

泊洛沙姆在药物穿越血脑屏障中的重要作用

张 伟, 方晓玲*

(复旦大学 药学院, 上海 200032)

摘要: 泊洛沙姆是一种具有药理活性的多功能药用辅料, 在药剂学中应用广泛。近年来, 研究发现泊洛沙姆可以通过多种作用机制帮助药物穿越血脑屏障, 抑制血脑屏障上的 P-糖蛋白、多药耐药相关蛋白等外排泵系统; 吸附血浆中的不同载脂蛋白后, 通过与血脑屏障上相应受体的结合, 使泊洛沙姆包被的纳米粒主动转运入脑; 连接各种配体及单克隆抗体等导向性分子, 使其通过受体介导的转运进入脑部。本文综述了泊洛沙姆在促进药物穿越血脑屏障的重要作用, 对设计脑靶向药物传递系统具有重要意义。

关键词: 泊洛沙姆; 血脑屏障; 脑靶向; 药物传递系统; P-糖蛋白; 纳米粒

中图分类号: R943 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-4870(2008)09-0890-08

Significant role of poloxamer in drug transport across blood-brain barrier

ZHANG Wei, FANG Xiao-ling*

(School of Pharmacy, Fudan University, Shanghai 200032, China)

Abstract: Poloxamers are found to be an efficient adjuvant with multiple effects and are applied generally in pharmaceutical field. In recent years, it is investigated that poloxamers can increase the permeability of a broad spectrum of drugs through blood-brain barrier (BBB) by means of manifold mechanisms included: ① inhibiting P-glycoprotein and multidrug-resistance associated protein efflux systems on BBB; ② adsorbing different apolipoproteins in plasma on the surface of poloxamer-coated nanoparticles, which could interact with BBB through different receptors and mechanisms; ③ connecting to specific ligands and monoclonal antibodies to cross the BBB via specific endogenous transporters localized within the brain capillary endothelium. Significant roles of poloxamer in drug transport across BBB are considered in this review which provides for important guidance to the design of brain-targeted drug delivery system.

Key words: poloxamer; blood-brain barrier; brain targeting; drug delivery system; P-glycoprotein; nanoparticle

血脑屏障(blood-brain barrier, BBB)是血液和脑组织之间的屏障系统, 由脑毛细血管内皮细胞、细胞间紧密连接、星形胶质细胞、周细胞和基膜构成^[1], 见图 1。BBB 功能由机械性屏障、外排泵屏障和酶屏障共同参与构成, 对脑内环境稳定和防止有害物

质进入等方面起到重要作用。当然, BBB 同时也限制了 95% 以上的小分子药物和几乎所有的大分子药物进入, 故目前临床上治疗脑部疾病主要应用脑部植入、脑室注射和脑内注射等方式, 给病人带来极大痛苦^[2]。因此, 脑部靶向药物传递系统的开发有着重要的临床意义。

泊洛沙姆(poloxamer)是聚氧乙烯-聚氧丙烯-聚氧乙烯(PEO-PPO-PEO)三嵌段共聚物, 其商品名为普朗尼克(Pluronic®), 结构式见图 2。随着亲水 EO

收稿日期: 2008-03-14.

基金项目: 国家重点基础研究发展计划(973 计划)资助项目(2007CB935800).

*通讯作者 Tel / Fax: 86-21-54237432,
E-mail: xlfang@shum.edu.cn

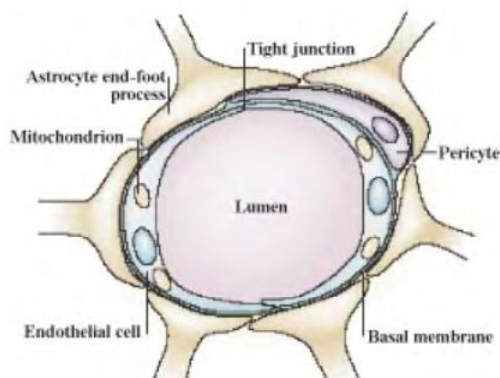


Figure 1 Schematic illustration of a brain capillary^[1]

链和疏水 PO 链数目(x, y)的不同,泊洛沙姆具有不同的亲水亲油平衡值(HLB)、临界胶团浓度(CMC)和溶质分配系数(P)。泊洛沙姆不仅在片剂、栓剂、乳剂和凝胶剂等传统剂型中有着广泛的应用,还可以形成胶束增加难溶性药物的溶解度,提高药物的稳定性,控制药物的释放,并且抑制外排泵的外排作用,促进药物的吸收^[3]。经研究表明,泊洛沙姆在药物穿越 BBB 的过程中亦起着重要的作用,它可通过不同的作用机制使药物靶向入脑,提高药物的脑内生物利用度,这为药物能够脑部靶向提供了新的思路和策略。本文将从泊洛沙姆抑制 BBB 上多种转运蛋白的外排作用,包被纳米粒,间接通过 BBB 上低密度脂蛋白受体介导的转运靶向入脑;与 BBB 上受体的特异性配体及其单克隆抗体等导向性分子连接后,经受体介导的主动转运进入脑部等方面综述泊洛沙姆帮助药物穿越 BBB 的作用机制。

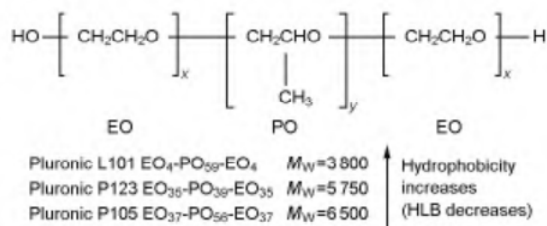


Figure 2 Chemical structure of poloxamer block copolymers^[3]

