

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2021.23.004

钌络合物通过诱发高尔基体应激在 Walker-256 荷瘤大鼠中发挥抗肿瘤作用的机制*

李 量¹ 吴文安¹ 刘 棣² 常 浩³ 刘慧娟¹ 刘 佳^{4△}

(1 西安交通大学医学院附属陕西省肿瘤医院放疗科 陕西 西安 710061;

2 西安交通大学第二附属医院肿瘤科 陕西 西安 710004;

3 空军军医大学附属唐都医院放疗科 陕西 西安 710038;

4 西安交通大学医学院附属陕西省肿瘤医院胸外科 陕西 西安 710061)

摘要 目的:探讨钌络合物通过诱发高尔基体应激在 Walker-256 荷瘤大鼠中发挥抗肿瘤作用的机制。**方法:**以 30 只雄性 Wistar 大鼠为研究对象,通过 Walker-256 细胞右骨盆肢体皮下注射建立荷瘤大鼠模型,然后根据实验目的将大鼠分为 3 组,对照组(正常大鼠,PBS 干预),肿瘤模型组(荷瘤模型大鼠,PBS 干预)和钌络合物组[荷瘤模型大鼠,管饲法给予 5 mg/kg 钌络合物溶液(由含 2% Tween 的 PBS 溶解)],各 10 只。通过测厚仪和电子秤分别计算大鼠肿瘤体积及重量;酶联免疫吸附试验试剂盒检测大鼠刚脏组织匀浆中氧化应激水平;蛋白印迹和荧光探针 DCFH-DA 试剂盒分析 LC3 II/I 表达和 ROS 活性;蛋白印迹分析高尔基体应激相关蛋白 GOLPH3、GRASP65 的表达;实时定量 PCR 分析 Bax、Bcl-2 和 Caspase-3 的 mRNA 表达。**结果:**钌络合物组较肿瘤模型组肿瘤重量降低($P<0.05$),肿瘤模型组较对照组体重增加降低($P<0.05$),钌络合物组较肿瘤模型组体重增加($P<0.05$)。肿瘤模型组较对照组 SOD 活性和 LPO 升高($P<0.05$),CAT、GST 和 GSH 活性降低($P<0.05$),钌络合物组较肿瘤模型组 LPO 降低($P<0.05$),CAT、GST 和 GSH 活性升高($P<0.05$)。肿瘤模型组较对照组 LC3 II/I 蛋白表达和 ROS 活性升高($P<0.05$),钌络合物组较肿瘤模型组 LC3 II/I 蛋白表达和 ROS 活性降低($P<0.05$)。肿瘤模型组较对照组 GOLPH3、GRASP65 的蛋白表达升高($P<0.05$),钌络合物组较肿瘤模型组 GOLPH3、GRASP65 的蛋白表达降低($P<0.05$)。肿瘤模型组较对照组 Bax 和 Caspase-3 的 mRNA 表达升高($P<0.05$),Bcl-2 mRNA 表达降低($P<0.05$),钌络合物组较肿瘤模型组 Bax 和 Caspase-3 的 mRNA 表达降低,Bcl-2 mRNA 表达升高($P<0.05$)。**结论:**钌络合物通过调节高尔基体应激反应,削弱氧化磷酸化从而促进 Walker-256 细胞死亡发挥抗肿瘤活性。

关键词:钌络合物;高尔基体;应激反应;抗肿瘤;大鼠

中图分类号:R-33;R73-3 文献标识码:A 文章编号:1673-6273(2021)23-4417-05

The Mechanism of Ruthenium Complex Exerting Anti-tumor Effect in Walker-256 Tumor-bearing Rats by Inducing Golgi Stress*

