

Medical Sciences

**Pharmacologic ascorbic acid concentrations selectively kill cancer cells:
Action as a pro-drug to deliver hydrogen peroxide to tissues**

Qi Chen ^{*†}, Michael Graham Espey [‡], Murali C. Krishna [‡], James B. Mitchell [‡], Christopher P. Corpe ^{*},
Garry R. Buettner [§], Emily Shacter [†], and Mark Levine ^{*¶}

^{*}Molecular and Clinical Nutrition Section, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases, National Institutes of Health, Bethesda, MD 20892; [†]Radiation Biology Branch, National Cancer Institute, National Institutes of Health, Bethesda, MD 20892; [‡]Free Radical and Radiation Biology Program, University of Iowa, Iowa City, IA 52242-1101; and [§]Laboratory of Biochemistry, Center for Drug Evaluation and Research, Food and Drug Administration, Bethesda, MD 20892

Communicated by J. E. Rall, National Institutes of Health, Bethesda, MD, August 2, 2005 (received for review June 1, 2005)

Human pharmacokinetics data indicate that i.v. ascorbic acid (ascorbate) in pharmacologic concentrations could have an unanticipated role in cancer treatment. Our goals here were to test whether ascorbate killed cancer cells selectively, and if so, to determine mechanisms, using clinically relevant conditions. Cell death in 10 cancer and 4 normal cell types was measured by using 1-h exposures. Normal cells were unaffected by 20 mM ascorbate, whereas 5 cancer lines had EC₅₀ values of <4 mM, a concentration easily achievable i.v. Human lymphoma cells were studied in detail because of their sensitivity to ascorbate (EC₅₀ of 0.5 mM) and suitability for addressing mechanisms. Extracellular but not intracellular ascorbate mediated cell death, which occurred by apoptosis and pyknosis/necrosis. Cell death was independent of metal chelators and absolutely dependent on H₂O₂ formation. Cell death from H₂O₂ added to cells was identical to that found when H₂O₂ was generated by ascorbate treatment. H₂O₂ generation was dependent on ascorbate concentration, incubation time, and the presence of 0.5-10% serum, and displayed a linear relationship with ascorbate radical formation. Although ascorbate addition to medium generated H₂O₂, ascorbate addition to blood generated no detectable H₂O₂ and only trace detectable ascorbate radical. Taken together, these data indicate that ascorbate at concentrations achieved only by i.v. administration may be a pro-drug for formation of H₂O₂, and that blood can be a delivery system of the pro-drug to tissues. These findings give plausibility to i.v. ascorbic acid in cancer treatment, and have unexpected implications for treatment of infections where H₂O₂ may be beneficial.

Author contributions: Q.C., M.G.E., M.C.K., J.B.M., C.P.C., G.R.B., E.S., and M.L. designed research; Q.C., M.G.E., J.B.M., C.P.C., E.S., and M.L. performed research; M.G.E., M.C.K., J.B.M., C.P.C., G.R.B., and E.S. contributed new reagents/analytic tools; Q.C., M.G.E., M.C.K., G.R.B., E.S., and M.L. analyzed data; and Q.C. and M.L. wrote the paper.

To whom correspondence should be addressed at: Molecular and Clinical Nutrition Section, National Institutes of Health, Building 10, Room 4D52, MSC-1372, Bethesda, MD 20892-1372.

Mark Levine, E-mail: markl@mail.nih.gov

Übersetzung:

Daten aus der Human-Pharmakokinetik legen nahe, dass Ascorbinsäure (Ascorbat) i.v. [das wird intravenös heißen] in pharmakologischen Konzentrationen eine unerwartete Rolle in der Krebs-Therapie haben kann.

Wir haben herauszufinden versucht, ob Ascorbat Krebszellen gezielt killen kann und - wenn dies so wäre - wie unter klinisch relevanten Bedingungen die Mechanismen dafür aussehen.

Bei 10 Krebszell- und 4 Normalzell-Typen haben wir den Zelltod gemessen mithilfe der 1-Stunden-Regel [1 Std. dem Ascorbat ausgesetzt sein].

Normale Zellen blieben bis zu einer Konzentration von 20mM unbeeinträchtigt, während 5 Krebszelllinien bereits bei einer Ascorbat-Konzentration $< 4\text{mM}$ eine Absterberate von 50% [EC50] erreicht hatten, eine Konzentration, die intravenös leicht erreichbar ist.

Menschliche Lymphomzellen wurde aufgrund ihrer Sensitivität gegenüber Ascorbat (EC50 von 0.5 mM) im Detail untersucht und weil sie deshalb die Mechanismen [der Wirkungsweise] besser erkennen lassen.

Der Zelltod in Form von Apoptose, Pyknose/Nekrose wurde eingeleitet durch extrazelluläres, nicht intrazelluläres Ascorbat.

Der Zelltod war unabhängig von Metall-Chelatbildnern und absolut abhängig von der Bildung von H_2O_2 (Wasserstoff-Peroxyd). Wir fanden heraus, dass der Zelltod durch direkte Gabe von H_2O_2 identisch ist mit dem Zelltod, wenn das H_2O_2 durch Ascorbat-Behandlung erzeugt wird.

H_2O_2 Erzeugung war abhängig von der Ascorbat-Konzentration, der Inkubationszeit und der Anwesenheit von 0,5 bis 10% Serum und zeigte ein lineares Verhältnis zur Ascorbat Radikalen Bildung. Die Zugabe von Ascorbat zum Nährmedium bildete H_2O_2 , wohingegen die Zugabe von Ascorbat zu Blut kein nachweisbares Wasserstoff-Peroxyd bildete und nur Spuren von Ascorbat-Radikalen.

Zusammengenommen zeigen diese Daten, dass Konzentrationen von Ascorbat, wie sie durch intravenöse Gabe erreichbar sind, wie ein Stoff funktioniert, der H_2O_2 bilden kann und mit dem Blutstrom zu dem betreffenden (Krebs-)Gewebe transportiert werden kann.

Diese Ergebnisse geben einer Krebsbehandlung mittels i.v.Ascorbinsäure eine Plausibilität und haben darüber hinaus unerwartete Implikationen für die Behandlung von Infektionen, wo das H_2O_2 ebenfalls hilfreich sein kann.