

三氧化二砷抗肿瘤作用机制及其药物递送系统的研究进展

黄剑宇^{1,2}, 梁启凡^{1,2}, 李俊松^{1,2}, 王若宁^{1,2*}, 狄留庆^{1,2*}

1. 南京中医药大学药学院, 江苏 南京 210046

2. 江苏省中药高效给药系统工程技术研究中心, 江苏 南京 210023

摘要: 传统中药矿物药三氧化二砷具有显著的治疗作用, 已被美国食品药品监督管理局 (FDA) 批准用于治疗急性早幼粒细胞白血病, 近年来还发现其具有良好的治疗实体瘤的效果。其抗肿瘤机制主要包括促进细胞凋亡、抑制 Hedgehog 信号通路、逆转耐药性以及抑制血管生成等。然而三氧化二砷的体内靶向性较差、肾脏清除速率快、以及高剂量对正常组织的不良反应, 限制了其对实体瘤的治疗应用与临床转化。新型药物递送系统在传统纳米制剂的基础上, 提高了药物在肿瘤部位的聚集、控制释放以及诊断等能力, 在精准治疗、提高生物利用度和降低毒副作用等方面具有重要意义。对三氧化二砷的抗肿瘤机制及抗肿瘤新型药物递送系统的研究进展进行总结和分析, 以期对三氧化二砷抗肿瘤的深入研究和临床应用提供思路。

关键词: 三氧化二砷; 抗肿瘤机制; 药物递送系统; 被动靶向; 主动靶向; 物理化学靶向; 细胞凋亡; 逆转耐药性; 抑制血管生成

中图分类号: R285; R283.6 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2020)23-6102-10

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.23.025

Research progress on anti-tumor mechanisms of arsenic trioxide and its drug delivery system

HUANG Jian-yu^{1,2}, LIANG Qi-fan^{1,2}, LI Jun-song^{1,2}, WANG Ruo-ning^{1,2}, DI Liu-qing^{1,2}

1. College of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, China

2. Jiangsu Engineering Research Center for Efficient Delivery System of TCM, Nanjing 210023, China

Abstract: Arsenic trioxide, a mineral drug of Chinese medicine material medica with significant therapeutic effect, has been approved by USA Food and Drug Administration (FDA) for the treatment of acute promyelocytic leukemia. In recent years, it has also been found to have a great therapeutic effect on the treatment of solid tumors. The anti-tumor mechanisms mainly include promoting apoptosis, inhibiting Hedgehog signaling pathway, reversing drug resistance and inhibiting angiogenesis. However, the poor targeting ability *in vivo*, the rapid renal clearance rate, and the toxic and side effects of high dose on normal tissues of arsenic trioxide limit the application and clinical transformation for the treatment of solid tumor. On the basis of traditional nanoparticles, the novel drug delivery system improves the drug aggregation, controlling-release and diagnosis in tumor sites, which is of great significance in accurate treatment, improvement of bioavailability and reduction of toxic and side effects. Research progress on anti-tumor mechanisms of arsenic trioxide and its drug delivery system in recent years was summarized and analyzed in this paper, in order to provide ideas for the in-depth research and clinical application of arsenic trioxide.

Key words: arsenic trioxide; anti-tumor mechanisms; drug delivery system; passive targeting; active targeting; physico-chemical targeting; cell apoptosis; reversing drug resistance; inhibiting angiogenesis

三氧化二砷分子式为 As_2O_3 , 是传统中药矿物药砒霜的主要成分, 从明代《本草纲目》中记载用于“蚀痈疽败肉”, 到 20 世纪 70 年代开始被研究用

于急性早幼粒细胞白血病 (acute promyelocytic leukemia, APL) 的治疗, 并于 2000 年被美国食品药品监督管理局 (FDA) 批准为治疗 APL 的一线药

收稿日期: 2020-06-04

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81903557); 国家自然科学基金资助项目 (82074024); 江苏省自然科学基金资助项目 (BK20190802); 江苏省高等学校自然科学基金项目 (19KJB350003); 江苏省科协青年科技人才托举工程资助项目; 南京中医药大学自然科学基金青年项目 (NZY81903557)

作者简介: 黄剑宇, 硕士, 从事中药新剂型与新技术。E-mail: 18260028133@163.com

***通信作者** 王若宁, 博士, 讲师, 从事中药新剂型与新技术。Tel: 15852937869 E-mail: ruoningw@163.com

狄留庆, 教授, 博士生导师, 从事中药新剂型与新技术。Tel: (025)85811230 E-mail: diliuqing@njucm.edu.cn

物沿用至今。随着三氧化二砷在 APL 治疗中的应用,研究也发现三氧化二砷在治疗乳腺癌、肝癌和神经胶质瘤等实体瘤方面也具有良好的活性^[1-3],通过促进肿瘤细胞的凋亡、抑制 Hedgehog (Hh) 信号通路以及抑制血管新生等多种机制抑制实体瘤的生长,并且有正在进行的三氧化二砷用于治疗多种实体瘤的临床试验^[4-5]。

由于三氧化二砷为水溶性无机盐,在体内的靶向性较低,广泛分布于血液及各种脏器组织^[6];肾脏清除快速,使得其半衰期较短^[7],因而往往需要使用更高剂量的三氧化二砷来达到治疗效果。然而高剂量使用三氧化二砷随之带来的严重的心脏毒性^[8]以及生物分布差异导致对正常组织的严重不良反应,限制了三氧化二砷的治疗应用。

药物递送系统可以采用多学科的手段使药物具备主动或被动靶向的能力,将药物有效递送至目标部位;根据肿瘤部位的微环境特征设计特异性响应释放的递送系统,可减少药物因非特异性细胞及生物分布或体内快速代谢引起的药效减弱,从而实现增强药物的药效、改善靶向性、生物识别功能以及代谢动力学特征,减轻药物降解及不良反应的目的。通过构建功能性的药物递送系统能够改善三氧化二砷靶向性低、半衰期短以及全身不良反应的问题。本文综述了三氧化二砷的抗肿瘤机制以及应用于实体瘤的药物递送系统的研究,以期在三氧化二砷的深入研究和应用提供参考。

1 抗肿瘤作用机制

1.1 促进细胞凋亡

细胞凋亡是机体内一种有序的细胞自我消亡的生理机制,以消除损伤、衰老与突变的细胞,在维持机体自身的稳态平衡中发挥重要作用。细胞凋亡的异常减少是肿瘤发生的重要原因^[9]。研究发现,三氧化二砷具有显著的促进肿瘤细胞凋亡的作用,主要通过调节 Bcl-2 族蛋白中促凋亡蛋白与抑凋亡蛋白的比例和增强半胱氨酸天冬氨酸蛋白水解酶 Caspase 家族的活性两种方式来实现^[1,10-15]。

