

跨血脑屏障的药物递送策略研究进展

王栋, 徐寒梅, 胡加亮*

(中国药科大学 江苏省合成多肽药物发现与评价工程中心, 江苏 南京 211198)

[摘要] 中枢神经系统 (CNS) 疾病是由各种复杂的缺血性、出血性、炎症性、神经退行性和发育性疾病引起的, 是一类具有普遍性且治疗效果不佳的疾病。治疗 CNS 疾病的一个主要障碍是血脑屏障, 它是一种保护大脑的、动态的、适应性强、功能高度复杂的天然屏障, 许多具有治疗活性的药物被发现, 但是由于其无法跨越血脑屏障, 最终很难转化为有效的临床成果。综述跨血脑屏障实现药物递送策略: 干扰血脑屏障的紧密连接或外排系统、提高候选分子的血脑屏障透过性和载体偶联药物的脑递送, 旨在为 CNS 药物的开发提供参考。

[关键词] 血脑屏障; 中枢神经系统疾病; 药物递送

[中国分类号] R96

[文献标志码] A

[文章编号] 1001-5094 (2021) 06-0473-08

Research Progress of Drug Delivery Strategies Across the Blood-brain Barrier

WANG Dong, XU Hanmei, HU Jialiang

(Jiangsu Engineering Research Center of Synthetic Polypeptide Drug Discovery and Evaluation, China Pharmaceutical University, Nanjing 211198, China)

[Abstract] Central nervous system (CNS) diseases, which are caused by a variety of complex ischemic, hemorrhagic, inflammatory, neurodegenerative and developmental disorders, are quite common with poor therapeutic effects. One of the main obstacles to the treatment of CNS disease is the blood-brain barrier (BBB), which is a dynamic, adaptable and highly complex natural barrier to protect the brain. Many therapeutic agents have been discovered but cannot ultimately translate into effective clinical outcomes because they cannot cross the BBB. This paper reviews the drug delivery strategies across the BBB, including interfering with the BBB tight junctions or the exclusion system, improving BBB permeability of candidate molecules and carrier-coupled drug brain delivery, in the hope of providing reference for the development of CNS drugs.

[Key words] blood-brain barrier; central nervous system disease; drug delivery

血脑屏障是一种高度选择性的半透膜, 它将循环血液与脑组织分隔开, 是由毛细血管壁的内皮细胞、包裹毛细血管的星形胶质细胞的伪足末端和嵌入毛细血管基底膜的周细胞所组成^[1]。血脑屏障能够防止有害物质进入大脑, 维持大脑内环境的相对稳定, 但也阻碍了许多潜在诊断剂和治疗剂的脑递送。

随着人口老龄化的发展, 阿尔茨海默病、帕金森病、多发性硬化、卒中、脑肿瘤等中枢神经系统 (central nervous system, CNS) 疾病的发病率越来越高, 已经成为威胁人类生命的第二大疾病^[2]。然而, CNS 药物开发的成功率很低, 其中最重要

的制约因素就是药物难以通过血脑屏障。几乎所有的大分子药物, 包括多肽、重组蛋白、单克隆抗体 (monoclonal antibodies, mAbs) 和基于 RNA 干扰技术的药物, 以及 98% 以上的小分子药物均无法通过血脑屏障, 这严重阻碍了 CNS 疾病的有效临床治疗^[3]。因此, CNS 药物在具有安全性和有效性的同时, 还必须能够克服血脑屏障, 实现在 CNS 中的充分暴露, 这是 CNS 药物研发成功的关键。

一些内源性分子能够正常跨越血脑屏障, 维持和调节 CNS 的稳态, 它们的转运途径主要有 6 种, 包括细胞旁转运、被动跨细胞扩散、载体介导的转运、受体介导的跨细胞转运、吸附介导的跨细胞转运和细胞介导的转运, 但是大多数外源性分子均会受到血脑屏障的阻碍。为了实现跨血脑屏障的药物递送, 可以直接干扰血脑屏障的生理屏障功能, 减小血脑屏障的阻碍, 如打开紧密连接、抑制外排泵;

接受日期: 2020-07-29

*** 通信作者:** 胡加亮, 教授;

研究方向: 微生物与生化药学;

Tel: 025-83271007; **E-mail:** jialiang_hu@cpu.edu.cn

或者合理设计和修饰药物分子, 改变药物的性质使其更容易跨越血脑屏障, 如模拟内源性分子设计药物、前药设计、脂化修饰、糖基化修饰; 还可以将药物与载体偶联, 构建有效的药物脑递送系统, 如 mAbs 载药系统、细胞穿梭肽载药系统。本文将对跨血脑屏障实现药物脑递送的策略研究进展进行介绍, 以期 CNS 药物的开发提供参考。