1 作用于血脑屏障(BBB)上的转运蛋白

BBB 上存在多种转运蛋白,如 P-糖蛋白(P-glycoprotein, P-gp)、多药耐药相关蛋白(multidrug-resistance protein, MRP)、乳腺癌耐药蛋白(breast cancer resistance protein, BCRP)、有机阴离子转运

蛋白(organic anion transporter, OAT)和有机阴离子转运多肽(organic anion transporting polypeptide, OATP)等(图3),能够影响药物的脑内分布。实验表明,泊洛沙姆可以抑制 BBB 上某些转运蛋白的外排作用,促进药物穿越 BBB。

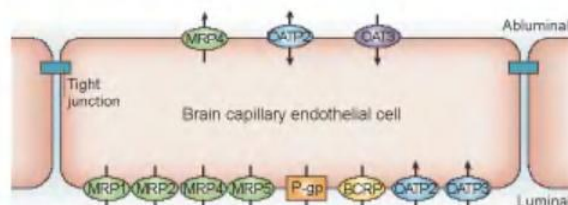


Figure 3 The localization of drug efflux transporters at brain capillary endothelial cells in the BBB^[1]. BCRP: Breast cancer resistance protein; MRP: Multidrug-resistance protein; OAT: Organic anion transporter; OATP: Organic anion transporting polypeptide

1.1 ATP-结合盒(ATP binding cassette, ABC)转运蛋白

1.1.1 P-糖蛋白(P-glycoprotein, P-gp) Juliano 等^[4]首次发现 P-gp 是一种重要的外排转运蛋白,易引起肿瘤细胞的多药耐药现象。Thiebaut 等^[5]研究发现了 BBB 内皮细胞上的第 1 个外排转运蛋白即 P-gp。P-gp 虽然对维护血脑屏障的完整性、保持脑内环境的稳定起着重要作用,但严重限制了 BBB 对治疗药物的摄取。因此,抑制 P-gp 的外排,提高药物的脑内生物利用度,对脑部疾病的治疗有重要的临床意义。P-gp 是一种能量依赖性的药物外排泵,ATP 可与 P-gp 结合,在 ATP 酶的作用下水解,为外排药物提供所需的能量。目前,研究表明不同种类的化合物对于 P-gp 的抑制有着不同的作用机制,总体上可分为 3 个方面^[6-9]: ① P-gp 竞争性或非竞争性抑制剂可直接作用 P-gp 的结合位点,减少 P-gp 对其他药物的外排;② 抑制 ATP 与 P-gp 位点的结合或 ATP 的水解,阻断 P-gp 外排泵的能量来源;③ 与细胞膜相互作用,干扰质膜的微观环境,间接影响 P-gp 的外排作用。

实验发现,泊洛沙姆可以显著抑制 P-gp 对阿霉素(doxorubicin)、紫杉醇(paclitaxel)、齐多夫定(zidovudine)和地高辛(digoxin)等药物的外排。为了探讨泊洛沙姆对 P-gp 外排系统的抑制机制, Kabanov 等^[10,11]以牛脑微血管内皮细胞(BBMEC)为体外 BBB 模型,以罗丹明-123(Rhodamine-123,

R-123)为荧光探针,考察了 poloxamer 235 (Pluronic P85)对 P-gp 外排的影响;运用荧光素和荧光素酶分析方法研究了 BBMEC 内 ATP 水平的影响;并以二苯己三烯为膜探针,考察了 Pluronic P85 对 BBMEC 膜微观黏度的影响。结果表明,Pluronic P85 单体可显著降低 BBMEC 内的 ATP 水平,并且降低膜的微观黏度,使 P-gp 的外排减少,但该效应具有浓度依赖性。作者推测 Pluronic P85 进入 BBMEC 后,其疏水部分可能与 BBMEC 内的线粒体膜相互作用,抑制 NADH 脱氢酶,减少电子传递,有效降低了线粒体生产 ATP 的能力。另外, BBMEC 膜微观黏度的降低使细胞脂质膜的结构紊乱,使 ATP 与 P-gp 结合部位的亲和力显著降低,同时干扰了 ATP 酶的活力。因此,耗竭细胞内 ATP 和降低细胞膜微观黏度对泊洛沙姆抑制 P-gp 的外排具有协同作用。

根据 HLB 和 PO 链长度的不同可将泊洛沙姆分为 4 类: (I) HLB 20 ~ 29 的亲水性泊洛沙姆,如: poloxamer 188 (Pluronic F68)、poloxamer 338 (Pluronic F108)和 poloxamer 407 (Pluronic F127); (II) HLB < 20、PO 链 30 ~ 60 的泊洛沙姆,如: poloxamer 235 (Pluronic P85)、poloxamer 335 (Pluronic P105)和 poloxamer 181 (Pluronic L61); (III) HLB < 20、PO 链 < 30 的泊洛沙姆,如: poloxamer 105 (Pluronic L35)、poloxamer 123 (Pluronic L43)和 poloxamer 184 (Pluronic L64); (IV) HLB < 20、PO 链 > 60 的泊洛沙姆,如: poloxamer 403 (Pluronic P123)和 poloxamer 401 (Pluronic L121)。为了解哪种类型的泊洛沙姆对 P-gp 外排的抑制作用最大, Batrakova 等^[12]研究了泊洛沙姆的结构与 P-gp 抑制作用的关系。结果发现, II 类泊洛沙姆能够最大程度的抑制 P-gp 外排,原因在于 II 类泊洛沙姆耗竭细胞内 ATP 和降低细胞膜微观黏度的能力最强。I 类泊洛沙姆亲水性强,细胞内化作用弱,且增加了细胞膜的微观黏度,无 P-gp 抑制作用;通过激光共聚焦扫描荧光显微镜观察,虽然 III 类泊洛沙姆亲脂性适宜,可以穿过细胞膜进入细胞浆,但无法降低细胞内 ATP 水平,可能是无法增加细胞膜的紊乱程度,缺乏与线粒体膜的相互作用,推测与 PO 链的长短有关;对于 IV 类泊洛沙姆,虽然可以增加细胞膜的紊乱程度,最大程度的抑制 ATP 酶活力,但其亲脂性较大,CMC 较低,很难通过细胞膜进入胞内,故无法与线粒体膜相互作用以抑制 ATP 的生成。综上所述,选择结构适宜的泊洛沙姆作为药物传递系统,对药物穿越 BBB 有

