胞末端足突、神经突触和邻近的小胶质细胞 (图1)。其中内皮细胞是BBB的主要组成, 细胞之间存在紧密连接和黏附连接, 黏附连接负责维持BBB的结构完整性, 紧密连接是相邻细胞之间的带状粘连区域, 紧密连接蛋白复合体能有效地封闭细胞间隙, 在脑内的表达显著强于外周组织, 极大降低细胞间通透性, 从而稳定BBB的屏障功能。除不同细胞组成的物理屏障外, 内皮细胞上表达丰富的外排转运蛋白如P-糖蛋白 (P-gp) 形成了一层转运屏障, P-gp依赖腺苷三磷酸 (ATP) 水解能量主动外排异物 (包括药物), 阻止底物分子渗入大脑<sup>[2]</sup>。BBB的多层限制严格制约着

血液与脑室之间的物质交换, 不同屏障为适应中枢神经系统的需要, 对生理变化做出相应的改变, 防止中枢神经系统环境的紊乱。BBB破坏会引起离子调节失调、免疫细胞和大分子进入中枢神经系统, 致使动态平衡改变、神经元功能障碍, 引发炎症反应及颅内疾病<sup>[3-4]</sup>。

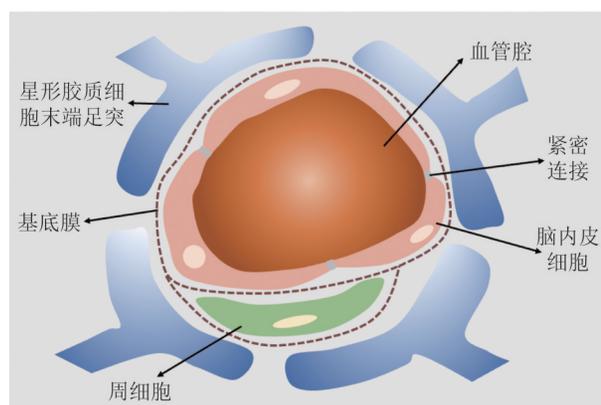


图1 BBB的基本结构

## 2 靶向入脑释药的方式

实现药物穿透BBB靶向入脑释药, 主要通过3种方式 (图2), 包括: 1) 配体或抗体与BBB或肿瘤细胞上过度表达的受体结合, 启动受体介导的转运 (receptor-mediated transcytosis, RMT)。BBB表面存在许多特异性的内源性受体, 受体与配体之间具有高度选择性, 采用相应的配体或抗体作为修饰分子, 构建载药系统, 利用配体与受体的结合亲和力经RMT递药入脑; 2) 与大脑所需营养物质的转运蛋白结合, 即载体介导的转运 (carrier-mediated transcytosis, CMT)。转运蛋白是细胞吸收营养物质, 如糖、氨基酸、脂类、维生素等过程中重要的膜蛋白, 大脑需要足够的营养物质维持正常的生理功能, 在递药系统表面修饰与之高度亲和的底物类似物, 经由CMT运送药物入脑; 3) 阳离子型化合物与负电荷的BBB产生静电相互作用引发吸附介导的转运 (adsorptive-mediated transcytosis, AMT)。BBB表面负电荷的生理特征为阳离子型化合物的转运提供了可能, 通过构建阳离子化递药系统, 可诱导AMT。

### 2.1 RMT

RMT是目前脑靶向递送药物研究最深入的策略

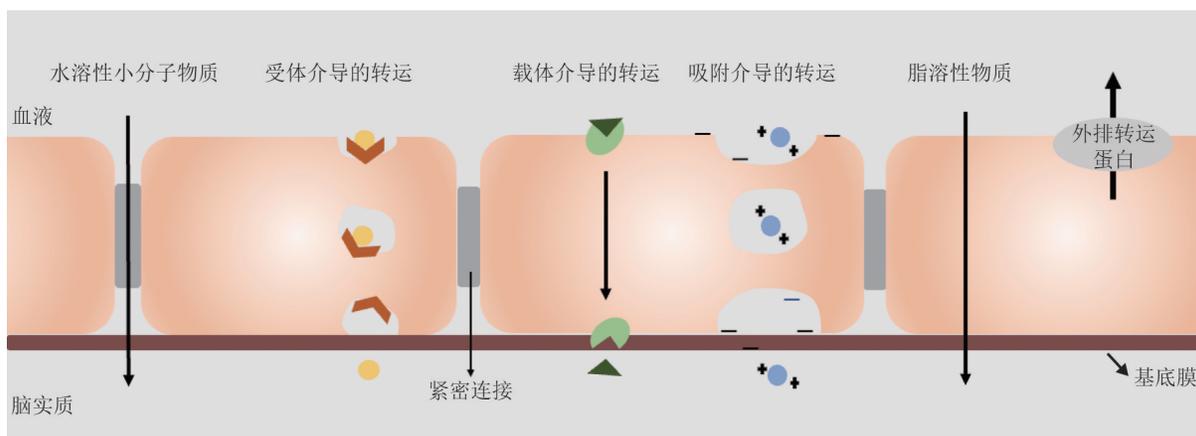


图2 药物穿透BBB靶向入脑的3种方式

之一。脑内皮细胞上存在着许多特异性受体，常见的有转铁蛋白 (Transferrin, Tf) 受体、低密度脂蛋白 (LDL) 受体、烟碱型乙酰胆碱受体 (nAChR) 等。