1 干扰血脑屏障的紧密连接或外排系统

1.1 打开血脑屏障的紧密连接

许多 CNS 疾病会导致血脑屏障的通透性增加, 但增加的程度是不可预测的, 会因患者病情和个体差异而各不相同。同时, 脑微血管内皮细胞比外周内皮细胞排列更加紧密, 即使是在严重的病理条件下, 血脑屏障的紧密连接开放性增加到最多可允许粒径 20 nm 的药物分子透过血脑屏障^[4]。因此, 通过外部刺激人为诱导紧密连接开放, 是促进候选分子通过细胞旁转运途径进入大脑所必需的。

颈动脉注射高渗溶液, 如 25% 的甘露醇或阿拉伯糖, 使得脑部毛细血管的渗透压升高, 在血管环境平衡过程中, 内皮细胞收缩导致紧密连接打开, 从而增加了血脑屏障的通透性^[5]。这种方法能够暂时性提高脑渗透水平, 可以使大脑中亲水性药物的浓度增加 20 倍以上。通过活体脑成像发现, 该方法在人体内实现有效药物输送的治疗窗约为 40 min, 血脑屏障通透性在 8 h 内缓慢恢复至正常水平^[6]。此外, 通过颈动脉注射某些化合物可以诱导血脑屏障的瞬时开放, 如闭锁小带毒素、组胺、缓激肽、Cereport (一种与缓激肽类似的合成肽)、LipoBridge (一种含有短链低聚甘油脂的非免疫原性制剂)、血管内皮生长因子、油酸、溶血磷脂酸和十二烷基硫酸钠等^[7]。物理刺激也可以作为一种瞬时打开血脑屏障的策略, 如聚焦超声、电磁场和微波辐射等^[8]。

尽管上述方法能够开放血脑屏障, 但这种打开紧密连接的方式是一种非特异性、非选择性的策略, 药物分子透过血脑屏障的同时, 其他物质也会不受约束地进入大脑, 如病原体和神经炎症介质, 可能会导致 CNS 疾病并未得到改善, 反而更加严重。

1.2 抑制血脑屏障的外排系统

血脑屏障中存在一些外排转运体, 主要有乳腺癌相关蛋白 (breast cancer-related protein, BCRP)、P-糖蛋白 (P-glycoprotein, P-gp) 和多药耐药相关蛋白 (multidrug resistance-associated proteins, MRPs), 这些外排转运体共同作用, 阻止一系列药物进入脑实质^[9]。P-gp 是几种亲脂性分子的转运体, 多种 MRPs 负责运输中性化合物和离子 (尤其是阴离子) 化合物^[9]。

许多候选药物受到这些转运体的阻碍, 无法入脑发挥作用, 虽然打开血脑屏障的紧密连接, 可能会在一定程度上增加这些药物的进入, 研究发现抑制外排泵可以作为一种更好的替代方法来克服外排系统的阻碍。一些内源性或外源性的拮抗剂, 能够抑制主要外排泵, 当与被外排的候选药物联合应用时, 可以提高药物的脑内浓度。例如, 内皮素-1 (endothelin-1, ET-1) 是一种内源性受体拮抗剂, 可以抑制血脑屏障中 P-gp 的活性^[10]。泊洛沙姆作为一种非离子型表面活性剂, 能够以 2 种形式存在: 溶液形式下的单体状态和聚集形式下的胶束状态。泊洛沙姆在胶束状态下可以作为输送药物的载体, 在单体状态下能够有效阻止外排系统, 已被证明能够抑制外排泵 P-gp, 小程度地抑制 MRP1 和 MRP2, 而且这种抑制作用是短暂的, 对血脑屏障的完整性没有明显损害^[11]。

尽管使用外排抑制剂能够改善某些药物的脑递送, 但长期使用可能会导致血脑屏障外排系统的功能失常, 一些有害物质趁机侵入大脑, 引发中枢神经毒性。上述的打开紧密连接和抑制外排泵, 均是通过干扰血脑屏障正常的生理屏障功能, 提高药物的脑渗透率, 但会增加外源病原体 and 有害物质的 CNS 侵染风险, 因此, 干扰血脑屏障的紧密连接或外排系统不适合长期应用。

