

ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЙ ЭФФЕКТ ДИНИТРОЗИЛЬНЫХ КОМПЛЕКСОВ ЖЕЛЕЗА С ГЛУТАТИОНОМ НА МОДЕЛИ СОЛИДНОЙ ОПУХОЛИ МЫШЕЙ

© 2017 г. А.Ф. Ванин* **, Л.А. Островская***, Д.Б. Корман***, В.А. Рыкова***, Н.В. Блюхтерова***, М.М. Фомина***

*Институт химической физики им. Н.Н. Семенова РАН, 119991, Москва, ул. Косыгина, 4

**Институт регенеративной медицины Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М. Сеченова, 119991, Москва, Трубецкая ул., 8

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

E-mail: vanin@polymer.chph.ras.ru

Поступила в редакцию 22.02.17 г.

Обнаружена значительная противоопухолевая активность водных растворов биядерного динитрозильного комплекса железа с глутатионом на модели солидной опухоли мышей – карциноме Льюис – при внутривенном введении этих растворов. При дозах 20, 10 и 2 мкмоль/кг динитрозильные комплексы железа полностью (на 100%) блокировали рост опухоли в первые 11 суток после начала эксперимента, после чего опухоль начинала расти, причем со скоростью, наименьшей для наименьшей из использованных доз. На 16-е сутки при пятикратном с интервалами в двое–трое суток введении раствора динитрозильных комплексов железа торможение роста опухоли при дозе 2 мкмоль/кг составляло 90%, тогда как для доз 10 и 20 мкмоль/кг оно не превышало соответственно 70 и 30%. При дозе 100 мкмоль/кг обнаруживалось не подавление, а ускорение роста опухолей – в зависимости от времени в полтора–два раза по сравнению с контролем.

Ключевые слова: оксид азота, динитрозильные комплексы железа, карцинома легких Льюис мышей.

В недавно опубликованной статье группы китайских исследователей с острова Тайвань, возглавляемой профессором Ляо (W-F. Liao), сообщается о значительном противоопухолевом эффекте водорастворимых моноядерных динитрозильных комплексов железа (М-ДНКЖ), включающих в себя два тиолсодержащих лиганда – $(S(CH)_2OH)$ и $(S(CH)_2NH_3)$ и один железо-динитрозильный $(Fe(NO)_2)$ -фрагмент, на модели ксенографтов рака простаты человека у мышей. Указанные комплексы при внутривенном введении (в хвостовую вену) в суточной дозе ~0,8 мкмоль/кг веса каждые трое суток в течение 21 суток вызывали торможение роста опухолей на 60 и 95% по сравнению с контролем на 7-е и 21-е сутки развития опухоли соответственно. Было показано, что ингибирование роста опухолей под влиянием испытанного вещества обусловлено апоптотической гибелью

опухолевых клеток, инициированной высвобождением из М-ДНКЖ оксида азота (NO) [1].

Аналогичный результат был получен нами ранее при изучении биологического эффекта биядерных динитрозильных комплексов железа с тиолсодержащим лигандом – глутатионом (Б-ДНКЖ-Г) – на модели доброкачественной опухоли экспериментального эндометриоза крыс. Исследованные препараты, будучи донорами NO, при введении в суточной дозе 6 мкмоль/кг внутрибрюшинно ежедневно в течение десяти суток полностью подавляли развитие быстро пролиферирующих эндометриом, развивавшихся из фрагментов эпителия матки крыс, имплантированных на внутреннюю поверхность брюшины. За месяц после имплантации размеры этих опухолей в контроле увеличивались в пять раз, достигая в диаметре 10 мм, тогда как у большинства животных, подвергнутых воздействию Б-ДНКЖ, опухоли не обнаруживались [2–4].

Сокращения: М-ДНКЖ – моноядерный динитрозильный комплекс железа, Б-ДНКЖ-Г – биядерный динитрозильный комплекс железа с глутатионом.

