

## 新型辐射增敏药 RRx-001

董正川 段玉清 樊赛军 李祎亮

300193, 天津中医药大学研究生院(董正川); 300192 天津, 中国医学科学院 北京协和医学院 放射医学研究所, 天津市放射医学与分子核医学重点实验室(段玉清, 樊赛军, 李祎亮)

通信作者: 李祎亮, Email: liyiliang75@163.com

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4114.2017.03.011

**【摘要】** 辐射增敏药可提高射线对肿瘤细胞, 尤其是乏氧细胞的杀伤率, 增强放疗效果, 且其对有氧正常组织危害小, 使用方便, 因而有望成为放疗中的重要辅助药物。新型二硝基氮杂环丁烷辐射增敏药 RRx-001 源自航空产业。作为一氧化氮的供体分子, RRx-001 可透过红细胞膜, 与血红蛋白的  $\beta$  半胱氨酸 93 结合, 并在乏氧环境中大量释放一氧化氮, 从而提高乏氧细胞对照射的敏感度。临床实验显示 RRx-001 具有良好的安全性和耐受性。目前其对胆管癌、结直肠癌等肿瘤的治疗正在进行临床 II 期实验。

**【关键词】** 辐射增敏药; 一氧化氮; RRx-001

基金项目: 中国医学科学院医学与健康科技创新工程资助(2016-12M-3-022)

**A novel radiosensitizer RRx-001** Dong Zhengchuan, Duan Yuqing, Fan Saijun, Li Yiliang  
Graduate School, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China(Dong ZC);  
Tianjin Key Laboratory of Radiation Medicine and Molecular Nuclear Medicine, Institute of Radiation  
Medicine, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Tianjin 300192,  
China(Duan YQ, Fan SJ, Li YL)

Corresponding author: Li Yiliang, Email: liyiliang75@163.com

**【Abstract】** The effect of radiotherapy can be enhanced by radiosensitizers because these compounds can improve the killing rate of radiation on tumor cells, especially on hypoxic cells. Moreover, radiosensitizers show little damage to the aerobic normal tissue and are easy to use. For these reasons, radiosensitizers are expected to become the important treatment in radiotherapy. RRx-001, a novel dinitroazetidine radiosensitizer, is an aerospace industry-derived anti-cancer agent. As an NO-donating compound, RRx-001 can pass through erythrocyte membrane, selectively bind to hemoglobin at the beta-cysteine 93 residue, and release large amounts of NO under hypoxic conditions, so as to improve radiosensitivity of hypoxic cells. RRx-001 shows good safety and tolerability in clinical studies and now is undergoing phase II clinical trials in cholangiocarcinoma, colorectal neoplasms, ect.

**【Key words】** Radiation-sensitizing agents; Nitric oxide; RRx-001

**Fund program:** Chinese Academy of Medical Sciences Initiative for Innovative Medicine(2016-12M-3-022)

### 1 药物概况

RRx-001(又名: ABDNAZ)是由 EpicentRx 公司研发的用于治疗结直肠癌、神经内分泌肿瘤、非小细胞肺癌、小细胞肺癌等肿瘤的辐射增敏药, 给药途径为静脉注射。中文化学名为 N-(溴乙酰基)-3,3-二硝基氮杂环丁烷, 英文化学名为 1-bromoacetyl-3,3-dinitroazetidine。CAS 号: 925206-

