

谷胱甘肽响应型肿瘤治疗光敏剂的研究进展

许康¹, 张甜¹, 邵进军^{1*}, 董晓臣^{1,2}¹南京工业大学先进材料研究院, 江苏 南京 211816;²江苏师范大学化学与材料科学学院, 江苏 徐州 221116

摘要 谷胱甘肽(GSH)在多种肿瘤细胞中过表达,是肿瘤微环境的重要特征之一,以GSH作为触发因子可以实现肿瘤的精准治疗。GSH是一种内源性抗氧化剂,其分子结构中的巯基官能团能够快速消耗肿瘤细胞内的活性氧物种(ROS),降低光动力治疗(PDT)的效果;相反,GSH的消耗也可以增强PDT。因此,以GSH作为生物靶标及触发因子设计GSH响应型光敏剂有望实现高效精准的肿瘤PDT。本文首先对GSH在生物体内的作用进行了简单介绍,进而对GSH激活型和GSH消耗型光敏剂的响应机制与响应型PDT进行了详细阐述,最后对GSH响应型光敏剂在肿瘤光动力治疗中面临的挑战以及未来的发展方向进行了讨论。

关键词 医用光学; 谷胱甘肽; 肿瘤微环境; 光动力治疗; 光敏剂; 光治疗

中图分类号 R454.2 文献标志码 A

DOI: 10.3788/CJL221144

1 引言

癌症具有发病率和病死率高的特点,是威胁人类生命健康的主要疾病^[1]。传统的癌症治疗方法主要包括手术切除、放射治疗和化学药物治疗。其中:手术切除只适用于体积较小、瘤体明确的肿瘤,而且对患者机体的损伤较大,容易出现并发症;放射治疗通过高能放射线对肿瘤部位进行辐射,杀灭肿瘤组织与细胞,是一种治疗局部肿瘤的手段,但治疗范围小、副作用大;化学药物治疗是目前最常用的肿瘤治疗方式,该方式通过使用化学药物杀灭癌细胞来达到治疗的目的。然而,化疗药物治疗的选择性差、药物利用度低,容易产生全身毒性,而且长期使用会产生耐药性,严重损害人体健康。传统的肿瘤治疗方式均存在着一定的固有缺陷。随着科技的发展,新兴的肿瘤治疗手段,如光学治疗、化学动力学治疗、声动力治疗、靶向治疗、磁疗和免疫治疗等,逐渐登上历史舞台,而且这些治疗方法已经展示出较好的肿瘤临床治疗应用前景^[2-4]。

光动力疗法(PDT)是光学治疗中的一种重要方法,它通过光激活光敏药物(光敏剂,PS)来杀死肿瘤细胞。光敏剂在肿瘤组织中选择性聚集,在特定波长光的辐照下将肿瘤细胞和组织中的分子氧转化成具有生物毒性的活性氧物种(ROS),导致肿瘤细胞氧化损伤^[5]。光敏剂具有无创、低毒性等优点,已在肿瘤治疗研究中引起了广泛关注^[6-7]。PDT最早可追溯至4000

年前,古埃及人通过口服含光敏剂的植物经太阳光照射治疗白癜风;20世纪60年代,Schwartz和Lipson首先发现了血卟啉衍生物(HPD),并将其应用于光动力治疗^[8-9],开启了现代PDT的发展历程。在过去的几十年中,PDT已在癌症临床治疗中取得了一定进展,并已进入乳腺癌、前列腺癌、膀胱癌和皮肤癌等癌症治疗的临床研究中^[10-12]。PDT的发展为癌症和非癌症疾病的治疗提供了一种崭新的治疗方式。

光敏剂是PDT最为关键的要素之一,直接影响PDT疗效^[13]。在特定波段光的照射下,光敏剂吸收光子后从基态跃迁至单重激发态,因激发态不稳定,故可通过辐射跃迁释放荧光或非辐射跃迁释放热能返回基态,抑或通过系间窜越(ISC)跃迁至寿命更长、更稳定的三重激发态。三重态光敏剂可以与周围的生物分子发生反应,也可以通过辐射跃迁释放磷光^[3,14]。根据三重态光敏剂与周围生物分子发生反应时产生ROS的不同,PDT主要分为I型PDT和II型PDT两类^[15],其中:I型PDT是指三重激发态直接与细胞周围生物大分子发生反应,通过电子转移机制形成羟基自由基(OH[·])、超氧阴离子自由基(O₂^{·-})、过氧化氢(H₂O₂)等;II型PDT的机制为三重激发态通过能量转移将组织中的氧气³O₂转化成单线态氧(¹O₂)(如图1所示)。光动力治疗过程中产生的自由基或单线态氧等ROS一方面会使细胞缺氧或饥饿,甚至使细胞凋亡或坏死,另一方面会对血管造成一定程度的损伤^[16-17],同时也会

收稿日期: 2022-08-15; 修回日期: 2022-09-21; 录用日期: 2022-09-28; 网络首发日期: 2022-10-20

基金项目: 国家自然科学基金-重点国际(地区)合作与交流项目(62120106002)、国家自然科学基金面上项目(22175089)、江苏省社会发展-重点项目(BE2021711)

通信作者: iamxcdong@njtech.edu.cn

引起炎症和免疫反应^[18]。

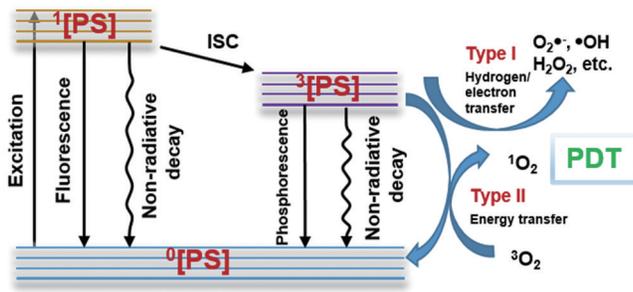


图1 Jablonski 能级示意图

Fig. 1 Schematic illustration of Jablonski energetic diagram

然而, PDT 用于肿瘤治疗仍存在一些问题和挑战。首先, 光对组织的穿透深度不足, 深层肿瘤组织的 PDT 治疗效果较差; 其次, 光敏剂缺乏靶向性, 在治疗过程中光敏剂会对正常组织造成损伤; 最后, 肿瘤组织对 ROS 的清除作用限制了 PDT 效率^[19-21]。与正常组织相比, 肿瘤组织具有显著的病理性变化, 形成了特征性的肿瘤微环境, 如弱酸性、乏氧、蛋白酶过表达、谷胱甘肽(GSH)过表达等^[22-26]。以肿瘤微环境中高表达的 GSH 作为生物靶标及触发因子, 可选择性激活蓄积于肿瘤部位的光敏剂的光动力活性, 实现 PDT 靶向性治疗肿瘤, 减小对正常组织的损伤^[27]。然而, 高表达的 GSH 同时会消耗光敏剂在光辐照下产生的 ROS, 严重影响光敏剂在肿瘤光动力治疗中的治疗效果。聚焦肿瘤微环境中的 GSH 过表达, 科研工作者设计研发了一系列 GSH 响应型光敏剂。本文首先对生物体中 GSH 的作用进行简单介绍, 接着总结近年来 GSH 激活型和 GSH 消耗型光敏剂的研究进展, 最后探讨 GSH 响应型光敏剂面临的挑战和未来的发展方向。

2 GSH

GSH 是由谷氨酸、半胱氨酸、甘氨酸三种氨基酸组成的三肽, 是参与细胞氧化还原反应以及硫醚形成的主要细胞硫醇^[28]。GSH 参与人体中的众多代谢活动和生理过程, 在维持生物体氧化还原稳态方面发挥着至关重要的作用^[29-30]。同时, GSH 也是最常见的内源性抗氧化剂, 抗氧化是其最基本的作用。此外, 它还可以清除氧化剂, 防止氧化应激。GSH 可以直接或间接的方式与氧化物质反应, 其本身会被氧化成谷胱甘肽二硫化物(GSSH), 而自由基等 ROS 直接被 GSH 猝灭。

GSH 内稳态的紊乱会严重影响细胞生物学行为与人体生理状态, 在许多病理条件(如癌症、糖尿病、神经退行性疾病和囊性纤维化等)下都能观察到 GSH 内稳态的紊乱。GSH 在肿瘤的不同阶段起着不同的作用: 1) 在肿瘤发生早期阶段, 细胞内的 GSH 通过解毒致癌物以及防止 ROS 诱导 DNA 氧化和损伤来保护细胞免受致癌作用。研究表明, GSH 与谷胱甘肽巯基转

移酶(GST)或谷胱甘肽过氧化物酶(GPX)协同, 可以预防暴露于致癌物或失去肿瘤抑制因子的小鼠发生皮肤癌、肝癌和结肠癌等^[31-34]。2) 在肿瘤发展阶段, 癌细胞产生大量 ROS, 以支撑其快速代谢和恶性增殖^[35], 细胞内的 GSH 表达水平随之上调, 以抵抗可能导致 DNA 损伤和蛋白质稳态紊乱的过量 ROS^[36]。为了适应细胞生长和生存的内在氧化应激, 肿瘤细胞上调抗氧化剂来调节 ROS 水平, 使得肿瘤细胞中的 GSH 表达水平更高。如, 细胞外液中的 GSH 浓度很低, 约为 2~20 $\mu\text{mol/L}$, 而肿瘤细胞中的 GSH 浓度是细胞外液中 GSH 浓度的 100~1000 倍, 是正常细胞中 GSH 浓度的 4 倍以上^[37-38]。高表达的 GSH 可以保护癌细胞免受氧化应激激活的程序性细胞死亡, 同时巨大的 GSH 浓度差异也使其成为激活型 PDT 的有利生物靶标之一。因此, 探索 GSH 激活型 PDT 与 GSH 消耗型 PDT 有望实现肿瘤的精准治疗。

3 GSH 激活型光敏剂

只有在肿瘤中的可激活型光敏剂才能被选择性激活进而施行 PDT, 具有较小的非特异性光毒性, 因此备受研究人员关注。在光辐照下, 可激活型光敏剂在非肿瘤组织中保持猝灭状态, 仅产生极少量的 ROS, 对组织的毒性较小; 然而, 当光敏剂被特定的肿瘤微环境生物靶标激活后, ROS 产生能力会大幅度提高, 能够实现对肿瘤的原位靶向治疗。肿瘤部位的 GSH 浓度远高于正常细胞和细胞外液中的 GSH 浓度, 这一特点使得 GSH 成为有利的光敏剂触发因子。将 GSH 作为内源性刺激因子激活光敏剂, 实现肿瘤部位选择性触发光动力反应, 可有效提升 PDT 的精准性和肿瘤治疗效率, 并可降低 PDT 对正常组织的毒副作用。

3.1 二硫键(S-S)

