

## 病理血脑屏障穿越 BSc3094 纳米制剂的制备表征及其靶向性评价

罗航<sup>1</sup>, 吕月<sup>2</sup>, 高会乐<sup>2</sup>, 熊静远<sup>1\*</sup>

(1. 四川大学华西公共卫生学院/华西第四医院, 四川 成都 610041; 2. 四川大学华西药学院, 四川 成都 610041)

**摘要:** 异常过度磷酸化 Tau 蛋白引起的细胞内神经纤维缠结是阿尔茨海默病主要的病理标志之一。现有研究表明, BSc3094 是一种有效的 Tau 蛋白聚集抑制剂, 其可以与 Tau 蛋白结合, 抑制 Tau 蛋白磷酸化, 同时增强细胞活力, 在治疗阿尔茨海默病方面具有极大潜力。然而, 由于血脑屏障的存在, 药物难以入脑发挥作用, 同时, BSc3094 是否可以通过抑制 Tau 蛋白聚集来治疗阿尔茨海默病尚未深入研究。因此, 本研究通过搅拌法制得小粒径聚乳酸-羟基乙酸 [poly (lactic-co-glycolic acid), PLGA] 纳米颗粒, 以其为载体, 搭载 BSc3094 (PLGA@BSc), 为了进一步增加其入脑效率, 在其表面修饰了病理血脑屏障靶向肽得到 PLGA@BSc@K。本研究对该纳米体系的稳定性、细胞毒性及病理靶向性进行了表征, 该纳米体系的粒径约 90 nm, 呈负电性; 实验表明, 纳米颗粒粒径在 168 h 内未见明显波动, 稳定性较好; PLGA 及 BSc3094 游离药物对细胞活力无显著影响, 细胞毒性较低; 在 1 及 4 h 都可以明显观察到病理状态下细胞对靶向修饰的纳米颗粒的摄取增加, 表明 PLGA@BSc@K 具有较好的病理靶向效果。本研究为 BSc3094 纳米颗粒靶向入脑及阿尔茨海默病的治疗提供了新思路。

**关键词:** 阿尔茨海默病; Tau 蛋白; 纳米颗粒; BSc3094; 血脑屏障

中图分类号: R943

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870(2024)12-3388-06

## Characterization of pathological blood-brain barrier crossing BSc3094 nanopreparations and evaluation of their targeting properties

LUO Hang<sup>1</sup>, LÜ Yue<sup>2</sup>, GAO Hui-le<sup>2</sup>, XIONG Jing-yuan<sup>1\*</sup>

(1. West China School of Public Health/the Fourth Hospital of West China, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 2. West China College of Pharmacy, Sichuan University, Chengdu 610041, China)

**Abstract:** Intracellular neurofibrillary tangles resulting from abnormal hyperphosphorylation of Tau protein constitute one of the principal pathological markers of Alzheimer's disease. Existing studies have indicated that BSc3094 is an efficacious inhibitor of Tau protein aggregation, capable of binding to Tau protein, inhibiting Tau protein phosphorylation, and enhancing cell viability concurrently, holding significant potential in treating Alzheimer's disease. Nevertheless, due to the presence of the blood-brain barrier, it is challenging for drugs to penetrate the brain and exert their effects, and whether BSc3094 can treat Alzheimer's disease by inhibiting Tau protein aggregation has not been profoundly investigated. Hence, in this study, small-sized (PLGA) nanoparticles were fabricated through the stirring method. BSc3094 was loaded into the nanoparticles (PLGA@BSc). To further enhance the brain entry efficiency of PLGA nanoparticles, a pathological BBB-targeting peptide was modified on the surface to obtain PLGA@BSc@K. In this study, the stability, cytotoxicity, and pathological targeting of the nanosystem were characterized. The particle size of the nanosystem was about 90 nm, which was negatively charged. The results demonstrated that the particle size of the nanoparticles did not fluctuate conspicuously within 168 h, and the stability was favorable. PLGA and BSc3094 had no notable impact on cell viability and displayed

收稿日期: 2024-08-05; 修回日期: 2024-09-14.

基金项目: 四川省科技厅资助项目 (2021YJ0156).

\*通讯作者 Tel: 86-28-85501272, E-mail: jzx0004@tigermail.auburn.edu

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2024-0750

low cytotoxicity. At 1 and 4 h, it was observed that the uptake of targeted modified nanoparticles by cells in pathological states augmented, suggesting that PLGA@BSc@K had an excellent pathological blood-brain barrier targeting effect. This study provides a novel concept for the targeting of BSc3094 nanoparticles in the brain and the treatment of Alzheimer's disease.