LI Liang¹, WU Wen-an¹, LIU Di², CHENG Hao³, LIU Hui-juan¹, LIU Jia^{4△}

(1 Department of Radiotherapy, Shaanxi Cancer Hospital Affiliated to Xi'an Jiaotong University Health Science Center, Xi'an, Shaanxi, 710061, China; 2 Department of Oncology, The Second Affiliated Hospital Of Xi'an Jiaotong University, Xi'an, Shaanxi, 710004, China; 3 Department of Radiotherapy, Tangdu Hospital Affiliated to Air Force University, Xi'an Shaanxi, 710038, China; 4 Department of Thoracic Surgery, Shaanxi Cancer Hospital Affiliated to Xi'an Jiaotong University Health Science Center, Xi'an, Shaanxi, 710061, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the mechanism of ruthenium complexes exerting anti-tumor effects in Walker-256 tumor-bearing rats by inducing Golgi stress. **Methods:** Thirty male Wistar rats were used as research objects. Walker-256 cells were injected subcutaneously into the right pelvic limb to establish a tumor-bearing rat model, then divided into 3 groups according to the experimental purpose, the control group (normal rats, PBS intervention), tumor model group (tumor-bearing model rats, PBS intervention) and ruthenium complex group [tumor-bearing model rats, given 5 mg/kg ruthenium complex solution by gavage (dissolved in PBS containing 2% Tween)], 10 each. The volume and weight of the rat tumor were calculated by the thickness gauge and the electronic scale; ELISA kit was used to detect the level of oxidative stress in rat visceral tissue homogenate; Western blot and fluorescent probe DCFH-DA kit were used to analyze LC3 II/I expression and ROS activity; Western blotting was used to analyze the expression of Golgi stress-related proteins GOLPH3 and GRASP65; RT-PCR was used to analyze the mRNA expression of Bax, Bcl-2 and Caspase-3 in real time. **Results:** The weight of the tumor in the ruthenium complex group was lower than that in the tumor model group ($P<0.05$),

* 基金项目:陕西省科技厅基金项目(2017JM8158)

作者简介:李量(1979-),男,硕士,副主任医师,研究方向:恶性肿瘤放疗、放疗联合靶向及免疫治疗,

电话:13399184518, E-mail:li133991@163.com

△ 通讯作者:刘佳(1981-),男,硕士,副主任医师,研究方向:胸部肿瘤的外科治疗,电话:18109239182, E-mail:jia181092@163.com

(收稿日期:2021-04-06 接受日期:2021-04-30)

the weight of the tumor model group was lower than that in the control group ($P<0.05$), and the weight of the ruthenium complex group was higher than the tumor model group ($P<0.05$). Compared with the control group, the tumor model group had higher SOD activity and LPO activity ($P<0.05$), CAT, GST and GSH activity decreased ($P<0.05$), the ruthenium complex group had lower LPO than the tumor model group ($P<0.05$), CAT, The activities of GST and GSH increased ($P<0.05$). The tumor model group had higher LC3 II/I protein expression and ROS activity than the control group ($P<0.05$), and the ruthenium complex group had lower LC3 II/I protein expression and ROS activity than the tumor model group ($P<0.05$). The protein expression of GOLPH3 and GRASP65 in the tumor model group was higher than that in the control group ($P<0.05$), and the protein expression of GOLPH3 and GRASP65 in the ruthenium complex group was lower than that in the tumor model group ($P<0.05$). The mRNA expression of Bax and Caspase-3 in the tumor model group was higher than that in the control group ($P<0.05$), and the expression of Bcl-2 mRNA was lower ($P<0.05$). The ruthenium complex group was compared with the mRNA expression of Bax and Caspase-3 in the tumor model group. The expression decreased, and the expression of Bcl-2 mRNA increased ($P<0.05$). **Conclusion:** Ruthenium complexes can regulate the Golgi stress response and weaken oxidative phosphorylation to promote Walker-256 cell death to exert anti-tumor activity.

Key words: Ruthenium complex; Golgi apparatus; Stress response; Anti-tumor; Rat

Chinese Library Classification(CLC):R-33; R73-3 **Document code:** A

Article ID:1673-6273(2021)23-4417-05

前言

顺铂是一种临床上常用的化疗药物,对恶性肿瘤的治疗具有一定的疗效,然而,顺铂也具有较强毒副作用,如:肾毒性、耳毒性、神经毒性等,因此其临床应用存在限制性^[1-3]。基于顺铂的化学结构,研究报道,钌络合物在许多体外和体内肿瘤模型中具有抗肿瘤特性,并且比顺铂化合物毒性低^[4-6]。钌络合物已被证明具有与顺铂相似的治疗效果,但对肿瘤细胞更具选择性^[7]。在生物介质中,其对肿瘤细胞的作用是通过生物还原剂还原为 Ru(II)(吡啶配合物)激活的^[8,9]。高尔基体是一种细胞质细胞器,参与运输、加工和靶向粗面内质网中蛋白质的合成和分泌途径^[10,11]。与内质网和线粒体类似,高尔基体可以通过其在细胞凋亡途径中独特的分子机制感知和转导凋亡信号^[12,13]。哺乳动物细胞中的高尔基体可以被认为是细胞传感器,高尔基体的形态与更高阶细胞功能的调节之间存在密切关系,包括 DNA 修复、细胞凋亡、应激反应和细胞极化^[14,15]。现已有证据表明,高尔基体有助于调节广泛的细胞高级功能,包括细胞极化、有丝分裂、定向迁移、定向分泌、代谢、自噬和炎症^[16]。本研究使用 Walker-256 荷瘤大鼠模型进行了体外研究,这种肿瘤生长迅速,易诱发恶病质和氧化应激,本研究旨在探讨钌络合物能否通过影响高尔基体应激反应抑制肿瘤的生长。

