

УДК 577.17.049.

© Коллектив авторов

ПРОТИВООПУХОЛЕВАЯ АКТИВНОСТЬ ОКСОВАНАДИЕВЫХ СОЕДИНЕНИЙ

О.Ю. Абакумова, О.В. Подобед, Н.Ф. Беляева, А.И. Точилкин*

Учреждение Российской академии медицинских наук
Научно-исследовательский институт биомедицинской химии
имени В.Н. Ореховича, 119121, Москва, ул. Погодинская, д.10;
тел./факс: 7(499)246-33-80/ 245-08-59; эл. почта: natalia.belyaeva@ibmc.msk.ru

Исследовали цитотоксическую и противоопухолевую активности билигандного комплекса ванадила с L-яблочной кислотой - бис(L-малато)оксованадия(IV) $(VO(mal)_2)$, неорганического соединения четырёхвалентного ванадия – ванадилсульфата $(VO SO_4)$, монокомплекса оксованадия с L-яблочной кислотой $(VO(mal))$ и бискомплекса ванадила с ацетилацетонатом $(VO(асас)_2)$ с использованием различных линий опухолевых клеток (L929 (фибросаркомы мыши), PC12 (феохромоцитомы крысы), HepG2 (карциномы печени человека), NIH/3T3 (эмбриональные фибробластоподобные клетки мыши)), а также нормальных фибробластов кожи человека (ФБЧ). Полученные результаты показали, что $VO(mal)_2$ эффективно подавляет рост опухолевых клеток в культуре, не оказывая цитотоксического эффекта на ФБЧ. Цитотоксический противоопухолевый эффект комплексов ванадия зависит от концентрации исследуемых соединений, времени культивирования клеток в их присутствии, типа клеток и характера органических молекул, окружающих центральную группу комплекса (VO^{2+}) . Сделан вывод о том, что сочетание низкой токсичности по отношению к нормальным клеткам и существенной противоопухолевой активности $VO(mal)_2$ позволяет отнести его к потенциальным противоопухолевым агентам.

Ключевые слова: оксованадиевые соединения, культура клеток, цитотоксичность, противоопухолевая активность.

ВВЕДЕНИЕ. Ванадий – химический элемент, находящийся в организме млекопитающих в следовых количествах. Он играет важную физиологическую роль, влияя на многие метаболические процессы в клетке. В настоящее время установлено, что ванадийсодержащие соединения обладают инсулиноподобной активностью *in vivo* и *in vitro*: они усиливают транспорт глюкозы, синтез гликогена и липидов, ДНК и белка [1-4], тормозят липолиз [5], а также проявляют митогенное действие [6, 7]. Одним из важнейших свойств соединений ванадия является гипогликемический эффект, который определяет возможность их использования в качестве инсулиномиметиков [4, 7-9]. Гипотеза, предложенная Crans [7] для объяснения инсулиноподобного эффекта соединений ванадия, предполагает, что их действие направлено на множество мишеней и метаболических путей.

* - адресат для переписки

ПРОТИВООПУХОЛЕВАЯ АКТИВНОСТЬ ОКСОВАНАДИЕВЫХ СОЕДИНЕНИЙ

Исследования последних лет показали, что как неорганические соединения четырёх- или пентавалентного ванадия, так и целый ряд его комплексов с органическими лигандами, в составе которых валентность ванадия изменяется от 3 до 5, обладают цитостатической активностью, подавляя рост опухолевых клеток *in vitro* и *in vivo* [10-15]. Впервые ингибирование ванадилсульфатом индуцированного химическим путём канцерогенеза у млекопитающих было описано в 1984 г [16]. В дальнейшем были испытаны на противоопухолевую активность многие соединения, содержащих ванадий различной валентности. Показано, что соединения ванадия проявляют выраженный противоопухолевый эффект в отношении рака печени мыши, асцитной опухоли Эрлиха [11, 17], карциномы молочной железы мыши [16], гепатомы Морриса [18], лейомиосаркомы крысы [11, 19], а также некоторых линий опухолевых клеток человека [20]. Общим свойством для различных соединений ванадия является их способность стимулировать апоптоз в неопластических клетках.

В НИИ биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича РАМН под руководством Б.Ф. Коровкина синтезирован и прошел доклинические испытания в качестве гипогликемического агента билигандный комплекс ванадила с естественным метаболитом животных и человека – L-яблочной кислотой - бис(L-малато)оксованадия (IY) - $\text{VO}(\text{mal})_2$ [21, 22]. Мы предположили, что этот комплекс может обладать противоопухолевой активностью, также, как и неорганическое соединение четырехвалентного ванадия - ванадилсульфат (VOSO_4).

В задачу настоящей работы входило исследование цитотоксичности и противоопухолевой активности $\text{VO}(\text{mal})_2$ в сравнении с неорганическим соединением четырёхвалентного ванадия (VOSO_4), который, как известно, помимо гипогликемического действия, обладает способностью ингибировать химически индуцированный канцерогенез у млекопитающих [16, 19].

С этой целью в опытах *in vitro* исследовали влияние этих соединений на рост клеток L929 (фибробластоподобных клеток мыши), NIH/3T3 (эмбриональных фибробластоподобных клеток мыши), PC12 (клеток феохромоцитомы крысы), Нер G2 (клеток карциномы печени человека) и нормальных фибробластов кожи человека (ФБЧ). Для выяснения роли и участия органического лиганда в проявлении цитотоксического действия оксованадиевых соединений на клетках PC12 были исследованы такие соединения оксованадия, как монокомплекс ванадила с яблочной кислотой (L-малатооксованадий)(IV) - $\text{VO}(\text{mal})$ и бис-(ацетилацетонато)оксованадий(IV) - $\text{VO}(\text{acac})_2$.

МЕТОДИКА. В работе были использованы следующие реактивы: эмбриональная телячья сыворотка (ЭТС) и бычья сыворотка (БС), среды Игла, RPMI 1640, ДМЕМ, раствор Хенкса (все фирмы "Gibco", поставляемые фирмой "Invitrogen", Россия), L-глутамин, гентамицин, растворы версена и трипсина фирмы "Панэко" (Россия), МТТ-реактив, поставляемый фирмой "ДиаМ" (Россия), C^{14} -тимидин НПО "ГИПХ" (Россия, 56 мКи/ммоль).

Синтез ванадильных комплексов. Для получения моно- и билигандных ванадильных комплексов L-яблочной кислоты, а также билигандных комплексов D-яблочной кислоты и DL-яблочной кислоты использовали прямое взаимодействие различных стереоизомеров яблочной кислоты с гидроксидом ванадила в молярном соотношении 1:1 или 2:1 (см. схему).