二硫键在细胞外生理条件下表现稳定, 但在肿瘤微环境中会表现出特异的还原性。分子中的二硫键基团可以通过氧化还原反应被 GSH 裂解生成巯基和 GSH 硫醚。还原型 GSH 作为还原剂攻击二硫键, 可使二硫键断裂还原成巯基, 而还原型 GSH 则转变成氧化型谷胱甘肽 GSSG, 因此, 二硫键经常被用于设计 GSH 激活型光敏剂。例如, Yang 等^[39]利用二硫键将两个花菁类分子共价连接, 合成了一种在肿瘤部位高表达的 GSH 激活型二菁基光敏剂 DCy7, 如图 2(a) 所示。DCy7 的紫外吸收峰位于 641 nm, 且在 808 nm 处无吸收。因此, 使用 808 nm 近红外光作为激发光源无法激活 DCy7。当 GSH 裂解为二硫键后, DCy7 裂解成两个在 808 nm 处有较好紫外吸收的花菁类光敏剂, 其光动力活性被激活。被两亲性二嵌段共聚物 POEGMA-*b*-PDPA 包覆后, 疏水性分子 DCy7 可形成生物相容性 P@DCy7 纳米颗粒。在血液循环和正常细胞中, P@DCy7 纳米颗

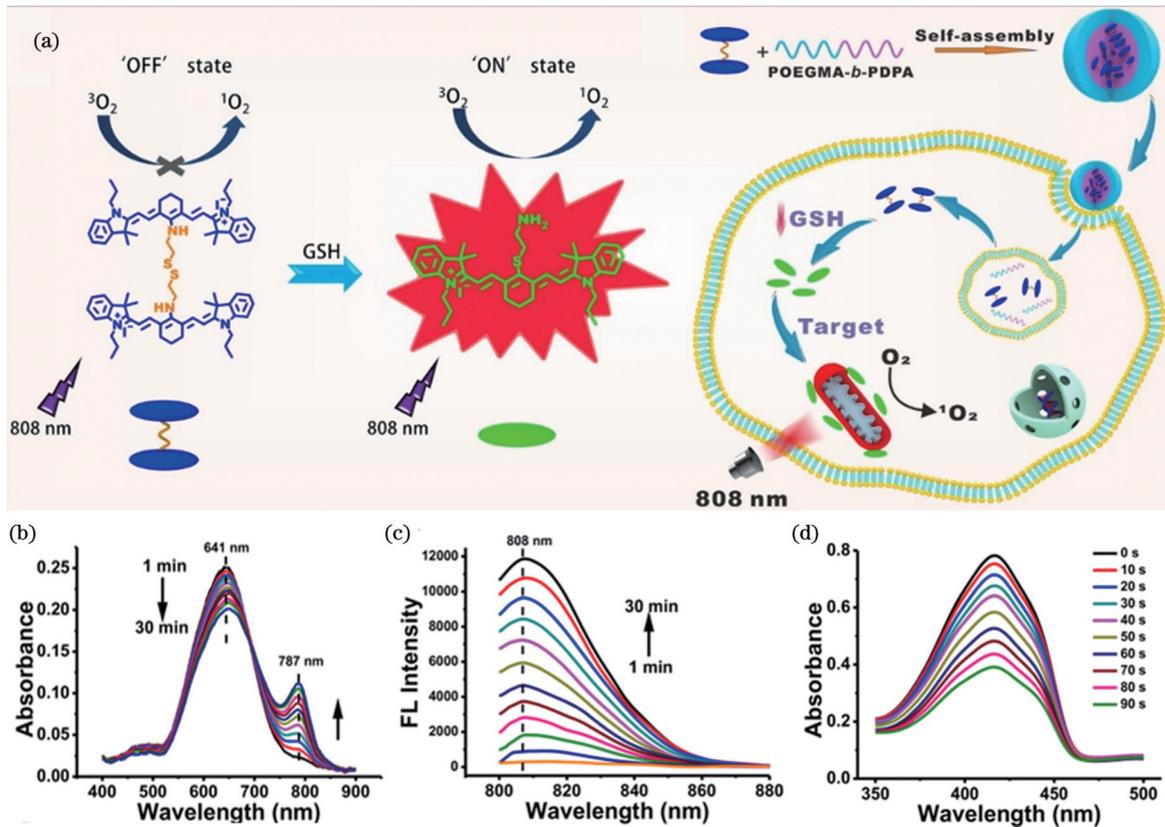


图2 GSH激活型二菁基光敏剂DCy7^[39]。(a)GSH激活光敏剂DCy7的机制;(b)~(d)经GSH处理的DCy7的紫外吸收、荧光强度与¹O₂产生

Fig.2 GSH-activatable dicyanine photosensitizer DCy7^[39]. (a) GSH-activation mechanism of DCy7; (b) - (d) UV absorption, fluorescence and ¹O₂ generation of DCy7 treated by GSH

粒的光敏特性处于静默状态;当P@DCy7纳米粒子进入肿瘤组织后,就会在内涵体上解离释放出DCy7,进而DCy7被高浓度GSH激活,在808 nm激光辐照下,就可以实现线粒体靶向性GSH激活型PDT治疗。此外,胞内GSH在激活过程中会被消耗掉,这有利于增强PDT的治疗效果。

荧光共振能量转移(FRET)是指当两个荧光分子足够靠近时,供体分子在光照后跃迁到激发态,在退激回到基态前,通过偶极子相互作用实现能量向邻近受体分子转移的过程。二硫键可作为链接基团共价连接给体和受体分子,设计合成具有分子内FRET行为的GSH激活型光敏剂;此外,二硫键还可以将光敏剂分子与PDT猝灭剂连接,实现光敏剂在肿瘤组织GSH高浓度环境下的选择性激活。如图3所示,Cao等^[40]设计了两种氟硼二吡咯(BODIPY)衍生物并将它们分别作为光敏荧光团和猝灭剂,然后基于Cu(I)催化点击反应将它们通过二硫键连接,构建了具有分子内FRET行为的GSH刺激激活型光敏剂。他们研究了该光敏剂的近红外荧光成像引导的PDT性能,结果显示:由于光敏荧光团与猝灭剂之间的分子存在FRET过程,可激活的光敏剂保持沉默状态,荧光发射和光动力活性被猝灭;光敏剂经GSH处理后,二硫键裂解,光敏荧光团与猝灭剂发生分离,荧光发射与光动力活性

得以恢复;在GSH浓度相对较高的A549人肺腺癌、HeLa人宫颈癌和H22小鼠肝癌细胞中,光敏剂的荧光发射、ROS产生和光动力效应也均得到了恢复。体外和体内实验均验证了光敏剂的GSH激活特性。因此,基于FRET机制的GSH激活型光敏剂为荧光成像引导的肿瘤靶向治疗提供了一种新策略。

将多种肿瘤治疗方式联合起来进行协同治疗可以克服单一治疗的缺点,实现“1+1>2”的肿瘤治疗效果^[41]。PDT是一种可协同治疗的肿瘤治疗模式,通过二硫键将光敏剂与化疗药物连接,可以同时实现化疗药物的选择性释放和光敏剂活性的选择性开启。如图4所示,Yang等^[42]采用二硫键将化疗药物喜树碱(CPT)和隐色亚甲基蓝(LMB)连接,制备了一种可激活的“前药-光敏剂”LMB-S-CPT。该光敏剂可用于协同治疗。在健康组织中,由于二硫键的存在,光敏剂和化疗药物的活性都受到抑制;当LMB-S-CPT进入癌细胞后,过表达的GSH破坏二硫键,激活LMB-S-CPT,释放化疗药物CPT和LMB;随后,LMB快速转化为光敏剂亚甲基蓝(MB),MB在660 nm激光照射下生成¹O₂,从而实现PDT。LMB-S-CPT作为一种GSH激活型“前药-光敏剂”实现了化疗和PDT的协同治疗,并显示出高选择性和增强的抗肿瘤效果。

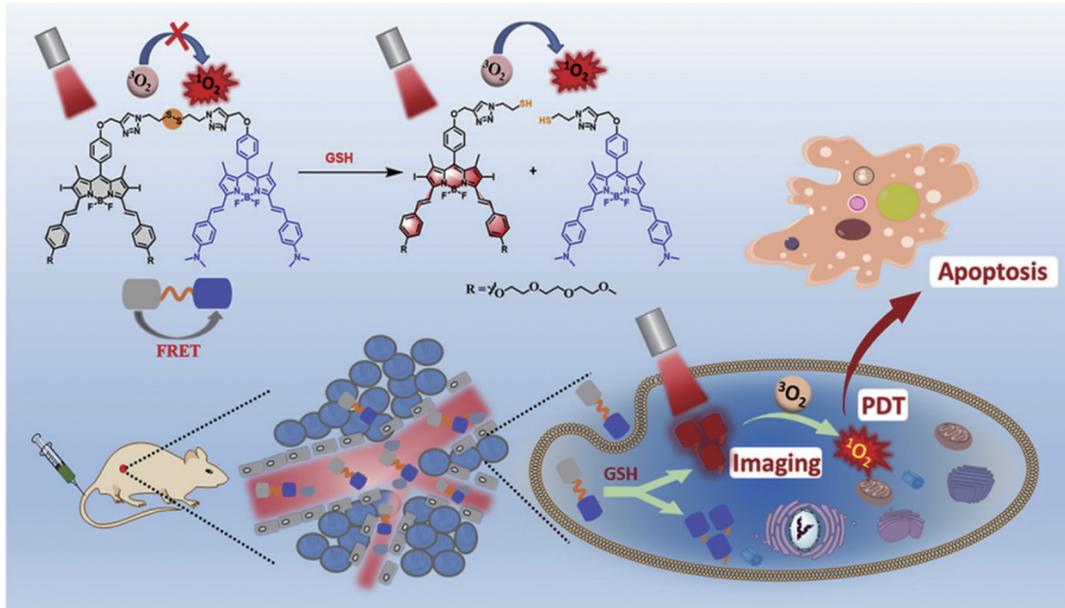


图3 GSH激活型BODIPY衍生物的光动力治疗机制^[40]

Fig. 3 GSH-activation mechanism of BODIPY derivative for PDT^[40]

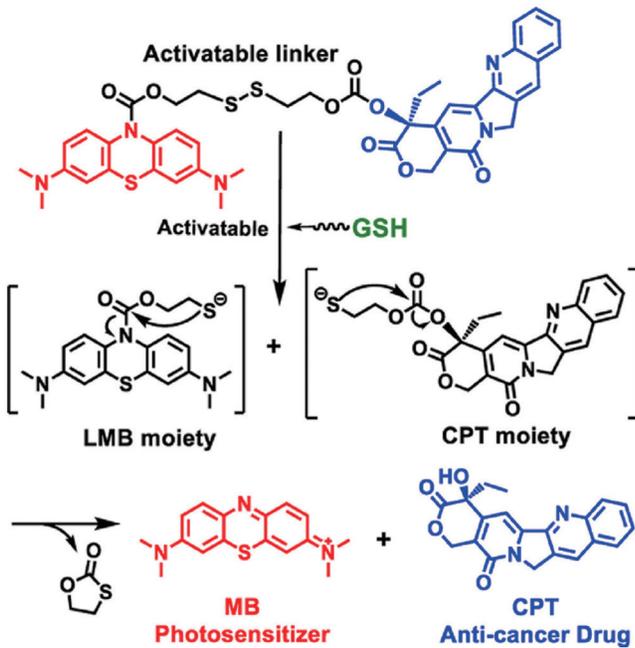


图4 GSH激活型光敏剂LMB-S-CPT中MB和CPT的释放机制^[42]

