

线粒体靶向药物输送抗肿瘤的研究进展

韩旻, 李畅, 郭望葳, 刘惠娜, 梁文权, 高建青
(浙江大学药学院, 浙江 杭州 310058)

摘要: 线粒体是人体组织细胞中的重要细胞器, 参与多种代谢过程, 其功能障碍与癌症、神经退行性疾病、肥胖和缺血再灌注损伤等难治愈疾病密切相关。因此, 线粒体靶点药物研究日益受到重视, 本文将简要介绍线粒体与人类疾病, 尤其是与肿瘤的关系, 概述当前线粒体靶向药物传递系统的设计策略和发展趋势。

关键词: 线粒体; 靶向; 肿瘤; 纳米粒

Mitochondrial drug delivery for cancer therapy

Abstract: Mitochondrion is one of the most vital organelles in human body, and it is involved in many metabolic processes. Mitochondrion dysfunction is closely related with many malignant diseases such as cancers, neurodegenerative diseases, obesity and ischemia reperfusion injury. As a result, mitochondria drug delivery have gained increasing attention in treating many diseases. This review gives a brief introduction to the relationship between mitochondria and human diseases (e.g. cancer), and summarizes the latest trend of mitochondrial targeting drug delivery system (MTDDS).

Key words: mitochondria; targeting; tumor; nanoparticle

靶向给药系统 (targeting drug delivery system, TDDS) 经血管、胃肠道或局部给药后, 可借助配体的修饰或外加磁、热、光、超声等影响, 选择性地浓集定位药物于特定器官、组织、靶细胞或细胞器内^[1]。目前, 已有较多的针对器官、组织或细胞靶向的研究, 然而药物发挥治疗作用的靶点大多是蛋白质、核酸、酶和受体等功能性生物分子, 这些分子通常位于细胞中。因此改变药物的细胞内分布, 或能输送药物至特定细胞器 (如细胞核、线粒体、内质网等) 的输送技术研究成为了当前药学研究的新兴热点之一^[2]。

大部分临床化疗药物的作用靶点为细胞核内的 DNA, 如蒽环类抗生素、顺

铂、喜树碱等，它们通过损伤癌细胞核内的 DNA 或抑制拓扑异构酶来诱导细胞凋亡。而有些耐药细胞可能会将已进入细胞核的药物（阿霉素）重新排出至细胞质中（sequestration in cytoplasm），从而将药物与其作用靶点（细胞核）相隔离，产生耐药现象。作者前期研究中制备了透明质酸（hyaluronic acid）修饰的树状聚合物[poly(amido amine)]的纳米载体，共载阿霉素和小干扰 RNA，可明显提高阿霉素在细胞核内的分布及其细胞毒性^[3]。此外，线粒体是细胞呼吸链和氧化磷酸化的中心，与电子转移、调控细胞凋亡、钙储存、自由基生成和脂质代谢等重要生化过程密切相关。因此，线粒体功能失调和一系列疾病如心脑血管病、糖尿病、肠胃病及神经退行性疾病，尤其是肿瘤凋亡，关系密切^[4]，其靶向药物输送成为近年来研究热点之一，本文将对这一领域的最新进展进行概述。

1、细胞内药物靶向与肿瘤

1.1 药物的细胞内靶向 细胞内许多亚结构可以作为肿瘤治疗的靶点，干扰 DNA 复制和转录，可有效抑制肿瘤组织的增殖，因此一些药物通过作用于细胞核发挥抗肿瘤作用。但较小的细胞核孔影响部分药物如多肽的递送，如 Her2-NLP 多肽可以发射荧光，特异性地与 Her2/neu 阳性乳腺癌循环细胞相结合，PEG 修饰后的 Her2-NLP 多肽与 MDA-MB-231 细胞共同孵育，实验发现多肽仅出现在细胞质内，几乎无法进入细胞核^[5]。核糖体是细胞内蛋白质合成的重要场所，通过抑制 RNA 聚合酶 I、mRNA 的转录，阻断肿瘤细胞的蛋白质合成，可以抑制肿瘤的生长^[6]，然而目前作用于核糖体的药物依然相对较少。另外，肿瘤细胞过度增殖，中心体的复制频繁，通过抑制中心体的聚集，纺锤体出现多极化，最终可导致细胞死亡。抗癌药物通过改变纺锤体张力发挥疗效，此类药物可抑制细胞增殖，但无法直接杀灭细胞^[7]。细胞内氨基酸代谢平衡与细胞的正常生长密切相关，当细胞内营养物质不足，将通过自噬过程，将多余或受损的蛋白质降解为游离氨基酸，并释放到胞浆。整个过程受到氨基酸浓度、ATP 及氧气浓度精密调控^[8]。因此改变线粒体氧化呼吸链的功能，同样可以调节蛋白质合成与分解，达到靶向核糖体的类似效果。而阻断药物呼吸作用，也可直接杀死细胞。相对于细胞核及其他细胞器，线粒体以其较高的膜电位、脂溶性和特异性的蛋白转入途径等特点而引起了更多研究者关注。

