

• 综 述 • doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2022.02.031

网络首发 <https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20211230.1031.011.html>(2021-12-30)

3-溴丙酮酸与纳米材料结合应用于肿瘤治疗的研究进展^{*}

何依蔓¹综述,张 亮²,王 冬^{1△}审校

(1. 重庆医科大学附属第一医院超声科 400016;2. 重庆医科大学附属第二医院超声科 400010)

[摘要] 能量代谢异常是肿瘤的典型特征之一,大多数肿瘤高度依赖有氧糖酵解来快速获取能量,这种现象称为“Warburg”效应。与传统放疗化疗策略相比,抑制有氧糖酵解能够更加高效地限制肿瘤能量的产生,从而抑制肿瘤细胞增殖。已有大量实验证明,小分子烷基化试剂 3-溴丙酮酸作为有氧糖酵解的抑制剂,可以有效抑制恶性肿瘤的增殖,同时不损伤正常组织。游离的 3-溴丙酮酸在临床上的应用仍存在问题与争议。而将 3-溴丙酮酸和新型纳米材料结合,能改善 3-溴丙酮酸的稳定性、靶向性及生物安全性等一系列问题。

[关键词] 3-溴丙酮酸;纳米材料;肿瘤代谢;肿瘤治疗

[中图法分类号] R73-36

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2022)02-0331-05

Study advances on application of combination of 3-bromopyruvate and nanomaterials in tumor treatment^{*}

HE Yiman¹,ZHANG Liang²,WANG Dong^{1△}

(1. Department of Ultrasound, First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China; 2. Department of Ultrasound, Second Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing, 400010, China)

[Abstract] Abnormal energy metabolism is one of the typical characteristics of tumors. Most tumors are highly dependent on aerobic glycolysis to obtain energy quickly. This phenomenon is called the "Warburg" effect. Compared with the traditional radio-chemotherapeutic strategies, inhibiting aerobic glycolysis can more efficiently limit the production of tumor energy, thereby inhibiting the tumor cell proliferation. A large number of experiments have proved that the small molecule alkylating agent 3-bromopyruvate, as an inhibitor of aerobic glycolysis, can effectively inhibit the proliferation of malignant tumors without damaging the normal tissues. However, there are still problems and controversies in the clinical application of free 3-bromopyruvate. The combination of 3-bromopyruvate and new nanomaterials can improve a series of problems of 3-bromopyruvate such as the stability, targeting and biological safety.

[Key words] 3-bromopyruvate; nanostructures; neoplasms metabolism; neoplasms therapeutics

癌症被列为人类死亡的主要原因,占全球人类所有死亡的 13%^[1]。这种严峻形势促使人们去揭示癌症的发病机制,建立有效的预防方法,并寻求新的癌症筛查和诊断及治疗方法。

肿瘤代谢被认为是癌症的新兴标志^[2]。能量代谢的改变不仅为癌细胞提供生长所需的能量(ATP),同时还向肿瘤细胞提供了增殖所需的营养物质,如核苷酸、氨基酸和脂质等,这些能量和营养物质为肿瘤细胞快速增殖,恶性侵袭和转移提供了条件^[3]。

1956 年,德国科学家 Otto Warburg 认识到了癌

细胞独特的代谢特征,并提出了“有氧糖酵解”的概念,即无论是否存在氧气,肿瘤细胞总是优先通过葡萄糖发酵成乳酸来获取能量,这种现象也被称为“Warburg 效应”。

3-溴丙酮酸(3-bromopyruvate, 3-BrPA)作为丙酮酸和乳酸的类似物,是一种小分子烷基化试剂,其主要通过抑制肿瘤细胞糖酵解和线粒体氧化磷酸化(OXPHOS)来杀死肿瘤细胞^[4]。目前,3-BrPA 已被证明具有广泛的抗肿瘤作用,但是在临床上仍面临一些不良反应,所以尚未普遍应用于临床肿瘤治疗^[5]。

^{*} 基金项目:国家自然科学基金面上项目(81771845);重庆市自然科学基金重点项目(cstc2019jcyj-zdxmX0019)。 作者简介:何依蔓(1995—),在读硕士,主要从事分子影像的研究。 △ 通信作者,E-mail:wang57554@163.com。

本文重点针对现有 3-BrPA 与纳米材料结合应用于肿瘤治疗的优势进行讨论,同时也探讨肿瘤代谢的改变,以及 3-BrPA 用于肿瘤治疗的机制,旨在为 3-BrPA 用于临床抗肿瘤治疗,尤其是难治性神经系统肿瘤的治疗,提供新的思路与方向。

