

顺铂前药纳米载药系统联合丁硫氨酸亚砷亚胺增强肿瘤化疗效果的研究

张训发^{1, 2}, 廉唱唱^{1, 2}, 桂双英^{1, 2, 3, 4}, 李真宝^{1, 2, 3, 4*}

1. 安徽中医药大学 药学院, 安徽 合肥 230012

2. 安徽省中医药研究院药物研究所, 安徽 合肥 230012

3. 药物制剂技术与应用安徽省重点实验室, 安徽 合肥 230012

4. 安徽省现代药物制剂工程技术研究中心, 安徽 合肥 230012

摘要: 目的 合成4种顺铂前药并考察其自组装能力, 制备聚乙二醇(PEG)化顺铂前药纳米粒, 联合丁硫氨酸亚砷亚胺(BSO)用于肿瘤的共同治疗。方法 以顺铂为原料药, 合成4种顺铂前药(C6-Pt、C10-Pt、C12-Pt、C18-Pt); 采用一步纳米沉淀法筛选出自组装能力较强的顺铂前药, 制备纳米粒; 完成纳米粒的外观形态、稳定性、粒径、Zeta电位及体外药物释放考察; CCK-8法考察顺铂、C12-Pt NPs对MCF-7、B16F10、LLC、4T1的细胞毒性, 以B16F10为细胞模型测定BSO的无毒浓度及C12-Pt NPs和BSO联用的最佳摩尔比, 考察顺铂、顺铂/BSO、C12-Pt NPs、C12-Pt NPs/BSO对B16F10细胞的生长抑制作用; 试剂盒法测定顺铂、顺铂/BSO、C12-Pt NPs、C12-Pt NPs/BSO处理B16F10细胞24 h后的胞内GSH水平。结果 成功合成4种顺铂前药(C6-Pt、C10-Pt、C12-Pt、C18-Pt); 顺铂前药质量浓度为1 mg·mL⁻¹时, 仅有C12-Pt能自组装成为纳米粒(C12-Pt NPs); C12-Pt NPs粒径分布均匀, 具有较好的长期稳定性和血浆稳定性; 在含0、1 mmol·L⁻¹ DTT的PBS(pH 7.4)缓冲液中纳米粒释药缓慢, 在含10 mmol·L⁻¹ DTT的PBS(pH 7.4)缓冲液中, 72 h内药物释放率可达76%; C12-Pt NPs对4种肿瘤细胞的抑制作用强于顺铂; 对于B16F10细胞, BSO未表现出明显毒性; 当顺铂前药、BSO摩尔比为1:40时对肿瘤细胞抑制作用最强, 表明BSO对顺铂前药具有较好的化疗增敏作用; 与顺铂相比, 顺铂/BSO、C12-Pt NPs、C12-Pt NPs/BSO处理后B16F10细胞中GSH水平均显著下降($P<0.001$)。结论 C12-Pt NPs制剂学性质良好, C12-Pt NPs对多种肿瘤细胞均具有较强的生长抑制作用, BSO能够有效增强C12-Pt NPs对肿瘤的杀伤效果。

关键词: 顺铂前药; 谷胱甘肽; 丁硫氨酸亚砷亚胺; 自组装; 抗肿瘤

中图分类号: R944.2 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2023)12-2601-07

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2023.12.014

Construction of cisplatin prodrug nanoparticles combined with BSO and study on their anti-cancer effect

ZHANG Xunfa^{1, 2}, LIAN Changchang^{1, 2}, GUI Shuangying^{1, 2, 3, 4}, LI Zhenbao^{1, 2, 3, 4}

1. College of Pharmacy, Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230012, China

2. Institute of Pharmaceutics, Anhui Academy of Chinese Medicine, Hefei 230012, China

3. Anhui Key Laboratory of Pharmaceutical Preparation Technology and Application, Hefei 230012, China

4. Engineering Technology Research Center of Modern Pharmaceutical Preparation, Anhui Province, Hefei 230012, China

Abstract: Objective To synthesize four cisplatin prodrugs and examine their self-assembly ability to prepare PEGylated cisplatin prodrug nanoparticles, combined BSO for co-treatment of tumors. **Methods** Four cisplatin prodrug (C6-Pt, C10-Pt, C12-Pt, C18-Pt) were synthesized using cisplatin as the raw material drug; a one-step nanoprecipitation method was used to screen the cisplatin precursors with better self-assembly ability; the appearance morphology, stability, particle size, Zeta potential and *in vitro* drug release of the nanoparticles were investigated; The cytotoxicity of cisplatin solution and C12-Pt NPs solution on MCF-7, B16F10, LLC, and 4T1 was examined; determination of the non-toxic concentration of BSO and the optimal molar ratio for the combination of C12-Pt NPs and BSO using B16F10 as a tumor cell model; the growth inhibitory effects of cisplatin solution, cisplatin/BSO