65-1, 分子式:  $C_5H_6BrN_3O_5$ (见图 1), 相对分子质量为 268.02。目前 RRx-001 正在进行临床 II 期研究。

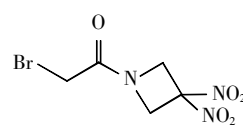


图 1 RRx-001 的结构

Fig.1 Structure of RRx-001

## 2 相关背景

恶性肿瘤是常见的恶性疾病，发病率逐年升高，病死率居各种疾病的前列。放疗是治疗恶性肿瘤的重要手段之一，其原理为使用射线照射肿瘤，从而达到抑制和杀灭肿瘤细胞的目的<sup>[1]</sup>。据文献报道，45%的恶性肿瘤是可以治愈的<sup>[2]</sup>，其中通过放疗治愈的占12%，高于化疗的5%<sup>[3]</sup>。目前约65%~75%的恶性肿瘤患者在整个病程中需要进行放疗<sup>[4]</sup>。伴随着仪器设备的更新，放疗在改善生活质量，延长生存时间，降低治疗总费用等方面均起到较大作用。但中晚期肿瘤和转移肿瘤往往产生不同程度的辐射耐受性和抵抗性，成为放疗效果不显著甚至失败的重要原因<sup>[5-6]</sup>。选择性提高放疗的照射剂量可以明显杀灭癌细胞，但同时也会损伤肿瘤周围的正常组织，严重影响患者的生活质量。如何有效地提高肿瘤对辐射的敏感性，降低放疗的照射剂量，一直以来是肿瘤临床治疗中需要迫切解决的技术难题。

乏氧是肿瘤在临床上最显著的特征之一。肿瘤细胞以血管为中心生长，距离血管超过180 μm的细胞因氧浓度下降和营养物质匮乏易形成坏死区，坏死区前沿低氧浓度区域为乏氧组织<sup>[7]</sup>。乏氧细胞普遍存在于实体瘤中，一般占肿瘤细胞的10%~50%<sup>[8]</sup>，纤维肉瘤中的乏氧细胞比例高达50%以上<sup>[8]</sup>。它们对射线具有显著的抵抗作用，是放化疗后肿瘤复发和转移的重要原因之一。RRx-001是由EpicentRx公司研发的用于提高放疗效果的辐射增敏药，其独特的分子结构源于航天产业，最初用于合成炸药或者火箭燃料<sup>[9]</sup>。它能够穿过红细胞膜和血红蛋白共价结合，并在乏氧环境中释放大一氧化氮，一氧化氮能够增强细胞的辐射敏感性，从而提高放疗的效果。在动物实验中，RRx-001可有效延缓肿瘤生长，并影响肿瘤的血管结构，具有辐射增敏特性。目前RRx-001正在进行临床II期研究。

## 3 作用机制

p53基因作为一种人体抑癌基因，其失活或突变是肿瘤产生的重要原因之一。据报道，50%以上的肿瘤出现了该基因的突变<sup>[10]</sup>。鼠双微体2基因是一种调节p53基因的原癌基因，能与p53基因形成鼠双微体2-p53自我反馈通路，参与细胞生长抑制、凋亡、细胞周期调控等过程<sup>[11]</sup>。一氧化氮可通

过调节鼠双微体2基因诱导癌细胞中p53蛋白的表达，引起p53蛋白的蓄积，增强细胞的辐射敏感性，促进肿瘤细胞凋亡。此外，一氧化氮能通过环磷酸鸟苷介导舒张血管，增加肿瘤的血流量，提高肿瘤细胞中的含氧量，使肿瘤细胞的辐射敏感性增强，从而达到辐射增敏的治疗效果。

RRx-001进入血液后，可穿透红细胞膜，同时不可逆地与血红蛋白残基β-半胱氨酸93结合<sup>[12-13]</sup>，RRx-001修饰的血红蛋白在血液循环中可持续一个红细胞生命周期，随着肿瘤内化作用和异化作用，优先黏附RRx-001的红细胞对血管内皮释放一氧化氮和血红素。此外，在深度缺氧的组织，尤其是急性缺氧的肿瘤组织中，脱氧血红蛋白使失活的亚硝酸盐合成酶重新恢复活性，同时催化血清中的亚硝酸盐产生过量的一氧化氮<sup>[13-16]</sup>。一氧化氮进而舒张血管，提高肿瘤细胞中的氧气含量，达到辐射增敏的治疗效果。

