

## ДОНОРЫ ОКСИДА АЗОТА КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЕ АГЕНТЫ

© 2021 г. Д.Б. Корман\*, Л.А. Островская\*, А.Ф. Ванин\*\*, \*\*\*

\*Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, 119334, Москва, ул. Косыгина, 4

\*\*Федеральный исследовательский центр химической физики им. Н.Н. Семёнова РАН, 119334, Москва, ул. Косыгина, 4

\*\*\*Институт регенеративной медицины Первого Московского государственного медицинского университета имени И.М. Сеченова МЗ РФ, 119991, Москва, ул. Трубецкая, 8/2

\*E-mail: larros@list.ru

Поступила в редакцию 09.12.2020 г.

После доработки 09.12.2020 г.

Принята к публикации 15.12.2020 г.

Рассмотрена роль оксида азота как одного из универсальных регуляторов метаболических процессов в живых организмах. Представлены результаты экспериментальных исследований в области NO-онкологии. Описаны противоопухолевые и цитотоксические эффекты различных доноров оксида азота, обсуждаются механизмы их действия.

*Ключевые слова:* оксид азота, доноры оксида азота, экспериментальные модели опухолей животных, культуры клеток опухолей человека.

DOI: 10.31857/S000630292102006X

Начавшиеся в 70–80-е годы прошлого столетия исследования биологической активности одной из простейших химических молекул – монооксида азота, или, как сейчас говорят, оксида азота (NO), привели уже к концу 90-х годов к открытию уникальной роли этого агента практически для всех представителей живого мира – от бактерий до человека. Оказалось, что NO непрерывно ферментативным путем продуцируется во всех живых организмах, выполняя в них функции одного из универсальных регуляторов метаболических процессов, оказывая на эти организмы как положительное, так и негативное действие, т.е. соответственно усиливающее или ослабляющее их жизнедеятельность, в последнем случае – вплоть до гибели живых организмов [1]. К настоящему времени количество публикаций, обеспечивших со-

здание новой области биологии – биологии оксида азота, – превысило 100000 [2].

Естественно, что открытие важной роли NO в биологических процессах привлекло внимание медиков, поскольку, как это было очевидно, изучение механизмов биологического действия NO могло привести к более глубокому пониманию сути различных заболеваний и к созданию новых лекарств, которые могли бы купировать эти заболевания. В нашем обзоре мы попытались изложить последние достижения биологов и медиков, работающих в области NO-онкологии, используя главным образом материалы публикаций этих исследователей. В частности, именно в такой публикации сообщается о вышеприведенном количестве опубликованных к настоящему времени количеству статей по биологии NO [2].

Перед тем как перейти к описанию различных доноров оксида азота как потенциальных противоопухолевых агентов, остановимся на сведениях о химии и биохимии оксида азота, причем изложенных в публикациях специалистов-онкологов.

Согласно этим сведениям [3–7], NO представляет собой двухатомный радикал, легко проникающий через биологические мембраны вследствие своей липофильности. В организме в условиях нормоксии NO образуется в реакции окисления кислородом аминокислоты гуанидинового остатка в L-аргinine при каталитической активности

*Сокращения:* NOS – NO-синтеза, АФК – активные формы кислорода, РМЖ – рак молочной железы человека, РПЖ – рак предстательной железы человека, HIF-1 $\alpha$  – гипоксия-индуцибельный фактор 1 $\alpha$ , ДНКЖ – динитрозильные комплексы железа, ДНКЖ-Г – комплекс ДНКЖ с глутатионом, DETA/NONOate – диэтиленetriаминNONOate, DEA/NONOate – диаэтиламинNONOate, PAPA/NONOate – пропиламинпропиламин/NONOate, JS-K – (O-(2,4-dinitrophenyl)-1-[(4-ethoxycarbonyl) piperazin-1-yl]diazene-1-ium-1,2-diolate), GST – глутатион-S-трансфераза, RRx-001 – bromoacetyl-3,3-dinitroazetidide, Saq-NO – Saquinavir-NO, GIT-27NO – модифицированный NO противовоспалительный препарат VGX-1027 ((S,R)-3-фенил-4,5-дигидро-5-изаксолуксусная кислота).

NO-синтаз (NOS), приводящего к превращению L-аргинина в другую аминокислоту — цитруллин. В условиях гипоксии при сниженной активности NOS образование NO происходит в результате каталитического восстановления неорганических нитратов и нитритов, получаемых с растительной пищей (в частности, при участии дезоксигемоглобина как гипоксия-специфической нитритредуктазы).

Уровень NO, необходимый для регулирования нормальных физиологических процессов путем участия в функционировании сигнальных путей, обеспечивается конститутивной экспрессией NOS в течение нескольких секунд или минут в наномолярных концентрациях в нейрональных клетках (nNOS, NOS1) и в эндотелиальных клетках (eNOS, NOS3). Более высокий уровень NO обеспечивается экспрессией индуцибельной NOS (iNOS, NOS2) в течение более длительного времени в микромолярных концентрациях.

Сам по себе оксид азота является короткоживущим радикалом,  $t_{1/2}$  в водных растворах на воздухе составляет 0.1–5.0 с. Формой стабильного существования NO в крови являются S-нитрозотиолы (S-нитрозоглютацион, S-нитрозоальбумин), динитрозильные комплексы с железом, комплексы NO с гемоглобином. Эти соединения являются важными компонентами системы депонирования и транспортировки NO в организме. Наличие в электронной структуре NO неспаренного электрона обуславливает наличие у него химических и биохимических свойств, характерных для свободных радикалов, в первую очередь высокую реакционную способность. Это свойство NO, наряду со способностью легко проникать сквозь биологические мембраны и коротким временем жизни (порядка нескольких секунд) после его образования, обуславливает важную роль NO в качестве сигнальной молекулы для кратковременного аутокринного (внутри клетки) и паракринного (между клетками) обмена сигналами.

Функции NO в клетке могут быть как cGMP-зависимыми (вазодилатация, нейротрансмиссия, ингибирование агрегации тромбоцитов, расслабление гладкомышечной мускулатуры и т.п.), так и cGMP-независимыми и могут осуществляться в результате реакций NO с молекулярным кислородом, супероксидным радикалом, тиолами и переходными металлами с образованием его метаболитов, выступающих в роли активных форм азота.

Взаимодействие NO с активными формами кислорода (АФК), например с супероксидным анионом, ведет к нитрозативному стрессу в результате образования ряда высокорекреационно-способных активных форм азота, таких как пероксинитрит ( $\text{ONOO}^-$ ), катион нитрозония

$\text{NO}^+$ , диоксид азота ( $\text{NO}_2^-$ ), триоксид азота ( $\text{N}_2\text{O}_3$ ), некоторые из которых реагируют с сульфгидрильными (тиоловыми) группами белков с образованием S-нитрозотиолов (реакция S-нитрозирования), что ведет к модуляции активности и стабильности белков. S-нитрозирование остатков цистеина в белках, участвующих в функционировании сигнальных путей, приводит к обратимой модификации многих клеточных сигнальных путей. Результатом, в частности, может быть индукция цитотоксического S-нитрозирования и окислительных реакций, ведущих к апоптозу [3–7].

S-нитрозирование сигнальных белков может вести и как к прогрессии, так и к ингибированию клеточной пролиферации. Например, S-нитрозирование ядерного транскрипционного фактора NF-κB, матриксной металлопротеазы 9, Fas-рецептора промотирует клеточную гибель, тогда как S-нитрозирование каспазы-3, каспазы 9 и c-JUN-терминальной киназы подавляет их активность и ингибирует апоптоз [7]. NO является также одним из ключевых модуляторов функций иммунной системы, в частности пролиферации и гибели T-лимфоцитов, B-лимфоцитов и тучных клеток [6].