Fig. 4 MB and CPT release mechanism of GSH-activatable photosensitizer LMB-S-CPT^[42]

3.2 2,4-二硝基苯磺酰基团

分子内光致电子转移(PeT)经常被应用于荧光分子探针的设计中。PeT过程通常会淬灭荧光,当PeT过程被抑制后,荧光得以恢复。这类分子通过PeT来调控单重激发态的性质,获得生物靶标触发下的刺激-响应行为。PDT光敏剂可在光激发下跃迁到三重态并与周围生物分子反应产生ROS,达到治疗效果。因此,PeT同样适用于光敏剂的三重态调控,可用于设计生物响应型光敏剂。

在分子中引入电子给体或受体后,其与发色团构成的PeT体系可以有效调控光敏剂的ROS产生能力。2,4-二硝基苯磺酰基(DNBS)具有较强的吸电子能力,常被用作光动力猝灭基团。GSH是细胞内最丰富的小分子硫醇化合物,DNBS中的磺酰基团会在GSH的诱导下裂解,因此DNBS也常被用来设计GSH响应型光敏剂。Turan等^[43]设计合成了一系列基于BODIPY的GSH激活型光敏剂,如图5所示。引入的DNBS基团可以提供非辐射跃迁路径,猝灭光敏剂的激发态,进而猝灭单线态氧的产生能力。光敏剂在被激活之前并不具备细胞毒性,当用GSH处理后,DNBS基团离去,光敏剂被激活,可以产生具有细胞毒性的单线态氧。

此外,Hu等^[44]在光敏剂中引入DNBS作为猝灭剂,制备了基于BODIPY的GSH响应型有机光敏剂,然后将其与化疗药物CPT、具有特定亲和力的生物素连接,构建了一种多功能前药B-BDP-CL-CPT,如图6所示。该多功能前药以生物素为靶向配体,前药分子可被生物素受体阳性的癌细胞有效内化,通过癌细胞中过表达的细胞内GSH移除猝灭基团DNBS,产生大量ROS。光敏剂与化疗药物CPT之间用ROS响应性硫缩酮键连接,光敏剂激活后产生的ROS不仅可以用于PDT,还可以进一步破坏硫缩酮键释放CPT,实现PDT与化疗的双重治疗。

卟啉类光敏剂是临床光动力治疗中最重要的一类光敏剂^[45]。为了提高肿瘤的光动力治疗效率,研究人员用GSH响应型基团DNBS来修饰卟啉类光敏剂。例如,Huang等^[46]将5,10,15,20-四(4-羟基苯基)卟啉(THPP)与2,4-二硝基苯磺酰氯共价偶联(以猝灭THPP的光敏活性),开发了一种对GSH和H₂S敏感

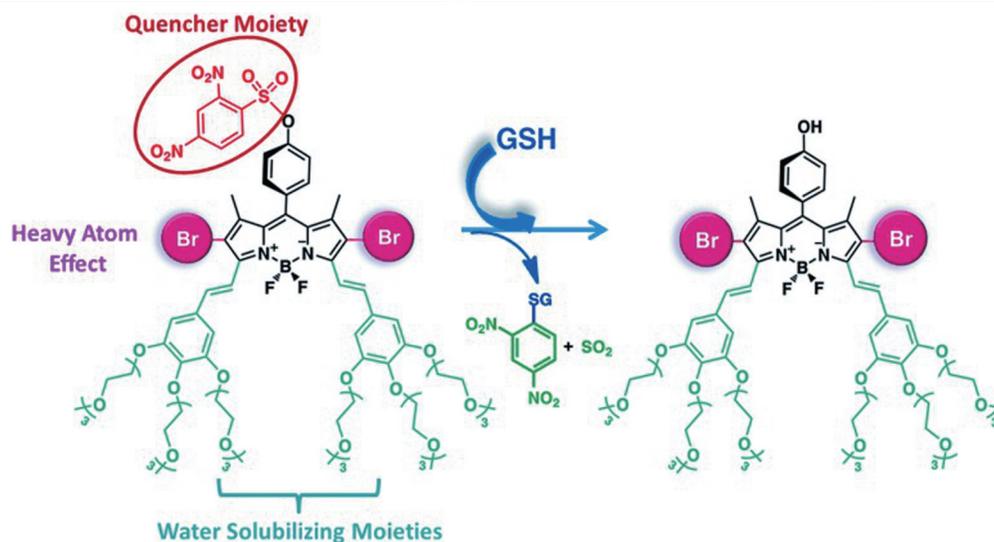


图 5 GSH 响应的 BODIPY 基光敏剂激活机制^[43]

Fig. 5 Activation mechanism of GSH-responsive BODIPY-based photosensitizers^[43]

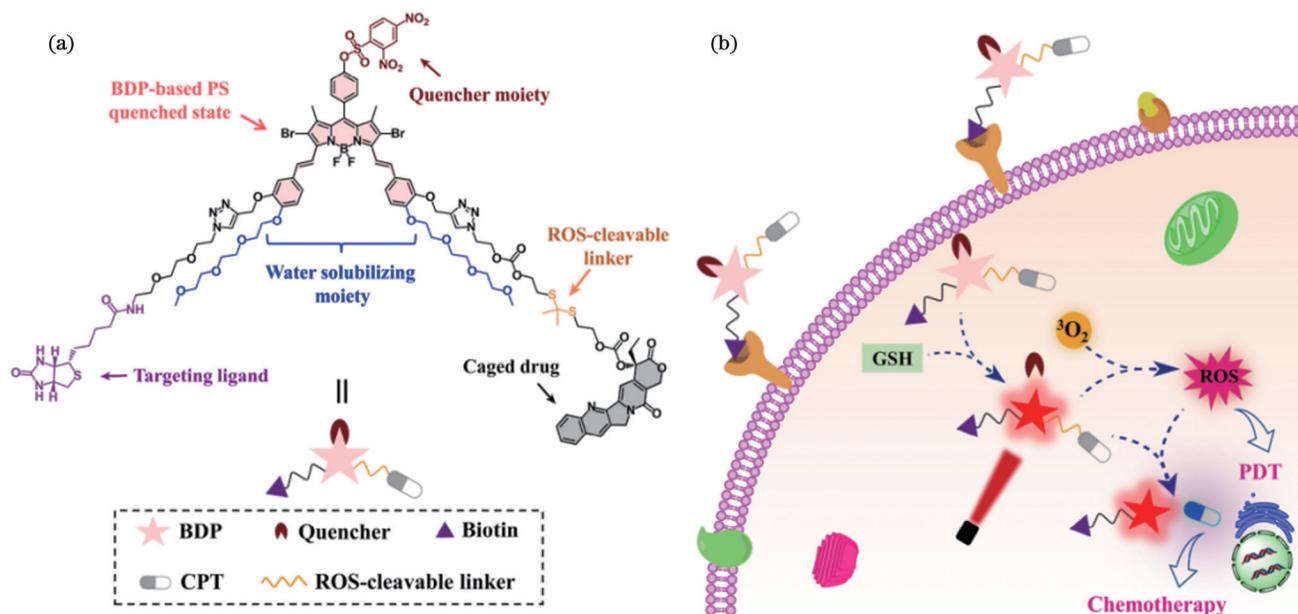


图 6 前药分子 B-BDP-CL-CPT 的化学结构式和治疗机制^[44]。(a) 化学结构式；(b) 治疗机制

Fig. 6 Chemical structure and therapeutic mechanism of prodrug B-BDP-CL-CPT^[44]. (a) Chemical structure; (b) therapeutic mechanism

的光敏剂 TDBP, 如图 7 所示。DNBS 通过 PeT 机制

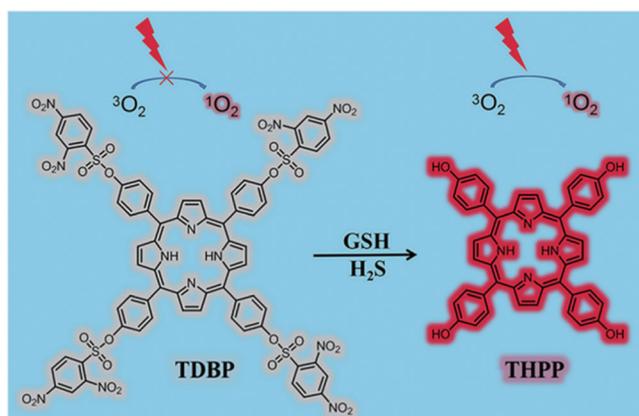


图 7 卟啉基光敏剂 TDBP 的激活原理^[46]

Fig. 7 Activation mechanism of TDBP^[46]

抑制光敏剂 TDBP 的荧光发射能力和 ROS 生成。在谷胱甘肽 S-转移酶 (GSTs) 作用下, 肿瘤细胞中高表达的 GSH 和 H₂S 可有效激活光敏剂 TDBP, 增强细胞内荧光发射并提高 ROS 生成。光敏剂 TDBP 对 GSH 和 H₂S 的响应型设计不仅提高了对肿瘤细胞的光毒性, 还降低了对正常细胞的光毒性, 同时还有利于减小对于正常组织的伤害。

DNBS 作为光敏剂猝灭基团, 在被 GSH 选择性去除的同时可以产生用于肿瘤气体治疗的 SO₂ 气体, 实现 PDT 和气体治疗的联合应用。Wang 等^[47] 将 DNBS 作为单线态氧猝灭基团引入到花菁类分子中, 制备了一种 GSH 激活型光敏剂 CyI-DNBS, 如图 8 所示。具有良好水溶性并显示正电性的 CyI-DNBS 可以被癌细胞快速内吞并定位于线粒体中, 通过损伤线粒体来增

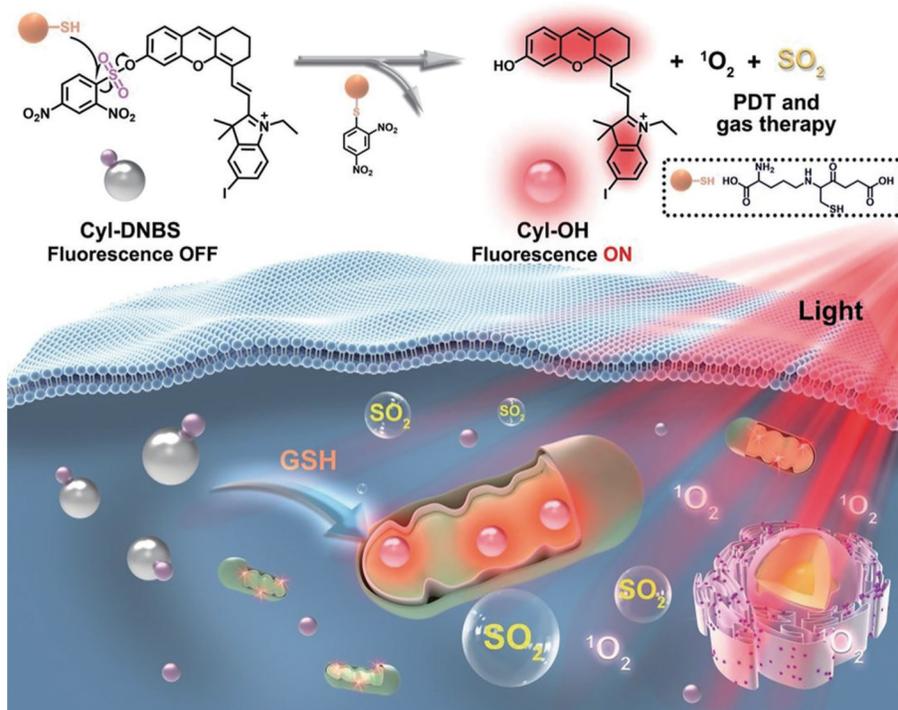


图 8 光敏剂 CyI-DNBS 的激活机制与肿瘤治疗示意图^[47]