**Key words:** Alzheimer's disease; Tau protein; nanoparticle; BSc3094; blood-brain barrier

目前世界人口老龄化形势十分严峻,联合国组织在《2020年世界人口老龄化报告》中指出,全球65岁或65岁以上的人口有7.27亿,预计这一数字在未来30年将翻一番(到2050年占总人口的16%)<sup>[1]</sup>。而老龄被认为是大多数神经退行性疾病的主要危险因素,阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)是以记忆力减弱、认知功能进行性障碍及大脑神经元细胞进行性受损为主要特征的一种神经退行性疾病,是65岁以上患者中最常见的神经退行性疾病<sup>[2]</sup>,其在65~69岁的患者中发病率为7%,在85岁以上人群中发病率为50%~60%<sup>[3]</sup>。目前AD人群的基数逐年增长,罹患AD严重影响着患病个体的生活质量,给个人、家庭及社会带来了巨大且沉重的负担,因此亟需研发可以有效治疗AD的药物。

AD的发病机制复杂,具体机制目前尚不明确,目前研究者多认可 $\beta$ -淀粉样蛋白( $\beta$ -amyloid, A $\beta$ )级联假说与Tau蛋白过度磷酸化假说<sup>[4]</sup>。其中Tau蛋白过度磷酸化假说认为,在AD患者中病理状态的Tau蛋白占据主导地位。过度磷酸化的Tau蛋白可以隔离正常Tau蛋白,从而影响微管相关蛋白的功能。Tau蛋白的过度磷酸化还可能影响蛋白的分选、降解、截短和聚集<sup>[5]</sup>。截短的Tau蛋白暴露出微管结合重复序列,这些重复序列更有可能形成聚集体。磷酸化Tau蛋白会抑制微管的组装,并促进其组装成对螺旋丝,进一步形成细胞内神经纤维缠结,产生神经毒性,损伤神经元细胞,加速AD病程的进展。因此,开发特异性去除磷酸化Tau蛋白的药物可能是治疗AD的关键。

中枢神经系统(central nervous system, CNS)是人体神经系统的重要组成部分,具有进行记忆、学习等一系列生理活动的重要功能,为了为大脑提供庇护场所,人体进化出了多种屏障保护CNS<sup>[6]</sup>,血脑屏障(blood-brain barrier, BBB)是其中最重要的屏障。BBB是一种遍布脑实质的高密度的毛细血管网络,保护着中枢神经免受血源性物质的侵害,控制血液和中枢神经之间的离子、分子和细胞运输,并保护中枢神经免受神经毒性代谢物及外源性物质的侵害<sup>[7]</sup>。但BBB不仅阻止有害代谢物及毒物进入大脑,大多数需要入脑治疗脑部疾病的药物也会被BBB阻碍进入大脑,因此BBB的存在是影响药物入脑到达治疗部位的主要障碍。目前治疗

AD的一线药物仍为经典的胆碱酯酶抑制剂或者美金刚药物,但此类药物只能对症治疗,无法从根本上治疗AD<sup>[8]</sup>。因此,从AD的病理机制出发,寻找针对AD的病理机制的特异性药物,开发可穿透BBB的载体系统,实现药物的脑靶向递送,有望在AD的治疗上取得突破。

纳米技术药物为新型药物递送方式的先驱<sup>[9]</sup>。纳米技术不仅可以增强药物的溶解性和稳定性,还能使药物跨越BBB的限制,通过多种修饰,可以靶向并且持续递送药物到病灶部位<sup>[10]</sup>。聚合纳米粒子(polymeric nanoparticles, PNPs)为纳米技术药物中较为成功且成熟的一种方法<sup>[11]</sup>。聚乳酸-羟基乙酸[poly(lactic-co-glycolic acid), PLGA]作为FDA批准的医药学领域应用最广泛的PNPs材料,具有优良的生物相容性、生物降解性、生物安全性和多功能性,是非常优良的纳米药物载体<sup>[12]</sup>。2-(4-(4-硝基苯基)-2-噻唑基)酰肼-1*H*-苯并咪唑-6-羧酸单氢溴酸盐(BSc3094)是一种有效的Tau蛋白聚集抑制剂,其结构中的苯基噻唑酰肼结构可以与Tau蛋白结合<sup>[13]</sup>,有效地降低Tau蛋白的磷酸化和聚集,同时增强细胞活力。但目前关于BSc3094与AD的研究开展得较少。磷脂酰乙醇胺(phosphatidylethanolamine, DSPE)与聚乙二醇(polyethylene glycol, PEG)结合形成DSPE-PEG,具有良好的水溶性和生物相容性,被广泛应用于纳米药物修饰<sup>[14]</sup>。据报道,A $\beta$ 很容易内化到大脑中,这种内化可由高表达的高级糖化终产物受体(RAGE)介导,而RAGE与AD的进展密切相关<sup>[15]</sup>。受A $\beta$ 运输的启发,KLVFFAED(K肽)在不干扰正常信号转导的情况下从A $\beta$ 提取,据报道能够通过RAGE主动靶向AD的病变BBB区域。因此选用病理BBB靶向肽K对PLGA NPs进行修饰增加病理BBB靶向效果以期望达到更好的治疗效果。

