

四价铂前药研究现状与进展

朱杰, 张宸, 吴建兵, 张奕华, 黄张健*

(中国药科大学新药研究中心, 南京 210009)

摘要 以顺铂为代表的二价铂[Pt(II)]类药物是现在活跃于一线的抗肿瘤药物, 但Pt(II)类药物存在不良反应大、生物利用度不佳以及耐药性等问题。四价铂[Pt(IV)]络合物是Pt(II)在轴向位置进行不同取代的衍生物, 在肿瘤还原性物质的作用下Pt(IV)可被还原为Pt(II), 因此Pt(IV)可作为Pt(II)的前药。Pt(IV)中轴向取代基的引入可改善Pt(II)类药物的药代动力学性质、选择性和生物活性, 以及实现除DNA交联之外的附加细胞毒机制, 可一定程度上克服Pt(II)类药物的耐药性。本文归纳总结了铂类药物的耐药机制, 包括铂转运增加、解毒能力增加、自噬增强和DNA修复增强等方面; 综述了Pt(IV)前药的构效关系、主要类型及研究进展, 并提出了克服铂类药物耐药性的可能途径。

关键词 四价铂前药; 顺铂; 抗肿瘤; 耐药性

中图分类号 R979.1 文献标志码 A 文章编号 1000-5048(2022)05-0613-10

doi:10.11665/j.issn.1000-5048.20220512

引用本文 朱杰, 张宸, 吴建兵, 等. 四价铂前药研究现状与进展[J]. 中国药科大学学报, 2022, 53(5): 613–622.

Cite this article as: ZHU Jie, ZHANG Chen, WU Jianbing, et al. Status and progress of tetravalent platinum prodrugs [J]. J China Pharm Univ, 2022, 53(5): 613–622.

Status and progress of tetravalent platinum prodrugs

ZHU Jie, ZHANG Chen, WU Jianbing, ZHANG Yihua, HUANG Zhangjian*

Center of Drug Discovery, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China

Abstract Bivalent platinum drugs [Pt(II)] represented by cisplatin are the first-line drugs in clinical application, but they have defects such as severe side-effects, poor bioavailability and drug resistance. Tetravalent platinum [Pt(IV)] complexes, derivatives of Pt(II) with different substitutions in axial positions, can be reduced to Pt(II) under the action of reductants in tumor, and can therefore act as a prodrug of Pt(II). Axial substituents can improve platinum drugs' pharmacokinetics, selectivity and bioactivity, as well as achieve anti-tumor effect by additional cytotoxic mechanisms other than DNA damage, which can overcome the drug resistance to Pt(II). This review outlines the resistance mechanisms of platinum drugs, including platinum transport, detoxification, autophagy, and DNA repair, etc. It also summarizes the structure-activity relationship, main types and advances of tetravalent platinum prodrugs, as well as possible approach to solve platinum drug resistance.

Key words platinum (IV) prodrugs; cisplatin; anti-tumor; drug resistance

This study was supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 81822041, No. 21977116, No. 82173681)

20世纪60年代顺铂抗肿瘤活性的发现成为无机化学领域的一个里程碑^[1]。尽管多年来治疗癌症的策略已从细胞毒性转变为靶向治疗, 再到免疫学治疗, 但铂类药物仍在癌症患者治疗方案中占据约一半的数量^[2]。目前临床批准上市的铂类

药物都是方形平面二价铂[Pt(II)]类药物, 它们有两个处于顺式方向的惰性氨碱供体和不稳定的氯化物或氧供体^[3]。顺铂(cisplatin)、卡铂(carboplatin)和奥沙利铂(oxaliplatin)是经美国FDA批准, 在世界范围内得到广泛使用的铂类药物。日本批

收稿日期 2022-02-12 *通信作者 Tel: 025-83271072 E-mail: zhangjianhuang@cpu.edu.cn

基金项目 国家自然科学基金资助项目(No. 81822041, No. 21977116, No. 82173681)

准了两种铂类药物,其中奈达铂(nedaplatin)用于治疗非小细胞肺癌(NSCLC)、小细胞肺癌(SCLC)、食管癌和头颈癌^[4],米铂(miriplatin)用于治疗肝细

胞癌。此外,韩国批准了庚铂(heptaplatin)治疗胃癌,中国批准了洛巴铂(lobaplatin)用于治疗髓性白血病(CML)、SCLC和转移性乳腺癌^[5](图1)。

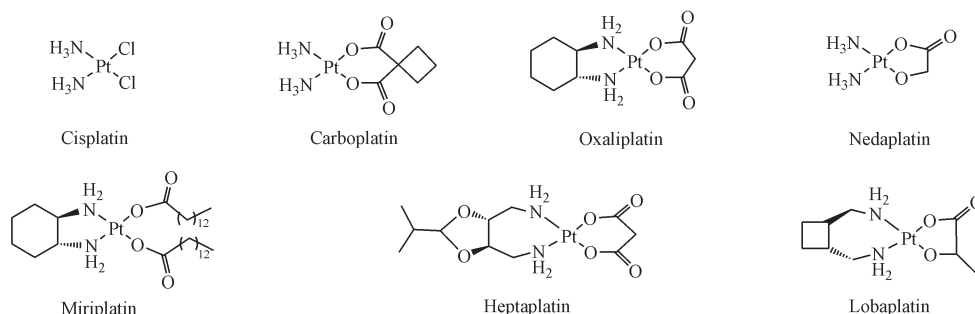


Figure 1 Structures of platinum drugs

顺铂主要通过主动运输(通过铜转运蛋白ctr1)或被动转运进入细胞后靶向核DNA^[6-7]。顺铂易水解并生成更具反应性的Pt(II)水络合物,后者更容易与DNA交联从而抑制转录^[8]。顺铂与细胞中其他活性物质尤其是谷胱甘肽、蛋白质中的半胱氨酸以及蛋氨酸的巯基也可能会发生结合^[9],尽管其研究不如铂-核碱基加合物广泛,但有助于理解顺铂的全身毒性和耐药性的产生。

顺铂虽使用至今,但也存在诸多缺点,比如顺铂水解产生的活性Pt(II)水络合物与蛋白质反应,可能会导致生物利用度不佳、难以穿过细胞膜、出现不良反应乃至失活等问题。此外,如何将顺铂或者铂类药物靶向递送至患者的肿瘤组织仍是亟待解决的问题。此外,顺铂最大缺点是其耐药性,耐药性取决于癌症的类型,例如睾丸癌、卵巢癌、头颈癌和小细胞肺癌对顺铂较为敏感,而非小细胞肺癌和结直肠癌则较容易对顺铂产生耐药,耐药性产生后顺铂的治疗效果急速下降^[10]。