Fig. 8 Activation mechanism and tumor therapy of photosensitizer CyI-DNBS^[47]

强治疗效果。在与肿瘤细胞中过表达的 GSH 反应后, CyI-DNBS 可以释放 SO_2 气体, 调节细胞氧化应激, 以进行气体治疗; 同时, 还原产物 CyI-OH 在红光照射下会产生用于 PDT 的 $^1\text{O}_2$ 。活体实验证明, CyI-DNBS 具有良好的生物相容性与显著的治疗效果, 可以明显抑制肿瘤生长, 为肿瘤的协同治疗提供了新思路。

3.3 其他

除了二硫键和 DNBS 基团外, 还有许多具有 GSH

刺激-响应活性的基团。例如, Zeng 等^[48]使用偶氮配体制备了一种 GSH 激活响应型钌(II)基偶氮光敏剂, 如图 9 所示, 用于双光子 PDT。具有强吸电子性的偶氮吡啶配体具有猝灭光敏剂光学性质的能力, 当光敏剂进入肿瘤细胞后, GSH 通过减少偶氮配体来恢复光敏剂的光学性质。这种钌(II)基偶氮光敏剂在癌细胞线粒体中靶向蓄积后, 在双光子激光照射下就会产生细胞光毒性, 有效抑制肿瘤生长。

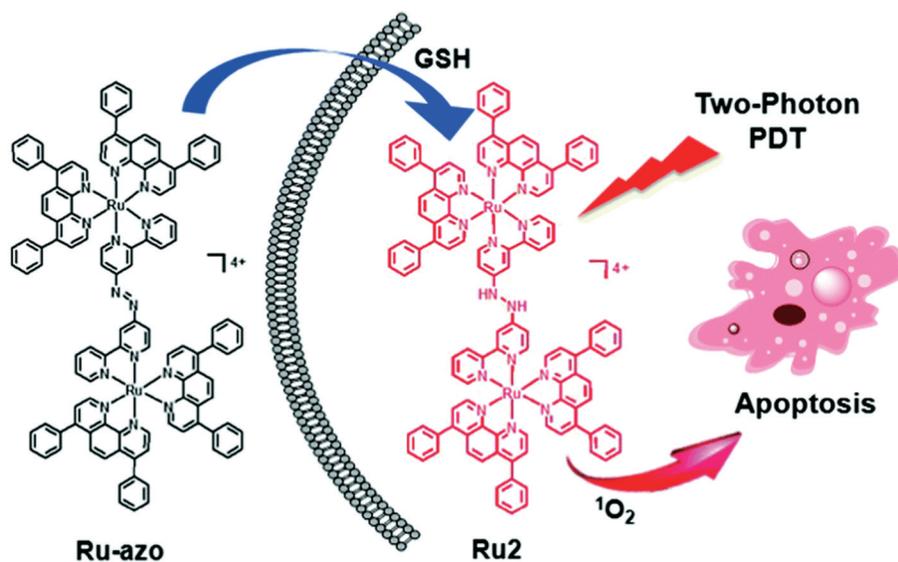
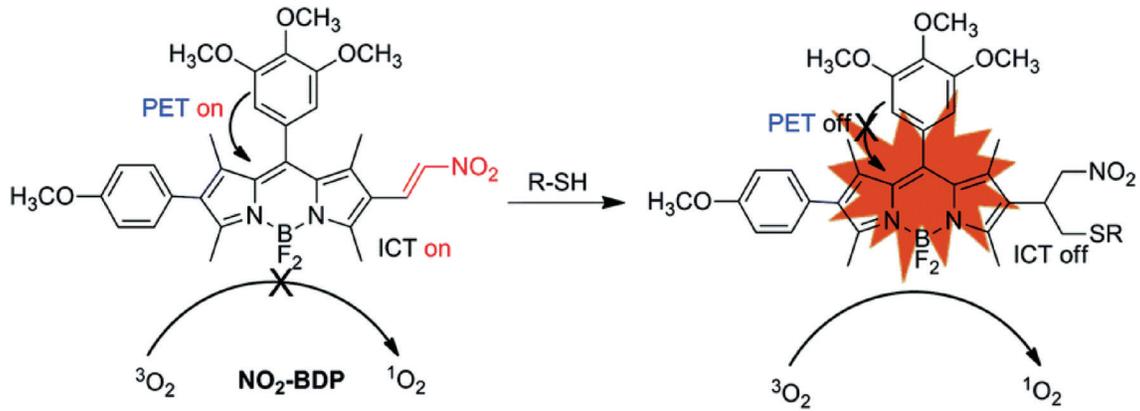


图 9 偶氮钌的 GSH 激活与光毒性示意图^[48]

Fig. 9 Schematic illustration of GSH activation and phototoxicity of Ru-azo^[48]

硝基也是一种众所周知的 S_1 态猝灭剂^[49-51]。如图 10 所示, Li 等^[52]将硝基引入到 BODIPY 分子中, 设

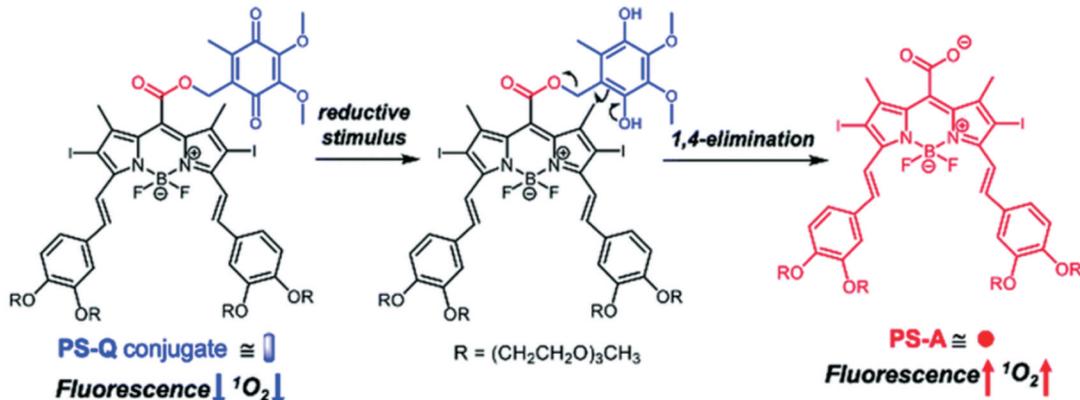
计合成了一种基于单色 BODIPY 的 GSH 激活型光敏剂 NO_2 -BDP。硝基引入后, 光敏剂的荧光发射与光敏

图 10 光敏剂 NO₂-BDP 的 GSH 激活原理^[52]Fig. 10 GSH-activation mechanism of photosensitizer NO₂-BDP^[52]

活性通过 PeT 和分子内电荷转移 (ICT) 被显著猝灭。然而,当生物硫醇 GSH 对抑制猝灭途径的硝基乙烯基部分进行亲核进攻后,荧光发射与光敏活性可同时恢复。被癌细胞内吞并被胞内 GSH 激活后,光敏剂 NO₂-BDP 的荧光发射和活性分别比非活性状态下增加了 30 倍和 8 倍。这种 GSH 激活型分子设计为开发智能型光敏剂提供了一种新方法。

目前,大部分 GSH 激活型光敏剂是通过 FRET 或 PeT 机制实现的。Hwang 等^[53]利用光敏剂亲疏水性转变设计了一种 GSH 响应型泛醌类光敏剂 PS-Q,如图 11 所示。光敏剂 PS-Q 纳米粒子富集于肿瘤细

胞后,会通过胞内的还原性触发转化为亲水性分子,打开荧光发射和光敏活性通道,进行 GSH 激活型荧光成像和肿瘤治疗。这种光敏剂将对生物还原剂具有快速和高选择还原响应的泛醌基团作为触发基团,然后通过酯键与具有近红外吸收的 BODIPY 分子偶联。PS-Q 纳米粒子在水缓冲溶液中高度稳定,快速的非辐射弛豫过程使其荧光和光敏性很弱。PS-Q 被癌细胞内吞后,细胞内的 GSH 还原泛醌部分,触发聚集的疏水前体转化为活性亲水羧酸衍生物 PS-A,恢复荧光与光动力产生能力,达到荧光成像与 PDT 的效果。

图 11 光敏剂 PS-Q 的激活原理^[53]Fig. 11 Activation mechanism of photosensitizer PS-Q^[53]

4 GSH 消耗型光敏剂

ROS 在促进和抑制肿瘤生长过程中具有两面性。与正常组织相比,肿瘤组织内的 ROS 浓度较高。为防止 ROS 过度生成从而诱导氧化损伤并维持氧化还原平衡,肿瘤细胞通过增加抗氧化能力来抵御氧化损伤^[37]。GSH 作为还原性小分子,是肿瘤中最主要的抗氧化成分之一。肿瘤微环境不利于外源性活性氧的积累,GSH 高表达会清除外源性 ROS,降低 PDT 的治疗效果。

还原性 GSH 与氧化物质反应后通常会被氧化成

GSSG,以维持细胞内的氧化还原稳态。利用 GSH 的这种抗氧化行为可以将大量氧化物质输送到细胞中,持续消耗 GSH。目前,用于消耗 GSH 的应用最广泛的氧化物质是二硫化物以及高氧化态金属离子,例如锰(III)离子、铁(III)离子和铜(II)离子等,高氧化态金属离子可以通过氧化还原反应消耗 GSH,而金属离子本身则被还原为低氧化态的金属离子^[54-55]。

4.1 二硫键

二硫键通过氧化还原反应被 GSH 裂解,当二硫键大量存在时,可以达到消耗肿瘤细胞内 GSH 的目的。基于此,Ke 等^[56]开发了一种二硫键连接的钆(II)基配

合物纳米组装光敏剂 RuS, 如图 12 所示, 并研究了其双光子 PDT 肿瘤治疗性能。这种聚合物型光敏剂通过碘单质氧化末端含巯基的钌(II)基配合物来形成大量可以消耗 GSH 的二硫键, 从而增强肿瘤 PDT 疗效。光敏剂 RuS 纳米颗粒呈球形形貌, 与其单体相比具有更强的吸收性。在肿瘤细胞内, 二硫键被高水平

的内源性 GSH 还原后, RuS 纳米颗粒发生解体, 在肿瘤细胞内原位释放钌(II)配合物分子, GSH 水平随之降低。这是研究人员设计合成的第一个用于增强双光子 PDT 的 GSH 消耗型金属络合物基聚合物光敏剂, 对于设计开发新型金属基光敏剂以及未来用于肿瘤治疗的纳米药物具有重要的指导意义。

