

外用纳米产品安全性的研究进展

朱羞阳^{1*}, 赵晓英², 王超君^{3#}, 陆艳飞¹, 杨 栋¹(1.空军杭州航空医学鉴定训练中心, 杭州 310007; 2.杭州市儿童医院, 杭州 310014; 3.南京军区杭州疗养院, 杭州 310007)

中图分类号 TQ450.2⁶; G353.11 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)33-3156-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.33.27

摘要 目的:为外用纳米产品的安全性评价提供参考。方法:以“纳米”“纳米银”“纳米二氧化钛”“纳米氧化锌”“纳米铁”等为关键词,检索中国知网、万方、Web of Science等数据库2004年1月1日至2013年11月1日与外用纳米产品安全性相关的文献,对其安全性评价方法、指标及结果进行综述。结果与结论:安全性评价方法多采用体外方式及动物试验;评价指标多从刺激性、细胞毒性、遗传毒性、神经毒性等方面进行研究。评价结果表明,长期接触一些高浓度的外用纳米产品对人体可能造成体内蓄积和长期毒性等风险,具体机制尚不十分确切。

关键词 外用纳米产品;安全性;综述

纳米产品(Nanomaterial)是指粒径为1~100 nm的超微颗粒,具有独特的性质,广泛应用于电子工业、生物感应和医疗保健等行业。纳米化处理物理效应明显增加,如小尺寸效应、量子尺寸效应、表面效应和宏观量子隧道效应,这些效应导致了异常的吸附能力和化学反应能力。纳米材料由于易扩散和高渗透性等独特的理化性质被人们广泛应用。但是随着生物毒理学的发展,越来越多的研究指出纳米材料对人体和生态环境可能具有潜在的危害。2007年7月,美国FDA发布首份纳米技术相关产品监管调查报告,要求制订针对纳米产品的科学监管方法。2012年9月原国家食品药品监督管理局(SFDA)发布通知,明确将纳米银等生物材料类医疗器械按第三类医疗器械管理,相关产品重新注册,全面评价其安全性。

纳米产品作用于人体的主要途径有3种:口服、吸入和皮肤接触。其中,皮肤产品的应用范围最广泛,但危害最易被忽视。本文以“纳米”“纳米银”“纳米二氧化钛”“纳米氧化锌”“纳米铁”等为关键词,检索中国知网、万方、Web of Science等数据库2004年1月1日至2013年11月1日与外用纳米产品安全性相关的文献,对其安全性评价方法、指标及结果进行综述。

1 安全性评价方法

目前对纳米材料外用安全性的评价方法主要包括:体外细胞毒性检测、动物毒性检测、人体皮肤替代物评价等。

1.1 体外细胞毒性检测

纳米材料毒性通常源于细胞摄取,细胞学检测是目前毒性评价的主要方法。主要采用的细胞类型为吞噬细胞、神经细胞、肝细胞、上皮细胞、内皮细胞、红细胞和各种癌细胞,其中吞噬细胞是评价纳米材料毒性的主要细胞模型。细胞检测的主要指标有活性氧(ROS)生成、细胞活力、细胞应激、细胞形态和细胞的粒子摄取5个方面^[1]。研究显示,氧化应激是纳米二氧化硅的主要致毒原因^[2]。此外,纳米二氧化硅进入细胞时,对细胞膜产生损伤,影响内环境稳态,导致细胞凋亡。经研究发现,纳米二氧化硅对肺细胞、表皮细胞、肝细胞等均有毒性^[2-3]。

1.2 动物毒性检测

动物毒性检测包括皮肤急性毒性试验、皮肤过敏性试验和皮肤刺激性试验等^[4]。目前过敏性试验多采用豚鼠最大化

试验和局部涂皮Buehler试验。广泛采用的哺乳动物模型有SD大鼠、♂ C57BL/6N小鼠、C57BL/6小鼠;非哺乳动物模型有斑马鱼、果蝇、虹鳟鱼、欧亚鲈鱼、日本青鳉、秀丽线虫、牡蛎、黑头呆鱼^[5-6]。