Было высказано предположение [2–4], что ингибирование развития эндометриом под влиянием Б-ДНКЖ-Г обусловлено разруши-

тельным действием на эти комплексы хелаторов железа, продуцируемых опухолями для обеспечения железом собственного роста. Хелаторы, связывая железо, могли эффективно разрушать Б-ДНКЖ-Г, появившиеся вблизи опухолей или внутри них, чем и могло обеспечиваться избирательное цитотоксическое действие этих комплексов на опухоли. Оксид азота, высвобождающийся в значительном количестве из Б-ДНКЖ-Г, превращался в реакции с супероксидом в пероксинитрит, который и оказывал цитотоксическое действие на клетки эндометриом.

В дальнейшем [5–7] нами было показано противоопухолевое дозозависимое действие Б-ДНКЖ-Г на модели солидной опухоли мышей – карциноме легких Льюис – при внутрибрюшном десятикратном введении препарата в разовых дозах 25, 50, 125 и 200 мкмоль/кг. Противоопухолевая активность этих комплексов выражалась в торможении роста опухоли на 60–80% по сравнению с контролем, изменяясь в зависимости от дозы препарата и сроков оценки эффекта. Ингибирование роста карциномы Льюис под влиянием динитрозильных комплексов железа наблюдалось в период введения препарата, на протяжении семи–десяти суток. В более поздние сроки, после окончания курса введения препарата, скорости роста опухолей у леченых и контрольных животных практически совпадали, в результате чего размеры опухолей у леченых животных к 20-м суткам достигали того же уровня, что и в контроле. Ростингибирующий эффект препаратов повышался с увеличением дозы Б-ДНКЖ-Г и был наиболее выраженным (80%) при применении препарата в дозе 200 мкмоль/кг (в пересчете на один $\text{Fe}(\text{NO})_2$ -фрагмент в этих комплексах) [5–7].

На основании полученных данных было высказано предположение [6], согласно которому снятие ростингибирующего действия Б-ДНКЖ-Г на опухоль после окончания курса внутрибрюшинного введения препарата (седьмые–десятые сутки после перевивки опухоли) могло быть обусловлено формированием к этому времени в опухолевых клетках гипотетической антинитрозативной системы защиты от высвобождавшегося из Б-ДНКЖ-Г оксида азота, подобно той, которая возникает во многих видах бактерий в ответ на воздействие NO [8].

Однако результаты, полученные группой профессора Ляо, согласно которым М-ДНКЖ с тиолсодержащими лигандами при внутривенном введении могут практически полностью подавлять развитие опухоли рака простаты человека у мышей, причем при применении в дозе, менее 1 мкмоль/кг, а также вызывать

гибель культивируемых опухолевых клеток [1], ставят под сомнение правомерность высказанного нами предположения о существовании системы антинитрозативной защиты.

Различие результатов, полученных нами и группой китайских исследователей [1], может быть обусловлено рядом факторов, в том числе такими, как разная чувствительность экспериментальных опухолевых моделей к применявшимся воздействиям, отличительными особенностями испытывавшихся соединений, изменением эффективности препаратов в зависимости от доз и способов введения Б-ДНКЖ в организм животных – внутрибрюшинно либо внутривенно.

Представленная работа посвящена проверке значимости одного из этих факторов для реализации противоопухолевого действия динитрозильных комплексов железа, а именно оценке влияния способа введения Б-ДНКЖ-Г на эффективность препарата. Проведено изучение противоопухолевой активности Б-ДНКЖ-Г при внутривенном введении в дозах 2, 10, 20 и 100 мкмоль/кг на модели карциномы легких Льюис.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы. При синтезе препаратов Б-ДНКЖ-Г были использованы сернокислое железо ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) (Fluka, Швейцария), восстановленный глутатион и нитрит натрия (Sigma, США).