四价铂[Pt(IV)]前药是解决这些问题的有效方法之一^[11]。八面体低自旋5d⁶ Pt(IV)络合物相比平面5d⁸ Pt(II)络合物在动力学上更加惰性,这种差异可使Pt(IV)化合物作为前药递送,并且在到达目标肿瘤部位之前具有较少的副反应。与Pt(II)相比,Pt(IV)的轴向取代基的引入可通过调节还原电位以及亲脂性来改善分子的药代动力学性质^[12]、生物活性^[13]和靶向能力^[14]。本文首先归纳了铂类药物的耐药机制,综述了Pt(IV)前药的构效关系、主要类型及研究进展,并提出了解决铂类药物耐药性的可能途径。

1 顺铂的耐药机制

1.1 涉及铂流入/流出的转运蛋白

1.1.1 溶质载体超家族(solute carrier superfamily, SLCs)铂类药物在细胞内的积累是细胞毒性的必要保证,因此铂类药物产生耐药性的主要原因之一是减少药物内流或增加药物外排。SLCs包含300多个成员和65个亚家族^[15],如有机阴离子转运多肽(organic anion transporting polypeptides, OATP)、有机阴离子转运蛋白(organic anion transporter, OAT)和有机阳离子转运蛋白(organic cation transporter, OCT)。正常情况下,SLCs在全身表达,通过调节内源性物质和外源性物质的运输来维持细胞内稳态,顺铂和奥沙利铂都是SLCs蛋白的底物^[16]。Gao等^[17]报道,奥美拉唑可降低OCT2的蛋白质水平,从而减少顺铂在细胞中的蓄积。Aguilar等^[18]发现参与奥沙利铂细胞摄取的主要转运蛋白有机阳离子转运蛋白2(OCT2)在肾癌细胞(renal cell carcinoma, RCC)中受到转录抑制。与非肿瘤组织相比,RCC细胞中OCT2启动子中胞嘧啶磷酸鸟嘌呤位点(CpG位点)的甲基化增加,这与OCT2的转录抑制相关。研究还发现,去甲基化试剂地西他滨可有效逆转OCT2启动子中CpG位点的高甲基化,因此,地西他滨和奥沙利铂的联合治疗是一种很有希望的降低耐药产生的治疗方案。

1.1.2 铜伴侣蛋白(atx1、atp7a and atp7b) 铜(Cu)是细胞增殖和血管生成所必需的元素,其转运需要高度特异性的蛋白质-蛋白质相互作用。在人体内,抗氧化剂1铜伴侣蛋白(antioxidant 1 copper chaperone, atx1)介导Cu(I)向P型ATP酶

atp7a 和 atp7b 的转运,后两种蛋白负责铜转运和过量的铜外流。Lasorsa 等^[19]发现顺铂和奥沙利铂类似物可以特异性结合到异二聚体复合物 atox1-铜-mnk1(mnk1 是 atp7a 的第一个可溶性结构域),进而产生一种动力学稳定的加合物,其结构已进行溶液 NMR 和 X 射线晶体学表征。这些结果表明,Pt(II)类药物可以通过 atox1 和 atp7a 实现转运甚至外排,因此对铜伴侣蛋白的抑制是解决铂类药物耐药性的可能途径。

1.2 解毒系统

1.2.1 谷胱甘肽 谷胱甘肽(glutathione, GSH)在细胞氧化还原状态中起着至关重要的作用,它可以清除自由基,保护细胞免受外源性物质的侵害并维持多种蛋白质的巯基处于还原状态。GSH 的活性巯基基团对铂具有很高的亲和力,从而使 GSH 成为一个简单有效的铂清除剂^[20],减少了 Pt(II)类药物与肿瘤 DNA 的结合。因此降低癌细胞内 GSH 含量能逆转耐药性,进而提高 Pt(II)类药物的抗肿瘤效率^[21]。

1.2.2 金属硫蛋白 铂类药物也通过与金属硫蛋白(metallthioneins, MTs)螯合而失活。MTs 是含有 1/3 半胱氨酸残基的低相对分子质量金属结合蛋白,这使得 MTs 很容易成为铂整合的靶点^[22]。在卵巢癌细胞中,金属硫蛋白的含量降低能显著逆转卵巢癌细胞顺铂耐药性^[23]。

1.3 自噬

自噬(autophagy)是一种将受损的细胞器、错误折叠的蛋白及其他大分子物质等运送至溶酶体降解并再利用的过程。自噬是广泛存在于真核细胞的现象,并且可分为巨自噬、微自噬和分子伴侣介导的自噬 3 大类。这是一个受到精密调控的步骤,此步骤是细胞生长、发育与稳态中的常规步骤,帮助细胞产物在合成、降解以及接下来的循环中保持一个平衡状态。铂类药物治疗后,在铂耐药细胞中观察到药物诱导的自噬增加,同时基础自噬也有增加^[17]。使用 3-甲基腺嘌呤或氯喹抑制早期/晚期自噬都能增强铂介导的细胞毒性^[24]。

1.4 缺氧微环境

最近的研究发现硫氧还原蛋白(thioredoxin-1, Trx-1)是缺氧诱导因子 1 α (hypoxia-inducible factor 1-alpha, HIF1 α)的上游调节剂。Trx-1 通过增强与 Ref-1 的相互作用来增加 HIF1 α 的表达和结合能

力,抑制 Trx-1/Ref-1 可以加强氧化磷酸化,并逆转对顺铂的耐药性^[25]。除了 HIF1 α ,缺氧诱导因子 2 α (hypoxia-inducible factor 2-alpha, HIF2 α)也与铂耐药相关。下调 HIF2 α 可显著提高人胶质瘤细胞 U251 和 U87 以及非小细胞肺癌细胞 A549 对顺铂的敏感性。

1.5 DNA 修复

铂原子能与嘌呤碱基的 N7 位共价结合形成 Pt-DNA 加合物,导致 DNA 链内或链间交联,其中 1,2-链内交联占 90% 以上。众所周知,与 DNA 形成加合物是铂类药物细胞毒性的决定性步骤,它会导致复制和转录抑制以及 DNA 双链断裂(double strand breaks, DSB)。随着细胞启动 DNA 修复,增加的 DNA 修复过程被认为是细胞产生铂耐药重要的原因之一,因此 DNA 修复抑制剂与铂类药物的联用能显著减少铂类药物耐药的发生。