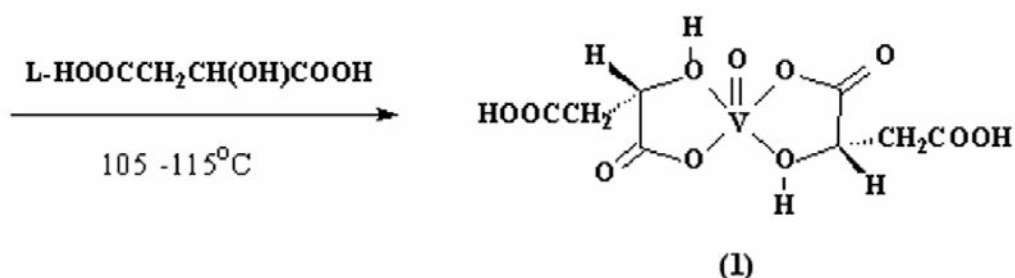
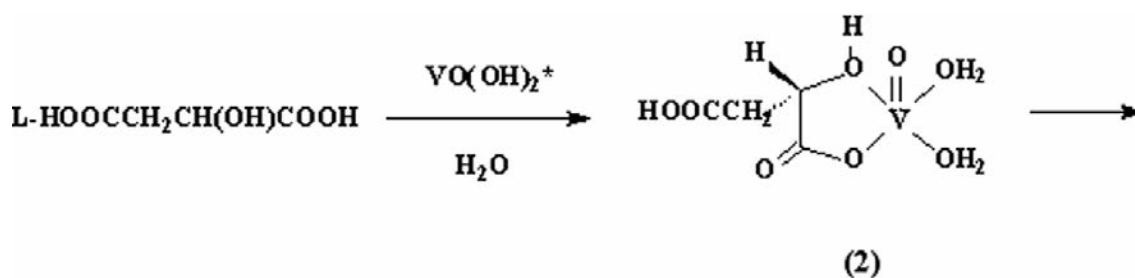


Схема синтеза ванадильных комплексов.

Реакция, проводимая в воде при комнатной температуре или слабом нагревании, заканчивалась в течение нескольких часов, о чём можно было судить по полному растворению гидроксида ванадила. Продукты реакции выделяли из реакционных растворов упариванием и подвергали очистке переосаждением органическими растворителями из воды (этанолом, ацетоном). Моно(L-малато)оксованадий (IV) в виде дигидрата был получен при эквимольном соотношении лиганда и ванадила.

Получение билигандного ванадильного комплекса яблочной кислоты проводили путём нагревания твёрдого раствора мономалата ванадила 2 в яблочной кислоте в вакууме при температуре 105-115°C [23].

Спектры поглощения ванадилмалатных комплексов 1 и 2 в видимой области, спектры ЭПР и спектры кругового дихроизма согласуются с литературными данными для системы VO^{2+} - L-яблочная кислота [24].

Культуры клеток. В работе были использованы монослойные культуры клеток. Клетки PC12 были получены из Института морфологии человека РАМН, клетки НерG2 – из Института канцерогенеза Российского онкологического научного центра им. Н.Н.Блохина РАМН, клетки NIH/3T3 были получены из коллекции клеточных культур Института цитологии РАН. Клетки L929 и нормальные фибробласты кожи человека были получены из Института ревматологии РАМН. Клетки PC12 культивировали в среде RPMI 1640, клетки НерG2, L929, NIH 3T3 и фибробласты кожи здорового человека (ФБЧ) - в среде ДМЕМ с добавлением 10% ЭТС. Среда содержали 2 mM L-глутамин и гентамицин (50 мг/мл). Клетки культивировали в CO_2 -инкубаторе при 37°C во влажной атмосфере различное время.

Исследование цитотоксичности. Цитотоксичность оксованадиевых соединений измеряли, используя МТТ-тест [25], который основан на способности митохондриальных дегидрогеназ только живых клеток образовывать

кристаллы формаза из МТТ-реактива (3-[4,5-диметилтиа-2-ил]-2,5-дифенилтетразолий бромида), что позволяет определять количество метаболически активных живых клеток. Для определения цитотоксичности ванадильных комплексов клетки пассировали в 48-луночные планшеты в объеме 300 мкл. Через 24 ч культивирования к клеткам добавляли исследуемые препараты ванадильных комплексов в 15 мкл раствора Хенкса в конечной концентрации от 0,5 до 6,0 мкг/мл и культивировали в течение 24-х, 48-ми, 72-х или 96-ти ч. В конце эксперимента к клеткам добавляли 150 мкл/лунку 0,5% раствора МТТ-реактива и инкубировали ещё 3 ч. После этого среду из лунок тщательно удаляли и кристаллы формаза растворяли в 100 мкл/лунку DMSO. Интенсивность окраски измеряли при длине волны 540 нм на мультискане EX ("LabSystems", Финляндия). Количество выживших клеток рассчитывали как % от контроля, которым служили клетки, культивируемые без добавления соединений ванадия.

Анализ синтеза ДНК. Для измерения синтеза ДНК клетки, культивируемые в 48-ми луночных планшетах, синхронизовали в ростовой среде, содержащей 0,5% ЭТС в течение 24-х ч, затем добавляли исследуемые соединения и через 20 ч после этого C^{14} -тимидин (1 мкКи /лунку). Инкубацию продолжали в течение 5 ч. После чего тщательно убирали ростовую среду и клеточный монослой 2 раза промывали холодной средой Хенкса. Для удаления из клеток свободного радиоактивного предшественника ДНК к ним добавляли 0,1 мл ледяного фиксирующего раствора этанол : CH_3COOH (9:1) и оставляли на ночь при $-10^{\circ}C$. После чего клетки промывали средой Хенкса и для определения числа клеток их окрашивали раствором кристаллвиолетом. После инкубации с красителем в течение 10 мин клеточный монослой тщательно промывали водой и элюировали краситель 10%-ным раствором CH_3COOH при встряхивании на Titramax 101 в течение 10 мин. Для измерения интенсивности окраски элюата использовали мультискан EX ("LabSystems"). После удаления элюата к клеткам добавляли 50 мкл 0,3 М КОН и помещали на ночь в термостат при $37^{\circ}C$. Затем нейтрализовали гидролизат клеток 1,0 М раствором $HClO_4$ до pH 7,0 и переносили его в пробирки Эппендорф для счёта радиоактивности, которую измеряли в сцинтилляционном счетчике Tri Carb 2800 TR в жидкости Брея. После вычета фона результаты рассчитывали в имп/мин на 10^6 клеток и в % от контроля.

Статистическую обработку результатов и построение графиков проводили с помощью компьютерной программы Excel, определяя величины среднего и стандартного отклонения. Различия считали значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ. В диапазоне концентраций 0,5-6,0 мкг/мл $VO(mal)_2$ не оказывал дозозависимого влияния на рост ФБЧ через 24 ч после добавления к клеткам. В то же время $VOSO_4$ ингибировал рост ФБЧ примерно на 40% по сравнению с контролем ($p < 0,05$), начиная с концентрации 1,5 мкг/мл. Однако через 48 и 72 ч этот эффект уже не был обнаружен (рис. 1А,Б). Таким образом, $VO(mal)_2$ не проявляет цитотоксичности по отношению к нормальным клеткам.

Исследование влияния $VO(mal)_2$ и $VOSO_4$ на рост клеток L929 показало дозозависимое ингибирование роста клеток, наиболее заметное через 72 ч культивирования. Так, через 72 ч культивирования $VO(mal)_2$ в концентрации 6 мкг/мл подавлял рост клеток L929 на 74%. Такой же эффект вызывал и $VOSO_4$ (рис. 2А,Б).