2 提高候选分子的血脑屏障透过性

2.1 模拟内源性分子策略

血脑屏障上存在着多种转运蛋白, 能够将血液中的神经营养物质顺利递送进脑实质, 这种载体介导的转运途径可以作为先导化合物的设计方向, 尤

其是游离的肽类分子, 它们更容易模拟内源性神经肽的结构特征, 与转运蛋白特异性结合, 实现跨血脑屏障转运。

Zhang 等^[12]以内源性神经肽甘丙肽为模版, 用碱性氨基酸赖氨酸 (Lys) 取代截短肽中的非活性氨基酸残基, 棕榈酰化修饰 Lys 以增强截短肽的脂溶性, 得到甘丙肽类似物, 通过小鼠模型的腹腔给药, 能够有效预防癫痫发作。以一种具有镇痛作用的神经肽 W 为模板, Green 等^[13]在其截短肽中引入脂化和阳离子化基序, 得到的神经肽 W 类似物能够有效透过血脑屏障, 兼具抗癫痫和镇痛的活性。许多 CNS 药物也是内源性分子的类似物, 借助载体转运进入大脑, 如左旋多巴 (levodopa, L-DOPA), 作为多巴胺的脂溶性前体, 含有羧基和 α -氨基, 能够结合 L 型氨基酸转运蛋白 1 (L-type amino acid transporter 1, LAT1) 进行跨血脑屏障转运; 米尔法兰和加巴喷丁也是 LAT1 的底物, 通过受体介导的内吞作用入脑, 因为它们与酪氨酸的结构类似, 具有氨基、羧基和疏水性的分支侧链^[14]。

还有许多转运蛋白可以作为内源性分子类似物的运输载体, 如葡萄糖转运蛋白 1 (glucose transporter 1, GLUT1) 占血脑屏障 GLUT 的 90% 以上^[15], 兴奋性氨基酸转运蛋白 1 (excitatory amino acid transporter 1, EAAT1) 在血脑屏障也高度表达, LAT1 和阳离子氨基酸转运蛋白 1 (cationic amino acid transporter 1, CAT1) 是血脑屏障中最主要的 L 型氨基酸转运蛋白和阳离子氨基酸转运蛋白^[15]。但是, 模拟内源性分子并以载体介导的转运途径入脑的策略具有一定的局限性: 一方面, 转运蛋白对配体的大小和结构有很大限制, 只能运输具有内源性底物结构特征的小分子; 另一方面, 内源性分子类似物对转运蛋白的竞争性结合, 可能会干扰神经营养物质的运输, 进而影响中枢神经系统的稳态。

2.2 前药设计策略

前药也称前体药物, 是指一类在体内代谢后具有药理活性的化合物。前药设计是将化学修饰基团可逆性地偶联到候选分子上, 体内通过酶解或水解再将其去除, 以释放活性成分发挥药效。对血脑屏

障透过率低的化合物, 可以对其进行可逆性化学修饰, 改变其脂溶性或与转运蛋白的结合能力, 以改善其血脑屏障透过性。

含有氨基、羟基或羧酸基团的化合物可以通过酯化或酰胺化形成脂溶性较高的前药, 因 CNS 中存在大量的内源性酯酶, 一旦前体药物穿过血脑屏障, 会被酶解以发挥药效^[16]。芳香族苯甲酯类和叔丁酯类前药在血浆中稳定, 在 CNS 中能够被诱导裂解而活化。疏水性氨基酸如苯丙氨酸 (Phe), 可以作为修饰基团添加到候选分子中, 增加血脑屏障对候选分子的透过性^[16]。此外, 利用大脑的氧化还原系统, 将亲脂性分子甲基二氢吡啶与候选分子偶联, 提高候选分子的脑渗透率, 入脑后前药会被氧化为亲水性季铵盐的形式, 有效“锚定”在 CNS 的隔室中, 防止被外排, 能够长时间发挥药效^[16]。

如前所述的 L-DOPA, 是多巴胺的前药, 用于治疗帕金森病, 多巴胺无法透过血脑屏障, 但 L-DOPA 可以口服进入中枢, 在脑内经多巴脱羧酶的脱羧作用转变为多巴胺, 进而发挥多巴胺的功效。LAT1 在血脑屏障上高水平表达, 能够运输大型中性 L 型氨基酸以及多种药物或前药, 是前药设计中应用较多的转运蛋白。为了对抗中枢神经炎症, Montaser 等^[17]对酮洛芬进行化学修饰, 得到的脂类前药和酰胺类前药, 能够借助 LAT1 进入大脑, 酶解后释放酮洛芬, 有效降低大脑的前列腺素水平。Huttunen 等^[18]证明了依赖 LAT1 的前药设计, 不仅使药物有效跨越血脑屏障, 还可改善药物向脑内神经元、星形胶质细胞和小胶质细胞的递送, 实现药物的脑内靶向。

2.3 脂化修饰策略

脂化是一种化学修饰手段, 能够增加候选分子的亲脂性, 促进候选分子通过被动跨细胞扩散途径穿过血脑屏障。药物的亲脂性需要一个平衡点, 亲脂性不足的药物很难透过血脑屏障, 而亲脂性过高的药物会被限制在外周组织或脑微血管内皮细胞膜上。为了确保药物最大限度的脑渗透, 用来衡量亲脂性的正辛醇/水分配系数应为 10:1~100:1^[19]。