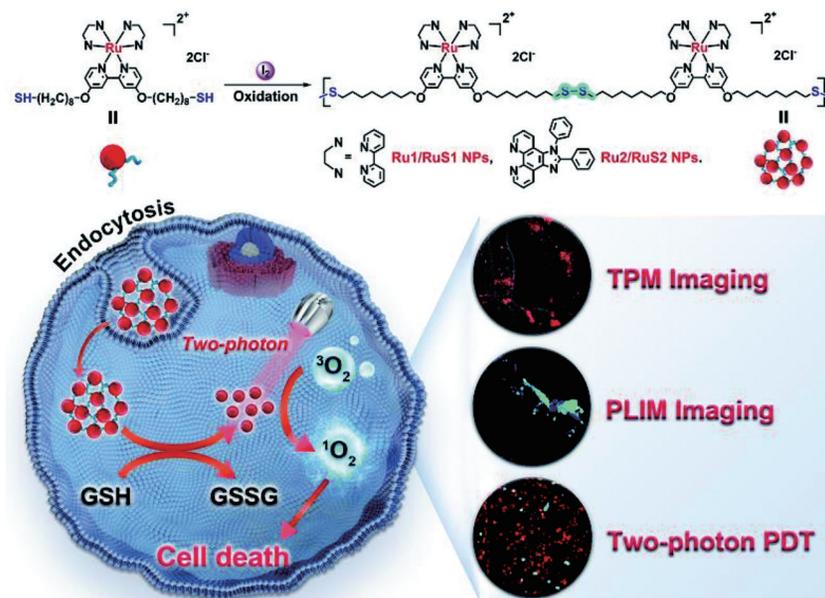


图 12 钌基光敏剂的结构与制备路线以及胞内 GSH 消耗过程、增强型双光子 PDT 示意图^[56]

Fig. 12 Structure and preparation of Ru-based photosensitizer, and schematic diagram of intracellular process of GSH-depletion and enhanced two-photon PDT^[56]

Ke 等^[57]利用铱(III)络合物通过氧化聚合法制备了与 RuS 纳米颗粒类似的可生物降解的铱(III)配位

聚合物光敏剂, 如图 13 所示。在氧化条件下, 硫醇官能化铱(III)络合物可以自组装形成可生物降解的配位

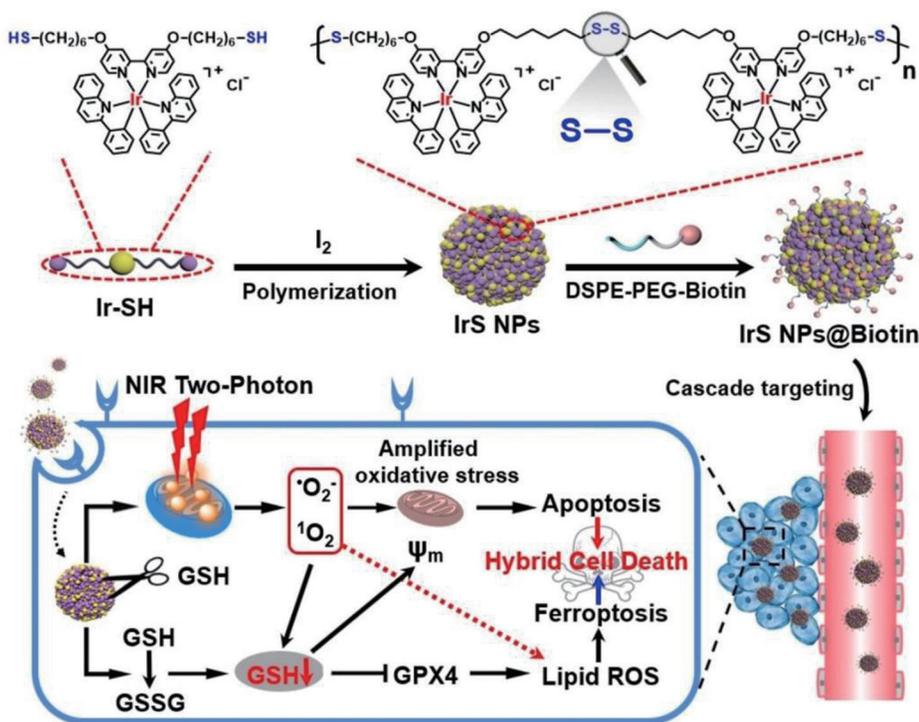


图 13 铱(III)配位聚合物的合成及其生物学作用机制^[57]

Fig. 13 Synthesis and biological action mechanism of a biodegradable iridium(III) coordination polymer^[57]

聚合物纳米粒子(IrS NPs)。IrS NPs在正常生理条件下保持稳定,但在肿瘤微环境中会消耗GSH并分解成金属络合物单体,从而提高肿瘤的治疗效果。对IrS NPs的作用机制进行深入研究后发现,IrS NPs主要积聚在线粒体中,可通过光诱导产生单线态氧和超氧阴离子自由基,导致线粒体功能障碍和碎片化,进而导致线粒体氧化应激。此外,IrS NPs还可以产生脂质过氧化物,通过细胞凋亡和铁死亡共同导致细胞死亡。配位基聚合物光敏剂的设计策略赋予金属络合物分子多功能性,可以通过多种途径实现细胞摄取、细胞死亡/凋亡,克服了传统疗法的细胞耐药性。

如图 14 所示,Zhu 等^[58]将含二硫键的碘代 BODIPY(I₂-BDP-SS-COOH)光敏剂和含二硫键的聚

乙二醇(PEG-SS-COOH)修饰到富羟基的介孔二氧化硅纳米颗粒(MSN-OH)上,通过引入大量二硫键来消耗GSH,提高了肿瘤的PDT疗效。5-氨基酮戊酸(ALA)是美国食品药品监督管理局(FDA)批准并可临床使用的光敏剂。Li等^[59]基于ALA开发了一种双靶向GSH消耗型ALA衍生物光敏剂,其结构包括可在细胞内代谢为原卟啉IX的ALA甲酯(ALA-OMe)、靶向生物素受体阳性肿瘤细胞的生物素基团以及可被GSH激活并释放ALA-OMe的二硫键连接基团。实验结果表明,二硫键和GSH反应会消耗胞内的GSH,显著提升肿瘤的PDT治疗效果。该结果证明了双靶向和GSH消耗联合策略可以同时提高基于ALA的PDT特异性和抗肿瘤效果。

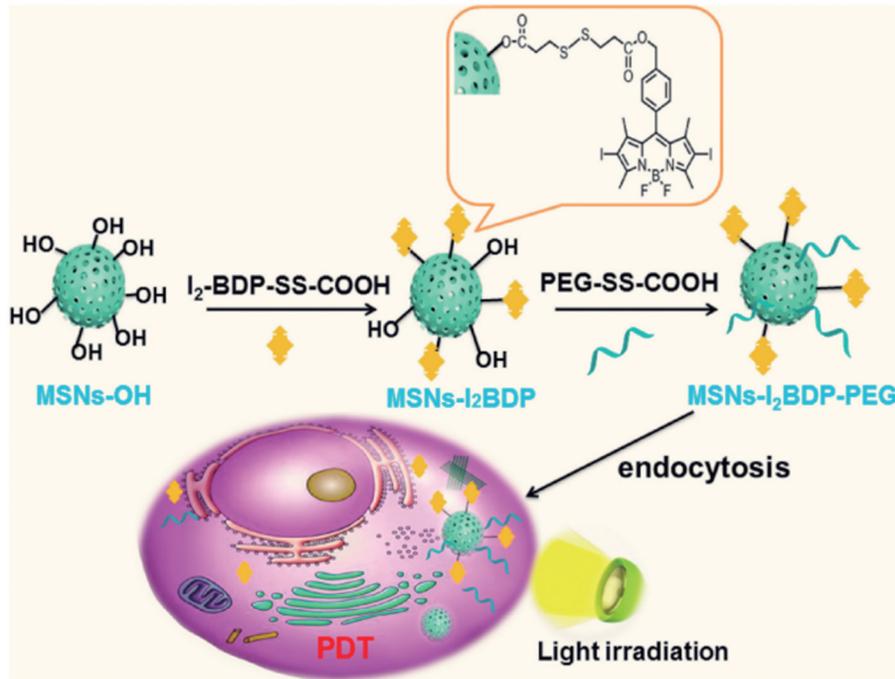


图 14 MSNs-I₂BDP-PEG 合成路线及其肿瘤光动力治疗示意图^[58]

Fig. 14 Schematic diagram of synthetic route of MSNs-I₂BDP-PEG and its tumor PDT^[58]

4.2 金属离子配位

高氧化态金属离子通过氧化还原反应可以有效消耗肿瘤细胞内的高浓度GSH,具有GSH消耗特性的高氧化态金属离子与光敏剂配位或键合可以有效提高肿瘤的PDT效率。锰(III)、铁(III)、铜(II)等高氧化态金属离子与光敏剂结合之后,都显示出了较强的GSH消耗能力,可以有效提高肿瘤的PDT效率。

四价锰Mn(IV)主要以MnO₂的形式存在。Mn(IV)消耗GSH的方式主要是将MnO₂负载在光敏剂纳米颗粒上,当Mn(IV)被GSH还原为Mn(II)时,MnO₂外壳将分解并释放出光敏剂纳米颗粒,增强肿瘤的PDT治疗效果;同时,还原生成的Mn(II)可以用于磁共振成像(MRI)。如图 15 所示,Min 等^[60]构建了一种Zr卟啉基金属有机骨架(MOF)纳米颗粒同时作为光敏剂和血管内皮生长因子受体2(VEGFR2)抑制剂阿

帕替尼的递送载体,实现了抗血管生成疗法与PDT联合治疗。核心纳米颗粒包裹在MnO₂中,以消耗肿瘤内的GSH。经MnO₂包裹的纳米颗粒处理后,4T1细胞内的GSH水平显著降低,肿瘤的PDT疗效明显改善。

Mn(III)能够被GSH还原为Mn(II),从而消耗肿瘤细胞中的GSH。如图 16 所示,Wan 等^[61]利用Mn(III)与卟啉单元(TCPP)的配体配位,制备了一种Mn(III)密封的MOF基纳米光敏剂Mn(III)-TCPP MOFs。Mn(III)作为猝灭剂,不仅可以猝灭基于TCPP的荧光,还可以抑制ROS的生成,使Mn(III)-TCPP MOFs成为一种“惰性”光敏剂。Mn(III)-TCPP MOFs被肿瘤细胞内吞后,由于Mn(III)与GSH之间的氧化还原反应,MOF被肿瘤细胞内的GSH分解为Mn(II)和游离型TCPP,TCPP的ROS