综上所述,本课题采用PLGA作为载体合成PLGA NPs,并且在表面修饰病理BBB靶向肽KLVFFAED,搭载药物BSc3094,探索新型AD治疗方法。

## 材料与方法

**仪器与试剂** LC-10AT型高效液相色谱仪(日本Shimadazu公司);90Plus PLAS纳米粒度及zeta电位分析仪(美国NanoBrook公司);H-600型透射电子显微镜

(日本 Hitachi 公司); A1+型激光共聚焦显微镜 (日本 Nikon 公司); 二甲基亚砜 (DMSO, 安耐吉化学); 乙腈 (HPLC 级, 美国 Sigma-Aldrich); BSc3094 (98%, 上海阿拉丁公司); PLGA<sub>10000</sub> (西安瑞禧生物科技有限公司)。

**纳米粒制备及表征** 分别称取 3 mg PLGA<sub>10000</sub>、1 mg DSPE-PEG<sub>2000</sub>-mal、0.5 mg DSPE-PEG<sub>2000</sub>-K、1.3 mg 大豆卵磷脂、0.03 mg BSc3094 (投药量为 1%) 溶于 150  $\mu\text{L}$  DMSO 中, 然后将 150  $\mu\text{L}$  DMSO 混合溶液逐滴滴入 3 mL 超纯水中, 在室温下 900  $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$  搅拌 3 min, 收集反应液, 再用离心机在 4  $^{\circ}\text{C}$  条件下以 6 500  $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$  离心 15 min 取上清液, 重复 2 次。最后将上清溶液放置于超滤管 ( $M_w = 10 \text{ kDa}$ ) 中, 超纯水洗涤 3 次并浓缩, 制得 PLGA@BSc3094@K; 将 DSPE-PEG<sub>2000</sub>-K 替换成等量 DSPE-PEG<sub>2000</sub> 得到 PLGA@BSc3094; 不加入 BSc3094 制得 PLGA@K; 二者都不加入制得空白 PLGA。制备得到的 PLGA 纳米粒经透射电子显微镜成像, 观察纳米粒的形态及确认纳米粒的尺寸。使用 90Plus PLAS 纳米粒度及 zeta 电位分析仪检测纳米粒水合粒径和电位。

**载药与包封率** 采用高效液相色谱法测定 PLGA@BSc3094 纳米粒的载药量与包封率。BSc3094 高效液相色谱条件为: 流动相为乙腈: 水 (50:50, v/v), 流速为 1  $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ , 检测波长为 214 nm, 采用乙腈作为破乳剂, 将制备得到的纳米粒与乙腈按照 1:10、1:20 和 1:50 的比例混合破乳, 破乳后上机检测, 根据公式 (1) (2) 分别计算载药量和包封率。

$$\text{载药量} (\%) = \frac{\text{被包载的药物量}}{\text{纳米粒总质量}} \times 100\% \quad (1)$$

$$\text{包封率} (\%) = \frac{\text{被包载的药物量}}{\text{投药总剂量}} \times 100\% \quad (2)$$

**稳定性测定** 将制备的 PLGA 纳米粒分散在磷酸缓冲盐溶液 (phosphate buffered saline, PBS)、5% 葡萄糖 (glucose, Glu)、10  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  羟乙基哌嗪乙磺酸溶液 (hydroxyethyl piperazine ethanesulfonic acid, Hepes)、10% 胎牛血清 (fetal bovine serum, FBS) 溶液中, 然后放置在 37  $^{\circ}\text{C}$ 、75  $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$  的恒温振荡器中孵育, 分别在 1、2、4、8、12、24、36、48、72、96、120、144 和 168 h 取少量样品, 测定其水合粒径和多分散系数 (polydispersity, PDI)。5% 葡萄糖为等渗溶液, 可以更好地模拟体内真实代谢状况, 某些药物在 5% 葡萄糖溶液中比在生理盐水中更稳定; Hepes 作为介质具有稳定的 pH 环境, 有利于细胞的正常生长和代谢, Hepes 具有抗菌特性, 可以有效抑制细菌和其他微生物的生长, 降低了样本污染的风险; FBS 在细胞培养中广泛应用 (等渗), 因此选择 FBS 作为介质进行稳定性测量可以更好地模拟实