候选分子的性质特征影响自身的脂溶性, 进而影响候选分子能否有效透过血脑屏障, 因此需要根

据候选分子的性质特征进行合理设计(见表1)^[20]。同时, 还需要考虑一些提高肽类分子脂溶性的策略(见表2), 如环化、卤化和甲基化等, 可使修饰后的肽类分子具有更好的脂溶性, 有利于穿透血脑屏障^[20]。

表1 影响候选分子亲脂性的性质特征

Table 1 Properties that affect the lipophilicity of candidate molecules

影响因素	性质特征
相对分子质量	相对分子质量一般在 400 ~ 600 或更低, 已上市销售的 CNS 药物平均相对分子质量为 300 ~ 400
亲脂性	油-水分配系数 $\log P$ 值应为 1.5 ~ 2.7; 生理 pH 值下的油-水分配系数 $\log D$ 值应为 0 ~ 3
氢键	氢键越多, 脂溶性越低, 血脑屏障的透过性越差, 故 CNS 药物除 C、H 原子外, 其他杂原子要少于 5 个, 且氢键供体应少于 3 个, 氢键受体应少于 7 个
极性表面积 (PSA)	CNS 药物的 PSA, 一般比较小, 有效透过血脑屏障的 PSA 约为 60 ~ 90 Å ² ; 当 PSA 从 52 Å ² 增至 105 Å ² 时, 血脑屏障透过性降至 1/100
分子柔性	生理条件下的分子构象影响透过血脑屏障的难易程度, 分子柔性有利于药物递送, 多数 CNS 药物的旋转键少于 5 个, 一般不超过 8 个
电性	对于候选药物, pH 值为 7 ~ 8, 最好带正电荷, pK_a 应为 7.5 ~ 10.5
代谢稳定性	药物通过口服给药时可能发生肝脏首过效应, 理想情况是 60 min 后仍能保持初始浓度的 80% 以上
代谢	细胞色素 P450 超家族 (CYP) 与肝脏 I 期代谢密切相关, 为使口服效果更好, 候选药物不应诱导显著的 CYP2D6、CYP3A4 酶代谢, 药物浓度达到 $3 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 对 CYP 酶代谢活性的药物抑制率应小于 50%
蛋白结合	理想的 CNS 药物不应是外排泵 (如 P-gp) 的底物, 在血液中与血清白蛋白的亲合力 K_d 应大于 $1 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$
hERG 抑制	hERG 是一种编码 K ⁺ 离子通道的基因, 对心脏的正常工作至关重要, 当设计与离子通道相互作用的 CNS 药物时, 药物对 hERG 的 IC ₅₀ 应比血浆中游离的药物浓度要高出 30 倍以上
水溶性	药物溶解度应大于 $60 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 确保最大限度的脑摄取
形状	理想情况下, 候选药物的长宽比应小于 5

表2 提高肽类分子脂溶性的策略

Table 2 Strategies for enhancing the lipid solubility of peptides

策略	理论依据
环化	多肽环化可以减少氢键数量, 增加肽的亲脂性, 减小在溶液中的流体动力学半径, 从而提高血脑屏障透过性
卤化	多肽卤化能够增加大脑对肽的摄取量
酰化	肽类分子的 N-末端酰化可提高血脑屏障透过性
甲基化	甲基化能够不可逆地封闭药物分子上的羟基, 增强分子脂溶性, 促甲状腺素释放激素类似物的甲基化可以提高其在血浆和脑中的稳定性, 增强 CNS 活性
增加烷基链长	在药物的非受体结合区添加非极性基团能够增强分子脂溶性, 如将正构醇的脂肪链长度从 1 个碳增至 8 个碳, 导致脂溶性增加 4 倍
氨基酸添加或替换	肽类分子中极性基团与非极性基团的总体平衡可以用电荷较少的氨基酸替换带电氨基酸, 或添加不带电荷的氨基酸
脂肪酸或胆固醇酯化	与甲基化相反, 酯化能够可逆地封闭药物分子上的羟基, 增加分子脂溶性

脂化修饰策略也存在一些挑战, 虽然通过增加药物的脂溶性, 提高了药物对血脑屏障的渗透能力, 但也更容易成为 P-gp 等外排系统的底物, 可以与外排泵抑制剂联合给药解决这一问题, 或者利用其他不受外排系统影响的转运途径进行药物递送, 如载体介导的转运、受体介导的跨细胞转运、吸附介导的跨细胞转运等。此外, 除了脑微血管内皮细胞, 全身的组织器官均有脂质双分子层, 因此口服或注射给药时, 亲脂性药物很有可能是非特异性的, 导致药物被限制在外周无法抵达中枢, 通过颈动脉注射给药可以减轻这一影响, 因为给药位置靠近头部,