收稿日期: 2023-06-14

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(82003675); 高校优秀青年骨干教师国内访问研修项目(gxgnfx2022015)

第一作者: 张训发, 男, 在读硕士研究生, 主要从事药物制剂研究。E-mail: zhangxunfa2022@163.com

*通信作者: 李真宝, 研究员, 博士生导师, 主要从事中药制剂和纳米药物递送研究。E-mail: lizhenbao@ahctm.edu.cn (Z. Li)

mixed solution, C12-Pt NPs solution and C12-Pt NPs/BSO mixed solution on B16F10 cells were examined; the intracellular GSH contents of B16F10 cells after 24 h treatment with cisplatin solution, cisplatin/BSO mixed solution, C12-Pt NPs solution and C12-Pt NPs/BSO mixed solution were determined. **Results** Four cisplatin prodrugs (C6-Pt, C10-Pt, C12-Pt, C18-Pt) were successfully synthesized; only C12-Pt could self-assemble successfully at a cisplatin prodrug concentration of $1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$; C12-Pt NPs had a uniform particle size distribution with good long-term stability and plasma stability; the drug release rate of nanoparticles was slow in PBS (pH 7.4) buffer containing 0 and 1 mM DTT, and up to 76% within 72 h in PBS (pH 7.4) buffer containing $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ DTT; the inhibitory effect of C12-Pt NPs on four tumor cells was stronger than that of cisplatin solution; for B16F10 cells, BSO did not show significant toxicity; the strongest inhibitory effect on tumor cells was observed when the molar ratio of cisplatin prodrug:BSO was 1:40, indicating that BSO has a better chemotherapy sensitization effect on cisplatin prodrugs. Compared with cisplatin, the levels of GSH in B16F10 cells significantly decreased after treatment with cisplatin/BSO, C12-Pt NPs, and C12-Pt NPs/BSO ($P < 0.001$). **Conclusion** C12-Pt NPs have good formulation properties; C12-Pt NPs have strong growth inhibitory effects on a variety of tumor cells; BSO can effectively enhance the tumor-killing effect of C12-Pt NPs.

Key words: cisplatin prodrug; glutathione; *L*-buthionine sulfoximine; self-assembly; anti-tumor

顺铂是一种广谱抗癌药物,被用于多种实体瘤的临床治疗^[1],但是耐药性和严重毒副作用限制了其临床疗效。研究显示,肿瘤细胞中高浓度的谷胱甘肽(GSH)能够与顺铂形成结合物,随后被外排蛋白转移至胞外,减少了顺铂在细胞内的蓄积,进而诱导肿瘤细胞产生耐药性^[2-3]。丁硫氨酸亚砷胺(BSO)是一种GSH抑制剂,能够有效下调肿瘤细胞内GSH的水平^[4],BSO对GSH的下调作用能有效增加肿瘤细胞对铂类制剂的敏感性^[5]。

前药纳米递送系统在载药量、药动学、靶向性以及生物安全性等方面展现出明显的优势,极大改善了化疗药物的体内递送效率^[6]。将二价顺铂Pt(II)添加2个轴向配体转化为Pt(IV)^[7],可以微调还原电位、亲脂性和动力学稳定性等性质,具有高配位数的Pt(IV)相比于Pt(II)是高动力学惰性的,能有效避免在血液循环过程中与人血清白蛋白结合引起的毒副作用,而在肿瘤微环境中,Pt(IV)能够被GSH还原为具有活性的Pt(II),进而靶向DNA分子,诱导肿瘤细胞凋亡^[8-9]。基于此,构建顺铂前药纳米载药系统并联合BSO用于肿瘤治疗将有望改善目前存在的耐药性或毒副作用等缺陷。

1 材料

1.1 主要仪器

DF-101S集热式恒温加热磁力搅拌器(南京沃中仪器设备有限公司);2XZ-2旋片式真空泵(北京中兴伟业世纪仪器有限公司);ME204E/02万分之一电子天平(上海梅特勒-托利多国际贸易有限公司);DD2-400-MR核磁共振波谱仪(美国安捷伦);倒置生物显微镜(南京江南永新光学有限公司);318C+全自动酶标仪(上海赣闽分析仪器有限公司)。