际使用情况, 确保测量结果的实用性和可靠性; PBS 为等渗溶液, 具有平衡渗透压, 维持离子强度和 pH 的作用, 所以被广泛用作介质测量纳米粒稳定性。因此将这 4 种选作介质测量纳米粒稳定性。

**细胞毒性试验** 将 SH-SY5Y 细胞以每孔 5 000 细胞的密度接种于 96 孔板中并放置在 37  $^{\circ}\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$  恒温培养箱培养。当每孔细胞密度达到 50% 时, 弃去培养基, 用完全培养基配置一系列梯度浓度的游离 BSc3094 溶液, 具体浓度分别为 20 000、2 000、1 000、500、250、100、50、25、12.5、6.25、3.125  $\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ , 每个浓度给药每孔 100  $\mu\text{L}$ , 每个浓度 6 个复孔, 并设置空白对照。同时, 用完全培养基配置一系列梯度浓度的空白 PLGA 纳米粒溶液, 具体浓度分别为 500、250、100、50、25、12.5、6.25、3.125、1.562 5 和 0.781 25  $\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ , 每个浓度给药每孔 100  $\mu\text{L}$ , 每个浓度 6 个复孔, 并设置空白对照。给药 24 h 后, 弃去培养基, 用完全培养基配置质量浓度为 0.5  $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$  MTT 试剂, 每孔给药 100  $\mu\text{L}$ , 将 96 孔板继续放入恒温培养箱孵育 4 h。4 h 后弃去培养基, 每孔加入 150  $\mu\text{L}$  DMSO, 混匀, 用酶标仪在 490 nm 条件下检测吸光度值 (OD)。根据公式 (3) 计算细胞存活率 (C):

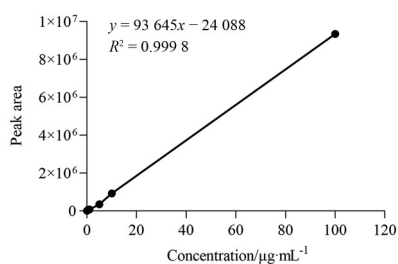
$$C (\%) = \frac{\text{OD}_{\text{实验组}}}{\text{OD}_{\text{空白}}} \times 100\% \quad (3)$$

**细胞靶向性评价** 在  $\text{A}\beta$  诱导的病理 bEnd.3 细胞和 RAGE 高表达的细胞上评价细胞靶向性。分别将 bEnd.3 细胞以每孔  $1 \times 10^5$  个的密度、bEnd.3 RAGE 高表达细胞以每孔  $6 \times 10^4$  个的密度接种于 12 孔板内, 放入培养箱培养 24 h。之后将 bEnd.3 细胞培养基弃去, 一半细胞加入含 5  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{A}\beta_{1-42}$  寡聚体的培养基, 另一半细胞加入等量不含  $\text{A}\beta_{1-42}$  寡聚体的新培养基; 同时更换 bEnd.3 RAGE 高表达细胞的培养基, 继续放入恒温培养箱孵育 24 h。之后去除培养基, 用不含血清的培养基稀释包载香豆素 6 (coumarin, Cou-6) 的空白 PLGA 纳米粒与 PLGA@K 纳米粒 (Cou-6 包投量为 0.1%), 稀释后纳米粒质量浓度为 0.5  $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ , 每孔分别给药 1 mL。孵育 1 和 4 h 后, 弃去培养基, 加入 PBS 润洗 3 次, 用 4% 的多聚甲醛固定 20 min, PBS 润洗 3 次, 加入 0.5  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  DAPI 溶液染色 10 min, 再用 PBS 润洗 3 次。在载玻片上滴加适量的抗荧光淬灭封片剂, 将圆形载玻片盖在封片剂上方, 指甲油封片, 在激光共聚焦显微镜下观察细胞靶向性摄取纳米粒情况。

## 结果

### 1 载药与包封率

得到的 BSc3094 质量浓度 (0.01~100  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )—峰面积标准曲线如图 1 所示。线性关系式为  $y = 93\ 645x -$



**Figure 1** BSc3094 concentration standard curve. The drug loading rate and encapsulation rate of nanoparticles were determined by high performance liquid chromatography (HPLC)

24 088, 相关系数 = 0.999 8。投药量为1%时, 载药量为  $(0.45 \pm 0.13)\%$ , BSc3094 的包封率达到了  $(67.3 \pm 19.0)\%$ 。