Синтез Б-ДНКЖ с глутатионом. Синтез препарата Б-ДНКЖ-Г проводили по методике, описанной в работе [9]. К 10 мл 15 мМ НЕРЕС-буфера при исходном значении рН 7,4 последовательно добавляли глутатион (40 мМ), сернокислое железо (20 мМ) и затем нитрит натрия (20 мМ). Введение в НЕРЕС-буфер глутатиона приводило к снижению рН до 3,5–4,0, что было достаточно для инициации образования S-нитрозоглутатиона, сразу начинавшегося после добавления в раствор нитрита натрия. Раствор постепенно, по мере образования S-нитрозоглутатиона, приобретал густую красную окраску. Как показали оптические измерения при длине волны 334 нм, соответствующей полосе поглощения S-нитрозоглутатиона, полтора часа было достаточно для превращения практически всего нитрита в реакции с глутатионом в S-нитрозоглутатион. После этого рН раствора повышали до 7,4 капельным добавлением в него раствора сильной щелочи (NaOH), при этом раствор приобретал красно-оранжевую окраску, обусловленную образованием Б-ДНКЖ-Г. После выдерживания этого раствора на воздухе

при комнатной температуре в течение ночи, приводившего к образованию максимального количества Б-ДНКЖ-Г, железо, не включившееся в эти комплексы и выпавшее из раствора в форме гидроокисных комплексов, удаляли фильтрацией раствора на бумаге. Концентрацию полученных Б-ДНКЖ-Г определяли по интенсивности полос поглощения на 310 и 360 нм с коэффициентами экстинкции, равными соответственно 9200 и 7400 $M^{-1}cm^{-1}$ [10]. При заданных выше исходных концентрациях реагентов концентрация Б-ДНКЖ составляла ~9,5 мМ (в пересчете на один $(Fe(NO)_2)$ -фрагмент в этих комплексах). Этот раствор разбавляли 15 мМ НЕРЕС-буфером до концентрации 4 мМ с последующим использованием в опытах на животных.

Биологический эксперимент. Эксперименты проведены на 40 инбредных мышах линии BDF₁, самках с массой тела 18–20 г, разведения питомника РАН «Столбовая» (Московская обл.). Опухолевой тест-системой служила солидная опухоль мышей – карцинома легких Льюис, перевиваемая подкожно в соответствии со стандартной методикой [11].

Водный раствор Б-ДНКЖ-Г вводили мышам внутривенно в хвостовую вену в суточных дозах 20, 10 и 2 мкмоль/кг (соответственно 0,4, 0,2 и 0,04 мкмоль Б-ДНКЖ-Г на животное в пересчете на один $Fe(NO)_2$ -фрагмент в этих комплексах) на первые, четвертые, седьмые, десятые и четырнадцатые сутки после перевивки опухоли.

В ряде опытов Б-ДНКЖ-Г вводили внутривенно в суточной дозе 100 мкмоль/кг (2 мкмоль на животное) троекратно с первых по седьмые сутки с интервалом в двое суток. Для этого использовали раствор Б-ДНКЖ с концентрацией 20 мкМ.

Оценка противоопухолевой активности. Показателем ростиингибирующего эффекта препарата служили различия в кинетике роста опухолей (коэффициент торможения роста опухоли ТРО%). Коэффициент торможения роста опухоли ТРО% определялся из соотношения: $TPO = (P_C - P_T)/P_C \%$, где P_C и P_T – объем (или масса) опухоли в группах контрольных и леченых животных соответственно. Для изучения кинетики роста опухолей проводили измерение двух взаимно перпендикулярных размеров опухолевого узла на протяжении всего периода развития опухолей. Объем опухоли вычисляли в соответствии с формулой для эллипсоида как $V = ab^2/2$, где a – длина, b – ширина и высота опухолевого узла. При переходе к массе этого узла использовали значение плотности опухоли, равное 1 г/см³ [11].

Каждая группа животных, получавших терапевтическое воздействие, состояла из шести–восьми мышей при восьми–десяти животных в контроле. Наблюдение за животными продолжалось в течение всего периода развития опухоли, вплоть до гибели животных.

Статистическая обработка данных. Статистическую обработку оценок размеров опухолей (их массы) у десяти животных проводили с использованием пакета компьютерных программ Statistica 6.0.