1.2 线粒体与肿瘤 肿瘤细胞具有一系列生物学特征，如无限复制潜能、抗生长抑制信号、抗凋亡、持续产生增殖信号、诱导血管再生和浸润转移等，由于线粒体可以调控凋亡，因此肿瘤细胞的线粒体大多功能异常，如外膜通透性差、不能及时释放凋亡信号等，线粒体也由此成为肿瘤治疗的靶点。

线粒体由两层磷脂膜包被，分为基质、膜间隙两个腔，膜上和腔内含有大量参与细胞代谢生长的酶(如 NADH 脱氢酶、ATP 合成酶等)和少量线粒体 DNA^[9]。线粒体在细胞中发挥着重要作用：一方面，线粒体是细胞的能量工厂，可以通过电子传递链和氧化磷酸化将碳水化合物分解产生 ATP，为生命体提供代谢和运动所需的大部分能量^[10]；另一方面，线粒体还参与细胞凋亡过程，凋亡有外在、内在两条信号途径，前者与其细胞表面受体如 TNF 和 Fas 有关，后者为线粒体途径，主要是在细胞受到刺激时，线粒体释放存在于线粒体膜间隙内的细胞色素 C 和凋亡诱导因子，激活 caspases，启动细胞凋亡。因此，增加线粒体外膜通透性的因素均可能引发细胞凋亡。如内膜膜电势降低、电子传递链和 ATP 生产出现障碍、膜上的渗透性转移通道(permeability transition pore)开放引起线粒体吸水膨胀而破裂等^[1,11]。

线粒体靶向药物包括己糖激酶抑制剂、Bcl-2 家族类似物和硫醇氧化还原抑制剂等，其作用途径包括线粒体内膜的亲脂性阳离子、线粒体 DNA、电压依赖型阴离子通道、氧化还原电子传递链以及三羧酸循环等^[12]。位于线粒体外膜的 VDAC1 可以调节线粒体与细胞其他部分的信号传递，作为细胞代谢产物的转运体，VDAC1 还可通过调节自噬蛋白的释放影响线粒体介导的自噬过程^[13]。线粒体产生的活性氧 ROS 可促进肿瘤细胞的增殖，将抗氧化剂送入线粒体内，可改变线粒体三羧酸循环过程，诱导肿瘤细胞自噬^[14]。线粒体上的辅酶 Q-细胞色素 C 还原酶结合蛋白与血管生成相关，靶向肿瘤线粒体可改善肿瘤外周血管稳态^[15]。另外，研究发现，肿瘤干细胞的线粒体膜电位更高，并伴有更高水平的三磷酸腺苷、钙离子以及活性氧^[16]。

2. 线粒体靶向药物传递方法

目前线粒体研究的作用靶点主要包括线粒体 DNA、呼吸链、通透转变孔复合物 (mitochondrial permeability transition pore complex, mPTPC)、钾通道、以及线粒体相关的凋亡因子。糖酵解抑制剂氯尼达明、凋亡诱导剂氨氯地平 and 神经

酰胺是研究较多的作用于线粒体的抗肿瘤小分子，而大多数传统化疗药物，其主要作用靶点仍以细胞核或微管为主。但有研究表明紫杉醇的作用机制除了细胞质内微管外，也与其作用于线粒体并触发凋亡有关^[17]；而阿霉素除了作用于细胞核内 DNA，也可通过其提高线粒体活性氧（ROS）水平，促进细胞凋亡^[18]。

线粒体靶向属于细胞器水平的靶向，其较大的跨膜电位和线粒体蛋白的进入机制是其被用来靶向输送药物的两个基本特性，因此，线粒体的药物靶向主要包括亲脂阳离子介导和线粒体蛋白导入两种途径，此外，还可以通过对药物进行硝基氧化物或短杆菌肽等的连接修饰来实现线粒体靶向^[15]。由于到达靶点前给药系统要克服复杂的多重屏障，因此对给药系统的设计提出了更高的要求。目前研究大多采用双靶向策略，如在纳米载体表面同时修饰两种配体或抗体，使其先后靶向至肿瘤细胞和线粒体，而进入到细胞浆中的药物分子在抵达线粒体前仍面临着胞浆中蛋白骨架和其他细胞器及生物大分子的阻碍等问题^[19]。

线粒体靶向的配体主要有 TPP（三苯基膦）及其衍生物如 STPP（十八烷基三苯基膦）等，以及金离子与氮杂环构成的复合物（NHCs）、KLA 多肽（KLAKLAK）、 $\alpha\text{v}\beta 3$ 家族多肽（如 RGD4C）等^[20]。金离子与氮杂环构成的复合物（NHCs）兼有线粒体靶向、硫氧还原蛋白酶抑制剂的作用^[21]。KLA 多肽属于穿膜肽的一种，能够选择性诱导肿瘤细胞凋亡^[22]。