着至关重要的作用。

1.1.2 多药耐药相关转运蛋白 (multidrug-resistance associated protein, MRP) MRP 有 9 个亚型,统称为 MRPs,在脑、肝、肾和小肠等组织有广泛分布,其中在脑中表达较多的 MRP 主要有 MRP1、MRP2、MRP4 和 MRP5^[13,14]。MRP 主要转运阴离子、氨基酸类、糖类和肽类等化合物,并阻止外源性物质及有害代谢物进入脑部^[15]。随着肿瘤多药耐药的出现,MRPs 几乎在各种实体瘤和恶性血液肿瘤中均有所表达^[16]。有效调节 MRP 的活性,改善药物的体内分布,特别是抑制 BBB 的 MRPs 外排系统,对药物穿越 BBB 治疗脑部肿瘤有着重要的临床意义。一些研究表明,泊洛沙姆可以有效抑制 MRPs 的外排,增加药物在耐药肿瘤细胞的摄取,使抗肿瘤药物的细胞毒作用增加了近 3 个数量级^[17~19]。Batrakova 等^[20]用 BBMEC 模拟 BBB,以荧光素为分子探针,考察了 Pluronic P85 对 MRP 外排泵的抑制作用。结果表明,当 Pluronic P85 的浓度为 0.01% (w/v) 时,荧光素的表观渗透系数 (P_{app})与对照组相比显著增加,有效抑制了 BBMEC 基膜顶侧 MRP 的外排;实验中发现 Pluronic P85 的浓度增至 0.1% ~ 1% 时, P_{app} 显著降低,甚至低于对照组,这可能与荧光素探针进入 Pluronic P85 形成的胶团,分配行为发生改变有关。

为了进一步了解泊洛沙姆抑制 MRP 外排的机制, Batrakova 等^[21]分别以 MRP1 和 MRP2 转染的 MDCK II 细胞 (MDCK II-MRP1 和 MDCK II-MRP2) 为体外细胞模型,以 MRPs 的典型底物长春碱 (vinblastine) 和阿霉素为模型药物考察了 Pluronic P85 对 MRP1 和 MRP2 的抑制作用。结果表明, Pluronic P85 不仅可以抑制 MRP1 和 MRP2 的 ATP 酶活性,还可以减少 MDCK II-MRP1 和 MDCK II-MRP2 细胞内的 ATP 水平,另外,还降低了细胞内还原型谷胱甘肽 (GSH) 的水平,并且抑制了谷胱甘肽转移酶 (GST) 的活性,显著增加了长春碱和阿霉素的细胞毒作用。BBB 上的 GSH/GST 系统常与 MRPs 外排系统协同作用,阻止外源性物质进入脑部。可见 MRPs 的底物是 GSH 依赖的,即 GSH 的结合物和共转运物均为 MRPs 的底物。因此,泊洛沙姆通过抑制 GSH/GST 系统和降低 MRPs 的活性来增敏药物,促进药物穿越 BBB。

1.1.3 乳腺癌耐药蛋白 (breast cancer resistance protein, BCRP) BCRP 是一种 ABC 半转运蛋白,有较高的 mRNA 水平,在脑、肝、肾和小肠等部位

均有表达^[22,23], 主要位于 BBB 毛细血管管腔侧, 与 P-gp 位置相近, 其底物与 P-gp 的底物部分重叠, 有外排作用, 对蒽环类药物及其衍生物高度耐药^[24,25]。因此, 抑制 BCRP 外排系统对药物穿越 BBB 有一定的促进作用。Yamagata 等^[26]用 MDCK II 细胞为体外细胞模型考察了 Pluronic P85 和 Tweens 等 15 种辅料对 [³H] 米托蒽醌 ([³H] mitoxantrone, BCRP 底物) 摄取的影响。研究发现, Pluronic P85、Tween 20 和 Span 20 能显著增加 [³H] mitoxantrone 在 MDCK II 细胞内的蓄积, 是有效的 BCRP 抑制剂, 但 MDCK II 细胞内的 ATP 水平没有明显变化, 故 Pluronic P85 对 BCRP 的抑制机制有待进一步研究。另有研究表明^[27], Pluronic P85 作为 BCRP 抑制剂, 使拓扑替康 (topotecan) 在野生型小鼠体内的生物利用度提高了 2 倍, 而对于 BCRP (-/-) 基因敲除小鼠, 拓扑替康的生物利用度则无明显改善。提示 Pluronic P85 可以通过抑制 BCRP 的外排, 协助药物穿越 BBB, 提高药物的脑内生物利用度。