一定程度上防止了药物向外周扩散^[21]。

2.4 糖基化修饰策略

在体内, 糖基化是一种常见的蛋白质翻译后修饰, 是在糖基转移酶的作用下, 将糖类转移到蛋白质, 与蛋白质上特殊的氨基酸残基形成糖苷键的过程, 糖基化能够调节蛋白质的功能, 改变分子的构象, 增加蛋白质的稳定性。对于肽类分子或 mAbs, 可以通过糖基化修饰, 提高对血脑屏障的渗透能力, 增加在大脑中的组织分布。

肽类分子的糖基化修饰, 就是将碳水化合物链结合到核心肽分子上, 得到的糖肽复合物亲脂性下

降, 虽然不能通过载体介导的转运途径入脑, 但糖肽的两亲性有利于吸附介导的跨细胞转运^[22]。不同的碳水化合物(如葡萄糖和木糖)修饰的肽类分子, 虽然会产生不同的组织分布特征, 但经糖基化修饰的肽类分子的水溶性、稳定性以及生物利用度均能得到改善, 因为有效的糖肽具有促进生物膜吸附的两亲性状态, 以及水溶性的随机卷曲状态^[22]。

糖基化修饰策略具有明显的优势。内啡肽-1是一种内源性阿片肽, Eskandari等^[22]发现它的糖肽衍生物, 由其N-末端连接乳糖琥珀酸而成, 经口服给药时, 内啡肽-1的糖肽衍生物对血脑屏障的渗透性是天然肽的700倍, 其血浆稳定性是天然肽的21倍。对于抗体分子, 通过糖基化修饰形成的抗体聚糖复合物, 能够更有效地穿透血脑屏障, 改善CNS疾病的治疗效果。Finke等^[23-24]采用脑微血管内皮细胞体外模型, 测定了抗淀粉样蛋白的mAbs(4G8和6E10)不同糖基化状态下的血脑屏障通透性, 研究了具有唾液酸(9-碳单糖的衍生物)修饰的4G8和缺乏唾液酸修饰的6E10, 发现唾液酸化的4G8抑制了自身的向外流出, 说明聚糖修饰有可能通过抑制外排来增加抗体分子向大脑的渗透。

3 载体偶联药物的脑递送

3.1 单克隆抗载体药策略

mAbs是由单一的母细胞克隆产生的一种高度均一、具有单价亲和力、仅针对某一特定抗原表位的抗体。mAbs载药策略就是针对血脑屏障上的受体外表位, 生成能识别并特异性结合外表位的mAbs, 并将mAbs与候选分子偶联, mAbs能够靶向结合血脑屏障上的受体, 通过受体介导的跨细胞转运途径, “捎带”候选分子进入大脑。

血脑屏障上有多种受体可以考虑作为mAb的靶受体, 主要包括胰岛素受体(insulin receptor, IR)、转铁蛋白受体(transferrin receptor, TfR)、低密度脂蛋白受体(low density lipoprotein receptor, LDLR)、低密度脂蛋白受体相关蛋白1(LRP1)和LRP2、白喉毒素受体(diphtheria toxin receptor, DTR)等^[25]。到目前为止, 研究较成功的mAbs是靶向TfR和IR^[26]。mAbs递送药物是一种很有前景

的载药脑递送策略, 几种肽类分子已与mAbs成功偶联, 增加了大脑对这些肽类分子的摄取, 包括血管活性肠肽、脑源性神经营养因子、成纤维细胞生长因子-2、表皮生长因子、 β -半乳糖苷酶等^[27]。

mAbs载药策略也存在一定的缺陷, 如mAbs具有较大的分子尺寸, 在跨膜转运中效率较低, 单域抗体(single-domain antibodies, sdAbs)能够解决尺寸限制的问题, sdAbs具有与正常抗体相似的特异性, 但只包含一个可变结构域, 因此sdAbs的相对分子质量较小(12 000~15 000), 约为常规IgG抗体相对分子质量(150 000~160 000)的1/10^[28]。一个典型的例子是FC5 sdAbs, 能够以一种极化的、不依赖于电荷和温度的方式, 即受体介导的跨细胞转运, 跨人的脑微血管内皮细胞转移^[28]。此外, 相较于mAbs, 许多sdAbs具有更好的组织通透性、更高的稳定性、更好的耐热性和更低的免疫原性, 也不存在FC介导的毒性^[29]。

3.2 细胞穿膜肽载药策略

细胞穿膜肽(cell-penetrating peptides, CPPs)是一类具有穿透细胞膜特性的短肽(少于30个氨基酸), 其序列具有两亲性和净正电荷, 能够携带蛋白质、多肽、核酸片段等多种活性物质进入细胞。CPPs载药策略就是利用CPPs穿膜转运效率高的特性, 将CPPs作为载体与候选分子偶联, “携带”候选分子穿透血脑屏障。