1 肿瘤代谢改变

肿瘤细胞为满足其快速生长所需的能量及物质需求,往往需要进行代谢重编程^[6]。首先,肿瘤细胞通过定量、定性调节转运蛋白的变化,来摄取大量营养物质^[7]。其中葡萄糖转运蛋白(GLUTs,特别是 GLUT-1 和 GLUT-3)的上调,促进了大量葡萄糖的摄取,为恶性细胞能量代谢提供充足的物质前提^[8]。此外,单羧酸盐转运蛋白(MCTs)在大多数肿瘤中过表达,其中 MCT1 主要用于摄取乳酸,而 MCT4 主要用于排出肿瘤细胞内过量的乳酸,维持细胞内环境的稳定。还有研究表明,多数肿瘤细胞还会过表达谷氨酰胺和其他氨基酸的转运蛋白,而谷氨酰胺有助于肿瘤细胞的氧化还原稳态^[9]。

除了转运蛋白的改变,肿瘤细胞还通过上调催化酶的表达,加快其代谢速度^[7]。已知己糖激酶(HK)可以将葡萄糖磷酸化为 6-磷酸葡萄糖,其中 HK2 在大多数肿瘤细胞中选择性过表达^[10-11],在肿瘤细胞中,大约有 80% 的 HK2 通过电压依赖性蛋白(VDAC)与线粒体结合,与线粒体结合的 HK2 可以获得葡萄糖磷酸化所需的 ATP,从而加速糖酵解^[12]。3-磷酸甘油醛脱氢酶(GAPDH)是糖酵解中的另一种关键酶,GAPDH 通常在各种恶性肿瘤中过表达,其表达与不良预后相关^[13]。

“Warburg 效应”并不意味着肿瘤细胞线粒体功能障碍。有观察结果表明,线粒体在癌细胞代谢中起关键作用,线粒体 OXPHOS 和谷氨酰胺分解有助于癌症进展和转移^[14]。在正常细胞中,丙酮酸脱氢酶(PDH)可以将丙酮酸转化为乙酰辅酶 A,乙酰辅酶 A 再进入线粒体,参与线粒体 OXPHOS,但在肿瘤细胞中,由于丙酮酸脱氢酶激酶(PDK)上调,对 PDH 起负调节作用。PDH 的失活,导致大部分丙酮酸被乳酸脱氢酶(LDH)代谢为乳酸。此外,LDH 在肿瘤细胞中过表达,也促进了糖酵解的发生^[15]。

糖酵解还为肿瘤细胞提供了快速增殖和恶性进展所需的大分子物质。例如,糖酵解产生的还原型辅酶 II (NADPH),可以使癌细胞维持抗氧化型谷胱甘肽(GSH)的供应,这是维持细胞内氧化还原状态并保护癌细胞免受化学药物损伤作用所必需的^[16]。此外,肿瘤细胞产生的乳酸,通过 MCT 外排,在细胞外形成酸性微环境,也促进了癌细胞的侵袭和转移^[17]。

2 3-BrPA 作用机制

尽管肿瘤细胞代谢的改变为其快速增殖和转移

提供了充足的能量和底物,但与此同时,这些改变也可以成为治疗癌症的关键靶点。近年来,小分子烷基化剂试剂 3-BrPA 受到了大量科研人员的广泛关注,因为其对生物大分子(例如酶和蛋白质)具有很强的烷基化特性。其烷基化过程发生在双分子亲核取代反应(SN2)中,3-BrPA 不可逆地与目标化合物的亲核基团共价结合,从而抑制目标化合物的活性,例如:GAPDH 和 HK 等^[18]。3-BrPA 与乳酸、丙酮酸结构类似,肿瘤细胞中上调的 MCT1 可以介导 3-BrPA 进入细胞内发挥作用^[19]。3-BrPA 通过与目标蛋白半胱氨酸(Cys)中的巯基共价结合而发生反应,以达到修饰或灭活蛋白质的作用^[20]。3-BrPA 同时抑制肿瘤糖酵解和线粒体 OXPHOS,从而导致细胞内 ATP 的大量消耗,从而杀死癌细胞^[21]。还有研究表明,3-BrPA 可以通过调节 HIF-1 α 的表达,从而使 GLUT-1 表达下降,减少肿瘤细胞对葡萄糖摄取,从而阻碍肿瘤细胞的营养摄取^[22-23]。