2 Pt(IV)的结构、还原性及构效关系

2.1 Pt(II)和 Pt(IV)的配位化学

顺铂是一种方形平面 Pt(II)络合物,具有两个顺式胺配体和两个氯代配体。Pt-N 键在热力学上是稳定的,而 Pt-Cl 键是半不稳定的。因此,该氯代配体可以被水(H₂O)或被其他亲核试剂缓慢取代^[26]。与方形平面 Pt(II)不同, Pt(IV)络合物则是八面体几何形状,更难进行配位取代反应(图 2)。Pt(IV)的这种性质从某些方面来说是有利的,因为它限制了 Pt(IV)前药与体内生物分子在到达其作用靶点肿瘤之前的相互作用,从而减少了相关不良反应。此外,两个轴向配体可进一步增强 Pt(IV)前药的多样性。例如,可以利用轴向配体对分子进行微调以增加细胞摄取或改善肿瘤细胞的靶向性,或者在轴向配体中引入具有抗肿瘤活性的分子从而增强对肿瘤的杀伤力。值得一提的是,

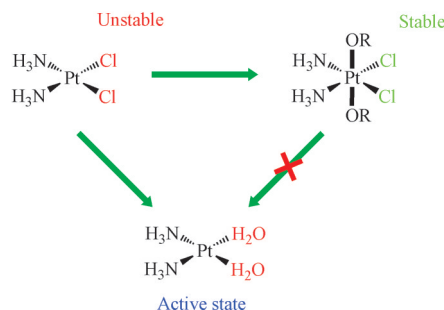


Figure 2 Coordination chemistry of platinum (II) and platinum (IV)

轴向配体也可以设计成包括纳米颗粒在内的载体系统,已有很多文献在这方面进行了总结^[27-28]。

2.2 体内可使Pt(IV)还原的还原性物质

尽管细胞中有许多还原剂,但通常认为抗坏血酸和GSH是还原Pt(IV)前药的细胞还原剂。抗坏血酸是一种双电子还原剂,具有还原水溶液中的Pt(IV)配合物的能力。抗坏血酸在血浆中的浓度较低(50 ~ 150 μmol/L),在中性粒细胞的细胞质中浓度较高(约1 mmol/L)^[5]。癌细胞中抗坏血酸的浓度与细胞环境中的抗坏血酸浓度有较大的关联,当细胞环境中存在充足的抗坏血酸时肿瘤细胞的抗坏血酸浓度可达0.5 ~ 18 mmol/L^[29]。GSH作为一种电子还原剂在血液中浓度约为900 μmol/L,正常细胞内浓度约为2 mmol/L^[30]。不同肿瘤细胞中GSH浓度不同,其浓度范围约为0.5 ~ 3 mmol/L^[31],GSH水平升高与肿瘤进展和对化疗药物的耐药性增加有关^[32]。

2.3 Pt(IV)还原的构效关系

Pt(IV)络合物的抗癌活性通常归因于它们还原为Pt(II)产物。因此,Pt(IV)到Pt(II)的转化对于Pt(IV)络合物的生物学活性来说是十分重要的。细胞内还原剂(例如GSH和抗坏血酸),通常作为还原性物质促进Pt(IV)的还原。Pt(IV)脱除两个轴向配体还原为Pt(II)是不可逆的过程,Pt(IV)络合物的还原速率取决于轴向配体和平面配体的性质^[33]。

首先,轴向配体还原速率由小到大依次为:OH < OCOCH₃ < Cl < OCOCF₃(表1),表明吸电子能力越强还原速率越快^[33]。

Table 1 Reduction potential and reduction rate of various axial ligand Pt(IV) complexes (1 mmol/L in 0.1 mol/L KCl, pH = 7)

Compd.*	Reduction potential/mV	k
[Pt(en)(OH) ₂ Cl ₂]	-884	0
[Pt(en)(OCOCH ₃) ₂ Cl ₂]	-546	0.54
[Pt(en)Cl ₄]	-160	164
[Pt(en)(OCOCF ₃) ₂ Cl ₂]	0	209

* en = ethylenediamine; k: Reduction rate constant

其次,平面配体的大小影响Pt(IV)络合物的还原速率,平面配体越大则还原速率越快。例如,抗坏血酸不会还原[Pt(en)₂(OH)₂Cl₂],但很容易还原[Pt(ipa)₂(OH)₂Cl₂](ipa = 异丙胺)配体,原因是

异丙胺的基团更大。需要指出的是,具有更快还原速率的化合物有着更高的细胞毒性活性,但可能也会带来了较差的代谢表现。

3 Pt(IV)络合物的类型

3.1 传统Pt(IV)前药

传统Pt(IV)前药的轴向配体一般无细胞毒性,主要注重于改善Pt(IV)前药的摄取、代谢及生物分布。奥马铂(ormaplatin)是第一个开展临床试验Pt(IV)前药(图3)。奥马铂在未稀释的大鼠血浆中(*t*_{1/2} = 3 s)被迅速还原成(1,2-二氨基环己烷)二氯化铂(II)^[34]。奥马铂在细胞和动物模型中均显示出对顺铂耐药卵巢癌细胞的增殖抑制活性^[35],并被美国国家癌症研究所(NCI)和普强公司(Upjohn)委托进行临床试验,在26名患者中进行了I期临床试验,给药剂量为:静脉注射4.4 ~ 60.8 mg/m²。但奥马铂因为存在严重和不可预测的神经毒性,未能进行后续的临床试验^[36]。

另一个进入临床研究的Pt(IV)配合物是异丙铂(iproplatin),也称为JM9或CHIP(图3)。异丙铂比奥马铂更不容易被生物还原剂还原和失活,这可能是因为存在羟基轴向配体,这种络合物的缓慢失活使其在全身的分布更广泛。异丙铂的另一个优点是其非常高的水溶性。异丙铂已经完成了38项临床试验,从I期到III期不等,其中许多是由Johnson Matthey和Bristol-Myers Squibb委托。一项涉及儿童的I期临床研究显示,剂量限制性毒性作用是骨髓抑制^[37]。II期临床试验在不同癌症类型的患者中进行^[38-39]。另外对卵巢癌患者进行了III期临床试验^[40]。其中60名国际妇产科协会(international federation of gynecology and obstetrics, FIGO)分期为IIb、IIc、III和IV期的卵巢癌患者进行了组别1:环磷酰胺600 mg/m²与顺铂100 mg/m²联合给药;组别2:异丙铂240 mg/m²单独给药;组别3:卡铂300 mg/m²单独给药的随机III期。这些研究的最终结论是:异丙铂的总体疗效没有超过顺铂或卡铂。

LA-12是一种金刚烷胺铂衍生物,相比顺铂,LA-12的氨基被金刚胺取代,轴向配体为乙酸根(图3)。该药物的高活性主要归因于其高脂溶性,而其高脂溶性主要归因于其配体金刚烷胺。金刚烷胺在化学结构上与批准的阿尔茨海默病药物美