1.2 主要材料

顺铂(山东铂源药业有限公司,批号:180602CI,质量分数95%);30%过氧化氢(西陇科学股份有限公司);正己酸酐、癸酸酐、月桂酸酐、硬脂酸酐(上海麦克林生化科技有限公司);乙醚(上海润捷化学试剂有限公司);无水乙醇(江苏强盛功能化学股份有限公司);*N,N*-二甲基甲酰胺[阿达玛斯贝塔(上海)化学试剂有限公司];顺铂前药(实验室自制);BSO(沈阳德汇骏业科技有限公司);GSH测定试剂盒(南京建成生物工程研究所)。

1.3 细胞系

MCF-7、B16F10、LLC、4T1细胞由安徽中医药大学科研中心提供。

2 方法

2.1 顺铂前药的合成

称取600.06 mg(2 mmol)顺铂于100 mL圆底烧瓶中,加入40 mL过氧化氢(30%),在75 °C下避光反应8 h,得到澄清溶液,待反应溶液冷却至室温后冷藏过夜,得到亮黄色晶体后抽滤,用水、丙酮、乙醚洗涤晶体,即得到四价的双侧轴向羟基的顺铂[Cis(IV)-2OH]。将上述制备的Cis(IV)-2OH(100 mg,0.3 mmol)悬浮于5 mL *N,N*-二甲基甲酰胺中,在50 °C搅拌下加入3倍摩尔当量的相应酸酐(正己酸酐、癸酸酐、月桂酸酐、硬脂酸酐),在氮气保护、避光条件下搅拌至溶液澄清后停止反应,减压旋蒸除去大部分溶液后加入冷的乙醚,抽滤,得到淡黄色粉末,再用冷乙醚和丙酮淋洗数次,真空干燥,得到C6-Pt、C10-Pt、C12-Pt、C18-Pt 4种目标产物。具体合成路线见图1。经高分辨质谱(ESI-MS)、核磁共振氢谱(¹H-NMR)对4种目标产物的结构进行表征,结果显示其结构与相对分子

质量均与目标产物一致,表明成功合成4种顺铂前药。

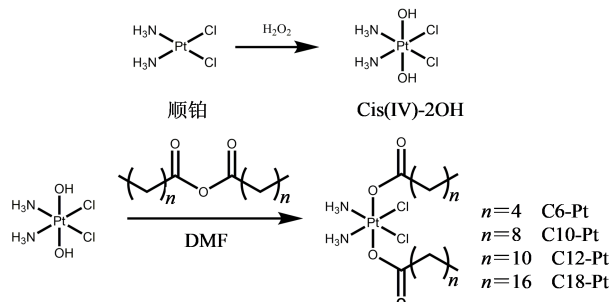


图1 顺铂前药的合成方法

Fig. 1 Synthesis method of cisplatin prodrug

2.2 顺铂前药纳米粒的制备与制剂学评价

2.2.1 顺铂前药纳米粒的制备 在超声作用下,分别将C6-Pt、C10-Pt、C12-Pt、C18-Pt与二十四碳六烯酰基磷脂酰乙醇胺(DSPE)-聚乙二醇单甲醚(mPEG_{2k})共同溶解于0.3 mL四氢呋喃与乙醇的混合溶液中,缓慢滴加至2 mL搅拌的去离子水中,形成顺铂前药自组装纳米体系,之后在30 °C下减压旋转蒸发,除去纳米体系中残留的有机溶剂,即得所需纳米粒。

顺铂前药纳米体系自组装结果及外观图分别见表1、图2。当顺铂前药质量浓度为0.5 mg·mL⁻¹时,C6-Pt难以自组装成功,外观无乳光;C10-Pt有微弱乳光,但底部有沉淀产生;而C12-Pt和C18-Pt均能形成外观均匀透明且具有较强乳光的纳米体系,马尔文粒径仪测定C12-Pt NPs和C18-Pt NPs的粒径分别为(173.56±1.40)nm和(189.70±1.10)nm,聚合物分散性指数(PDI)分别为0.15±0.03和0.14±0.03。而当顺铂前药质量浓度提升至1 mg·mL⁻¹时,C18-Pt的底部出现沉淀,仅有C12-Pt能形成稳定纳米粒体系,表明C12-Pt具有较好的自组装能力,因此选择C12-Pt NPs作为研究对象进行后续实验。

表1 4种纳米粒的粒径及PDI($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Table 1 Particle size and PDI of four nanoparticles ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

纳米体系	0.5 mg·mL ⁻¹		1.0 mg·mL ⁻¹	
	粒径/nm	PDI	粒径/nm	PDI
C6-Pt	/	/	/	/
C10-Pt	/	/	/	/
C12-Pt	173.56±1.40	0.15±0.03	182.60±1.20	0.21±0.02
C18-Pt	189.70±1.10	0.14±0.03	/	/