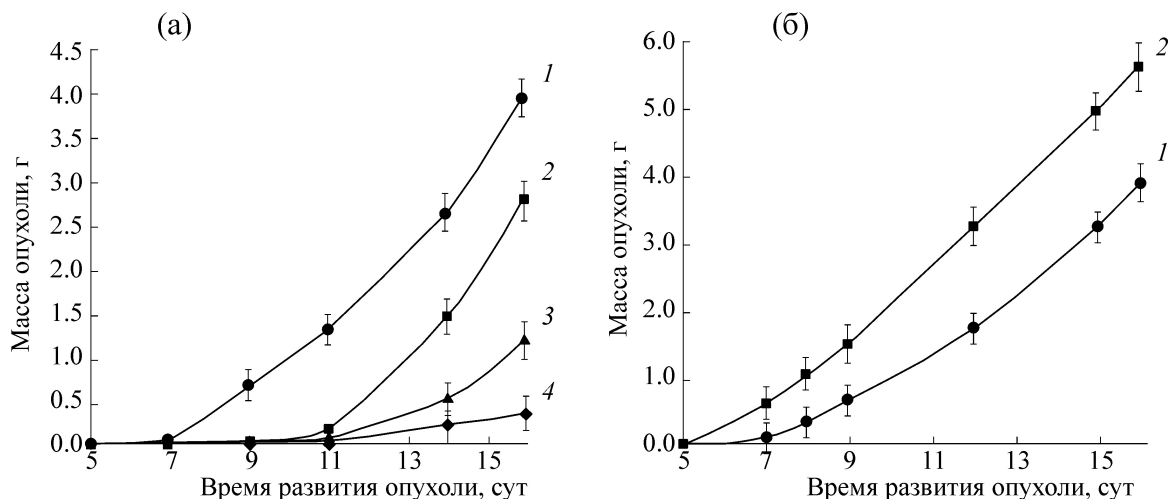
РЕЗУЛЬТАТЫ

Как следует из полученной нами кинетики изменения массы карциномы Льюис, при внутривенном введении мышам Б-ДНКЖ-Г в суточных дозах 20, 10 и 2 мкмоль/кг пятикратно в течение 14-ти суток с интервалом в двое–трое суток между инъекциями полное (100%-е) подавление роста опухоли наблюдалось в первые 11 суток для всех использованных доз комплекса (рисунок, а). В дальнейшем эффект торможения становился слабее, снижаясь до значений 30, 70 и 90% на 16-е сутки для доз 20, 10 и 2 мкмоль/кг соответственно (рисунок, а; таблица).

Что касается действия Б-ДНКЖ-Г в суточной дозе 100 мкмоль/кг, то в этом случае наблюдалась стимуляция роста карциномы в ходе всего периода наблюдений (рисунок, б). На девятые сутки масса опухоли в опыте превышала контрольную величину примерно в два раза, на 16-е сутки – в 1,6 раза. При этом часть мышей (до 30%) погибала, особенно в первую неделю после начала введения комплексов.

ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенные нами исследования полностью подтвердили результаты исследований группы профессора Ляо, впервые продемонстрировавших высокую эффективность противоопухолевого действия М-ДНКЖ с тиолсодержащими лигандами при их внутривенном введении животным [1]. Кроме того, как и в опытах этой группы исследователей, обнаруживших 95%-е торможение роста опухоли на модели ксенографтов рака простаты человека у мышей при сравнительно низкой дозе использованных ими комплексов (~1 мкМ/кг), мы также наблюдали наиболее эффективное подавление роста опухоли под действием Б-ДНКЖ-Г при их внутривенном введении примерно в такой же малой дозе (2 мкМ/кг). Однако кинетика этого воздействия оказалась разной: развитие карцино-



Противоопухолевая активность Б-ДНКЖ-Г при внутривенном введении на модели карциномы легких Льюис: (а) – введение в суточных дозах 20, 10 и 2 мкмоль/кг (кривые 2–4 соответственно); (б) – введение в суточной дозе 100 мкмоль/кг (кривая 2). Кривые 1 на обоих графиках – контроль. Дозы Б-ДНКЖ-Г приводятся в пересчете на один $\text{Fe}(\text{NO})_2$ -фрагмент.