## 4 合成路线

RRx-001合成路线参照文献[17]，以1-叔丁基-3-羟基甲基-3-硝基氮杂环丁烷为起始原料，在小于或约等于30℃条件下加入氢氧化钠水溶液溶解，搅拌2h并冷却至10℃，加入亚硝酸钠和铁氰化钾的水溶液，搅拌15min，加入过硫酸钠，待温度停止增加除去冷浴，室温搅拌16h，生成化合物1-叔丁基-3,3-二硝基氮杂环丁烷。1-叔丁基-3,3-二硝基氮杂环丁烷反应液用二氯甲烷萃取后，干燥减压浓缩。将三氟化硼乙醚和溴乙酰溴加入1-叔丁基-3,3-二硝基氮杂环丁烷的二氯甲烷溶液，加热至轻微回流，搅拌6h，然后停止加热。将二氯甲烷和蒸馏水加入反应混合物并激烈搅拌16h，直至全部固体溶解。静置后除去水相，有机相用蒸馏水洗涤干燥，得到纯化的N-(溴乙酰基)-3,3-二硝基氮杂环丁烷，回收率约81%。合成路线见图2。

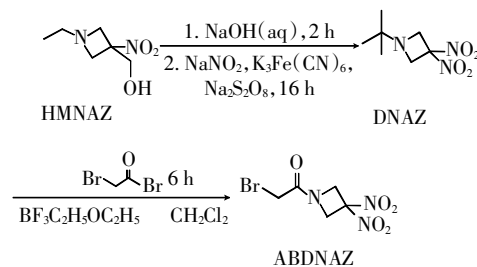


图2 RRx-001的合成路线

Fig.2 Synthetic route of RRx-001

## 5 药理作用

一项测试 RRx-001 对小鼠鳞状细胞癌体外活性的实验表明, RRx-001 在乏氧环境中对肿瘤细胞的毒性和抗增殖作用更强。在乏氧环境和常氧环境中, RRx-001 抑制 50% 的肿瘤细胞生长所需浓度 (concentration required for 50% inhibition of cell growth,  $IC_{50}$ ) 分别为  $0.14 \mu\text{mol/L}$  和  $0.66 \mu\text{mol/L}$ 。在该动物模型中, RRx-001 与另外一种辐射增敏药替拉扎明相比, 显示出更强的活性。在厌氧环境中, RRx-001 和替拉扎明的  $IC_{50}$  值分别为  $0.14 \mu\text{mol/L}$  和  $0.96 \mu\text{mol/L}$ <sup>[18]</sup>。另一项针对 4 种人肿瘤细胞系和小鼠鳞状癌细胞的实验表明, RRx-001 与顺铂的体内活性相当, RRx-001 和顺铂的  $IC_{50}$  值分别为  $(2.6 \pm 1.6) \mu\text{mol/L}$  和  $(4.4 \pm 2.2) \mu\text{mol/L}$ , 且均未引起明显的细胞毒性<sup>[18]</sup>。

在一项体内实验中, 在一组荷瘤小鼠的腹腔内注射 RRx-001, 剂量为每天  $5 \text{ mg/kg}$ , 同时小鼠每天接受  $250 \text{ cGy}$  的肿瘤局部照射, 另外两组荷瘤小鼠中, 一组仅接受  $250 \text{ cGy}$  肿瘤局部照射, 另一组仅注射 RRx-001, 剂量为每天  $5 \text{ mg/kg}$ , 结果显示, 仅接受照射和仅注射 RRx-001 的两组小鼠的肿瘤生长延缓时间 (tumor growth delay, TGD) 分别为  $(3.2 \pm 1.8) \text{ d}$  和  $(1.8 \pm 0.6) \text{ d}$ , 而接受照射治疗并注射 RRx-001 小鼠的 TGD 为  $(7.0 \pm 2.1) \text{ d}$ <sup>[18]</sup>。另一项体外实验同样使用向小鼠腹腔内注射 RRx-001 的方法, 并将 RRx-001 的剂量增至每日  $6 \text{ mg/kg}$ , 肿瘤局部照射剂量提高至每日  $400 \text{ cGy}$ 。结果显示, 仅注射 RRx-001 小鼠的 TGD 为  $(7.9 \pm 2.4) \text{ d}$ , 而接受照射治疗并注射 RRx-001 小鼠的 TGD 为  $(13.9 \pm 1.9) \text{ d}$ 。这表明 RRx-001 不仅具有抑制肿瘤生长的作用, 而且可以显著地提高放疗效果, 并且无论对小鼠单独使用 RRx-001 还是结合放疗使用 RRx-001, 小鼠均未表现出明显的全身毒性, 也未观察到显著的血液变化、生物化学变化和组织病理学变化<sup>[18]</sup>。