Sadaf 等^[1]发现三氧化二砷诱导肝癌 Hep3B 细胞的凋亡,利用蛋白免疫印迹实验证明三氧化二砷对抗凋亡蛋白 Bcl-xL 表达水平有时间相关性和剂量相关性的下调作用。Sun 等^[10]对大鼠脑胶质瘤 C6 和 9L 细胞进行三氧化二砷处理,发现 5 $\mu\text{mol/L}$ 三氧化二砷即有显著促进细胞凋亡的作用,这一作用与细胞中时间相关性活性氧 (ROS) 的产生有关。

此外研究还发现三氧化二砷抑制了抗凋亡因子 Bcl-2 的表达,并上调了凋亡因子 Bax 的表达,从而改变 Bax/Bcl-2 的比例,有利于肿瘤细胞的凋亡。Xia 等^[11]发现三氧化二砷可能是缺口受体 Notch-1 的抑制剂,抑制了 3 种乳腺癌细胞 MDA-MB-231、MCF-7 和 SKBR-3 中 Notch-1 的表达,从而导致乳腺癌细胞的生长抑制并诱导凋亡。进一步的研究发现 Notch-1 的失活导致 2 种下游基因 Bcl-2 和 NF- κ B 的表达下降,进而抑制了乳腺癌细胞的侵袭。

Eguchi 等^[12]则研究发现三氧化二砷可以通过激活氨基末端激酶 JNK1 与 JNK2 磷酸化,以及激活 caspase-3 并调控 JNK1 的细胞外信号调节激酶 ERK1/2 两种方式导致人间皮瘤 NCI-H2052 细胞凋亡。进一步研究发现,三氧化二砷诱导的 ERK1/2 磷酸化取决于 JNK1 蛋白的存在,而不取决于 JNK2 蛋白和磷酸化的 JNK1/2,说明三氧化二砷主要通过 JNK1/2 激活诱导人恶性胸膜间皮瘤 NCI-H2052 细胞凋亡,而 JNK1/2 失活时,ERK1/2 参与三氧化二砷诱导的人间皮瘤细胞凋亡。Survivin 蛋白可与 Zn^{2+} 离子配位形成锌指结构,直接作用于细胞凋亡效应分子 caspases^[13]。Chiu 等^[14]对三氧化二砷研究发现其可通过抑制 PI3K/Akt 和激活 MAPK 信号通路下调 survivin,诱导脑胶质瘤 U118 细胞的体外自噬及凋亡,并抑制体内肿瘤生长和肿瘤组织中 survivin 的表达。Wang 等^[15]研究发现三氧化二砷可以抑制胶质瘤 U87 细胞的增殖,通过下调凋亡相关因子 Fas、FasL 和 Bax 及凋亡相关蛋白 p53,增强 caspase-3 和 caspase-9 的表达诱导胶质瘤细胞的凋亡。

1.2 抑制 Hh 信号通路

Hh 信号通路在胚胎发育过程中起重要作用,在正常人体组织中无活性或低活性。其异常激活已被证明与 Hh 通路中蛋白 Ptch-1 的失活、smooth 或 GLI 的激活相关^[16],进而导致一些如肺癌^[17]、横纹肌肉瘤^[18]、骨肉瘤、胶质瘤^[19]和乳腺癌等实体瘤的发生^[20]。三氧化二砷与巯基的高度结合特性,使其具备与 Hh 信号通路上的锌指形结构蛋白 GLI 特异性结合的能力,阻断 Hh 信号通路,进而抑制肿瘤的活性。

有学者等通过免疫印记检测相关蛋白表达发现,三氧化二砷对于 Hh 通路的核心蛋白 GLI2 蛋白的表达具有显著抑制作用。通过 PCR 检测发现,三氧化二砷处理人类慢性粒细胞白血病 K562 细胞后,一方面 GLI1 与 GLI2 的 mRNA 扩增均受到显著的抑制作用,抑制作用呈现浓度相关性;另一方面 Hh

通路的抑制因子 Ptch 的 mRNA 表达的水平随之增高,显示三氧化二砷还可能通过上调抑制因子 Ptch 从而抑制 Hh/GLI 通路^[21]。Meister 等^[22]使用三氧化二砷处理横纹肌肉瘤 RMS 细胞,发现三氧化二砷对 RMS 细胞有显著的抑制生存期的作用,通过降低 Hh 通路上 GLI1、GLI2、Ptch、GAS1 靶基因的表达,从而抑制 GLI1 转录活性,进而抑制 Hh/GLI 和 Hh/Ptch 通路。Beauchamp 等^[23]发现,三氧化二砷直接与 GLI1 蛋白结合,抑制其转录活性,从而降低内源性 GLI 靶基因的表达。与此结果一致的是,三氧化二砷还在体内抑制了依赖于 GLI 上调的尤文氏肉瘤异种移植模型的肿瘤生长,在激活 Hh 通路信号的情况下提高了与临床相关的自发性成神经管细胞瘤小鼠的存活率。最终结果证明三氧化二砷是一种在体外和体内均能作用于 GLI1 水平的 Hh 通路抑制剂。

1.3 逆转肿瘤耐药性

肿瘤在接受某些化疗药物治疗后对该药物本身或其他未接触过的药物易产生耐药性,使细胞凋亡敏感性降低、细胞存活信号通路的异常活化、药物外排泵 ABC 转运蛋白促进药物外排等,是导致肿瘤化疗失败的主要原因。

在复发性肝癌的治疗过程中,耐药性肝癌 MDR-HCC 细胞应对高氧化应激条件采用适应性 14-3-3 η /NF- κ B 反馈环使其存活,导致化疗效果减弱。Qiu 等^[24]研究发现,三氧化二砷可作为 NF- κ B 的抑制剂,抑制 14-3-3 η mRNA 的转录水平。此外,三氧化二砷还被证实可以直接结合 14-3-3 η ,并以泛素化相关性的方式增强 14-3-3 η 蛋白的降解,阻断 14-3-3 η /NF- κ B 反馈环,从而逆转 MDR-HCC 细胞的耐药性。Ghanbari 等^[25]研究探讨了 GLI 抑制剂福司可林、GANT-61 和三氧化二砷对胰腺癌 PANC-1 细胞上皮-间充质转化 (epithelial-to-mesenchymal transition, EMT) 耐药的抑制作用。通过定量 RT-PCR 检测 EMT 因子 mRNA 表达水平,评估 GLI 抑制剂的效果。结果显示,福司可林对 PANC-1 细胞的耐药性影响不大, GANT-61 能降低该细胞系对 ETB 的耐药,而三氧化二砷更为有效。Feng 等^[26]研究发现,三氧化二砷与阿霉素 (doxorubicin, DOX) 联合治疗能明显抑制耐 DOX 的骨肉瘤 MG63/dox 细胞的增殖,诱导 G₂/M 期细胞周期阻滞,增加 MG63/dox 细胞凋亡。进一步的研究发现,三氧化二砷通过下调 MG63/dox 细胞中 stathmin 的表达,显著逆转了 MG63/dox 对 DOX 的耐药性。

