

ТИОСУЛЬФИНАТЫ: ЦИТОТОКСИЧЕСКАЯ И ПРОТИВООПУХОЛЕВАЯ АКТИВНОСТИ

Обзор

© 2023 В.В. Куликова*, Е.А. Морозова, В.С. Коваль, П.Н. Сольев,
Т.В. Демидкина, С.В. Ревтович

Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН,
119991 Москва, Россия; электронная почта: vitviku@yandex.ru

Поступила в редакцию 25.01.2023

После доработки 12.05.2023

Принята к публикации 12.05.2023

Фармакологические свойства некоторых природных соединений делают их привлекательными для лечения онкологических заболеваний. Серосодержащие тиосульфиды, обнаруженные в растениях рода *Allium*, с давних пор известны как соединения с различными терапевтическими свойствами, в том числе противоопухолевыми. На протяжении последних лет активно изучалось влияние тиосульфидов на различные стадии канцерогенеза. Исследования *in vitro* и *in vivo* показали, что тиосульфиды ингибируют пролиферацию раковых клеток, а также индуцируют апоптоз. Цель настоящего обзора – обобщить современные данные о цитотоксических свойствах природных и синтетических тиосульфидов и их применении в терапии рака. Обсуждаются механизмы противоопухолевого действия и молекулярные мишени этих перспективных соединений. Значительная часть обзора посвящена рассмотрению новой стратегии для лечения онкологических заболеваний – использованию метода направленной ферментной пролекарственной терапии с возможностью получения противоопухолевых тиосульфидов *in situ*.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: природные и синтетические тиосульфиды, цитостатическая активность, противоопухолевая активность, направленная ферментная пролекарственная терапия.

DOI: 10.31857/S0320972523070059, **EDN:** FVUZLD

ВВЕДЕНИЕ

Природные сероорганические соединения известны своими антиоксидантными, противовоспалительными и противоопухолевыми свойствами [1]. Эти соединения в избытке содержатся в спарже, чесноке, луке и крестоцветных овощах. Сульфоксиды S-алк(ен)ил-L-цистеина являются предшественниками биологически активных тиосульфидов общей формулы $R^1SS(O)R^2$, присутствующих в гомогенатах растений рода *Allium* [2]. Аллицин – самый известный тиосульфид, преобладающий в гомогенатах чеснока. Многочисленные лечебные свойства чеснока, знакомые человечеству с древнейших времён, во многом обусловлены аллицином и продуктами его превращений [3, 4]. Аллицин является высоко-

реакционноспособным соединением, которое взаимодействует с доступными остатками цистеина в белках и низкомолекулярных тиолах, включая внутриклеточный глутатион у эукариот и грамотрицательных бактерий, а также бацитиол у грамположительных бактерий. В высоких дозах у эукариот аллицин может индуцировать апоптоз или некроз, тогда как его более низкие, биосовместимые концентрации могут модулировать активность окислительно-восстановительных белков и влиять на клеточную сигнализацию [5]. Так как аллицин имеет множество клеточных мишеней в клетках человека и способен ингибировать клеточную пролиферацию, ангиогенез и метастатический процесс, увеличивать экспрессию генов-супрессоров опухоли, индуцировать апоптоз и модулировать другие генетические пути,

Принятые сокращения: АМТС – аллилметилтиосульфид; ДБТС – дибутилтиосульфид; ДМТС – диметилтиосульфид; ДПТС – дипропилтиосульфид; ДЭТС – диэтилтиосульфид; МГЛ – метионин-γ-лиаза.

* Адресат для корреспонденции.

весьма перспективны исследования возможностей применения алицина в качестве противоопухолевого агента [6].

Аналоги алицина, симметричные и несимметричные тиосульфиды, содержащие предельные и непредельные заместители, также присутствуют в экстракте чеснока [7]. Тиосульфиды с предельными или ароматическими заместителями химически более устойчивы, чем алицин [8–10], обладают схожим с ним механизмом действия и являются перспективными кандидатами в лекарственные средства для терапии злокачественных новообразований. Алицин и его аналоги продемонстрировали противораковую активность в отношении различных типов опухолей (саркома [11], лейкемия [12–14], меланома [15], лимфома [16], рак молочной железы [17–22], яичников [23–25], печени [18, 19], лёгких [15, 19, 26], желудка [27], кишечника [15, 20, 28, 29], простаты [18, 29–31]) (табл. 1). В большинстве опубликованных обзоров, посвящённых противораковым свойствам чеснока, в основном описаны цитотоксические и терапевтические свойства его экстрактов [32, 33], а также продуктов реакции β -элиминирования сульфоксида S-аллил-L-цистеина – алицина и продуктов его дальнейших превращений (диаллилсульфида, диаллилдисульфида, диаллилтрисульфида и аджоена) [6, 34–36]. В отличие от свойств алицина, цитотоксические свойства его аналогов исследованы мало. В настоящем обзоре собраны и проанализированы данные о противоопухолевом потенциале природных и синтетических тиосульфидов, являющихся более перспективными по сравнению с алицином ввиду их большей стабильности.

ПРИРОДНЫЕ ТИОСУЛЬФИДАТЫ

Алицин и другие природные алкилзамещённые тиосульфиды образуются при разрушении клеток растений рода *Allium* в результате ферментативной реакции расщепления небелковых аминокислот, сульфоксидов S-замещённого L-цистеина, катализируемой пиридоксаль-5'-фосфат-зависимой алициназой (КФ 4.4.1.4, рис. 1) [7, 8].

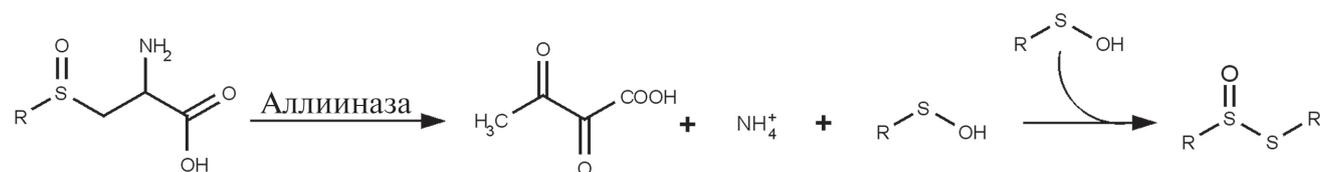


Рис. 1. Схема синтеза тиосульфидов в клетках растений (R = аллил-, метил-, пропил-, бутил-, пропенил-)

Исследования биологических свойств алицина начались с работ С. J. Cavallito et al., в которых были исследованы его антимикробные свойства [37], определена его структура и способность окислять цистеин [38]. Было установлено, что алицин окисляет сульфгидрильные группы нескольких ферментов и нейтрализует гидроксильные радикалы (рис. 2) [39]. Всестороннее исследование действия алицина на протеом клеток Jurkat [40] показало, что алицин окисляет 332 белка протеома, и выявило влияние окисления сульфгидрильных групп на основные клеточные функции выбранных белков, многие из которых могут быть мишенями для терапии рака.

Бактериальная β -глюкуронидаза (КФ 3.2.1.31) участвует в канцерогенезе, продукты расщепления её субстратов являются канцерогенными [41]. В работах Takada et al. и Morita et al. [42, 43] было показано, что диметилтиосульфидат (ДМТС) необратимо ингибировал β -глюкуронидазу ($IC_{50} = 3,6$ мкМ) путём модификации её свободных сульфгидрильных групп, таким образом уменьшая вызванную канцерогенами опухоль толстого кишечника.

Многочисленные исследования механизма действия алицина на раковые клетки показали, что он тормозит клеточный цикл в фазе G2/M и индуцирует апоптоз [44] (рис. 3). Кроме того, алицин, как было показано на клетках рака желудка SGC-7901, ингибирует активность теломеразы, которая реактивируется во множестве опухолей [27].