1.2 其他转运蛋白

1.2.1 一元羧酸转运蛋白 (monocarboxylate transporter, MCT)

研究发现, 泊洛沙姆不仅可以通过抑制 BBB 上的 P-gp 和 MRPs 等转运系统的外排来增敏药物, 还可用于逆转肿瘤的多药耐药性^[28], 是一种十分有前景的可用于中枢神经系统 (CNS) 的药物载体系统, 但关于泊洛沙姆对 BBB 上维护 CNS 正常生理功能的其他转运蛋白是否存在负作用知之甚少。例如 MCT 是一种质子共转运蛋白, 在脑部、心脏和骨骼肌等组织中均有表达, 主要类型有 MCT1, MCT2 和 MCT4 等, 参与了烟酸、苯甲酸和水杨酸等一元羧酸的跨膜转运^[29,30]。可见, MCT 对 CNS 疾病的治疗和内环境的稳定有着重要的作用。因此, 有必要探索泊洛沙姆对 BBB 上 MCT 的影响。Batrakova 等^[31]以 BBMEC 为 BBB 的体外细胞模型, 以 ¹⁴C-乳酸 (¹⁴C-lactate) 为底物, 考察了 Pluronic P85 对 MCT1 转运的影响。结果表明, 0.001% ~ 1% 的 Pluronic P85 对 MCT1 介导的 ¹⁴C-乳酸的转运均有一定的抑制作用, 当其浓度为 0.01% ~ 0.1% 时, 对 MCT1 转运的抑制作用最强, 即此时 BBMEC 对 ¹⁴C-乳酸的摄取量最少, 但浓度增至 1% 时, MCT1 对 ¹⁴C-乳酸的转运能力有恢复正常的趋势。这与 Pluronic P85 抑制 P-gp 和 MRPs 外排的机制相似, 但 MCT1 介导的转运不消耗 ATP, 推测 Pluronic P85 抑制 MCT1 转运的机制可能与其 PO 链有效降低了细胞膜的黏度有关。毒性实验表

明, 1% Pluronic P85 多剂量静脉注射给药, 对小鼠的 CNS 无明显毒性作用。

1.2.2 葡萄糖转运蛋白 (glucose transporter, GLUT)

GLUT 是一种高效易化转运蛋白, 其专属性底物主要有葡萄糖及其结构类似物。血脑屏障 (BBB) 和脑脊液屏障 (BCSFB) 均有 GLUT1 表达, 它对维持脑的功能十分重要^[32]。故 Batrakova 等^[31]研究了 Pluronic P85 对 GLUT1 介导的 ³H-2-脱氧葡萄糖 (³H-2-deoxy-glucose, ³H-2-DG) 转运的影响。结果发现, 0.001% ~ 0.1% 的 Pluronic P85 显著增加了 ³H-2-DG 在 BBMEC 的水平; 0.1% ~ 1% 的 Pluronic P85 明显减少了 ³H-2-DG 在 BBMEC 的蓄积。非线性药代动力学实验表明, GLUT1 对 ³H-2-DG 的最大反应速率 (V_{max}) 为 2 502.2 pmol · mg⁻¹ · min⁻¹, 表观米氏常数 (K_m) 为 0.079 mmol · L⁻¹, 而 1% (w/v) 的 Pluronic P85 却使 GLUT1 对 ³H-2-DG 的 V_{max} 变为 1 927.2 pmol · mg⁻¹ · min⁻¹, 降低了 1.3 倍; K_m 变为 0.143 2 mmol · L⁻¹, 增加了 1.8 倍。可见, Pluronic P85 调节 GLUT1 对 ³H-2-DG 转运的能力有浓度依赖性, 当 Pluronic P85 浓度为 0.01% 时, ³H-2-DG 的细胞摄取量达到最大。研究表明, GLUT1 在 BBMEC 的管腔侧膜和基膜的两侧, 甚至在细胞质中均有表达^[33,34], 推测高浓度的 Pluronic P85 使 ³H-2-DG 摄取减少的原因是细胞质中或非管腔侧的 GLUT1 被激活。组织学、免疫组织化学和酶组织化学等实验表明, Pluronic P85 制剂对小鼠的 CNS 无毒性反应。

2 包被纳米粒

起初, 研究者们采用泊洛沙姆或 Tweens 包被纳米粒, 是由于它们具有亲水性较强的外壳和较大的空间位阻, 可以有效地减少肝、脾等器官的网状内皮细胞对纳米粒的吞噬, 延长药物的在体循环时间, 从而实现药物的被动靶向, 但研究发现包被后的纳米粒可以间接增强脑部对药物的摄取。例如: Troster 等^[35]研究了各种泊洛沙姆或 Tweens 包被的和无表面活性剂修饰的聚甲基丙烯酸甲酯纳米粒 (PMMA-NPs) 在大鼠体内的分布情况。结果发现 poloxamer 407、184、338 (Pluronic F127、L64、F108) 和 Tween 60、80 包被的 PMMA-NPs 在脑内分布显著增加。Borchard 等^[36]以 BBMEC 为体外 BBB 模型, 考察了各种表面活性剂包被的 [¹⁴C] PMMA-NPs 在细胞内的蓄积情况, 各种 PMMA-NPs 的细胞内摄取量顺序如下: poloxamer 407、Tween 80 > poloxamer 184、poloxamer 188、Tween 20 > poloxamer 338, 提示泊