**2.1.1 转铁蛋白受体 (TfR)** TfR 显著表达于脑内皮细胞和肿瘤细胞上，以 TfR 为靶标，通过在载体表面修饰 Tf、抗体及靶向肽可实现靶向递送<sup>[5]</sup>。

**2.1.1.1 Tf** Tf 是 TfR 的天然配体，Kong 等<sup>[6]</sup>采用 Tf 修饰包裹药物蛇床子素 (Ost) 的脂质体，考察其对阿尔茨海默病小鼠的治疗作用。经 Tf 修饰后，hCMEC/D3 细胞的摄取率和跨 BBB 转运效率均优于未修饰脂质体。Tf-Ost-Lip 可显著降低 APP/PS-1 双转基因小鼠脑内促炎因子和  $\beta$ -淀粉样蛋白 ( $A\beta$ ) 的表达，减少氧化应激，修复神经损伤组织，改善小鼠的认知功能。Liu 等<sup>[7]</sup>优选工艺构建了 Tf 和细胞穿透肽联合修饰的脂质体 (Tf-CPP-SSL)，由于 RMT 和 AMT 的双重作用，Tf-CPP-SSL 可高效靶向 C6 胶质瘤细胞，在跨越 BBB 后保持结构完整性，没有配体断裂、药物渗漏现象的发生。

**2.1.1.2 抗 TfR 的单克隆抗体** 内源性 Tf 浓度很高，造成 TfR 几乎饱和，作为修饰分子的外源 Tf 结合受到限制，靶向效率由此降低。抗 TfR 的单克隆抗体与 Tf 在内皮细胞的结合位点不同，不与天然配体竞争，目前使用最成熟的是小鼠抗大鼠 TfR 的单克隆抗体 OX26<sup>[8]</sup>。Shen 等<sup>[9]</sup>将人参皂苷 Rg<sub>1</sub> 作为疗效药物、聚- $\gamma$ -谷氨酸作为载体，表面加以 OX26 抗体修饰，制备了载药纳米粒 (PHRO)。PHRO 可穿越 BBB 增加人参皂苷 Rg<sub>1</sub> 在脑内分布，加速糖尿病脑梗死大鼠 RBE4 细胞的迁移及血管生成，缩小脑梗死体积，改善坏死组织，修复神经损伤。Ramalho 等<sup>[10]</sup>制备了包裹药物替莫唑胺 (TMZ) 的 PLGA 纳

米粒，表面结合 OX26 单抗，研究其对胶质瘤细胞的抗增殖作用。TfR 的介导增强了功能化纳米粒跨 BBB 的转运能力，提高了胶质瘤 U87 和 U251 细胞对纳米粒的摄取效率。

此外，大鼠抗小鼠 TfR 的单克隆抗体 RI7217、8D3 也有所应用。Salvati 等<sup>[11]</sup>将 RI7217 抗体以生物素/链霉亲和素连接 (b/s-RI-PA-LIP)，以及硫醇-马来酰亚胺共价连接 (cov-RI-PA-LIP) 2 种方式对磷脂酸 (PA) 脂质体进行功能化，表面等离子体共振 (SPR) 技术显示经 RI7217 抗体修饰后的 PA 脂质体与  $A\beta$  的亲合力友好，共聚焦显微镜图像表明 RI7217 抗体的修饰可促进 hCMEC/D3 细胞对脂质体的内化。效果均为 cov-RI-PA-LIP 优于 b/s-RI-PA-LIP。Zhang 等<sup>[12]</sup>将细菌  $\beta$ -半乳糖苷酶与 8D3 TfRmAb 结合实现酶的脑内递送， $\beta$ -半乳糖苷酶-8D3 结合物高低剂量注射后，大脑对  $\beta$ -半乳糖苷酶的摄取比未结合酶均增加了 10 倍。毛细血管耗竭技术显示，静脉注射高剂量的  $\beta$ -半乳糖苷酶-8D3 结合物后，90% 该酶可以在脑内皮细胞间检测到，实现穿透血脑屏障进入脑实质。与 8D3 TfRmAb 的结合延长了  $\beta$ -半乳糖苷酶在血液中的循环时间。

**2.1.1.3 T7 肽** T7 肽作为一种针对 TfR 的靶向多肽，也被广泛用于纳米载体的功能化。Liang 等<sup>[13]</sup>以 LDL 作为载体负载药物长春新碱 (VCR)，并在其表面修饰 T7 肽使其功能化。通过 TfR 与 LDL 受体的双重介导作用，协同促进 C6 细胞对药物载体的胞吞效率。体内实验结果表明，T7 肽修饰后的蛋白载体在斑马鱼脑部呈现出更高的积累量；功能化载体组能比游离 VCR 更显著地抑制小鼠体内胶质瘤的增殖。Kim 等<sup>[14]</sup>分别采用 T7 肽和 RVG 肽修饰外泌体，

加以针对 MicroRNA-21 的反义 miRNA 寡核苷酸 (AMO-21) 治疗, 多肽修饰的外泌体相较于空白外泌体在细胞摄取和药物递送入脑方面更有优势, 证实 T7 肽修饰效果良好。T7 肽修饰后的外泌体携带的 AMO-21 可显著下调 MicroRNA-21 进而诱导程序性细胞死亡因子 4 (PDCD4)、磷酸酶与张力蛋白同源基因 (*PTEN*) 的表达, 缩小肿瘤体积。

**2.1.2 LDL 受体家族** LDL 受体家族具有广泛而不同的配体, 通过受体-配体作用介导跨细胞膜的转运。常用的种类包括乳铁蛋白 (Lactoferrin, Lf)、Angiopep-2 (ANG)、载脂蛋白 E (ApoE) 等。