Впервые противоопухолевая активность четырёх диалкилтиосульфидов – диметил-, диэтил-, дипропил-, дибутилтиосульфидата (ДМТС, ДЭТС, ДПТС, ДБТС) – была показана в 1957 г. [11]. В работе исследовали влияние бинарной смеси алицина + субстрат (сульфоксид S-этил-L-цистеина) и четырёх индивидуальных тиосульфидов на рост привитой мышам опухоли саркомы 180. Предварительная инкубация клеток саркомы *in vitro* либо с бинарной смесью, либо с тиосульфидатами перед трансплантацией мышам приводила к ингибированию роста опухолей, и далее в течение 300 (бинарная смесь) и 180 (тиосульфидаты) дней не наблюдалось смертности животных. Внутривенные инъекции тиосульфидатов

Таблица 1. Цитотоксическая и противоопухолевая активности тиосульфидов

Тиосульфидат (R ¹ SS(O)R ²)	Источник	Клеточная линия	Результат	<i>In vitro/ in vivo</i>	Ссылка
R ¹ = R ² = Me, Et, Pr, Bu	синтез	асцитная саркома 180	полное ингибирование развития асцитов	<i>in vivo</i>	[11]
R ¹ = R ² = Et	синтез	саркома 180 лимфосаркома Murphy–Sturm	ингибирование роста саркомы на 60%, роста лимфосаркомы на 40%	<i>in vivo</i>	[11]
R ¹ = R ² = Me, Pr	синтез	HL-60 (FAB M2), NB4 (FAB M3), U937 и MonoMac-6 (FAB M5)	ингибирование роста лейкозных клеток	<i>in vitro</i>	[12]
R ¹ = R ² = Me; R ¹ = аллил, R ² = Me	выделены из <i>Allium tuberosum</i> L.	MCF-7, SW480, HepG2, LNCap.FGC	цитотоксический эффект, апоптоз для клеток MCF-7	<i>in vitro</i>	[18]
R ¹ = R ² = Me; R ¹ = аллил, R ² = Me	выделены из <i>A. tuberosum</i> L.	асцитная саркома 180	увеличение продолжительности жизни животных	<i>in vivo</i>	[18]
R ¹ = R ² = Me; R ¹ = аллил, R ² = Me	выделены из <i>A. tuberosum</i> L.	RC-58T/h/SA#4 DU145	торможение роста клеток по механизму апоптоза	<i>in vitro</i>	[30]
R ¹ = R ² = Me; R ¹ = аллил, R ² = Me; экстракт из <i>A. tuberosum</i> L.	выделены из <i>A. tuberosum</i> L.	HT-29	каспаза-зависимый и каспаза-независимый пути апоптоза клеток	<i>in vitro</i>	[28]
R ¹ = R ² = Me; R ¹ = аллил, R ² = Me	выделены из <i>A. tuberosum</i> L.	PC-3	каспаза-зависимый и каспаза-независимый пути апоптоза клеток	<i>in vitro</i>	[31]
R ¹ = R ² = 4-MeOPh	синтез	MCF-7/Dx	остановка клеточного цикла в фазе G2/M, апоптоз, ингибирование митохондриального дыхания клеток	<i>in vitro</i>	[17]
R ¹ = R ² = 4-MeOBn	синтез	MDA-MB-468, MCF-7	каспаза-зависимый апоптоз	<i>in vitro</i>	[21]
R ¹ = R ² = Et	ферментативная реакция	асцитная саркома 180	полное ингибирование роста опухоли	<i>in vivo</i>	[11]
R ¹ = R ² = аллил	ферментативная реакция	ES-2	ингибирование роста и пролиферации опухоли	<i>in vivo</i>	[24]
R ¹ = R ² = аллил	ферментативная реакция	N87, CB2	ингибирование роста и пролиферации опухоли	<i>in vitro, in vivo</i>	[23]
R ¹ = R ² = аллил	ферментативная реакция	хронический лимфоцитарный лейкоз	апоптоз, ингибирование роста опухоли	<i>in vitro, in vivo</i>	[14]
R ¹ = R ² = аллил, Me, Et, Pr	ферментативная реакция	MCF-7, SCOV-3, SW-620	цитотоксический эффект	<i>in vitro</i>	[25]
R ¹ = R ² = аллил, Me, Et, Pr	ферментативная реакция	MCF-7, SKBR3, MDA-MB-231, T-47D	цитотоксический эффект, ингибирование роста опухоли	<i>in vitro, in vivo</i>	[22]
R ¹ = R ² = Pr	ферментативная реакция	HT-29, COLO205, HCT116, Panc1, MIA-PaCa2, 22Rv1, DU-145, PC3, SW-620	цитотоксический эффект, ингибирование роста опухоли	<i>in vitro, in vivo</i>	[29]

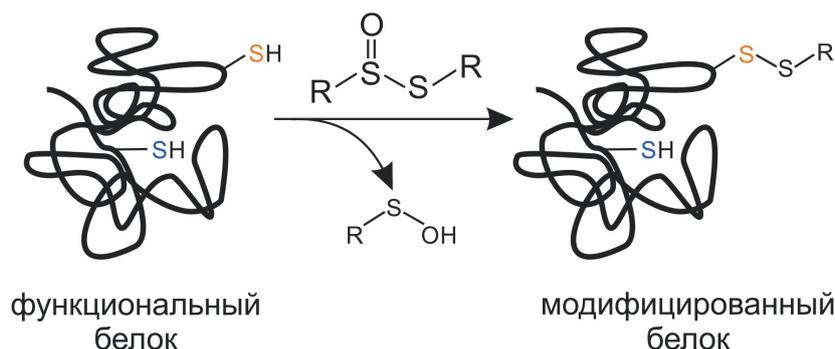


Рис. 2. Влияние тиосульфидов на белки (адаптировано из работы Borlinghaus et al. [3]). Доступный для атаки остаток цистеина (обозначен оранжевым) реагирует с тиосульфидом посредством реакции дисульфидного обмена. Остаток цистеина, доступ к которому стерически заблокирован (обозначен синим цветом), с тиосульфидом не реагирует

мышам, предварительно привитым клетками саркомы, задерживали возникновение злокачественных опухолей и в некоторых случаях полностью предотвращали их образование и гибель мышей. Было исследовано влияние ДЭТС на рост саркомы 180, привитой мышам, и лимфосаркомы Murphy-Sturm, привитой крысам. После 7-дневного введения ДЭТС и двухнедельного наблюдения область саркомы уменьшилась на 60%, область лимфосаркомы – на 40%. В более поздних исследованиях на мышах с привитой асцитной опухолью саркомы 180 введение ДМТС и аллилметилтиосульфидата (АМТС) в дозе 50 мг/кг увеличивало продолжительность жизни животных до 29 дней, для контрольной группы продолжительность жизни составляла 16,8 дней [18].

Исследование действия трёх тиосульфидов – аллицина, ДМТС и ДПТС – на тромбоциты [45] показало, что предельные тиосульфиды, как и аллицин, дозозависимо ингибируют агрегацию тромбоцитов со значениями IC_{50} , равными 15, 19 и 9 мкМ для аллицина, ДМТС и ДПТС соответственно. Тиосульфиды подавляли выпадение микрочастиц и втягивание тромба и дальнейшие события, индуцированные агрегацией, такие как активация кальпаина. Кальпаин участвует в инвазии опухолевых клеток и их метастазировании [46]. Таким образом, в данной работе (после долгого перерыва в исследовании биологической активности тиосульфидов, начатом в работе Weisberger et al. [11]) показана перспективность исследования ДМТС и ДПТС как потенциальных цитотоксических и противоопухолевых средств. В продолжение этих исследований было установлено, что ДМТС и ДПТС взаимодействуют с сульфгидрильными группами как на поверхности тромбоцитов, так и внутри клетки, окисляя внутриклеточные белки, в том числе кальпаин, и исследованы реакции тромбоцитов (сигналы Ca^{2+} , ре-

акция высвобождения и состояние активации интегрин) на модификацию их поверхностных SH-групп [47]. В работе Merhi et al. [12] было установлено, что ДМТС и ДПТС, но не аллицин, влияли на злокачественные миелоидные клеточные линии человека HL-60 (FAB M2), NB4 (FAB M3), U937 и MonoMac-6 (FAB M5), воздействуя на рост клеток, дифференцировку и секрецию факторов, участвующих в опухолевых процессах. Обработка лейкозных клеточных линий этими двумя тиосульфидными соединениями приводила к индуцированию созревания макрофагов, обладающих противоопухолевой активностью, и ингибированию уровней секреции матриксной металлопротеиназы-9 (MMP-9) и фактора некроза опухоли ($TNF-\alpha$), которые могут играть важную роль в прогрессировании рака, влияя на ангиогенез опухоли, её рост и/или метастазирование. Авторы полагают, что отсутствие влияния аллицина объясняется его неустойчивостью. Исследуемые в работе тиосульфиды использовались как водные растворы, однако эти соединения более устойчивы в органических растворителях [17]. Вполне вероятно, что объяснение авторов об отсутствии влияния аллицина на лейкозные клетки из-за неустойчивости при использовании его водного раствора правомерно. В то же время другие авторы показали, что в клетках HL60 и U937 аллицин (растворитель в работе не указан) индуцировал ингибирование роста и вызывал апоптотические события, такие как блеббинг, деполяризацию митохондриальной мембраны, высвобождение цитохрома *c* в цитозоль, активацию каспазы 9 и каспазы 3 и фрагментацию ДНК [13].