2.1 亲脂阳离子介导的靶向 体外线粒体膜电位 180~200mV，内侧带负电，在活细胞和机体内略低，为 130~150mV。利用亲脂阳离子（lipophilic cations）进行药物递送，其中研究最为成功的是三苯基膦（triphenylphosphine, TPP）^[23]，TPP 含有三个苯环可增大分子表面积，并形成了离域正电荷，可穿过线粒体双层疏水膜。许多生物活性分子经 TPP 修饰后，显示出线粒体的靶向性，如抗氧化剂维生素 E 与 TPP 相连，能更有效得保护线粒体不被氧化^[24,25]。作者前期研究中，将阿霉素与 TPP 化学连接，显示了良好的阿霉素的线粒体靶向作用，并且通过线粒体途径诱导了肿瘤细胞的凋亡，克服肿瘤细胞耐药性^[26]（图 1）。将 TPP 与纳米制剂化学结合，也具有线粒体靶向的作用，如 TPP 修饰硬脂酰（stearyl）制得的脂质体^[27]、TPP 修饰 PEG-PE 制得的紫杉醇脂质体^[28]，表面修饰 TPP 的树状大分子 PAMAM^[29]、TPP 修饰 PLGA-PEG 后的纳米粒^[30]，以及 TPP 修饰 TPGS 后制得的紫杉醇脂质体^[31]等，均显示了不同程度的线粒体靶向作用，并具有良好的体

内外抗肿瘤疗效。

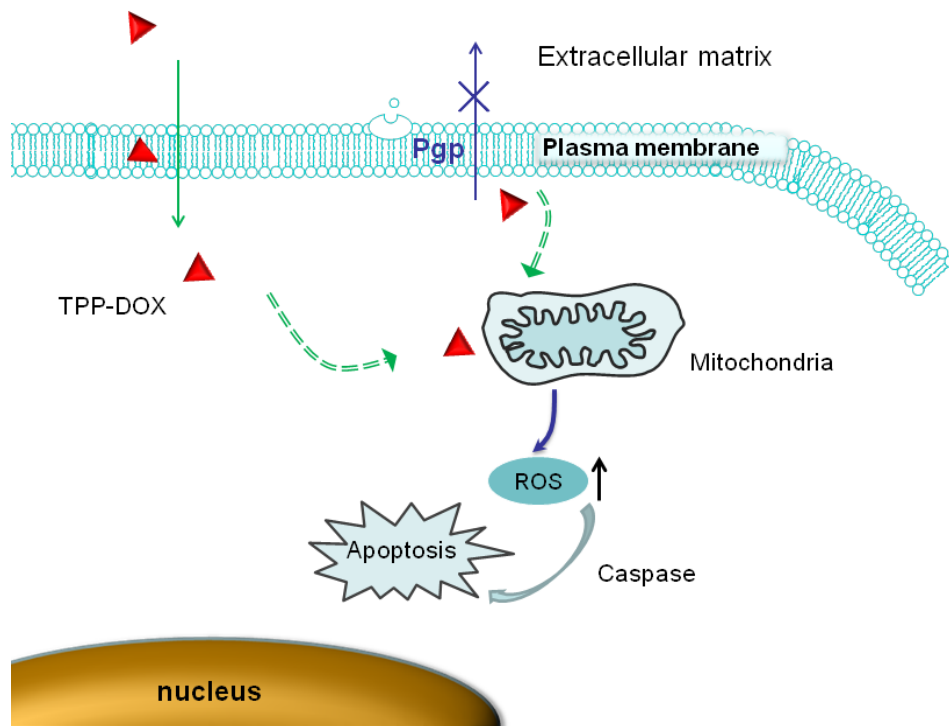


Figure 1 Schematic diagram of intracellular path of mitochondria targeting triphenylphosphine-doxorubicin (TPP-DOX)

2.2 细胞穿膜肽与线粒体蛋白导入机制 线粒体中的蛋白质大多由核基因编码，在胞浆核糖体上以未成熟蛋白的形式合成，这些蛋白在经靶向信号介导转运至线粒体内，经过适当的水解、折叠，与其他辅助因子结合成为成熟的蛋白^[32]。该前体蛋白大都含一段特定的线粒体靶向的氨基酸序列信号(MTS)，通常含有 20~30 个氨基酸，结构上会形成富含碱基、羟基化和疏水残基的 α 螺旋^[33]。将这些信号肽/蛋白与药物及载体结合，或将编码线粒体靶向信号肽 MTSs 的 DNA 序列与治疗性 DNA 整合，也可实现分子或微粒的线粒体靶向^[34]。