近年来, 通过分离神经毒素或噬菌体展示技术, 已经获得许多具有血脑屏障穿透能力的多肽(见表3), 通常是序列较短的线性肽或环状肽, 一些则含有非天然氨基酸^[30]。血脑屏障穿透肽在药物脑递送方面表现出色, Rusiecka等^[31]合成了TP10-多巴胺的共价复合物, 在帕金森病动物模型中表现出高于L-DOPA的治疗活性, 与TP10结合的多巴胺能更容易进入脑组织, 且对儿茶酚-O-甲基转移酶的敏感性下降, 对多巴胺D1和多巴胺D2受体有更高的亲和力。THRre肽是一种耐蛋白酶的脑屏障穿透肽, Diaz-Perlas等^[32]探究了具有1个THRre拷贝数的“1”型线性肽和具有2个THRre拷贝数的“V”型分支肽, 是否会影响蛋白质的血脑屏障渗透性; 将线性肽和分支肽分别依附于蛋白质上, 在血脑屏障细胞模型

中进行评估, 发现线性肽并不会增加模型蛋白的摄取和转运, 但分支肽修饰的蛋白摄取量增加了2.6倍。Khafagy 等^[33]研究发现, 将瘦素和 CPPs 鼻内联合

给药, 能有效地将瘦素递送到大脑, 以潜在地治疗和预防肥胖。

表 3 具有代表性的血脑屏障穿透肽

Table 3 Representative peptide BBB shuttles

名称	肽序列	靶受体或转运途径
Angiopep-2	TFFYGGSRGKRNNFKTEEY-OH	低密度脂蛋白受体相关蛋白 1
ApoB(3371-3409)	SSVIDALQYKLEGTTTRLTRKRLKALATALSLSNKFVEGS	低密度脂蛋白受体相关蛋白 2 低密度脂蛋白受体
ApoE(159-167) ₂	(LRKLRKRL) ₂	低密度脂蛋白受体相关蛋白 1 低密度脂蛋白受体相关蛋白 2 低密度脂蛋白受体
Peptide-22	Ac-C(&)MPRLRGC(&)-NH ₂	低密度脂蛋白受体
THR	THRPPMWSPPVWP-NH ₂	转铁蛋白受体 1
THRre	pwvpswmprrht-NH ₂	转铁蛋白受体 1
CRT	C(&)RTIGPSVC(&)	转铁蛋白受体 1
Leptin30	YQQILTSMPSRNVIQISNDLENLRDLLHVL	瘦素受体
RVG29	YTIWMPENPRPGTPCDIFNTRSGKRASNG-OH	烟碱型乙酰胆碱受体
^D CDX	GreirtGraerwsekf-OH	烟碱型乙酰胆碱受体
Apamin	C(& ₁)NC(& ₂)KAPETALC(& ₁)ARRC(& ₂)QQH-NH ₂	钾离子或钙离子通道
MiniAp-4	[Dap](&)KAPETALD(&)	钾离子或钙离子通道
GSH	γ -L-glutamyl-CG-OH	谷胱甘肽转运体
G23	HLNILSTLWKYRC	神经节苷脂转运体
TAT(47-57)	YGRKKRRQRRR-NH ₂	吸附介导的胞吞作用
SynB1	RGGRLSYRRRFSTSTGR	吸附介导的胞吞作用
TGN	TGNYKALHPHNG	未知受体
TP10	AGYLLGKINLKALAALAKKIL-NH ₂	未知受体

注: 氨基酸用单字母表示, 大写字母表示 L 型氨基酸, 小写字母表示 D 型氨基酸; & 代表成环的位置; Dap: 二氨基丙酸; glutamyl: 谷氨酰基

与 mAbs 相比, CPPs 的免疫原性更小, 易于化学合成, 而且能够引入非天然氨基酸以改善肽的某些性质。例如, D 型氨基酸的应用能够增强肽的稳定性, L-4- 苯甲酰基苯丙氨酸取代 L- 苯丙氨酸可以提高肽的疏水性^[34]。目前该领域的发展趋势是提高 CPPs 的选择性和稳定性, 通过靶向血脑屏障上特异性的转运蛋白, 引入蛋白酶不能识别的非天然氨基酸, 使 CPPs 能靶向、高效地穿透血脑屏障。

4 结语

综上, 跨血脑屏障递送药物的可行性策略: 一方面, 通过医疗干预手段, 可逆性地瞬时打开血脑屏障, 或利用血脑屏障固有的转运机制, 如抑制主动外排泵、载体介导的转运途径、受体介导的内吞途径等, 实现药物的脑递送。另一方面, 对药物分子进行合理的设计和修饰, 提高药物对血脑屏障的