临床前药理学研究显示, 引发一氧化氮和一氧化氮供体分子的辐射增敏效应的原因除了一氧化氮代谢分子的直接效应外, 还可能是肿瘤内血流量的变化。研究发现 RRx-001 能改变肿瘤血流量, 使用超声造影对注射 RRx-001 小鼠的鳞状细胞癌肿瘤进行观察, 发现肿瘤血流灌注率在给药 6 h 后达

到最大值, 并至少持续至给药后  $48 \text{ h}$ <sup>[18]</sup>。

放疗引起的小鼠肿瘤延缓生长的作用既存在剂量依赖性, 也存在给药顺序依赖性。在一项体内实验中, 对荷瘤小鼠的肿瘤给予单次  $7 \text{ Gy}$  的照射, 并分别在放疗前 24、2 h, 放疗同时, 放疗后 2、24 h 注射 RRx-001, 剂量为  $10 \text{ mg/kg}$ , 结果显示, 放疗前 0~2 h 注射 RRx-001 的小鼠 TGD 最长, 达到  $4.0 \sim 4.5 \text{ d}$ , 而在放疗后 2~24 h 注射 RRx-001 的小鼠 TGD 为  $2.8 \sim 3.3 \text{ d}$ 。由此可见, 在放疗前 2 h 内给药将会得到较好的辐射增敏效果<sup>[18]</sup>。

## 6 安全性评价

小鼠单次大静脉注射 RRx-001 的最大耐受剂量为  $10 \sim 12 \text{ mg/kg}$ , 腹腔注射的最大耐受剂量为  $15 \sim 20 \text{ mg/kg}$ 。有研究表明, 小鼠每日腹腔注射 RRx-001, 剂量为  $6 \text{ mg/kg}$ , 连续注射 14 d, 结果显示其耐受性良好, 小鼠的外形、皮肤反应及日常活动无明显变化, 无意外死亡, 没有观察到蓄积性毒性。以每日  $15 \text{ mg/kg}$  或每日  $6 \text{ mg/kg}$  的剂量, 连续注射 14 d, 无骨髓抑制迹象<sup>[18]</sup>。

放疗引起的胃肠道损伤限制了腹腔和盆腔肿瘤的放疗剂量。小肠隐窝细胞的存活率可用以测定辐射引起的肠道损伤, 该法灵敏度较高<sup>[19]</sup>。在一项测定 RRx-001 对肠上皮细胞影响的实验中, 给予小鼠静脉注射 RRx-001, 然后进行  $10 \sim 15 \text{ Gy}$  的全身照射, 结果显示, 进行全身照射前静脉注射 RRx-001 的小鼠与只进行全身照射的对照小鼠相比, 其位于十二指肠、空肠和回肠的隐窝干细胞存活数量非但没有减少, 反而有所增加。实验结果说明, RRx-001 可以保护位于十二指肠、回肠和空肠的隐窝干细胞, 抵御全身照射, 并增加具有活性的隐窝干细胞的数量<sup>[13]</sup>。

## 7 药动学研究

RRx-001 进入人体后立即被充分吸收并进入体循环。由于其在体内吸收速度过快, 在临床实验中使用液相色谱-串联质谱法<sup>[20]</sup>, 通过母体分子的消失和 RRx-001 与谷胱甘肽加合物的生成来检测其代谢情况。在一项 I 期临床研究中, 分别给予 6 组患者静脉注射 RRx-001, 剂量分别为  $10$ 、 $16.7$ 、 $24.6$ 、 $33$ 、 $55$ 、 $83 \text{ mg/m}^2$ , 用药首日血浆浓度-时间曲线下面积分别为  $88.0$ 、 $411.6$ 、 $455.1$ 、 $477.0$ 、