мы Льюис полностью подавлялось Б-ДНКЖ-Г в течение первых 11-ти суток после перевивки опухоли с последующей тенденцией восстановления скорости ее роста (рисунок, а, кривая 4), тогда как скорость роста опухоли рака простаты человека под действием М-ДНКЖ с тиолсодержащими лигандами непрерывно снижалась, начиная с первой и кончая третьей неделей после перевивки опухоли [1].

При внутривенном введении мышам Б-ДНКЖ с глутатионом в более высоких дозах – 10 и 20 мкмоль/кг – обнаруживался тот же характер кинетики изменения размеров карциномы Льюис, что и при введении 2 мкмоль/кг тех же комплексов, а именно полное подавление роста опухоли в течение первых 11-ти суток с последующим восстановлением скорости роста опухоли на протяжении пяти суток для дозы 20 мкмоль/кг и заметная подобная тенденция

для меньшей дозы – 10 мкмоль/кг (рисунок, а, кривые 2 и 3; таблица).

Весьма интригующим представляется обнаруженный нами факт стимулирующего действия Б-ДНКЖ-Г при внутривенном введении этих комплексов мышам в высокой дозе – 100 мкмоль/кг (рисунок, б, кривая 2). Этот факт оказался неожиданным, поскольку ранее в наших опытах на модели карциномы Льюис при внутривенном введении мышам тех же комплексов в дозе 100 мкмоль/кг они инициировали эффективное снижение роста опухоли [5–7].

Чем могло обусловить столь парадоксальное явление – стимулирующее действие высоких доз Б-ДНКЖ-Г при их внутривенном введении на развитие карциномы Льюис в организме мышей *in vivo*? На первый взгляд, следовало бы ожидать обратный эффект – усиление угнетающего действия Б-ДНКЖ-Г на клетки кар-

Противоопухолевый эффект комплекса Б-ДНКЖ с глутатионом в ряде доз при внутривенном введении на модели карциномы легких Льюис

Группа	Суточная доза, мкмоль/кг	Средняя масса опухоли, г	Торможение роста опухоли, %
Б-ДНКЖ-Г*	100	$5,61 \pm 0,35$	Стимуляция роста ~ на 50%
Б-ДНКЖ-Г	20	$2,76 \pm 0,54$	30
Б-ДНКЖ-Г	10	$1,19 \pm 0,14$	70
Б-ДНКЖ-Г	2	$0,37 \pm 0,08$	90
Контроль	–	$3,93 \pm 0,65$	–

Примечание. Введение препарата на первые, четвертые, седьмые, десятые и четырнадцатые сутки после перевивки опухоли. * – Введение препарата на первые, четвертые и седьмые сутки после перевивки опухоли. Оценка эффекта на восемнадцатые сутки развития опухоли.

циномы по мере повышения дозы этих комплексов, как это имело место в экспериментах *in vitro* на культуре различных злокачественных клеток, результаты которых приводятся в работах [1,12,13].

Для ответа на этот вопрос прежде всего следует отметить, что при высоких дозах Б-ДНКЖ, как доноры NO, должны были оказывать угнетающее действие на функциональную активность иммунокомпетентных клеток (макрофагов, нейтрофилов, Т-хелперов и т.п.) и тем самым ослаблять у животных клеточный иммунитет. Такого рода негативное действие М- и Б-ДНКЖ с различными тиолсодержащими лигандами (как и других доноров NO) на различные культуры клеток животных, в том числе и на иммунокомпетентные клетки, ранее было продемонстрировано в работах [12–23]. При этом введение М- и Б-ДНКЖ в различные клеточные культуры в концентрации 1 мМ было достаточным для 100%-го летального эффекта действия этих комплексов на культивируемые клетки. Именно такая концентрация Б-ДНКЖ-Г в крови мышей устанавливалась при введении им этих комплексов в дозе 100 мкмоль/кг (2 микромоля Б-ДНКЖ-Г, поступавших в кровь одного животного в объеме ~2 мл). Цитотоксическое действие Б-ДНКЖ-Г распространялось при этом не только на иммунокомпетентные клетки, но и на весь организм животных, о чем свидетельствовала гибель части мышей в первые дни после внутривенного введения им Б-ДНКЖ в дозе 100 мкмоль/кг.