1 材料和方法

1.1 实验材料

1.1.1 化学药物和实验大鼠 通过咪唑与顺式($\text{Ru}[\text{phen}]_2\text{Cl}_2$)在 $\text{H}_2\text{O}/\text{EtOH}$ (1:1) 中反应合成钌络合物,去除溶剂和添加六氟磷酸盐生成的复合物,进一步沉淀为暗红色粉末。研究使用雄性 Wistar 大鼠 30 只,体重 180-220 克,从南京君科生物工程有限公司购买。将动物饲养在温度可控制的房间($22\pm 2^\circ\text{C}$)中,12 小时光/暗循环。

1.1.2 Walker-256 荷瘤大鼠模型 大鼠乳腺癌细胞系 Walker-256 (W256)用于建立荷瘤大鼠模型。通过腹膜内接种每周传代 4 到 5 次,在 Wistar 雄性大鼠中维持 Walker-256 细胞。将大约 10^7 个 Walker-256 细胞皮下注射到每只大鼠的右骨盆肢体

中,用于使用实体瘤模型的建立。

1.1.3 实验分组及干预 实验大鼠分为 3 组,对照组、肿瘤模型组和钌络合物组,各 10 只。在皮下接种肿瘤细胞后 1 天开始治疗并持续 13 天。将钌络合物溶解在含有 2 % Tween 的 PBS 中,钌络合物的选定剂量为 5 mg / kg,通过管饲法给药。对照组和肿瘤模型组接受相等体积 PBS 溶剂。在治疗的第 13 天后,所有动物麻醉,从下腔静脉获得血样用于生化和血液学分析。对动物实施安乐死,取出肿瘤、肝、将组织保存在 -80°C 以备进一步分析。

1.2 实验方法

1.2.1 肿瘤生长监测 在造模后 8d、10d 和 12d,对大鼠进行临床评估和称重。使用测厚仪测量其直径来计算肿瘤体积,最后一天对各组大鼠进行肿瘤和身体称重,体重增加定义为大鼠体重减掉肿瘤重量,作为大鼠健康生长检测标准。

1.2.2 体内氧化应激参数测定 将肝脏样品制备为组织匀浆,按体积比 1:2 溶解在甲醇中, 4°C 以 $5000\times g$ 离心 5 min。然后根据大鼠 ELISA 试剂盒(均购自上海碧云天生物科技有限公司)说明书分别检测过氧化氢酶(CAT)、超氧化物歧化酶(SOD)和谷胱甘肽-S-转移酶(GST)活性以及还原型谷胱甘肽(GSH)和脂质过氧化物(LPO)水平。

1.2.3 蛋白质印迹 使用总蛋白提取试剂盒从肿瘤组织和肝脏(对照组)中分离总蛋白,样品电泳到 10~15 % SDS/聚丙烯酰胺凝胶(SDS/PAGE),转移到 PVDF 膜上。用 TBS-Tween 缓冲液(20 mM Tris-HCl, 150 mM NaCl, 0.05 % Tween-20)中的 5 % 脱脂牛奶封闭膜。将膜与兔抗 GOLPH3 一抗(1:400)、山羊抗 LC3 II/I 抗体(1:400)和抗 GRASP65 抗体(1:800)一起孵育在 4°C 过夜。将膜以 10 分钟间隔用 TBST 洗涤 3 次,并与以 1:40000 稀释的 HRP 偶联二抗在室温下孵育 1 h。用 PBST 洗涤后,使用增强型化学发光(ECL)试剂盒对膜进行显影。

1.2.4 ROS 检测分析 使用荧光探针 DCFH-DA 试剂盒(S0033,上海碧云天生物技术有限公司)对肿瘤匀浆进行活性氧(ROS)检测。使用荧光分光光度计在酶标仪中测量细胞荧光(激发波长 488 nm,发射波长 525 nm)。

1.2.5 RT-PCR 分析 将肿瘤样品在 TRIzol 试剂中匀浆以提

取 RNA。互补 cDNA 由 20 μ L 反应体积中的 500 ng RNA 制备,该反应体积包含 0.5 mmol 三磷酸脱氧核糖核苷酸、1 μ mol oligodT、10 U RNasin 和高容量聚合酶试剂盒。阴性对照包括添加除逆转录酶之外的 cDNA 合成所需的所有产物。最后常规进行定量聚合酶链反应。