细胞穿膜肽 (cell penetrating peptides, CPP) 是从人类免疫缺陷病毒-1(HIV-1) 中获得的一段蛋白转导区域 (protein transduction domain, PTD)，这种肽可以促进生物大分子如多肽、蛋白、质粒 DNA 和 siRNA 等，以及脂质体等纳米载体的入胞^[35]。Shokolenko 等^[36]将 PTD 和 MTS 结合，可促进 exonucleaseIII 递送系统的入胞和线粒体靶向。线粒体膜与细胞膜均具有膜电势，但前者的疏水性更强，因此增加 CPP 的正电性和疏水性有利于其进一步靶向至线粒体，使其同时具有线粒体靶向的功能^[37]。

3. 线粒体靶向传递系统研究现状

目前，线粒体靶向药物的传递主要是通过线粒体靶向基团如罗丹明（rhodamine）、TPP 和地喹氯铵（dequalinium chloride）等，对活性药物或纳米载体（以血管内给药途径为主）进行化学连接或表面修饰来实现的。另外通过提高药物或载体的正电荷或亲脂性，也有助于其趋向线粒体(mitochondriotropics)。研究较多的线粒体靶向载体包括囊泡、脂质体、胶束、纳米粒、树状大分子、碳纳米管及金纳米粒等无机纳米载体。除了治疗药物输送，亦有一些影像试剂（如 FITC）用于线粒体靶向的研究，如表 1 所示。

Table1 Mitochondrial targeting of drug delivery system. "/"represents drug free delivery system

Drug	Material/ formulation	Ligand	Cell/animal model	Disease	Refer ence
Doxorubicin	Doxorubicin derivative	TPP	MDA-MB-435 cells	Breast cancer	[26]
CoQ10	PEG-PCL-TPP polymer micelle	TPP	N9 cells	Neurodegenerat ive disease	[38]
Curcumin;2,4 -DNP;LND; α -TOS	PLGA-b-PEG-T PP+PLGA-PEG mixed micelle	TPP	Hela cells; human IMR-32 cells; mouse 3T3-L1 cells	Alzheimer's disease; obesity; cancer	[30]
Epirubicin	Liposome	Dequalinium	K562 cells; K562/ADR cells; BALB/c nude mice bearing K562/ADR	Leukemia	[39]
Doxorubicin	Liposome	Dual targeting(folat e,TPP)	Oral squamous carcinoma KB cells	Oral squamous cell carcinoma	[40]
Doxorubicin	TPP-PEI nano-carrier	TPP	Human prostate cancer cells DU145 cells	Prostate cancer	[41]
SV30	Lipid nano-capsule	Hydrophobic carrier	F98 cells	Glioma	[42]
Temsirolimus	Zwitterionic liposome	Carrier with positive charge	Human renal cell carcinoma A498	Kidney cancer	[43]
Oligonucleoti des	Peptide modified multiwalled carbon nanotube	MTS	RAW264.7; HeLa cells	Mitochondrial DNA damage diseases, e.g. optic neuropathy	[44]
/	Gold nano-particle	CTAB	Bronchial epithelial cells 16HBE; bone marrow	Cancer	[45]

FITC	Dendrimer	TPP	stromal cells MSC; A549 HeLa; MCF-7; mouse 4T1; NIH-3T3	<i>In vivo</i> fluorescence imaging	[29]
Curcumin	DQAsomes	Dequalinium	Caco-2	Acute lung injury	[46]
/	Dual functional MITO-Porter	R8	HeLa	Cancer	[47]
/	Liposome (MITO-Porter)	MTS	/	/	[48]
Brucine	Chitosan derivative nanoparticle	TPP	HepG2; wistar rat	Liver cancer	[49]
Doxorubicin	PEO- <i>b</i> -PCL micelle	RGD peptide	MDA-MB-435; SCID mice	Breast cancer	[50]
Antisense oligodeoxynu cleotide	MITO-Porter	R8	HeLa	Cervical cancer	[51]
Paclitaxel	Liposome (containing TPP -TPGS1000)	TPP	A549	Lung cancer	[31]
Daunorubicin ; amlodipine	Mitosomes	Dequalinium	MCF-7	Breast cancer	[52]
Antioxidant	Alkylated TPP modification	TPP	C2C12; C57/BL6 mice	Cancer	[53]
Paclitaxel	Liposome	KLA peptide; charge reversible carrier	A549	Lung cancer	[54]
<i>cis</i> -Platinum	Carbon nanotube	Rhodamine	MCF-7	Breast cancer	[55]
α - Tocopherol succinate	TPP derivative modification	TPP	Ist-Mes-2; MM-BI cells; Meso-2; H28; AE17MM	Mesothelioma	[56]
Dichloroaceti c acid salt	TPP modification	TPP	PC3	Cancer	[57]
Doxorubicin	Hyperbranched polymer	/	MCF-7/ADR	Breast cancer	[58]
/	/	KLA peptide	Kaposi sarcoma cells	/	[59]

3.1 脂质体药物传递系统 脂质体能够包载亲脂性和亲水性药物，对脂质体表面进行不同的修饰有望实现相应的靶向作用。有研究设计了一种新型的多功能脂质给药系统（dual-function MITO-Porter, DF-MITO-Porter），通过进一步的 R8 或