Интересно, что на фоне очевидного ослабления у этих животных клеточного иммунитета под влиянием Б-ДНКЖ-Г вводившиеся препараты не оказывали цитотоксического ростигибирующего действия на развитие опухоли (карцинома Льюис). В отличие от экспериментов *in vitro* на культурах злокачественных клеток [1,12,13], комплексы переставали подавлять развитие карциномы Льюис. Более того, они усиливали ее рост! Таким образом, обнаруживалась прямая корреляция между активностью системы клеточного иммунитета и цитотоксическим действием на опухоль вводившихся в кровь Б-ДНКЖ-Г. Это означает, что испытанные препараты Б-ДНКЖ-Г могли оказывать такое противоопухолевое действие только при посредстве иммунокомпетентных клеток.

Последнее могло определяться тем, что Б-ДНКЖ, попадая в организм, могли включаться в иммунокомпетентные клетки, которые направленно переносили их к злокачественной опухоли с последующей передачей этих комплексов в ткани опухоли. Такой перенос был продемонстрирован ранее в работе [24]. Пере-

ходящие в опухолевую ткань ДНКЖ могли разрушаться (как это было предположено нами ранее для доброкачественных опухолей – эндометриом [2–4]) под влиянием эндогенных хелаторов железа, продуцируемых в злокачественных опухолях для их обеспечения железом, необходимым для пролиферации опухоли. Вследствие этих процессов в опухоли появлялось значительное количество свободного оксида азота. Его окисление до пероксинитрита в реакции с супероксидом приводило к появлению в ткани цитотоксических продуктов распада протонированного пероксинитрита – гидроксильных радикалов и двуокиси азота [25], что и вызывало гибель опухолевых клеток. Если же Б-ДНКЖ попадали в нормальные, медленно пролиферирующие ткани, расположенные вблизи опухоли, то в них, из-за отсутствия эндогенных хелаторов железа, Б-ДНКЖ не распались с высвобождением во внутриклеточную среду значительного количества NO и тем самым не оказывали на эти ткани цитотоксическое действие.

Согласно этим представлениям, при ухудшении состояния иммунокомпетентных клеток, т.е. при ослаблении клеточного иммунитета по мере повышения содержания ДНКЖ в окружающей среде, эффективность доставки этих комплексов к мишеням их действия – злокачественным опухолям – должна снижаться.

Такая, на первый взгляд, парадоксальная закономерность обнаруживалась в опытах на мышцах при внутривенном введении им Б-ДНКЖ-Г в дозах 20, 10 и 2 мкмоль/кг (рисунок, а). Характерно, что в течение первых 11-ти суток развития опухоли ростигибирующий эффект препаратов наблюдался под влиянием всех протестированных доз Б-ДНКЖ-Г и лишь в дальнейшем регистрировалось восстановление опухолевого роста под влиянием всех изученных доз Б-ДНКЖ-Г, причем, что весьма парадоксально, с тем большей скоростью, чем более высокая доза этих комплексов вводилась внутривенно животным (рисунок, а). Очевидно, пятикратное введение животным Б-ДНКЖ-Г, приводившее, даже в небольших дозах, к накоплению негативных явлений в иммунокомпетентных клетках и тем самым к указанной выше дисфункции клеточного иммунитета, обеспечивало полное подавление цитотоксического действия на опухоль после 11-ти суток эксперимента. При этом последующий рост опухоли обеспечивался выжившей фракцией опухолевых клеток, величина которой была наименьшей у животных, получавших Б-ДНКЖ-Г в суточной дозе 2 мкмоль/кг.