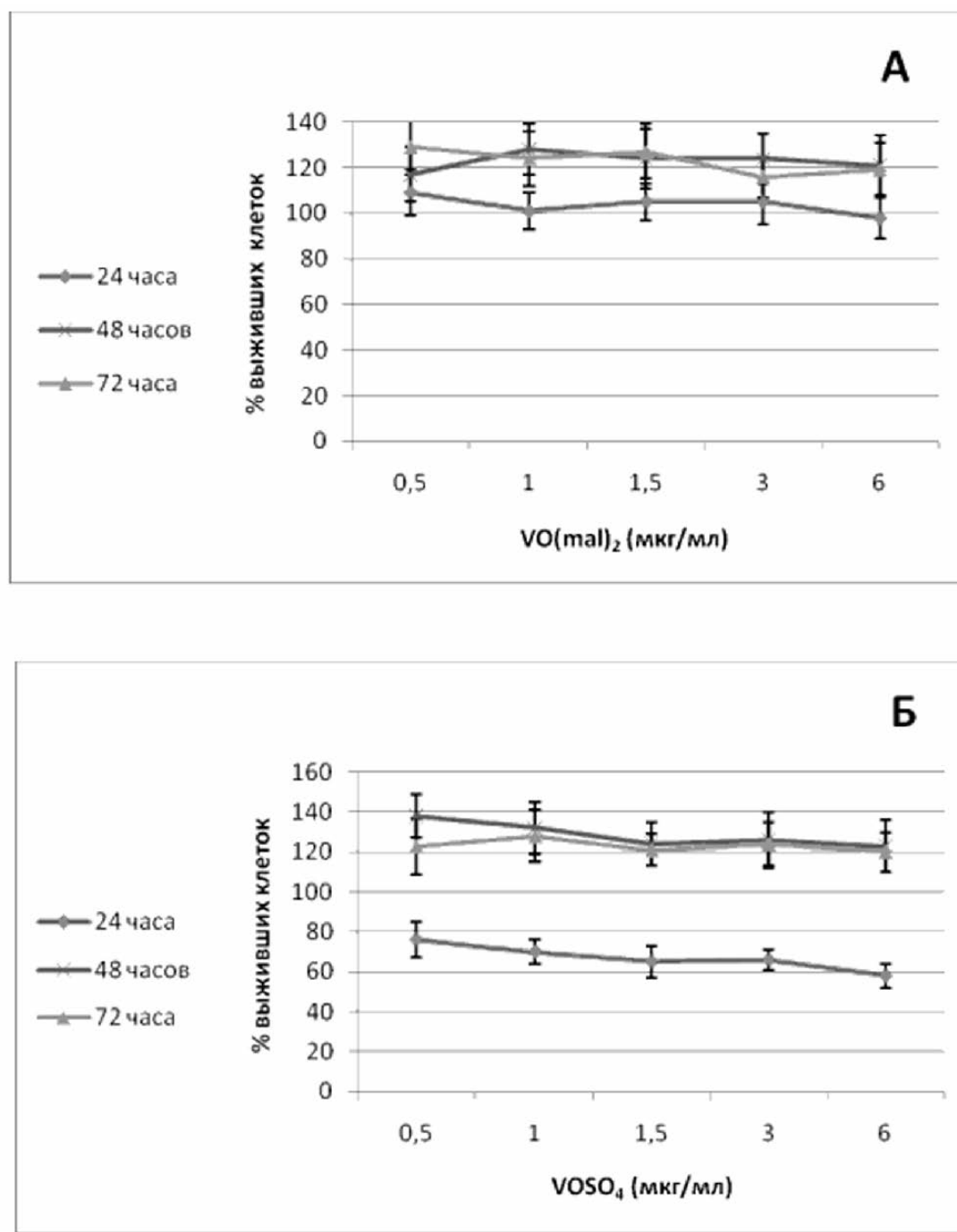


Рисунок 1.

Цитотоксичность $VO(mal)_2$ и $VOSO_4$ для нормальных фибробластов кожи человека.

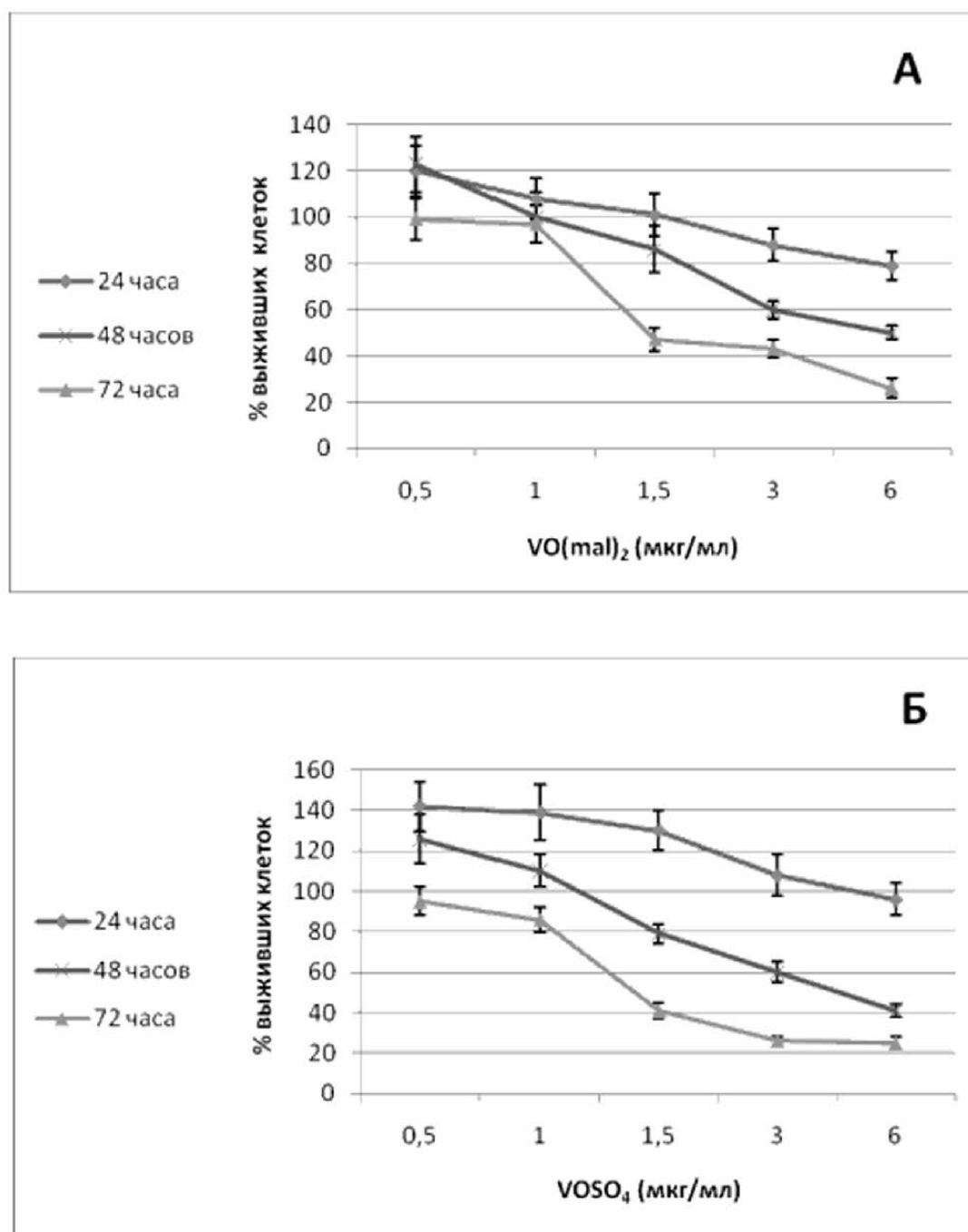


Рисунок 2.
Цитотоксичность VO(mal)₂ и VOSO₄ для клеток L929.