金刚相似,并且金刚烷胺还是美国 FDA 批准的抗病毒药物^[41]。LA-12 进行了 I 期临床试验,研究人员在动物试验阶段发现视黄醇结合蛋白 4(retinol-binding protein, RBP4)水平与实验大鼠的 LA-12 水平相关,并且在参与 I 期临床试验的患者中观察到类似的现象。上述研究结果表明:除了通过铂离子与 DNA 的结合来杀死癌细胞之外,LA-12 似乎还通过影响 RBP4 水平来实现肿瘤抑制^[41]。

上述进入临床的 3 个 Pt(IV) 前药均没有进入到上市阶段,原因是高毒性以及疗效未超过顺铂。传统的 Pt(IV) 前药只通过平面或轴向配体来改善其水溶性或者脂溶性,依旧是主要依靠铂离子与 DNA 的结合来实现对肿瘤细胞的抑制,在安全性和疗效上均有待实现突破。

3.2 增强铂功效的 Pt(IV) 前药

近年来,具有新颖结构的新一代 Pt(IV) 前药

和不同作用机制的 Pt(IV) 前药进展迅速,受到了众多研究者的青睐。

3.2.1 脂肪酸修饰提高 Pt(IV) 前药的半衰期 Zheng 等^[42]合成了一系列不同长度脂肪酸修饰的 Pt(IV) 前药,脂肪酸的引入可增强前药与人血清白蛋白(human serum albumin, HSA)的相互作用,有利于提高前药在体内的半衰期($t_{1/2}$),其中化合物 **1**(图 4)在人血浆中的 $t_{1/2}$ 为 6.8 h,明显长于顺铂($t_{1/2}$ 约为 20 min)或赛特铂(satraplatin)($t_{1/2}$ 约为 6 min)。这些化合物在还原条件下失去轴向配体,还原成经典 Pt(II) 类药物发挥作用。令人满意的稳定性,加上已建立的 HSA 的非免疫原性、生物相容性和增强的在肿瘤细胞的积聚性,使得化合物 **1** 表现出优异的体外抗癌活性,在肺癌和卵巢癌细胞系中的活性比顺铂高 9 ~ 70 倍。



Figure 3 Structures of ormaplatin, iproplatin and LA-12

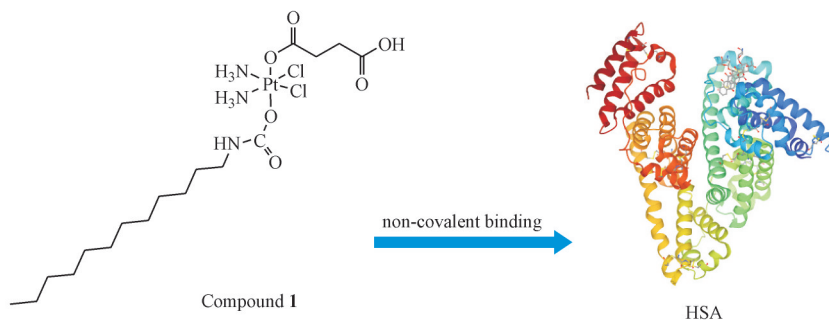


Figure 4 Pt(IV) prodrug designed to bind non-covalently to HSA

3.2.2 偶联物提高细胞对前药的吸收 研究人员设计了许多 Pt(IV) 类化合物,以最大限度地提高细胞对前药的吸收,进而导致 DNA 铂化的增加,提高细胞毒性。增强肿瘤细胞中药物的积累、减少顺铂失活的一个重要方法是促进 Pt(IV) 前药摄取并减少外排。耐药癌细胞系与高 GSH 水平有关,GSH 与顺铂共价结合,结合物从细胞中排出。谷胱甘肽 S-转移酶(glutathione S-transferase, GST)催化还原型谷胱甘肽与外源性物质的结合,因此被认为与顺铂耐药有关。Zanellato 等^[43]设计合成

了一类双作用前药 ethacraplatin,它可在细胞内释放顺铂和 GST 抑制剂依他尼酸(ethacrynic acid)(图 5)。Ethacraplatin 表现出比游离依他尼酸更高水平的 GST 抑制活性,在顺铂的肿瘤细胞积累和抗肿瘤活性方面都有非常显著的改善。

3.2.3 加速 DNA 铂化的 Pt(IV) 前药 组蛋白去乙酰化酶(histone deacetylase, HDAC)是一种锌金属酶,可从组蛋白的赖氨酸残基中去除乙酰基,从而使 DNA 更紧密地包裹在组蛋白周围,形成封闭、不易接近的染色质形式。抑制 HDAC 可促进染色质

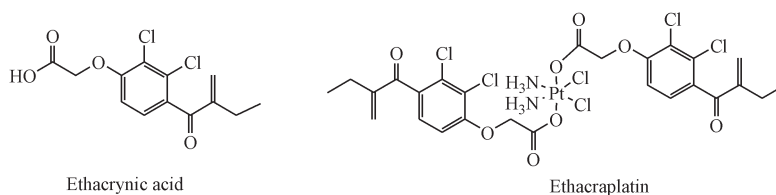


Figure 5 Structures of ethacrynic acid and ethacraplatin

的开放形式,从而使核小体 DNA 更容易接近。HDAC 抑制剂(HDACi)与顺铂联合给药可产生开放结构 DNA,促进和增强 DNA 铂化,从而提高细胞毒性。Kasparkova 等^[44]将 HDAC 抑制剂辛二酰双异羟肟酸(化合物 2)与具有两个顺式叠氮基团和联吡啶的光活化铂络合物在轴向位置结合得到 HDACi-Pt(化合物 3)(图 6)。当在黑暗中与 A2780

细胞一起孵育时,观察到 HDAC 活性降低;用 UVA 光照射,进一步抑制了 HDAC 的活性。A2780 细胞活性实验进一步证实,优选化合物 HDACi-Pt 在黑暗环境中对 A2780 的 IC_{50} 为 $31 \mu\text{mol/L}$,在紫外光照射下 IC_{50} 变为 $3.3 \mu\text{mol/L}$,而同样情况下顺铂的 IC_{50} 为 $18 \mu\text{mol/L}$ 。