线粒体靶向信号肽 MTS 的修饰, 可实现载体的入胞、内涵体逃逸以及线粒体靶向等多级转运功能。该类给药系统主要包括两重的双分子层脂质膜, 内膜包括药物, 外膜借助 R8 的作用促进入胞后, 进一步通过载体的 pH 敏感或膜融合脂质的作用, 从内涵体中逃逸, 并再次通过内重膜上的 R8 或 MTS, 实现载体的线粒体靶向^[47,48,51]。

传统脂质体可通过对表面进行 TPP、地喹氯铵的修饰, 或表面进行阳离子的改造、以及线粒体靶向肽的修饰, 来实现载药脂质体的线粒体靶向^[31,39,40,43,54]

3.2 纳米粒 Cuchelkar 等^[60]将肿瘤靶向和线粒体靶向结合, 采用赖氨酸连接 TPP 和药物, 再利用可降解的二硫键与聚合物 HPM 结合。该聚合物-药物的结合物在靶向进入肿瘤细胞后, 其二硫键断裂释放 TPP-赖氨酸-药物。另外, 亦有研究采用 TPP 修饰 PLGA-*b*-PEG, 得到 PLGA-*b*-PEG-TPP, 并与 PLGA 或 PLGA-PEG 混合制备得到了混合纳米粒, 携载药物后, 在抗肿瘤和阿尔兹海默症中, 显示了良好的治疗效果^[30]。

金属纳米粒近年来也开始用于药物靶向传递和影像诊断研究, Wang 等^[45]人用 CTAB (溴化十六烷基三甲铵) 修饰金纳米粒, 研究其在癌细胞、普通细胞和干细胞中的摄取、转运和对溶酶体的作用, 发现金纳米粒能在杀死癌细胞的同时保持对正常细胞的低毒性, 显示了良好的研究应用前景。目前研究涉及的常见金属纳米粒有金、铂、铁等, 但是其毒性还有待于进一步验证。

3.3 胶束 聚合物胶束内核通常是由两亲性多聚体的疏水部分组成, 可以用来包裹难溶性药物并控制其释放, 外壳通常是亲水端, 用于提高系统水溶性并避免被体内网状内皮系统识别。以往大多数胶束采用直链聚合物, 而支链或星形聚合物因其聚集后独特的形态学结构和在溶液中的自组装特性正引起人们的关注, 有研究采用 ABC 星形多聚物实现 CoQ10 的线粒体靶向纳米传递系统, 他们结合使用了点击化学(click chemistry)和开环聚合法合成多功能杂臂聚合物^[44]。实验证明, CoQ10 胶束能够有效传递至线粒体, 并在神经细胞中呈现良好的抗氧化特性。

3.4 其他载体 除了脂质体、纳米粒和胶束外, 另一种常用的纳米载体就是树状大分子。树状大分子既能将药物包载进内核也能与药物通过化学结合使其附着在表面。利用不同的分子对树状大分子进行表面修饰可使其具有不同性质, 如 PEG 修饰可提高溶解度, 而连接细胞识别配体可实现靶向作用, 另外连接发光物质还

可用于成像等。Biswas 等^[29]在 PAMAM(G(5)-D)树状大分子上接 TPP 作为靶向线粒体的配基；通过对树状大分子表面的氨基部分乙酰化可中和一部分正电荷，这样可以避免树状大分子与其他细胞的非特异性结合，从而降低了其毒性，链接 FITC 显像后，可明显靶向于细胞内线粒体。

4.总结

线粒体最初被认为是细胞能量工厂，近年来发现它也与细胞的凋亡、细胞内活性氧的生成以及细胞色素 C 的释放密切相关。此外，多种难治愈性疾病均与线粒体功能障碍有关，因此可作为缺血再灌注、肥胖、糖尿病和癌症等疾病的活性分子作用靶点。

目前，关于线粒体靶向药物输送系统的研究取得了一定进展，但仍面临一些选择和挑战。① 药物的选择：包括传统化疗药物、新型小分子活性药物、蛋白多肽和基因等生物大分子药物；② 作用靶点的选择：如电子传递链中的酶、线粒体 DNA 以及线粒体膜通透性等；③ 线粒体靶向与肿瘤靶向的兼顾：线粒体广泛存在于各种细胞中，如何避免线粒体靶向载体的非特异性输送，需要与肿瘤细胞靶向的策略联合应用；④ 载体材料的靶向效率：如何在确保药物输送系统进入细胞并经内涵体/溶酶体逃逸后，依然保持其靶向功能，并克服胞内如生物大分子等各种阻碍、进一步靶向至线粒体，仍有一定困难。⑤ 载体的生物安全性：如何确保载体材料的体内降解和生物相容性，降低其毒性，依然是目前纳米材料应用的一大挑战。因此，今后的研究需进一步探讨和明确线粒体的作用途径及机制，另外，在线粒体靶向输送系统的研究中，目前多采用双靶向或多靶向的设计策略，也可进一步探索兼顾线粒体靶向和肿瘤细胞靶向的配体，同时对纳米载体自身的性质，如粒径、电位、形貌和化学组成等进行优化。