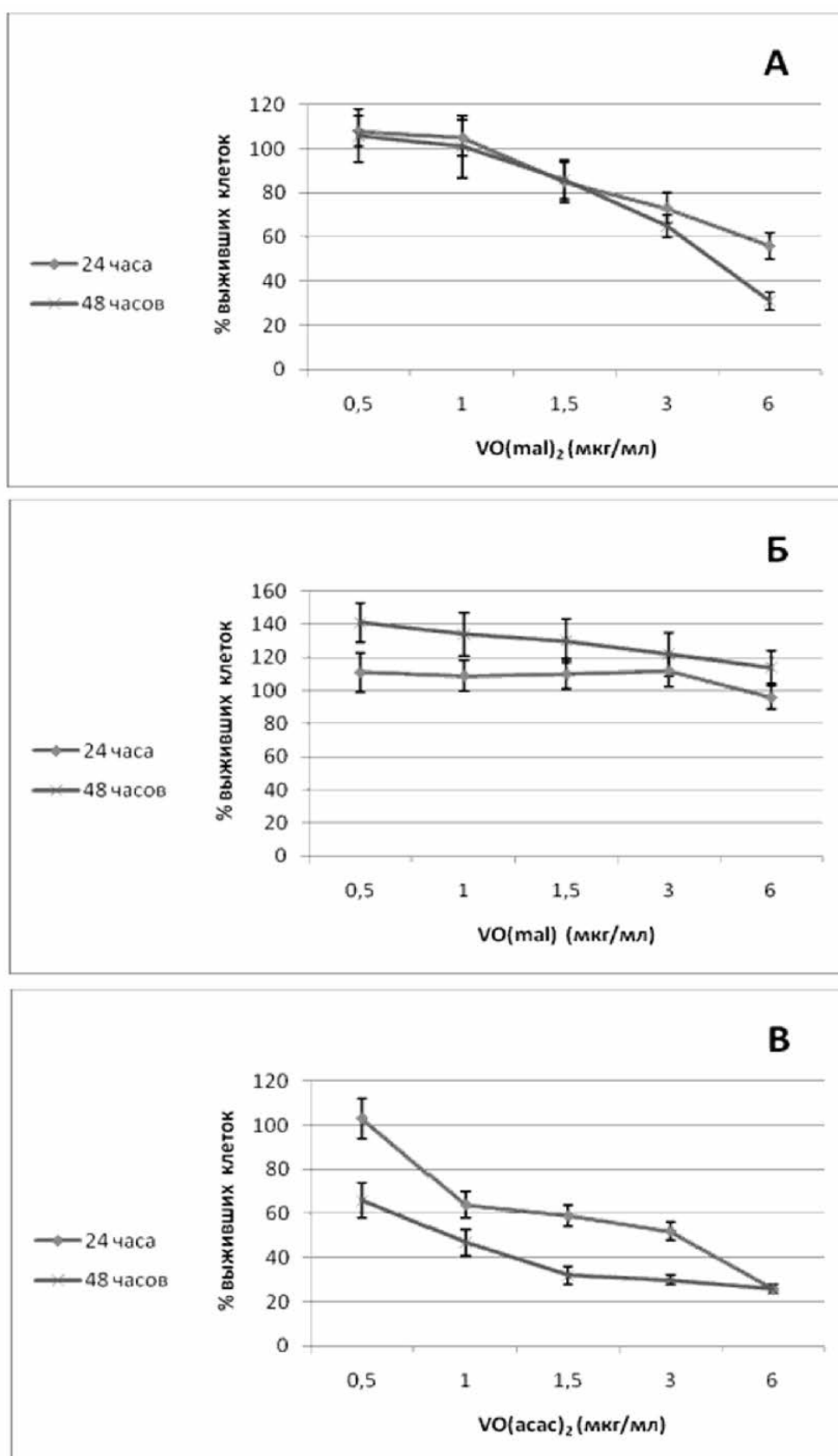


Рисунок 3.

Цитотоксичность оксованадиевых комплексов L-яблочной кислоты для клеток РС 12.

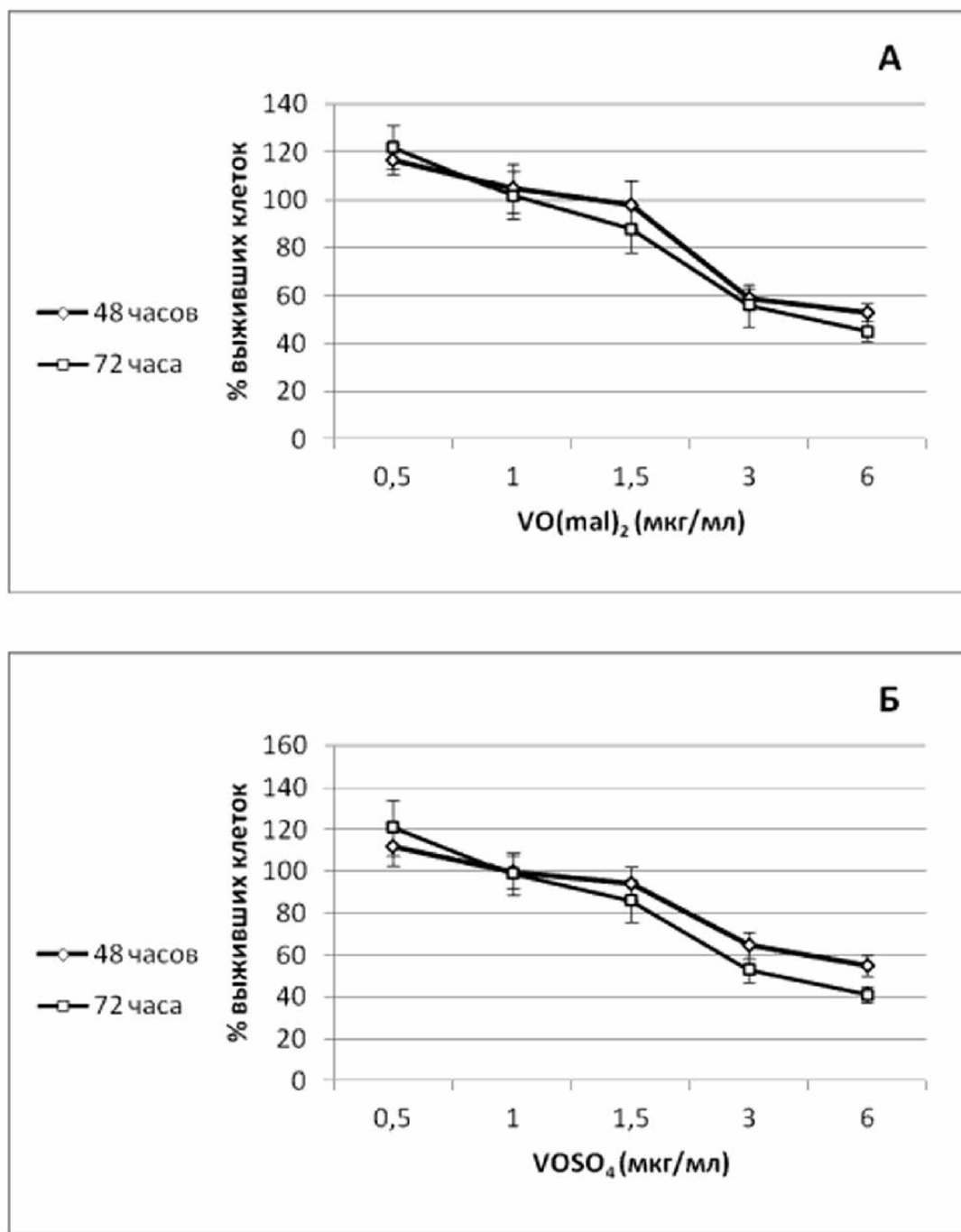


Рисунок 4.
Цитотоксичность $\text{VO}(\text{mal})_2$ и VOSO_4 для клеток NIH/3T3.