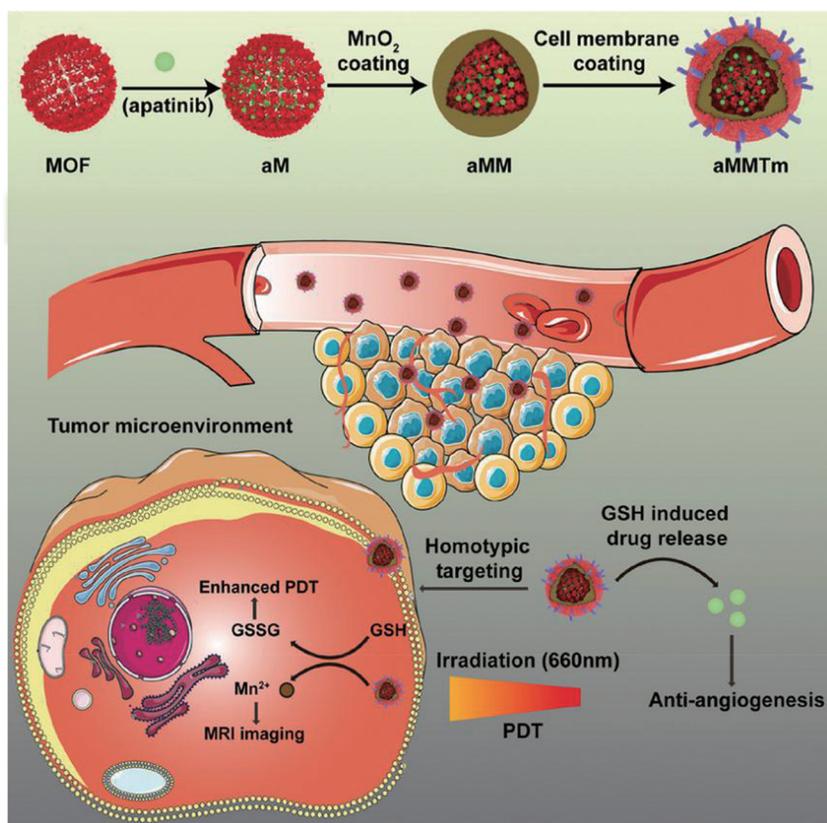


图 15 aMMTm 制备以及 PDT 和抗血管生成联合治疗示意图^[60]

Fig. 15 Schematic illustration of aMMTm preparation and combination therapy of PDT and antiangiogenesis^[60]

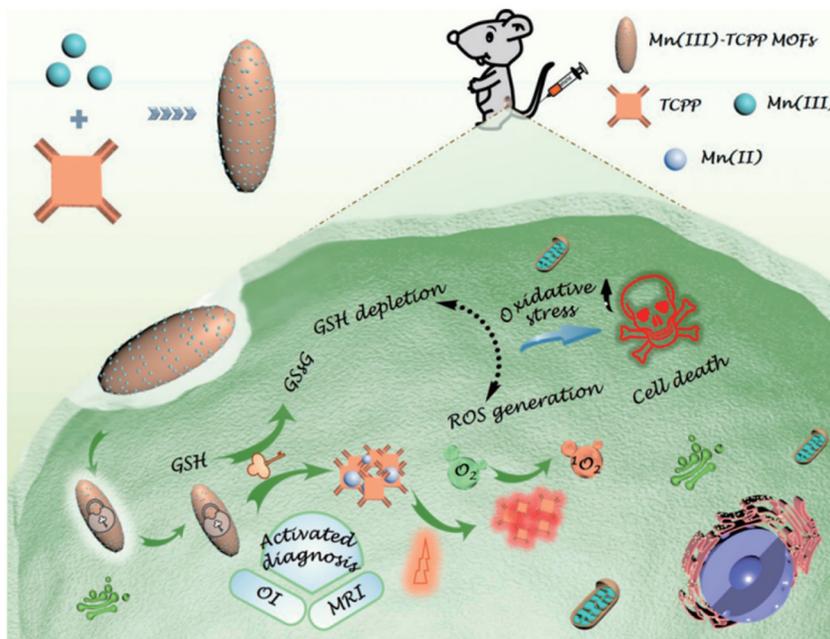


图 16 Mn(III)-TCPP MOFs 通过控制肿瘤细胞中 GSH 过表达后的 ROS 生成和 GSH 消耗实现 MRI 和光学成像引导的 PDT 示意图^[61]

Fig. 16 Schematic illustration of Mn(III)-TCPP MOFs for MRI- and optical imaging-guided PDT by controlled ROS generation and GSH depletion after being unlocked by overexpressed GSH in tumor cells^[61]

生成能力得以恢复。这种 Mn(III) 配位的 MOF 能够在肿瘤部位实现 ROS 的选择性产生,有效减小 PDT 对正常组织的毒副作用,而且 GSH 的消耗能够有效提高肿瘤的 PDT 治疗效果。

除了 Mn(IV) 与 Mn(III) 外,Fe(III) 与 Cu(II) 也可以与 GSH 发生氧化还原反应,消耗 GSH;此外,Fe(III) 和 Cu(II) 在触发 GSH 消耗的同时,也会发生芬顿反应与类芬顿反应,在改善 PDT 治疗效果的同时

产生化学动力学治疗(CDT),增强肿瘤的治疗效果。与Mn(III)氧化还原反应类似,Fe(III)可以被GSH还原为Fe(II)。如图17所示,Wang等^[62]将Fe(III)离子与卟啉配位形成了Fe(III)-TCPP纳米粒子。Fe(III)对卟啉单元的光动力活性同样具有猝灭作用,Fe(III)离子与卟啉配位后,TCPP的荧光和PDT活性就会被猝灭;被肿瘤细胞内吞后,Fe(III)-TCPP纳米粒子

在GSH过表达情况下分解并释放游离Fe(III)和TCPP,Fe(III)能迅速消耗胞内的GSH,产生Fe(II)和GSSG,促使ROS诱导肿瘤细胞损伤,增强肿瘤的PDT效果。此外,生成的Fe(II)可以催化芬顿反应,生成ROS并实现CDT肿瘤治疗。肿瘤微环境不仅可以触发释放游离的TCPP和Fe(III)离子,还可以用于荧光成像和磁共振成像,实现对肿瘤的精确定位与诊断。

Cu(II)也是目前消耗GSH的主要选择。在GSH过表达环境中,Cu(II)首先被GSH还原成Cu(I),接着Cu(I)形成一种氧化还原物质,将分子氧以及过氧化氢还原为超氧阴离子与羟基自由基。铜离子不仅可以实现CDT癌症治疗,还可以通过GSH清除机制提高治疗效果。如图18所示,Zhang等^[63]制备了一种新型卟啉基三维共价有机骨架3D COF-TATB,并将铜离子嵌入骨架中得到了多功能纳米材料3D Cu@COF-TATB。3D COF-TATB中的卟啉单元不仅是PDT过程中产生单线态氧(¹O₂)的光敏剂,也是与Cu(II)络合物结合的位点。在肿瘤细胞中,Cu(II)可以被GSH还原成Cu(I),实现GSH的损耗,从而提高PDT的治疗效果。此外,Cu(I)可以通过类芬顿反应生成羟基自由基等多种类型的ROS,诱导癌细胞的免疫原性细胞死亡(ICD),提高免疫原性,进一步激活攻击肿瘤的免疫反应。

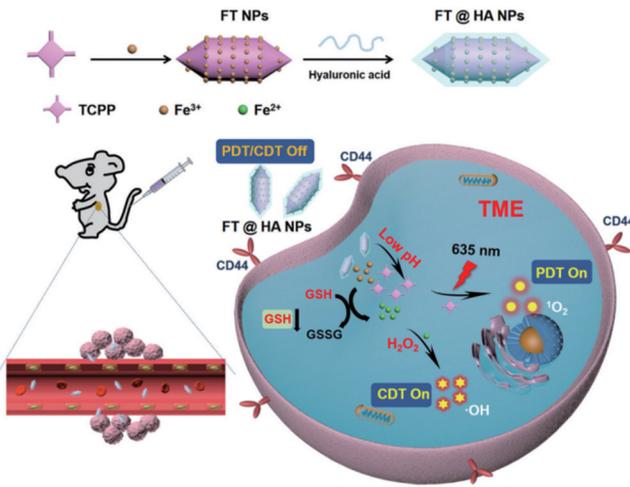


图 17 光敏剂 FT@HA NPs 的合成以及体内活化联合治疗示意图^[62]

Fig. 17 Synthesis of photosensitizer FT@HA NPs and activated combination therapy *in vivo*^[62]

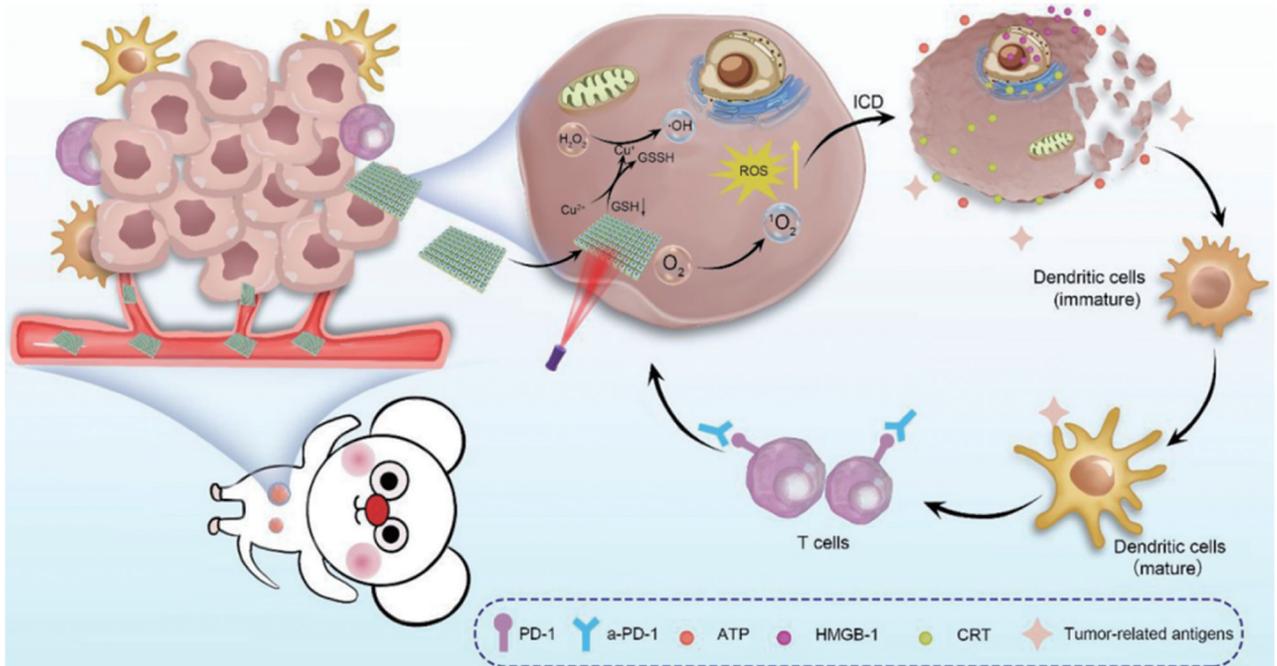


图 18 3D Cu@COF-TATB 光敏剂 PDT/CDT 触发 ICD 癌症免疫治疗示意图^[63]

Fig. 18 Schematic illustration of 3D Cu@COF-TATB for cancer immunotherapy via PDT/CDT-triggered ICD^[63]

除了常见的锰离子、铁离子、铜离子外,铂(IV)的还原也可以消耗GSH^[64]。铂(II)类抗癌药物包括顺铂、卡铂和奥沙利铂,已被广泛用于临床治疗,但这些药物仍存在稳定性差、生物利用度低和产生耐药性等缺点。为解决