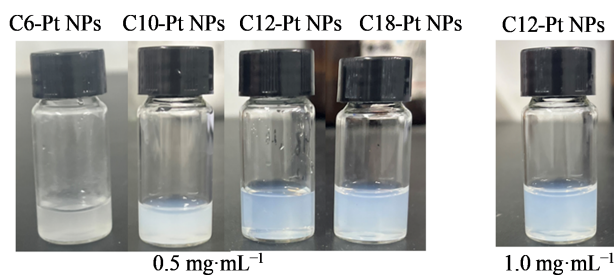


图2 顺铂前药自组装外观图

Fig. 2 Self-assembly appearance of cisplatin prodrug

2.2.2 粒径、Zeta电位与外观形态 将C12-Pt NPs用去离子水稀释20倍,采用马尔文粒径仪测定纳米粒的粒径、PDI、Zeta电位;将C12-Pt NPs分别用去离子水稀释20倍,滴加到碳膜覆盖的铜网上静置1 min,自然干燥后用磷钨酸染液负染2 min,用滤纸吸取多余液体,自然干燥,采用透射电子显微镜观察C12-Pt NPs的形态并拍照记录。

如图3所示,C12-Pt NPs的粒径分布均匀,外观形态规整,粒径为(182.60±1.20)nm,PDI为0.21±0.02,Zeta电位为(-29.60±0.28)mV。较小的粒径和负的Zeta电位有助于延长药物在体内的循环时间,并且通过高通透性和滞留效应(EPR)增强药物在肿瘤组织的蓄积^[10]。

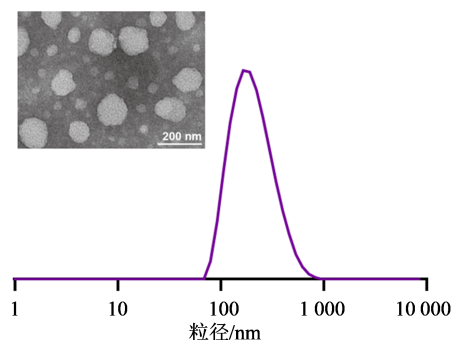


图3 C12-Pt NPs的粒径分布、透射电镜图(A)以及Zeta电位(B)

Fig. 3 Particle size distribution, transmission electron microscopy (A) and Zeta potential (B) of C12-Pt NPs

2.2.3 顺铂前药纳米粒的稳定性考察 以粒径和PDI为指标,将C12-Pt NPs用去离子水稀释20倍,放置于4 °C环境中避光储存1个月,检测粒径及PDI变化考察纳米粒的长期稳定性;使用含10% FBS的PBS(pH 7.4)缓冲液将C12-Pt NPs稀释20倍,置于37 °C,100 r·min⁻¹摇床中,分别于特定时间点(0.5、2.0、4.0、6.0、8.0、12.0、24.0、48.0 h)测定粒径变化情况,考察C12-Pt NPs的血清稳定性。

C12-Pt NPs在4 °C储存30 d的稳定性结果如图

4-A、B所示,粒径和PDI未发生明显改变,表明其具有较好的长期稳定性。如图4-C所示,在含10%

FBS的PBS(pH 7.4)缓冲液中,C12-Pt NPs在48 h内粒径无明显变化,表现其具有较好的血清稳定性。

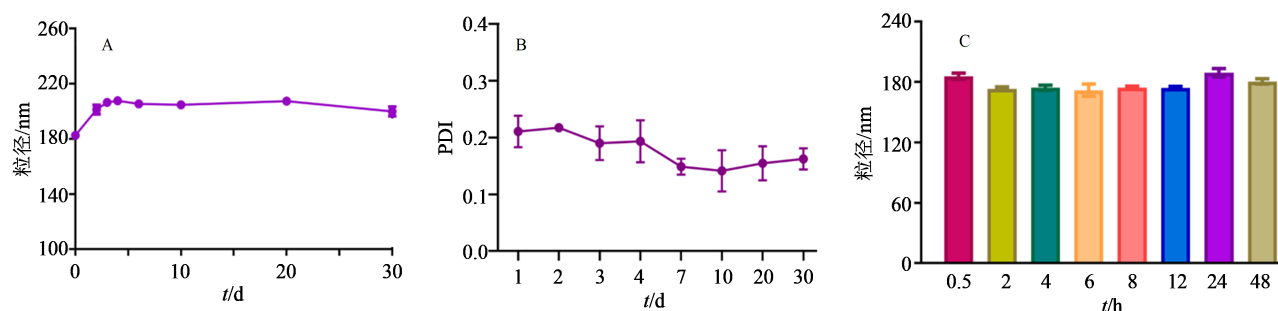


图4 C12-Pt NPs的长期稳定性(A、B)和血清稳定性(C) ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig. 4 Long-term stability (A、B) and serum stability (C) of C12-Pt NPs ($\bar{x} \pm s, n=3$)