**2.1.2.1 Lf** Zhao 等<sup>[15]</sup>制备了 Lf 修饰的长循环脂质体 (Lf-NLC), 作为尼莫地平 (NMD) 的有效载体, 治疗缺血性脑卒中。通过在培养基中引入游离 Lf, 未经 Lf 修饰的脂质体细胞摄取荧光强度没有明显差异, 而修饰脂质体荧光强度显著下降, 因此证实, Lf-NLC 可经 LDL 受体介导的内吞作用而在脑部大量积聚。Lf-NLC-NMD 可有效改善硝普纳 (SNP) 诱导产生的神经毒性, 降低 PC12 细胞的凋亡, 发挥神经保护作用。Qi 等<sup>[16]</sup>设计以 RGD 三肽和 Lf 双修饰聚乙二醇化脂质体, 分别特异性识别脑微血管内皮细胞和胶质瘤细胞表面的整合素  $\alpha_v\beta_3$  受体和 LfR。RGD-LP、Lf-LP 和 RGD-Lf-LP 在 hCMEC/D3 细胞中的荧光强度分别是聚乙二醇 (PEG)-LP 的 3.00、3.46、4.24 倍, hCMEC/D3 细胞单层转运实验表明 Lf 修饰起主导作用。PEG-LP、Lf-LP 和 RGD-LP 荧光仅分布在 U87 MG 肿瘤球体边缘, 而 RGD-Lf-LP 分布在 U87 MG 球体的核心, RGD 修饰对促进肿瘤球体的穿透起主导作用。小鼠活体成像结果显示 RGD-Lf-LP 的荧光强度是 PEG-LP 的 3.35 倍, 表明 RGD 三肽和 Lf 的双修饰是透过 BBB 实现递药入脑的良好组合。

**2.1.2.2 ANG** ANG 是一种由 19 个氨基酸构成的多肽, 能与 LDL 受体相关蛋白-1 (LRP-1) 特异性结合, 经转胞吞穿透 BBB 进入脑内<sup>[17]</sup>。张燕等<sup>[18]</sup>以聚丙烯酸 (PAA) 接枝的介孔二氧化硅 (MSN) 脂质囊纳米粒为载体, 表面修饰 ANG, 装载药物三氧化二砷。该载药纳米粒 (ANG-LP-PAA-MSN@As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) 具有较好的生物安全性, 其特异性响应肿瘤细胞微环境, 有效改善了游离药物的突释效果, 使药物在肿瘤部位聚集。添加 ANG 修饰, 由于 BBB 和脑胶质瘤细胞上高表达的 LRP-1 受体介导的内吞作用,

载药纳米粒抗肿瘤效果优于其他制剂组别。徐毅等<sup>[19]</sup>设计了 Ag<sub>2</sub>S、Ag<sub>2</sub>S-ANG、Ag<sub>2</sub>S-PEG、Ag<sub>2</sub>S-PEG-ANG 4 种量子点, 并对其体外跨 BBB 能力进行考察。研究表明, 除 Ag<sub>2</sub>S 量子点跨越模型困难外, 其他 3 种量子点均可穿过 bEnd.3 细胞模型并靶向胶质瘤 U87 MG 细胞, 其中 Ag<sub>2</sub>S-ANG 量子点靶向能力最优, 可为脑靶向成像提供参考。

**2.1.2.3 载脂蛋白 E** 何思雨等<sup>[20]</sup>以 Box-Behnken 响应面方法优选出冬凌草甲素和连翘苷胶束增添 ApoE 修饰的最佳处方, 经 ApoE 修饰胶束跨 BBB 能力优于未修饰胶束。Magro 等<sup>[21]</sup>用 ApoE 衍生多肽 (mApoE) 对固体脂质纳米粒 (SLN) 表面进行功能化, SLN-mApoE 在体外能够完整地穿过 BBB 模型。

**2.1.3 nAChR** nAChR 可在脑毛细血管内皮细胞上表达。狂犬病毒糖蛋白 (rabies virus glycoprotein, RVG) 的多肽片段具有 BBB 渗透性和非侵入式等特点, 目前应用比较成熟的衍生肽段如 RDP (rabies virus-derived peptide) 和 RVG-29, 通过与 nAChR 结合, 靶向输送药物入脑<sup>[22]</sup>。

**2.1.3.1 RVG 肽** Xu 等<sup>[23]</sup>采用硫酸软骨素与姜黄素合成还原敏感性聚合物 (CHS-ss-CUR, CSC), 通过自组装形成纳米胶束, 包裹阿霉素 (DOX), 并加以 RVG 肽修饰。体外实验表明, RVG-CSC 可跨越 bEnd.3 细胞单层并被下层室 C6/ADR 胶质瘤多药耐药细胞有效摄取。体内注射 DOX/RVG-CSC 胶束可增加药物在脑部的分布, 延缓肿瘤生长。Hong 等<sup>[24]</sup>以杆菌素 A 的聚乙二醇化纳米自组装 (PEGylated Nano-BA12K) 为基础, 修饰狂犬病毒糖肽-29 (RVG29)、负载 P-gp 抑制剂 (PluronicVR P85 单体), 构建了混合胶束系统 (RVG29-Nano-BAP85)。与其他制剂组别相比, RVG29-Nano-BAP85 组的细胞摄取荧光信号最强, 越过 BCEC 单层传输效率最高。体内实验结果显示, RVG29-Nano-BAP85 可穿越 BBB, 靶向入脑, 增加制剂在脑部的蓄积, 表明 RMT 和 P-gp 活性抑制具有协同促进细胞内化的作用。RVG29-Nano-BAP85 还可延长由肺炎链球菌 ATCC 49619 和肺炎链球菌 16167 感染的肺炎球菌脑膜炎 (PM) 小鼠生存期, 且治疗效果优于青霉素 G 药物组。

**2.1.3.2 RDP 肽** Zhao 等<sup>[25]</sup>以靶向肽 RDP 为配体, 修饰姜黄素负载的纳米脂质体 (RCL), RCL 可经 nAChR 介导的转运进入脑实质, 通过抑制细胞周期

的S期诱导细胞凋亡。接受RCL治疗的胶质瘤小鼠存活时间可延长至33 d。Huey等<sup>[26]</sup>研究显示,RDP-DOX-NP对非神经细胞类型如MDA-MB-231、CHO和HeLa细胞系没有显著影响,而SH-SY5Y神经母细胞瘤细胞经RDP-DOX-NP处理后细胞存活率明显降低。采用竞争性nAChR拮抗剂(六甲溴铵)、非竞争性nAChR拮抗剂(甲戊胺)和nAChR特异性抗体处理均可阻断RDP对SH-SY5Y细胞的作用。