1.3 人体皮肤替代物评价

目前可用于纳米材料皮肤毒性检测的人体皮肤替代物评价模型有EpiDermTM、EpiSKINTM、SkinEthicTM和其他人体皮肤重构模型。就其评价方法,经研究发现MTT检测皮肤毒性特异性较好,但灵敏度不高,白细胞介素1 α (IL-1 α)能检测化学物的刺激性且灵敏度高^[7]。为提高检测的准确性,常将MTT试验和IL-1 α 测定结合使用^[8]。另有文献报道,考察不同大小、形状、包被的粒子暴露24 h后对完整的猪皮肤角质层的渗透情况,用以评价纳米材料的安全性^[9]。

1.4 其他

张敏等^[10]选用Wistar大鼠和Fmmu豚鼠对鬼臼毒素-固体脂质纳米粒经皮肤用药的安全性进行考察。结果表明,在有效观察时间,小剂量(5 mg/L)和大剂量(50 mg/L)的鬼臼毒素-固体脂质纳米粒对豚鼠皮肤均无刺激性和致敏性。大鼠在小剂量使用时,未出现明显毒性反应,大剂量使用时,易出现皮肤红肿等炎症反应;皮肤破损时,易出现全身急性中毒反应。

2 安全性评价指标

2.1 刺激性

经研究发现,纳米颗粒对完整的皮肤无刺激性,且有良好的耐受性,可以阻挡纳米颗粒的渗透^[11]。纳米二氧化钛和纳米氧化锌颗粒更小,可能会出现毒性,但不能透过皮肤的角质层达到更深层^[12]。如果皮肤有损伤,纳米颗粒则易通过皮肤迁移进入真皮,被淋巴细胞吸收或被巨噬细胞摄取,部分也可通过血液循环产生后续反应^[13]。

2.2 细胞毒性

纳米材料通过体液输送和血液循环,与细胞表面的载体通道、各种受体结合,使蛋白质变性、细胞功能受阻,诱导细胞凋亡,诱发炎症反应。另外,纳米颗粒与蛋白质、细菌和病毒等相互作用,可能会引发新的疾病^[14]。经研究发现,纳米氧化钛能够阻碍胞间通信,降低细胞的生长速度;纳米银颗粒能明显降低线粒体功能,大量产生ROS^[11]。

2.3 遗传毒性

纳米材料吸附在细胞表面后,通过生物膜上的空隙进入

* 主管药师。研究方向:临床药学。电话:0571-87349091。E-mail:382460572@qq.com

通信作者:主管药师。研究方向:药物制剂。E-mail:172131601@qq.com

细胞内或细胞内的细胞器,进而与生物大分子发生反应,使生物大分子的结构性能发生改变,导致遗传物质产生突变,影响精子的生成过程、形态和活力,也可能通过胎盘屏障对胚胎早期的组织分化产生不良影响,导致胎儿畸形^[12]。

2.4 神经毒性

纳米材料通过血液循环进入体内后,容易透过血脑屏障,以神经元转移的方式进入神经系统^[12]。另外,纳米颗粒也可通过呼吸系统的神经末梢,分布于神经节和中枢神经系统。研究表明,纳米二氧化钛可经黏膜吸收并进入脑组织,对脑中神经递质的代谢产生影响^[11]。

3 部分纳米产品外用安全性评价结果

据美国 Project on Emerging Nanotechnologies 网站统计,截至2011年3月,全球规范的纳米产品已达1 317种。其中,营养保健品占56.03%,化妆品和防晒霜占13.36%,食品和饮料占7.97%。涉及的纳米材料包括纳米银(313种)、纳米碳(91种)、纳米二氧化钛(59种)、纳米二氧化硅(42种)、纳米氧化锌(31种)等^[13]。在化妆品领域,纳米产品主要包括可溶性纳米微粒和不溶性纳米微粒,其中可溶性纳米微粒主要有纳米脂质体、纳米乳滴等,不溶性纳米微粒包括纳米二氧化钛等。在医药领域,外用纳米制剂包括:纳米粒、固体脂质纳米粒、纳米乳、纳米脂质体、柔性纳米脂质体、纳米醇质体、磁性纳米颗粒等。在纳米功能性纺织品产品领域,纳米银、纳米二氧化钛、纳米氧化锌常被应用于抗菌纤维的制造;纳米二氧化钛、纳米氧化铝、纳米氧化硅常被用于抗紫外纤维的制造等^[14]。