2.2.4 顺铂前药纳米粒的体外释放 以二硫苏糖醇(DTT)模拟肿瘤内部还原性的微环境,取2 mL C12-Pt NPs溶液分别加至20 mL含0、1、10 mmol·L⁻¹ DTT的PBS(pH 7.4)缓冲液中,放置于37℃,110 r·min⁻¹转速的摇床中恒温振荡,分别在2、4、6、8、12、24、48、72 h取出0.2 mL释放介质,使用HPLC测定其中剩余顺铂前药的含量,并计算出C12-Pt NPs的释药速率,释放过程均在避光条件下进行。

结果如图5所示,在0 mmol·L⁻¹ DTT中C12-Pt NPs几乎没有释放药物,在1 mmol·L⁻¹ DTT中仅释放了约49.91%的药物,而在10 mmol·L⁻¹ DTT中,纳米粒在72 h内的释药量高达73.45%,该实验结果表明C12-Pt NPs具有较好的还原响应能力。

2.3 顺铂前药的体外细胞实验

2.3.1 顺铂前药纳米粒的细胞毒性 将MCF-7、B16F10、LLC、4T1分别以每孔2 000个细胞的密度接种至96孔板中孵育24 h,待细胞贴壁后弃去旧培养基,加入含顺铂或C12-Pt NPs(系列浓度见图6)的含药培养基,每组平行5个复孔,继续培养48 h,采用CCK-8法考察顺铂和C12-Pt NPs对上述4种细胞的毒性,并计算药物的IC₅₀值。

结果如图6和表2所示,顺铂和C12-Pt NPs对

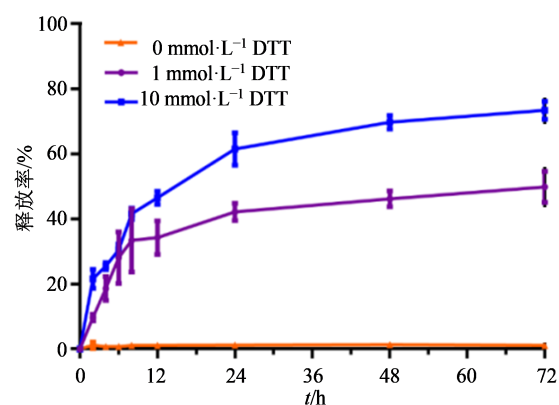


图5 C12-Pt NPs在含不同浓度DTT缓冲溶液中的释放曲线($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig. 5 Release curves of C12-Pt NPs in buffer solutions containing different concentrations of DTT ($\bar{x} \pm s, n=3$)

肿瘤细胞均有一定的生长抑制作用,且呈浓度相关性,其中C12-Pt NPs相比于顺铂溶液剂具有更强的细胞毒性,这可能是由于纳米粒以胞吞形式进入肿瘤细胞,具有更好的递送效率。

2.3.2 C12-Pt NPs/BSO的比例筛选 BSO对细胞中GSH的合成具有不可逆的抑制作用,将BSO用于肿瘤化疗增敏具有很好的前景^[11-12]。据文献报道,B16F10细胞内的GSH浓度较高,因此选择B16F10

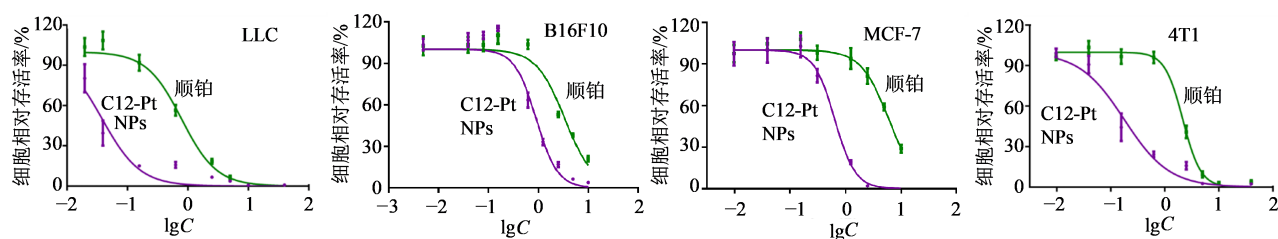


图6 C12-Pt NPs或顺铂处理不同细胞系48 h后的细胞存活率($\bar{x} \pm s, n=5$)

Fig. 6 Viability of different cell lines treated with C12-Pt NPs or 顺铂 for 48 h ($\bar{x} \pm s, n=5$)