1.4 其他抗肿瘤机制

肿瘤细胞的快速增殖使得肿瘤部位的血管异常生成,以满足肿瘤细胞所需的大量营养物质与氧气的输送,抑制肿瘤部位新生血管的生成,也可以在一定程度上实现“饿死肿瘤”的目的。Jiang 等^[27]研究表明三氧化二砷通过对肝癌 MHCC97H 和 MHCC97L 细胞中 microRNA-491 介导的 TGF- β /SMAD3/NF- κ B 信号通路的抑制作用减弱了血管生成能力。发现三氧化二砷通过 DNA 脱甲基作用改善 miR-491 的表达,从而降低 SMAD3 的表达与功能,致使 NF- κ B/IL-6/STAT-3 信号转导失活,进而抑制 VEGF 分泌以减少新生血管的生成。Jiang 等^[28]研究发现,三氧化二砷抑制了 VEGF 的表达与分泌,并减弱了乳腺癌 TNBC 细胞的血管生成能力。进一步研究发现三氧化二砷通过抑制 zeste 同源物 EZH2 增强子与 p65 的相互作用,下调 NF- κ B 的活性,从而抑制 TNBC 的血管生成。

2 药物递送系统研究

2.1 被动靶向的递送系统

被动靶向的药物递送系统是指根据增强渗透性和保留 (enhanced permeability and retention effect, EPR) 效应而设计的载体,使药物被动富集于肿瘤部位。聚乙二醇 (polyethylene glycol, PEG) 具有亲水特性,可以吸附大量的水分子,在纳米粒的表面形成一层水分子的空间位阻,减少体内巨噬细胞对纳米粒的吞噬,从而延长递送系统在血液循环系统中的时间。利用 PEG 修饰的聚乳酸乙醇酸共聚物 (PEG-PLGA) 制备的“隐形纳米粒”As₂O₃-PEG-PLGA,与 As₂O₃ 注射剂相比,分布相半衰期和消除相半衰期分别提升 3.86、3.09 倍,具有缓释及延长半衰期的作用^[29]。

2.2 主动靶向的递送系统

主动靶向的药物递送系统主要是利用肿瘤部位一些特异性或高表达的生物标记物进行靶向,从而被指定的细胞所识别摄取。递药系统表面修饰特定的配体,如蛋白、抗体、多肽或化学小分子等,这些配体能够与细胞膜表面高表达的如转铁蛋白受体、叶酸受体、葡萄糖转运体等受体或抗原等特异性结合,触发细胞内吞,从而实现将药物递送系统靶向递送至特定细胞的目的^[30]。已有学者研究通过抗体、多肽以及适配体等靶头修饰,从而实现三氧化二砷的肿瘤主动靶向递送,见图 1。

2.2.1 糖蛋白受体介导的递送系统 在跨膜糖蛋

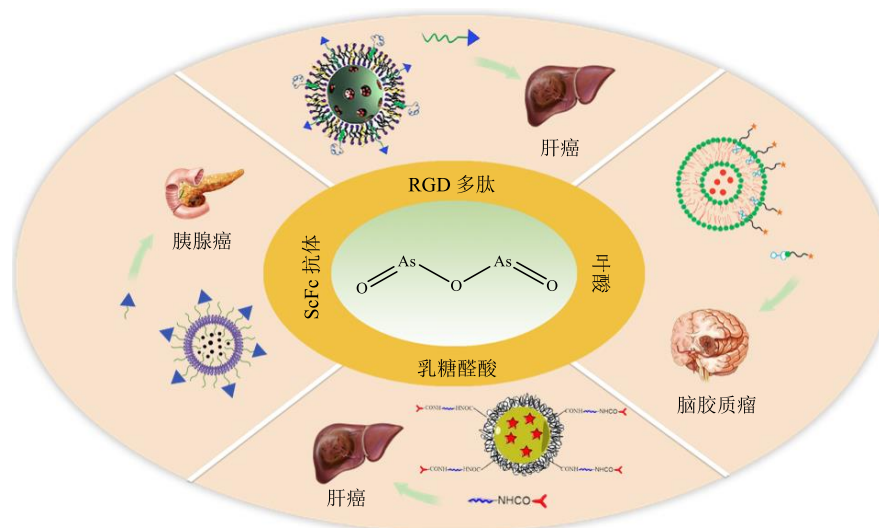


图 1 三氧化二砷主动靶向递送系统构建策略

Fig. 1 Active targeting strategy based on drug delivery system for arsenic trioxide

白家族中, CD44 是透明质酸的主要细胞表面受体, 其中变异体 6 (CD44v6) 被报道主要在胰腺癌细胞中过度表达, 直接参与肿瘤的发生、转移和进展^[31], 是介导抗 CD44v 修饰靶向传递的理想抗原。Qian 等^[32]通过双重乳液溶剂蒸发法将三氧化二砷负载于 mal-PEG-PLGA 微囊中, 后将 scFvCD44v6 抗体结合修饰于 PLGA 微囊表面, 形成 scFv-As-NPs, 可在体外与过表达 CD44v6 的胰腺癌细胞 PANC-1 特异性结合, 显示出比非靶向的三氧化二砷更高的细胞活性抑制能力。体内实验表明 scFv-As-NPs 可增强体内胰腺癌肿瘤模型的肿瘤蓄积, 并显著降低三氧化二砷对正常器官的毒性。Song 等^[33]利用含有一个半乳糖单位的乳糖醛酸 (lactobionic acid, LA) 特异性靶向识别肝细胞的亚洲糖蛋白受体 (asialoglycoprotein receptor, ASGPR), 使用双重乳液溶剂蒸发法将三氧化二砷包载于 PLGA 内, 通过氨基和羧基的化学共价偶联将 LA 和 PEG 修饰到 NPs 上制备了 PEG 和 LA 表面修饰的 $As_2O_3@PLGA-PEG/LA-NPs$ 。经 PEG 和 LA 表面改性后, $As_2O_3@PLGA-PEG/LA-NPs$ 的生物相容性得到改善, 修饰后三氧化二砷的体内外抗肝癌疗效有所提高。

2.2.2 多肽介导的递送系统 精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸 (RGD) 是显示在许多细胞外基质上的细胞黏附序列, 可与肿瘤细胞新生血管和神经母细胞瘤、黑色素瘤、肺癌、乳腺癌等多种肿瘤内皮细胞上高表达的 $\alpha v \beta 3$ 整合素受体结合, 参与抑制肿瘤迁移、肿瘤血管生成, 以及实现肿瘤识别^[34]。Fei 等^[35]将