Предлагаемый механизм противоопухолевого действия протестированных нами Б-ДНКЖ-Г на развитие карциномы Льюис, сопряженный с функционированием системы клеточного иммунитета в организме мышей, мы рассматриваем как рабочую гипотезу, требующую дальнейшей экспериментальной проверки.

Вместе с тем полученные результаты не позволяют нам отказаться от предположения о роли упомянутой во введении системы антинитрозативной защиты, которая могла бы возникать в опухолевых клетках в ответ на появление в них NO, высвобождавшегося из Б-ДНКЖ-Г. Очевидно, что экспрессия соответствующих генов, обеспечивающих (как это имеет место в бактериях [8]) синтез белков антинитрозативной защиты, могла быть более эффективной при более высоких дозах Б-ДНКЖ-Г. В результате опухолевые клетки становились устойчивыми к губительному действию на них NO, причем не только к экзогенному (поступавшему от Б-ДНКЖ-Г), но и эндогенному, продуцируемому ферментативным путем из L-аргинина. Это и приводило к тому, что при введении мышам Б-ДНКЖ-Г в дозе 100 мкмоль/кг рост карциномы не только не ослабевал по сравнению с контролем, но даже усиливался (рисунок, б).

В заключение отметим, что при внутривенном введении мышам Б-ДНКЖ-Г, использованном в настоящей работе, обнаруживались те же изменения в кинетике развития карциномы Льюис, что и в наших предыдущих опытах с внутрибрюшинным введением препарата [5–7]. Различие состояло лишь в том, что при внутрибрюшинном введении Б-ДНКЖ-Г наиболее эффективно действовал на опухоль при использовании не в низких, а в более высоких дозах – 100–200 мкмоль/кг [6,7], а при внутривенном введении – при применении в низкой дозе, составляющей 2 мкмоль/кг (рисунок, кривые 2–4).

Противоопухолевое действие комплексов при внутрибрюшинно введении в дозах 25–50 мкмоль/кг было выражено незначительно [5]. Не исключено, что при внутрибрюшинном введении Б-ДНКЖ-Г только небольшая часть этих комплексов могла достигать циркулирующей крови, «застревая» на белках брюшины и ткани кишечника, с образованием в результате переноса Fe(NO)₂-фрагментов из Б-ДНКЖ-Г на тиоловые группы белков соответствующих белок-связанных ДНКЖ. Действительно, в проведенных ранее экспериментах с внутривенным и внутрибрюшинным введением Б-ДНКЖ-Г крысам было показано, что концентрация обнаруживаемых в крови животных белок-связанных ДНКЖ в три–четыре раза выше при внутри-

венном способе введения препаратов, чем при их внутрибрюшинном применении [26].