这些问题,研究人员通过修改铂的轴向位置设计了更加稳定有效的多功能铂(IV)前药^[64]。铂(IV)前药被细胞摄取后,GSH可将铂(IV)还原成活性铂(II),并消耗GSH。但是,目前基于铂(IV)与光敏剂结合的研究还相对较少。

5 结束语

GSH 是一种结构相对简单的三肽,也是癌症治疗中的双刃剑。肿瘤内的高表达 GSH 会降低光敏化 ROS 浓度和 PDT 疗效;同时,高表达 GSH 可以作为肿瘤治疗的生物靶标,是响应型 PDT 的有效触发通道之一。开发 GSH 内源性激活型光敏剂能实现其在肿瘤部位的选择性激活,有效提高 PDT 治疗的精确性和效果,降低对正常组织的副作用。GSH 的消耗不仅可以提高光敏化 ROS 浓度和 PDT 疗效,还可以克服肿瘤的耐药性。近年来,尽管 GSH 响应型光敏剂的研究取得了一些进展,但仍有若干问题和挑战尚待解决:

1) GSH 在不同肿瘤和肿瘤生长的不同阶段产生的作用仍有待研究,尚未测定不同肿瘤在肿瘤生长各阶段的瘤内 GSH 浓度差异。利用先进生化技术揭示基于 GSH 的肿瘤治疗机制以及不同肿瘤在不同阶段的 GSH 表达水平,可以为设计更有效的特异性 GSH 响应型光敏剂提供理论依据。

2) GSH 缺失将导致相关 GSH 合成酶上调,动态恢复局部区域的 GSH 水平,在特殊情况下,GSH 浓度甚至会超过其初始浓度(尤其是在耐药癌细胞中),进而可能会制约肿瘤的有效治疗。

3) 目前,GSH 消耗型光敏剂主要是针对降低在体 GSH 浓度开发的,而如何从根本上抑制 GSH 合成还有待进一步研究。

参 考 文 献

- [1] Chabner B A, Roberts T G. Chemotherapy and the war on cancer [J]. *Nature Reviews Cancer*, 2005, 5(1): 65-72.
- [2] Wu M Q, Ding Y M, Li L L. Recent progress in the augmentation of reactive species with nanoplatfoms for cancer therapy[J]. *Nanoscale*, 2019, 11(42): 19658-19683.
- [3] Cheng Z J, Zhang T, Wang W L, et al. D-A-D structured selenadiazolesbenzothiadiazole-based near-infrared dye for enhanced photoacoustic imaging and photothermal cancer therapy [J]. *Chinese Chemical Letters*, 2021, 32(4): 1580-1585.
- [4] Ma X B, Li S J, Liu Y T, et al. Bioengineered nanogels for cancer immunotherapy[J]. *Chemical Society Reviews*, 2022, 51(12): 5136-5174.
- [5] Li B H, Lin L S, Lin H Y, et al. Photosensitized singlet oxygen generation and detection: recent advances and future perspectives in cancer photodynamic therapy[J]. *Journal of Biophotonics*, 2016, 9(11/12): 1314-1325.
- [6] Yun S H, Kwok S J J. Light in diagnosis, therapy and surgery[J]. *Nature Biomedical Engineering*, 2017, 1: 8.
- [7] 王少伟, 雷铭. 双光子激发光动力治疗研究进展[J]. *中国激光*, 2022, 49(15): 1507101.
Wang S W, Lei M. Recent advances in two-photon excited photodynamic therapy[J]. *Chinese Journal of Lasers*, 2022, 49(15): 1507101.
- [8] Celli J P, Spring B Q, Rizvi I, et al. Imaging and photodynamic therapy: mechanisms, monitoring, and optimization[J]. *Chemical Reviews*, 2010, 110(5): 2795-2838.
- [9] Luby B M, Walsh C D, Zheng G. Advanced photosensitizer activation strategies for smarter photodynamic therapy beacons[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2019, 58(9): 2558-2569.

- [10] Li X S, Lee S Y, Yoon J Y. Supramolecular photosensitizers rejuvenate photodynamic therapy[J]. *Chemical Society Reviews*, 2018, 47(4): 1174-1188.
- [11] Plaetzer K, Krammer B, Berlanda J, et al. Photophysics and photochemistry of photodynamic therapy: fundamental aspects[J]. *Lasers in Medical Science*, 2009, 24(2): 259-268.
- [12] Sharman W M, van Lier J E, Allen C M. Targeted photodynamic therapy via receptor mediated delivery systems[J]. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2004, 56(1): 53-76.
- [13] 李步洪, 陈天龙, 林立, 等. 光动力疗法基础研究与临床应用的新进展[J]. *中国激光*, 2022, 49(5): 0507101.
Li B H, Chen T L, Lin L, et al. Recent progress in photodynamic therapy: from fundamental research to clinical applications[J]. *Chinese Journal of Lasers*, 2022, 49(5): 0507101.
- [14] Feng G X, Zhang G Q, Ding D. Design of superior phototheranostic agents guided by Jablonski diagrams[J]. *Chemical Society Reviews*, 2020, 49(22): 8179-8234.
- [15] Fan W P, Huang P, Chen X Y. Overcoming the achilles' heel of photodynamic therapy[J]. *Chemical Society Reviews*, 2016, 45(23): 6488-6519.
- [16] Oleinick N L, Morris R L, Belichenko I. The role of apoptosis in response to photodynamic therapy: what, where, why, and how [J]. *Photochemical & Photobiological Sciences*, 2002, 1(1): 1-21.
- [17] Dolmans D E J G J, Kadambi A, Hill J S, et al. Vascular accumulation of a novel photosensitizer, MV6401, causes selective thrombosis in tumor vessels after photodynamic therapy [J]. *Cancer Research*, 2002, 62(7): 2151-2156.
- [18] 赵洪友, 王钰铖, 邱海霞, 等. 光动力治疗与抗肿瘤免疫[J]. *中国激光医学杂志*, 2014, 23(1): 34-38.
Zhao H Y, Wang Y C, Qiu H X, et al. Photodynamic therapy and anti-tumor immunity[J]. *Chinese Journal of Laser Medicine & Surgery*, 2014, 23(1): 34-38.
- [19] Dai H M, Cheng Z J, Zhang T, et al. Boron difluoride formazanate dye for high-efficiency NIR- II fluorescence imaging-guided cancer photothermal therapy[J]. *Chinese Chemical Letters*, 2022, 33(5): 2501-2506.
- [20] Chen L P, Zuo W B, Xiao Z M, et al. A carrier-free metal-coordinated dual-photosensitizers nanotheranostic with glutathione-depletion for fluorescence/photoacoustic imaging-guided tumor phototherapy[J]. *Journal of Colloid and Interface Science*, 2021, 600: 243-255.
- [21] Ma Q L, Sun X, Wang W L, et al. Diketopyrrolopyrrole-derived organic small molecular dyes for tumor phototheranostics[J]. *Chinese Chemical Letters*, 2022, 33(4): 1681-1692.
- [22] Zhang M, Guo X L, Wang M F, et al. Tumor microenvironment-induced structure changing drug/gene delivery system for overcoming delivery-associated challenges[J]. *Journal of Controlled Release*, 2020, 323: 203-224.
- [23] Yao C Z, Li Y M, Wang Z X, et al. Cytosolic NQO1 enzyme-activated near-infrared fluorescence imaging and photodynamic therapy with polymeric vesicles[J]. *ACS Nano*, 2020, 14(2): 1919-1935.
- [24] Piao W, Hanaoka K, Fujisawa T, et al. Development of an azo-based photosensitizer activated under mild hypoxia for photodynamic therapy[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2017, 139(39): 13713-13719.
- [25] Radunz S, Wedepohl S, Röhr M, et al. pH-activatable singlet oxygen-generating boron-dipyromethenes (BODIPYs) for photodynamic therapy and bioimaging[J]. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2020, 63(4): 1699-1708.
- [26] Chen D P, Dai H M, Wang W L, et al. Proton-driven transformable $^1\text{O}_2$ -nanotrap for dark and hypoxia tolerant photodynamic therapy[J]. *Advanced Science*, 2022, 9(17): 2200128.
- [27] 蓝善优, 张达, 刘小龙, 等. 肿瘤微环境响应的智能纳米载体在肿瘤光动力治疗中的应用[J]. *中国激光*, 2018, 45(2): 0207008.
Lan S Y, Zhang D, Liu X L, et al. Tumor-microenvironment activable smart nanocarrier system for photodynamic therapy of