Цитотоксическая и противоопухолевая активности тиосульфидов, выделенных из *A. tuberosum* L., исследовались в нескольких работах. АМТС и ДМТС проявили дозо- и времязависимый цитотоксический эффект на клеточных

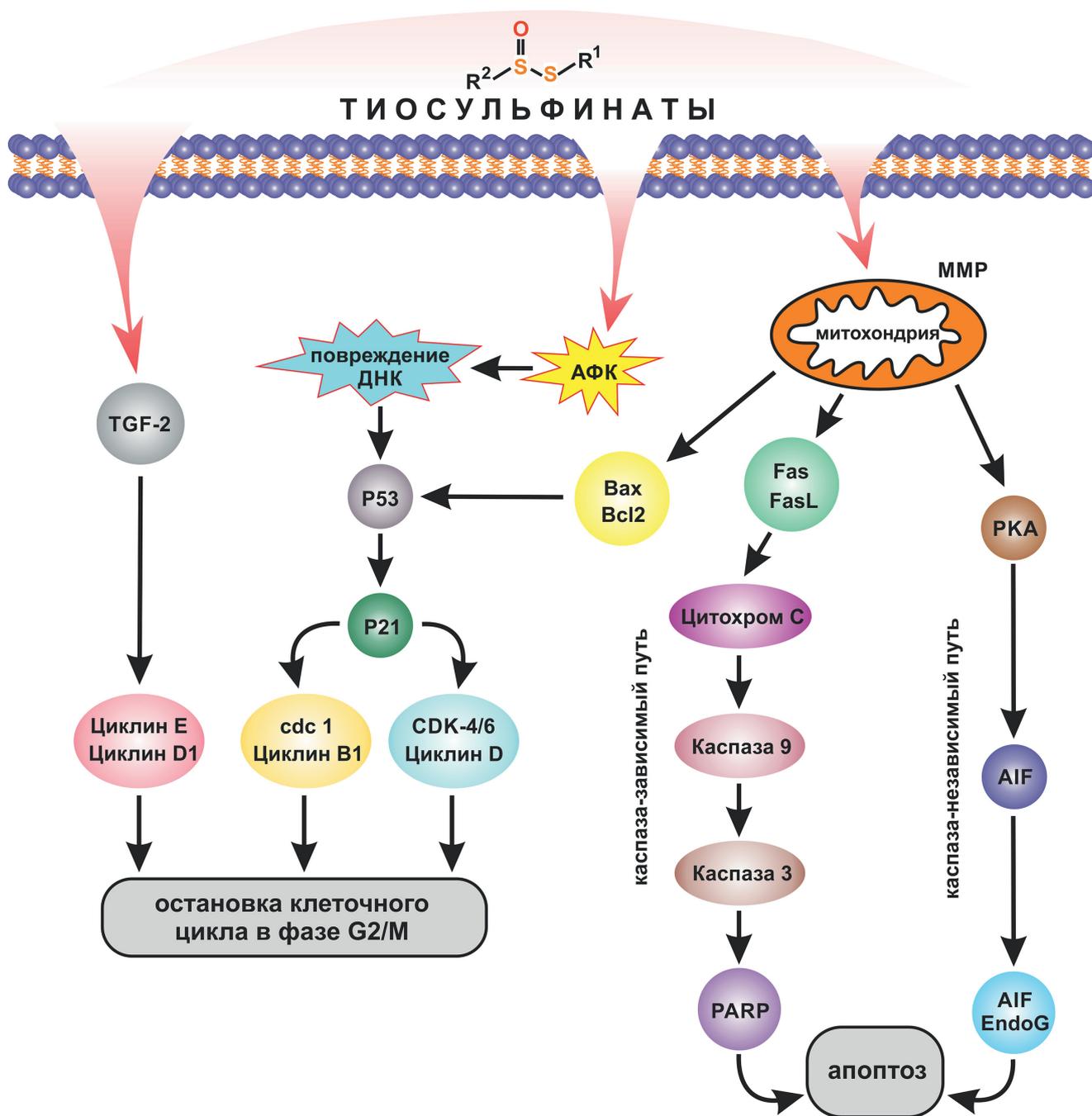


Рис. 3. Цитостатическое действие тиосульфидов на опухолевые клетки. PKA – протеинкиназа A; AIF – фактор, индуцирующий апоптоз; Bax – проапоптотический белок; Bcl2 – антиапоптотический белок; АФК – активные формы кислорода; PARP – поли(АРD-рибоза)-полимераза; TGF-2 – трансформирующий фактор роста; EndoG – эндонуклеаза G; Fas, FasL – белки семейства TNF (фактора некроза опухоли); MMP – митохондриальный мембранный потенциал

линиях рака молочной железы MCF-7, толстого кишечника SW480, гепатоцеллюлярной карциномы HepG2, андроген-положительных и андроген-отрицательных клетках простаты человека LNCaP-FGC, RC-58T/h/SA#4, PC-3, DU145 (табл. 2) [18, 30, 31]. AMTC оказался наилучшим ингибитором.

Тиосульфиды снижали количество жизнеспособных клеток в зависимости от дозы и

времени и останавливали рост клеток в поздней фазе G1. Наиболее чувствительными были клетки RC-58T/h/SA#4. После обработки клеток смесью тиосульфидов наблюдали фрагментацию ядер и апоптотические тельца. Исследовав морфологические изменения клеток, фрагментацию ДНК, состояние белка PARP, экспрессия которого специфически повышается в опухолевых клетках, претерпевающих

Таблица 2. Цитотоксичность тиосульфидов из *A. tuberosum* L.

Линии клеток	IC ₅₀ (мкг/мл)	
	ДМТС	АМТС
MCF-7	17,05 (155,0 мкМ)	7,51 (55,22 мкМ)
SW480	16,28 (148,0 мкМ)	7,17 (52,75 мкМ)
HepG2	20,2 (183,64 мкМ)	11,81 (86,83 мкМ)
LNCaP-FGC	11,24 (102,1 мкМ)	4,04 (29,71 мкМ)
RC-58T/h/SA#4	10,56 (96,06 мкМ)	3,52 (25,28 мкМ)
PC-3	18,22 (165,6 мкМ)	8,56 (62,94 мкМ)
DU145	20,2 (183,63 мкМ)	11,67 (85,80 мкМ)

апоптоз, активности каспаз и другие признаки, характерные для апоптоза, авторы пришли к выводу, что апоптоз, индуцируемый тиосульфидом, связан с активацией каспазы 3, 8 и 9. Они также установили, что тиосульфиды стимулировали расщепление белка Bid, который активирует белок Вах, запускающий митохондриальный путь апоптоза. Bid расщеплялся каспазой 8, что приводило к активации каспазы 9 и каспазы 3. Тиосульфиды снижали экспрессию антиапоптотического белка Bcl-2, блокирующего повышение проницаемости мембраны митохондрий, и повышали экспрессию проапоптотического белка Вах, который ускоряет запрограммированную гибель клеток путём связывания репрессора апоптоза Bcl-2. Эти данные указывали на то, что индукция апоптоза у обработанных смесью двух тиосульфидов клеток может быть связана с каспаза-зависимым каскадом, который включает активацию митохондриального пути апоптоза, инициируемого ингибированием белка Bcl-2 и активацией Вах. Тиосульфиды повышали экспрессию AIF (фактора, индуцирующего апоптоз) и его транслокацию в ядра. Митохондриальный флавопротеин AIF, действующий независимо от каспаз, индуцирует апоптоз, перемещаясь в ядро после начала апоптоза. Суммируя все данные, авторы сделали заключение, что тиосульфиды тормозили рост клеток путём запуска апоптоза, который

может протекать как по каспаза-зависимому, так и по каспаза-независимому механизму (рис. 3).

Каспаза-зависимый и каспаза-независимый пути апоптоза клеток HT-29 колоректального рака человека под действием тиосульфидов исследованы в работе Lee et al. [28]. Смесью ДМТС и АМТС индуцировала гибель клеток HT-29 в зависимости от дозы и времени. Обработка клеток смесью активировала каспазы 3, 8 и 9 и стимулировала расщепление белка Bid. Авторы установили, что тиосульфиды снижали экспрессию антиапоптотического белка Bcl-2 и повышали экспрессию проапоптотического белка Вах. Они также увеличивали экспрессию белка AIF, независимого от каспазы фактора митохондриального апоптоза, и индуцировали фрагментацию ДНК и конденсацию хроматина в клетках HT-29.