从细胞生物学角度来看，线粒体在不同生理条件下，数量和形状都会发生改变，线粒体 DNA 拷贝数量与肿瘤的发生是否存在关联仍有争议，这为制剂作用机制的研究带来挑战。建立动物模型时，不同个体的线粒体差异较大，难以找到统一的治疗方案。不同肿瘤细胞系之间的线粒体的区别，在治疗方案筛选上的异同还有待进一步研究。

随着生物和纳米技术的发展，细胞器靶向药物输送的研究成为靶向研究的一个趋势和热点，也有望在今后多种疾病的治疗中发挥更大的作用。

References

- [1] Langer R. Drug delivery and targeting[J].Nature, 1998, 392(6679 Suppl): 5-10.
- [2] Rajendran L, Knolker HJ, Simons K. Subcellular targeting strategies for drug design and delivery[J].Nat Rev Drug Discov, 2010, 9: 29-42.
- [3] Han M, Lv Q, Tang XJ, et al. Overcoming drug resistance of MCF-7/ADR cells by altering intracellular distribution of doxorubicin *via* MVP knockdown with a novel siRNA polyamidoamine-hyaluronic acid complex[J]. J Control Release, 2012, 163: 136-144.
- [4] Qiu Q, Wang Z, Jiang JM, et al. Lidamycin induces apoptosis through mitochondria dependent channel. [J].Acta Pharm Sin (药学报), 2007, 42: 132-138.
- [5] Cai H, Singh AN, Sun X, et al. Synthesis and characterization of Her2-NLP peptide conjugates targeting circulating breast cancer cells: cellular uptake and localization by fluorescent microscopic imaging[J]. J Fluoresc, 2015, 25: 113-117.
- [6] Kardos GR, Robertson GP. Therapeutic interventions to disrupt the protein synthetic machinery in melanoma[J].Pigment Cell Melanoma Res, 2015, 28: 501-519.
- [7] Leber B, Maier B, Fuchs F, et al. Proteins required for centrosome clustering in cancer cells[J].Sci Transl Med, 2010, 2: 33r-38r.
- [8] Carroll B, Korolchuk VI, Sarkar S. Amino acids and autophagy: cross-talk and co-operation to control cellular homeostasis[J]. Amino Acids, 2015, 47: 2065-2088.
- [9] McFarland R, Taylor RW, Turnbull DM. Mitochondrial disease--its impact, etiology, and pathology[J]. Curr Top Dev Biol, 2007, 77: 113-155.
- [10] Newmeyer DD, Ferguson-Miller S. Mitochondria: releasing power for life and unleashing the machineries of death[J]. Cell, 2003, 112: 481-490.
- [11] Zupancic S, Kocbek P, Zariwala MG, et al. Design and development of novel mitochondrial targeted nanocarriers, DQAsomes for curcumin inhalation[J]. Mol Pharm, 2014, 11: 2334-2345.
- [12] Gorlach S, Fichna J, Lewandowska U. Polyphenols as mitochondria-targeted anticancer drugs[J].Cancer Lett, 2015, 366: 141-149.
- [13] Shoshan-Barmatz V, Ben-Hail D, Admoni L, et al. The mitochondrial voltage-dependent anion channel 1 in tumor cells[J].Biochim Biophys Acta, 2015, 1848: 2547-2575.
- [14] Cheng G, Zielonka J, McAllister D, et al. Antiproliferative effects of mitochondria-targeted cationic antioxidants and analogs: role of mitochondrial bioenergetics and energy-sensing mechanism[J].Cancer Lett, 2015, 365: 96-106.
- [15] Chang J, Jung HJ, Park HJ, et al. Cell-permeable mitochondrial ubiquinol-cytochrome c reductase binding protein induces angiogenesis *in vitro* and *in vivo*[J].Cancer Lett, 2015, 366: 52-60.
- [16] Song IS, Jeong YJ, Jeong SH, et al. FOXM1-induced PRX3 regulates stemness and survival of colon cancer cells *via* maintenance of mitochondrial function[J]. Gastroenterology, 2015, 149: 1006-1016.
- [17] Andre N, Carre M, Brasseur G, et al. Paclitaxel targets mitochondria upstream of caspase activation in intact human neuroblastoma cells[J].Febs Lett, 2002, 532: 256-260.
- [18] Malhi SS, Budhiraja A, Arora S, et al. Intracellular delivery of redox cyclers-doxorubicin to the mitochondria of cancer cell by folate receptor targeted mitocancerotropic liposomes[J].Int J Pharmaceut, 2012, 432: 63-74.
- [19] D'Souza GG, Wagle MA, Saxena V, et al. Approaches for targeting mitochondria in cancer therapy[J].Biochim Biophys Acta, 2011, 1807: 689-696.
- [20] Biswas S, Dodwadkar NS, Deshpande PP, et al. Liposomes loaded with paclitaxel and modified with