### 2 纳米粒形貌表征

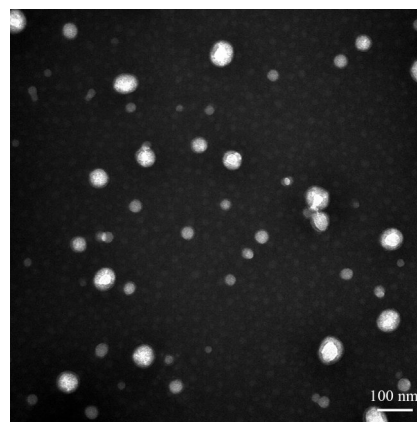
透射电子显微镜观察到形成的纳米粒均为较规整的球形, 粒径在 40 nm 左右, 较为均一 (图2)。

### 3 纳米粒粒径及电位测定

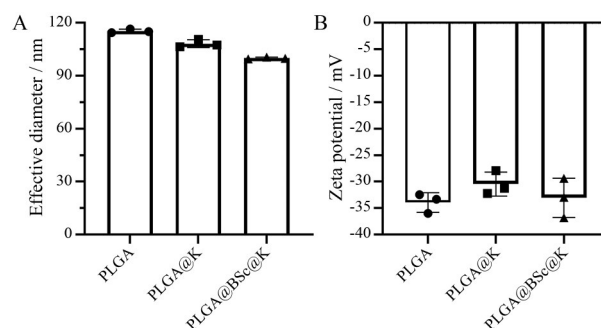
得到的 PLGA 纳米粒水合粒径约  $115.3 \pm 1.1$  nm, 加入 DSPE-PEG<sub>2000</sub>-K 修饰及搭载药物 BSc3094 后纳米粒粒径减小, 粒径为  $100.0 \pm 0.5$  nm, 3 种纳米粒 zeta 电位均为负值 (图3)。

### 4 纳米粒稳定性测定

在 5% Glu、10 mmol·L<sup>-1</sup> Hepes、PBS 溶液中, 合成的各种 PLGA 纳米粒的水合粒径和 PDI 在 168 h 内均未见明显波动, 说明 PLGA 纳米粒在这些介质中可以保持良好的稳定性。在 10% FBS 溶液中, PLGA 纳米粒的水合粒径和 PDI ( $0.25 \pm 0.04$ ) 在 24 h 内未见明显

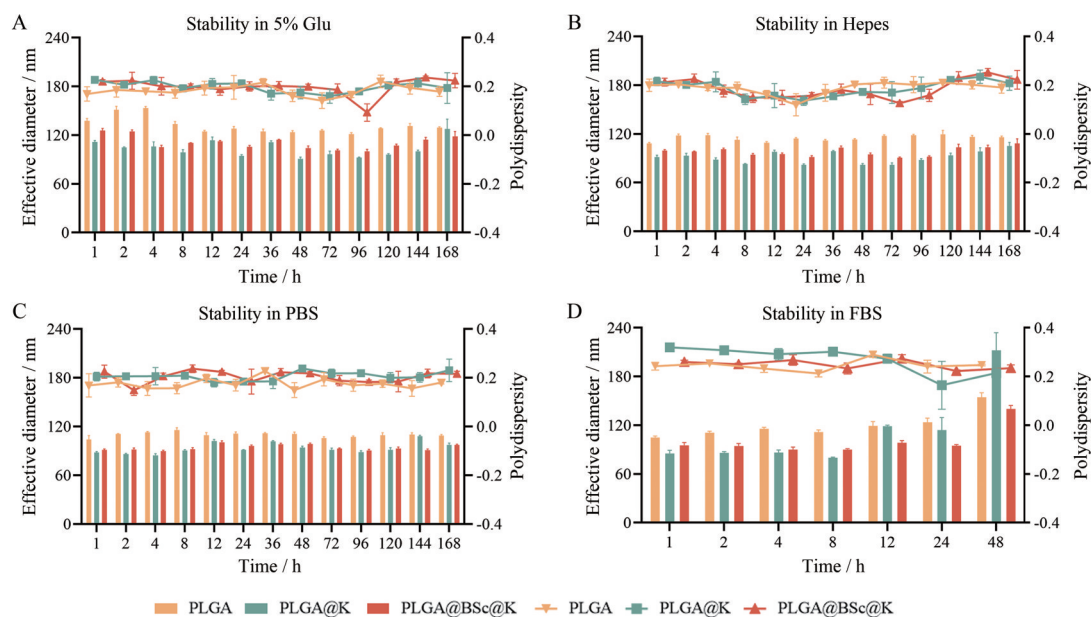


**Figure 2** Transmission electron microscope image of PLGA@BSc3094@K nanoparticles. Scale bar: 100 nm



**Figure 3** Hydrate dynamic size and zeta potential of nanoparticles.  $n = 3, \bar{x} \pm s$ . PLGA: Poly (lactic-co-glycolic acid); K: KLVF-FAED; BSc: 1*H*-Benzimidazole-6-carboxylic acid