大量研究证实,3-BrPA 能选择性抑制糖酵解途径中的关键酶 GAPDH 和 HK2,从而使肿瘤细胞的能量明显减少,氧化还原失衡,最终导致癌细胞死亡^[13,24]。同时,3-BrPA 还可以抑制线粒体 OXPHOS,从而导致 ATP 产量进一步下降,包括抑制丙酮酸脱氢酶(PDH),线粒体呼吸链的复合物 II (SDH),异柠檬酸脱氢酶(IDH)和 α -酮戊二酸脱氢酶(α KD)^[21,25]。此外,3-BrPA 也能抑制谷氨酰胺分解,进而影响肿瘤生物合成所需基础物质的补充^[25]。

有研究报道,3-BrPA 还可以通过增加肿瘤细胞内的活性氧(ROS),使细胞 DNA 损伤^[20]。在 3-BrPA 处理的细胞中,还发现细胞内 GSH 浓度显著降低^[26],而 GSH 是癌细胞免受氧化应激(例如 ROS)损伤的主要保护因子。有研究发现,3-BrPA 在酸性肿瘤微环境的半衰期更长且更加稳定,而在中性和碱性条件下易转化为 3-羟基丙酮酸盐(3-hydroxypyruvate, 3-HP),因此,3-BrPA 在癌细胞中能产生更明显的细胞毒性,而对正常组织不会产生严重的器官毒性^[7]。此外,3-BrPA 的作用导致肿瘤细胞内 ATP 缺乏,使细胞外排泵不能完全运行,进而使化疗药物能长时间停留在细胞内,从而持续发挥作用^[27]。

尽管 3-BrPA 在肿瘤治疗方面显示出巨大的优势,但是游离的 3-BrPA 在实际应用中仍会遇到一些不可避免的障碍:(1)在生理温度和 pH 值下,3-BrPA 的半衰期仅为 77 min,且 3-BrPA 不够稳定,可降解为 3-HP^[28];(2)3-BrPA 可以与 GSH 结合,从而降低了 3-BrPA 的抗癌效果^[29];(3)3-BrPA 在富含谷胱甘肽的肿瘤中表现出耐药性,而无法发挥选择性靶向作用^[30];(4)由于渗透性和保留效果增强的现象,3-BrPA 不能在肿瘤组织中持续存在^[31];(5)随着 3-BrPA

剂量的增加,其也会表现出肝毒性与肾毒性^[32]; (6)此外,3-BrPA 也无法透过血脑屏障,因此目前难以用于神经系统肿瘤的治疗^[33]。

目前,随着纳米技术的快速发展和进步,各种纳米材料不断涌现,这些纳米颗粒具有很强的穿透力,能穿过血管壁,直达靶区细胞,使超声分子显像与靶向治疗可以拓展到血管外领域(Extravascular)。利用最新的成像技术将药物直接送入肿瘤或肿瘤附近的动脉内,可以解决部分游离的 3-BrPA 用于肿瘤治疗时出现的问题。其中晶片、脂质体纳米颗粒、气雾剂和偶联物制剂等已在动物模型中显示出良好的抗肿瘤效果,并且没有发现明显的副作用。因此,将 3-BrPA 与纳米材料结合,是目前对游离 3-BrPA 的一个重大改进,可以将 3-BrPA 有效地传递到体内的肿瘤部位。

3 3-BrPA 与纳米材料联合应用的优势

CHAPIRO 等^[34]率先将 3-BrPA 与纳米级别材料相结合,他们使用 β -环糊精(β -CD)作为分子载体,将 3-BrPA 包封于 β -CD 中,通过核磁共振波谱证实了 β -CD-3-BrPA 复合物的存在,与游离的 3-BrPA 相比, β -CD-3-BrPA 的毒性更低且更稳定。接着,他们在胰腺癌的原位异种移植小鼠模型中,研究了 β -CD-3-BrPA 和 3-BrPA 全身给药的效果,结果发现,与游离 3-BrPA 相比,微囊化制剂对荷瘤小鼠的器官毒性和组织损伤更小。

在 2015 年 WICKS 等^[33]将 3-BrPA 加入可生物降解的 pCPP:SA 晶片中,合成了可生物降解的 3-BrPA 聚合物晶片,随后他们建立了高级别胶质瘤的啮齿同种异体移植模型,并评估了颅内 3-BrPA 晶片作为单一治疗及与替莫唑胺(TMZ)和放射治疗(XRT)联合治疗的疗效。结果显示,脑内注射 3-BrPA 聚合物是安全的,且可显著提高脑胶质瘤动物模型的存活率,同时没有表现出明显的神经或全身毒性。