洛沙姆包被的 PMMA-NPs 有一定细胞内化的作用。

Yang 等^[37~39]以 poloxamer 188 (Pluronic F68) 为表面活性剂使之吸附在喜树碱固体脂质纳米粒 (CA-SLN) 表面, 增加其亲水性, 并产生“立体位阻”效应, 有效阻止了单核吞噬系统 (MPS) 的摄取, 经口服或静脉注射后发现 CA-SLN 在小鼠的非 MPS 部位靶向性增强, 显著提高了喜树碱的脑内靶向效率。另有实验证明, 以 Pluronic F68 和 Tween 20、40、60、80 等为包衣材料, 以六肽 (dalargin)、二肽 (kytorphin)、洛哌丁胺 (loperamide)、筒箭毒碱 (tubocurarine)、阿霉素和 NMDA 受体拮抗剂 MRZ-2/516 等为模型药物制备的聚烷基氰基丙烯酸酯纳米粒 (PACA-NPs) 均能有效通过 BBB, 使脑内药物摄取量明显增加^[40]。

研究表明, 泊洛沙姆和 Tweens 包被的纳米粒穿越 BBB 的机制可能是静脉注射后, 泊洛沙姆或 Tweens 能有效吸附血浆中的载脂蛋白 E (Apo E) 或载脂蛋白 B (Apo B), 使纳米粒具有低密度脂蛋白 (LDL) 的特征, 进而与脑微血管内皮细胞 (BMEC) 上的低密度脂蛋白受体 (LDL-R) 相互作用, 最终被 BBB 内皮细胞内吞进入脑部^[40~42]。

为了进一步阐明该转运机制, Kreuter 等^[43]考察了 Apo E 和 Apo B 包被的六肽聚丁基氰基丙烯酸酯纳米粒 (PBCA-NPs) 对小鼠的最大潜在镇痛效应 (MPE), 结果表明 Apo E/B 包被的 dalargin-PBCA-NPs 的 MPE 显著增加。另外, 以 Apo E 缺乏的 ApoEtm1Unc 小鼠和正常的 C57BL/6J 小鼠为动物模型, 发现 Tween 80 包被的 dalargin-PBCA-NPs 对 ApoEtm1Unc 小鼠的 MPE 显著降低。Michaelis 等^[44]选择了自身无法通过 BBB 的难溶性的阿片受体激动剂洛哌丁胺为模型药物, 通过生物素-亲和素策略将 3 种 Apo E 化学偶联在洛哌丁胺人血清白蛋白纳米粒 (HSA-NP) 上, 小鼠热甩尾实验证实 Apo E3 偶联的 loperamide-HSA-NP 镇痛效应明显, 且呈现一定的剂量依赖性。由此可见, Apo E3 可与 BMEC 上的 LDL-R 发生配体-受体特异性作用, 进而介导纳米粒穿越 BBB。

最近, Petri 等^[45]通过二维聚丙烯酰胺凝胶电泳 (2-D PAGE) 实验研究了 Pluronic F68 包被的 doxorubicin-PBCA-NPs 对各种血浆蛋白的吸附情况, 结果表明它可以特异性吸附载脂蛋白 A-I (Apo A-I), 并且显著提高了植入恶性胶质瘤大鼠的生存率, 提示 doxorubicin-PBCA-NPs 表面吸附的 Apo A-I 可能与 BMEC 上的清道夫受体 (scavenger receptor

class B type I, SR-BI) 特异性结合, 进而穿越 BBB。另外, Kreuter 等^[46]以洛哌丁胺为模型药物, 通过双功能性 PEG 试剂 (NHS-PEG-Mal 3400) 将 Apo E3、Apo A-I 和 Apo B-100 共价偶联于 HSA-NP, 通过小鼠热甩尾法考察了 3 种 loperamide-HSA-NP 的 MPE, 分别为 95%、65% 和 50%, 而洛哌丁胺溶液剂组却无镇痛效应, 故表明 Apo A-I 与 SR-BI 的配体-受体的特异性结合也是纳米粒穿越 BBB 的另一途径^[47]。

综上所述, 泊洛沙姆包被的纳米粒穿越 BBB 的机制主要是由于泊洛沙姆能吸附血浆中的一种或几种载脂蛋白如 Apo E3、Apo A-I 和 Apo B-100 等, 进而与 BMEC 上相应受体如 LDL-R 和 SR-BI 等特异性结合, 经内皮细胞的内吞或跨细胞转运而穿越 BBB。当然, 在受体介导的药物跨越 BBB 的过程中, 紧密连接的暂时性开放或 P-gp 外排的抑制可能同时发生, 具有协同作用^[41, 42]。

3 连接导向性分子

泊洛沙姆是一类性质独特的三嵌段两亲性共聚物, 分子两端含有羟基, 为了使药物能够穿越 BBB, 一些导向性分子可通过化学偶联或一些功能性试剂与泊洛沙姆的羟基或羟基活化基团进行连接, 然后再与未被修饰的泊洛沙姆混合制成含药胶束, 最终通过载体或受体介导转运入脑^[3, 48]。关于泊洛沙姆与特异性配体偶联实现药物靶向传递的文献已有报道, 如: Kabanov 等^[49]用葡萄球菌肠毒素 B (*Staphylococcus aureus* enterotoxin B, SEB) 与 Pluronic P85 分子共价连接, 并制备了荧光素 Pluronic P85 胶束系统, 通过 MDCK 细胞摄取实验发现, SEB 键合的 Pluronic P85 载药胶束中荧光素在细胞内的蓄积显著增多, 这可能与 MDCK 细胞表面受体介导的内吞有关。Wang 等^[28]将叶酸与 poloxamer 335 (Pluronic P105) 偶联, 并以人乳腺癌细胞 (MCF-7) 及人乳腺癌阿霉素耐药细胞 (MCF-7/ADR) 为细胞模型, 以紫杉醇为模型药物, 考察了叶酸介导的 Pluronic P105 胶束 (FOL-P105/PTX) 逆转肿瘤多药耐药性的作用。结果表明 FOL-P105/PTX 可以显著促进 MCF-7/ADR 摄取紫杉醇, 大幅度提高了逆转能力。