Эффект NO как регуляторной молекулы реализуется при физиологических, наномолярных концентрациях, тогда как цитотоксическое действие NO, генерируемого макрофагами и нейтрофилами, в отношении патогенов и опухолевых клеток проявляется при более высоком микромолярном уровне NO [8]. Таким образом в зависимости от относительного уровня NO этот агент может либо стимулировать опухолевый рост или вызвать гибель клеток, в связи с чем NO часто характеризуют как «обоюдоострый меч» [9]. Низкий конститутивный уровень NO в опухоли, вызванный ее гипоксией, повышает выживаемость клеток и опухолевую прогрессию, обеспечивая растущую в связи с развитием опухоли потребность в кислороде, что реализуется в результате вазодилатирующего эффекта этих концентраций NO. Уровни NO ниже или выше оптимальных для роста опухоли значений могут активировать трансдукцию сигналов, ведущих к ингибированию опухолевого роста и гибели клеток. Высокие концентрации NO модулируют также противоопухолевую иммунную защиту [3–7].

Нормальным уровнем NO принято считать концентрации ниже 50 нмоль/л, выделять умеренно повышенную концентрацию (100–350 мкмоль/л) и высокую концентрацию (500–1000 мкмоль/л). Эффект при умеренно повышенных концентрациях NO включает в себя усиление клеточной пролиферации, нестабильность генома, снижение апоптоза и репарацию ДНК. Результатом действия NO в высоких концентрациях

является снижение пролиферации, усиление апоптоза, повреждение ДНК и модулирование сигнальных путей, стимулированное повреждением ДНК [7]. Про- или антиканцерогенное действие NO определяется и многими другими факторами – источником генерации NO, скоростью его образования и метаболизма, типом опухолевых клеток и пр. [10, 11].

Дозозависимая бивалентность действия NO может быть использована в терапевтических целях. При этом возможно либо применение ингибиторов NOS для снижения уровня эндогенного NO ниже оптимального, что должно вести к подавлению опухолевого роста, либо использование доноров NO для повышения содержания оксида азота до уровня, приводящего к гибели опухолевых клеток [7, 12–14].

Следует отметить, что в ряде исследований обнаружено усиление синтеза NO в опухолях. Об этом свидетельствуют, в частности, данные, указывающие на гиперэкспрессию индуцибельной изоформы NOS в разных опухолях человека, включая рак молочной и предстательной железы, колоректальный рак, что ведет к гиперпродукции NO в опухолях до концентраций, превосходящих физиологический уровень. Считается, что это является одним из факторов, способствующих возникновению и развитию опухоли и ее метастатический диссеминации [2, 15, 16].

Обоснованием для применения доноров NO в такой ситуации может служить развиваемая в последние годы новая стратегия лекарственного лечения злокачественных опухолей, основанная на индукции в опухолевых клетках оксидативного стресса путем повышения в ней уровня АФК. Основой этой стратегии является представление, согласно которому для опухолевой клетки требуется более высокая концентрация АФК по сравнению с нормальной клеткой. Как следствие, при повышении содержания АФК критический уровень АФК, при котором происходит повреждение клетки и ее гибель, в опухолевых клетках будет достигнут раньше, чем в нормальных [17]. Можно полагать, что аналогичный эффект будет оказывать нитрозативный стресс, вызываемый активными форм азота.

Первым указанием на цитотоксическое действие NO в отношении опухолевых клеток считают результаты экспериментов, в которых было показано, что культивирование клеток лейкемии L-1210 с активированными перитонеальными макрофагами, продуцирующими NO, ингибировало пролиферацию лейкемических клеток. Ингибирование активности NOS с помощью ингибитора NOS L-NAME (L-N<sup>G</sup>-Nitro arginine methyl ester) и применение миоглобина (перехватчика NO) эффективно предупреждают гибель лейке-

мических клеток под действием активированных макрофагов [2].

Прямая доставка в клетку экзогенного NO невозможна из-за очень короткого времени жизни этой молекулы. Более реальным является повышение в организме уровня NO путем усиления экспрессии NOS или введения экзогенного NO с помощью доноров NO.

К донорам NO относят вещества, способные в условиях *in vivo* образовывать NO *in situ* в результате высвобождения NO, входящего в их состав, или вследствие химических или биохимических превращений донора. Существенным для экзогенных доноров оксида азота, высвобождающих NO в физиологических условиях, считается их способность обеспечивать длительное время полу-высвобождения радикала, колеблющееся в пределах от нескольких минут до суток. Доноры оксида азота, обеспечивающие повышение его уровня за счет биоактивации этих веществ *in vivo*, должны обладать длительным временем жизни в физиологических условиях для поддержания высокой концентрации NO в ткани (клетке) – мишени [2, 12, 13].

Биологические эффекты NO, высвобождаемого из донора NO, реализуются в результате ряда реакций: реакция с супероксидным анионом (O<sub>2</sub><sup>-</sup>), ведущая к образованию пероксинитрита (ONOO<sup>-</sup>), являющегося сильным оксидантом, индуцирующим в клетках пероксидацию липидов; окисление цистеина и S-нитрозирование белков, что ведет к апоптотической и некротической гибели клеток; реакция NO с O<sub>2</sub> (автоокисление) или распад протонированной формы ONOO<sup>-</sup>, ведущие к образованию диоксида азота (NO<sub>2</sub>), что может вести к нитрованию тирозиновых остатков в белках, в том числе белков сигнальных путей с изменением их функции. В результате реакции NO<sub>2</sub> с NO образуется триоксид азота (N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>), который может вызывать S-нитрозирование тиолсодержащих белков, что рассматривается как посттрансляционная модификация, конкурирующая с такими важными процессами, как фосфорилирование и убиквитинация белков [4, 12].

Противоопухолевый эффект повышенного уровня NO в зависимости от достигаемой концентрации и типа опухоли может реализовываться в результате взаимодействия с разными молекулярными мишенями и по разным механизмам. Конечным результатом является индукция или усиление апоптоза по разным путям – р53-зависимому, митохондриальному, Fas-зависимому. Механизмы индукции апоптоза под действием NO включают повреждение ДНК, включая образование двойных разрывов ДНК, повреждение митохондрий (изменение проницаемости митохондриальной мембра-

ны и выход в цитозоль цитохрома *c* и AIF), подавление экспрессии антиапоптотических белков семейства Bcl-2 и их протеосомальную деградацию, усиление продукции проапоптотических белков Bax и Bad, активацию каспазного сигналинга, ингибирование ангиогенеза, ингибирование гипоксии. Все эти эффекты реализуются в результате взаимодействия NO с разными молекулярными мишенями, в том числе с гипоксия-индуцибельным фактором 1 $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ ), NF- $\kappa$ B, p53, белками некоторых сигнальных путей (Ras, ERKs, Akt, циклин D1/ретинобластома, mTOR, JNK) и пр. [9, 12, 13, 16, 18–22].

Показано, что эти эффекты могут также sensibilizировать опухоль к химио-радио-иммуно-терапии и способствуют преодолению резистентности к химиотерапии. Показано, что резистентность к ряду цитостатиков, в частности к доксорубину, обусловленная гиперэкспрессией белков, определяющих феномен множественной лекарственной устойчивости (Pgp, MRPs), ассоциирована с низкой продукцией NO в резистентных опухолях. Повышение уровня NO приводит к исчезновению или существенному ослаблению резистентности [12, 23, 24].

Подтверждением возможности с помощью NO усиливать цитотоксичность можно рассматривать результаты экспериментов, в которых показано, что болюсное насыщение культуры клеток рака молочной железы человека (PMЖ) линии MCF-7 газообразным NO за 30 мин до внесения в среду доксорубина значительно усилило его цитотоксическое действие – доля выживших клеток уменьшилась с 40% при действии одного доксорубина до 5% при комбинированном воздействии. Следует отметить, что культивирование клеток MCF-7 в среде, насыщенной NO, без добавления доксорубина, практически не влияло на выживаемость клеток [25].