- cancers[J]. Chinese Journal of Lasers, 2018, 45(2): 0207008.
- [28] Singh S, Khan A R, Gupta A K. Role of glutathione in cancer pathophysiology and therapeutic interventions[J]. Journal of Experimental Therapeutics & Oncology, 2012, 9(4): 303-316.
- [29] Balendiran G K, Dabur R, Fraser D. The role of glutathione in cancer[J]. Cell Biochemistry and Function, 2004, 22(6): 343-352.
- [30] Sies H. Glutathione and its role in cellular functions[J]. Free Radical Biology and Medicine, 1999, 27(9/10): 916-921.
- [31] Henderson C J, Ritchie K J, McLaren A, et al. Increased skin papilloma formation in mice lacking glutathione transferase GSTP [J]. Cancer Research, 2011, 71(22): 7048-7060.
- [32] Ritchie K J, Walsh S, Sansom O J, et al. Markedly enhanced colon tumorigenesis in Apc(Min) mice lacking glutathione S-transferase Pi[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2009, 106(49): 20859-20864.
- [33] Li J J, Wang Q J, Yang Y, et al. GSTZ1 deficiency promotes hepatocellular carcinoma proliferation via activation of the KEAP1/NRF2 pathway[J]. Journal of Experimental & Clinical Cancer Research, 2019, 38(1): 438.
- [34] Barrett C W, Ning W, Chen X, et al. Tumor suppressor function of the plasma glutathione peroxidase GPX3 in colitis-associated carcinoma[J]. Cancer Research, 2013, 73(3): 1245-1255.
- [35] Schieber M, Chandel N S. ROS function in redox signaling and oxidative stress[J]. Current Biology, 2014, 24(10): R453-R462.
- [36] Traverso N, Ricciarelli R, Nitti M, et al. Role of glutathione in cancer progression and chemoresistance[J]. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2013, 2013: 972913.
- [37] Irmak M B, Ince G, Ozturk M, et al. Acquired tolerance of hepatocellular carcinoma cells to selenium deficiency: a selective survival mechanism? [J]. Cancer Research, 2003, 63(20): 6707-6715.
- [38] Raza A, Hayat U, Rasheed T, et al. Redox-responsive nano-carriers as tumor-targeted drug delivery systems[J]. European Journal of Medicinal Chemistry, 2018, 157: 705-715.
- [39] Yang G L, Chen C, Zhu Y C, et al. GSH-activatable NIR nanoplatfrom with mitochondria targeting for enhancing tumor-specific therapy[J]. ACS Applied Materials & Interfaces, 2019, 11(48): 44961-44969.
- [40] Cao J J, Zhang M S, Li X Q, et al. A glutathione-responsive photosensitizer with fluorescence resonance energy transfer characteristics for imaging-guided targeting photodynamic therapy [J]. European Journal of Medicinal Chemistry, 2020, 193: 112203.
- [41] 李阳, 王秀翊, 李艳艳, 等. 金属有机框架载药平台光动力消融乳腺癌细胞[J]. 激光与光电子学进展, 2021, 58(14): 1417002.
- Li Y, Wang X H, Li Y Y, et al. Drug-loaded platform based on metal-organic framework for photodynamic ablation of breast cancer cells[J]. Laser & Optoelectronics Progress, 2021, 58(14): 1417002.
- [42] Yang Y J, Zhang Y F, Wang R, et al. A glutathione activatable pro-drug-photosensitizer for combined chemotherapy and photodynamic therapy[J]. Chinese Chemical Letters, 2022, 33(10): 4583-4586.
- [43] Turan I S, Cakmak F P, Yildirim D C, et al. Near-IR absorbing BODIPY derivatives as glutathione-activated photosensitizers for selective photodynamic action[J]. Chemistry, 2014, 20(49): 16088-16092.
- [44] Hu P, Xu G, Yang D C, et al. An advanced multifunctional prodrug combining photodynamic therapy with chemotherapy for highly efficient and precise tumor ablation[J]. Dyes and Pigments, 2022, 205: 110500.
- [45] Ding K K, Zhang Y W, Si W L, et al. Zinc(II) metalated porphyrins as photothermogenic photosensitizers for cancer photodynamic/photothermal synergistic therapy[J]. ACS Applied Materials & Interfaces, 2018, 10(1): 238-247.
- [46] Huang K S, Xie S, Jiang L Z, et al. A glutathione and hydrogen sulfide responsive photosensitizer for enhanced photodynamic therapy[J]. Dyes and Pigments, 2022, 205: 110529.
- [47] Wang R, Xia X, Yang Y J, et al. A glutathione activatable photosensitizer for combined photodynamic and gas therapy under red light irradiation[J]. Advanced Healthcare Materials, 2022, 11(4): 2102017.
- [48] Zeng L L, Kuang S, Li G Y, et al. A GSH-activatable ruthenium (II)-azo photosensitizer for two-photon photodynamic therapy[J]. Chemical Communications, 2017, 53(12): 1977-1980.
- [49] Xu F, Li H D, Yao Q C, et al. Hypoxia-activated NIR photosensitizer anchoring in the mitochondria for photodynamic therapy[J]. Chemical Science, 2019, 10(45): 10586-10594.
- [50] Liu Z W, Song F L, Shi W B, et al. Nitroreductase-activatable theranostic molecules with high PDT efficiency under mild hypoxia based on a TADF fluorescein derivative[J]. ACS Applied Materials & Interfaces, 2019, 11(17): 15426-15435.
- [51] Chen H C, Bi Q R, Yao Y R, et al. Dimeric BODIPY-loaded liposomes for dual hypoxia marker imaging and activatable photodynamic therapy against tumors[J]. Journal of Materials Chemistry B, 2018, 6(26): 4351-4359.
- [52] Li Z S, Liu Y, Chen L, et al. A glutathione-activatable photodynamic and fluorescent imaging monochromatic photosensitizer[J]. Journal of Materials Chemistry B, 2017, 5(22): 4239-4245.
- [53] Hwang B, Kim T I, Kim H, et al. Ubiquinone-BODIPY nanoparticles for tumor redox-responsive fluorescence imaging and photodynamic activity[J]. Journal of Materials Chemistry B, 2021, 9(3): 824-831.
- [54] Jomova K, Valko M. Advances in metal-induced oxidative stress and human disease[J]. Toxicology, 2011, 283(2/3): 65-87.
- [55] Hussain S M, Hess K L, Gearhart J M, et al. *In vitro* toxicity of nanoparticles in BRL 3A rat liver cells[J]. Toxicology in Vitro, 2005, 19(7): 975-983.
- [56] Ke L B, Wei F M, Liao X X, et al. Nano-assembly of ruthenium (II) photosensitizers for endogenous glutathione depletion and enhanced two-photon photodynamic therapy[J]. Nanoscale, 2021, 13(16): 7590-7599.
- [57] Ke L B, Wei F M, Xie L N, et al. A biodegradable iridium(III) coordination polymer for enhanced two-photon photodynamic therapy using an apoptosis-ferroptosis hybrid pathway[J]. Angewandte Chemie (International Ed. in English), 2022, 61(28): e202205429.
- [58] Zhu Y, Song N, Chen L, et al. Reduction responsive BODIPY decorated mesoporous silica nanoscale platforms for photodynamic therapy[J]. Microporous and Mesoporous Materials, 2021, 311: 110689.
- [59] Li K, Dong W Y, Miao Y X, et al. Dual-targeted 5-aminolevulinic acid derivatives with glutathione depletion function for enhanced photodynamic therapy[J]. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, 2021, 215: 112107.
- [60] Min H, Wang J, Qi Y Q, et al. Biomimetic metal-organic framework nanoparticles for cooperative combination of antiangiogenesis and photodynamic therapy for enhanced efficacy [J]. Advanced Materials, 2019, 31(15): 1808200.
- [61] Wan S S, Cheng Q, Zeng X, et al. A Mn(III)-sealed metal-organic framework nanosystem for redox-unlocked tumor theranostics[J]. ACS Nano, 2019, 13(6): 6561-6571.
- [62] Wang B, Dai Y N, Kong Y J, et al. Tumor microenvironment-responsive Fe(III)-porphyrin nanotheranostics for tumor imaging and targeted chemodynamic-photodynamic therapy[J]. ACS Applied Materials & Interfaces, 2020, 12(48): 53634-53645.
- [63] Zhang X, Wang S L, Tang K, et al. Cu²⁺ embedded three-dimensional covalent organic framework for multiple ROS-based cancer immunotherapy[J]. ACS Applied Materials & Interfaces, 2022, 14(27): 30618-30625.
- [64] Li X J, Liu Y H, Tian H Q. Current developments in Pt(IV) prodrugs conjugated with bioactive ligands[J]. Bioinorganic Chemistry and Applications, 2018, 2018: 8276139.

Progress of Glutathione-Responsive Photosensitizers for Tumor Therapy

Xu Kang¹, Zhang Tian¹, Shao Jinjun^{1*}, Dong Xiaochen^{1,2}

¹*Institute of Advanced Materials, Nanjing Tech University, Nanjing 211816, Jiangsu, China;*

²*School of Chemistry & Materials Science, Jiangsu Normal University, Xuzhou 221116, Jiangsu, China*

Abstract

Significance Photodynamic therapy (PDT) is an effective tumor treatment modality that uses light-activating photosensitizing drugs known as “photosensitizers” (PSs). PSs selectively accumulate in tumor tissues and convert molecular oxygen in cells and tissues into biotoxic reactive oxygen species (ROS) under specific wavelengths of light irradiation, resulting in oxidative damage to cancer cells. PDT is noninvasive and has low toxicity. It has attracted widespread attention in tumor treatment research. However, there are still challenges in the use of PDT for the treatment of tumors. First, the tissue penetration depth of light is insufficient, which reduces the PDT effect in deep tumor tissue. Second, PDT has poor targeting ability and can easily cause damage to normal tissues. Third, the tumor tissue can scavenge the generated ROS, reducing the therapeutic efficiency of PDT. Compared with normal tissue, tumor tissue has significant pathological changes, showing a characteristic tumor microenvironment, such as weak acidity, hypoxia, protease overexpression, and glutathione (GSH) overexpression. In the design of PSs, overexpressed GSH in the tumor microenvironment is used as a biotarget and trigger factor that can selectively activate the photodynamic activity of PSs accumulated at tumor sites. Therefore, PDT-targeted treatment of tumors can be achieved, and damage to normal tissues can be reduced. However, overexpression of GSH also consumes ROS generated by PS irradiation, which seriously affects the therapeutic efficiency of PSs in tumor phototherapy. In this review, the roles of GSH in organisms are introduced, and GSH-activating and GSH-depleting PSs that have appeared in recent years are described. Finally, the challenges and future development directions of GSH-responsive PSs are discussed.

Progress Activated PSs are only selectively activated in tumors for PDT and have less nonspecific phototoxicity. Under light irradiation, the activable PS maintains quenching in nontumor tissues, produces only a small amount of ROS, and has low tissue toxicity. However, when PSs are activated by specific tumor microenvironmental biological targets, the ROS production capacity can be significantly improved to achieve *in situ* targeted therapy of tumors. The concentration of GSH at the tumor site is much higher than that in normal cells and extracellular fluid, making GSH an excellent PS trigger. Using GSH as an endogenous stimulator to activate PSs to trigger photodynamic responses at tumor sites selectively can improve the precision of PDT and tumor treatment efficiency and reduce toxic side effects on normal tissues. The design principle of GSH-activated PSs is mainly to regulate the ROS production capacity of the PS through fluorescence resonance energy transfer (FRET) or intramolecular photoelectron transfer (PeT). The disulfide bond (S—S) is broken by the attack of reduced GSH, which can be used as a bonding group to connect the donor and acceptor molecules covalently to achieve intramolecular FRET. The disulfide bond can be used as a linking group to connect the PS molecule with the PDT quencher and realize the selective activation of the PS at high concentrations of GSH in tumor tissue. The introduction of electron donors or acceptors into the molecule to form a PeT system with a chromophore can control the ROS generation capacity of the PSs. 2,4-dinitrobenzenesulfonate (DNBS) is often used as a photodynamic quenching group because of its strong electron absorption ability. The excited state of the PS is quenched by introducing the DNBS group, and the singlet oxygen generation ability is then quenched. Before the PS is activated, it does not exhibit cytotoxicity. After the sulfonyl group in DNBS is cleaved under the induction of GSH, the DNBS group leaves, and the PS is activated, which can generate cytotoxic singlet oxygen. In addition, azo ligands and nitro groups are often used to design GSH-responsive PSs. The high expression of GSH in tumor cells can eliminate exogenous ROS, which is not conducive to the accumulation of exogenous ROS and reduces the efficiency of PDT treatment. Currently, the most common method used to consume GSH is the use of disulfide and highly oxidized metal ions, including manganese (III), iron (III), and copper (II) ions. High-oxidation-state metal ions can consume GSH through redox reactions, and the metal ions themselves are reduced to low-oxidation-state metal ions. The introduction of disulfide bonds and highly oxidized metal ions into PSs can effectively reduce the GSH concentration and improve the therapeutic effect of PDT.

Conclusions and Prospects GSH-activated PSs can be selectively turned on at tumor sites, improving the accuracy of PDT and tumor treatment efficiency and reducing side effects on normal tissues. The consumption of GSH not only solves the problem of ROS scavenging and improves PDT efficacy but also reduces the drug resistance of tumors and improves the therapeutic effect. Although research on GSH-responsive PSs has made significant progress recently, some problems and challenges remain. First, the exact role of GSH in multiple tumors and different tumor stages must be elucidated. Second, GSH deletion leads to the upregulation of related GSH synthetase, potentially negatively affecting tumor therapy. Finally, how to fundamentally inhibit GSH synthesis remains to be studied.

Key words medical optics; glutathione; tumor microenvironment; photodynamic therapy; photosensitizer; phototherapy