表2 C12-Pt NPs或顺铂处理细胞48 h后的 IC_{50} 值
Table 2 IC_{50} values of cells treated with C12-Pt NPs or cisplatin after 48 h

药物	$IC_{50}/(\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1})$			
	LLC	B16F10	4T1	MCF-7
顺铂	0.785	3.40	2.16	6.03
C12-Pt NPs	0.038	0.91	0.19	0.64

作为肿瘤细胞模型,探究BSO对铂制剂的化疗增敏作用^[13]。由于BSO在高剂量时会对细胞产生毒性^[14],因此在研究BSO对化疗药物增敏作用时,需要测定其安全浓度范围。细胞毒性实验方法与“2.3.1”项相同,采用CCK-8法考察不同浓度的BSO($6.25\sim 400.00\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)对B16F10细胞存活率的影响;采用CCK-8法考察不同摩尔比的C12-Pt NPs/BSO(铂浓度为 $0.004\ 89$ 至 $5.0\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$,BSO以C12-Pt NPs的40、20、10、5倍当量加入)对B16F10细胞存活率的影响,筛选出C12-Pt NPs/BSO的最佳比例;考察顺铂、顺铂/BSO、C12-Pt NPs和C12-Pt NPs/BSO(系列浓度见图7)对B16F10细胞的毒性。

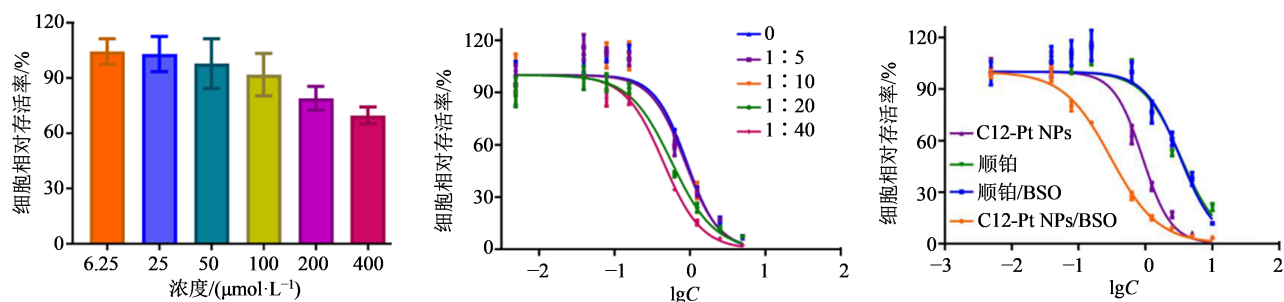


图7 不同浓度BSO(A)、不同比例C12-Pt NPs/BSO(B)、BSO增敏作用下的铂制剂(C)对B16F10细胞的存活率影响($\bar{x}\pm s$, $n=5$)
Fig. 7 Effect of different concentrations of BSO (A), different ratios of C12-Pt NPs/BSO mixture (B), and platinum preparation under sensitizing effect of BSO (C) on survival rate of B16F10 cells ($\bar{x}\pm s$, $n=5$)

2.3.3 细胞内GSH含量测定 将B16F10细胞接种至6孔板中,孵育12 h待细胞贴壁后弃去旧培养基,加入顺铂、顺铂/BSO、C12-Pt NPs、C12-Pt NPs/BSO(顺铂浓度为 $10\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$,BSO与铂制剂比例为40:1),每组平行3个复孔,置于培养箱继续孵育24 h,弃去含药培养基,用冷的PBS洗涤3次,放置于冰上裂解细胞,并测定蛋白浓度,另取细胞悬液离心后用试剂盒测定GSH含量。

GSH可以与顺铂形成结合物导致药效下降,并被药物外排泵转移至胞外,导致顺铂在细胞内的蓄积减少,引起细胞耐药^[15]。GSH耗竭策略已被用于解决铂类药物的耐药性问题^[16]。如图8所示,与顺铂相比,顺铂/BSO和C12-Pt NPs处理后B16F10细胞中GSH含量均显著下降($P<0.001$),表明BSO具

BSO对B16F10的细胞毒性如图7-A所示,当BSO浓度达到 $200\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,B16F10的细胞存活率仍能达到79.15%,表明BSO具有较好的生物安全性。

不同比例的C12-Pt NPs/BSO处理B16F10细胞48 h后的细胞生长情况如图7-B所示,其中C12-Pt NPs的 IC_{50} 值为 $0.91\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$,C12-Pt NPs/BSO的摩尔比为1:40、1:20、1:10、1:5时,相应 IC_{50} 值分别为下降至 0.44 、 0.57 、 0.87 、 $0.86\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$,由实验结果可知,随着BSO加入的比例增大,肿瘤细胞的存活率逐渐降低,当C12-Pt NPs/BSO的比例达到1:40时,C12-Pt NPs/BSO对细胞的生长抑制作用最强, IC_{50} 值最低,因此选择C12-Pt NPs/BSO的摩尔比为1:40进行后续实验。