三氧化二砷负载于表面具有氨基的修饰有二甲基十八烷基氯化硅烷的中空介孔二氧化硅 ($NH_2-CHMSN$) 中, 再以薄膜水化法制备得 RGD 修饰的复合脂质体 RGD-LP-CHMSN-三氧化二砷。经 CHMSN 负载后, 三氧化二砷的控释能力得到显著提升, RGD 的修饰使得三氧化二砷在体内肝脏肿瘤中特异性分布, 提高了体内外抗肿瘤作用。有研究利用第 5 代聚酰胺-胺树状大分子 (PAMAM dendrimers) 内部空腔及表面携带的正电荷氨基与三氧化二砷在水溶液中的亚砷酸离子形式反应结合, 实现负载三氧化二砷的目的。通过马来酰胺键将 RGDyC 与 PAMAM 结合, 后再以 PEG₃₀₀₀ 进行修饰获得 RGDyC-mPEG-PAMAM。研究结果显示, 经 RGDyC 和 PEG 共修饰后的 PAMAM 不仅具有较小的粒径 [$(21.6 \pm 6.81) \text{ nm}$], 还可以负载三氧化二砷体外跨越血脑屏障, 增加肿瘤细胞对其摄取^[36]。

2.2.3 叶酸介导的递送系统 叶酸受体 (folate receptor, FR) 是一种广泛过表达于肿瘤细胞膜表面的糖蛋白, 且在正常器官中几乎不表达。天然配体叶酸 (folic acid, Fa) 具有无毒、相对分子质量小、易于修饰、生物相容性好、价廉易得等优点, 可与 FR 特异性识别结合, 后通过内吞作用进入细胞^[37]。将 Fa 上的羟基与药物或药物载体结合形成 Fa 复合物后, 细胞膜表面的 FR 仍对其具有高度的亲和性。利用 Fa 结合修饰的递药系统与肿瘤细胞表面的 FR 识别结合后, 细胞膜内陷将其形成细胞内小泡内吞入胞, 在内涵体的酸性环境 ($\text{pH } 4.5 \sim 5.5$) 中解

离脱落 Fa, 将药物释放于细胞质内, 实现靶向杀伤肿瘤细胞的目的^[38]。Chen 等^[39]通过薄膜水化法制备脂质体负载 Ni (HAsO₃) 固体纳米颗粒, 并利用 PEG₃₃₅₀ 修饰的二硬脂酰基磷脂酰乙醇胺 (1,2-distearoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamine, DPSE) DPSE-PEG₃₃₅₀ 缀合 Fa 修饰获得脂质体 f-Lip (Ni, As), 发现叶酸靶向的砷脂质体具有高效的肿瘤细胞摄取及抗肿瘤活性, 其中共包埋的过渡金属 Ni²⁺ 有利于三氧化二砷在脂质体中的稳定, 并能利用细胞摄取过程中 pH 变化触发三氧化二砷的释放。

2.3 物理化学靶向的递送系统

基于纳米技术的靶向给药已在临床前动物模型中显示出良好的效果。然而, 依赖于 EPR 效应以及配体识别设计的递送系统在临床应用时仍存在问题, 这可能是配体-受体相互作用的随机性以及控制靶向纳米载体释放药物存在一定困难的结果^[40-41]。因而, 根据肿瘤部位的微环境进行药物递送系统的设计以模拟生物响应性, 实现药物的按需响应释放, 有利于肿瘤的精准治疗, 这类递送系统可响应于特定的物理或化学条件而释放药物, 故也被称为物理化学靶向的递送系统。已有的关于三氧化二砷的物理化学靶向递送系统研究主要依赖肿瘤微环境响应的化学内源性刺激 (pH、氧化还原梯度变化或无机磷浓度差异) 和外源性物理刺激 (磁响应和温度响应) 实现。

2.3.1 肿瘤微环境响应型递送系统 肿瘤微环境是肿瘤在发生发展过程中形成的一种利于肿瘤的生态环境, 表现出与正常组织显著不同的生物学特征: 缺氧、酸中毒、高间质压、特异性酶或受体的高表达等^[42], 这些特异性的肿瘤微环境为肿瘤的精确治疗提供了更多的机会。

(1) pH 响应的递送系统: 与正常组织的 pH 值 (7.2~7.4) 相比, 实体瘤的 pH 值为 5.7~7.8, 而在亚细胞水平, 如晚期内涵体和溶酶体则呈现更强的酸性环境, 其 pH 值则为 4.5~5.5^[43]。这主要是由于肿瘤的快速生长、新生血管生成导致肿瘤内营养和氧气匮乏, 使得代谢向糖酵解转移, 从而导致肿瘤间质中产生酸性代谢物^[44]。利用这些不同组织间 pH 差异构建 pH 敏感的药物递送系统, 可以有效的实现酸性肿瘤微环境的响应靶向与释放。Ettlinger 等^[45]合成了锌基金属有机骨架 ZIF-8, 通过合成后的配体交换将三氧化二砷引入中性结构, 并以氨基官能化的 PEG 修饰表面制备了 PEG-NH₂@As@

ZIF-8。ZIF-8 NPs 显示出每 1 mg 载体 74 μg As 的高负载量, 纳米载体在酸性条件下分解的特性使得在正常组织和血液的 pH 下释放少量的 As, 在肿瘤组织酸性 pH 下释放完全。Zhang 等^[46]通过反相微乳法开发了一种低 pH 插入肽 (pH-low peptide, pHLIP) 修饰的递药系统 MnAs@SiO₂-pHLIP, 借助 pHLIP 的包被, 递药系统可靶向酸性肿瘤微环境。体外实验表明 MnAs@SiO₂-pHLIP 对多种癌细胞系具有很强的靶向性和细胞毒性, 体内实验进一步表明, pHLIP 还可以显著延长三氧化二砷的循环时间, 在酸性环境中实现三氧化二砷的可控释放, 此外还可以通过 MRI 激活 Mn²⁺ 的 T1 信号的强化, 实现实时监测。与三氧化二砷相比, MnAs@SiO₂-pHLIP NPs 在体内外实验中均表现出更高的肿瘤靶向性和抗肿瘤疗效, 对正常组织的毒性更小。Zhao 等^[47]利用金属元素 Mn²⁺ 与 HAsO₃²⁻ 反应成盐沉淀的特性, 使用离子梯度加载法成功将 Mn²⁺ 和三氧化二砷的水合形式 (HAsO₃²⁻) 形成 Mn-As 络合物沉淀, 共同负载进合成的纳米中空介孔 SiO₂ 中, 制备了 MnAsOx@SiO₂。制备的 MnAsOx@SiO₂ 还具有在低 pH (pH 5.4) 条件下缓慢释放的特点, 具有顺磁性 T1 造影剂 Mn²⁺ 的加入使得 MnAsOx@SiO₂ 具有磁共振成像的能力, 可准确诊断肿瘤的位置, 实时监测三氧化二砷药物的传递和释放, 并提供有效的体内抗肝癌的治疗。