В то же время отмечается, что в определенных ситуациях NO способен индуцировать резистентность опухолевых клеток к некоторым цитостатикам. Предполагаются разные механизмы этого эффекта, в частности стабилизация антиапоптотических белков семейства Bcl-2 и гипоксического фактора HIF-1 $\alpha$  в результате нитрозилирования реактивных сульфгидрильных групп в этих белках, что индуцирует, частности, резистентность опухолевых клеток к цисплатине [15]. К числу белков, модулируемых NO, относится топоизомераза II, у которой под действием NO ингибируется каталитическая и релаксирующая активность, что ведет (как показано на клетках MCF-7 и клетках рака толстой кишки HT29) к развитию резистентности к ингибитору топоизомеразы II этопозиду [16].

О связи концентрации NO с цитотоксичностью свидетельствуют результаты исследования

влияния пяти различных концентраций NO на культуру клеток MCF-7. При низких концентрациях NO (1–300 нМ) отмечен рост клеток и антиапоптотический эффект, при этом регистрировалась активация cGMP, фосфорилирование Akt, стабилизация HIF-1 $\alpha$ . В высоких дозах NO (>400 нМ) индуцировался цитотоксический эффект и апоптоз на фоне фосфорилирования p53 и развития нитрозативного стресса [12]. Получен ряд экспериментальных данных, указывающих на возможную реализацию противоопухолевого действия NO в результате модулирования противоопухолевого иммунитета [22].

Одним из механизмов защиты опухолевых клеток от действия эффекторных клеток иммунной системы является сбрасывание с поверхностных мембран опухолевых клеток специальных молекул главного комплекса гистосовместимости (MIC A и MIC B), которые ответственны за связывание с рецептором NK G2D на мембранах NK-клеток и цитотоксических Т-лимфоцитов. Считается, что рефрактерность к иммунному надзору гипоксических опухолевых клеток опосредована этим механизмом, так как гипоксия усиливает сбрасывание MIC. Это происходит в результате накопления в гипоксических клетках HIF-1 $\alpha$  и вызванной этим гиперэкспрессии металлопротеазы ADAM10, что ведет к потере клетками молекул MIC A и MIC B. На культуре клеток рака предстательной железы человека (РПЖ) DU-145 и РМЖ MDA-MB231, культивируемых в условиях гипоксии, показано, что применение доноров NO (нитроглицерин и DETA-NO), уменьшает накопление в опухолевых клетках HIF-1 $\alpha$ , подавляет гиперэкспрессию ADAM10, предотвращает снижение экспрессии MIC на мембранах опухолевых клеток и усиливает их лизис в результате действия лимфоцитов периферической крови человека, активированных интерлейкином-2. На мышцах nude линии NIS SWISS (с сохраненной активностью NK/LAK-клеток) с растущими подкожно ксенографтами DU-145 показано, что трансдермальное введение нитроглицерина тормозит рост опухоли, однако в опытах на мышцах с подавленной активностью NK/LAK-клеток этот эффект не наблюдали [26, 27].

Еще одним важным с точки зрения усиления противоопухолевого иммунитета эффектом ингибирования HIF-1 $\alpha$  является подавление в клетках опухоли и клетках микроокружения гиперэкспрессии лиганда программируемой гибели (PD-L1) Т-лимфоцитов, которая индуцируется гиперэкспрессией HIF-1 $\alpha$ . Это ведет к усилению цитотоксического действия Т-лимфоцитов в отношении опухолевых клеток. Следует отметить, что ингибирование PD-L1 является одним из механизмов действия ряда современных противоопухолевых иммуно-терапевтических препаратов. Показано, что инкубация с нитроглицери-

ном клеток разных опухолей (DU-145, MDA-MB-231, меланомы B16-OVA) блокировала индуцированную гипоксией гиперэкспрессию PD-L1. На клетках меланомы показано, что это привело к опосредованному цитотоксическими лимфоцитами лизису опухолевых клеток [28].

Считается, что в реализации противоопухолевого эффекта NO могут участвовать также макрофаги, что определяется способностью этих клеток включать в себя NO-содержащие соединения, в частности динитрозильные комплексы железа (ДНКЖ), с последующей направленной транспортировкой этих комплексов к злокачественным опухолям непосредственно в опухолевые клетки или в окружение опухоли [29–31].

В качестве доноров NO синтезирован и изучен на наличие цитотоксической и противоопухолевой активности ряд органических (нитраты/нитриты, S-нитрозотиолы, diazeniumдиолаты) и неорганических соединений (металл-нитрозильные соединения, в основном ДНКЖ с различными лигандами). Как правило, цитотоксический эффект регистрировался при применении препаратов в микромолярных концентрациях; по выраженности эффект различался для разных соединений на порядки ( $IC_{50}$  колебался от 0.2 до 38.6 мкМ) [28].

Следует подчеркнуть, что противоопухолевый эффект разных доноров реализуется в результате высвобождения NO, следовательно, все они имеют в принципе одинаковые молекулярные мишени и механизмы действия. Особенности эффекта разных доноров NO определяются их химическим строением, физико-химическими свойствами, фармакокинетикой и метаболизмом, а также зависят от типа опухоли [32].

Терапевтическая эффективность потенциальных доноров NO может быть ограничена возможными системными эффектами, обусловленными такими биологическими эффектами NO, как вазодилатация, гипотензия, накопление токсических метаболитов – цианиды [13].

Следует отметить, что несмотря на многолетние экспериментальные исследования противоопухолевых свойств разных доноров NO клинически значимых препаратов на их базе пока не создано. Одним из серьезных препятствий на этом пути считается способность NO не только ингибировать рост опухоли, но и стимулировать пролиферацию опухолевых клеток [32].

Среди нитратов – доноров NO – противоопухолевые свойства изучены в основном у нитроглицерина (тринитратглицерина). Интерес к нитроглицерину как возможному противоопухолевому средству, стимулировался программой перепрофилирования лекарств для онкологии, задачей которой было изучение противоопухолевых свойств у лекарственных препаратов, приме-

няемых по другим показаниям, и для которых имелись основания предполагать наличие противоопухолевой активности [33]. Первоначально считалось, что вазодилатирующие свойства нитроглицерина помогут усилить эффективность конвенциональных противоопухолевых препаратов за счет увеличения поступления препаратов в опухоль.

Усиление активности цитостатиков при сочетании с нитроглицерином может быть реализовано и по другим механизмам. Одной из причин резистентности опухоли к некоторым противоопухолевым препаратам является гипоксия, ассоциированная с гиперэкспрессией в опухолях гипоксического фактора HIF-1 $\alpha$  в результате ингибирования продукции эндогенного NO. В 2001 г. авторы работы [34] на культуре клеток РМЖ линии MDA-MB-231 и меланомы мышей линии B16F-10 показали, что ингибирование продукции эндогенного NO в условиях гипоксии приводит к быстрому развитию резистентности опухолевых клеток к доксорубину и 5-фторурацилу. Этот эффект частично снимался введением небольших (1 мкМ и 0.1 мкМ) доз нитроглицерина. В экспериментах *in vitro* на разных опухолевых моделях (РМЖ линии MDA-MB-231, РПЖ человека линий PC-3, DU-145 и мышей линия TRAMP-C2, меланомы B-16 мышей) показано, что применение нитроглицерина способно уменьшать или полностью ликвидировать обусловленную гипоксией резистентность опухолевых клеток к действию разных препаратов, (доксорубин, 5-фторурацил, пеметрексат, паклитаксел) [14, 18, 35].