ЦИТОТОКСИЧЕСКАЯ И ПРОТИВООПУХОЛЕВАЯ АКТИВНОСТИ СИНТЕТИЧЕСКИХ ТИОСУЛЬФИДОВ

Как отмечалось выше, аналоги аллицина, содержащие вместо непредельных заместителей насыщенные углеводородные или ароматические радикалы, более устойчивы, чем сам аллицин. Установленные цитотоксические и противоопухолевые свойства природных тиосульфидов стимулируют синтез и исследование биологической активности их аналогов.

В работе Roseblade et al. [17] было синтезировано 22 тиосульфида и проведено исследование их стабильности и антипролиферативной активности на клетках MCF-7, чувствительных ко многим лекарственным средствам, и клетках MCF-7/Dx, обладающих множественной лекарственной устойчивостью. Все тиосульфиды оказались более стабильными, чем аллицин. Использование полярных растворителей значительно увеличивало их стабильность. За исключением единственного соединения, тиосульфиды не имели каких-либо рисков токсичности и не обладали мутагенными, онкогенными или раздражающими эффектами. Было проведено исследование влияния тиосульфидов на гибель клеток, апоптоз, ход клеточного цикла и биоэнергетическую функцию митохондрий.

Симметричные и асимметричные тиосульфиды, содержащие преимущественно ароматические фрагменты, проявили большую антипролиферативную активность в отношении клеток MCF-7 и MCF-7/Dx, чем аллицин (табл. 3). Эти соединения также были эффективны по отношению к клеткам со множе-

Таблица 3. Цитотоксичность тиосульфидов вида R¹SS(O)R²

Соединение	IC ₅₀ (мкМ)	
	MCF-7/Dx	MCF-7
Аллицин	41,23	-
R ¹ = Bu, R ² = Bu	33,74	> 50
R ¹ = 4-MePh, R ² = Et	35,99	> 50
R ¹ = 4-MePh, R ² = Pr	38,11	> 50
R ¹ = 4-MeO-Ph, R ² = 4-MePh	40,77	> 50
R ¹ = 4-MeO-Ph, R ² = 4-MeO-Ph	18,54	46,50
R ¹ = 4-MeO-Ph, R ² = Et	28,97	> 50
R ¹ = 4-MeO-Ph, R ² = Bu	28,97	> 50
R ¹ = 4-MeO-Ph, R ² = t-Bu	45,54	> 50
R ¹ = 4-MeO-Ph, R ² = гексил	41,11	> 50
R ¹ = 4-MeO-Ph, R ² = циклогексил	28,75	> 50
R ¹ = 4-MeO-Ph, R ² = 4-t-BuBn	48,61	> 50

ственной лекарственной устойчивостью. Среди них симметричный тиосульфид, содержащий 4-метоксифенильные группы (R¹SS(O)R², R¹ = R² = 4-MeO-Ph), который проявил наибольшую цитотоксическую активность как на клетках MCF-7/Dx, так и на клетках MCF-7. Исследования влияния этого соединения на клеточную морфологию и стадии цикла клеток MCF-7/Dx показали, что тиосульфид изменил клеточную морфологию и остановил клеточный цикл в фазе G2/M. Соединение дозозависимо индуцировало апоптоз и ингибировало митохондриальное дыхание клеток в состоянии покоя и при стрессе. Множественная лекарственная устойчивость к противоопухолевым соединениям является серьёзной проблемой при лечении онкологических заболеваний, и полученные в данной работе результаты демонстрируют, что тиосульфиды перспективны как новые средства против химиорезистентных опухолей.

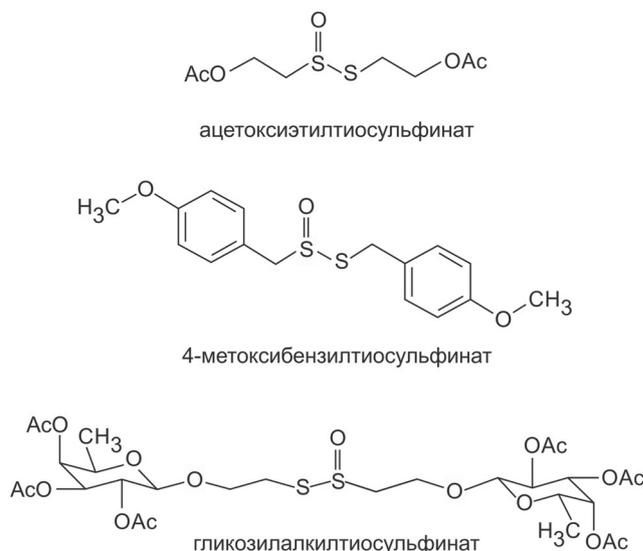


Рис. 4. Синтетические аналоги аллицина с антипролиферативными свойствами

Из 19 синтезированных в работе Bhaumik et al. [21] симметричных алкил/арил/гликозилалкилтиосульфидатов три соединения (R = = ацетоксиэтил-, 4-метоксибензил-, гликозилалкил-) (рис. 4) показали наибольшую эффективность в ингибировании пролиферации клеток рака молочной железы MDA-MB-468 со значениями IC₅₀, равными 18,87, 11,34 и 22,38 мкМ соответственно. Аналогичная эффективность этих соединений наблюдалась и на клетках MCF-7 со значениями IC₅₀, равными 22,36, 13,01 и 25,92 мкМ соответственно.

В клетках MDA-MB-468 и MCF-7 тиосульфидат с 4-метоксибензильным заместителем вызывал образование активных форм кислорода и изменения в проницаемости митохондрий. Для двух клеточных линий наблюдали увеличение экспрессии проапоптотического белка Вах, снижение экспрессии антиапоптотического белка Bcl-2, блокирующего повышение проницаемости мембраны митохондрий, активацию каспазы 3 и индуцированные каспазой повреждения ДНК, что свидетельствует об апоптозе клеток MDA-MB-468 и MCF-7.

В работе Block et al. [48] были синтезированы фторированные аналоги серосодержащих соединений чеснока, в том числе и дифтораллицин, и исследовано их влияние на ангиогенез и тромбоз в сравнении с нефторированными соединениями. Антиангиогенная эффективность фторированных соединений исследовалась с использованием модели хориаллантаисной мембраны цыплят и индуцированной матригелем мышинной модели. Кроме того, в цельной крови человека исследовали влияние тех же соединений на агрегацию

тромбоцитов и динамику тромбоцитарно-фибринового сгустка. Дифтораллицин, как и другие фторированные аналоги, эффективно ингибировал ангиогенез, опосредованный либо фактором роста эндотелия сосудов, либо основным фактором роста фибробластов в хориоаллантоисной мембране цыплят или в матриксной модели. Дифтораллицин продемонстрировал большее ингибирование по сравнению с другими соединениями. Смертности эмбрионов при этом не наблюдалось. Аллицин и дифтораллицин показали сравнимый и больший по сравнению с другими соединениями антитромбоцитарный эффект. Однако антикоагулянтная активность дифтораллицина была больше как по сравнению с другими соединениями, так и с аллицином. Большую по сравнению с аллицином биологическую активность дифтораллицина авторы объясняют тем, что введение фтора увеличило электрофильность атома серы, т.е. способность соединения тиолировать сульфгидрильные группы. Кроме того, введение атома фтора в молекулу аллицина, как полагают авторы, должно было приводить к изменению липофильности соединения и его способности проникать через мембрану. Ангиогенез играет важную роль в росте опухоли и метастазировании. Поэтому дифтораллицин может быть новым противоопухолевым препаратом, подлежащим, в отличие от аллицина, патентованию. Следует отметить, что в работе установлена неизвестная ранее для аллицина антикоагулянтная активность, что может стимулировать исследование других тиосульфидов как антикоагулянтов.

ТИОСУЛЬФИНАТЫ В ФЕРМЕНТАТИВНОЙ ПРОЛЕКАРСТВЕННОЙ ТЕРАПИИ

Новым подходом для лечения онкологических заболеваний является направленная ферментная пролекарственная терапия опухолей. Этот подход включает два этапа. На первом выбранный фермент или его ген доставляется к опухолевым клеткам. На втором этапе нетоксичный субстрат (пролекарство) ферментативно преобразуется в токсичное средство только в области опухоли. Это позволяет повысить селективность действия цитотоксического вещества на опухолевые клетки и снизить его токсичность для организма в целом. Впервые такой подход был применён в 1974 г. [49] и интенсивно развивается в настоящее время.