(2) 氧化还原响应的递送系统: 肿瘤组织中普遍存在的乏氧环境使得肿瘤细胞内部的还原型谷胱甘肽 (GSH) 浓度 (2~10 mmol/L) 较高, 约是正常细胞内 GSH 浓度的 4 倍, 更远高于细胞外生理环境中的 GSH 浓度 (2~10 μmol/L) ^[48]。纳米载体中的 As-S 键或二硫键具有还原敏感性, 在进入肿瘤细胞后可被高浓度的 GSH 还原为巯基断裂, 促使载体结构变化释放负载药物, 从而实现肿瘤的选择性响应释放。Zhang 等^[49]合成了一种巯基结合于疏水性嵌段的共聚物 PEO-b-P(CCLC6-SH), 利用 As³⁺ 对巯基具高亲和力的特点, 将三价砷的氧化物氧化苯砷 (phenylarsine oxide, PAO) 与共聚物中巯基结合包封于共聚物内。该共聚物在 As-S 键的作用下将 As 的包封能力提高了 15 倍, 具有良好的结构稳定性, 并且可以在肿瘤的高浓度 GSH 条件下响应释放药物, 与未包封的 PAO 具有相当的体外杀伤人乳腺癌 MDA-MB-435 细胞的活性。一种负载三氧化二砷的氧化还原响应性递药系统 MSN-SS-

PEG@As₂O₃, 以 MSN 为载体, 通过二硫键修饰表面后再经酰化反应连接 PEG, 最后通过静电吸附作用负载三氧化二砷。体外释放研究发现 MSN-SS-PEG@As₂O₃ 在含有 10 mmol/L GSH 的释放介质中三氧化二砷累积释放量达到 81%, 远高于不含 GSH 介质中的释放量, 具有 GSH 响应性释放特性。体外毒性实验显示 MSN-SS-PEG@As₂O₃ 的半数抑制浓度 (IC₅₀) 值为 (7.64±0.35) μmol/L, 显著低于三氧化二砷 ($P<0.01$), 增强了体外抗肿瘤效果^[50]。

(3) 无机磷触发的递送系统: 镧系离子与三价砷结合产生沉淀的能力比过渡金属离子更高, 另一方面, 对于镧系元素钆离子 Gd²⁺, 其磷酸盐与相应的砷酸磷酸化合物相比更加稳定 [Ksp GdAsO₄ (10~21.7) > Ksp GdPO₄ (10~25)], 这也是大多数镧系矿物以磷酸盐的形式存在的原因。无机磷酸盐 (inorganic phosphates, Pi) 不仅存在于天然矿物中, 还富集于内源的血浆 (1.12~1.45 mmol/L) 以及细胞质 (10~75 mmol/L) 中, 主要以磷酸二氢盐和磷酸一氢盐的形式存在^[51]。Chen 等^[52]利用 [GdAsO_x (s) + Pi (aq) → GdPO₄ (s) + H₃AsO₃ (aq)] 的反应, 研究了以葡聚糖包裹 GdAsO_x NPs 的可被体内无机磷触发释放三氧化二砷的自载纳米系统。体外释放动力学研究发现, 在没有 Pi 的情况下, 不同 pH 值条件下的自载亚砷酸钆纳米系统几乎都不释放出三氧化二砷。此外对静脉注射给药治疗后的体内肿瘤分析, 与游离三氧化二砷相比, 自在亚砷酸纳米系统组肿瘤内 As 的积累增加了 10 倍。

2.3.2 外源性物理响应型递送系统

(1) 磁响应的递送系统: 利用磁场响应的不同性质, 可以实现具有永磁性药物的磁性靶向运输, 或外加高频交变磁场 (alternating magnetic field, AMF) 时产生升温的磁热疗, 或者利用具顺磁性或超顺磁性的金属离子 (铁、锰或钆) 进行磁共振成像 (magnetic resonance imaging, MRI) 构建诊断治疗一体化系统^[53]。Muhammad 等^[54]通过 EDC 化学方法将 Fe₃O₄ 磁性纳米颗粒固定在氨基化的介孔二氧化硅 (mesoporous silica nanoparticles, MSNs) 的表面得到 Fe₃O₄@MSNs, 后将多余的氨基修饰为与三氧化二砷具高度亲和力的巯基, 以将三氧化二砷固定于表面, 最后将喜树碱负载于 MSN 的多孔结构中, 充分利用了 MSN 的孔隙与表面, 制备获得同时负载喜树碱与三氧化二砷的 CPT-三氧化二砷-Fe₃O₄@MSNs。研究发现 CPT-三氧化二砷-

Fe₃O₄@MSNs 具备超顺磁性, 具有缩短自旋-自旋弛豫时间 T₂ 的能力, 可实现 MRI 成像诊断功能。Yang 等^[55]采用溶剂置换法将三氧化二砷与镁铁氧体磁性纳米颗粒共包载于生物可降解的 PLGA 中, 制备了三氧化二砷-MgFe₂O₃ 磁性纳米粒子。研究发现该磁性纳米粒子具有良好的磁性靶向性, 在外部磁场的引导下实现位点的特异性递送, 在靶组织中释放; 此外还具有三氧化二砷缓慢释放的特点; 同时肾脏中三氧化二砷的浓度较低, 从而降低了三氧化二砷对一般组织器官的毒性, 尤其是对肾脏功能的影响, 减少了三氧化二砷的毒副作用。Chi 等^[56]将 Ni²⁺ 与三氧化二砷反应生成三氧化二砷的前体药物 NiAsO_x, 负载于大孔介孔二氧化硅纳米颗粒 (LPMSNs) 的孔隙中, 同时 LPMSNs 中心含有磁性 FeO 纳米颗粒, 制备获得 M-LPMSN-NiAsO_x, 最后利用 Fa 对其进行表面修饰, 获得多功能的三氧化二砷纳米递送系统。药物释放曲线显示了三氧化二砷在酸性环境中的响应性释放, 通过对肝癌 SMMC-7721 细胞的体外实验发现, M-LPMSN-NiAsO_x-FA 纳米药物的细胞毒性明显高于传统的游离三氧化二砷, 并可诱导更多的细胞凋亡。肝癌 H22 细胞荷瘤小鼠体内实验进一步证实了 MLPMSN-NiAsO_x-FA 较传统游离的三氧化二砷具有更好的实体瘤治疗能力, 此外具有 MRI 成像能力的 FeO 使得递药系统具有肿瘤实时监测能力。