上述受体多见于纳米制剂的靶向修饰选择,除此之外,还包括胰岛素受体、瘦素受体、清道夫受体B I、整合素 $\alpha$ <sub>3</sub> $\beta$ 受体及白喉毒素受体等<sup>[27]</sup>。然而受体介导也有一些不足,受体虽在BBB上大量表达,但同时也存在于其他外周器官,提高靶向入脑能力的同时也会增加非脑部位药物的分布,对机体产生一定的不良反应。

## 2.2 AMT

由于腔面侧的唾液酸和基膜侧的硫酸肝素的极化分布,血脑屏障表面呈负电荷。因静电吸附作用,一些阳离子分子可与表面阴离子位点结合。腔侧提供阴离子位点,用于与阳离子物质相互作用并诱导吸附介导的内吞作用。基底膜侧的阴离子位点可以促进阳离子物质从管腔到脑间质的外化。基于此,表面带正电荷的递药系统可引发吸附介导的转胞吞作用跨越BBB实现递药入脑。碱性多肽和阳离子化蛋白如白蛋白、组蛋白、亲和素等,可与药物或载药系统结合,利用静电吸附作用携带药物入脑<sup>[28]</sup>。其中阳离子化白蛋白在脑靶向载体修饰中应用较多。Liu等<sup>[29]</sup>以阳离子化牛血清白蛋白(CBSA)修饰聚乙二醇化纳米粒,将其作为药物丹参酮II<sub>A</sub>(TSA)的递送载体。静脉给药后,进入脑实质中的CBSA-PEG-NPs荧光强度是牛血清白蛋白(BSA)-PEG-NPs的近3倍。Pang等<sup>[30]</sup>采用CBSA与可生物降解聚合物偶联,静脉注射后,CBSA聚合物脑通透性表面积值是单聚合物的3.6倍,脑组织浓度是单聚合物的2.1倍。经阳离子化白蛋白修饰后诱导吸附介导的内吞作用有效提高药物入脑浓度。同样,以白蛋白为载体制备纳米粒能有效促进细胞摄取和BBB转运效率。

多数细胞穿膜肽(CPPs)呈正电性,修饰在载体表面经由吸附介导的转胞吞诱导药物入脑,因其具有穿透细胞膜的能力可有效增强药物在脑部的蓄积。吕风梅等<sup>[31]</sup>以水溶性多肽缩宫素(oxytocin,

OT)为治疗药物,以细胞穿膜肽R8进行表面修饰制得脂质体(OT@LPs-R8)。R8是阳离子型穿膜肽,经其修饰后的脂质体与鼻黏液间的静电作用增强,由此延长在鼻腔内的滞留时间。此外,OT@LPs-R8组在脑内的荧光强度明显强于未修饰组,且是游离药物组的10倍。然而细胞穿膜肽缺乏细胞特异性,采用CPPs单修饰不能准确靶向肿瘤部位,因此,通常选择另一靶向配体与CPPs共修饰提高转运效率。Lakkadwala等<sup>[32]</sup>分别采用细胞穿膜肽QLPVM、TAT与Tf共同修饰包裹药物阿霉素(DOX)和厄洛替尼(Erlo)的脂质体,Tf介导转运与多肽穿膜的协同作用使得Tf-CPP(Tf-QLPVM、Tf-TAT)双修饰脂质体在细胞摄取、体外跨BBB转运、体外肿瘤抑制方面表现良好。Tf-CPP脂质体给药后,小鼠脑中DOX和Erlo的积累量分别为游离药物的10倍和2.7倍。

## 2.3 CMT

BBB上内源性的营养转运蛋白,如葡萄糖转运蛋白1(GLUT1)、单羧酸转运蛋白1(MCT1)、大分子中性氨基酸转运蛋白1(LAT1)等,成为药物穿透BBB进入脑组织的有效靶点。

**2.3.1 葡萄糖转运体** 葡萄糖转运体运输葡萄糖和其他己糖,GLUT1是BBB上最高效的转运系统。有研究证明,经糖基化修饰的递药系统可被GLUT1特异性识别并转运<sup>[33]</sup>。

Du等<sup>[34]</sup>将甘露糖类类似物对氨基苯基-D-甘露糖苷(MAN)偶联到脂质体表面(MAN-LIP),光学成像结果显示MAN-LIP相对集中在小脑和大脑皮层,与GLUT1和GLUT3在脑中的分布相似。GLUT1亚型主导葡萄糖透过BBB的运动,而GLUT3负责将葡萄糖输送到神经细胞。苯巴比妥可直接与GLUT1和GLUT3相互作用,抑制转运蛋白的内在活性。抑制实验也证实,苯巴比妥的存在降低了MAN-LIP在脑中的浓度,但不影响其分布的变化。制备脑内皮细胞单层模型,在GLUT1和GLUT3过表达的条件下,MAN-LIP的跨屏障能力也进一步增强。

**2.3.2 单羧酸转运体** 单羧酸转运蛋白家族包含14个转运蛋白,其中MCT1、MCT2、MCT4 3个主要亚型被证明可以介导一元羧酸盐(如乳酸盐、丙酮酸盐和酮体)的质子依赖性转运。MCT1在微血管内皮细胞上表达旺盛,MCT2是主要的神经元亚型,MCT4属于星形胶质细胞的特异性表达。正常