- novel triphenylphosphonium-PEG-PE conjugate possess low toxicity, target mitochondria and demonstrate enhanced antitumor effects *in vitro* and *in vivo*[J].J Control Release, 2012, 159: 393-402.
- [21] Hickey JL, Ruhayel RA, Barnard PJ, et al. Mitochondria-targeted chemotherapeutics: the rational design of gold(I) N-heterocyclic carbene complexes that are selectively toxic to cancer cells and target protein selenols in preference to thiols[J].J Am Chem Soc, 2008, 130: 12570-12571.
- [22] Yang H, Liu S, Cai H, et al. Chondroitin sulfate as a molecular portal that preferentially mediates the apoptotic killing of tumor cells by penetratin-directed mitochondria-disrupting peptides[J].J Biol Chem, 2010, 285: 25666-25676.
- [23] Smith RA, Porteous CM, Gane AM, et al. Delivery of bioactive molecules to mitochondria *in vivo*[J].Proc Natl Acad Sci Usa, 2003, 100: 5407-5412.
- [24] Smith RA, Porteous CM, Coulter CV, et al. Selective targeting of an antioxidant to mitochondria[J].Eur J Biochem, 1999, 263: 709-716.
- [25] Kovarova J, Bajzikova M, Vondrusova M, et al. Mitochondrial targeting of alpha-tocopheryl succinate enhances its anti-mesothelioma efficacy[J].Redox Rep, 2014, 19: 16-25.
- [26] Han M, Vakili MR, Soleymani AH, et al. Mitochondrial delivery of doxorubicin *via* triphenylphosphine modification for overcoming drug resistance in MDA-MB-435/DOX cells[J].Mol Pharm, 2014, 11: 2640-2649.
- [27] Boddapati SV, D'Souza GG, Erdogan S, et al. Organelle-targeted nanocarriers: specific delivery of liposomal ceramide to mitochondria enhances its cytotoxicity *in vitro* and *in vivo*[J].Nano Lett, 2008, 8: 2559-2563.
- [28] Biswas S, Dodwadkar NS, Deshpande PP, et al. Liposomes loaded with paclitaxel and modified with novel triphenylphosphonium-PEG-PE conjugate possess low toxicity, target mitochondria and demonstrate enhanced antitumor effects *in vitro* and *in vivo*[J]. J Control Release, 2012, 159: 393-402.
- [29] Biswas S, Dodwadkar NS, Piroyan A, et al. Surface conjugation of triphenylphosphonium to target poly(amidoamine) dendrimers to mitochondria[J].Biomaterials, 2012, 33: 4773-4782.
- [30] Marrache S, Dhar S. Engineering of blended nanoparticle platform for delivery of mitochondria-acting therapeutics[J].Proc Natl Acad Sci U S A, 2012, 109: 16288-16293.
- [31] Zhou J, Zhao WY, Ma X, et al. The anticancer efficacy of paclitaxel liposomes modified with mitochondrial targeting conjugate in resistant lung cancer[J].Biomaterials, 2013, 34: 3626-3638.
- [32] Neupert W, Herrmann JM. Translocation of proteins into mitochondria[J].Annu Rev Biochem, 2007, 76: 723-749.
- [33] Yamada Y, Harashima H. Mitochondrial drug delivery systems for macromolecule and their therapeutic application to mitochondrial diseases[J].Adv Drug Deliv Rev, 2008, 60: 1439-1462.
- [34] Tanaka M, Borgeld HJ, Zhang J, et al. Gene therapy for mitochondrial disease by delivering restriction endonuclease SmaI into mitochondria[J].J Biomed Sci, 2002, 9: 534-541.
- [35] Torchilin VP, Rammohan R, Weissig V, et al. TAT peptide on the surface of liposomes affords their efficient intracellular delivery even at low temperature and in the presence of metabolic inhibitors[J].Proc Natl Acad Sci U S A, 2001, 98: 8786-8791.
- [36] Shokolenko IN, Alexeyev MF, LeDoux SP, et al. TAT-mediated protein transduction and targeted delivery of fusion proteins into mitochondria of breast cancer cells[J].DNA Repair (Amst), 2005, 4: 511-518.
- [37] Horton KL, Stewart KM, Fonseca SB, et al. Mitochondria-penetrating peptides[J].Chem Biol, 2008, 15: 375-382.
- [38] Sharma A, Soliman GM, Al-Hajaj N, et al. Design and evaluation of multifunctional nanocarriers

for selective delivery of coenzyme Q10 to mitochondria[J].Biomacromolecules, 2012, 13: 239-252.

[39] Men Y, Wang XX, Li RJ, et al. The efficacy of mitochondrial targeting antiresistant epirubicin liposomes in treating resistant leukemia in animals[J].Int J Nanomed, 2011, 6: 3125-3137.