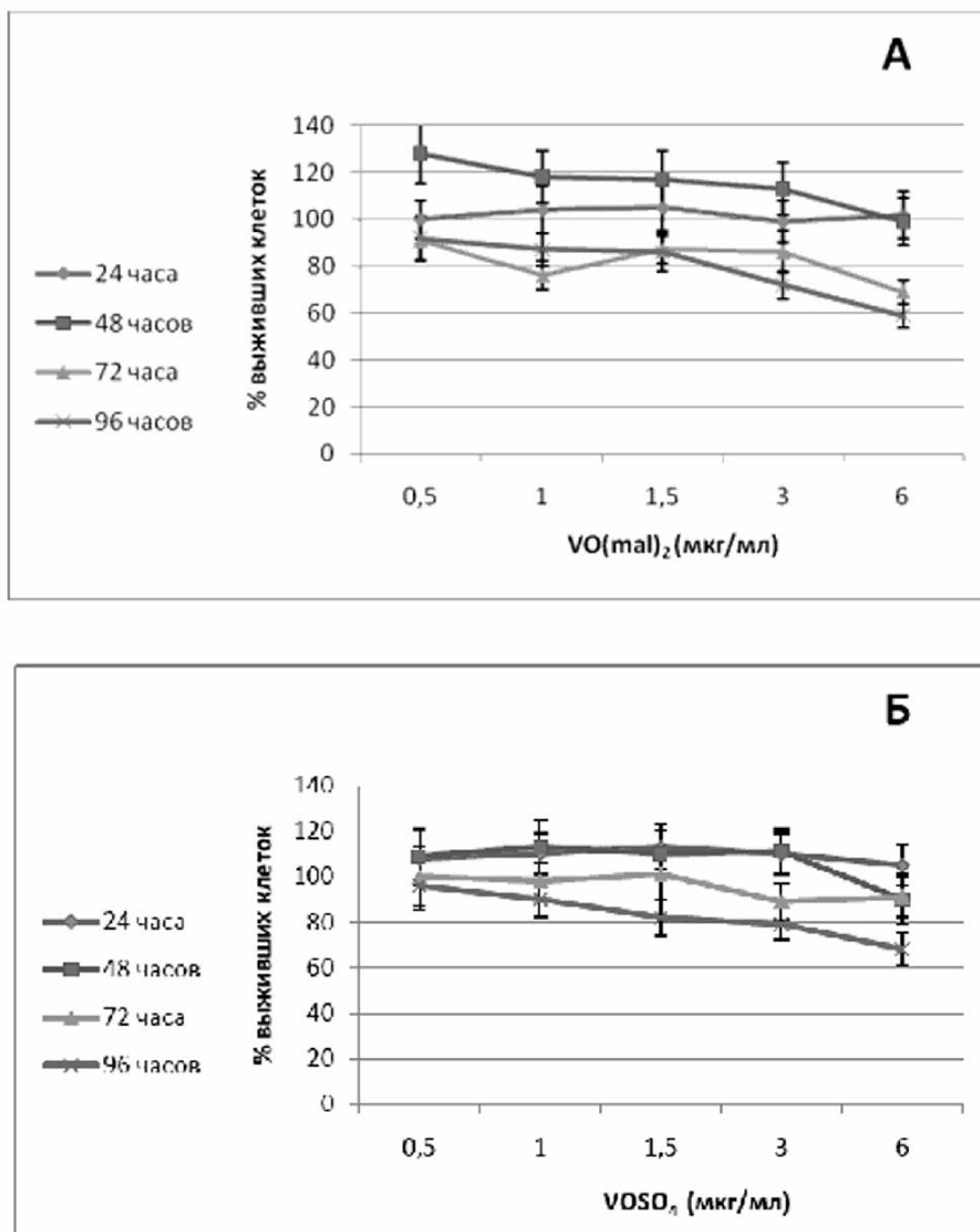


Рисунок 5.
Цитотоксичность VO(mal)_2 и VOSO_4 для клеток HepG2.

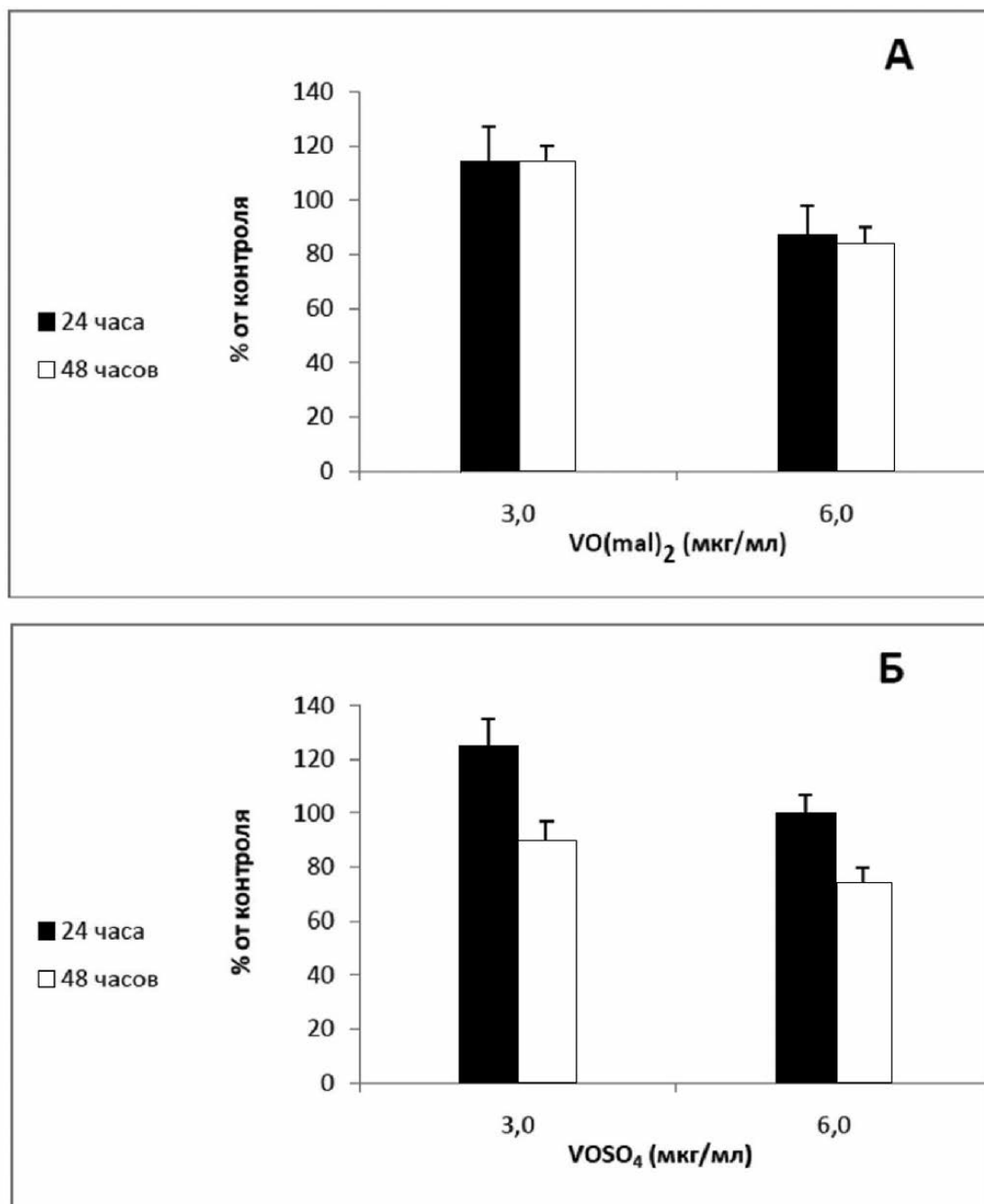


Рисунок 6.
Влияние оксованадиевых соединений на синтез ДНК в клетках РС 12.