Первым тиосульфидом, полученным *in situ* в составе фармакологической пары пири-

доксаль-5'-фосфат-зависимая аллииназа (КФ 4.4.1.4) + аллиин, был аллицин. В работе Miron et al. [23] был получен ковалентный конъюгат аллииназы с моноклональным антителом к рецептору эпидермального фактора роста человека (ErbB2). Конъюгат связывался с опухолевыми клетками-мишенями (клеточная линия аденокарциномы желудка человека N87, экспрессирующая рецепторы ErbB2, и клеточная линия рака яичников китайского хомяка CV2, трансфицированная экспрессионным вектором млекопитающих ErbB2). После добавления к клеткам аллиина наблюдалось эффективное ингибирование их роста. В опытах *in vivo* на ксенографтах N87, привитых мышам, также была продемонстрирована высокая противоопухолевая активность аллицина, образующегося *in situ* при введении животным этого конъюгата и аллиина. При этом субстрат и продукт реакции не оказывали негативного действия на здоровые ткани животных. Авторы объясняют этот эффект отсутствием токсичности у аллиина и высоким уровнем клиренса аллицина.

В работе Arditti et al. [14] был получен конъюгат аллииназы с моноклональным антителом ритуксимабом, которое распознаёт Т-клеточный поверхностный антиген T11/Leu-5 (CD20). При добавлении полученного конъюгата и аллиина к злокачественным В-клеткам, экспрессирующим в различных количествах CD20 (клетки В-хронического лимфолейкоза и клетки В-клеточных лимфом), образовавшийся *in situ* аллицин приводил к гибели опухолевых В-клеток посредством апоптоза. На радиационной химере человек-мышь с привитыми животным CD20⁺ опухолевыми клетками В-хронического лимфолейкоза/мантийноклеточной лимфомы/ВЭБ-трансформированных В-клеток было показано, что однократное введение конъюгата с последующим многократным введением аллиина приводит к значительному снижению количества опухолевых клеток в образцах клеток брюшины, взятых через 24 ч после последнего введения субстрата.

Для направленной доставки аллииназы к поверхности опухолевых клеток с гиперэкспрессией рецепторов эстрогена (ER⁺) были получены конъюгаты аллииназы с природным фитоэстрогеном дайдзеином (Dz), имеющим химически сходную с эстрадиолом структуру [24]. Конъюгат специфически связывался с клетками рака яичников *in vitro* и при добавлении аллиина эффективно продуцировал цитотоксические молекулы аллицина, которые убивали раковые клетки. Исследование биораспределения меченого европием конъюгата

аллииназа-дайдзеин на моделях ксенографтов ES-2 у мышей показало его преимущественное накопление в опухолях по сравнению с другими тканями. Эффективность конъюгата в присутствии аллиина также была доказана *in vivo* при лечении мышей с привитой опухолью рака яичника [24]. В течение первых 12 дней в терапевтической группе наблюдалось торможение роста опухолей по сравнению с группой животных, принимавших плацебо. Гистологическое исследование органов и тканей не выявило каких-либо дополнительных очагов карциномы или признаков токсичности препаратов.

В работе Chhabria et al. [50] показано, что конъюгат аллииназы с моноклональным антителом к опухолевому маркеру рака поджелудочной железы CA19-9 связывается с клетками рака поджелудочной железы MIA PaCa-2, и при добавлении аллиина локализованная в раковых клетках аллииназа вырабатывает аллицин, который индуцирует апоптоз посредством различных эпигенетических модификаций, в частности, активации экспрессии каспазы 3, фрагментации ДНК, остановки клеточного цикла и экспрессии ингибитора циклинзависимой киназы p21^{WAF1/Cip1}, а также образования активных форм кислорода и истощения запаса глутатиона. Специфичность противоопухолевой активности аллицина, генерируемого *in situ*, была продемонстрирована на нескольких типах клеток с использованием новой интегрированной дискретной системы совместного культивирования нескольких органов (IdMOC). Аллицин оказывал дозозависимое цитотоксическое действие на клеточную линию MIA PaCa-2, тогда как для клеточных линий, не экспрессирующих антиген CA19-9 (аденокарцином яичников OAW 4, молочной железы MCF-7, предстательной железы PC3, гепатоцеллюлярной карциномы HepG2 и фибробластов кожи человека HDF), статистически значимой разницы в жизнеспособности клеток не наблюдалось.

Пиридоксаль-5'-фосфат-зависимая метионин-γ-лиаза (КФ 4.4.1.11, МГЛ), помимо физиологической реакции γ-элиминирования L-метионина [51], катализирует реакцию β-элиминирования S-замещённых аналогов L-цистеина, в том числе сульфоксидов S-алк(ен)ил-L-цистеина, продуктами которой являются тиосульфиды [52, 53]. Поскольку тиосульфиды окисляют сульфгидрильные группы белков и могут ингибировать МГЛ, были созданы мутантные формы фермента из нескольких бактериальных источников с заменой остатка цистеина-115 их активных центров на гистидин (С115Н МГЛ, нумерация согласно аминокислотной последовательности МГЛ *Citrobacter freundii*).

Мутантные формы эффективно катализировали реакцию расщепления сульфоксидов S-алк(ен)ил-L-цистеина [54, 55] и были использованы в качестве ферментной составляющей фармакологической пары для испытания цитотоксической и противоопухолевой активностей тиосульфидов, образующихся *in situ*. При использовании подхода ферментной пролекарственной терапии необходимо, чтобы введённый ферментный компонент был активен в плазме в течение периода, необходимого для получения достаточного количества лекарства из пролекарства. Нативная МГЛ быстро выводится из кровотока [56]. Для улучшения фармакокинетических параметров С115Н МГЛ было использовано несколько общепринятых подходов, таких как пэгилирование, инкапсулирование в липосомы и полиионные везикулы (ПИКСомы) [57] и модификация фермента полисиаловой кислотой [25]. Инкапсулирование в ПИКСомы продлило стабильность С115Н МГЛ в кровотоке более чем на 42 ч по сравнению с пэгилированным ферментом [57]. Период полувыведения С115Н МГЛ, конъюгированной с полисиаловой кислотой, также увеличился в 3–6 раз по сравнению с нативным ферментом. В реакции с сульфоксидами S-замещённого L-цистеина каталитическая эффективность как инкапсулированного в ПИКСомы фермента, так и его модифицированной полисиаловой кислотой формы была сравнима с таковой для нативной С115Н МГЛ. Цитотоксический эффект аллицина, ДМТС, ДЭТС и ДПТС, получаемых в парах С115Н МГЛ/сульфоксиды S-(аллил/алкил) замещённого L-цистеина, был показан *in vitro* на линиях аденокарциномы MCF-7, SCOV-3 и SW-620 (табл. 4).

Таблица 4. Цитотоксичность тиосульфидов, производимых фармакологическими парами С115Н МГЛ/сульфоксид

Тиосульфид	Клеточная линия		
	MCF-7	SCOV-3	SW-620
	IC ₅₀ , мкМ		
Аллицин	30,80	104,7	40,12
ДМТС	68,05	127,04	108,90
ДЭТС	21,70	119,39	36,17
ДПТС	15,03	87,19	19,24

Значения IC_{50} для аллицина и ДМТС для линии MCF-7 оказались близки к полученным данным для синтетических тиосульфидов (44 мкМ и > 50 мкМ соответственно) [17]. Для ДЭТС и ДПТС показан самый высокий цитотоксический эффект на линиях MCF-7 и SW-620 ($IC_{50} < 36$ мкМ). Значения IC_{50} синтетических тиосульфидов для линии MCF-7 составляли более 50 мкМ [17]. Для клеток SCOV-3 значения IC_{50} для аллицина были аналогичны данным, полученным для синтетического аллицина (93 мкМ) для этой линии [24].

Примечательно, что для всех клеточных линий наблюдалось усиление цитотоксического действия тиосульфидов с увеличением длины цепи алкильных радикалов (табл. 4). Впервые факт увеличения бактерицидного действия тиосульфидов на грамположительные бактерии с увеличением длины их алкильных групп был отмечен в работе Small et al. [9], где авторы предположили, что удлинение алкильной группы делает соединения более липофильными, позволяя им эффективно атаковать сульфгидрильные группы белков.