脂质体是迄今为止研究最广泛的基于纳米技术的药物传递系统,其可以在肿瘤部位优先积聚,使药物浓度更高;并且还能改善药物的生物分布和药代动力学特征,提高抗肿瘤药物的治疗效果。基于脂质体药物运输的优势,GANDHAM 等^[35]为了进一步提高肿瘤靶向性,他们用表皮生长因子受体靶向的脂质体制剂包裹 3-BrPA,并使用共聚焦显微镜评估人类卵巢腺癌(SKOV-3)三维球体中 3-BrPA 脂质体制剂的渗透性和细胞摄取情况。结果显示,与游离的 3-BrPA 溶液相比,3-BrPA 脂质体制剂具有更好的靶向性,且在 SKOV-3 三维球体中具有更好的 HK2 抑制作用和细胞毒性作用。

ZHANG 等^[36]将 3-BrPA 包裹在纳米颗粒中,并将肿瘤靶向五肽(Cys-Arg-Glu-Lys-Ala, CREKA)共

价偶联到其表面,成功制备出纳米制剂(T-Lipo-3BP)。在全身给药后有效靶向肿瘤血管,并释放 3-BrPA,进而选择性地杀死肿瘤细胞。与游离的 3-BrPA 不同,这种方法不仅抑制了肿瘤的生长,而且没有明显副作用。在体内动物模型中,3-BrPA 纳米颗粒在静脉输注后显著抑制了肿瘤的生长,并且没有在动物身上观察到严重的不良反应,尤其是肝毒性。因此进一步证实了将 3-BrPA 与纳米材料结合可以有效改善 3-BrPA 的肿瘤靶向性。

总的来说,通过将 3-BrPA 与纳米材料结合,可以改善 3-BrPA 的不稳定性,并且能将 3-BrPA 有效且安全地递送至体内肿瘤部位,提高了 3-BrPA 的靶向性,同时也增加了 3-BrPA 的生物安全性。基于纳米技术药物输送的优势,这些新颖的化学治疗策略改善了游离 3-BrPA 的部分缺陷,为 3-BrPA 用于临床肿瘤治疗提供了新的思路。

4 展 望

随着对癌症代谢的逐渐了解,近年来,抑制肿瘤糖酵解和线粒体 OXPHOS 已经成为癌症研究和药物发现的焦点。3-BrPA 作为一种小分子烷基化试剂,可以通过巯基的共价修饰快速灭活许多细胞靶标,特别是靶蛋白 Cys 残基中的巯基。目前普遍接受的观点是,3-BrPA 通过联合抑制糖酵解/线粒体 OXPHOS,诱导氧化应激,减少肿瘤细胞中 ATP 的产生,从而抑制肿瘤血管生成,侵袭,转移。尽管在许多动物模型中,3-BrPA 显示出良好的抑制了肿瘤的生长能力,并且没有严重的全身毒性和器官损伤,但在临床情况下,静脉内注入游离 3-BrPA 依旧有许多缺陷。

神经系统肿瘤能否有效化疗的关键,是化疗药物是否能通过血脑屏障。尽管 3-BrPA 在体外对胶质瘤细胞和侵袭性胶质母细胞瘤细胞有杀伤作用,并且在没有血脑屏障的异种移植动物模型中也被证明是有效的。但是,到目前为止,还没有研究或报告证明游离的 3-BrPA 对脑内植入实验性胶质瘤(原位肿瘤模型)有效。因为游离 3-BrPA 不能穿过血脑屏障,所以并不适合神经系统肿瘤的治疗。

为解决这一问题,目前已有部分实验将 3-BrPA 与纳米材料结合用于肿瘤治疗的研究,并且在动物模型中已经实现了较好的肿瘤特异性递送,克服了游离 3-BrPA 的部分缺陷,同时也显示出更好的生物安全性。但是尚没有 3-BrPA 与纳米超声造影剂结合用于神经系统肿瘤的研究。因此,将 3-BrPA 与纳米超声造影剂结合,有望克服临床神经系统肿瘤中的许多障碍。3-BrPA 和纳米材料结合杀死肿瘤细胞的相关机制仍需要进一步的阐明,同时,也需要更多的研究来进一步探讨 3-BrPA 与纳米材料结合应用于肿瘤治疗