情况下,葡萄糖是大脑的主要能量来源,但在缺血和缺氧条件下,一元羧酸盐如乳酸盐会成为大脑重要的能量基质<sup>[35]</sup>。Devi等<sup>[36]</sup>将乳酸(LA)与固体脂质纳米粒进行偶联,在脑毛细血管内皮细胞与星形胶质细胞共培养环境中,SLN-LA的穿细胞率是SLN的13.33倍。Venishetty等<sup>[37]</sup>通过免疫化学研究表明MCT1转运蛋白在脑内皮细胞上表达,利用 $\beta$ -羟基丁酸修饰固体脂质纳米粒,修饰后纳米粒的细胞摄取效率由9.8%提升到27.5%,在给予游离 $\beta$ -羟基丁酸饱和后,脑内皮细胞的摄取量显著性降低,表明这一过程由MCT1转运蛋白参与介导。与静脉注射抗肿瘤模型药物多西紫杉醇相比,给予固体脂质纳米粒制剂给药后,多西紫杉醇在脑部的浓度增加了12倍,有效提高了药物的生物利用度。

**2.3.3 氨基酸转运体** 癌细胞上调各种氨基酸转运蛋白水平,包括大分子中性氨基酸转运蛋白LAT1;运输小分子中性氨基酸的ASCT2;运输谷氨酰胺的SNAT2;中性阳离子氨基酸转运蛋白ATB<sup>0,+</sup>;运输支链氨基酸和苯丙氨酸的LAT3;运输酸性氨基酸转运蛋白的EAAC1;胱氨酸/谷氨酸转运体xCT等。LAT1大多位于癌细胞的质膜,其肿瘤特异性表达可作为癌症治疗的候选靶点,LAT1采用不依赖于Na<sup>+</sup>的方式以高亲和力转运亮氨酸、苯丙氨酸、酪氨酸、组氨酸、缬氨酸和色氨酸等<sup>[38]</sup>。草甘膦[N-(膦甲基)甘氨酸]因其具有甘氨酸类似物结构可与甘氨酸转运蛋白(GLYT)特异性结合而被转运至嗅觉组织内,具有潜在的神经系统疾病风险。长时间接触草甘膦会影响大脑健康,触发各种疾病反应,包括帕金森病和阿尔茨海默病。给予不同种类的竞争性氨基酸转运抑制剂均会降低草甘膦在组织中的浓度<sup>[39]</sup>。Nair等<sup>[40]</sup>采用左旋多巴修饰谷胱甘肽金纳米簇,纳米簇经修饰可激活 $\gamma$ -谷氨酰转肽酶通过LAT1介导的载体转运途径进入小鼠大脑,具有较高的荧光产率,可应用于成像,实现诊疗一体化。

**2.3.4 胆碱转运体** 胆碱是体内生物膜的组成成分和神经递质乙酰胆碱的前体物质,BBB表达的胆碱受体主要服务于乙酰胆碱的合成,对于胆碱衍生物具有高度亲和力,并且可以结合广泛的阳离子型化合物<sup>[41]</sup>。Li等<sup>[42]</sup>在胶束表面加以胆碱衍生物进行修饰,静脉注射48h后,胆碱修饰胶束处理组在肿瘤部位的药物蓄积量是游离药物处理的24倍,胶质瘤模型小鼠的中位生存期延长至47d。

## 2.4 芳香类中药介导的转运

以宣闭开窍为主要功效,常用于治疗神智昏迷的药物,因多具芳香之气,故称为芳香开窍药<sup>[43]</sup>,其辛香浓烈,行气行血,通壅开滞,疗效迅速。脑位于颅腔之内,为神明所出,主宰人的一切生命活动,被称为“元神之府”,芳香中药专治诸窍不通,尤为擅长通脑窍,如冰片辛香走窜,启闭回苏,无往不达;麝香“香芳烈,为通关利窍之上药”;苏合香丸多用于治疗中风、痰迷心窍等引起的突然昏厥等<sup>[44]</sup>。

芳香中药的药效成分多为脂溶性且相对分子质量小,因而本身便可直接透过BBB。石菖蒲中 $\beta$ -细辛醚、 $\alpha$ -细辛醚、榄香素、顺式甲基异丁香酚可直接穿透BBB入脑发挥中枢神经系统保护作用<sup>[45]</sup>。苏合香可直接透过BBB以改善脑缺血再灌注模型大鼠的脑部损伤,并且可促进正常状态下BBB的开放<sup>[46]</sup>。

“独行则势弱,佐使则有功”,芳香类中药与其他药物合用,可引药上行,提高其他药物穿透BBB的能力。吴雪等<sup>[47]</sup>研究表明,冰片及石菖蒲均可发挥引经作用,开启BBB,促进羟基红花色素A入脑。刘萍等<sup>[48]</sup>比较舒必利苏合香联合用药与化学药单用,发现两者合用组大鼠脑组织中舒必利的浓度上升39%,极大提高了舒必利的生物利用度。

芳香开窍的机制主要包括4个方面:1)抑制紧密连接蛋白-5(Claudin-5)表达。Claudin-5作为紧密连接主要的细胞黏附分子参与组成并调节BBB的通透性,缺乏Claudin-5蛋白的小鼠BBB会选择性渗漏<sup>[49]</sup>。2)增加5-羟色胺(5-HT)的含量。脑微血管中5-HT含量增加,引起内皮细胞膜上的受体活化并与之结合,刺激内皮细胞强烈收缩,BBB紧密连接开放,渗透性增加<sup>[50]</sup>。3)抑制P-gp外排作用。P-gp利用ATP水解提供能量将异物(包括药物)从脑组织泵回血液。抑制P-gp外排作用,促进BBB开放,增加药物在脑部的浓度。4)增加NO水平。NO作为血管扩张信号可作用于内皮细胞调节BBB通透<sup>[51]</sup>。