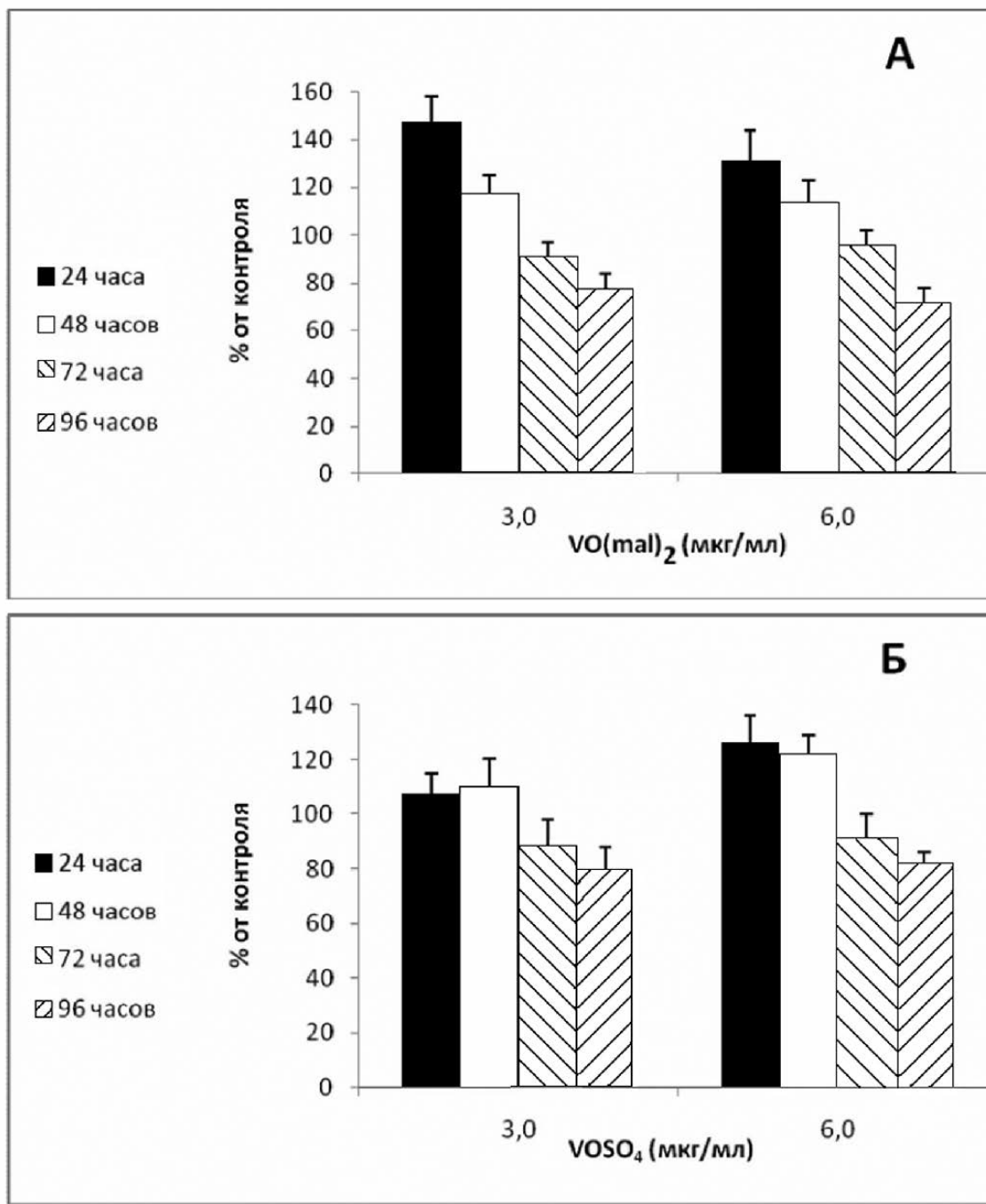


Рисунок 7.
Влияние оксованадиевых соединений на синтез ДНК в клетках HepG2.

ПРОТИВООПУХОЛЕВАЯ АКТИВНОСТЬ ОКСОВАНАДИЕВЫХ СОЕДИНЕНИЙ

Клетки PC12 также оказались чувствительными к цитотоксическому действию $\text{VO}(\text{mal})_2$, которое проявлялось уже через 24 ч инкубации (рис. 3А).

Для оценки роли органического лиганда в проявлении цитотоксического действия, исследовали влияние монокомплекса ванадила с яблочной кислотой (L-малатооксованадий) (IV) - $\text{VO}(\text{mal})$. Оказалось, что $\text{VO}(\text{mal})$ в отличие от бискомплекса, во всех исследуемых концентрациях практически не влиял на рост клеток PC12 (рис. 3Б).

Сравнение цитотоксического действия трёх ванадильных комплексов: моно- и бис- комплекса оксованадия с малатом ($\text{VO}(\text{mal})$ и $\text{VO}(\text{mal})_2$), а также бискомплекса с ацетилацетонатом ($\text{VO}(\text{acac})_2$), проведенное на клетках PC12, показало, что наибольшую цитотоксичность проявлял $\text{VO}(\text{acac})_2$. Подавление роста клеток через 24 ч после добавления этого соединения происходило при концентрации 1,0 мкг/мл и достигало почти 74% при концентрации 6 мкг/мл. Через 48 ч инкубации цитотоксическое действие $\text{VO}(\text{acac})_2$ проявлялось уже при самой низкой концентрации (0,5 мкг/мл) (рис. 3В).

Сравнение цитотоксичности $\text{VO}(\text{mal})_2$ и VOSO_4 в отношении клеток NIH/3T3 показало, что она приблизительно одинакова (рис. 4А,Б). Однако, по сравнению с клетками L929 и PC12, ингибирующий эффект выражен слабее. Заметное снижение числа жизнеспособных клеток NIH/3T3 наблюдалось только при концентрации ванадильных соединений 6 мкг/мл и длительной инкубации.

Как следует из результатов, представленных на рисунке 5, клетки HepG₂ оказались менее чувствительными к соединениям ванадия по сравнению с первыми двумя линиями опухолевых клеток PC12 и L929. Так, заметное цитотоксическое действие $\text{VO}(\text{mal})_2$ на клетки HepG₂ проявлялось через 72 и 96 ч после добавления препарата и только при концентрации 6 мкг/мл. Ванадилсульфат в той же концентрации уменьшает число живых клеток приблизительно на 30% только через 96 часов инкубации. Клетки HepG₂ оказались резистентными к действию $\text{VO}(\text{acac})_2$ в диапазоне 3-12 мкг/мл, а также комплексов ванадила, в состав которых входят стереоизомеры яблочной кислоты: ванадильные комплексы D-яблочной кислоты (хирального антипода L-яблочной кислоты) и рацемической формы DL-яблочной кислоты (результаты не приведены).