Усиление противоопухолевой активности цитостатиков при комбинации с нитроглицерином показано также в экспериментах *in vivo*. На ксенографтах РПЖ PC-3 показано, что внутривенное введение доксорубина и трансдермальное введение нитроглицерина на 55% сильнее тормозит рост опухоли по сравнению с применением одного доксорубина [33]. Сочетание пеметрексата с нитроглицерином тормозило рост карциномы Льюис достоверно сильнее, чем применение одного пеметрексата [14, 36]. В ряде экспериментов показано, что нитроглицерин обладает самостоятельной противоопухолевой активностью. Торможение роста опухоли зарегистрировано при трансдермальном применении нитроглицерина мышам с трансплантированным РМЖ 4T1, с ксенографтами РПЖ PC-3 и DU 145. Противоопухолевый эффект нитроглицерина связывают со способностью снижать уровень HIF-1 $\alpha$  в гипоксических опухолевых тканях, что ведет к подавлению ангиогенеза и оказывает проапоптотическое действие. С помощью газовой хроматографии в плазме крови этих мышей обнаружено присутствие нитроглицерина и его метаболитов, что расценено как показатель эффективного всасывания нитроглицерина в кровь

при трансдермальном введении [14, 18, 27, 28, 33, 35].

При внутривенной трансплантации мышам клеток меланомы B16F10, предварительно инкубированных в течение 12 ч в среде с пониженным содержанием  $O_2$  и добавлением нитроглицерина, обнаружено уменьшение числа легочных метастазов (спустя две недели после трансплантации опухоли) почти в семь раз по сравнению с контролем. Эти результаты расцениваются как указание на способность нитроглицерина подавлять метастатический потенциал гипоксических опухолевых клеток [37].

Введение нитроглицерина в программу перепрофилирования лекарств для онкологии способствовало тому, что возможность применения нитроглицерина в онкологической клинике была изучена в нескольких ретроспективных и проспективных клинических исследованиях [33].

В ретроспективных исследованиях обнаружено, что эффективность химиотерапии обычно была выше у больных, которым химиотерапия проводилась на фоне приема нитроглицерина в связи со стенокардией по сравнению с больными, которые нитроглицерин не получали. В проспективных исследованиях в основном оценивалась возможность повышения эффективности стандартной химиотерапии при добавлении к ней нитроглицерина. Большая часть этих исследований выполнена при немелкоклеточном раке легкого. Нитроглицерин применяли в виде пластыря, обеспечивающего постоянное регулируемое поступление препарата в кровь.

Результаты этих исследований противоречивы. Регистрировалось как улучшение (по всем показателям) результатов стандартной комбинированной химиотерапии немелкоклеточного рака легкого при сочетании с нитроглицерином, так и отсутствие достоверного улучшения медианы времени до прогрессирования и общей выживаемости больных, хотя в нескольких исследованиях отмечалось увеличение частоты непосредственного объективного эффекта [33].

В проспективном исследовании изучено влияние длительного (в течение двух лет) трансдермального введения нитроглицерина в низких дозах (0.03 мг/ч) на динамику изменения уровня простатического специфического антигена у больных РПЖ. Обнаружено, что применение нитроглицерина замедлило темп его роста — время удвоения уровня простатического специфического антигена увеличилось с 13.3 месяцев до применения нитроглицерина до 31.8 месяцев [33].

В рандомизированном контролируемом исследовании показано, что применение нитроглицерина через катетер перед введением липокаина/доксорубицина увеличивает непосредственную эффективность хемоземболизации печени у

больных гепатоцеллюлярным раком печени. [33]. В небольшом исследовании фазы I не зарегистрировано улучшения результатов при добавлении нитроглицерина к неoadъювантой химиолучевой терапии рака прямой кишки [33].

К числу органических нитратов — доноров NO, у которых обнаружена существенная противоопухолевая активность, относится глицидилнитрат, который генерирует NO в результате селективной биоактивации в опухолевых клетках, что было показано на клетках меланомы M21 и плоскоклеточного рака мышей SCC VII. Цитотоксичность самого глицидилнитрата в опытах *in vitro* и его противоопухолевый эффект *in vivo* на этих опухолях были незначительны, однако комбинация препарата с цисплатиной и гамма-облучением приводила к существенному достоверному усилению эффективности этих воздействий. Показано, что введение глицидилнитрата мышам с трансплантированной опухолью SCC VII усиливает кровоток в опухоли, не меняя кровоток в окружающих нормальных тканях. Предполагается, что этот эффект определяет химио- и радиосенсибилизирующее действие глицидилнитрата. Важной особенностью глицидилнитрата считают низкую токсичность — максимально переносимая доза у мышей составляла 150 мг/кг [3, 38].

Большую группу доноров NO, обладающих существенной противоопухолевой активностью, составляют N-диазениумдиолаты, которые состоят из диолатной группы  $[N(O)O^-NO^-]$ , соединенной через атом азота с нуклеофильными аминами, включая первичные или вторичные амины или полиамины, и содержат терминальную нитрозильную группу. Соли диазениумдиолатов относительно стабильны в высшем состоянии солидном состоянии, но способны высвобождать в водной среде в физиологических условиях 1.5–2.0 моля NO на один моль исходного соединения с временем полувысвобождения NO от нескольких секунд до нескольких часов [3, 19].

К наиболее изученным диазениумдиолатам с выявленной противоопухолевой активностью относятся DETA/NONOate (диэтилентриамин NONOate), DEA/NONOate (диэтиламин NONOate), PAPA/NONOate (пропиламинпропиламин/NONOate), JS-K (*O*-(2,4-dinitrophenyl)-1-[(4-ethoxycarbonyl) piperazin-1-yl]diazene-1,2-diolate). Важной особенностью этих доноров оксида азота является достаточно большое время высвобождения NO ( $t_{1/2}$  составляет десятки минут или часы).

Среди этой группы соединений большое внимание привлек JS-K, генерирующий NO *in situ* после активации в реакции с глутатионом, катализируемой глутатион-S-трансферазой (GST). В организме функцией GST является катализ конъюгации ксенобиотиков с глутатионом, ведущую

к выбросу ксенобиотика из клетки. Внутриклеточное образование NO из JS-K происходит в результате катализируемого GST нуклеофильного ароматического замещения глутатином с образованием диазенимдиолатного аниона (diazoniumdiolate anion), который спонтанно гидролизуетсся с образованием двух эквивалентов NO. Об участии GST в образовании NO свидетельствуют результаты экспериментов, в которых зарегистрировано при введении ингибитора GST (Cibastop Blue) снижение на 66% высокого уровня NO, индуцированного в клетках множественной миеломы под действием JS-K [20].

Установлено, что для многих опухолей характерна гиперэкспрессия GST и этот феномен дает основания полагать, что введение JS-K приведет к более высоким интрацеллюлярным концентрациям NO в опухолевых клетках по сравнению с нормальными. Показано, что, например, цитотоксичность JS-K в отношении клеток почечно-клеточного рака примерно в 10 раз превосходит цитотоксичность в отношении клеток нормального почечного эпителия (линии HREpC, SV-HUC-1); ингибирование пролиферации клеток множественной миеломы регистрируется при концентрациях JS-K, не оказывающих цитотоксического эффекта на нормальные мононуклеары периферической крови и стромальные клетки костного мозга, на нормальные фибробласты кожи (линия BJ-5ta) [20, 21, 39].

В стандартной культуральной среде JS-K относительно стабилен, время его полураспада составляет 5 ч. Однако он быстро и полностью метаболизируется клетками. С помощью жидкостной хроматографии /масс спектрометрии показано, что через 30 мин после добавления JS-K в культуру клеток лейкоза U937 в результате взаимодействия JS-K с глутатином время полураспада JS-K составляет 30 мин, выход NO составляет 1.7 моля на 1 моль JS-K. После одночасовой инкубации клеток с JS-K зарегистрировано значительное снижение концентрации GSH и снижение отношения GSH/GSSG [40].