[40] Malhi SS, Budhiraja A, Arora S, et al. Intracellular delivery of redox cycler-doxorubicin to the mitochondria of cancer cell by folate receptor targeted mitocancerotropic liposomes[J].Int J Pharm, 2012, 432: 63-74.

[41] Theodossiou TA, Sideratou Z, Katsarou ME, et al. Mitochondrial delivery of doxorubicin by triphenylphosphonium-functionalized hyperbranched nanocarriers results in rapid and severe cytotoxicity[J].Pharm Res, 2013, 30: 2832-2842.

[42] Weyland M, Manero F, Paillard A, et al. Mitochondrial targeting by use of lipid nanocapsules loaded with SV30, an analogue of the small-molecule Bcl-2 inhibitor HA14-1[J].J Control Release, 2011, 151: 74-82.

[43] Mo R, Sun Q, Xue J, et al. Multistage pH-responsive liposomes for mitochondrial-targeted anticancer drug delivery[J].Adv Mater, 2012, 24: 3659-3665.

[44] Battigelli A, Russier J, Venturelli E, et al. Peptide-based carbon nanotubes for mitochondrial targeting[J].Nanoscale, 2013, 5: 9110-9117.

[45] Wang L, Liu Y, Li W, et al. Selective targeting of gold nanorods at the mitochondria of cancer cells: implications for cancer therapy[J].Nano Lett, 2011, 11: 772-780.

[46] Zupancic S, Kocbek P, Zariwala MG, et al. Design and development of novel mitochondrial targeted nanocarriers, DQAsomes for curcumin inhalation[J]. Mol Pharm, 2014, 11: 2334-2345.

[47] Yamada Y, Furukawa R, Yasuzaki Y, et al. Dual function MITO-Porter, a nano carrier integrating both efficient cytoplasmic delivery and mitochondrial macromolecule delivery[J].Mol Ther, 2011, 19: 1449-1456.

[48] Yamada Y, Harashima H. Enhancement in selective mitochondrial association by direct modification of a mitochondrial targeting signal peptide on a liposomal based nanocarrier[J].Mitochondrion, 2013, 13: 526-532.

[49] Chen Z, Zhang L, Song Y, et al. Hierarchical targeted hepatocyte mitochondrial multifunctional chitosan nanoparticles for anticancer drug delivery[J].Biomaterials, 2015, 52: 240-250.

[50] Xiong XB, Ma Z, Lai R, et al. The therapeutic response to multifunctional polymeric nano-conjugates in the targeted cellular and subcellular delivery of doxorubicin[J].Biomaterials, 2010, 31: 757-768.

[51] Furukawa R, Yamada Y, Kawamura E, et al. Mitochondrial delivery of antisense RNA by MITO-Porter results in mitochondrial RNA knockdown, and has a functional impact on mitochondria[J].Biomaterials, 2015, 57: 107-115.

[52] Zhang Y, Li RJ, Ying X, et al. Targeting therapy with mitosomal daunorubicin plus amlodipine has the potential to circumvent intrinsic resistant breast cancer[J].Mol Pharm, 2011, 8: 162-175.

[53] Porteous CM, Logan A, Evans C, et al. Rapid uptake of lipophilic triphenylphosphonium cations by mitochondria *in vivo* following intravenous injection: implications for mitochondria-specific therapies and probes[J].Biochim Biophys Acta, 2010, 1800: 1009-1017.

[54] Jiang L, Li L, He X, et al. Overcoming drug-resistant lung cancer by paclitaxel loaded dual-functional liposomes with mitochondria targeting and pH-response[J].Biomaterials, 2015, 52: 126-139.

[55] Yoong SL, Wong BS, Zhou QL, et al. Enhanced cytotoxicity to cancer cells by mitochondria-targeting MWCNTs containing platinum(IV) prodrug of cisplatin[J].Biomaterials, 2014,

35: 748-759.

- [56] Kovarova J, Bajzikova M, Vondrusova M, et al. Mitochondrial targeting of alpha-tocopheryl succinate enhances its anti-mesothelioma efficacy[J].Redox Rep, 2014, 19: 16-25.
- [57] Pathak RK, Marrache S, Harn DA,et al.Mito-DCA: a mitochondria targeted molecular scaffold for efficacious delivery of metabolic modulator dichloroacetate[J].Acs Chem Biol, 2014, 9: 1178-1187.
- [58] Zeng X, Morgenstern R, Nystrom AM. Nanoparticle-directed sub-cellular localization of doxorubicin and the sensitization breast cancer cells by circumventing GST-mediated drug resistance[J].Biomaterials, 2014, 35: 1227-1239.
- [59] Ellerby HM, Arap W, Ellerby LM, et al. Anti-cancer activity of targeted pro-apoptotic peptides[J].Nat Med, 1999, 5: 1032-1038.
- [60] Cuchelkar V, Kopeckova P, Kopecek J. Novel HPMA copolymer-bound constructs for combined tumor and mitochondrial targeting[J]. Mol Pharm, 2008, 5: 776-786.