3.1 纳米银

纳米银粒子通过使细胞膜变性失活而达到杀菌效果,具有广谱杀菌的特点,常用于治疗烧伤烫伤、褥疮、创面感染等^[14]。但纳米银敷贴对皮肤角质化细胞和成纤维细胞有毒性^[13]。如果皮肤有损伤,纳米颗粒更易透过皮肤进入血液,蓄积在体内引起肝肾损伤^[13]。细胞毒性试验发现,纳米银对人皮肤癌细胞、人皮肤全层细胞、人宫颈癌细胞和人表皮角质细胞等均有毒性^[5]。这可能与纳米银沉积于线粒体,产生大量活性氧,诱导产生应激反应,引起细胞凋亡和DNA损伤有关^[16]。

纳米功能性纺织品具有抗菌、防蛀、防皱免烫、防紫外线、拒水拒油等多种功能,应用前景广阔。研究表明,由于纳米材料体积小、自由度高,可轻易通过呼吸道和皮肤,直达各组织器官。Kulthong K等^[17]发现,抗菌纺织品表面的纳米银会经毛孔进入人造皮肤,且进入量受镀银量、pH和汗液成分等影响。长期接触纳米材料将导致体内该物质积累过多,危害人体健康。这提示在功能性纺织品和女性卫生保健品中添加纳米银需要充分了解其长期安全性。

3.2 纳米二氧化钛

纳米二氧化钛常被用于化妆品中,有美白防晒、抗衰老的功效。对猪皮进行研究发现,纳米二氧化钛颗粒仅沉积在皮肤角质层的最外层^[18],角质层的深面、真皮层及皮下组织并未检测到其存在,表明纳米二氧化钛并未透过皮肤屏障进入机体。

3.3 纳米氧化锌

纳米氧化锌可大大延长橡胶鞋、雨靴等劳保制品的使用寿命,并可改善其外观及色泽。另外,由于其较高的性价比,被广泛应用于建筑内外墙乳液涂料及其他涂料中。体外模拟试验发现,少量纳米氧化锌颗粒不会透过皮肤损害机体^[13,19],但在质量浓度为10 μg/ml以上时会引起显著的炎症反应。

3.4 纳米铁

纳米铁在处理废水、医疗、高分子材料等领域均有应用。

李铁龙等^[20]发现,纳米铁进入细胞后,可造成超氧化物歧化酶(SOD)活性下降,引起细胞氧化损伤,导致细胞受损和凋亡。

4 结语

安全性评价的难度在于影响评价的因素太多,除纳米材料自身的尺寸、结构等理化性质外^[21],实验条件和实验动物的差异都会对纳米材料所表现出的生物学效应造成影响,在一定程度上影响纳米材料的毒性和安全性评价。广大学者仍需进一步加强皮肤用药的安全性评价,完善系统评价方法和标准。