的优势与前景。

参考文献

- [1] BRAY F, FERLAY J, SOERJOMATARAM I, et al. Global cancer statistics 2018; GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. *CA Cancer J Clin*, 2018, 68(6):394-424.
- [2] HANAHAHAN D, WEINBERG R A. Hallmarks of cancer; the next generation[J]. *Cell*, 2011, 144(5):646-674.
- [3] ABDEL-WAHAB A F, MAHMOUD W, ALHARIZY R M. Targeting glucose metabolism to suppress cancer progression: prospective of anti-glycolytic cancer therapy[J]. *Pharmacol Res*, 2019, 150:104511.
- [4] YADAV S, PANDEY S K, SINGH V K, et al. Molecular docking studies of 3-bromopyruvate and its derivatives to metabolic regulatory enzymes: implication in designing of novel anti-cancer therapeutic strategies [J]. *PLoS One*, 2017, 12(5):e0176403.
- [5] KO Y H, NIEDZWIECKA K, CASAL M, et al. 3-Bromopyruvate as a potent anticancer therapy in honor and memory of the late professor andre goffeau[J]. *Yeast*, 2019, 36(4):211-221.
- [6] SHAHRUZAMAN S H, FAKURAZI S, MANIAM S. Targeting energy metabolism to eliminate cancer cells[J]. *Cancer Manag Res*, 2018, 10:2325-2335.
- [7] YADAV S, PANDEY S K, GOEL Y, et al. Diverse stakeholders of tumor metabolism: an appraisal of the emerging approach of multifaceted metabolic targeting by 3-bromopyruvate[J]. *Front Pharmacol*, 2019, 10:728.
- [8] YU M, YONGZHI H, CHEN S, et al. The prognostic value of GLUT1 in cancers: a systematic review and meta-analysis[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(26):43356-43367.
- [9] CHOI Y K, PARK K G. Targeting glutamine metabolism for cancer treatment[J]. *Biomol Ther (Seoul)*, 2018, 26(1):19-28.
- [10] YOO J J, YU S J, NA J, et al. Hexokinase-II inhibition synergistically augments the anti-tumor efficacy of sorafenib in hepatocellular carcinoma[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(6):1292.
- [11] HANAFY N A, DINI L, CITTI C, et al. Inhibition of glycolysis by using a micro/nano-lipid bromopyruvic chitosan carrier as a promising tool to improve treatment of hepatocellular carcinoma[J]. *Nanomaterials*, 2018, 8(1):34.
- [12] PEDERSEN P L. 3-bromopyruvate (3BP) a fast acting, promising, powerful, specific, and effective "small molecule" anti-cancer agent taken from labside to bedside: introduction to a special issue[J]. *J Bioenerg Biomembr*, 2012, 44(1):1-6.
- [13] DARABEDIAN N, CHEN T C, MOLINA H, et al. Bioorthogonal profiling of a cancer cell proteome identifies a large set of 3-bromopyruvate targets beyond glycolysis[J]. *ACS Chem Biol*, 2018, 13(11):3054-3058.
- [14] JONES A T, NAROV K, YANG J, et al. Efficacy of dual inhibition of glycolysis and glutaminolysis for therapy of renal lesions in Tsc2 (+/-) mice[J]. *Neoplasia*, 2019, 21(2):230-238.
- [15] LIS P, DYLAG M, NIEDZWIECKA K, et al. The HK2 dependent "Warburg Effect" and mitochondrial oxidative phosphorylation in cancer: targets for effective therapy with 3-bromopyruvate[J]. *Molecules*, 2016, 21(12):1730.
- [16] VALENTI D, VACCA R A, DE BARI L. 3-bromopyruvate induces rapid human prostate cancer cell death by affecting cell energy metabolism, GSH pool and the glyoxalase system [J]. *J Bioenerg Biomembr*, 2015, 47(6):493-506.
- [17] YADAV S, KUJUR P K, PANDEY S K, et al. Antitumor action of 3-bromopyruvate implicates reorganized tumor growth regulatory components of tumor milieu, cell cycle arrest and induction of mitochondria-dependent tumor cell death[J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2018, 339:52-64.
- [18] YOUSEFI S, DARVISHI P, YOUSEFI Z, et al. Effect of methyl jasmonate and 3-bromopyruvate combination therapy on mice bearing the 4 T1 breast cancer cell line[J]. *J Bioenerg Biomembr*, 2020, 52(2):103-111.
- [19] SZCZUKA I, GAMIAN A, TERLECKI G. 3-bromopyruvate as a potential pharmaceutical in the light of experimental data[J]. *Postepy Hig*