1343.8、457.4 ng·h·mL<sup>-1</sup>, 峰浓度分别为136.46、194.6、173.0、172.8、408.0、161.3 ng/mL; 用药第22天或第50天的血浆浓度-时间曲线下面积分别为63.2、309.6、378.5、664.1、1063.1、1217.5 ng·h·mL<sup>-1</sup>, 峰浓度分别为62.7、132.0、127.2、254.0、315.3、251.1 ng/mL。除最高剂量组外, 计算出的平均血浆浓度-时间曲线下面积和峰浓度在各自剂量组均存在明显的剂量依赖性。同时, RRx-001-谷胱甘肽在体内的消除半衰期约为30 min, 不同剂量、不同用药时间之间的差别不显著<sup>[21]</sup>。

## 8 临床研究

### 8.1 I期临床研究

2011年9月, EpicentRx公司开展一项多中心、开放标签的I期临床试验(NCT01359982)评估RRx-001的安全性、耐受性和药代动力学。试验共招募受试者25名, 年龄均≥18岁。受试者的组织学和细胞学诊断均确诊为无法治愈的晚期实体恶性肿瘤, 预期寿命至少12周; 已停止服用一切抗肿瘤药物6周以上, 无既往治疗的残余作用。受试者被分为6个剂量组: 6名受试者RRx-001注射剂量为10 mg/m<sup>2</sup>; 3名受试者剂量为16.7 mg/m<sup>2</sup>; 3名受试者剂量为24.6 mg/m<sup>2</sup>; 4名受试者剂量为33 mg/m<sup>2</sup>; 3名受试者剂量为55 mg/m<sup>2</sup>; 6名受试者剂量为83 mg/m<sup>2</sup>。注射部位疼痛(基本上为1/2级)是最常见的治疗相关的不良事件, 发生率为84%, 其次为上臂肿胀, 发生率为32%, 静脉硬化的发生率为28%, 此外没有观察到剂量限制性不良反应。在21例可以评估的受试者中, 1例受试者病情部分缓解, 14例受试者病情稳定, 6例受试者病情恶化。另外, 有7例受试者的病情已稳定超过4个月且与其剂量水平无关; 15例受试者在首次评估时显示病情已得到控制。虽然该项研究未对受试者进行任何具体的生活质量调查, 但25名受试者中的11名称他们的症状和幸福感得到了改善, 其中3名能够回到其专职岗位<sup>[21]</sup>。

### 8.2 II期临床研究

2014年5月, 美国开展了一项为期4年的随机、开放标签试验(NCT02096354)。这项试验旨在比较结直肠癌患者接受RRx-001与瑞格菲尼治疗后再接受伊立替康疗法的效果和安全性。此项试验招募200例结直肠癌患者, 受试者分为2组。在准

备阶段, 2/3的受试者(第一组)先接受连续4周, 每周静脉注射1次(4 mg)的RRx-001治疗, 剩余1/3的受试者(第二组)先接受连续4周的瑞格菲尼治疗。当两组受试者肿瘤发生进展时, 即接受伊立替康治疗。到目前为止, 有相当比例的第一组患者开始接受伊立替康治疗就表现出肿瘤细胞对放疗的敏感性增强。该试验预计2018年5月完成<sup>[22]</sup>。

2015年2月, 美国开展一项剂量递增试验(NCT02215512)。该试验旨在测试RRx-001与全脑放射治疗在脑转移瘤患者中的疗效和安全性。试验共招募30例成年脑转移瘤患者。第一组3例受试者以每周2次, 每次5 mg/m<sup>2</sup>的剂量静脉注射RRx-001, 如用全脑放射治疗观察到不良反应, 则给予第二组3例受试者以每周2次, 每次8.4 mg/m<sup>2</sup>的剂量静脉注射RRx-001, 继续用全脑放射治疗监测不良反应。重复该过程并逐步提高RRx-001的用量(每次16.5 mg/m<sup>2</sup>、27.5 mg/m<sup>2</sup>)。该试验预计2017年11月完成<sup>[22-23]</sup>。