Значения IC_{50} для трансформированных клеток, приведённые в представленной таблице, свидетельствуют о том, что 72 ч эксперимента являются оптимальным сроком для проявления максимального ингибирующего эффекта. $\text{VO}(\text{mal})_2$ обладает такой же цитотоксичностью для клеток L929, PC12 и NIH/3T3, как и VOSO_4 . Как и следовало ожидать, значения IC_{50} для клеток HepG₂ оказались очень высокими, что ещё раз подтверждает их низкую чувствительность к цитотоксическому действию $\text{VO}(\text{mal})_2$ и VOSO_4 . Прочерки в таблице означают, что через 48 ч инкубации не было достигнуто 50% ингибирование роста клеток HepG₂.

Таким образом, можно сделать вывод о том, что подавление роста трансформированных клеток ванадильными комплексами зависит от их концентрации, времени культивирования клеток с этими соединениями и характера органических молекул, окружающих центральную группу комплекса (VO^{2+}). Следует сказать, что по данным ЭПР-спектроскопии в тканях животных после введения им ванадилсульфата около 90% ванадия обнаруживается в форме ванадила. При этом эндогенный ион ванадила связывается с четырьмя кислородными лигандами (вода или остатки гидроксикаминокислот в белках) [26]. Полученные нами данные

свидетельствуют о том, что на некоторых клетках VOSO_4 проявляет такую же противоопухолевую активность, как и ванадийные комплексы (рис. 2, 4, таблица), однако цитотоксичность по отношению к нормальным клеткам ограничивает возможность его применения в качестве противоопухолевого агента.

Таблица. Цитотоксическая активность $\text{VO}(\text{mal})_2$ и VOSO_4 по отношению к различным линиям трансформированных клеток.

Клетки	IC_{50} (мкМ)	
	Ванадийные соединения	
	$\text{VO}(\text{mal})_2$ 48 час 72 час	VOSO_4 48 час 72 час
PC 12	13,5 3,2	15,8 3,9
L 929	18,0 4,2	15,0 5,1
NIH 3T3	37,5 12,9	35,6 13,4
HepG2	45,0	— 83,0

Примечание: IC_{50} - концентрация ингибитора, вызывающая 50% снижение числа живых клеток.

Известно, что соединения ванадия могут осуществлять антипролиферативное и цитотоксическое действие, вызывая фрагментацию ДНК [11]. В частности показано, что $\text{V}(\text{IV})$ вызывает разрывы в молекуле ДНК опосредованно, через образование активных радикалов кислорода, преимущественно (OH^*) [27]. Следует отметить, что наблюдаемая в опухолевых клетках фрагментация ДНК может, по-видимому, означать индукцию апоптоза.

Результаты исследования влияния оксованадиевых соединений на включение C^{14} -тимидина в ДНК показывают, что через 24 и 48 часов после обработки клеток PC12 3 мкг $\text{VO}(\text{mal})_2$ (рис. 3А) число клеток снижается, при этом синтез ДНК остается на уровне контроля (рис. 6А). Только после обработки этих клеток 6 мкг $\text{VO}(\text{mal})_2$ при значительном снижении их роста через 48 ч (рис. 3А) наблюдалось небольшое подавление включения C^{14} -тимидина (рис. 6А). По-видимому, цитотоксическое действие ванадийных соединений на эти клетки нельзя объяснить только ингибированием в них синтеза ДНК.

Влияние оксованадиевых соединений на синтез ДНК было показано на клетках HepG2 через 24 и 48 часов после их обработки 3 и 6 мкг/мл $\text{VO}(\text{mal})_2$. В то время как рост клеток не изменялся (рис. 5А), включение C^{14} -тимидина в ДНК этих клеток повышалось (рис. 7). С увеличением времени культивирования клеток с ванадийсодержащими соединениями начинает проявляться их цитотоксическое действие и число выживших клеток уменьшалось (рис. 5). Уровень синтеза ДНК при этом также снижался (рис. 7).

Микроэлемент ванадий рассматривается в настоящее время как важный регулятор роста, дифференцировки и гибели клеток [28, 29]. Соединения ванадия представляют интерес и как потенциальные терапевтические агенты, поскольку многие из них проявляют инсулиноподобную и (или) противоопухолевую активность [30]. Результаты, подтверждающие способность соединений ванадия подавлять опухолевый рост, были получены на многих моделях индуцированных опухолей у животных, различных линиях

опухолевых клеток человека и ксенографтах карцином легкого, молочной железы и желудочно-кишечного тракта человека [11, 31-34]. При этом показано, что соединения ванадия действуют на всех стадиях индуцированного канцерогенеза у животных [11].

Анализ данных, имеющихся в научной литературе, показывает, что противоопухолевое действие различных соединений ванадия имеет общие механизмы. В настоящее время описаны некоторые из метаболических реакций и путей в опухолевых клетках, на которые направлено действие этих соединений. Одним из важнейших процессов в регуляции роста и гибели клеток является апоптоз. Исследования, проведенные на различных клеточных линиях позволили сделать вывод о том, что соединения ванадия проявляют противоопухолевый эффект путём ингибирования тирозинфосфатаз, участвующих в передаче внутриклеточных сигналов. Этот эффект в конечном счете приводит к остановке клеточного цикла [6, 30], усилению апоптоза и к активации генов-супрессоров опухолей [11, 35-37]. Исследование механизма противоопухолевого действия $\text{VO}(\text{acac})_2$ на клетки HepG2 показало, что этот ванадильный комплекс подавляет пролиферацию этих клеток, останавливая их рост в G1/S фазе в результате активации MAPK-зависимого пути передачи внеклеточного сигнала [6]. На модели химического канцерогенеза у крысы установлено, что ванадий способен подавлять ранние стадии развития опухоли прямой кишки. При этом возрастает число опухолевых клеток, находящихся в апоптозе, что коррелирует с усилением экспрессии опухолевого супрессора p53. Ингибирование фосфорилирования тирозина в белках, вызываемое соединениями ванадия, может также снижать инвазию и метастазирование опухолевых клеток [11]. Вполне возможно, что эти эффекты ответственны и за проявление цитотоксического противоопухолевого действия оксованадиевых соединений, описанных в данной работе.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. К настоящему времени исследован целый ряд комплексов металлов, в том числе ванадия, проявляющих противоопухолевую активность [12, 33, 38]. На основании результатов этих исследований можно сделать вывод о том, что ванадий способен останавливать рост и прогрессию опухолей, подавляя пролиферацию опухолевых клеток и инициируя в них апоптоз.

Имеющиеся в литературе данные свидетельствуют о том, что органические ванадийсодержащие соединения более эффективны и безопасны по сравнению с неорганическими [39]. Сочетание низкой токсичности и противоопухолевой активности позволяет использовать органические ванадийсодержащие соединения при разработке новых лекарственных средств для терапии онкологических заболеваний человека. В нашей работе было исследована противоопухолевая активность комплекса ванадия $\text{VO}(\text{mal})_2$ на тех линиях опухолевых клеток, на которых ранее ванадийсодержащие соединения не испытывались. Полученные нами результаты демонстрируют эффективное подавление им роста трансформированных клеток в культуре и отсутствие токсичности этого комплекса для ФБЧ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Amir S., Meyerovich J., Shechter Y. (1987) Brain Res., **419**, 392-397.
2. Brichard S.M., Bailey C.J., Henquin J.C. (1990) Diabetes, **11**, 1126-1132.
3. Shechter Y. (1990) Diabetes, **39**, 1-5.