- Med Dosw (Online), 2017, 71: 988-996.
- [20] CAL M, MATYJASZCZYK I, LITWIN I, et al. The anticancer drug 3-bromopyruvate induces DNA damage potentially through reactive oxygen species in yeast and in human cancer cells [J]. *Cells*, 2020, 9(5): 1161.
- [21] YADAV S, PANDEY S K, KUMAR A, et al. Antitumor and chemosensitizing action of 3-bromopyruvate: implication of deregulated metabolism [J]. *Chem Biol Interact*, 2017, 270: 73-89.
- [22] ORUE A, CHAVEZ V, STRASBERG-RIEBER M, et al. Hypoxic resistance of KRAS mutant tumor cells to 3-bromopyruvate is counteracted by prima-1 and reversed by N-acetylcysteine [J]. *BMC Cancer*, 2016, 16(1): 902.
- [23] YADAV S, PANDEY S K, KUMAR A, et al. Antitumor and chemosensitizing action of 3-bromopyruvate: implication of deregulated metabolism [J]. *Chem Biol Interact*, 2017, 270: 73-89.
- [24] RAI Y, YADAV P, KUMARI N, et al. Hexokinase II inhibition by 3-bromopyruvate sensitizes myeloid leukemic cells K-562 to anti-leukemic drug, daunorubicin [J]. *Biosci Rep*, 2019, 39(9): BSR20190880.
- [25] JARDIM-MESSEDER D, MOREIRA-PACHECO F. 3-bromopyruvic acid inhibits tricarboxylic acid cycle and glutaminolysis in HepG2 cells [J]. *Anticancer Res*, 2016, 36(5): 2233-2241.
- [26] KWIATKOWSKA E, WOJTALA M, GAJEWSKA A, et al. Effect of 3-bromopyruvate acid on the redox equilibrium in non-invasive MCF-7 and invasive MDA-MB-231 breast cancer cells [J]. *J Bioenerg Biomembr*, 2016, 48(1): 23-32.
- [27] WU L, XU J, YUAN W, et al. The reversal effects of 3-bromopyruvate on multidrug resistance in vitro and in vivo derived from human breast MCF-7/ADR cells [J]. *PLoS One*, 2014, 9(11): e112132.
- [28] GLICK M, BIDDLE P, JANTZI J, et al. The antitumor agent 3-bromopyruvate has a short half-life at physiological conditions [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2014, 452(1): 170-173.
- [29] EL SAYED S M, BAGHDADI H, ZOLALY M, et al. The promising anticancer drug 3-bromopyruvate is metabolized through glutathione conjugation which affects chemoresistance and clinical practice: an evidence-based view [J]. *Med Hypotheses*, 2017, 100: 67-77.
- [30] QIN J Z, XIN H, NICKOLOFF B J. 3-bromopyruvate induces necrotic cell death in sensitive melanoma cell lines [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010, 396(2): 495-500.
- [31] MAEDA H, WU J, SAWA T, et al. Tumor vascular permeability and the EPR effect in macromolecular therapeutics: a review [J]. *J Control Release*, 2000, 65(1/2): 271-284.
- [32] PAN Q, SUN Y M, JIN Q L, et al. Hepatotoxicity and nephrotoxicity of 3-bromopyruvate in mice [J]. *Acta Cir Bras*, 2016, 31(11): 724-729.
- [33] WICKS R T, AZADI J, MANGRAVITI A, et al. Local delivery of cancer-cell glycolytic inhibitors in high-grade glioma [J]. *Neuro Oncol*, 2015, 17(1): 70-80.
- [34] CHAPIRO J, SUR S, SAVIC L J, et al. Systemic delivery of microencapsulated 3-bromopyruvate for the therapy of pancreatic cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2014, 20(24): 6406-6417.
- [35] GANDHAM S K, TALEKAR M, SINGH A, et al. Inhibition of hexokinase-2 with targeted liposomal 3-bromopyruvate in an ovarian tumor spheroid model of aerobic glycolysis [J]. *Int J Nanomedicine*, 2015, 10: 4405-4423.
- [36] ZHANG Y L, WEI J Y, XU J Q, et al. Suppression of tumor energy supply by liposomal nanoparticle-mediated inhibition of aerobic glycolysis [J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2018, 10(3): 2347-2353.