波动, 在 24 h 内可以保持良好的稳定性, 但在 48 h 粒径明显增大, 可能发生聚集 (图4)。



**Figure 4** The stability of nanoparticles. A: In 5% Glu; B: In Hepes; C: In PBS; D: In FBS.  $n = 3, \bar{x} \pm s$ . Glu: Glucose; Hepes: Hydroxyethyl piperazine ethanesulfonic acid; PBS: Phosphate buffered saline; FBS: Fetal bovine serum

### 5 细胞毒性试验

与对照组 (未给药) 相比, 6.25 nmol·L<sup>-1</sup> 以下浓度的 PLGA 纳米粒可以提高 SH-SY5Y 细胞活力, 促进细胞生长; 而 6.25 nmol·L<sup>-1</sup> 以上浓度的 PLGA 纳米粒使得细胞活力下降, 但总体活力仍较高, 说明 PLGA 在试验给药浓度下几乎无细胞毒性 (图 5A)。与对照组 (未给药) 相比, 2 000 nmol·L<sup>-1</sup> 以下浓度的 BSc3094 游离药物对 SH-SY5Y 细胞活力影响不大, 当给药浓度达到 20 000 nmol·L<sup>-1</sup> 时, 细胞活力降至 80% 左右, 具有一定的细胞毒性 (图 5B)。

### 6 细胞靶向性评价

在两种细胞中都可以明显观察到细胞中纳米粒荧光强度在 4 h 时高于 1 h, 说明 4 h 时细胞对纳米粒的摄取程度高于 1 h (图 6)。在正常 bEnd.3 细胞中, 空白

PLGA 纳米粒与 PLGA@K 纳米粒荧光强度差别不大 (图 6A)。但无论是在 A $\beta$ <sub>1-42</sub> 寡聚体诱导的 bEnd.3 病理细胞还是在 bEnd.3 RAGE 高表达细胞中 (图 6B), 1 和 4 h 都可以观察到 PLGA@K 纳米粒荧光强度明显高于空白 PLGA 纳米粒, 说明 A $\beta$ <sub>1-42</sub> 寡聚体诱导的 bEnd.3 病理细胞与 bEnd.3 RAGE 高表达细胞对 PLGA@K 纳米粒的摄取程度更高, 表明在纳米粒表面修饰靶向肽 K 可以增加病理细胞对 PLGA 纳米粒的摄取, 该修饰可以实现病理靶向效果。

### 讨论

纳米粒 zeta 电位均为负值, 有研究表明, 带负电荷的纳米粒安全性更好, 其蛋白质调理作用低, 从而具有更长的血液循环时间<sup>[16]</sup>。纳米粒在 PBS、5% Glu、

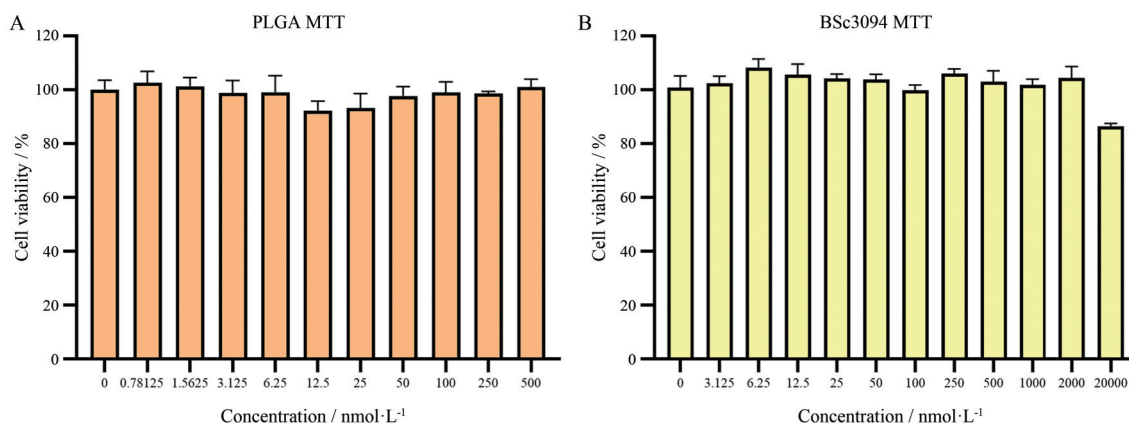


Figure 5 Cytotoxicity of nanoparticles (A) and BSc3094 (B) at different concentrations in SH-SY5Y cells.  $n = 6, \bar{x} \pm s$