将芳香中药通关开窍的特性与新兴纳米制剂结合可以实现纳米制剂穿透BBB将药物输送入脑。Song等<sup>[52]</sup>发现加以冰片修饰后的固体脂质纳米粒在细胞内的摄取速率加快。BBB模型与冰片修饰后的纳米粒共孵育1h后,细胞缩小,细胞间隙增大,紧密连接消失;4h后,细胞紧密连接恢复,表明冰片打开BBB的作用可逆。小鼠活体成像结果显示,固

体脂质纳米粒几乎在肺部完全聚集,而冰片修饰纳米粒主要集中在脑部。Wang等<sup>[53]</sup>利用冰片修饰聚乙二醇聚乳酸纳米粒,以TSA作为疗效药物。人支气管上皮样细胞(16HBE)对冰片修饰后的纳米粒体外摄取显著增加。脑缺血再灌注损伤(CIRI)模型大鼠注射BO-TSA-NP后,脑梗面积缩小,丙二醇(MDA)含量减少,超氧化物歧化酶(SOD)活性提升,CIRI所致的神经功能损害得到改善。Kang等<sup>[54]</sup>开发了麝香酮和RI7217共修饰的DTX长循环脂质体(RI-LP-M-DTX),麝香酮和RI7217抗体的协同作用促进了U87-MG胶质瘤细胞的摄取,药物对肿瘤的抑制作用呈现浓度依赖性,荷瘤小鼠的中位生存期延长。研究构建实体三维肿瘤球体模型,RI-LP-M-DTX具有最强的肿瘤球体抑制作用,麝香酮偶联可促进脂质体在脑内的高度积聚和滞留,具有良好的抗胶质瘤效果。Liang等<sup>[55]</sup>分别考察了冰片醇修饰的白蛋白纳米粒(borneol BSA, BoB)、麝香酮白蛋白纳米粒(muscone BSA, MuB)、薄荷醇白蛋白纳米粒(menthol BSA, MeB)及T7肽修饰的白蛋白纳米粒(T7 BSA, TB)。不同修饰后的纳米粒脑靶向性能均有相应的提升,而相较于BoB、MuB、TB, MeB荧光成像结果呈现最优效果,其良好的跨越bEnd.3细胞模型能力也表明MeB是最有效的脑靶向药物载体。

### 3 讨论

脑靶向纳米药物的研究正在广泛进行,多数实验聚焦在穿透BBB,然而对于药物入脑后的分布没有更进一步关注。大脑是人体最重要的器官之一,药物输送至病变组织可以有效提升疾病的治疗效果,而进入非脑部位反而会引起不良反应,构建精准高效的靶向系统如双级靶向以使药物浓集于病变组织,提高药物利用度。此外,对于第一靶向分子在完成BBB靶向作用后是否应该脱离或降解存在疑问,Chen等<sup>[56]</sup>的研究结果显示,第一阶段靶向分子脱离后,胶质瘤细胞对于递药系统的摄取能力增强。

靶向效率取决于靶点分布的特异性及靶向分子与靶点之间的结合亲和力程度<sup>[57]</sup>,目前文献报道的靶向分子在以上层面还具有一定的不足,因此,需要发现新型靶点及靶向分子。中枢神经系统疾病如阿尔茨海默病、帕金森病等致病机制复杂、临床症状标准尚未明确。脑部肿瘤也是一个复杂的体系,

而非单一癌细胞的集合。肿瘤微环境为癌细胞增殖、侵袭和转移提供支持屏障,复杂的相互作用使肿瘤微环境具有弱酸性、缺氧、相关酶异常表达、免疫抑制性等特点<sup>[58-59]</sup>。对于脑部疾病的治疗,进一步研究和探索疾病的致病机制、病理学特征,从而开发针对性的药物递送系统,在现有靶向方法之上设计新型靶向策略,是未来治疗脑部疾病的发展方向,具有非常广阔的应用前景。

### 参考文献

- [1] TERSTAPPEN G C, MEYER A H, BELL R D, et al. Strategies for delivering therapeutics across the blood-brain barrier [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2021, 20(5): 362-383.
- [2] 王晓宇,陈啸飞,柴逸峰,等. 血脑屏障上的P-糖蛋白和乳腺癌耐药蛋白及其研究方法[J]. *药物分析杂志*, 2017, 37(9):1557-1565.
- [3] DANEMAN R, PRAT A. The blood-brain barrier [J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2015, 7(1):a020412.
- [4] OBERMEIER B, DANEMAN R, RANSOHOFF R M. Development, maintenance and disruption of the blood-brain barrier [J]. *Nat Med*, 2013, 19(12):1584-1596.
- [5] RAMALHO M J, LOUREIRO J A, COELHO M A N, et al. Transferrin receptor-targeted nanocarriers: Overcoming barriers to treat glioblastoma [J]. *Pharmaceutics*, 2022, 14(2):279.
- [6] KONG L, LI X T, NI Y N, et al. Transferrin-modified osthole PEGylated liposomes travel the blood-brain barrier and mitigate Alzheimer's disease-related pathology in APP/PS-1 mice [J]. *Int J Nanomed*, 2020, 15: 2841-2858.
- [7] LIU C, LIU X N, WANG G L, et al. A dual-mediated liposomal drug delivery system targeting the brain: Rational construction, integrity evaluation across the blood-brain barrier, and the transporting mechanism to glioma cells [J]. *Int J Nanomedicine*, 2017, 12: 2407-2425.
- [8] VAN ROOY I, MASTROBATTISTA E, STORM G, et al. Comparison of five different targeting ligands to enhance accumulation of liposomes into the brain [J]. *J Control Release*, 2011, 150(1):30-36.
- [9] SHEN J Y, ZHAO Z M, SHANG W, et al. Ginsenoside R<sub>g1</sub> nanoparticle penetrating the blood-brain barrier to improve the cerebral function of diabetic rats complicated with cerebral infarction [J]. *Int J Nanomedicine*, 2017, 12: 6477-6486.