(2) 温度响应的递送系统: 温度响应的药物递送主要是利用载体材料中的至少 1 种组分对温度存在非线性突变来实现温控释放。在理想情况下, 具有温度响应的药物载体应在正常体温 (37 °C) 下保持稳定, 只在较低的局部加热 (40~42 °C) 的病变部位快速释放荷载药物^[57]。聚环氧丙烷、聚 (N-烷基丙烯酰胺)、聚 (N-乙基己内酰胺)、壳聚糖以及脂质是最常用的温度响应材料^[58]。聚合物分子间键的形成或破坏, 导致聚合物构象、结构或水化状态的改变, 从而导致有效载荷的释放; 热敏脂质体 (thermosensitive liposomes, TSLs) 则是利用脂质相变与双层膜渗透性增强一致性的特点, 在温度达到相变温度 T_c 时, 磷脂分子由原来紧密的全反式构象变为结构疏松的歪扭构象, 使得药物快速释放, 以实现温度敏感的控释系统^[59]。Winter 等^[60]向以二棕榈酰磷脂酰胆碱 (dipalmitoyl phosphatidylcholine, DPPC) 制备的脂质体中加入不同比例的 1-肉豆蔻酰基-2-棕榈酰基卵磷脂 (1-myristoyl-2-palmitoyl-

sn-glycero-3-phosphatidylcholine, MPPC) 来使得脂质体在相变温度 T_c 附近快速释放负载的三氧化二砷。研究发现, DPPC:MPPC (5%) 脂质体和 DPPC:MPPC (10%) 脂质体在 37 °C 下释放较少, 且在 10 h 内趋于稳定 (约 10%)。将脂质体快速加热至 42 °C 后, 2 种脂质体均从胶晶态变为液晶态, 在 1 h 内分别迅速释放 40% 和 55% 的三氧化二砷。

2.3.3 复合刺激响应的递送系统 脂蛋白受体相关蛋白受体 (lipoprotein receptor-related protein receptor, LRPR) 在脑胶质瘤细胞及脑内皮细胞上均高表达, 是治疗脑胶质瘤的潜在靶标^[61]。Angiopep-2 (TFFYGGSRGKRNNFKTEEY, 2 400) 是 LRPR 的特异性配体, Tao 等^[62]利用 Angiopep-2 对纳米载体表面修饰, 获得具有脑靶向的功能性脂质体 ANG-LP-PAA-MSN@三氧化二砷。该复合脂质体由薄膜水化法制备, 其中氨基化介孔二氧化硅 (NH_2 -MSN) 依赖电荷吸附负载三氧化二砷, PAA 接枝用于密封 MSN 的孔隙并支撑 Angiopep-2 修饰后的脂质双分子层。ANG-LP-PAA-MSN@三氧化二砷治疗组血液和胶质瘤组织半衰期较三氧化二砷溶液组 (三氧化二砷-sol) 延长 1.65、2.34 倍, 此外 ANG-LP-PAAMSN@三氧化二砷还显著增强了三氧化二砷的血脑屏障透过率, 对大鼠原位脑胶质瘤的靶向分布效率 (24.96%) 以及治疗效果。利用 Angiopep-2 的主动靶向与聚丙烯酸 PAA 的 pH 响应释放 2 种机制复合刺激肿瘤响应释放, 为三氧化二砷的精准有效治疗提供了保障。

三氧化二砷物理化学靶向递送系统见表 1。

表 1 三氧化二砷物理化学靶向递送系统构建策略
Table 1 Physico-chemical targeting strategy based on drug delivery system for arsenic trioxide

响应机制	载体	三氧化二砷存在形式	文献
pH 响应	ZIF-8 骨架	三氧化二砷	42
	脂质体	MnAsOx	43
	MSN	MnAsOx	44
GSH 还原响应	PEO-b-P(CCLC6-SH) 聚合物	PAO	46
无机磷响应	葡聚糖	GdAsOx	49
磁响应	MSN	三氧化二砷	51
	PLGA	三氧化二砷	52
	MSN	NiAsOx	53
	MSN 复合脂质体	三氧化二砷	59
热响应	脂质体	三氧化二砷	57

3 结语与展望

三氧化二砷具有独特、广泛且高效的抗肿瘤药效, 可以通过调节 Bcl-2 族蛋白、增强 Caspase 活性、抑制 Hh 通路、逆转肿瘤细胞的耐药性以及抑制血管新生等多种机制抑制肿瘤的发生发展, 在实体瘤的治疗方面有巨大的潜力。目前三氧化二砷的递送系统主要利用生物相容性较好的脂质体和无机纳米材料 MSN 2 种载体进行构建, 在这些载体的基础上进行修饰使药物递送系统具备主动靶向或刺激响应能力, 降低其在正常组织分布导致的全身性毒副作用, 实现低剂量治疗的目的。主动靶向药物递送系统的配体通常由肿瘤的类型所决定, 根据肿瘤的不同, 选择不同的特异性表达的受体与相应配体显得至关重要。尽管以纳米技术设计的靶向递药在临床前动物模型中显示出良好的效果, 但是 EPR 效应以及配体识别在临床应用时与动物模型仍存在较大差距。构建模拟肿瘤微环境特点响应的刺激响应型药物递送系统以实现药物的多种机制响应的精准释放也值得被重视。

鉴于三氧化二砷是亚砷酸的酸酐, 可与多种过渡金属元素络合成盐沉淀, 并在酸性条件下解离重新释放 As^{3+} , 故在内源性刺激响应的药物递送系统中, pH 值响应性最为常用。一方面, 在组织器官层面, 肿瘤间质中产生酸性代谢物导致的酸性肿瘤微环境为药物递送系统的 pH 值响应性分布提供条件; 另一方面, 在细胞水平, pH 值敏感性可以触发药物释放到晚期内涵体或溶酶体中, 或促进药物递送系统从溶酶体逃逸到细胞细胞质中, 利于药物的细胞内积累。外源性物理响应的递送系统中, 磁响应药物递送系统具有磁引导靶向、局部热疗以及实时监测诊断多种功能, 而三氧化二砷与具顺磁性的金属离子 (锰或钆) 络合盐沉淀同样可在低 pH 值条件下解离, 同时具备 pH 值敏感性释放与磁响应性 MRI 成像的能力, 因此磁响应药物递送系统在三氧化二砷的递送研究中也占有较高的比例。而磁响应药物递送系统用于磁引导靶向或局部热疗时, 通常仅限于可触及较浅层的肿瘤, 有很高损伤风险的组织如脑等则不太适用。

“以毒攻毒”是临床中医药治疗肿瘤的重要方法, 常使用有毒中药如砒霜、半夏、附子、马钱子、土鳖虫、商陆和蟾酥等。这些中药中发现的活性物质如三氧化二砷、乌头碱、马钱子碱和蟾毒灵等, 具有良好的抗肿瘤药效, 但这些物质与三氧化二砷

类似,均存在不良反应大、生物利用度低和缺乏靶向性等问题。因而对这一类物质递送系统的构建,一直是研究者们研究的热点。根据其药物特性,结合现代制剂学技术,将其设计构建出多种响应机制及靶向能力的药物递送系统,增强其靶向递送能力,减轻全身性不良反应,从而实现低剂量下的安全治疗。相信不久的将来,三氧化二砷一类毒效并存药物的递送系统构建将得到更广泛的研究、发展与应用,并且有望成为人类克服疾病的重要手段。