1.3 统计分析

所有分析均使用 Prism 5.0 软件进行。通过单向方差分析

来确定平均差异,数据表示为平均值 $\pm$ SEM。 $P < 0.05$ 被认为具有统计学意义。

2 结果

2.1 钆络合物抑制肿瘤体积增加

钆络合物组较肿瘤模型组肿瘤体积减小($P < 0.05$), (表 1)。

表 1 大鼠肿瘤体积检测(cm^3)

Table 1 Tumor Volume Detection in rats(cm^3)

Groups	n	8d	10d	12d
Control group	10	0.001 $\pm$ 0.001	0.001 $\pm$ 0.001	0.001 $\pm$ 0.001
Tumor model group	10	3.76 $\pm$ 0.34	5.49 $\pm$ 0.71	7.38 $\pm$ 1.05
Ruthenium complex group	10	2.15 $\pm$ 0.21	3.25 $\pm$ 0.46	3.73 $\pm$ 0.51
F		12.283	13.167	9.238
P		0.024	0.016	0.007

2.2 钆络合物抑制肿瘤生长

钆络合物组较肿瘤模型组肿瘤重量降低($P < 0.05$), 肿瘤模

型组较对照组体重增加降低($P < 0.05$), 钆络合物组较肿瘤模型组体重增加($P < 0.05$), (表 2)。

表 2 大鼠肿瘤和体重检测

Table 2 Tumor and Weight Detection in rats

Groups	n	Tumor Weight (g)	Weight gain (g)
Control group	10	0.001 $\pm$ 0.001	64.75 $\pm$ 5.28
Tumor model group	10	23.17 $\pm$ 3.68	27.44 $\pm$ 2.61
Ruthenium complex group	10	6.34 $\pm$ 0.44	58.23 $\pm$ 5.14
F		11.308	13.625
P		0.021	0.006

2.3 钆络降低体内氧化应激反应

肿瘤模型组较对照组 SOD 活性和 LPO 升高($P < 0.05$),

组 LPO 降低 ($P < 0.05$), CAT、GST 和 GSH 活性升高($P < 0.05$), (表 3)。

CAT、GST 和 GSH 活性降低($P < 0.05$), 钆络合物组较肿瘤模型

表 3 大鼠肿瘤和体重检测

Table 3 Tumor and Weight Detection in rats

Groups	n	SOD	CAT	GST	GSH	LPO
Control group	10	1.15 $\pm$ 0.04	386.29 $\pm$ 24.63	226.32 $\pm$ 15.04	215.67 $\pm$ 18.47	65.28 $\pm$ 4.19
Tumor model group	10	2.36 $\pm$ 0.35	215.73 $\pm$ 8.62	147.28 $\pm$ 7.66	125.28 $\pm$ 7.34	194.37 $\pm$ 7.25
Ruthenium complex group	10	2.23 $\pm$ 0.31	354.14 $\pm$ 18.75	197.49 $\pm$ 12.58	184.44 $\pm$ 15.38	126.54 $\pm$ 5.88
F		12.735	11.283	9.582	10.629	13.442
P		0.012	0.003	0.035	0.026	0.017

2.4 钆络合物对高尔基基应诱导自噬的影响

肿瘤模型组较对照组 LC3 II/I 蛋白表达和 ROS 活性升高($P < 0.05$), 钆络合物组较肿瘤模型组 LC3 II/I 蛋白表达和 ROS 活性降低($P < 0.05$), (表 4)。

2.5 钆络合物降低高尔基基应激反应

肿瘤模型组较对照组 GOLPH3、GRASP65 的蛋白表达升高($P < 0.05$), 钆络合物组较肿瘤模型组 GOLPH3、GRASP65 的

蛋白表达降低($P < 0.05$), (图 1, 表 5)。

2.6 钆络合物降低高尔基基应激反应

肿瘤模型组较对照组 Bax 和 Caspase-3 的 mRNA 表达升高($P < 0.05$), Bcl-2 mRNA 表达降低($P < 0.05$), 钆络合物组较肿瘤模型组 Bax 和 Caspase-3 的 mRNA 表达降低, Bcl-2 mRNA 表达升高($P < 0.05$), (表 6)。

表 4 高尔基自噬水平分析
Table 4 Analysis of Gorky Self-ophagy Level

Groups	n	LC3 II/I	ROS activity
Control group	10	1.27± 0.14	3.58± 0.46
Tumor model group	10	4.73± 0.58	18.45± 2.39
Ruthenium complex group	10	2.54± 0.22	7.26± 0.72
F		9.618	12.564
P		0.014	0.007