另有一些实验表明, 泊洛沙姆连接导向性分子后可以穿越 BBB, 实现药物的脑部靶向。研究发现, 当神经安定药氟哌啶醇 (haloperidol) 的 Pluronic P85 胶束制剂分别与导向分子乙醇脱氢酶的小鼠单克隆抗体 (anti-ADG Ab) 和脑神经胶质细胞纤维酸

性抗原的小鼠多克隆抗体(anti-GFA Ab)连接后,小鼠的神经安定作用都有显著提高,前者氟哌啶醇的药理活性提高了5倍,后者的药效提高了两个数量级以上。结果表明胶束连接的抗体可与BMEC上的特异性抗原相互作用,使氟哌啶醇穿越BBB在脑部蓄积^[50]。Kabanov等^[51]研究发现载有异硫氰酸荧光素(FITC)的泊洛沙姆胶束制剂可使FITC在小鼠肺部的蓄积显著增加;但当泊洛沙姆胶束与胰岛素(insulin)分子共价偶联后,FITC在小鼠各组织(包括脑部)的分布均有所增加;而当泊洛沙姆胶束与脑神经胶质细胞 α_2 -糖蛋白的抗体(anti- α_2 -GP Ab)连接后,FITC在小鼠肺部的蓄积有所降低,而在小鼠脑部的分布显著增加。说明与脑部导向性分子(特异性抗原的抗体如anti- α_2 -GP Ab和BMEC受体的特异性配体如胰岛素等)连接的泊洛沙姆胶束系统可为某些药物穿越BBB提供有效途径。Batrakova等^[52]以BBMEC和Caco-2细胞为模型,将Pluronic P85与胰岛素共价连接以评价Pluronic P85胶束在受体介导的条件下,BBMEC和Caco-2细胞对分子探针R-123的摄取情况。结果发现经胰岛素修饰后泊洛沙姆胶束中R-123在BBMEC中的蓄积增加了近3倍,而R-123在Caco-2细胞中的蓄积却没有改变,原因在于BBMEC表面存在丰富的胰岛素受体,载药胶束可以通过受体介导的转运将分子探针R-123输送到细胞内,而Caco-2细胞表面不表达胰岛素受体。

由此可见,泊洛沙姆胶束制剂可以通过化学方法或生物素-亲和素策略与BMEC受体的单克隆抗体如抗大鼠转铁蛋白受体的鼠源性单抗OX-26、83-14及其特异性配体如转铁蛋白(transferrin)、乳铁蛋白(lactoferrin)、Apo E3、Apo A-I和Apo B-100等导向性分子相连接,实现药物的脑部靶向。

结语

目前,载阿霉素的泊洛沙姆混合胶束制剂(SP1049C)已经进入II期临床试验,其中含有0.25% Pluronic L61和2% Pluronic F127,主要用于耐药性肿瘤的治疗,效果十分显著,有着广阔的应用前景。但能否将其扩展到脑部肿瘤的治疗,还有赖于BBB上新靶点的发现和联接技术的发展。研究表明,将脂质纳米囊、PEG修饰的纳米粒和树状大分子如聚酰胺-胺(polyamidoamine, PAMAM)等与转铁蛋白、乳铁蛋白和OX-26联接后,脑部靶向性显著增强,所以利用受体介导的转运和联接技术构

建多功能的药物跨BBB递送载体是现阶段最为有效的方法。泊洛沙姆不仅可以抑制BBB的外排系统,还可以连接各种导向性分子成为药物穿越BBB的有效载体,但能否发挥二者的协同作用,仍有待进一步探索。总之,随着研究的不断深入,对泊洛沙姆帮助药物穿越BBB的重要作用及其机制会有更加明确的认识。

References

- [1] Löscher W, Potschka H. Drug resistance in brain diseases and the role of drug efflux transporters [J]. *Nat Rev Neurosci*, 2005,6:591-602.
- [2] Pardridge WM. Drug targeting to the brain [J]. *Pharm Res*, 2007, 24: 1733-1744.
- [3] Kabanov AV, Batrakova EV, Alakhov VY. Pluronic® block copolymers as novel polymer therapeutics for drug and gene delivery [J]. *J Control Release*, 2002, 82: 189-212.
- [4] Juliano RL, Ling V. A surface glycoprotein modulating drug permeability in Chinese hamster ovary cell mutants [J]. *Biochim Biophys Acta*, 1976,455:152-162.
- [5] Thiebaut F, Tsuruo T, Hamada H, et al. Immunohistochemical localization in normal tissues of different epitopes in the multidrug transport protein P170: evidence for localization in brain capillaries and crossreactivity of one antibody with a muscle protein [J]. *J Histochem Cytochem*, 1989,37:159-164.
- [6] Stouch TR, Gudmundsson O. Progress in understanding the structure-activity relationships of p-glycoprotein [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2002,54:315-328.
- [7] Callaghan R, Ford RC, Kerr ID. The translocation mechanism of p-glycoprotein [J]. *FEBS Lett*, 2006, 580:1056-1063.
- [8] Collnot EM, Baldes C, Wempe MF, et al. Mechanism of inhibition of p-glycoprotein mediated efflux by vitamin E: influence on ATPase activity and membrane fluidity [J]. *Mol Pharm*, 2006,4:465-474.
- [9] Martin W. Natural and synthetic polymers as inhibitors of drug efflux pumps [J]. *Pharm Res*, 2008,25:500-511.
- [10] Kabanov AV, Batrakova EV, Miller DW. Pluronic® block copolymers as modulators of drug efflux transporter activity in the blood-brain barrier [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2003,55:151-164.
- [11] Batrakova EV, Li S, Vinogradov SV, et al. Mechanism of pluronic effect on p-glycoprotein efflux system in blood-brain barrier: contributions of energy depletion and membrane fluidization [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2001,299:483-493.
- [12] Batrakova EV, Li S, Alakhov VY, et al. Optimal structure requirements for pluronic block copolymers in