渗透性。此外, 利用合适的载体进行药物递送, 如 mAbs 和 CPPs 的应用, 也提高了跨越血脑屏障的成功率。

然而, 有效的药物脑递送, 穿过血脑屏障只是第一步, 还应考虑如何在大脑中穿透并到达病理部位的靶区, 考虑 CNS 溶质清除的各种机制, 这些会影响到药物的有效性和安全性。此外, 目前大多数 CNS 疾病的确切病理机制仍未确定, 预测和评价药物对血脑屏障渗透性的体外模型还有待完善, 以及药物分子的靶向性、治疗性、稳定性和安全性也需要综合考量。相信随着生物医学技术的快速发展, CNS 药物开发必将迎来新的春天, 给患者创造一个更加健康美好的未来。

笔者所在课题组与法国 Jean Martinez 教授共同合作开发了一条多肽, 命名为 acein, 体外活性研究表明, 该多肽能够结合啮齿类动物脑膜上的血管紧

张素转换酶 (angiotensin converting enzyme, ACE) 受体, 进而引起大脑中非常显著的多巴胺释放, 对于一些 CNS 退行性疾病 (如帕金森病), acein 有可能成为治疗该疾病的新型药物, 但如何实现 acein

在体内稳定高效的跨血脑屏障递送, 是笔者所在课题组想要解决的一个难题。目前正在对 acein 进行修饰改造, 以期获得一个兼具有效性和血脑屏障透过性的改造肽。

【参考文献】

- [1] Ballabh P, Braun A, Nedergaard M. The blood-brain barrier: an overview: structure, regulation, and clinical implications[J]. *Neurobiol Dis*, 2004, 16(1): 1–13.
- [2] Sweeney M D, Sagare A P, Zlokovic B V. Blood-brain barrier breakdown in Alzheimer disease and other neurodegenerative disorders[J]. *Nat Rev Neurol*, 2018, 14(3): 133–150.
- [3] Zheng M, Tao W, Zou Y, et al. Nanotechnology-based strategies for siRNA brain delivery for disease therapy[J]. *Trends Biotechnol*, 2018, 36(5): 562–575.
- [4] Liebner S, Dijkhuizen R M, Reiss Y, et al. Functional morphology of the blood-brain barrier in health and disease[J]. *Acta Neuropathol*, 2018, 135(3): 311–336.
- [5] Wang Q, Deng Y, Huang L, et al. Hypertonic saline downregulates endothelial cell-derived VEGF expression and reduces blood-brain barrier permeability induced by cerebral ischaemia via the VEGFR2/eNOS pathway[J]. *Int J Mol Med*, 2019, 44(3): 1078–1090.
- [6] Siegal T, Rubinstein R, Bokstein F, et al. *In vivo* assessment of the window of barrier opening after osmotic blood-brain barrier disruption in humans[J]. *J Neurosurg*, 2000, 92(4): 599–605.
- [7] Chen Y, Liu L. Modern methods for delivery of drugs across the blood-brain barrier[J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2012, 64(7): 640–665.
- [8] Mead B P, Curley C T, Kim N, et al. Focused ultrasound preconditioning for augmented nanoparticle penetration and efficacy in the central nervous system[J]. *Small*, 2019, 15(49): e1903460. DOI: 10.1002/smll.201903460.
- [9] Sweeney M D, Zhao Z, Montagne A, et al. Blood-brain barrier: from physiology to disease and back[J]. *Physiol Rev*, 2019, 99(1): 21–78.
- [10] Banks W A. From blood-brain barrier to blood-brain interface: new opportunities for CNS drug delivery[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2016, 15(4): 275–292.
- [11] Batrakova E V, Kabanov A V. Pluronic block copolymers: evolution of drug delivery concept from inert nanocarriers to biological response modifiers[J]. *J Control Release*, 2008, 130(2): 98–106.
- [12] Zhang L, Klein B D, Metcalf C S, et al. Incorporation of monodisperse oligoethyleneglycol amino acids into anticonvulsant analogues of galanin and neuropeptide Y provides peripherally acting analgesics[J]. *Mol Pharm*, 2013, 10(2): 574–585.
- [13] Green B R, Smith M, White K L, et al. Analgesic neuropeptide W suppresses seizures in the brain revealed by rational repositioning and peptide engineering[J]. *ACS Chem Neurosci*, 2011, 2(1): 51–56.
- [14] Zeiadeh I, Najjar A, Karaman R. Strategies for enhancing the permeation of CNS-active drugs through the blood-brain barrier: a review[J]. *Molecules*, 2018, 23(6): 1289. DOI: 10.3390/molecules23061289.
- [15] Patel M M, Patel B M. Crossing the blood-brain barrier: recent advances in drug delivery to the brain[J]. *CNS Drugs*, 2017, 31(2): 109–133.
- [16] Witt K A, Gillespie T J, Huber J D, et al. Peptide drug modifications to enhance bioavailability and blood-brain barrier permeability[J]. *Peptides*, 2001, 22(12): 2329–2343.
- [17] Montaser A, Lehtonen M, Gynther M, et al. L-type amino acid transporter 1-utilizing prodrugs of ketoprofen can efficiently reduce brain prostaglandin levels[J]. *Pharmaceutics*, 2020, 12(4): 344. DOI: 10.3390/pharmaceutics12040344.
- [18] Huttunen J, Peltokangas S, Gynther M, et al. L-type amino acid transporter 1 (LAT1/Lat1)-utilizing prodrugs can improve the delivery of drugs into neurons, astrocytes and microglia[J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 12860. DOI: 10.1038/s41598-019-49009-z.
- [19] Arnott J A, Planey S L. The influence of lipophilicity in drug discovery and design[J]. *Expert Opin Drug Discov*, 2012, 7(10): 863–875.
- [20] Furtado D, Björnalm M, Ayton S, et al. Overcoming the blood-brain barrier: the role of nanomaterials in treating neurological diseases[J]. *Adv Mater*, 2018, 30(46): e1801362. DOI: 10.1002/adma.201801362.
- [21] Wang H, Li T, Zhao L, et al. Dynamic effects of ioversol on the