顺铂、顺铂/BSO、C12-Pt NPs和C12-Pt NPs/BSO对细胞的生长抑制作用呈剂量相关性, IC_{50} 值分别为 3.40 、 3.32 、 0.91 、 $0.30\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$,结果如图7-C所示,联合BSO的C12-Pt NPs对细胞表现出更强的毒性,表明BSO对铂类制剂具有较好的化疗增敏作用。

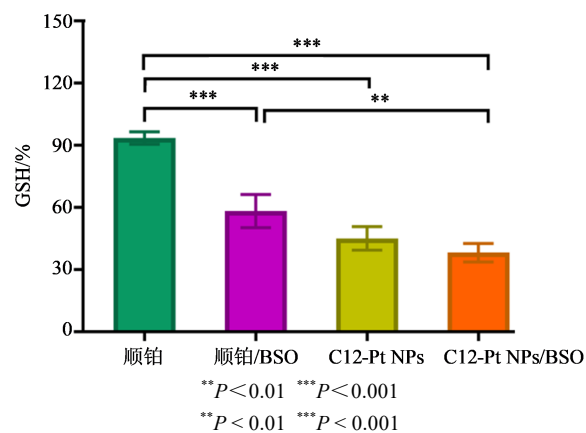


图8 不同溶液剂处理B16F10细胞后胞内GSH水平($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

Fig. 8 GSH percentage of B16F10 cells treated with different solution agents ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

有下调GSH水平的特性,C12-Pt NPs也能有效耗竭肿瘤细胞中GSH。其中C12-Pt NPs/BSO对细胞内的GSH下调作用最强,与顺铂、顺铂/BSO比较均差异显著($P<0.01, 0.001$)。