- modifying p-glycoprotein drug efflux transporter activity in bovine brain microvessel endothelial cells [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2003, 304:845-854.
- [13] Lum BL, Gosland MP. MDR expression in normal tissues [J]. *Drug Resist Clin Oncol Hematol*, 1995, 9:319-336.
- [14] Huai YH, Secrest DT, Mark KS, et al. Expression of multidrug resistance-associated protein (MDR) in brain microvessel endothelial cells [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1998, 243:816-820.
- [15] Higgins CF. ABC transporters: from microorganisms to man [J]. *Annu Rev Cell Biol*, 1992, 8:67-113.
- [16] Hipfner DR, Cole SP. Structural, mechanistic and clinical aspects of MRP1 [J]. *Biochim Biophys Acta*, 1999, 1461:359-376.
- [17] Alakhov VY, Moskaleva EY, Batrakova EV, et al. Hypersensitization of multidrug resistant human ovarian carcinoma cells by Pluronic P85 block copolymer [J]. *Bioconjugate Chem*, 1996, 7:209-216.
- [18] Venne A, Li S, Mandeville R, et al. Hypersensitizing effect of Pluronic L61 on cytotoxic activity, transport and subcellular distribution of doxorubicin in multiple drug-resistant cells [J]. *Cancer Res*, 1996, 56:3626-3629.
- [19] Miller DW, Batrakova EV, Kabanov AV. Inhibition of multidrug resistance-associated protein (MRP) functional activity with Pluronic block copolymers [J]. *Pharm Res*, 1999, 16:396-401.
- [20] Batrakova EV, Li S, Miller DW, et al. Pluronic P85 increases permeability of a broad spectrum of drugs in polarized BBMEC and Caco-2 cell monolayers [J]. *Pharm Res*, 1999, 16:1366-1372.
- [21] Batrakova EV, Li S, Alakhov VY, et al. Sensitization of cells overexpressing multidrug-resistant proteins by Pluronic P85 [J]. *Pharm Res*, 2003, 20:1581-1590.
- [22] Allen JD, Schinkel AH. Multidrug resistance and pharmacological protection mediated by the breast cancer resistance protein [J]. *Mol Cancer Ther*, 2002, 1:427-434.
- [23] Herwaarden AH, Schinkel AH. The function of breast cancer resistance protein in epithelial barriers, stem cells and milk secretion of drugs and xenotoxins [J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2006, 27:10-16.
- [24] Lee YJ, Kusuha H, Jonker JW, et al. Investigation of efflux transport of dehydroepiandrosterone sulfate and mitoxantrone at the mouse blood-brain barrier [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2005, 312:44-52.
- [25] Leggas M, Adachi M, Scheffer GL, et al. MRP4 confers resistance to topotecan and protects the brain from chemotherapy [J]. *Mol Cell Biol*, 2004, 24:7612-7621.
- [26] Yamagata T, Kusuha H, Morishita M, et al. Effect of excipients on breast cancer resistance protein substrate uptake activity [J]. *J Control Release*, 2007, 124:1-5.
- [27] Yamagata T, Kusuha H, Morishita M, et al. Improvement of the oral drug absorption of topotecan through the inhibition of intestinal xenobiotic efflux transporter, breast cancer resistance protein, by excipients [J]. *Drug Metab Dispos*, 2007, 35:1142-1148.
- [28] Wang YZ, Yu L, Han LM, et al. Difunction Pluronic copolymer micelles for paclitaxel delivery: synergistic effect of folate-mediated targeting and Pluronic-mediated overcoming multidrug resistance in tumor cell lines [J]. *Int J Pharm*, 2007, 333:63-73.
- [29] Pierre K, Pellerin L. Monocarboxylate transporters in the central nervous system: distribution, regulation and function [J]. *J Neurochem*, 2005, 94:1-14.
- [30] Hertz L, Dienel GA. Lactate transport and transporters: general principles and functional roles in brain cells [J]. *J Neurosci Res*, 2005, 79:11-18.
- [31] Batrakova EV, Zhang Y, Li YL, et al. Effects of Pluronic P85 on GLUT1 and MCT1 transporters in the blood-brain barrier [J]. *Pharm Res*, 2004, 21:1993-2000.
- [32] Tamai I, Tsuji A. Transporter-mediated permeation of drugs across the blood-brain barrier [J]. *J Pharm Sci*, 2000, 89:1371-1388.
- [33] Simpson IA, Vannucci SJ, DeJoseph MR, et al. Glucose transporter asymmetries in bovine blood-brain barrier [J]. *J Biol Chem*, 2001, 276:12725-12729.
- [34] Pardridge WM, Boado RJ, Farrell CR, et al. Brain-type glucose transporter (GLUT1) is selectively localized to the blood-brain barrier. Studies with quantitative western blotting and *in situ* hybridization [J]. *J Biol Chem*, 1990, 265:18035-18040.
- [35] Troster SD, Muller U, Kreuter J. Modification of the body distribution of poly (methyl methacrylate)-nanoparticles in rats by coating with surfactants [J]. *Int J Pharm*, 1990, 61:85-100.
- [36] Borchard G, Audus KL, Shi F, et al. Uptake of surfactant-coated poly (methyl methacrylate)-nanoparticles by bovine brain microvessel endothelial cell monolayers [J]. *Int J Pharm*, 1994, 110:29-35.
- [37] Yang SC, Zhu JB, Liang BW, et al. Studies on camptothecin solid lipid nanoparticles [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 1999, 34:146-150.
- [38] Yang SC, Zhu JB, Liu Y, et al. Body distribution of camptothecin solid lipid nanoparticles after oral administration [J]. *Pharm Res*, 1999, 16:751-757.
- [39] Yang SC, Lu LF, Cai Y, et al. Body distribution of in mice of intravenous injected camptothecin solid lipid nanoparticles and targeting effect on brain [J]. *J Control Release*, 1999, 59:299-307.
- [40] Kreuter J. Influence of the surface properties on nanoparticle-mediated transport of drugs to the brain [J]. *J Nanosci Nanotechnol*, 2004, 4:484-488.