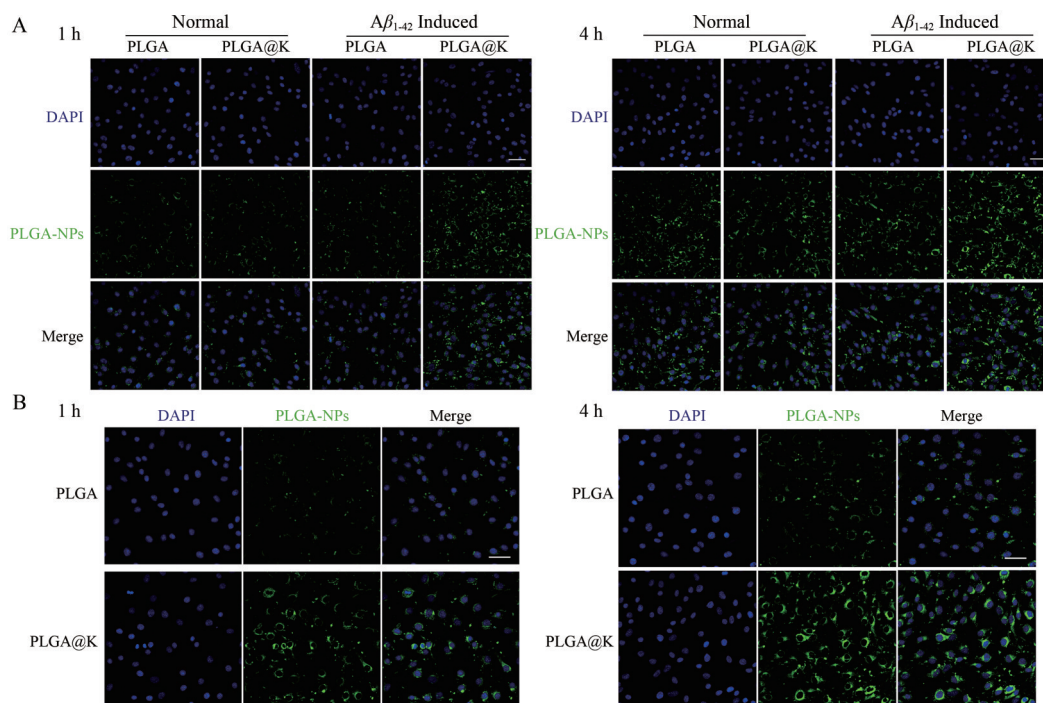


Figure 6 Drug uptake by different cells after 1 and 4 h, scale bar: 50  $\mu$ m. A: bEnd.3 cell; B: bEnd.3 RAGE cell

10 mmol·L<sup>-1</sup> HEPES 溶液中水合粒径在 168 h 内未见明显波动 (110 nm 左右), 说明 PLGA 纳米粒在体外这些介质中可以较长时间保持良好的稳定性<sup>[17]</sup>, 虽然在 10% FBS 溶液中纳米粒在 48 h 发生了聚集, 但这可能与 10% FBS 溶液中血清蛋白自身不稳定发生了絮凝有关。MTT 实验中, 浓度范围在 0~500 nmol·L<sup>-1</sup> 的 PLGA 及 0~2 000 nmol·L<sup>-1</sup> 的 BSc3094 游离药物对细胞活力均无显著影响, 细胞毒性低, 生物安全性比较好<sup>[18]</sup>, 为后续进一步细胞实验给药剂量作出了一定的参考价值。细胞靶向实验结果显示, 4 h 时细胞对药物的摄取量高于 1 h。在正常 bEnd.3 细胞上未观察到对 K 肽修饰的纳米粒有明显摄取增加, 而在 A $\beta$ <sub>1-42</sub> 寡聚体诱导的 bEnd.3 病理细胞及 bEnd.3 RAGE 高表达细胞中, 在 1 及 4 h 时都可以明显观察到细胞对 K 肽修饰的纳米粒有明显摄取增加, 证明了 K 肽修饰纳米粒可以明显提高纳米粒的病理靶向效果<sup>[19]</sup>, 从而减小纳米药物对正常生理细胞的毒副作用。

本课题采用 PLGA 作为药物载体, 搭载 Tau 蛋白聚集抑制剂 BSc3094, 同时在纳米粒表面修饰 DSPE-PEG 与靶向肽 K, 改善合成的 PLGA 纳米粒的血液循环时间和生物分布, 同时增强其病理靶向效果, 最终达到增强穿透血脑屏障的能力, 增加药物在靶部位的作用, 延长药物的循环半衰期, 减少不良反应的效果, 为阿尔茨海默病的治疗提供了新的思路与方向。