- permeability of the blood-brain barrier and the expression of ZO-1/occludin in rats[J]. *J Mol Neurosci*, 2019, 68(2): 295–303.
- [22] Eskandari S, Varamini P, Toth I. Formulation, characterization and permeability study of nano particles of lipo-endorphin-1 for oral delivery[J]. *J Liposome Res*, 2013, 23(4): 311–317.
- [23] Finke J M, Banks W A. Modulators of IgG penetration through the blood-brain barrier: implications for Alzheimer's disease immunotherapy[J]. *Hum Antibodies*, 2017, 25(3/4): 131–146.
- [24] Finke J M, Ayres K R, Brisbin R P, et al. Antibody blood-brain barrier efflux is modulated by glycan modification[J]. *Biochim Biophys Acta Gen Subj*, 2017, 1861(9): 2228–2239.
- [25] Moura R P, Martins C, Pinto S, et al. Blood-brain barrier receptors and transporters: an insight on their function and how to exploit them through nanotechnology[J]. *Expert Opin Drug Deliv*, 2019, 16(3): 271–285.
- [26] Pardridge W M. Re-engineering therapeutic antibodies for Alzheimer's disease as blood-brain barrier penetrating bi-specific antibodies[J]. *Expert Opin Biol Ther*, 2016, 16(12): 1455–1468.
- [27] Haqqani A S, Delaney C E, Brunette E, et al. Endosomal trafficking regulates receptor-mediated transcytosis of antibodies across the blood brain barrier[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2018, 38(4): 727–740.
- [28] Bélanger K, Iqbal U, Tanha J, et al. Single-domain antibodies as therapeutic and imaging agents for the treatment of CNS diseases[J]. *Antibodies (Basel)*, 2019, 8(2): 27. DOI: 10.3390/antib8020027.
- [29] Henry K A, MacKenzie C R. Antigen recognition by single-domain antibodies: structural latitudes and constraints[J]. *MAbs*, 2018, 10(6): 815–826.
- [30] Oller-Salvia B, Sánchez-Navarro M, Giralt E, et al. Blood-brain barrier shuttle peptides: an emerging paradigm for brain delivery[J]. *Chem Soc Rev*, 2016, 45(17): 4690–4707.
- [31] Rusiecka I, Ruczyński J, Kozłowska A, et al. TP10-dopamine conjugate as a potential therapeutic agent in the treatment of Parkinson's disease[J]. *Bioconj Chem*, 2019, 30(3): 760–774.
- [32] Díaz-Perlas C, Oller-Salvia B, Sánchez-Navarro M, et al. Branched BBB-shuttle peptides: chemoselective modification of proteins to enhance blood-brain barrier transport[J]. *Chem Sci*, 2018, 9(44): 8409–8415.
- [33] Khafagy E S, Kamei N, Fujiwara Y, et al. Systemic and brain delivery of leptin via intranasal coadministration with cell-penetrating peptides and its therapeutic potential for obesity[J]. *J Control Release*, 2020, 319: 397–406.
- [34] Prades R, Oller-Salvia B, Schwarzmaier S M, et al. Applying the retro-enantio approach to obtain a peptide capable of overcoming the blood-brain barrier[J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2015, 54(13): 3967–3972.



【专家介绍】胡加亮：博士，教授，2006年获比利时鲁汶大学医学院免疫生理学博士学位，现为中国药科大学生命科学与技术学院教授。主要从事抗炎与抗肿瘤多肽药物的研究，在重大专项候选药物课题（No.2012ZX09103301-004）的资助下完成了一类抗肿瘤新药 AP25 的大部分临床前研究。曾先后主持国家科技重大专项等 4 项课题，参加国际合作等 3 项课题，发表 SCI 论文 22 篇，申请专利 7 项且均已授权。获 2013 年江苏省“六大人才高峰”培养对象；2014 年获得江苏省医药科技进步奖一等奖（排名第 2）。