При исследовании зависимости «структура–антипролиферативная активность» ряда структурных аналогов JS-K установлено, что наибольшее значение для реализации цитотоксичности имеет наличие двух нитрогрупп (NO<sub>2</sub>) в ароматическом кольце молекулы JS-K [39]. О существенной роли генерации NO в цитотоксическом действии JS-K свидетельствует значительное, до 75%, снижение цитотоксичности под действием перехватчиков NO – кобаламина и N-ацетил-L-цистеина [20].

Цитотоксический эффект JS-K показан на клетках разных опухолей (рак легкого, толстой кишки, яичников, РПЖ, почки, мочевого пузыря, гепатоцеллюлярный рак, лейкозы, множе-

ственная миелома). Степень цитотоксичности зависела от типа опухолевых клеток и характеризовалась IC<sub>50</sub> равным 0.2–17.6 мкМ [5, 11, 20, 21, 39–43].

Применение JS-K в культуре клеток рака яичников, РМЖ, резистентных к доксорубину, цисплатине, митоксантрону вследствие гиперэкспрессии гликопротеина p170 и BCRP, привело к восстановлению чувствительности клеток к этим цитостатикам. В модельных экспериментах с изолированными мембранами показано, что этот эффект обусловлен прямым ингибированием АТФ-азной активности этих белков, что ведет к значительному увеличению содержания цитостатиков в клетке [5, 44]. Противоопухолевая активность JS-K (торможение роста опухолей, увеличение продолжительности жизни мышей) показана в экспериментах *in vivo* с ксенографтами разных опухолей человека (немелкоклеточный рак легкого, РПЖ, множественная миелома, лейкоз) [6, 11, 20, 40, 41].

Основное внимание в изучении противоопухолевых свойств ряда близких по структуре диазенимдиолатов – DETA/NONOate, DEA/NONOate, PAPA/NONOate – уделялось исследованию возможностей их применения в дополнение к стандартным цитостатикам. На клетках РПЖ РС-3, а также на ксенографтах этой опухоли показано, что DETA/NO усиливает апоптоз, индуцируемый TRAIL и FasL, влияя на NF-κB/Snail/YY1/RKIP сигнальный каскад в результате ингибирования NF-κB путем S-нитрозирования p50. Установлено, что комбинация DETA/NO с цисплатиной достоверно увеличивает регрессию опухоли по сравнению с применением одной цисплатины [3, 19]. DEA/NONOate усиливал цитотоксичность доксорубина на клетках MCF-7 (доля выживших клеток составила 15–20% против 40% при применении только доксорубина [25].

В то же время в ряде экспериментов с клетками MCF-7, HT-29, A-375, HL-60 показано, что инкубация клеток с PAPA/NONOate, DEA/NONOate значительно снижает цитотоксичность ингибиторов топоизомераз – этопозида, камптотецина. Этот эффект связывают с способностью NO или его метаболитов ингибировать АТФ-азную активность топоизомераз в результате реагирования с SH-группами этих белков и тем самым подавлять их каталитическую активность, что было обнаружено в модельных экспериментах с очищенным ферментом. Результатом является исчезновение мишени для действия препаратов и развитие резистентности к ним [16, 45–47]. 12-часовая инкубация клеток меланомы B16F10 мышей с DETA/NONOate (1fM) в среде с пониженным содержанием O<sub>2</sub> (1%) приводила к уменьшению числа легочных метастазов с 35.5 ± 13.1 в контроле до 7 ± 14.4 через две недели после внут-

ривенного введения этих клеток мышам C<sub>57</sub>Bl/6. Этот результат рассматривается как подтверждение способности NO подавлять метастатический потенциал гипоксических опухолевых клеток [37].

Как указывалось выше, в настоящее время противоопухолевые свойства обнаружены у синтетических (экзогенных) ДНКЖ с тиолсодержащими лигандами [8, 29, 30, 32, 48]. Эти комплексы, существующие в моно- и биядерной формах, могут выступать в живых организмах в качестве не только доноров молекул NO, но и доноров катионов нитрозония, способных связываться с тиоловыми группами белков и низкомолекулярных соединений, с образованием соответствующих S-нитрозотиолов [49–51].

Высвобождение NO из ДНКЖ *in situ* может обеспечиваться эндогенными хелаторами железа, перехватывающими на себя железо, в результате чего молекула ДНКЖ распадается с высвобождением по две молекулы NO и по два иона нитрозония (NO<sup>+</sup>) на один железо-динитрозильный фрагмент в этих комплексах [49–51]. О таком механизме распада ДНКЖ свидетельствуют, в частности, результаты изучения цитотоксического действия комплекса ДНКЖ с тиосульфатом на клетки лейкоза человека линии Jukart. Обнаружено, что одновременное с ДНКЖ применение хелатора железа (N-methyl-D-glucamid ditiocarbamat) значительно усиливает апоптотическую гибель лейкемических клеток, индуцированную высвобождавшимися из ДНКЖ катионами нитрозония [52]. Предполагается, что механизм распада ДНКЖ под действием хелаторов железа обеспечивает определенную селективность действия ДНКЖ на опухолевые клетки, поскольку в них имеется гиперпродукция такого рода хелаторов, необходимая для обеспечения железом интенсивно пролиферирующих опухолевых клеток [32, 48].

Антипролиферативные свойства ДНКЖ были впервые обнаружены на модели экспериментального доброкачественного эндометриоза крыс, когда было показано, что внутрибрюшинное введение комплекса ДНКЖ с глутатионом (ДНКЖ-Г) полностью подавляло рост быстро растущих эндометриом, возникающих после внутрибрюшинной имплантации фрагментов эпителия матки крыс [53, 54].

Цитотоксичность комплексов ДНКЖ с тиолсодержащими лигандами показана при культивировании с ними разных опухолевых клеток — HeLa, PC-3, SKBR, CRL5866, MCF-7 [8, 29–31, 55]. Цитотоксичность на клетках PC-3 характеризовалась выраженной апоптотической гибелью клеток, ассоциированной с подавлением экспрессии антиапоптотических белков (Bcl-2, Bcl-xl) [8].

Противоопухолевая активность комплексов ДНКЖ с различными лигандами установлена в экспериментах *in vivo* с трансплантируемыми опухолями мышей (карцинома легких Льюис, аденокарцинома молочной железы мышей Ca-755, аденокарцинома толстой кишки Акатол). Обнаружено, что внутрибрюшинное и внутривенное введение этих комплексов приводит к дозо- и времязависимому торможению роста опухолей до 90–70% в зависимости от типа опухоли, способа и схемы введения препарата, дозового режима, природы лиганда в комплексе. Следует отметить, что в этих экспериментах зарегистрирован нелинейный характер зависимости эффекта от дозы, которая проходит через максимум [29, 30, 32, 48, 56, 57].

Авторы работы [8] обнаружили ингибирование роста ксенографтов РПЖ человека PC-3 на 95% при внутривенном введении комплекса моноядерного ДНКЖ с двумя тиолсодержащими фрагментами производными этилмеркаптана (S(CH<sub>2</sub>)OH и S(CH<sub>2</sub>)NH<sub>3</sub>). Показано, что апоптотическая гибель опухолевых клеток при применении этого препарата опосредована NO, высвобождающимся из ДНКЖ.

О влиянии природы лиганда на противоопухолевую активность комплексов ДНКЖ свидетельствуют результаты сравнительного изучения ростиингибирующей активности ДНКЖ-Г и комплекса ДНКЖ с меркаптосукцинатом. Оба препарата вызывали дозо- и времязависимое торможение роста карциномы Льюис, однако противоопухолевая активность ДНКЖ-Г была существенно выше — зарегистрированное максимальное торможение роста опухоли этими препаратами составляло соответственно 90 и 65% [58].