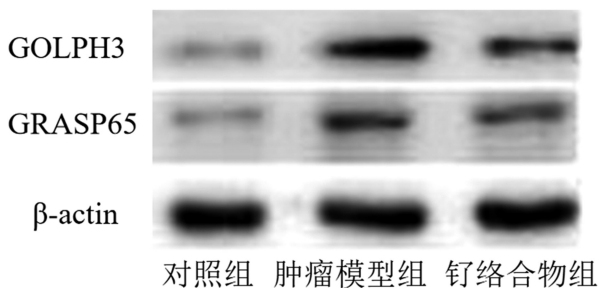


图 1 蛋白印迹分析(A:对照组,B:肿瘤模型组,C:钌络合物组)

Fig.1 Protein imprint analysis(A: Control group, B: Tumor model group, C: Ruthenium complex group)

3 讨论

毒性和体重减轻是顺铂治疗的常见副作用,钌配合物因其在肿瘤微环境中的作用而被研究为抗肿瘤化合物,包括顺式-(Ru[1,10-菲咯啉]),且毒性较低^[17,18]。氧化应激在致癌作用中具有重要调节作用,有研究报道钌络合物具有一定的强自由基清除特性,这种特性也在体内肿瘤局部和肝脏组织中得到证实,说明肿瘤中氧化应激的调节可能与钌络合物在大鼠中的抗肿瘤作用有关^[19,20]。由氧化或药理学细胞内损伤引起的应激反应与高尔基体带的断裂有关,而高尔基体带的碎裂和应激通常

与肿瘤细胞有关^[21]。已经报道了多种癌症的不同高尔基体蛋白的过度表达,在各种生理和病理条件下,细胞内 ROS 和内质网应激是自噬的有效触发因素,而自噬过程是唯一已知的在需要时线粒体更新的机制^[22]。由于内质网和线粒体的功能在应激过程中与高尔基体密切相关,因此高尔基体应激反应也可能通过其膜蛋白与应激相关的自噬相关^[23]。

本研究对钌络合物对肿瘤组织中与细胞凋亡相关的蛋白质基因的影响进行研究,表明:钌络合物改变关键细胞凋亡相关基因的基因表达,Bax、Bcl-2 和 caspase 3,表明细胞凋亡可参与其对 Walker-256 癌的抗肿瘤活性,细胞凋亡是钌络合物促进细胞死亡的途径,与上述 Zhang YC^[19]和 Mihajlovic K^[20]等相关结果一致。另外,本文进一步研究了 GOLPH3 表达对 OGD/R 损伤期间自噬状态的直接影响。通过使用蛋白质印迹分析将 LC3 I 转化为 II 来分析肿瘤细胞自噬的状态,结果发现肿瘤组织的自噬水平升高,钌络合物降低了高尔基体应激诱导的自噬水平,结合吴梅梅等^[24]研究分析其原因在于:Walker-256 肿瘤的发生会使动物呈现全身氧化状态,并造成主要器官代谢损伤。另外,除了肿瘤之外,钌络合物对动物氧化应激状态也具有调节作用,在肾脏和肝脏组织中观察到的氧化应激水平变化也证明了这一点,即钌络合物治疗改善了肝脏组织中的 GSH、GST 和 LPO 等氧化应激相关指标水平,该结果可能与钌络合物应用过程中相对毒性较低有关。

表 5 GOLPH3 和 GRASP65 表达量
Table 5 Expression level of GOLPH3 and GRASP65

Groups	n	GOLPH3	GRASP65
Control group	10	1.04±0.02	1.12±0.04
Tumor model group	10	1.96±0.18	2.13±0.21
Ruthenium complex group	10	1.17±0.06	1.26±0.11
F		12.754	10.689
P		0.002	0.018

表 6 RT-PCR 分析 Bax、Bcl-2 和 Caspase-3 mRNA 表达水平
Table 6 RT-PCR Analysis of Bax, Bcl-2 and Caspase-3 mRNA

Groups	n	Bax	Bcl-2	Caspase-3
Control group	10	1.15±0.08	1.95±0.17	1.04±0.03
Tumor model group	10	2.14±0.22	1.18±0.09	1.97±0.20
Ruthenium complex group	10	1.26±0.13	1.72±0.15	1.16±0.08
F		11.729	13.026	9.355
P		0.005	0.013	0.028