- [10] RAMALHO M J, SEVIN E, GOSSELET F, et al. Receptor-mediated PLGA nanoparticles for glioblastoma multiforme treatment[J]. *Int J Pharm*, 2018, 545(1/2): 84-92.
- [11] SALVATI E, RE F, SESANA S, et al. Liposomes functionalized to overcome the blood-brain barrier and to target amyloid- $\beta$  peptide: The chemical design affects the permeability across an *in vitro* model [J]. *Int J Nanomedicine*, 2013, 8: 1749-1758.
- [12] ZHANG Y, PARDRIDGE W M. Delivery of beta-galactosidase to mouse brain via the blood-brain barrier transferrin receptor[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2005, 313(3): 1075-1081.
- [13] LIANG M, GAO C H, WANG Y L, et al. Enhanced blood-brain barrier penetration and glioma therapy mediated by T7 peptide-modified low-density lipoprotein particles[J]. *Drug Deliv*, 2018, 25(1): 1652-1663.
- [14] KIM G, KIM M, LEE Y, et al. Systemic delivery of microRNA-21 antisense oligonucleotides to the brain using T7-peptide decorated exosomes [J]. *J Control Release*, 2020, 317: 273-281.
- [15] ZHAO C Y, ZHANG J L, HU H Y, et al. Design of lactoferrin modified lipid nano-carriers for efficient brain-targeted delivery of nimodipine[J]. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2018, 92: 1031-1040.
- [16] QI N, ZHANG S Q, ZHOU X T, et al. Combined integrin  $\alpha_v\beta_3$  and lactoferrin receptor targeted docetaxel liposomes enhance the brain targeting effect and anti-glioma effect [J]. *J Nanobiotechnology*, 2021, 19(1): 446.
- [17] 孙蓉, 陈秋颖, 刘振南, 等. Angiopep-2修饰的脑靶向制剂研究进展[J]. *国际药学研究杂志*, 2017, 44(6): 510-513.
- [18] 张燕, 费伟东, 陶姣阳, 等. Angiopep-2修饰的载三氧化二砷介孔二氧化硅脂质囊纳米递药系统的构建及体外评价[J]. *中草药*, 2018, 49(6): 1289-1297.
- [19] 徐毅, 闫美玲, 马继飞, 等. 脑靶向硫化银量子点的构建及体外跨血脑屏障作用[J]. *温州医科大学学报*, 2020, 50(3): 206-211.
- [20] 何思雨, 刘昕泽, 张璐, 等. ApoE修饰冬凌草甲素和连翘苷胶束处方优化及跨血脑屏障作用研究[J]. *辽宁中医药大学学报*, 2022, 24(2): 36-40.
- [21] MAGRO RDAL, ORNAGHI F, CAMBIANICA I, et al. ApoE-modified solid lipid nanoparticles: A feasible strategy to cross the blood-brain barrier [J]. *J Control Release*, 2017, 249: 103-110.
- [22] HUEY R, HAWTHORNE S, MCCARRON P. The potential use of rabies virus glycoprotein-derived peptides to facilitate drug delivery into the central nervous system: A mini review[J]. *J Drug Target*, 2017, 25(5): 379-385.
- [23] XU J K, YANG X Y, JI J B, et al. RVG-functionalized reduction sensitive micelles for the effective accumulation of doxorubicin in brain [J]. *J Nanobiotechnol*, 2021, 19(1): 251.
- [24] HONG W, ZHANG Z H, LIU L P, et al. Brain-targeted delivery of PEGylated nano-bacitracin A against Penicillin-sensitive and-resistant Pneumococcal meningitis: Formulated with RVG29 and Pluronic® P85 unimers[J]. *Drug Deliv*, 2018, 25(1): 1886-1897.
- [25] ZHAO M, ZHAO M N, FU C, et al. Targeted therapy of intracranial glioma model mice with curcumin nanoliposomes [J]. *Int J Nanomedicine*, 2018, 13: 1601-1610.
- [26] HUEY R, O'HAGAN B, MCCARRON P, et al. Targeted drug delivery system to neural cells utilizes the nicotinic acetylcholine receptor [J]. *Int J Pharm*, 2017, 525(1): 12-20.
- [27] PARDRIDGE W M. Blood-brain barrier delivery [J]. *Drug Discov Today*, 2007, 12(1/2): 54-61.
- [28] 谢月玲, 蒋新国. 吸附介导脑内靶向递药系统的研究进展[J]. *中国医院药学杂志*, 2007, 27(2): 238-240.
- [29] LIU X, AN C, JIN P, et al. Protective effects of cationic bovine serum albumin-conjugated PEGylated tanshinone II A nanoparticles on cerebral ischemia [J]. *Biomaterials*, 2013, 34(3): 817-830.
- [30] PANG Z Q, GAO H L, CHEN J, et al. Intracellular delivery mechanism and brain delivery kinetics of biodegradable cationic bovine serum albumin-conjugated polymersomes [J]. *Int J Nanomedicine*, 2012, 7: 3421-3432.
- [31] 吕风梅, 梁会敏, 随力, 等. 细胞穿膜肽修饰的缩宫素脂质体的制备及经鼻入脑的靶向性研究[J]. *药学报*, 2022, 57(2): 500-506.
- [32] LAKKADWALA S, DOS SANTOS RODRIGUES B, SUN C W, et al. Biodistribution of TAT or QLPVM coupled to receptor targeted liposomes for delivery of anticancer therapeutics to brain *in vitro* and *in vivo* [J]. *Nanomedicine*, 2020, 23: 102112.
- [33] VANNUCCI S J, MAHER F, SIMPSON I A. Glucose transporter proteins in brain: Delivery of glucose to neurons and glia [J]. *Glia*, 1997, 21(1): 2-21.
- [34] DU D, CHANG N D, SUN S L, et al. The role of glucose transporters in the distribution of *p*-aminophenyl- $\alpha$ -*d*-mannopyranoside modified liposomes within mice brain [J].