2015年6月, 美国开展了一项4组、三阶段开放标签试验(NCT02489903), 试验共招募90例恶性小细胞肺癌、非小细胞肺癌、上皮性卵巢癌以及高级神经内分泌瘤患者。该试验旨在探索RRx-001使上述肿瘤细胞对放疗敏感性增强的可能性。患者在试验准备阶段先以每周1次, 每次4 mg/m<sup>2</sup>的剂量给药RRx-001, 直至肿瘤发生进展。当肿瘤细胞开始对放疗敏感性增强时, 患者接受含顺铂或卡铂的化疗4~6个周期(3周为1个周期)。如果患者的肿瘤仍有进展迹象, 则停止对该患者的临床试验; 病情稳定甚至有改善的患者则进入化疗间歇期。在化疗间歇期, 患者不接受任何治疗, 但需检测肿瘤进展: 每3周接受1次门诊检查, 每6周接受1次扫描检查, 直至肿瘤进展。到目前为止, 在9例可评估的患者中, 6例患者以局部持久缓解的形式表现出肿瘤细胞对放疗的敏感性增强; 9例患者中已有4例进入化疗间歇期超过3个月。目前该试验仍在进行中, 预计在2017年7月完成<sup>[22]</sup>。

## 9 结语

RRx-001可选择性地作用于肿瘤的乏氧组织, 其毒性小且对实体瘤效果显著, 目前正在进行II期临床试验, 有望成为治疗晚期癌症的一线辐射增敏药。另据报道, RRx-001作为葡萄糖-6-磷酸脱氢

酶的抑制剂,还具有抗寄生活性以及增强蒿甲醚抗癌效果的作用<sup>[24]</sup>,且RRx-001对葡萄糖-6-磷酸脱氢酶的抑制作用与其抗肿瘤活性存在着联系<sup>[25-26]</sup>。基于药物的安全性、有效性及其商业价值等方面的考量,RRx-001具有良好的开发前景。