哺乳动物 GOLPH3, 是一种丰富的 34-kDa 磷酸化蛋白, 最初是通过对分离的高尔基体部分中去垢剂不溶性蛋白质的蛋白质组学分析进行鉴定的^[25]。它代表了一类高尔基体外膜蛋白, 涉及囊泡运输、高尔基体结构维持、受体分选、蛋白质糖基化和定位于反式高尔基体细胞质面的细胞信号通路^[26]。细胞生物学和生化分析表明: GOLPH3 可以通过增强哺乳动物雷帕霉素靶标(mTOR)的活性来促进细胞生长、增殖和存活。此外, 在 mtDNA 耗竭诱导的应激反应期间, 发现上调的 GOLPH3 增加线粒体总质量并维持细胞氧化稳态。GOLPH3 由于其与高尔基体密切相关的多种功能, 作为一种应激相关的高尔基体膜蛋白存在, 在高尔基体应激反应期间被动员。大量研究表明 GRASP65 在高尔基体池堆积和连接堆积体以形成高尔基体带中的作用^[27]。例如, 非磷酸化突变形式的 GRASP65 在间期 HeLa 细胞中的过度表达导致堆叠形成增强并抑制有丝分裂高尔基体断裂。在结构上, GRASP65 包含一个进化保守的 N 端 GRASP 域, 是一个包含 GM130 结合位点的短区域和一个 C 端富含 Ser/Pro (SPR) 域^[28]。GRASP65 形成二聚体和寡聚体, 进而将池膜连接在一起形成高尔基体, GRASP65 通过 N 端肉豆蔻酰化甘氨酸残基及其与 GM130 的相互作用靶向高尔基体膜^[29]。SPR 结构域被有丝分裂激酶磷酸化, 磷酸化的 GRASP65 与细胞周期中的高尔基体分解和重新组装过程有关^[30]。研究中通过对肿瘤和肝脏组织的蛋白印迹分析发现, 钆络合物降低了 Walker-256 荷瘤大鼠体内 GOLPH3、GRASP65 的表达, 表明钆络合物干预了高尔基体的氧化应激, 抑制了肿瘤细胞的生长。

综上所述, 我们目前的结果表明, 钆络合物通过调节高尔基体应激反应, 削弱氧化磷酸化从而促进 Walker-256 细胞死亡发挥抗肿瘤活性, 钆络合物的这些作用使其成为一种有前途的抗癌药物, 应在进一步的药代动力学和药效学研究以及可能的临床试验中进行评估。

参考文献(References)