**作者贡献:** 罗航负责文章撰写、文献资料收集; 吕月负责数据管理、文献修改; 高会乐负责审编、形式分析; 熊静远负责审编、资金获取、监督、构思。

**利益冲突:** 本文所有作者声明不存在利益冲突关系。

## References

- [1] Isik K, Cengiz Z, Doğan Z. The relationship between self-care agency and depression in older adults and influencing factors [J]. *J Psychosoc Nurs Ment Health Serv*, 2020, 58: 39-47.
- [2] Hamm V, Héraud C, Cassel JC, et al. Precocious alterations of brain oscillatory activity in Alzheimer's disease: a window of opportunity for early diagnosis and treatment [J]. *Front Cell Neurosci*, 2015, 9: 491.
- [3] Qiu C, Kivipelto M, von Strauss E. Epidemiology of Alzheimer's disease: occurrence, determinants, and strategies toward intervention [J]. *Dialogues Clin Neurosci*, 2009, 11: 111-128.
- [4] Wang P, Wang ZY. Metal ions influx is a double edged sword for the pathogenesis of Alzheimer's disease [J]. *Ageing Res Rev*, 2017, 35: 265-290.
- [5] Wang YP, Mandelkow E. Tau in physiology and pathology [J]. *Nat Rev Neurosci*, 2016, 17: 5-21.
- [6] Wang G, Wang Y, Liu NY, et al. The role of exosome lipids in central nervous system diseases [J]. *Rev Neurosci*, 2020, 31: 743-756.
- [7] Kaur IP, Bhandari R, Bhandari S, et al. Potential of solid lipid nanoparticles in brain targeting [J]. *J Control Release*, 2008, 127: 97-109.
- [8] Blaikie L, Kay G, Lin PKT. Current and emerging therapeutic targets of Alzheimer's disease for the design of multi-target directed ligands [J]. *Medchemcomm*, 2019, 10: 2052-2072.
- [9] Martín-Rapún R, De Matteis L, Ambrosone A, et al. Targeted nanoparticles for the treatment of Alzheimer's disease [J]. *Curr Pharm Des*, 2017, 23: 1927-1952.
- [10] Mishra K, Rana R, Tripathi S, et al. Recent advancements in nanocarrier-assisted brain delivery of phytochemicals against neurological diseases [J]. *Neurochem Res*, 2023, 48: 2936-2968.
- [11] Alberto M, Paiva-Santos AC, Veiga F, et al. Lipid and polymeric nanoparticles: successful strategies for nose-to-brain drug delivery in the treatment of depression and anxiety disorders [J]. *Pharmaceutics*, 2022, 14: 2742.
- [12] Cappellano G, Comi C, Chiochetti A, et al. Exploiting PLGA-based biocompatible nanoparticles for next-generation tolerogenic vaccines against autoimmune disease [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20: 204.
- [13] Larbig G, Pickhardt M, Lloyd DG, et al. Screening for inhibitors of Tau protein aggregation into Alzheimer paired helical filaments: a ligand based approach results in successful scaffold hopping [J]. *Curr Alzheimer Res*, 2007, 4: 315-323.
- [14] Wang C, Wang F, Zou WT, et al. Donor-acceptor-donor small molecules for fluorescence/photoacoustic imaging and integrated photothermal therapy [J]. *Acta Biomater*, 2023, 164: 588-603.
- [15] Paudel YN, Angelopoulou E, Piperi C, et al. Impact of HMGB1, RAGE, and TLR4 in Alzheimer's disease (AD): from risk factors to therapeutic targeting [J]. *Cells*, 2020, 9: 383.
- [16] Ferreira LMB, Alonso JD, Kiill CP, et al. Exploiting supramolecular interactions to produce bevacizumab-loaded nanoparticles for potential mucosal delivery [J]. *Eur Polym J*, 2018, 103: 238-250.
- [17] Xu L, Wu S, Zhou XQ. Bioinspired nanocarriers for an effective chemotherapy of hepatocellular carcinoma [J]. *J Biomater Appl*, 2018, 33: 72-81.
- [18] Lazarus GG, Revaprasadu N, Singh M. Polymer functionalized gold nanoparticles in gene delivery [J]. *Mol Ther*, 2015, 23: S67-S68.
- [19] Phongpradist R, Thongchai W, Thongkorn K, et al. Surface modification of curcumin microemulsions by coupling of KLVFF peptide: a prototype for targeted bifunctional microemulsions [J]. *Polymers (Basel)*, 2022, 14: 443.