Сохранение каталитической активности фермента С115Н, инкапсулированного в ПИКсомы, цитотоксический эффект фармакологической пары С115Н МГЛ + сульфоксиды S-замещённого L-цистеина, сравнимый с таковым для синтетических тиосульфидов, высокая биодоступность инкапсулированного в ПИКсомы фермента – все эти факты показали перспективность применения фармакологической пары как потенциального нового противоопухолевого средства. Для направленной доставки пары к ER^+ опухолям С115Н МГЛ была конъюгирована с дайдзеином [22]. Конъюгат (С115Н-Dz) связывался с линиями MCF-7, SKBR3, MDA-MB-231 и T-47D рака молочной железы и в присутствии сульфоксидов S-(аллил/алкил)-L-цистеина проявлял цитотоксический эффект (табл. 5). Конъюгирование увеличило время полувыведения фермента с 4,2 ч до 7,2 ч. Противоопухолевое действие фармакологической пары С115Н-Dz/пропиин было проверено *in vivo* на ксенотрансплантатах SKBR-3: пара ингибировала рост опухоли на 85% (дозировка составила 30 ед. конъюгата, 30 мг/мл пропиина).

В работе Abo Qoura et al. [29] была исследована цитотоксическая и противоопухолевая активность фармакологической пары С115Н-Dz/пропиин на линиях солидных опухолей HT-29, COLO205 и HCT116 (рак толстой кишки), Panc1 и MIA-PaCa2 (рак поджелудочной железы), 22Rv1, DU-145 и PC3 (рак предстательной железы).

Таблица 5. Цитотоксичность конъюгата С115Н МГЛ-Dz в присутствии сульфоксидов S-замещённого L-цистеина

Сульфоксид (1 мг/мл)	Клеточная линия			
	MCF-7	SKBR3	MDA-MB-231	T-47D
	IC_{50} , мкМ			
Метиин	0,48	14,5	> 18,6	2,81
Этиин	0,35	0,8	> 18,6	2,28
Пропиин	0,53	1,15	> 18,6	1,97
Аллиин	1,38	1,0	> 18,6	2,13

In vitro на клеточных линиях рака толстой кишки лучший эффект наблюдался для HT-29 ($IC_{50} = 6,9$ мкМ). Значения IC_{50} для MIA-PaCa2 и Panc1 составляли 3,4 и 3,8 мкМ соответственно. Среди клеточных линий рака предстательной железы наиболее чувствительной к ДПТС оказалась линия 22Rv1 ($IC_{50} = 5,4$ мкМ). *In vivo* противоопухолевая активность фармакологической пары была изучена на подкожных ксенотрансплантатах HT-29, SW-620, Panc1, MIA-PaCa2 и 22Rv1 у мышей BALB/c nude. При терапии животных фармакологической парой С115Н-Dz/пропиин наблюдалось значительное уменьшение объёма опухолей Panc1, MIA-PaCa2, HT-29 и 22Rv1 (дозировка компонентов фармакологической пары составляла 30 ед. конъюгата, 30 мг/мл пропиина).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Интенсивные исследования тиосульфидов как потенциальных средств терапии рака начались сравнительно недавно. Несмотря на подтверждённые многообразные биологические активности аллицина, этот тиосульфид мало применяется в фармакологии. Это, вероятно, во многом объясняется его химической нестабильностью и летучестью [3–5]. Кроме того, в крови аллицин очень быстро метаболизируется [6, 7]. Представленные в обзоре результаты позволяют считать, что более стабильные тиосульфиды с предельными или ароматическими заместителями могут быть новыми перспективными противоопухолевыми средствами, действующими в том числе против опухолей со множественной лекарственной устойчивостью. Поскольку тиосульфиды имеют множество мишеней в организме, окисляя серосодержащие белки, и могут оказывать

цитотоксический эффект на здоровые клетки, использование метода получения тиосульфидов *in situ* с помощью ферментативной реакции непосредственно у поверхности опухолевой клетки обещает стать перспективным направлением в терапии злокачественных новообразований. Имеющиеся в литературе данные свидетельствуют о том, что использование фармакологических пар в направленной ферментной терапии позволяет обеспечивать эффективное образование тиосульфидов непосредственно в области опухоли и тем самым уменьшать их цитотоксическое действие на нормальные клетки организма. В перспективе такие препараты можно было бы использовать в комбинированной терапии с другими известными цитостатическими агентами с целью уменьшения вероятности возникновения резистентности к применяемым препаратам у рако-

вых клеток, а также для ликвидации вторичных очагов опухолевого роста.

Вклад авторов. В.В. Куликова писала статью; С.В. Ревтович оформляла рисунки; Е.А. Морозова осуществляла поиск и подбор литературных источников; В.С. Коваль оформлял таблицы; П.Н. Сольев анализировал литературные данные; Т.В. Демидкина координировала все работы.

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 20-74-10121).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Соблюдение этических норм. Настоящая статья не содержит описания выполненных авторами исследований с участием людей или животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Miekus, N., Marszałek, K., Podlacha, M., Iqbal, A., Puchalski, C., and Swiergiel, A. H. (2020) Health benefits of plant-derived sulfur compounds, glucosinolates, and organosulfur compounds, *Molecules*, **25**, 3804, doi: 10.3390/molecules25173804.
- Lawson, L. D. (1996) The composition and chemistry of garlic cloves and processed garlic, in: *Garlic: The Science and Therapeutic Application of Allium sativum L. and Related Species* (Koch, H. P., and Lawson, L. D., eds) 2nd Edn., Williams & Wilkins, Baltimore.
- Borlinghaus, J., Albrecht, F., Gruhlke, M. C., Nwachukwu, I. D., and Slusarenko, A. J. (2014) Allicin: chemistry and biological properties, *Molecules*, **19**, 12591-12618, doi: 10.3390/molecules190812591.
- Batiha, G., Beshbishy, A. M., Wasef, L. G., Elewa, Y. H. A., Al-Sagan, A. A., Abd El-Hack, M. E., Taha, A. E., Abd-Elhakim, Y. M., and Devkota, H. P. (2020) Chemical constituents and pharmacological activities of garlic (*Allium sativum* L.): a review, *Nutrients*, **12**, 872, doi: 10.3390/nu12030872.
- Borlinghaus, J., Foerster Née Reiter, J., Kappler, U., Antelmann, H., Noll, U., Gruhlke, M. C. H., and Slusarenko, A. J. (2021) Allicin, the odor of freshly crushed garlic: a review of recent progress in understanding allicin's effects on cells, *Molecules*, **26**, 1505, doi: 10.3390/molecules26061505.
- Catanzaro, E., Canistro, D., Pellicioni, V., Vivarelli, F., and Fimognari, C. (2022) Anticancer potential of allicin: A review, *Pharmacol. Res.*, **177**, 106118, doi: 10.1016/j.phrs.2022.106118.
- Rose, P., Whiteman, M., Moore, P. K., and Zhu, Y. Z. (2005) Bioactive S-alk(en)yl cysteine sulfoxide metabolites in the genus *Allium*: the chemistry of potential therapeutic agents, *Nat. Prod. Rep.*, **22**, 351-368, doi: 10.1039/b417639c.
- Shen, C., Xiao, H., and Parkin, K. L. (2002) In vitro stability and chemical reactivity of thiosulfonates, *J. Agric. Food Chem.*, **50**, 2644-2651, doi: 10.1021/jf011013e.
- Small, L. D., Bailey, J. H., and Cavallito, C. J. (1947) Alkyl Thiolsulfonates, *J. Am. Chem. Soc.*, **69**, 1710-1713, doi: 10.1021/ja01199a040.
- Stellenboom, N., Hunter, R., Caira, M. R., Bourne, S. A., Cele, K., Qwebani, T., and le Roex, T. (2007) Synthesis and inclusion of S-aryl alkylthiosulfonates as stable allicin mimics, *ARKIVOC*, **9**, 53-63, doi: 10.3998/Ark.5550190.0008.907.
- Weisberger, A. S., and Pensky, J. (1957) Tumor-inhibiting effects derived from an active principle of garlic (*Allium sativum*), *Science*, **126**, 1112-1114, doi: 10.1126/science.126.3283.1112-a.
- Merhi, F., Auger, J., Rendu, F., and Bauvois, B. (2008) Allium compounds, dipropyl and dimethyl thiosulfonates as antiproliferative and differentiating agents of human acute myeloid leukemia cell lines, *Biologics*, **2**, 885-895, doi: 10.2147/btt.s3212.
- Miron, T., Wilchek, M., Sharp, A., Nakagawa, Y., Naoi, M., Nozawa, Y., and Akao, Y. (2008) Allicin inhibits cell growth and induces apoptosis through the mitochondrial pathway in HL60 and U937 cells, *J. Nutr. Biochem.*, **19**, 524-535, doi: 10.1016/j.jnutbio.2007.06.009.
- Arditti, F. D., Rabinkov, A., Miron, T., Reisner, Y., Berrebi, A., Wilchek, M., and Mirelman, D. (2005) Apoptotic killing of B-chronic lymphocytic leukemia tumor cells by allicin generated in situ using a