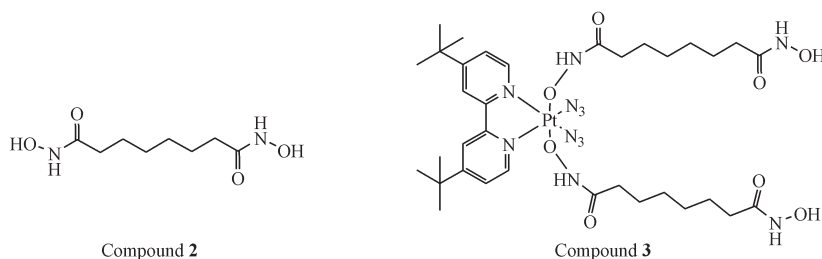


Figure 6 Structures of compound 2 and 3

3.2.4 阻止 DNA 修复的 Pt(IV)前药 顺铂可以与同一 DNA 链上相邻的两个鸟嘌呤结合,从而将铂嵌合到 DNA 中。DNA 损伤修复系统检测到畸变,便通过核苷酸切除修复(nucleotide excision repair, NER)从 DNA 中去除铂。许多对顺铂耐药的癌细胞系具有比顺铂敏感癌细胞系更有效的 DNA 修复系统^[45]。Wang 等^[46]将核苷酸切除修复抑制剂(NERi)与 Pt(IV)络合得到双作用前药 NERi-Pt(IV)(图 7)。NERi-Pt(IV)有效地降低了 NER 的活性,对顺铂耐药细胞 A2780cisR 的活性是顺铂的 34 倍,对 A549cisR 的活性是顺铂的 88 倍。

酪蛋白激酶 II(casein kinase II, CK2)在许多肿瘤的发生、发展和转移中起重要作用,它通过调节 β -连环蛋白(β -catenin)的表达来调节 Wnt 信号传导。有文献表明 CK2 在修复 DNA 的单链和双链断裂中起关键作用^[47]。因此可以通过抑制 CK2 介导的 DNA 损伤修复来逆转顺铂耐药性,从而实现对顺铂耐药癌细胞的抑制。Chen 等^[48]通过靶向 CK2 阻碍 DNA 的自我修复,设计并合成了一种 Pt(IV)前药 CX-Pt(图 7),它含有 CX-4945(一种 CK2 抑制

剂)作为轴向配体。在顺铂耐药细胞 A2780/cisR 中,顺铂的 IC_{50} 为 $32.65 \mu\text{mol/L}$,而 CX-Pt 的 IC_{50} 为 $2.92 \mu\text{mol/L}$ 。进一步的体内实验表明,与顺铂相比, CX-Pt 显示出较高的肿瘤抑制率,在顺铂耐药细胞 A2780 小鼠移植瘤模型中,顺铂的抑瘤率为 26.71%,而 CX-Pt 的抑瘤率达到了 58.28%。

3.3 具有双重作用的 Pt(IV)前药

由于癌细胞的新陈代谢改变,即使在有氧条件下也偏向于进入无氧酵解通路。

二氯乙酸(dichloroacetic acid, DCA)通过抑制丙酮酸脱氢酶激酶(pyruvate dehydrogenase kinases, PDK),从而提高丙酮酸脱氢酶的活性,使得丙酮酸变成乙酰辅酶 A 从而进入三羧酸循环,抑制了无氧酵解通路进而促进癌细胞凋亡。Xue 等^[49]制备了 mitaplatin,这是一种带有两个 DCA 作为轴向配体的 Pt(IV)衍生物(图 7)。细胞内释放 DCA 和顺铂会同时抑制无氧酵解通路和损伤 DNA。在对顺铂耐药人类表皮样腺癌和肝癌细胞进行测试时, mitaplatin 在两种细胞系中都能克服顺铂耐药性,发挥出优秀的抗肿瘤效果。顺铂对耐顺铂肝

癌细胞 BEL 7404-CP 20 的 IC_{50} 为 $169.56 \mu\text{mol/L}$, 而 mitaplatin 的 IC_{50} 为 $41.71 \mu\text{mol/L}$, 顺铂对耐顺铂人类表皮样腺癌细胞 KB-CP 20 的 IC_{50} 为 $123.78 \mu\text{mol/L}$, 而 mitaplatin 的 IC_{50} 为 $50.35 \mu\text{mol/L}$ 。

环氧合酶(cyclooxygenase, COX)是一种参与肿瘤发生的酶,与肿瘤细胞对铂类药物的耐药性有关。顺铂与 COX 抑制剂(吡罗美辛、布洛芬)在

联合治疗中观察到优异的协同作用。Neumann 等^[50]制备了含 COX 抑制剂的 Pt(IV)前药 COX-Pt(图 7), 确保两种药物协同转运到细胞中, 在随后的细胞内裂解中实现双重作用。COX 抑制剂-Pt(IV)偶联物显示出高度增加的细胞毒活性, 并能够克服顺铂相关的耐药性。

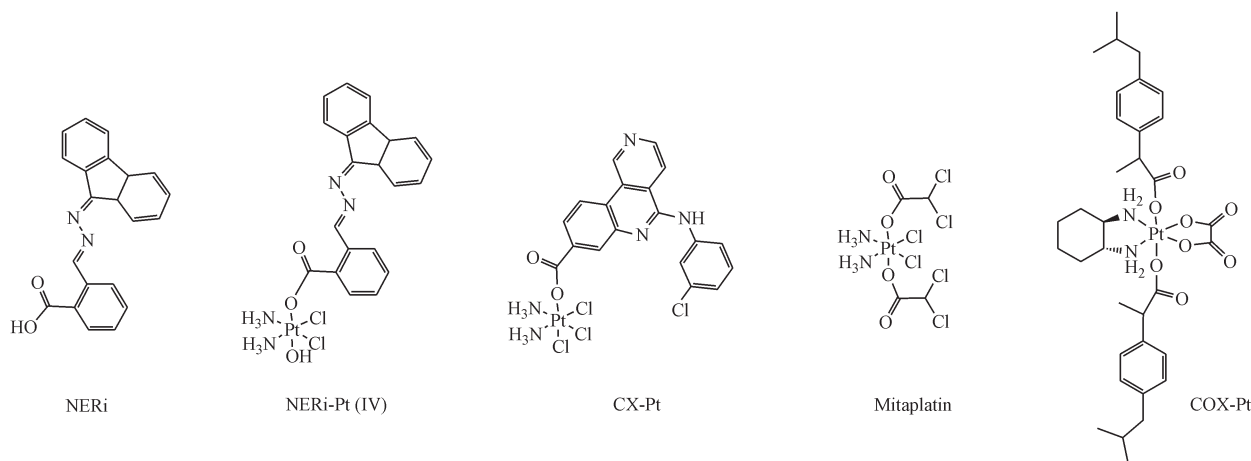


Figure 7 Structures of NERi, NERi-Pt(IV), CX-Pt, mitaplatin and COX-Pt

3.4 一体化生物正交 Pt(IV)前药

Oliveira 等^[51]发现了一种 Pt(II)催化的键断裂反应,该反应使用铂配合物(K_2PtCl_4)或顺铂进行药物催化。反应成功的关键是水促进的活化过程,它触发铂的反应性,导致戊炔酰氨基和炔丙氨基的断裂在水体系中迅速发生。在细胞中利用细胞毒性药物氟尿嘧啶(5-fluorouracil, 5-FU)的