参考文献

- [1] Sadaf N, Kumar N, Ali M, *et al.* Arsenic trioxide induces apoptosis and inhibits the growth of human liver cancer cells [J]. *Life Sci*, 2018, 205: 9-17.
- [2] Shi Y, Cao T, Huang H, *et al.* Arsenic trioxide inhibits cell growth and motility via up-regulation of let-7a in breast cancer cells [J]. *Cell Cycle*, 2017, 16(24): 2396-2403.
- [3] Ding D C, Lim K S, Eberhart C G. Arsenic trioxide inhibits Hedgehog, Notch and stem cell properties in glioblastoma neurospheres [J]. *Acta Neuropathol Commun*, 2014, 2: 31.
- [4] Akhtar A, Wang S X Y, Ghali L, *et al.* Recent advances in arsenic trioxide encapsulated nanoparticles as drug delivery agents to solid cancers [J]. *J Biomed Res*, 2017, 31(3): 177-188.
- [5] Kumthekar P, Grimm S, Chandler J, *et al.* A phase II trial of arsenic trioxide and temozolomide in combination with radiation therapy for patients with malignant gliomas [J]. *J Neurooncol*, 2017, 133(3): 589-594.
- [6] Vineetha V P, Raghu K G. An overview on arsenic trioxide-induced cardiotoxicity [J]. *Cardiovasc Toxicol*, 2019, 19(2): 105-119.
- [7] Lu J, Hu S, Wang W J, *et al.* Anticancer drug-induced cardiac rhythm disorders: Current knowledge and basic underlying mechanisms [J]. *Toxicol Sci*, 2018, 166(1): 219-227.
- [8] Alexandre J, Moslehi J J, Bersell K R, *et al.* Anticancer drug-induced cardiac rhythm disorders: Current knowledge and basic underlying mechanisms [J]. *Pharmacol Ther*, 2018, 189: 89-103.
- [9] 杨楠, 贾晓斌, 张振海, 等. 黄酮类化合物抗肿瘤活性及机制研究进展 [J]. *中国中药杂志*, 2015, 40(3): 373-381.
- [10] Sun Y Y, Wang C, Wang L G, *et al.* Arsenic trioxide induces apoptosis and the formation of reactive oxygen species in rat glioma cells [J]. *Cell Mol Biol Lett*, 2018, 23: 13.
- [11] Xia J, Li Y J, Yang Q L, *et al.* Arsenic trioxide inhibits cell growth and induces apoptosis through inactivation of notch signaling pathway in breast cancer [J]. *Int J Mol Sci*, 2012, 13(8): 9627-9641.
- [12] Eguchi R, Fujimori Y, Takeda H, *et al.* Arsenic trioxide induces apoptosis through JNK and ERK in human mesothelioma cells [J]. *J Cell Physiol*, 2011, 226(3): 762-768.
- [13] 孟艳秋, 刘立伟, 刘冬莹, 等. Survivin 抑制剂研究进展 [J]. *药学报*, 2016, 51(3): 347-355.
- [14] Chiu H W, Ho Y S, Wang Y J. Arsenic trioxide induces autophagy and apoptosis in human glioma cells *in vitro* and *in vivo* through downregulation of survivin [J]. *J Mol Med*, 2011, 89(9): 927-941.
- [15] Wang G B, Liu J H, Hu J, *et al.* Mechanism of As₂O₃ induces apoptosis of glioma U87 cells [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2017, 21(21): 4875-4881.
- [16] 孙美琪, 贺亚楠, 焦宗林, 等. Hedgehog 信号通路与肿瘤的研究新进展 [J]. *现代肿瘤医学*, 2019, 27(21): 3933-3937.
- [17] Giroux-Leprieur E, Costantini A, Ding V W, *et al.* Hedgehog signaling in lung cancer: From oncogenesis to cancer treatment resistance [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(9): E2835.
- [18] Drummond C J, Hanna J A, Garcia M R, *et al.* Hedgehog pathway drives fusion-negative rhabdomyosarcoma initiated from non-myogenic endothelial progenitors [J]. *Cancer Cell*, 2018, 33(1): 108-124.e5.
- [19] Huang D L, Wang Y T, Xu L L, *et al.* GLI2 promotes cell proliferation and migration through transcriptional activation of ARHGEF16 in human glioma cells [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2018, 37(1): 1-17.
- [20] Zeng X, Ju D W. Hedgehog signaling pathway and autophagy in cancer [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(8): E2279.
- [21] 马咏歌, 宋鹏, 叶向梅, 等. 三氧化二砷对慢性粒细胞白血病 Hedgehog 信号转导通路分子蛋白表达的影响 [J]. *中医药学报*, 2018, 46(3): 39-42.
- [22] Meister M T, Boedicker C, Graab U, *et al.* Arsenic trioxide induces Noxa-dependent apoptosis in rhabdomyosarcoma cells and synergizes with antimicrotubule drugs [J]. *Cancer Lett*, 2016, 381(2): 287-295.
- [23] Beauchamp E M, Ringer L, Bulut G, *et al.* Arsenic trioxide inhibits human cancer cell growth and tumor development in mice by blocking Hedgehog/GLI pathway [J]. *J Clin Investig*, 2011, 121(1): 148-160.
- [24] Qiu Y X, Dai Y, Zhang C, *et al.* Arsenic trioxide reverses the chemoresistance in hepatocellular carcinoma: A targeted intervention of 14-3-3 η /NF- κ B feedback loop [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2018, 37(1): 1-11.