- [1] Freyer DR, Brock PR, Chang KW, et al. Prevention of cisplatin-induced ototoxicity in children and adolescents with cancer: a clinical practice guideline[J]. *Lancet Child Adolesc Health*, 2020, 4(2): 141-150
- [2] 张雪华, 刘雪环, 孙向荣, 等. DVC orexin-A 通过调控 ghrelin 受体信号通路改善顺铂所致大鼠胃功能紊乱 [J]. *现代生物医学进展*, 2020, 20(4): 643-647
- [3] Giacomini I, Ragazzi E, Pasut G, et al. The Pentose Phosphate Pathway and Its Involvement in Cisplatin Resistance[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(3): 937
- [4] Fayad C, Audi H, Khayzer RS, et al. The anti-cancer effect of series of strained photoactivatable Ru (II) polypyridyl complexes on non-small-cell lung cancer and triple negative breast cancer cells[J]. *J Biol Inorg Chem*, 2021, 26(1): 43-55
- [5] Makovec T. Cisplatin and beyond: molecular mechanisms of action and drug resistance development in cancer chemotherapy [J]. *Radiol Oncol*, 2019, 53(2): 148-58
- [6] Savic M, Arsenijevic A, Milovanovic J, et al. Antitumor Activity of Ruthenium(II) Terpyridine Complexes towards Colon Cancer Cells In Vitro and In Vivo[J]. *Molecules*, 2020, 25(20): 4699
- [7] Wang Y, Bian L, Chakraborty T, et al. Construing the Biochemical and Molecular Mechanism Underlying the In Vivo and In Vitro Chemotherapeutic Efficacy of Ruthenium-Baicalein Complex in Colon Cancer[J]. *Int J Biol Sci*, 2019, 15(5): 1052-71
- [8] Raza A, Archer SA, Fairbanks SD, et al. A Dinuclear Ruthenium(II) Complex Excited by Near-Infrared Light through Two-Photon Absorption Induces Phototoxicity Deep within Hypoxic Regions of Melanoma Cancer Spheroids[J]. *J Am Chem Soc*, 2020, 142(10): 4639-47
- [9] Notaro A, Frei A, Rubbiani R, et al. Ruthenium (II) Complex Containing a Redox-Active Semiquinone Ligand as a Potential Chemotherapeutic Agent: From Synthesis to In Vivo Studies [J]. *J Med Chem*, 2020, 63(10): 5568-5584
- [10] Liu C, Zhang R, Zhang W, et al. "Dual-Key-and-Lock" Ruthenium Complex Probe for Lysosomal Formaldehyde in Cancer Cells and Tumors[J]. *J Am Chem Soc*, 2019, 141(21): 8462-72
- [11] Petruk G, Monti DM, Ferraro G, et al. Encapsulation of the Dinuclear Trithiolato-Bridged Arene Ruthenium Complex Diruthenium-1 in an Apoferritin Nanocage: Structure and Cytotoxicity [J]. *Chem Med Chem*, 2019, 14(5): 594-602
- [12] Ahmad Khan R, Al-Lohedan HA, Abul Farah M, et al. Evaluation of (η^6 -p-cymene) ruthenium diclofenac complex as anticancer chemotherapeutic agent: interaction with biomolecules, cytotoxicity assays[J]. *J Biomol Struct Dyn*, 2019, 37(15): 3905-13
- [13] 孟许亚, 刘杰, 王璐, 等. 抗坏血酸-聚乙炔亚胺复合碳点通过高尔基体应激对 MG63 细胞增殖、凋亡和氧化应激的影响[J]. *吉林大学学报(医学版)*, 2019, 280(6): 33-38+295
- [14] Wang Y, Qin W, Shi H, et al. A HCBP1 peptide conjugated ruthenium complex for targeted therapy of hepatoma [J]. *Dalton Trans*, 2020, 49(4): 972-976
- [15] 孟许亚. 碳点通过高尔基体应激对 MG63 细胞成骨向分化作用的研究[D]. 吉林大学, 2019
- [16] Ayaz F. Heteroleptic Ruthenium Polypyridyl Complex Had Differential Effects on the Production of Pro-inflammatory Cytokines TNF α , IL1 β , and IL6 by the Mammalian Macrophages In Vitro[J]. *Inflammation*, 2019, 42(4): 1383-8
- [17] Li S, Xu G, Zhu Y, et al. Bifunctional ruthenium (ii) polypyridyl complexes of curcumin as potential anticancer agents [J]. *Dalton Trans*, 2020, 49(27): 9454-9463
- [18] Qasim Warraich M, Ghion A, Perdisatt L, et al. In vitro cytotoxicity, cellular uptake, reactive oxygen species and cell cycle arrest studies of novel ruthenium(II) polypyridyl complexes towards A549 lung cancer cell line[J]. *Drug Chem Toxicol*, 2021, 44(3): 319-329
- [19] Zhang YC, Xu ZY, Wang ZK, et al. A Woven Supramolecular Metal-Organic Framework Comprising a Ruthenium Bis (terpyridine) Complex and Cucurbit [8]uril: Enhanced Catalytic Activity toward Alcohol Oxidation[J]. *Chempluschem*, 2020, 85(7): 1498-1503
- [20] Mihajlovic K, Milosavljevic I, Jeremic J, et al. Redox and apoptotic potential of novel ruthenium complexes in rat blood and heart[J]. *Can J Physiol Pharmacol*, 2021, 99(2): 207-217
- [21] Mascheroni L, Francia V, Rossotti B, et al. Light-Triggered Trafficking to the Cell Nucleus of a Cationic Polyamidoamine Functionalized with Ruthenium Complexes [J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2020, 12(31): 34576-87