2.4 数据分析

数据应用 GraphPad Prism 7.00 处理分析并绘图,结果用 $\bar{x} \pm s$ 表示,经过单因素方差分析判断是否具有显著性差异。

3 讨论

肿瘤血管之间有100~780 nm的间隙,而C12-Pt NPs的粒径小于200 nm,这一粒径范围保证了纳米粒具有较好的EPR效应,有利于提高药物在肿瘤组织的蓄积^[17]。研究表明,肿瘤细胞中GSH表达水平高达1~10 mmol·L⁻¹,而正常血液循环中的GSH水平为1~10 μmol·L⁻¹,GSH水平的差异为构建还原响应型纳米粒提供了思路^[18-19]。通过DTT模拟肿瘤微环境中高还原性微环境,考察了C12-Pt NPs在不同浓度DTT的PBS(pH 7.4)缓冲液中释药速度的变化,表明其具有还原响应的特性,肿瘤细胞内的高还原特性(GSH浓度高达10 mmol·L⁻¹)可以使纳米粒进入肿瘤细胞后快速释放药物,发挥抗肿瘤效果。BSO是一种常用的化疗增敏剂^[20],为了排除BSO自身存在的细胞毒性,对BSO的安全浓度范围进行了考察,结果表明BSO具有较好的生物安全性。为了进一步研究BSO对铂制剂的化疗增敏作用,在BSO安全浓度范围内筛选了C12-Pt NPs/BSO联合用药的最佳比例,当C12-Pt NPs/BSO摩尔比为1:40时,抗肿瘤效果最强。细胞毒性实验结果表明,C12-Pt NPs对肿瘤细胞的生长抑制作用强于顺铂溶液剂,这可能是由于溶液剂中的药物通过被动扩散进入肿瘤细胞,相比于同等剂量的溶液剂,纳米粒不仅通过内吞作用进入细胞,药物递送效率最强,同时还能够耗竭肿瘤细胞中的GSH^[21],在一定程度上改善了肿瘤耐药性,因此展现出比游离药物溶液更好的抗肿瘤效果。本研究结果为化疗增敏剂BSO联合铂制剂增强肿瘤化疗效果提供了新思路。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Song M D, Cui M X, Liu K H. Therapeutic strategies to overcome cisplatin resistance in ovarian cancer [J]. *Eur J Med Chem*, 2022, 232: 114205.
- [2] Xu Y, Han X X, Li Y Y, et al. Sulforaphane mediates glutathione depletion via polymeric nanoparticles to restore cisplatin chemosensitivity [J]. *ACS Nano*, 2019, 13(11): 13445-13455.
- [3] Shen W, Liu W G, Yang H L, et al. A glutathione-responsive sulfur dioxide polymer prodrug as a nanocarrier for combating drug-resistance in cancer chemotherapy [J]. *Biomaterials*, 2018, 178: 706-719.
- [4] Lv H H, Zhen C X, Liu J Y, et al. Unraveling the potential role of glutathione in multiple forms of cell death in cancer therapy [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2019, 2019: 3150145.
- [5] Liu B, Bian Y L, Yuan M, et al. L-buthionine sulfoximine encapsulated hollow calcium peroxide as a chloroperoxidase nanocarrier for enhanced enzyme dynamic therapy [J]. *Biomaterials*, 2022, 289: 121746.
- [6] Li J J, Kataoka K. Chemo-physical strategies to advance the *in vivo* functionality of targeted nanomedicine: The next generation [J]. *J Am Chem Soc*, 2021, 143(2): 538-559.
- [7] Braga C B, Perli G, Becher T B, et al. Biodegradable and pH-responsive acetalated dextran (Ac-dex) nanoparticles for NIR imaging and controlled delivery of a platinum-based prodrug into cancer cells [J]. *Mol Pharm*, 2019, 16(5): 2083-2094.
- [8] Lee V E Y, Chin C F, Ang W H. Design and investigation of photoactivatable platinum(IV) prodrug complexes of cisplatin [J]. *Dalton Trans*, 2019, 48(21): 7388-7393.
- [9] Luo K J, Guo W X, Yu Y T, et al. Reduction-sensitive platinum (IV)-prodrug nano-sensitizer with an ultra-high drug loading for efficient chemo-radiotherapy of Pt-resistant cervical cancer *in vivo* [J]. *J Control Release*, 2020, 326: 25-37.
- [10] Shi Y, van der Meel R, Chen X Y, et al. The EPR effect and beyond: Strategies to improve tumor targeting and cancer nanomedicine treatment efficacy [J]. *Theranostics*, 2020, 10(17): 7921-7924.
- [11] Yang Z, Qiao C Q, Jia Q, et al. Redox dyshomeostasis modulation of the tumor intracellular environment through a metabolic intervention strategy for enhanced photodynamic therapy [J]. *Theranostics*, 2022, 12(14): 6143-6154.
- [12] Fronik P, Gutmann M, Vician P, et al. A platinum(IV) prodrug strategy to overcome glutathione-based oxaliplatin resistance [J]. *Commun Chem*, 2022, 5(1): 46.
- [13] 高阳. 谷胱甘肽调控自组装肽的抗肿瘤及相关机制研究 [D]. 北京: 北京协和医学院, 2022.

Gao Y. Study on antitumor effect and related mechanism of glutathione-regulated self-assembled peptides [D].

- Beijing: Peking Union Medical College, 2022.
- [14] 李洋. 纳米金联合BSO抑制HepG2细胞增殖及其机制的研究[D]. 广州: 暨南大学, 2014.
- Li Y. Mechanism of gold nanoparticles (GNP) and BSO's (buthionine sulfoximine) inhibition of HepG2 Cells' proliferation [D]. Guangzhou: Jinan University, 2014.
- [15] Ghosh S. Cisplatin: The first metal based anticancer drug [J]. *Bioorg Chem*, 2019, 88: 102925.
- [16] Shen D W, Pouliot L M, Hall M D, et al. Cisplatin resistance: A cellular self-defense mechanism resulting from multiple epigenetic and genetic changes [J]. *Pharmacol Rev*, 2012, 64(3): 706-721.
- [17] Fang J, Nakamura H, Maeda H. The EPR effect: Unique features of tumor blood vessels for drug delivery, factors involved, and limitations and augmentation of the effect [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2011, 63(3): 136-151.
- [18] Brülisauer L, Gauthier M A, Leroux J C. Disulfide-containing parenteral delivery systems and their redox-biological fate [J]. *J Control Release*, 2014, 195: 147-154.
- [19] Niu B Y, Liao K X, Zhou Y X, et al. Application of glutathione depletion in cancer therapy: Enhanced ROS-based therapy, ferroptosis, and chemotherapy [J]. *Biomaterials*, 2021, 277: 121110.
- [20] Pratesi G, Bo L D, Paolicchi A, et al. The role of the glutathione-dependent system in tumor sensitivity to cisplatin: A study of human tumor xenografts [J]. *Ann Oncol*, 1995, 6(3): 283-289.
- [21] Donahue N D, Acar H, Wilhelm S. Concepts of nanoparticle cellular uptake, intracellular trafficking, and kinetics in nanomedicine [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2019, 143: 68-96.

[责任编辑 兰新新]