- [25] Ghanbari A, Cheraghzadeh Z, Mahmoudi R, *et al.* GLI inhibitors overcome Erlotinib resistance in human pancreatic cancer cells by modulating E-cadherin [J]. *J Chemother*, 2019, 31(3): 141-149.
- [26] Feng T, Qiao G L, Feng L, *et al.* Stathmin is key in reversion of doxorubicin resistance by arsenic trioxide in osteosarcoma cells [J]. *Mol Med Rep*, 2014, 10(6): 2985-2992.
- [27] Jiang F, Wang X X, Liu Q Q, *et al.* Inhibition of TGF- β /SMAD3/NF- κ B signaling by microRNA-491 is involved in arsenic trioxide-induced anti-angiogenesis in hepatocellular carcinoma cells [J]. *Toxicol Lett*, 2014, 231(1): 55-61.
- [28] Jiang F, Li Y, Si L, *et al.* Interaction of EZH2 and P65 is involved in the arsenic trioxide-induced anti-angiogenesis in human triple-negative breast cancer cells [J]. *Cell Biol Toxicol*, 2019, 35(4): 361-371.
- [29] 王志清, 李新春, 梁永红. 载三氧化二砷 PEG 修饰的共聚物纳米粒的药代动力学研究 [J]. 山东医药, 2013, 53(42): 28-30.
- [30] 高会乐, 蒋新国. 肿瘤靶向递药新策略的研究进展 [J]. 药学学报, 2016, 51(2): 272-280.
- [31] Zhao S J, Chen C, Chang K, *et al.* CD44 expression level and isoform contributes to pancreatic cancer cell plasticity, invasiveness, and response to therapy [J]. *Clin Cancer Res*, 2016, 22(22): 5592-5604.
- [32] Qian C C, Wang Y, Chen Y T, *et al.* Suppression of pancreatic tumor growth by targeted arsenic delivery with anti-CD44v6 single chain antibody conjugated nanoparticles [J]. *Biomaterials*, 2013, 34(26): 6175-6184.
- [33] Song X L, You J, Shao H X, *et al.* Effects of surface modification of As₂O₃-loaded PLGA nanoparticles on its anti-liver cancer ability: An *in vitro* and *in vivo* study [J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2018, 169: 289-297.
- [34] Wang F, Li Y Y, Shen Y Q, *et al.* The functions and applications of RGD in tumor therapy and tissue engineering [J]. *Int J Mol Sci*, 2013, 14(7): 13447-13462.
- [35] Fei W D, Zhang Y, Han S P, *et al.* RGD conjugated liposome-hollow silica hybrid nanovehicles for targeted and controlled delivery of arsenic trioxide against hepatic carcinoma [J]. *Int J Pharm*, 2017, 519(1/2): 250-262.
- [36] 黄安皓, 韩顺平, 陆燕平, 等. RGDyC 与 PEG 共修饰的 PAMAM 树状大分子载三氧化二砷脑胶质瘤靶向递药系统的制备及体外评价 [J]. 中国中药杂志, 2018, 43(8): 1618-1625.
- [37] Assaraf Y G, Leamon C P, Reddy J A. The folate receptor as a rational therapeutic target for personalized cancer treatment [J]. *Drug Resist Updat*, 2014, 17(4/5/6): 89-95.
- [38] Farran B, Pavitra E, Kasa P, *et al.* Folate-targeted immunotherapies: Passive and active strategies for cancer [J]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2019, 45: 45-52.
- [39] Chen H M, Ahn R, van den Bossche J, *et al.* Folate-mediated intracellular drug delivery increases the anticancer efficacy of nanoparticulate formulation of arsenic trioxide [J]. *Mol Cancer Ther*, 2009, 8(7): 1955-1963.
- [40] Sindhwan S, Syed A M, Ngai J, *et al.* The entry of nanoparticles into solid tumours [J]. *Nat Mater*, 2020, 19(5): 566.
- [41] Danhier F. To exploit the tumor microenvironment: Since the EPR effect fails in the clinic, what is the future of nanomedicine? [J]. *J Control Rel*, 2016, 244(Pt A): 108-121.
- [42] Yang S, Gao H L. Nanoparticles for modulating tumor microenvironment to improve drug delivery and tumor therapy [J]. *Pharmacol Res*, 2017, 126: 97-108.
- [43] Ji K, Mayernik L, Moin K, *et al.* Acidosis and proteolysis in the tumor microenvironment [J]. *Cancer Metastasis Rev*, 2019, 38(1/2): 103-112.
- [44] Webb B A, Chimenti M, Jacobson M P, *et al.* Dysregulated pH: A perfect storm for cancer progression [J]. *Nat Rev Cancer*, 2011, 11(9): 671-677.
- [45] Ettlinger R, Moreno N, Volkmer D, *et al.* Zeolitic imidazolate framework-8 as pH-sensitive nanocarrier for “arsenic trioxide” drug delivery [J]. *Chemistry*, 2019, 25(57): 13189-13196.
- [46] Zhang K, Lin H Y, Mao J J, *et al.* An extracellular pH-driven targeted multifunctional manganese arsenite delivery system for tumor imaging and therapy [J]. *Biomater Sci*, 2019, 7(6): 2480-2490.
- [47] Zhao Z H, Wang X M, Zhang Z J, *et al.* Real-time monitoring of arsenic trioxide release and delivery by activatable T(1) imaging [J]. *ACS Nano*, 2015, 9(3): 2749-2759.
- [48] Boysen G. The glutathione conundrum: Stoichiometric disconnect between its formation and oxidative stress [J]. *Chem Res Toxicol*, 2017, 30(5): 1113-1116.
- [49] Zhang Q, Vakili M R, Li X F, *et al.* Polymeric micelles for GSH-triggered delivery of arsenic species to cancer cells [J]. *Biomaterials*, 2014, 35(25): 7088-7100.
- [50] 马瑞, 汤红霞, 陆燕平, 等. 氧化还原响应性二氧化硅载三氧化二砷纳米递药系统的制备及体外评价 [J]. 中草药, 2020, 51(6): 1508-1516.
- [51] Bobko A A, Eubank T D, Driesschaert B, *et al.* Interstitial inorganic phosphate as a tumor microenvironment marker for tumor progression [J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 41233.

- [52] Chen F Y, Yi J W, Gu Z J, *et al.* Inorganic phosphate-triggered release of anti-cancer arsenic trioxide from a self-delivery system: An *in vitro* and *in vivo* study [J]. *Nanoscale*, 2016, 8(11): 6094-6100.
- [53] Gu M J, Wang X, Toh T B, *et al.* Applications of stimuli-responsive nanoscale drug delivery systems in translational research [J]. *Drug Discov Today*, 2018, 23(5): 1043-1052.
- [54] Muhammad F, Zhao J Y, Wang N, *et al.* Lethal drug combination: Arsenic loaded multiple drug mesoporous silica for theranostic applications [J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2014, 123: 506-514.
- [55] Yang G F, Li X H, Zhao Z, *et al.* Preparation, characterization, *in vivo* and *in vitro* studies of arsenic trioxide Mg-Fe ferrite magnetic nanoparticles [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2009, 30(12): 1688-1693.
- [56] Chi X Q, Zhang R Y, Zhao T, *et al.* Targeted arsenite-loaded magnetic multifunctional nanoparticles for treatment of hepatocellular carcinoma [J]. *Nanotechnology*, 2019, 30(17): 175101.
- [57] Dicheva B M, Koning G A. Targeted thermosensitive liposomes: An attractive novel approach for increased drug delivery to solid tumors [J]. *Expert Opin Drug Deliv*, 2014, 11(1): 83-100.
- [58] Gong C, Qi T, Wei X, *et al.* Thermosensitive polymeric hydrogels as drug delivery systems [J]. *Curr Med Chem*, 2013, 20(1): 79-94.
- [59] Mura S, Nicolas J, Couvreur P. Stimuli-responsive nanocarriers for drug delivery [J]. *Nat Mater*, 2013, 12(11): 991-1003.
- [60] Winter N D, Murphy R K J, O'Halloran T V, *et al.* Development and modeling of arsenic-trioxide-loaded thermosensitive liposomes for anticancer drug delivery [J]. *J Liposome Res*, 2011, 21(2): 106-115.
- [61] Wadajkar A S, Dancy J G, Hersh D S, *et al.* Tumor-targeted nanotherapeutics: Overcoming treatment barriers for glioblastoma [J]. *Wiley Interdiscip Rev: Nanomed Nanobiotechnol*, 2017, doi:10.1002/wnan.1439.
- [62] Tao J Y, Fei W D, Tang H X, *et al.* Angiopep-2-conjugated "core-shell" hybrid nanovehicles for targeted and pH-triggered delivery of arsenic trioxide into glioma [J]. *Mol Pharm*, 2019, 16(2): 786-797.