- rituximab-alliinase conjugate, *Mol. Cancer Ther.*, **4**, 325-331, doi: 10.1158/1535-7163.325.4.2.
15. Patya, M., Zahalka, M. A., Vanichkin, A., Rabinkov, A., Miron, T., Mirelman, D., Wilchek, M., Lander, H. M., and Novogrodsky, A. (2004) Allicin stimulates lymphocytes and elicits an antitumor effect: a possible role of P21ras, *Int. Immunol.*, **16**, 275-281, doi: 10.1093/intimm/dxh038.
 16. Padilla-Camberos, E., Zaitseva, G., Padilla, C., and Puebla, A. M. (2010) Antitumoral activity of allicin in murine lymphoma L5178Y, *Asian Pac. J. Cancer Prev.*, **11**, 1241-1244.
 17. Roseblade, A., Ung, A., and Bebawy, M. (2017) Synthesis and in vitro biological evaluation of thiosulfinate derivatives for the treatment of human multidrug-resistant breast cancer, *Acta Pharmacol. Sin.*, **38**, 1353-1368, doi: 10.1038/aps.2016.170.
 18. Park, K. W., Kim, S. Y., Jeong, I. Y., Byun, M. W., Park, K. H., Yamada, K., and Seo, K. I. (2007) Cytotoxic and antitumor activities of thiosulfates from *Allium tuberosum* L., *J. Agric. Food Chem.*, **55**, 7957-7961, doi: 10.1021/jf0713051.
 19. Ossama, M., Hathout, R. M., Attia, D. A., and Mortada, N. D. (2019) Enhanced allicin cytotoxicity on HEPG-2 cells using glycyrrhetic acid surface-decorated gelatin nanoparticles, *ACS Omega*, **4**, 11293-11300, doi: 10.1021/acsomega.9b01580.
 20. Hirsch, K., Danilenko, M., Giat, J., Miron, T., Rabinkov, A., Wilchek, M., Mirelman, D., Levy, J., and Sharoni, Y. (2000) Effect of purified allicin, the major ingredient of freshly crushed garlic, on cancer cell proliferation, *Nutr. Cancer*, **38**, 245-254, doi: 10.1207/S15327914NC382_14.
 21. Bhaumik, I., Pal, K., Debnath, U., Karmakar, P., Jana, K., and Misra, A. K. (2019) Natural product inspired allicin analogs as novel anti-cancer agents, *Bioorg. Chem.*, **86**, 259-272, doi: 10.1016/j.bioorg.2019.01.057.
 22. Morozova, E., Abo Qoura, L., Anufrieva, N., Koval, V., Lesnova, E., Kushch, A., Kulikova, V., Revtovich, S., Pokrovsky, V. S., and Demidkina, T. (2022) Daidzein-directed methionine γ -lyase in enzyme prodrug therapy against breast cancer, *Biochimie*, **201**, 177-183, doi: 10.1016/j.biochi.2022.05.007.
 23. Miron, T., Mironchik, M., Mirelman, D., Wilchek, M., and Rabinkov, A. (2003) Inhibition of tumor growth by a novel approach: in situ allicin generation using targeted alliinase delivery, *Mol. Cancer Ther.*, **2**, 1295-1301.
 24. Appel, E., Rabinkov, A., Neeman, M., Kohen, F., and Mirelman, D. (2011) Conjugates of daidzeinalliinase as a targeted pro-drug enzyme system against ovarian carcinoma, *J. Drug Target*, **19**, 326-335, doi: 10.3109/1061186X.2010.504265.
 25. Morozova, E., Anufrieva, N., Koval, V., Lesnova, E., Kushch, A., Timofeeva, V., Solovieva, A., Kulikova, V., Revtovich, S., and Demidkina, T. (2021) Conjugates of methionine γ -lyase with polysialic acid: two approaches to antitumor therapy, *Int. J. Biol. Macromol.*, **182**, 394-401, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2021.03.201.
 26. Tyagi, G., Pradhan, S., Srivastava, T., and Mehrotra, R. (2014) Nucleic acid binding properties of allicin: spectroscopic analysis and estimation of anti-tumor potential, *Biochim. Biophys. Acta*, **1840**, 350-356, doi: 10.1016/j.bbagen.2013.09.007.
 27. Sun, L., and Wang, X. (2003) Effects of allicin on both telomerase activity and apoptosis in gastric cancer SGC-7901 cells, *World J. Gastroenterol.*, **9**, 1930-1934, doi: 10.3748/wjg.v9.i9.1930.
 28. Lee, J. H., Yang, H. S., Park, K. W., Kim, J. Y., Lee, M. K., Jeong, I. Y., Shim, K. H., Kim, Y. S., Yamada, K., and Seo, K. I. (2009) Mechanisms of thiosulfates from *Allium tuberosum* L.-induced apoptosis in HT-29 human colon cancer cells, *Toxicol. Lett.*, **188**, 142-147, doi: 10.1016/j.toxlet.2009.03.025.
 29. Abo Qoura, L., Morozova, E., Kulikova, V., Karshieva, S., Sokolova, D., Koval, V., Revtovich, S., Demidkina, T., and Pokrovsky, S. V. (2022) Methionine γ -lyase-daidzein in combination with S-propyl-L-cysteine sulfoxide as a targeted prodrug enzyme system for malignant solid tumor xenografts, *Int. J. Mol. Sci.*, **23**, 12048, doi: 10.3390/ijms231912048.
 30. Kim, S. Y., Park, K. W., Kim, J. Y., Shon, M. Y., Yee, S. T., Kim, K. H., Rhim, J. S., Yamada, K., and Seo, K. I. (2008) Induction of apoptosis by thiosulfates in primary human prostate cancer cells, *Int. J. Oncol.*, **32**, 869-875.
 31. Kim, S. Y., Park, K. W., Kim, J. Y., Jeong, I. Y., Byun, M. W., Park, J. E., Yee, S. T., Kim, K. H., Rhim, J. S., Yamada, K., and Seo, K. I. (2008) Thiosulfates from *Allium tuberosum* L. induce apoptosis via caspase-dependent and -independent pathways in PC-3 human prostate cancer cells, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **18**, 199-204, doi: 10.1016/j.bmcl.2007.10.099.
 32. Mondal, A., Banerjee, S., Bose, S., Mazumder, S., Haber, R. A., Farzaei, M. H., and Bishayee, A. (2021) Garlic constituents for cancer prevention and therapy: from phytochemistry to novel formulations, *Pharm. Res.*, **175**, 105837, doi: 10.1016/j.phrs.2021.105837.
 33. De Greef, D., Barton, E. M., Sandberg, E. N., Croley, C. R., Pumarol, J., Wong, T. L., Das, N., and Bishayee, A. (2021) Anticancer potential of garlic and its bioactive constituents: a systematic and comprehensive review, *Semin. Cancer Biol.*, **73**, 219-264, doi: 10.1016/j.semcancer.2020.11.020.
 34. Rauf, A., Abu-Izneid, T., Thiruvengadam, M., Imran, M., Olatunde, A., Shariati, M. A., Bawazeer, S., Naz, S., Shirooie, S., Sanches-Silva, A., Farooq, U., and Kazhybayeva, G. (2022) Garlic (*Allium sativum* L.): its chemistry, nutritional composition, toxicity, and anticancer properties, *Curr. Top. Med. Chem.*, **22**, 957-972, doi: 10.2174/1568026621666211105094939.