N-炔丙基衍生物和微管蛋白抑制剂 monomethyl auristatin E(MMAE)的戊炔酰胺衍生物进行了概念验证(图 8)。另外该研究在结直肠癌斑马鱼异种移植模型中进行了顺铂催化的 5-FU 炔丙基衍生物的前药激活实验,揭示了一种新的基于 Pt(II)的可裂解反应,将铂配合物应用到催化和癌症治疗领域。

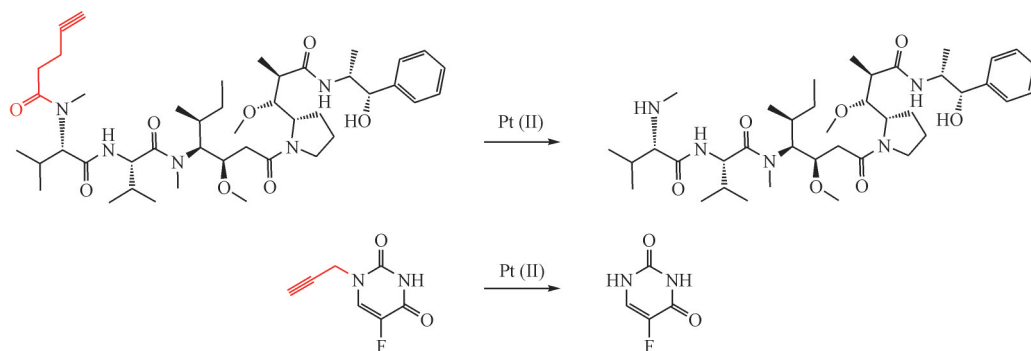


Figure 8 Platinum-triggered bond-cleavage of pentynoyl amide and *N*-propargyls

与此同时,本课题组也发现了 Pt(II)触发的丙炔基生物正交裂解反应,有意思的是同时还发现 Pt(IV)无法催化此生物正交反应。基于此提出了一种一体化生物正交 Pt(IV)前药的策略,并设计了整合型前药化合物 4,其轴向配体

为 O^2 -丙炔基保护的偶氮鎓二醇盐(一种 NO 供体)。优选化合物可被人卵巢癌细胞中的还原性物质特异性还原,释放顺铂,继而催化 O^2 -丙炔基断裂,释放大量 NO,从而产生协同有效的体内肿瘤抑制活性(图 9)^[52]。一体化前药策略

使该前药同时具有催化活性和抗肿瘤活性,在体内肿瘤细胞中实现可控的药物活化作用和杀伤

作用,给生物正交化学和铂类药物的应用提供了崭新的思路。

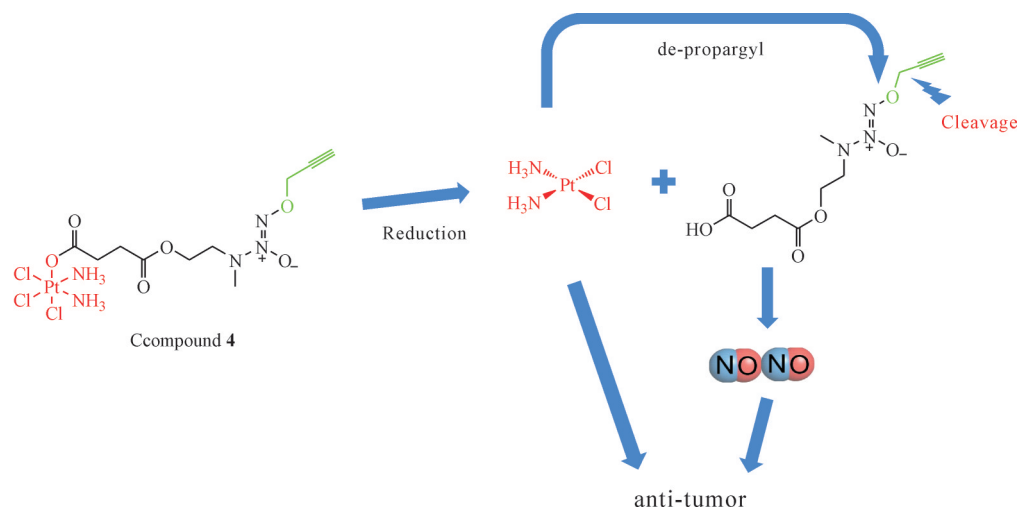


Figure 9 Integrated bioorthogonal prodrugs

4 总结与展望

到目前为止,顺铂、卡铂和奥沙利铂等铂类药物已经在临床使用多年并取得了较好的肿瘤治疗效果。但是在长期服用铂类药物的过程中,耐药性是铂类药物面临的主要难题。在对铂类药物耐药机制的研究中发现,其耐药机制主要分为铂的转运增加和解毒能力增加,其中 Pt 转运蛋白和 DNA 损伤修复受到了最多的关注。科研工作者对铂类药物耐药性的解决做出了积极探索, Pt(IV) 前药有望成为铂类药物的一种新选择,新兴的 Pt(IV) 前药能够实现双重乃至三重细胞毒作用,无论是抑制 DNA 修复的 Pt(IV) 前药,或者是抑制 PDK、COX 等与肿瘤密切相关蛋白的 Pt(IV) 前药,这些工作都对克服铂类药物耐药性进行了积极的探索。虽然目前尚未有 Pt(IV) 类药物上市,但相关研究正不断地取得进展,不仅提高了 Pt(IV) 前药的稳定性,改善了体内代谢,而且部分 Pt(IV) 药物已具有较高的成药性。另外,笔者所在课题组发现铂不仅可以作为抗肿瘤药, Pt(II) 还可以在体内催化生物正交反应的发生,而 Pt(IV) 则不能,并基于此提出了一体化生物正交 Pt(IV) 前药的概念,丰富了 Pt(IV) 类药物的应用范围,为克服铂类药物的耐药性提供了新的思路。