При сравнительном изучении противоопухолевой активности двух ДНКЖ-Г, различающихся на порядок по содержанию в них свободного глутатиона (1:10), зарегистрировано более эффективное действие ДНКЖ-Г с повышенным содержанием глутатиона — торможение роста карциномы Льюис составило 85 и 70% соответственно. Предполагается, что это обусловлено стабилизирующим влиянием свободного глутатиона на биядерные ДНКЖ [56].

Методом ЭПР обнаружено различие в накоплении в опухоли и нормальных тканях парамагнитной формы ДНКЖ после внутрибрюшинного введения ДНКЖ-Г. Концентрация моноядерных ДНКЖ в ткани карциномы Льюис составила  $1.2 \pm 0.5$  нмоль/мг влажной ткани, в селезенке и легких —  $0.31 \pm 0.1$  и  $0.25 \pm 0.05$  нмоль/мг влажной ткани соответственно. Это наблюдение рассматривается как подтверждение определенной избирательности распределения ДНКЖ-Г в организме животных с преимущественным накоплением в ткани опухоли [56].



Получены данные, указывающие на меньшую эффективность ДНКЖ в опытах *in vitro* по сравнению с экспериментами *in vivo* на трансплантированных опухолях. Эти данные рассматриваются как указание на участие иммунокомпетентных клеток в реализации противоопухолевого эффекта ДНКЖ в условиях *in vivo*, что определяется способностью этих клеток, например, макрофагов эффективно включать в себя ДНКЖ с последующей направленной транспортировкой этих комплексов к злокачественным опухолям и их поступлением из макрофагов в опухолевую ткань [30, 58].

Вместе с тем ДНКЖ с тиолсодержащими лигандами, как правило при низких дозах, способны оказывать на клеточные культуры положительное действие, усиливающее их жизнедеятельность. Такое действие моноядерных ДНКЖ с тиомочевинной было продемонстрировано в работе [59] в опытах на культурах фибробластов легких человека и кардиомиоцитов крыс. Более того, оказалось, что эти комплексы защищали кардиомиоциты от токсичности, индуцированной доксорубицином [59].

Цитотоксической и противоопухолевой активностью обладает S-нитрозоглютацион, являющийся биологическим носителем NO, выделяющегося из S-нитрозоглютациона после распада S-N-связи [30].

Показано, что GSNO дозозависимо подавлял рост клеток в культурах клеток рака толстой кишки человека линий HCA7, HT29, HCT116. При концентрации GSNO в культуральной среде 10–20 мкМ подавления роста клеток не регистрировалось, концентрации 50–100 мкМ достоверно замедляли рост клеток по сравнению с контролем, концентрации 300–500 мкМ практически полностью блокировали пролиферацию клеток.

Во всех трех линиях GSNO вызывал время- и дозозависимое увеличение числа апоптотических клеток с максимальным эффектом через 72 ч инкубации при концентрациях GSNO 300 и 500 мкМ. Увеличение числа апоптотических клеток коррелировало со снижением количества клеток в фазе G1 без изменения других параметров клеточного цикла [10]. Противоопухолевая активность GSNO была обнаружена также в опытах с перевиваемыми солидными опухолями мышей (карцинома легких Льюис и аденокарцинома Ca-755), при которых внутрибрюшинное применение GSNO дозозависимо тормозило рост опухолей на 60–90% [30].

Введение GSNO внутривенно мышам линии SCID с ксенографтами кастрационно-резистентного РПЖ линии 22RV1 тормозило рост опухоли, при этом в опухолях регистрировалось достоверное увеличение уровня NO по сравнению с контролем, снижение числа К-67-положительных

клеток, уменьшение опухоль-инфильтрирующих противовоспалительных макрофагов (M2) и усиление продукции провоспалительных макрофагов (M1). Считают, что этот эффект является одним из механизмов реализации противоопухолевого действия NO. Следует отметить, что *in vitro* GSNO не влиял на пролиферацию клеток 22RV1 [23].

На клетках рака толстой кишки HT29, резистентных к доксорубину, показано, что инкубация этих клеток с GSNO приводила к восстановлению чувствительности клеток к доксорубину, ассоциированному со снижением выброса доксорубина из клеток и нитрованием тирозина в молекуле белка множественной лекарственной устойчивости MRP3 [23].

Любопытно, что, как было показано в работах [4, 60], в качестве донора NO может выступать продукт модификации одного из компонентов ракетного топлива – RRx-001 (bromoacetyl-3,3-dinitroazetidine, ABDNAZ, C<sub>5</sub>H<sub>6</sub>BrN<sub>3</sub>O<sub>5</sub>). Оказалось, что это соединение обладает способностью одновременно генерировать в организме АФК и выступать в роли донора NO. В результате развивается и оксидативный, и нитрозативный стресс, вызывающий гибель опухолевых клеток [4, 60]. На 11 клеточных линиях разных опухолей человека была зарегистрирована цитотоксичность RRx-001 (IC<sub>50</sub> составляет 2.3–6.0 ммоль/л), достоверно не отличающаяся от цитотоксичности на этих клетках цисплатины. На клетках SCC VII показано, что цитотоксичность RRx-001 в условиях гипоксии более чем в четыре раза превосходит цитотоксичность этого соединения при нормоксии (IC<sub>50</sub> составлял 0.14 и 0.66 ммоль/л).

В экспериментах с клетками рака толстой кишки человека линии HT29 и мышинной опухоли SCC VII обнаружено, что культивирование клеток с RRx-001 ведет к значительному повышению внутриклеточной концентрации АФК и появлению двунитевых разрывов ДНК. Эти данные дали основания считать индукцию в опухолевых клетках оксидативного стресса одним из механизмов цитотоксического и противоопухолевого действия RRx-001.

Способность RRx-001 выступать в качестве донора NO в результате отщепления нитрогрупп в процессе метаболизма препарата связывают с обнаруженным в опухолях SCC VII драматическим увеличением кровотока и объема крови через 6 ч после внутривенного введения препарата и сохраняющееся на этом уровне в течение 48 ч, что приводило к усилению эффекта облучения опухолей [60, 61]. Этот эффект был обусловлен вазодилатирующим действием NO, высвобождавшимся из RRx-001. Кроме того, связываясь с β-цистеином дезоксигенированного гемоглобина, RRx-001 усиливал *in situ* в условиях гипоксии,

присущей злокачественным опухолям, каталитическое превращение неорганического сывороточного нитрита в NO, ведущее к нитрозативному стрессу и к гибели опухолевых клеток. Было установлено также, что после введения RRx-001 быстро, необратимо и селективно связывался также с глутатионом, что вело к возрастанию оксидативного стресса, с последующим быстрым удалением аддукта RRx-001 с глутатионом из организма [4, 60, 61].

Предполагается, что одним из механизмов противоопухолевого действия RRx-001 может быть воздействие на контрольные точки иммунитета. В опытах *in vitro* и *in vivo* с клетками рака легкого A549 показано усиление фагоцитарной активности опухоль-ассоциированных моноцитов/макрофагов, которая в опухолях подавлена в результате гиперэкспрессии CD47 опухолевыми клетками и SIRP- $\alpha$  макрофагами [62].

В предклинических токсикологических исследованиях показано, что RRx-001 не обладает значимой клинически токсичностью: при ежедневном применении у мышей в течение 14 суток дозо-лимитирующей токсичности обнаружено не было. Низкая токсичность препарата была подтверждена во время фазы I–II клинических испытаний Rrx-001, при этом не зарегистрировано случаев гипотензии, головных болей и метгемоглобинемии, что связывают со способностью RRx-001 селективно доставлять NO в опухоль. Сообщалось о двух случаях клинического улучшения длительностью шесть–десять месяцев у больных метастатическим раком толстой кишки, ставших резистентными к химиотерапии, и о восстановлении чувствительности к химиотерапии после применения RRx-001 [3, 4, 22, 63, 64]. FDA и EMA разрешена фаза III мультцентровых клинических испытаний препарата [64].