Работа проведена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант №15-04-00708а) и Российского научного фонда (грант №16-13-10295).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. S.-H. Wu, C.-Y. Lu, Y.-L. Chen, et al., *Inorg. Chem.* **55**, 9384 (2016).
2. Е. Н. Бургова, Л. В. Адамян, Н. А. Ткачев и др., *Биофизика* **57**, 105 (2012).
3. E. N. Burgova, N. A. Tkachev, L. V. Adamyan, et al., *Eur. J. Pharmacol.* **727**, 140 (2014).
4. E. N. Burgova, N. A. Tkachev, O. V. Paklina, et al., *Eur. J. Pharmacol.* **741**, 37 (2014).
5. А. Ф. Ванин, Л. А. Островская, Д. Б. Корман и др., *Биофизика* **59**, 508 (2014).
6. А. Ф. Ванин, Л. А. Островская, Д. Б. Корман и др., *Биофизика* **60**, 152 (2015).
7. А. Ф. Ванин, Л. А. Островская, Д. Б. Корман и др., *Биофизика* **60**, 1157 (2015).
8. J. Green, M. D. Rolfe, and L. J. Smith, *Virulence* **5**, 1 (2013).
9. R. R. Borodulin, A. P. Poltorakov, V. D. Mikoyan, et al., *Nitric Oxide Biol. Chem.* **29**, 4 (2013).
10. A. F. Vanin, A. P. Poltorakov, V. D. Mikoyan, et al., *Nitric Oxide Biol. Chem.* **23**, 1236 (2010).
11. Е. М. Трещалина, О. С. Жукова, Г. К. Герасимова и др., в кн. *Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ*, под ред. Р.Н. Хабарова, изд. 2 (Медицина, М., 2005).
12. A. L. Kleschyov, S. Strand, S. Schmitt, et al., *Free Rad. Biol. Med.* **40**, 12340 (2006).
13. N. A. Sanina, N. Yu. Shmatko, D. V. Korchagin, et al., *J. Coord. Chem.* **69**, 812 (2016).
14. J. C. Drapier and J. B. Hibbs, *J. Clin. Invest.* **78**, 790 (1986).
15. J. B. Hibbs, R. R. Taintor, and Z. Vavrin, *Science* **225**, 525 (1987).
16. L. Ignarro, *Nitric Oxide and Pharmacology* (Academic Press, Zurich, Switzerland, 2000).
17. Y.-M. Kim, H.-T. Chung, R. L. Simmons, et al., *J. Biol. Chem.* **275**, 10954 (2000).
18. R. C. Van der Veen, T. A. Dietlin, F. M. Hofman, et al., *J. Immunol.* **164**, 5177 (2000).
19. P. Tripathi, P. Tripathy, L. Kashuvar, et al., *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* **51**, 443 (2007).
20. Y.-J. Chen, W.-C. Ku, L.-T. Feng, et al., *J. Am. Chem. Soc.* **130**, 10929 (2008).
21. Y. S. Rahmanto, D. S. Kalinowski, D. J. R. Lane, et al., *J. Biol. Chem.* **287**, 6960 (2012).
22. J. Mier-Cabrera, S. Gonzalez-Gallardo, and C. Hernandez-Guerrero, *Reproductive Sci.* **20**, 1332 (2013).

23. H. C. Lok, S. Sahni, P. J. Jansson, et al., *J. Biol. Chem.* **291**, 27042 (2016).
24. J.-C. Drapier, C. Pellat, and Y. Henry, *J. Biol. Chem.* **266**, 10162 (1991).
25. D. Berg, M. B. Youdim, and P. Riederer, *Cell Tissue Res.* **318**, 211 (2004).
26. A. A. Timoshin, V. L. Lakomkin, A. A. Abramov, et al., *Eur. J. Pharmacol.* **765**, 525 (2015).

Antitumor Effect of Dinitrosyl Iron Complexes with Glutathione in Murine Solid Malignant Tumor Model

A.F. Vanin* **, L.A. Ostrovskaya*, D.B. Korman***, V.A. Rykova***,
N.V. Blyuchterova***, and M.M. Fomina*****

**Semenov Institute of Chemical Physics, Russian Academy of Sciences, ul. Kosygina 4, Moscow, 119991 Russia*

***Institute of Regenerative Medicine, Sechenov First Moscow State Medical University,
ul. Trubetskaya 8, Moscow, 119991 Russia*

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

High antitumor activity of aqueous solutions of a binuclear form of dinitrosyl iron complex with glutathione was demonstrated using the model of solid malignant tumor, Lewis carcinoma in mice injected intravenously with the complex. At the doses of 20, 10 and 2 micromol/kg, dinitrosyl iron complex blocked completely (100%) tumor growth for the first 11 days after the beginning of the experiment followed by tumor proliferation with the rate which was minimal for the lowest dose of the complex. By the 16-th day, after administration of a solution of dinitrosyl iron complex five times at 2–3 day intervals the value of tumor growth inhibition was 90% for the dose of 2 micromol/kg while the values of 70 and 30% were characteristic of the dose of 10 and 20 micromol/kg, respectively. Acceleration but not inhibition of carcinoma growth was observed for the dose of dinitrosyl iron complex of 100 micromol/kg. Depending on the time, the mass of the tumor increased 1.5–2.0 times compared to the control values.

Key words: nitrogen oxide, dinitrosyl iron complex, Lewis carcinoma in mice