4. *Badmaev V., Prakash S., Majeed M.* (1999) *J. Alternat. Complement. Med.*, **5**, 273-291.
5. *Orvig C., Thompson K.H., Battel M., McNeill J.H.* (1995) *Met. Ions Biol. Sys.*, **31**, 575-594.
6. *Fu Y., Wang Q., Yang X.G., Yang X.D., Wang K.* (2008) *J. Biol. Inorg. Chem.*, **13**, 1001-1009.
8. *Crans D.C., Smee J.J., Gaidamauskas E., Yang L.* (2004) *Chem. Rev.*, **104**, 849-942.
9. *Thompson K.H., Orvig C.* (2006) *Dalton Trans.*, 761-764.
10. *Bishayee A., Oinam S., Basu M., Chatterjee M.* (2000) *Breast Cancer Res. Treatment*, **63**, 133-145.
11. *Evangelou A.M.* (2002) *Crit. Rev. Oncol. Hematol.*, **42**, 249-265.
12. *Desoize B.* (2004) *Anticancer Res.*, **24**, 1529-1544.
13. *Holko P., Ligesa J., Kisilewska J., Kordowiak A.M., Klein A.* (2008) *Pol. J. Patol.*, **59**, 3-8.
14. *Etcheverry S.B., Ferrer E.G., Naso L., Rivadeneira J., Salinas V., Williams P.A.* (2008) *J. Biol. Inorg. Chem.*, **13**, 435-447.
15. *Faneca H., Figueiredo V.A., Tomaz I., Gonçalves G., Avecilla F., Pedroso de Lima M.C., Geraldés C.F., Pessoa J.C., Castro M.M.* (2009) *J. Inorg. Biochem.*, **103**, 601-608.
16. *Thompson H.J., Chasteen N.D., Meeker L.D.* (1984) *Carcinogenes*, **5**, 849-851.
17. *El-Naggar M.M., El-Waseef A.M., El-Halafawy K.M., El-Sayed I.H.* (1998) *Cancer Lett.*, **133**, 71-76.
18. *Osińska-Królicka I., Podsiadly H., Bukietyńska K., Zemanek-Zboch M., Nowak D., Suchoszek-Lukaniuk K., Malicka-Błaszczykiewicz M.* (2004) *J. Inorg. Biochem.*, **98**, 2087-2098.
19. *Liasko R., Kabanos T.A., Karkabounas S., Malamas M., Tasiopoulos A.J., Stefanou D., Collery P., Evangelou A.* (1998) *Anticancer Res.*, **18**(5A), 3609-3613.
20. *Kopf-Maler P.* (1994) *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, **47**, 1-16
21. *Беляева Н.Ф., Городецкий В.К., Точилкин А.И., Голубев М.А., Семенова Н.В., Ковельман И.Р.* (2000) *Вопр. мед. химии*, **46**, 344-360.
22. *Городецкий В.К., Точилкин А.И., Беляева Н.Ф., Ковельман И.Р., Коровкин Б.Ф.* (2011) *Биомед. химия*, **57**, 133-137.
23. *Точилкин А.И., Беляева Н.Ф., Абакумова О.Ю., Подобед О.В.* (2009) Патент РФ № 2376020.
24. *Teixeira M.H.S.F., Costa Pessoa J., Vilas Boas L.F.* (1992) *Polyhedron*, **11**, 697-708.
25. *Abakumova O.Yu., Podobed O.V., Borisova A.A., Sidoruk K.V., Alexandrova S.S., Omelyanuk N.M., Pokrovskaya M. V., Kondakova L.I., Sokolov N.N.* (2009) *Biochemistry (Moscow) Supplement B: Biomedical Chemistry*, **3**, 198-201.
26. *Sakurai H., Tsuchiya K., Nukatsuka M. et al.* (1990) *J. Endocrinol.*, **126**, 451-459.
27. *Sakurai H., Tamura H., Okatani K.* (1995) *Biochim. Biophys. Res. Commun.*, **206**, 133-137.
28. *Stern A., Yin X., Tsang S.S., Davison A., Moon J.* (1993) *Biochem. Cell. Biol.*, **71**, 103-112.
29. *Morinville A., Maysinger D., Shaver A.* (1998) *Trends Pharmacol. Sci.*, **19**, 452-460.
30. *Wang Q., Liu T.-T., Fu Y., Wang K., Yang X.-G.* (2010) *J. Biol. Inorg. Chem.*, **15**, 1087-1097.

ПРОТИВООПУХОЛЕВАЯ АКТИВНОСТЬ ОКСОВАНАДИЕВЫХ СОЕДИНЕНИЙ

31. Ray R.S., Basu M., Ghosh B., Samanta K., Chatterjee M. (2005) *Nutr. Cancer.*, **51**, 184-196.
32. Ray R.S., Rana B., Swami B., Venu V., Chatterjee M. (2006) *Chem. Biol. Interact.*, **163**, 239-247.
33. Kostova I. (2009) *Anticancer Agents Med. Chem.*, **9**, 827-842.
34. Bishayee A., Waghray A., Patel M.A., Chatterjee M. (2010) *Cancer Lett.*, **294**, 1-12.
35. Cruz O.J.D., Uckun F.M. (2002) *Expert Opin. Investig. Drugs*, **11**, 1829-1836.
36. Narla R.K., Dong Y., D'Cruz O.J., Navara C., Uckun F.M. (2000) *Clin. Cancer Res.*, **6**, 1546-1556.
37. Chakraborty T., Samanta S., Ghosh B., Thirumoorthy N., Chatterjee M. (2005) *J. Cell. Biochem.*, **94**, 744-762.
38. Chen D., Milacic V., Frezza M., Dou Q.P., (2009) *Curr. Pharm. Des.*, **15**, 777-791.
39. Yuen V.G., Orvig C., Tompson K.H., McNeill J.H. (1993) *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, **71**, 270-276.

Поступила: 17. 04. 2011.

ANTICANCER ACTIVITY OF OXOVANADIUM COMPOUNDS

O.Y. Abakumova, O.V. Podobed, N.F. Belayeva, A.I. Tochilkin

Institute of Biomedical Chemistry, ul. Pogodinskaya, 10, Moscow, 119121 Russia;
tel.: (499) 246-43-56; e-mail: natalia.belyaeva@ibmc.msk.ru

Cytotoxic and antitumor activity of the biligand vanadyl derivative of L-malic acid (bis(L-malato)oxovanadium(IV) ($\text{VO}(\text{mal})_2$) was investigated in comparison with inorganic vanadium(IV) compound - vanadyl sulfate (VOSO_4) and also with oxovanadium monocomplex with L-malic acid ($\text{VO}(\text{mal})$) and vanadyl biscomplex with acetylacetonate. In this purpose the effect of vanadyl compounds on growth of normal human skin fibroblasts and tumor cells of different lines: mouse fibrosarcoma (L929), rat pheochromocytome (PC12), human liver carcinoma (HepG2), virus transformed mouse fibroblast (NIN 3T3), virus transformed cells of human kidney (293) were investigated. The results showed that $\text{VO}(\text{mal})_2$ was not toxic for normal human skin fibroblasts but considerably inhibited growth of cancer cells in culture. Cytotoxic antitumor effect of vanadium complexes was found to be dependent on incubation time and concentration and on type of cells and nature of ligands of the central group of the complex (VO^{2+}). These studies provide evidence that $\text{VO}(\text{mal})_2$ may be considered as a potential antitumor agent due to its low toxicity in non-tumor cells and significant anticancer activity.

Key words: oxovanadium compounds, bis(L-malato)oxovanadium(IV), cell culture, cytotoxicity, anticancer activity.