В качестве донора NO исследуется препарат Saquinavir-NO (Saq-NO), полученный в результате ковалентного присоединения молекулы NO к известному ингибитору протеазы Saquinavir (Saq), обладающему активностью против вируса иммунодефицита человека.

Цитотоксическую активность Saq-NO, зарегистрированную в опытах *in vitro* с клетками меланомы A375 человека, связывают с влиянием на белки внутриклеточных сигнальных путей. Показано, что культивирование этих клеток с Saq-NO в течение 12 ч индуцирует апоптоз опухолевых клеток, ассоциированный с гиперэкспрессией АКТ и снижением продукции pERK. Показано также, что Saq-NO повышает эндогенный синтез iNOS и увеличивает чувствительность клеток меланомы к TRAIL.

Однако исследование Saq-NO на клетках рака толстой кишки человека линии HCT116 и мышей CT26CL25 показало, что цитотоксический эф-

фект соединения на этих клетках не зависит от NO. Об этом свидетельствовало незначительное увеличение уровня NO в клетках после применения Saq-NO и сохранение эффекта после одновременного введения перехватчика пероксинитрита [65]. На ксенографтах меланомы A375 и на перевиваемом раке толстой кишки мышей CT26CL25 при введении Saq-NO отмечено значительное торможение роста обеих опухолей и снижение метастазирования штамма CT26CL25 [66, 67].

В качестве эффективного донора NO рассматривается препарат с названием GIT-27NO, представляющий собой модифицированный NO противовоспалительный препарат VGX-1027 ((S,R)-3-фенил-4,5-дигидро-5-изаксолуксусная кислота). На клетках рака толстой кишки человека (HCT116) и мышей (CT26CL25) показана значительная цитостатическая активность, а на ксенографтах РПЖ (PC-3, LnCap) и на перевиваемом раке толстой кишки мышей (CT26CL25) — существенное торможение роста опухоли. В клетках, культивируемых с GIT-27NO, обнаружена высокая генерация нитритов, а применение перехватчика пероксинитрита полностью блокировало цитостатический эффект препарата. Гибель клеток при применении GIT-27NO происходила по каспазозависимому пути апоптоза [65, 67].

История противоопухолевой химиотерапии показывает, что значительный скачок в повышении эффективности лекарственной терапии рака обычно обусловлен появлением новых классов препаратов, отличающихся механизмами действия от уже применяемых. Примерами могут служить производные платины, таксаны, молекулярно-ориентированные препараты, ингибиторы контрольных точек иммунитета. Тем не менее проблема повышения эффективности терапии рака остается актуальной.

В этой связи обнаружение цитотоксической, антипролиферативной и противоопухолевой активности у доноров оксида азота, совершенно нового для противоопухолевой химиотерапии класса веществ, следует рассматривать как важную веху в истории противоопухолевой химиотерапии. Приведенные в настоящем обзоре результаты разнообразных исследований противоопухолевых свойств разных доноров NO дают основания полагать, что продолжение исследований в этой области весьма перспективно.

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая работа не содержит описания исследований с использованием людей и животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. L. J. Ignarro, *Nitric Oxide Biology and Pharmacology* (Acad. Press, Zurich, Switzerland, 2000).
2. B. K. Sinha, *Cancer Sci. Ther.* **8**, 244 (2016). Doi:10.4172/1948-5956.1000421
3. Z. Huang, J. Fu, and Y. Zhang, *J. Med. Chem.* **60**, 7617 (2017). DOI: 0.1021/asc.jmedchem.6801672
4. B. Oronsky, G. R. Fanger, N. Oronsky, et al., *Trans. Oncol.* **7** (2), 167 (2014). DOI: 10.1016/j.tranon.2014.02.001
5. B. K. Sinha, L. Perera, and R. E. Cannon, *Biomed. Pharmacother.* **120**, 109468 (2019). DOI: 10.1016/j.biopha.2019.109468
6. Y. Soni, K. Softness, H. Arora, et al., *Am. J. Men's Health* **14** (1), 1557988320903191 (2020). DOI: 10/1177/1557988320903191
7. F. Vannini, K. Kashfi, and N. Nath, *Redox Biol.* **6**, 334 (2015). DOI: 10.1016/j.redox.2015.08.009
8. S. G. Wu, C. Y. Lu, Y. L. Chen, et al., *Inorg. Chem.* **55**, 9383 (2016). DOI: 10.1021/acs.inorgchem.6B01562
9. H. Wang, L. Wang, Z. Xie, et al., *Cancers (Basel)* **12** (7), 1881 (2020). DOI: 10.3390/cancers12071881
10. Q. Liu, S.T. Chan, and R. Mahendran, *Carcinogenesis* **24** (4), 637 (2003). DOI: org/10.1093/carcin/bgg014
11. A. T. Maciag, H. Chakrapani, J. E. Saaverdra, et al., *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **336** (2), 313 (2011). DOI: 10.1124/j.pet.110.17404
12. Z. Huang, L. Liu, J. Chen, et al., *Biomed. Pharmacother.* **107** (11), 1385 (2018). DOI: 10.1016/j.biopha.2018.08.142
13. S. K. Chaudhary, M. Chaudhary, S. Bagde, et al., *Word J. Surg. Oncol.* **11**, 118 (2013). DOI: 10.1186/1477-7819-11-118
14. V. Sukhatme, G. Bouche, L. Mehens, et al., *Ecancer* **9**, 568 (2015). DOI: 10.3322/ecancer2015.568
15. B. K. Sinha, A. Kumar, and R. P. Mason, *Biochem. Biophys. Rep.* **10**, 252 (2017). DOI: 10.106/j.bbrep.2017.04.011
16. A. Kumar, M. Enrenshaft, J. E. Tokar, et al., *Biochem. Biophys. Acta* **1860** (7), 1519 (2016). Doi:10.1016/j.bbagen.2016.04.009
17. Д. Б. Корман, Л. А. Островская и В. А. Кузьмин, *Биофизика* **64** (3), 552 (2019).
18. B. Bonavida, *Drug Resist. Update* **9** (3), 157 (2006). DOI: 10.1016/j.drug.2006.05.003
19. B. Bonavida and S. Baritaki, *Nitric Oxide* **24**, 1 (2011). DOI: 10.1016/j.niox2010.10.001
20. T. Kiziltepe, T. Hideshima, K. Ishitsuka, et al., *Blood* **110** (2), 709 (2007). DOI: 10.1182/blood-2006-10-05845.
21. M. Qui, L. Chen, G. Tan, et al., *Sci. Rep.* **5**, 15104 (2015). DOI: 10.1038/screp.15104
22. E. Hays and B. Bonavida, *Antioxidants (Basel)*. **8** (9), 497 (2019). DOI: 10/3390/antiox8090407
23. H. Arora, K. Panara, M. Kuchakulla, et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **115** (44), 11298 (2018). DOI: 10.1073/pnas.18127004115.
24. C. Riganti, E. Miraglia, D. Viarisio, et al., *Cancer Res.* **65** (2), 16 (2006).
25. C. B. Eving, E. E. Kelley, C. J. Weyert, et al., *Nitric oxide* **10** (3), 119 (2004). DOI: 10.1016/j.niox.2004.03.006
26. I. D. Barsoum, K. Hamilton, Y. Li, et al., *Cancer Res.* **71** (24), 7433 (2011). DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-11-2104
27. D. R. Siemens, N. Hu, A. D. Sheikh, et al., *Cancer Res.* **68** (12), 4746 (2008). DOI: 10.1158/0008-5742.Can-08-0054
28. I. B. Barsoum, C. A. Smallwood, D. R. Siemens, et al., *Cancer Res.* **74** (3), 665 (2013). DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-13-0992
29. А. Ф. Ванин, Л. А. Островская, Д. Б. Корман и др., *Биофизика* **64** (6), 1216 (2019). DOI: 10.1134/s0006302919060218
30. А. Ф. Ванин, Л. А. Островская, Д. Б. Корман и др., *Биофизика* **65** (1), 48 (2020). DOI: 10.3185/s00063029200119968
31. A. F. Vanin, L. A. Ostrovskaya, and D. B. Korman, *Austin J. of Anal. Pharm. Chem.* **5** (3), 1104 (2018). DOI: 10.26420/austinjanalpharmchem.2018.1104
32. M. M. Reynolds, S. D. Witzeling, V. B. Demodaran, et al., *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **431**, 647 (2013). DOI: 10.1016/j.bbrc.201.01.041
33. Д. Б. Корман, *Практическая онкология* **18** (1), 139 (2017).
34. N. E. Matthews, M. A. Adams, L. R. Maxwell, et al., *J. Natl. Cancer Inst.* **93** (24), 1879 (2001).
35. L. J. Frederiksen, R. Sullivan, M. A. Maxwell, et al., *Clin. Cancer Res.* **13** (7), 2199 (2007). DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-06-1807
36. H. Nagai, H. Yasuda, Y. Hatachi, et al., *Inter. J. Oncol.* **41** (1), 24 (2012). DOI: org/10.3892/ijo.2012.1461
37. L. M. Postovit, M. A. Adams, G. E. Liash, et al., *Inter. J. Cancer* **108**, 47 (2004). DOI: 10.1002/j.ijc.11556
38. S. Ning, M. Bednarski, B. Oronsky, et al., *Biochem. Biophys. Res. Comm.* **447**, 537 (2014).
39. H. Chakrapani, R. C. Kalthur, A. E. Maciag, et al., *Bioorg. Med. Chem.* **16**, 9764 (2008). DOI: 10.1016/j.bmc.2008.09.063
40. A. E. Maciag, R. L. Holland, Y. S. Cheng, et al., *Redox Biol.* **1** (1), 115 (2013). DOI: 10.1016/j.redox.2012.12.002
41. P. J. Shami, J. E. Saavedra, I. Y. Wang, et al., *Mol. Cancer Ther.* **2**, 409 (2003).
42. Z. Liu, G. Lin, Y. Gou, et al., *Biomed. Pharmacother.* **92**, 989 (2017). DOI: 10.1016/j.biopha.2017.05.141
43. L. Liu, Z. Huang, J. Chen, et al., *J. Cell Biochem.* **119**, 6633 (2018). DOI: 10/1002/jcb.26845
44. B. K. Sinha, C. D. Bortner, R. P. Mason, et al., *Biochem. Biophys. Acta. Gen. Sub.* **1862** 2806 (2018). DOI: 10/1016/j.bbagen.2018.08.21
45. B. K. Sinha, A. Kumar, S. Shattachajee, et al., *J. Pharm. Exper. Ther.* **347**, 607 (2013). DOI: 10.1124/jpet.113.207928