利益冲突 本研究由署名作者按以下贡献声明独立开展,不涉及任何利益冲突。

作者贡献声明 董正川负责论文的撰写与修改;段玉清负责论文的修订;樊赛军负责论文的指导;李祎亮负责命题的提出与论文的审阅。

### 参 考 文 献

- [ 1 ] 冉晨曦,何人可,汤小玲,等. 肿瘤放射治疗中辐射增敏剂的应用进展[J]. 山东医药, 2015,55( 3): 86-88.  
Ran CX, He RK, Tang XL, et al. Application progress of radiosensitizer in tumor radiotherapy[J]. Shangdong Med J, 2015, 55( 3): 86-88.
- [ 2 ] Tubiana M. The role of local treatment in the cure of cancer[J]. Eur J Cancer, 1992, 28( 12): 2061-2069. DOI: 10.1016/0959-8049( 92)90256-2.
- [ 3 ] 张叔人. 放疗联合免疫治疗肿瘤是今后重要的研究领域[J]. 实用肿瘤杂志, 2015, 30(6): 491-495. DOI: 10.13267/j.cnki.syzlzz.2015.06.023.  
Zhang SR. Radiotherapy combined with immunotherapy for tumor will be an important research field[J]. J Pract Oncol, 2015, 30(6): 491-495.
- [ 4 ] 高黎,徐国镇. 鼻咽癌[M]. 北京:北京大学医学出版社, 2007: 49.  
Gao L, Xu GZ. Nasopharyngeal carcinoma[M]. Beijing: Peking University Medical Press, 2007: 49.
- [ 5 ] 黄少祥,樊体强. 塞来昔布对非小细胞肺癌移植瘤的辐射增敏实验研究[J]. 国际放射医学核医学杂志, 2013, 37(3): 150-152. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4114.2013.03.006.  
Huang SX, Fan TQ. Radiosensitization on non-small cell lung cancer induced by celecoxib[J]. Inter J Radiat Med Nucl Med, 2013, 37(3): 150-152.
- [ 6 ] 陈晓艳,张江虹,邵春林. STAT3 与辐射敏感相关性的研究进展[J]. 国际放射医学核医学杂志, 2016, 40(3): 191-195. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4114.2016.03.007.  
Chen XY, Zhang JH, Shao CL. Research progresses of correlation between STAT3 and radiosensitivity[J]. Inter J Radiat Med Nucl Med, 2016, 40(3): 191-195.
- [ 7 ] 郑秀龙,金一尊,沈瑜. 肿瘤治疗增敏药[M]. 上海:上海科学技术文献出版社, 2002: 12-14.  
Zheng XL, Jin YZ, Shen Y. Tumor therapy sensitizers[M]. Shanghai: Shanghai Science and Technical Literature Press, 2002: 12-14.
- [ 8 ] Kallman RF. The phenomenon of reoxygenation and its implications for fractionated radiotherapy[J]. Radiology, 1972, 105(1): 135-142. DOI: 10.1148/105.1.135.
- [ 9 ] Oronsky B, Scicinski J, Ning S, et al. Rockets, radiosensitizers, and RRx-001: an origin story part I[J]. Discov Med, 2016, 21(115): 173-180.
- [ 10 ] Mercer WE. Checking on the cell cycle[J]. J Cell Biochem Suppl, 1998(S30-31): 50-54. DOI: 10.1002/(SICI)1097-4644(1998)72:30/31+3.3.CO;2-#?.
- [ 11 ] Watanabe T, Ichikawa A, Saito H, et al. Overexpression of the MDM2 oncogene in leukemia and lymphoma[J]. Leuk Lymphoma, 1996, 21(5/6): 391-397. DOI: 10.3109/10428199609093436.
- [ 12 ] Vitturi DA, Sun CW, Harper VM, et al. Antioxidant functions for the hemoglobin  $\beta$ 93 cysteine residue in erythrocytes and in the vascular compartment in vivo[J]. Free Radic Biol Med, 2013, 55(1): 119-129. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2012.11.003.
- [ 13 ] Scicinski J, Oronsky B, Ning S, et al. NO to cancer: The complex and multifaceted role of nitric oxide and the epigenetic nitric oxide donor, RRx-001[J]. Redox Biol, 2015, 6(4): 1-8. DOI: 10.1016/j.redox.2015.07.002.
- [ 14 ] Fens MH, Larkin SK, Oronsky B, et al. The capacity of red blood cells to reduce nitrite determines nitric oxide generation under hypoxic conditions[J/OL]. PLoS One, 2014, 9(7): e101626[2017-01-01]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4090171/pdf/pone.0101626.pdf>. DOI: 10.1371/journal.pone.0101626.
- [ 15 ] Grubina R, Huang Z, Shiva S, et al. Concerted nitric oxide formation and release from the simultaneous reactions of nitrite with deoxy- and oxyhemoglobin[J]. J Biol Chem, 2007, 282(17): 12916-12927. DOI: 10.1074/jbc.M700546200.
- [ 16 ] Cosby K, Partovi KS, Crawford JH, et al. Nitrite reduction to nitric oxide by deoxyhemoglobin vasodilates the human circulation[J]. Nat Med, 2003, 9(12): 1498-1505. DOI: 10.1038/nm954.
- [ 17 ] Straessler NA, Cannizzo LF, Li P, et al. Methods of synthesizing and isolating N-(bromoacetyl)-3,3-dinitroazetidines and a composition including the same; US, WO 2011/100090A1[P]. 2011-08-18.
- [ 18 ] Ning S, Bednarski M, Oronsky B, et al. Dinitroazetidines are a novel class of anticancer agents and hypoxia-activated radiation sensitizers developed from highly energetic materials[J]. Cancer Res, 2012, 72(10): 2600-2608. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-11-2303.
- [ 19 ] Ning S, Tian J, Marshall DJ, et al. Anti- $\alpha$ v integrin monoclonal antibody intetumumab enhances the efficacy of radiation therapy and reduces metastasis of human cancer xenografts in nude rats[J]. Cancer Res, 2010, 70(19): 7591-7599. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-10-1639.
- [ 20 ] Scicinski J, Oronsky B, Cooper V, et al. Development of methods for the bioanalysis of RRx-001 and metabolites[J]. Bioanalysis, 2014, 6(7): 947-956. DOI: 10.4155/bio.13.331.
- [ 21 ] Reid T, Oronsky B, Scicinski J, et al. Safety and activity of RRx-001 in patients with advanced cancer: a first-in-human, open-label, dose-escalation phase 1 study[J]. Lancet Oncol, 2015, 16(9): 1133-1142. DOI: 10.1016/S1470-2045(15)00089-3.