- [J]. *Exp Ther Med*, 2020, 20(6): 270
- [18] Chen F, Chen Z Q, Wang H, et al. Puerarin pretreatment inhibits myocardial apoptosis and improves cardiac function in rats after acute myocardial infarction through the PI3K/Akt signaling pathway [J]. *Adv Clin Exp Med*, 2021, 30(3): 255-261
- [19] Zhou T, Wang Z, Guo M, et al. Puerarin induces mouse mesenteric vasodilation and ameliorates hypertension involving endothelial TRPV4 channels[J]. *Food Funct*, 2020, 11(11): 10137-10148
- [20] Jiang, Kehua, Chen, et al. Puerarin inhibits bladder cancer cell proliferation through the mTOR/p70S6K signaling pathway[J]. *Oncol Lett*, 2018, 15(1): 167-174
- [21] Li L, Liu J, Gao G, et al. Puerarin 6"-O-xyloside suppressed HCC via regulating proliferation, stemness, and apoptosis with inhibited PI3K/AKT/mTOR[J]. *Cancer Med*, 2020, 9(17): 6399-6410
- [22] 胡艳玲, 李国利, 林中翔. 葛根素对人宫颈癌 HeLa 细胞体外增殖的影响及机制研究 [J]. *中国地方病防治杂志*, 2017, 32(12): 1427-1428
- [23] Jia L, Hu Y, Yang G, Li P. Puerarin suppresses cell growth and migration in HPV-positive cervical cancer cells by inhibiting the PI3K/mTOR signaling pathway [J]. *Exp Ther Med*, 2019, 18(1): 543-549
- [24] Suzuki K, Sato Y, Nakahara R, et al. Venous thromboembolisms and rheology in ovarian cancer patients after postoperative adjuvant paclitaxel and carboplatin therapy[J]. *Pharmazie*, 2020, 75(5): 204-206
- [25] Chen X, Gole J, Gore A, et al. Non-invasive early detection of cancer four years before conventional diagnosis using a blood test [J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 3475
- [26] Lin Y H, Ni X B, Zhang J W, et al. Effect of puerarin on action potential and sodium channel activation in human hyper trophic cardiomyocytes[J]. *Biosci Rep*, 2020, 40(2): BSR20193369
- [27] Wu Z, Li C, Li Q, et al. Puerarin alleviates cisplatininduced acute renal damage and upregulates microRNA31related signaling [J]. *Exp Ther Med*, 2020, 20(4): 3122-3129
- [28] 郭东艳, 杨大坚, 陈士林. 葛根素及其衍生物对实验性 SD 大鼠急性血瘀症血液流变学的影响 [J]. *辽宁中医杂志*, 2006, 33(010): 1363-1364
- [29] Gao S, Wang Z, H Jiang, et al. Transcriptional analysis of host responses related to immunity in chicken spleen tissues infected with reticuloendotheliosis virus strain SNV[J]. *Infect Genet Evol*, 2019, 74(6): 103932
- [30] Madej JP, Skonieczna J, Siwek M, et al. Genotype-dependent development of cellular and humoral immunity in spleen and cecal tonsils of chickens stimulated in ovo with bioactive compounds[J]. *Poult Sci*, 2020, 99(9): 4343-4350

(上接第 4421 页)

- [22] Zhou Y, Xu Y, Lu L, et al. Luminescent ruthenium (II) polypyridyl complexes acted as radiosensitizer for pancreatic cancer by enhancing radiation-induced DNA damage[J]. *Theranostics*, 2019, 9(22): 6665-6675
- [23] Notaro A, Jakubaszek M, Koch S, et al. A Maltol-Containing Ruthenium Polypyridyl Complex as a Potential Anticancer Agent[J]. *Chemistry*, 2020, 26(22): 4997-5009
- [24] 吴梅梅, 李瀚旻, 常明向. 甘草次酸修饰姜黄素阳离子脂质体对肿瘤 Walker256 细胞的影响 [J]. *中国医院药学杂志*, 2019, 39(11): 1129-1134, 1170
- [25] Fandzloch M, Jaromin A, Zaremba-Czogalla M, et al. Nanoencapsulation of a ruthenium(ii) complex with triazolopyrimidine in liposomes as a tool for improving its anticancer activity against melanoma cell lines [J]. *Dalton Trans*, 2020, 49(4): 1207-19
- [26] Zhao F, Wang W, Wu W. A novel ruthenium polypyridyl complex for the selective imaging and photodynamic targeting of the Golgi apparatus[J]. *Dalton Trans*, 2021, 50(10): 3536-41
- [27] Graminha AE, Honorato J, Correa RS, et al. A novel ruthenium(ii) gallic acid complex disrupts the actin cytoskeleton and inhibits migration, invasion and adhesion of triple negative breast tumor cells [J]. *Dalton Trans*, 2021, 50(1): 323-35
- [28] Karges J, Li J, Zeng L, et al. Polymeric Encapsulation of a Ruthenium Polypyridine Complex for Tumor Targeted One- and Two-Photon Photodynamic Therapy[J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2020, 12(49): 54433-44
- [29] Zhang X, Wang Y. Nonredundant Roles of GRASP55 and GRASP65 in the Golgi Apparatus and Beyond[J]. *Trends Biochem Sci*, 2020, 45(12): 1065-1079
- [30] Roy S, Sil A, Chakraborty T. Potentiating apoptosis and modulation of p53, Bcl2, and Bax by a novel chrysin ruthenium complex for effective chemotherapeutic efficacy against breast cancer [J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(4): 4888-909