35. Mitra, S., Das, R., Emran, T. B., Labib, R. K., Noor-E-Tabassum, I. F., Sharma, R., Ahmad, I., Nainu, F., Chidambaram, K., Alhumaydhi, F. A., Chandran, D., Capasso, R., and Wilairatana, P. (2022) Diallyl disulfide: a bioactive garlic compound with anticancer potential, *Front. Pharmacol.*, **22**, 943967, doi: 10.3389/fphar.2022.943967.
36. Kaschula, C. H., Hunter, R., and Parker, M. I. (2010) Garlic-derived anticancer agents: structure and biological activity of ajoene, *Biofactors*, **36**, 78-85, doi: 10.1002/biof.76.
37. Cavallito, C. J., and Bailey, J. H. (1944) Allicin, the antibacterial principle of *Allium sativum*. I. Isolation, physical properties and antibacterial action, *J. Am. Chem. Soc.*, **66**, 1950-1951.
38. Cavallito, C. J., Buck, J. S., and Suter, C. M. (1944) Allicin, the antibacterial principle of *Allium sativum*. II. Determination of the chemical structure, *J. Am. Chem. Soc.*, **66**, 1952-1954, doi: 10.1021/ja01239a049.
39. Rabinkov, A., Miron, T., Konstantinovski, L., Wilchek, M., Mirelman, D., and Weiner, L. (1998) The mode of action of allicin: trapping of radicals and interaction with thiol containing proteins, *Biochim. Biophys. Acta*, **1379**, 233-244, doi: 10.1016/s0304-4165(97)00104-9.
40. Gruhlke, M. C. H., Antelmann, H., Bernhardt, J., Kloubert, V., Rink, L., and Slusarenko, A. J. (2019) The human allicin-proteome: S-thioallylation of proteins by the garlic defence substance allicin and its biological effects, *Free Radic. Biol. Med.*, **131**, 144-153, doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2018.11.022.
41. Watanabe, Y., Muroi, R., Tsuchiya, H., Uda, Y., and Hashimoto, K. (2013) Inhibitory effect of methyl methanethiosulfinate on β -glucuronidase activity, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **77**, 2325-2327, doi: 10.1271/bbb.130510.
42. Takada, H., Hirooka, T., Hiramatsu, Y., and Yamamoto, M. (1982) Effect of beta-glucuronidase inhibitor on azoxymethane-induced colonic carcinogenesis in rats, *Cancer Res.*, **42**, 331-334.
43. Morita, N., Walaszek, Z., Kinjo, T., Nishimaki, T., Hanausek, M., Slaga, T. J., Mori, H., and Yoshimi, N. (2008) Effects of synthetic and natural in vivo inhibitors of β -glucuronidase on azoxymethane-induced colon carcinogenesis in rats, *Mol. Med. Rep.*, **1**, 741-746, doi: 10.3892/mmr_00000022.
44. Luo, R., Fang, D., Hang, H., and Tang, Z. (2016) The mechanism in gastric cancer chemoprevention by allicin, *Anticancer Agents Med. Chem.*, **16**, 802-809, doi: 10.2174/1871520616666151111115443.
45. Rendu, F., Brohard-Bohn, B., Pain, S., Bachelot-Loza, C., and Auger, J. (2001) Thiosulfates inhibit platelet aggregation and microparticle shedding at a calpain-dependent step, *Thromb. Haemost.*, **86**, 1284-1291, doi: 10.1055/s-0037-1616063.
46. Shapovalov, I., Harper, D., and Greer, P. A. (2022) Calpain as a therapeutic target in cancer, *Expert Opin. Ther. Targets*, **26**, 217-231, doi: 10.1080/14728222.2022.2047178.
47. Badol, P., David-Duflho, M., Auger, J., Whiteheart, S. W., and Rendu, F. (2007) Thiosulfates modulate platelet activation by reaction with surface free sulfhydryls and internal thiol-containing proteins, *Platelets*, **18**, 481-490, doi: 10.1080/09537100701271828.
48. Block, E., Bechand, B., Gundala, S., Vattekkatte, A., Wang, K., Mousa, S. S., Godugu, K., Yalcin, M., and Mousa, S. A. (2017) Fluorinated analogs of organosulfur compounds from garlic (*Allium sativum*): synthesis, chemistry and anti-angiogenesis and antithrombotic studies, *Molecules*, **22**, 2081, doi: 10.3390/molecules22122081.
49. Philpott, G. W., Bower, R. J., Parker, K. L., Shearer, W. T., and Parker, C. W. (1974) Affinity cytotoxicity of tumor cells with antibody-glucose oxidase conjugates, peroxidase, and arspenamine, *Cancer Res.*, **34**, 2159-2164.
50. Chhabria, S. V., Akbarsha, M. A., Li, A. P., Kharkar, P. S., and Desai, K. B. (2015) In situ allicin generation using targeted alliinase delivery for inhibition of MIA PaCa-2 cells via epigenetic changes, oxidative stress and cyclin-dependent kinase inhibitor (CDKI) expression, *Apoptosis*, **20**, 1388-1409, doi: 10.1007/s10495-015-1159-4.
51. Tanaka, H., Esaki, N., and Soda, K. (1977) Properties of L-methionine gamma-lyase from *Pseudomonas ovalis*, *Biochemistry*, **16**, 100-106, doi: 10.1021/bi00620a016.
52. Morozova, E. A., Revtovich, S. V., Anufrieva, N. V., Kulikova, V. V., Nikulin, A. D., and Demidkina, T. V. (2014) Alliin is a suicide substrate of *Citrobacter freundii* methionine γ -lyase: structural bases of inactivation of the enzyme, *Acta Crystallogr. D Biol. Crystallogr.*, **70**, 3034-3042, doi: 10.1107/S1399004714020938.
53. Anufrieva, N. V., Morozova, E. A., Kulikova, V. V., Bazhulina, N. P., Manukhov, I. V., Degtev, D. I., Gnuchikh, E. Yu., Rodionov, A. N., Zavilgelsky, G. B., and Demidkina, T. V. (2015) Sulfoxides, analogues of L-methionine and L-cysteine as pro-drugs against gram-positive and gram-negative bacteria, *Acta Naturae*, **7**, 128-135, doi: 10.32607/20758251-2015-7-4-128-135.
54. Morozova, E., Kulikova, V., Rodionov, A., Revtovich, S., Anufrieva, N., and Demidkina, T. (2016) Engineered *Citrobacter freundii* methionine γ -lyase effectively produces antimicrobial thiosulfates, *Biochimie*, **128-129**, 92-98, doi: 10.1016/j.biochi.2016.07.007.
55. Kulikova, V. V., Anufrieva, N. V., Revtovich, S. V., Chernov, A. S., Telegin, G. B., Morozova, E. A., and Demidkina, T. V. (2016) Mutant form C115H of *Clostridium sporogenes* methionine γ -lyase efficiently cleaves S-Alk(en)yl-L-cysteine sulfoxides to antibacterial thiosulfates, *IUBMB Life*, **68**, 830-835, doi: 10.1002/iub.1562.

56. Morozova, E. A., Anufrieva, N. V., Davydov, D. Zh., Komarova, M. V., Dyakov, I. N., Rodionov, A. N., Demidkina, T. V., and Pokrovsky, V. S. (2017) Plasma methionine depletion and pharmacokinetic properties in mice of methionine γ -lyase from *Citrobacter freundii*, *Clostridium tetani* and *Clostridium sporogenes*, *Biomed. Pharmacother.*, **88**, 978-984, doi: 10.1016/j.biopha.2017.01.127.
57. Morozova, E. A., Kulikova, V. V., Anufrieva, N. V., Minakov, A. N., Chernov, A. S., Telegin, G. B., Revtovich, S. V., Koval, V. S., and Demidkina, T. V. (2019) Methionine γ -lyase in enzyme prodrug therapy: An improvement of pharmacokinetic parameters of the enzyme, *Int. J. Biol. Macromol.*, **140**, 1277-1283, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2019.08.224.

THIOSULFINATES: CYTOTOXIC AND ANTITUMOR ACTIVITY

Review

V. V. Kulikova*, E. A. Morozova, V. S. Koval, P. N. Solov, T. V. Demidkina, and S. V. Revtovich

Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, 119991 Moscow, Russia; e-mail: vitviku@yandex.ru

The pharmacological value of some natural compounds makes them attractive for use in oncology. Sulfur-containing thiosulfinates found in plants of the genus *Allium* have long been known as compounds with various therapeutic properties, including antitumor. In recent years, the effect of thiosulfinates on various stages of carcinogenesis has been actively studied. *In vitro* and *in vivo* studies have shown that thiosulfinates inhibit the proliferation of cancer cells, as well as induce apoptosis. The purpose of this review is to summarize current data on the use of natural and synthetic thiosulfinates in cancer therapy. Antitumor mechanisms and molecular targets of these promising compounds are discussed. A significant part of the review is devoted to the consideration of a new strategy for the treatment of oncological diseases – the use of the method of directed enzyme prodrug therapy with the possibility of obtaining antitumor thiosulfinates *in situ*.

Keywords: natural and synthetic thiosulfinates, cytostatic activity, antitumor activity, targeted enzyme prodrug therapy