References

- [1] Rosenberg B, VanCamp L, Trosko JE, *et al.* Platinum compounds: a new class of potent antitumour agents [J]. *Nature*, 1969, **222**(5191):385-386.
- [2] Wheate NJ, Walker S, Craig GE, *et al.* The status of platinum anticancer drugs in the clinic and in clinical trials [J]. *Dalton Trans*, 2010, **39**(35):8113-8127.
- [3] Cleare MJ, Hoeschele JD. Studies on the antitumor activity of group VIII transition metal complexes. Part I. Platinum (II) complexes [J]. *Bioinorg Chem*, 1973, **2**(3):187-210.
- [4] Shimada M, Itamochi H, Kigawa J. Nedaplatin: a cisplatin derivative in cancer chemotherapy [J]. *Cancer Manag Res*, 2013, **5**: 67-76.
- [5] McKeage MJ. Lobaplatin: a new antitumour platinum drug [J]. *Expert Opin Investig Drugs*, 2001, **10**(1):119-128.
- [6] Gately D, Howell S. Cellular accumulation of the anticancer agent cisplatin: a review [J]. *Br J Cancer*, 1993, **67**(6):1171-1176.
- [7] Safaei R, Katano K, Samimi G, *et al.* Cross-resistance to cisplatin in cells with acquired resistance to copper [J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2004, **53**(3):239-246.
- [8] Todd RC, Lippard SJ. Inhibition of transcription by platinum antitumor compounds [J]. *Metallomics*, 2009, **1**(4):280-291.
- [9] Zimmermann T, Zeizinger M, Burda JV. Cisplatin interaction with cysteine and methionine, a theoretical DFT study [J]. *J Inorg Biochem*, 2005, **99**(11):2184-2196.
- [10] Fuentres MA, Alonso C, Pérez JM. Biochemical modulation of cisplatin mechanisms of action: enhancement of antitumor activity and circumvention of drug resistance [J]. *Chem Rev*, 2003,

- 103**(3):645-662.
- [11] Ginson D. Platinum (iv) anticancer prodrugs: hypotheses and facts[J]. *Dalton Trans*, 2016, **45**(33): 12983-12991.
- [12] Pendyala L, Krishnan BS, Walsh JR, et al. Studies on the human metabolism of iproplatin [J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 1989, **25**(1): 10-14.
- [13] Awuah SG, Zheng YR, Bruno PM, et al. A Pt (IV) pro-drug preferentially targets indoleamine-2, 3-dioxygenase, providing enhanced ovarian cancer immuno-chemotherapy [J]. *J Am Chem Soc*, 2015, **137**(47): 14854-14857.
- [14] Gandioso A, Shaili E, Massaguer A, et al. An integrin-targeted photoactivatable Pt(IV) complex as a selective anticancer pro-drug: synthesis and photoactivation studies[J]. *Chem Commun (Camb)*, 2015, **51**(44): 9169-9172.
- [15] Perland E, Fredriksson R. Classification systems of secondary active transporters [J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2017, **38**(3): 305-315.
- [16] Yonezawa A, Masuda S, Yokoo S, et al. Cisplatin and oxaliplatin, but not carboplatin and nedaplatin, are substrates for human organic cation transporters (SLC22A1-3 and multidrug and toxin extrusion family) [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2006, **319**(2): 879-886.
- [17] Gao J, Wang WY. Knockdown of galectin-1 facilitated cisplatin sensitivity by inhibiting autophagy in neuroblastoma cells [J]. *Chem Biol Interact*, 2019, **297**: 50-56.
- [18] Aguilar A. Kidney cancer: OCT2 demethylation cracks open oxaliplatin resistance[J]. *Nat Rev Nephrol*, 2016, **12**(10): 581.
- [19] Lasorsa A, Nardella MI, Rosato A, et al. Mechanistic and structural basis for inhibition of copper trafficking by platinum anticancer drugs [J]. *J Am Chem Soc*, 2019, **141**(30): 12109-12120.
- [20] Zimmermann T, Burda JV. Cisplatin interaction with amino acids cysteine and methionine from gas phase to solutions with constant pH [J]. *Interdiscip Sci Comput Life Sci*, 2010, **2**(1): 98-114.
- [21] Liang S, Han LQ, Mu WW, et al. Carboplatin-loaded SMNDs to reduce GSH-mediated platinum resistance for prostate cancer therapy[J]. *J Mater Chem B*, 2018, **6**(43): 7004-7014.
- [22] Kimura T, Kambe T. The functions of metallothionein and ZIP and ZnT transporters: an overview and perspective [J]. *Int J Mol Sci*, 2016, **17**(3): 336.
- [23] Kawahara B, Ramadoss S, Chaudhuri G, et al. Carbon monoxide sensitizes cisplatin-resistant ovarian cancer cell lines toward cisplatin via attenuation of levels of glutathione and nuclear metallothionein[J]. *J Inorg Biochem*, 2019, **191**: 29-39.
- [24] Fukuda T, Oda K, Wada-Hiraike O, et al. The anti-malarial chloroquine suppresses proliferation and overcomes cisplatin resistance of endometrial cancer cells via autophagy inhibition [J]. *Gynecol Oncol*, 2015, **137**(3): 538-545.
- [25] Zhao L, Li W, Zhou YX, et al. The overexpression and nuclear translocation of Trx-1 during hypoxia confers on HepG2 cells resistance to DDP, and GL-V9 reverses the resistance by suppressing the Trx-1/Ref-1 axis [J]. *Free Radic Biol Med*, 2015, **82**: 29-41.
- [26] Ayers PW, Parr RG, Pearson RG. Elucidating the hard/soft acid/base principle: a perspective based on half-reactions [J]. *J Chem Phys*, 2006, **124**(19): 194107.
- [27] Chen J, Gao CZ, Zhang Y, et al. Inorganic nano-targeted drugs delivery system and its application of platinum-based anticancer drugs[J]. *J Nanosci Nanotechnol*, 2017, **17**(1): 1-17.
- [28] Browning RJ, Reardon PJT, Parhizkar M, et al. Drug delivery strategies for platinum-based chemotherapy [J]. *ACS Nano*, 2017, **11**(9): 8560-8578.
- [29] Du J, Cullen JJ, Buettner GR. Ascorbic acid: chemistry, biology and the treatment of cancer [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2012, **1826**(2): 443-457.
- [30] Michelet F, Gueguen R, Leroy P, et al. Blood and plasma glutathione measured in healthy subjects by HPLC: relation to sex, aging, biological variables, and life habits [J]. *Clin Chem*, 1995, **41**(10): 1509-1517.
- [31] Gamesik MP, Kasibhatla MS, Teeter SD, et al. Glutathione levels in human tumors [J]. *Biomarkers*, 2012, **17**(8): 671-691.
- [32] Kennedy L, Sandhu JK, Harper ME, et al. Role of glutathione in cancer: from mechanisms to therapies [J]. *Biomolecules*, 2020, **10**(10): E1429.
- [33] Choi S, Filotto C, Bisanzo M, et al. Reduction and anticancer activity of platinum (IV) complexes [J]. *Inorg Chem*, 1998, **37**(10): 2500-2504.
- [34] Gibbons GR, Wyrick S, Chaney SG. Rapid reduction of tetrachloro (D, L-trans)₂, 2-diaminocyclohexaneplatinum (IV) (tetraplatin) in R/MINI 1640 tissue culture medium [J]. *Cancer Res*, 1989, **49**(6): 1402-1407.
- [35] Perez RP, O'Dwyer PJ, Handel LM, et al. Comparative cytotoxicity of CI-973, cisplatin, carboplatin and tetraplatin in human ovarian carcinoma cell lines [J]. *Int J Cancer*, 1991, **48**(2): 265-269.
- [36] Schilder RJ, LaCreta FP, Perez RP, et al. Phase I and pharmacokinetic study of ormaplatin (tetraplatin, NSC 363812) administered on a day 1 and day 8 schedule [J]. *Cancer Res*, 1994, **54**(3): 709-717.
- [37] Bramwell VH, Crowther D, O'Malley S, et al. Activity of JM9 in advanced ovarian cancer: a phase I-II trial [J]. *Cancer Treat Rep*, 1985, **69**(4): 409-416.
- [38] Clavel M, Monfardini S, Gundersen S, et al. Phase II study of iproplatin (CHIP, JM-9) in advanced testicular cancers progressing after prior chemotherapy [J]. *Eur J Cancer Clin Oncol*, 1988, **24**(8): 1345-1348.
- [39] Petrelli NJ, Creaven PJ, Herrera L, et al. Phase II trial of continuous-infusion iproplatin (CHIP) and 5-fluorouracil (5-FU) in advanced colorectal carcinoma [J]. *Cancer Chemother Pharma-*