- J Control Release, 2014, 182: 99-110.
- [35] VIJAY N, MORRIS M E. Role of monocarboxylate transporters in drug delivery to the brain[J]. *Curr Pharm Des*, 2014, 20(10): 1487-1498.
- [36] DEVI R, JAIN A, HURKAT P, et al. Dual drug delivery using lactic acid conjugated SLN for effective management of neurocysticercosis[J]. *Pharm Res*, 2015, 32(10): 3137-3148.
- [37] VENISHETTY V K, SAMALA R, KOMURAVELLI R, et al.  $\beta$ -Hydroxybutyric acid grafted solid lipid nanoparticles: A novel strategy to improve drug delivery to brain[J]. *Nanomedicine*, 2013, 9(3): 388-397.
- [38] KANAI Y. Amino acid transporter LAT1 (SLC7A5) as a molecular target for cancer diagnosis and therapeutics[J]. *Pharmacol Ther*, 2022, 230: 107964.
- [39] XU J Q, LI G, WANG Z Y, et al. The role of L-type amino acid transporters in the uptake of glyphosate across mammalian epithelial tissues [J]. *Chemosphere*, 2016, 145: 487-494.
- [40] NAIR L V, NAIR R V, SHENOY S J, et al. Blood brain barrier permeable gold nanocluster for targeted brain imaging and therapy: An *in vitro* and *in vivo* study[J]. *J Mater Chem B*, 2017, 5(42): 8314-8321.
- [41] MITTAPALLI R K, MANDA V K, ADKINS C E, et al. Exploiting nutrient transporters at the blood-brain barrier to improve brain distribution of small molecules [J]. *Ther Deliv*, 2010, 1(6): 775-784.
- [42] LI J F, YANG H Y, ZHANG Y J, et al. Choline derivate-modified doxorubicin loaded micelle for glioma therapy[J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2015, 7(38): 21589-21601.
- [43] 王利苹, 奉建芳, 胡凯莉. 芳香开窍中药对血脑屏障通透性的调节作用及其机制研究进展[J]. *中国中药杂志*, 2014, 39(6): 949-954.
- [44] 王纳, 熊磊, 吴忻晨, 等. “芳香开窍”理论探析[J]. *中国中医基础医学杂志*, 2021, 27(9): 1460-1462.
- [45] 方永奇, 魏刚, 柯雪红. GC-MS分析石菖蒲挥发油透大鼠血脑屏障的成分研究[J]. *中药新药与临床药理*, 2002, 13(3): 181-182.
- [46] 李东娜, 马静, 李莉莉, 等. 苏合香对脑缺血再灌注损伤大鼠的脑保护及血脑屏障开放作用研究[J]. *药物评价研究*, 2020, 43(10): 1977-1982.
- [47] 吴雪, 欧阳丽娜, 向大位, 等. 冰片及石菖蒲促进羟基红花黄色素A透过血脑屏障的实验研究[J]. *中草药*, 2011, 42(4): 734-737.
- [48] 刘萍, 于绍帅, 何新荣. MD-HPLC联用研究中药苏合香对西药舒必利脑药和血药浓度的影响[J]. *中国中药杂志*, 2012, 37(21): 3307-3311.
- [49] NITTA T, HATA M, GOTOH S, et al. Size-selective loosening of the blood-brain barrier in claudin-5-deficient mice[J]. *J Cell Biol*, 2003, 161(3): 653-660.
- [50] 陈长才, 柯以铨, 徐如祥. 5-羧色胺在脑微血管中的变化与血脑屏障的关系[J]. *中华医学杂志*, 1997, 77(4): 298-299.
- [51] JANIGRO D, WEST G A, NGUYEN T S, et al. Regulation of blood-brain barrier endothelial cells by nitric oxide[J]. *Circ Res*, 1994, 75(3): 528-538.
- [52] SONG H, WEI M, ZHANG N, et al. Enhanced permeability of blood-brain barrier and targeting function of brain via borneol-modified chemically solid lipid nanoparticle [J]. *Int J Nanomedicine*, 2018, 13: 1869-1879.
- [53] WANG L T, XU L, DU J F, et al. Nose-to-brain delivery of borneol modified tanshinone II A nanoparticles in prevention of cerebral ischemia/reperfusion injury [J]. *Drug Deliv*, 2021, 28(1): 1363-1375.
- [54] KANG S M, DUAN W J, ZHANG S Q, et al. Muscone/RI7217 co-modified upward messenger DTX liposomes enhanced permeability of blood-brain barrier and targeting glioma [J]. *Theranostics*, 2020, 10(10): 4308-4322.
- [55] LIANG J M, GAO C F, ZHU Y, et al. Natural brain penetration enhancer-modified albumin nanoparticles for glioma targeting delivery [J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2018, 10(36): 30201-30213.
- [56] CHEN Y Z, ZHANG M, JIN H Y, et al. Glioma dual-targeting nanohybrid protein toxin constructed by intein-mediated site-specific ligation for multistage booster delivery [J]. *Theranostics*, 2017, 7(14): 3489-3503.
- [57] 蒋新国. 脑靶向递药系统的研究进展[J]. *复旦学报(医学版)*, 2012, 39(5): 441-448.
- [58] 胡川, 宋钰璐, 高会乐. 肿瘤微环境响应性纳米递药系统用于肿瘤免疫治疗的研究进展[J]. *药学进展*, 2022, 46(7): 485-494.
- [59] 吴诗洋, 常爽, 陈晴, 等. 肿瘤微环境调节型细胞器靶向递药系统的研究进展[J]. *药学学报*, 2022, 57(6): 1771-1780.

(收稿日期: 2022-09-28 编辑: 吴美琪)