- [41] Kreuter J. Nanoparticulate systems for brain delivery of drugs [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2001,47:65 – 81.
- [42] Blasi P, Giovagnoli S, Schoubben A, et al. Solid lipid nanoparticles for targeted brain drug delivery [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2007,59:454 – 477.
- [43] Kreuter J, Shamenkov D, Petrov V, et al. Apolipoprotein-mediated transport of nanoparticle-bound drugs across the blood-brain barrier [J]. *J Drug Target*, 2002,10:317 – 325.
- [44] Michaelis K, Hoffmann MM, Dreis S, et al. Covalent linkage of apolipoprotein E to albumin nanoparticles strongly enhances drug transport into the brain [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2006,317:1246 – 1253.
- [45] Petri B, Bootz A, Khalansky A, et al. Chemotherapy of brain tumor using doxorubicin bound to surfactant-coated poly (butyl cyanoacrylate) nanoparticles; revisiting the role of surfactants [J]. *J Control Release*, 2007,117: 51 – 58.
- [46] Kreuter J, Hekmatara T, Dreis S, et al. Covalent attachment of apolipoprotein A-I and apolipoprotein B-100 to albumin nanoparticles enables drug transport into the brain [J]. *J Control Release*, 2007,118:54 – 58.
- [47] Kratzer I, Wernig K, Panzenboek U, et al. Apolipoprotein A-I coating of protamine-oligonucleotide nanoparticles increases particle uptake and transcytosis in an *in vitro* model of the blood-brain barrier [J]. *J Control Release*, 2007,117:301 – 311.
- [48] Moller DW, Kabanov AV. Potential application of polymers in the delivery of drugs to the central nervous system [J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 1999,16:321 – 330.
- [49] Kabanov AV, Slepnev VI, Kuznetsova LE, et al. Pluronic micelles as a tool for low-molecular compound vector delivery into a cell; effect of *Staphylococcus aureus* enterotoxin B on cell loading with micelle incorporated fluorescent dye [J]. *Biochem Int*, 1992,26:1035 – 1042.
- [50] Kabanov AV, Chekhomn VP, Yu V, et al. The neuroleptic activity of haloperidol increases after its solubilization in surfactant micelles. Micelles as microcontainers for drug targeting [J]. *FEBS Lett*, 1989,258:343 – 345.
- [51] Kabanov AV, Batrakova EV, Nubarov NM, et al. A new class of drug carriers: micelles of poly(oxyethylene)-poly(oxypropylene) block copolymers as microcontainers for drug targeting from blood in brain [J]. *J Control Release*, 1992,22:141 – 157.
- [52] Batrakova EV, Han HY, Miller DW, et al. Effect of Pluronic P85 unimers and micelles on drug permeability in polarized BBMEC and Caco-2 cells [J]. *Pharm Res*, 1998,15:1525 – 1532.

《国际药学研究杂志》2009 年征订启事

《国际药学研究杂志》原刊名《国外医学药学分册》，是中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)，由军事医学科学院主管、军事医学科学院毒物药物研究所主办，是以评述性论文为主的综合性药学期刊。设置栏目有综述、专家论坛、研究论著、编译、文摘和医药信息等。本刊根据国内药学科、教学、临床和生产的需要，追踪报道世界各国药学领域的新进展、新动向、新技术和新成果，包括药物化学、药剂学、药物代谢、药物分析、药理和毒理学、生化药理学和临床药理学等基础研究和应用研究方面的内容。刊登内容既有新颖的基础理论，又有应用研究和临床实践，适合于从事药学研究的科技人员、临床医师和药师、制药工程技术人员，以及医药院校师生阅读和参考。被国内外多种数据库和检索期刊收录。

本刊为双月刊，大 16 开本，80 页，国内外公开发行，每期定价 10.00 元。国内邮发代号：82 - 135；国外代号：BM6568，国外发行：中国国际图书贸易总公司(北京 399 信箱)。欢迎广大读者在当地邮局订阅，也可直接与编辑部联系补订。

地址：北京市太平路 27 号六所《国际药学研究杂志》编辑部(邮编：100850)

电话：010 - 66931618, 010 - 66931637; E-mail: guol@nic.bmi.ac.cn