- col, 1989, **23**(1):61-62.
- [40] Anderson H, Wagstaff J, Crowther D, *et al.* Comparative toxicity of cisplatin, carboplatin (CBDCA) and iproplatin (CHIP) in combination with cyclophosphamide in patients with advanced epithelial ovarian cancer[J]. *Eur J Cancer Clin Oncol*, 1988, **24**(9):1471-1479.
- [41] Bouchal P, Jarkovsky J, Hrazdilova K, *et al.* The new platinum-based anticancer agent LA-12 induces retinol binding protein 4 *in vivo*[J]. *Proteome Sci*, 2011, **9**(1):68.
- [42] Zheng YR, Suntharalingam K, Johnstone TC, *et al.* Pt(IV) prodrugs designed to bind non-covalently to human serum albumin for drug delivery[J]. *J Am Chem Soc*, 2014, **136**(24):8790-8798.
- [43] Zanellato I, Bonarrigo I, Sardi M, *et al.* Evaluation of platinum-ethacrynic acid conjugates in the treatment of mesothelioma[J]. *ChemMedChem*, 2011, **6**(12):2287-2293.
- [44] Kasparkova J, Kostrhunova H, Novakova O, *et al.* A photoactivatable platinum(IV) complex targeting genomic DNA and histone deacetylases[J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2015, **54**(48):14478-14482.
- [45] Johnson SW, Swiggard PA, Handel LM, *et al.* Relationship between platinum-DNA adduct formation and removal and cisplatin cytotoxicity in cisplatin-sensitive and-resistant human ovarian cancer cells[J]. *Cancer Res*, 1994, **54**(22):5911-5916.
- [46] Wang ZG, Xu ZF, Zhu GY. A platinum(IV) anticancer prodrug targeting nucleotide excision repair to overcome cisplatin resistance[J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2016, **55**(50):15564-15568.
- [47] Becherel OJ, Jakob B, Cherry AL, *et al.* CK2 phosphorylation-dependent interaction between aprataxin and MDC1 in the DNA damage response[J]. *Nucleic Acids Res*, 2010, **38**(5):1489-1503.
- [48] Chen FH, Pei SN, Wang X, *et al.* Emerging JWA-targeted Pt(IV) prodrugs conjugated with CX-4945 to overcome chemotherapeutic resistance[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2020, **521**(3):753-761.
- [49] Xue X, You S, Zhang Q, *et al.* Mitaplatin increases sensitivity of tumor cells to cisplatin by inducing mitochondrial dysfunction[J]. *Mol Pharm*, 2012, **9**(3):634-644.
- [50] Neumann W, Crews BC, Sárosi MB, *et al.* Conjugation of cisplatin analogues and cyclooxygenase inhibitors to overcome cisplatin resistance[J]. *ChemMedChem*, 2015, **10**(1):183-192.
- [51] Oliveira BL, Stenton BJ, Unnikrishnan VB, *et al.* Platinum-triggered bond-cleavage of pentynoyl amide and *N*-propargyl handles for drug-activation[J]. *J Am Chem Soc*, 2020, **142**(24):10869-10880.
- [52] Sun T, Lv T, Wu JB, *et al.* General strategy for integrated bioorthogonal prodrugs: Pt(II)-triggered depropargylation enables controllable drug activation *in vivo*[J]. *J Med Chem*, 2020, **63**(22):13899-13912.

·本刊讯·

《中国药科大学学报》多篇论文入选中国知网高影响力论文(2)

续表 《中国药科大学学报》高被引论文、高下载论文及高PCSI论文(按被引频次排序)

序号	篇名	作者	下载
25	新型药物递送系统研究新进展	武曲;霍美蓉;周建平	2013年02期
26	纳米技术在药物递送中的应用与展望	周建平	2020年04期
27	槲皮素-3-O-β-D-葡萄糖醛酸苷对游离脂肪酸诱导HepG2细胞脂肪变性的作用	王路路;张志超;吴诉诉;尚靖	2015年05期
28	肿瘤相关巨噬细胞共培养体系中人参及其主要成分对肺癌 A549 细胞的作用	毕蕾;高静;江玉翠;陈鹰娜;陈卫平	2016年06期
29	聚乙二醇氨基酸衍生物的合成及其对紫杉醇的修饰	田滋;金字灏;陈阳建;高向东;姚文兵	2011年01期
30	药物研究中的分析方法及策略	狄斌;苏梦翔	2013年01期
31	MALAT1 通过竞争 miR-124 上调 SMYD3 并促进乳腺癌细胞增殖与迁移	徐曼丽;王畅;王楠;何红鹏;张同存;罗学刚	2019年03期
32	雷公藤红素联合用药对 HepG2 细胞增殖的抑制作用	张雪;欧阳惠枝;徐伟;王晓颖	2020年02期
33	一种新型锰金属有机框架纳米载体用于克服肿瘤缺氧增效光动力治疗	崔华媛;姚丹;汪钰翔;胡一桥	2019年06期
34	药品水分测定方法的选择及策略	周浩;王慧洁;赵媛媛;王欢;张士博	2022年01期
35	CAR-T 细胞免疫治疗实体瘤的研究进展	姚铮;李子涵;高利明;胡星;陈颜;潘文琦;李谦	2021年04期

(本刊编辑部)