参考文献

- [1] 李森,金义光.纳米材料毒性的体外评价[J].国际药学研究杂志,2010,37(1):67.
- [2] 史宏博,王尊,于宏升,等.纳米二氧化硅体内与体外氧化应激及细胞毒性实验研究[J].宁波大学学报:理工版,2013,26(1):127.
- [3] 刘建军,何浩伟,张兵,等.纳米二氧化硅致HaCaT表皮细胞毒性作用的蛋白质组学研究[C]//中国环境诱变剂学会第14届学术交流会议论文集,2009:241-248.
- [4] Stebounova LV, Guio E, Grassian VH. Silver nanoparticles in simulated biological media: a study of aggregation, sedimentation, and dissolution[J]. *J Nanopart Res*, 2011, 13(1):233.
- [5] Ahamed M, AlSalhi MS, Siddiqui MK. Silver nanoparticle applications and human health[J]. *Clin Chim Acta*, 2010, 411(23/24):1 841.
- [6] 王惟,武秋立,李隐侠,等.利用秀丽线虫进行纳米材料安全性评价研究进展[J].中国公共卫生,2012,28(4):556.
- [7] Tornier C, Rosdy M, Maibach HI, et al. In vitro skin irritation testing on reconstituted human epidermis: reproducibility for 50 chemicals tested with two protocols[J]. *Toxicology in Vitro*, 2006, 20(4):401.
- [8] 刘珍.化妆品安全性评价中皮肤毒性若干替代实验方法的研究[D].上海:第二军医大学,2009:22-34.
- [9] 程树军,席静.化妆品中纳米材料的安全性评估及替代方法[C]//第八届中国化妆品研讨会论文集,2010:322-326.
- [10] 张敏,曾抗,李国锋,等.鬼臼毒素-固体脂质纳米粒的皮肤毒理学实验[J].中国组织工程研究与临床康复,2007, 11(13):2 420.
- [11] 金华芳,袁琳,邱乐,等.纳米材料在医学领域的应用及安全性研究进展[J].生物骨科材料与临床研究,2009,6(5):33.
- [12] Newman MD, Stotland M, Ellis JI. The safety of nano-sized particles in titanium dioxide- and zinc oxide-based sunscreens[J]. *J Am Acad Dermatol*, 2009, 61(4):685.
- [13] 张姗姗,薛玉英.纳米金属材料的毒理学研究进展[J].东南大学学报:医学版,2011,30(1):151.
- [14] 冯宪.纺织服装领域纳米技术应用及安全性分析[J].浙江纺织服装职业技术学院学报,2012,11(1):1.
- [15] Project on Emerging Nanotechnologies. Analysis[EB/OL]. (2011-03) [2013-09-16].http://www.nanotechproject.org/inventories/consumer/analysis_draft/.
- [16] Hsin YH, Chen CF, Huang S, et al. The apoptotic effect of nanosilver is mediated by a ROS- and JNK-dependent

二氢吡啶类钙通道阻滞药的研究进展

李 强*,李明春#(解放军第401医院,山东 青岛 266071)

中图分类号 R972^{+.4} 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)33-3158-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.33.28

摘要 目的:为二氢吡啶类钙通道阻滞药(DHP-CCBs)的研究提供参考。方法:以“Dihydropyridines”“Calcium channel blockers”“Calcium antagonists”“二氢吡啶”“钙通道阻滞药”等组合作为关键词,查阅2004—2013年PubMed、ScienceDirect、中国知网全文数据库等中关于DHP-CCBs的文献,就DHP-CCBs的分子机制、各种新型制剂及新的药理作用等进行汇总分析。结果:新型DHP-CCBs不断涌现并各具特点:L/N型DHP-CCBs除具有抗高血压作用之外,还可减少患者“白大衣”效应、蛋白尿等现象的发生;N型DHP-CCBs还可用于镇痛,且无阿片类药的不良反应;L/T型DHP-CCBs在降压的同时,还具有肾脏保护作用;具有超短效特点的氯维地平可用于高血压急症的治疗。此外,DHP-CCBs在抗动脉粥样硬化作用以及对纤溶活性、交感活性和CYP3A4酶活性的影响等方面的研究也取得了一定进展。结论:DHP-CCBs在抗高血压方面的优势正日益突出,其应用前景将更加广阔。

关键词 二氢吡啶;钙通道阻滞药;N型钙通道;T型钙通道;抗动脉硬化作用;纤溶活性

钙通道是由 $\alpha 1$ 亚单位和几个辅助亚单位构成的复合体,由多基因编码。不同类型的钙通道其 $\alpha 1$ 亚单位的编码基因有所不同,因而其结构也不相同。 $\alpha 1$ 亚单位在细胞膜上形成4个跨膜区域(序列I、II、III、IV),每个跨膜区域由6个 α 螺旋肽段(S1~D6)及其间的连接肽链组成^[1]。钙通道以电压门控钙通道和受体调控性钙通道较为常见,其中电压门控钙通道又分为高电压激活钙通道(L型,Cav1.1~1.4、 $\alpha 1C$ 、 $\alpha 1D$ 、 $\alpha 1F$ 和 $\alpha 1S$;P/Q型,Cav2.1、 $\alpha 1A$;N型,Cav2.2、 $\alpha 1B$;R型,Cav2.3、 $\alpha 1E$)和低电压激活钙通道(T型,Cav3.1~3.3、 $\alpha 1G$ 、 $\alpha 1H$ 和 $\alpha 1I$)两类^[2]。近年来,关于二氢吡啶类钙通道阻滞药(DHP-CCBs)的报道较多,其主要作用于L型钙通道,对N型或T型钙通道也有一定的阻滞作用,而关于P/Q型和R型DHP-CCBs的文章较少,故本文主要涉及L、N及T型钙通道。不同类型的钙通道其分布也不同,L型钙通道主要分布于心肌、骨骼肌、平滑肌、内分泌及神经细胞,N型钙通道主要分布于神经细胞,T型钙通道主要分布于神经、心肌和平滑肌细胞^[2]。