46. N. K. Sharma, A. Kumar, A. Kumari, et al., *PloS One* **10**: e0141897 (2015). DOI: 10/1371/journal.pone.0141897
47. B. K. Sinha, S. Bhattacharjey, S. Chatterjee, et al., *Chem. Res. Toxicol.* **26**, 379 (2013).
48. А. Ф. Ванин, Л. А. Островская, Д. Б. Корман и др., *Биофизика* **62**, 591(2017).
49. A. F. Vanin, *Dinitrosyl Iron Complexes as a "Working Form" of Nitric Oxide in Living Organisms* (Cambridge Scholars Publishing, Cambridge, UK, 2019).
50. A. F. Vanin, *Cell Biochem. Biophys.* **77**, 279 (2019).
51. A. F. Vanin, *Appl. Magn. Res.* **51**, 851 (2020). DOI: 10.1007/s00723-020-01270-6
52. A. L. Kleschyov, S. S. Strand, S. Schmitt, et al., *Free Rad. Biol. Med.* **40**, 1340 (2006)
53. N. Y. Giliano, L. V. Konevega, L. A. Noskin, et al., *Nitric Oxide Biol. Chem.* **24**, 151 (2011).
54. E. N. Burgova, N. A. Tkachev, O. V. Paklina, et al., *Eur. J. Pharmacol.* **741**, 37 (2014)
55. E. N. Burgova, Y. I. Christidis, A. V. Kurkov, et al., *Cell Biochem. Biophys* **77**, 89 (2019).
56. А. Ф. Ванин, Л. А. Островская, Д. Б. Корман и др., *Биофизика* **60** (1), 152 (2015).
57. А. Ф. Ванин, Л. А. Островская, Д. Б. Корман и др., *Биофизика* **60** (6), 1157 (2015).
58. А. Ф. Ванин, Л. А. Островская, Д. Б. Корман и др., *Биофизика* **65** (5), 1009 (2020).
59. N. P. Akentieva, N. A. Sanina, A. R. Gizatullin, et al., *Front. Pharmacol.* **10**, 1277 (2019)
60. J. Scinski, B. Oronsky, S. Ning, et al., *Redox Biol.* **6** (1), (2015). DOI: 10.1016/j.redox.2015.07.002
61. S. Ning, M. Bednarski, B. Oronsky, et al., *Cancer Res.* **72** (10), 2600 (2012). DOI: 10.1158/0008-5472.CAV-11-2303
62. P. Calabres, *Transl. Oncol.* **19** (4), 626 (2019). DOI: 10:1016/tranon.2018.12.001
63. T. Reid, S. Dad, R. Kom, et al., *Case Rep. Oncol.* **7** (1), 79 (2014). DOI: 10.1159/000358382
64. C. A. Carter, B. Oronsky, S. Caroen, et al., *Case Rep. Oncol.* **9** (2), 285 (2016). DOI: 10.1159/000446209
65. M. Mojic, S. Mijatovic, D. Marsimovic-Ivanic, et al., *Mol. Pharmacol.* **82** (4), 700 (2012). DOI: 10.1124/mol.112.077842
66. S. Mijatovic, D. Marsimovic-Ivanic, M. Mojic, et al., *J. Cell Physiol.* **226** (7), 1803 (2011). DOI: 10.1002/jcp.22513
67. M. Donia, M. Mijatovo, D. Marsimovic-Ivanic, et al., *Eur. J. Pharmacol.* **615** (1), 228 (2009). DOI: 10.106/j/ejphar.2009.04.069 .

## Nitric Oxide Donors as Potential Antitumor Agents

**D.B. Korman\*, L.A. Ostrovskaya\*, and A.F Vanin\*\*, \*\*\***

*\*Emanuel Institute of Biochemical Physics, Russian Academy of Sciences, ul. Kosygina 4, Moscow, 119334 Russia*

*\*\*Semenov Federal Research Center for Chemical Physics, Russian Academy of Sciences, ul. Kosygina 4, Moscow, 119334 Russia*

*\*\*\*Institute of Regenerative Medicine, Sechenov First Moscow State Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation, Trubetskaya ul. 8/2, Moscow, 119991 Russia*

The review examines the role of nitric oxide as one of the universal regulators of metabolic processes of living organisms. The results of experimental studies in the field of NO and cancer are presented. The antitumor and cytotoxic effects of various nitrogen oxide donors are described, and the mechanisms of their action are discussed.

*Keywords: nitric oxide, nitric oxide donors, experimental models of animal tumors, human tumor cell culture*