CCBs是一类选择性阻滞钙通道、抑制细胞外钙离子内流、降低细胞内钙离子浓度的药物,包括DHP-CCBs和非DHP-CCBs两大类,其中DHP-CCBs是CCBs的主要组成部分。相对于非DHP-CCBs来说,DHP-CCBs对血管的选择性更高,能扩张外周血管引起的血压降低^[3],还能扩张冠状动脉血管增加心肌供血,临床上一般用于抗高血压及抗心绞痛。本文拟以“Dihydropyridines”“Calcium channel blockers”“Calcium antagonists”“二氢吡啶”“钙通道阻滞药”等组合作为关键词,查阅2004—2013年PubMed和ScienceDirect、中国知网等数据库中关于DHP-CCBs的文献,结果共查询到70条文献,

其中有效文献30条。现主要就新型DHP-CCBs制剂及其在药理学方面取得的进展进行综述。

1 DHP-CCBs发挥作用的分子机制

传统的DHP-CCBs一般仅作用于L型钙通道,如硝苯地平通过与L型钙通道 $\alpha 1$ 亚基的第三、IV跨膜区的S6细胞膜外侧端与P区相连处相结合,从细胞膜外侧阻滞钙通道^[4]。目前,DHP-CCBs与L型钙通道结合位点的研究已较深入,已有文献给出了二者结合的结构模型图^[5]。

DHP-CCBs对N型及T型钙通道也有一定的阻滞作用,会产生一些新的药理活性。如临床上常用的L/N型DHP-CCBs氨氯地平除主要阻滞L型钙通道之外,对N型钙通道 $\alpha 1B$ 亚单位第三跨膜区S6跨膜片段的Met1295区域也有一定的阻滞活性^[6-7]。由于搜索条件有限,关于DHP-CCBs阻滞T型钙通道分子机制的报道较少,本文不予阐述。常见DHP-CCBs见表1(注:氨氯地平是否阻滞N型钙通道尚不明确,如文献^[7-8]与文献^[27]说法不同)。

表1 常见DHP-CCBs的药理作用特点

药品名称	钙通道类型		
	L型	T型	N型
硝苯地平	+	-	-
氨氯地平	+	-	?
依福地平	+	+	-
阿折地平	+	+	-
贝尼地平	+	+	+
西尼地平	+	-	+

注: +表示阻滞; -表示不阻滞; ?表示不确定

mechanism involving the mitochondrial pathway in NIH3T3 cells[J]. *Toxicol Lett*, 2008, 179(3):130.

[17] Kulthong K, Srisung S, Boonpavanitchakul K, et al. Determination of silver nanoparticle release from antibacterial fabrics into artificial sweat[J]. *Part Fibre Toxicol*, 2010, 7(4):8.

[18] 丁玲,刘鹏,李世迁. 纳米材料毒性和安全性研究进展[J].

* 硕士研究生。研究方向:药理学。电话:0532-51870440

通信作者:主任药师,硕士研究生导师。研究方向:药理学。电话:0532-51870086

材料导报,2010,24(3):29.

[19] 百度文库. 氧化锌的毒性[EB/OL]. (2013-01-19)[2013-09-24]. <http://wenku.baidu.com/view/4dae1847be1e650e52ea99b6.html>.

[20] 李铁龙,王学,金朝辉. 不同状态下纳米铁对细胞毒性机制研究[C]//第六届全国环境化学大会论文集,2011:924.

[21] 陈海群,汪冰,王凯全. 纳米材料对生物体的毒性研究[J]. *中国安全科学学报*, 2010, 20(1):106.

(收稿日期:2013-10-25 修回日期:2014-01-07)