

ПРЕДКЛИНИЧЕСКОЕ ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ АНАЛОГА ГИПОТАЛАМИЧЕСКОГО ГОРМОНА ЦИФЕТРИЛИНА

О.И. Коняева, Н.Ю. Кульбачевская, Н.П. Ермакова, В.А. Чалей, И.Б. Меркулова,
Т.В. Абрамова, В.М. Бухман, З.С. Шпрах

ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; Россия, 115478 Москва, Каширское шоссе, 24

Контакты: Ольга Ивановна Коняева natkulba@mail.ru

Введение. Работа посвящена доклиническому токсикологическому исследованию на лабораторных животных цифетрилина (ЦФ) — лекарственного средства, аналога гипоталамического гормона соматостатина, отобранного по результатам изучения гормональной, цитотоксической и противоопухолевой активности.

Цель исследования — доклинические токсикологические исследования ЦФ — лекарственного средства, аналога гипоталамического гормона для лечения злокачественных гормонозависимых заболеваний.

Материалы и методы. Исследования проводились на 80 здоровых мышах гибридах (CBA × C57Bl/6J) F₁ — самцах и самках, 100 здоровых неинбредных беспородных крысах — самцах и самках, и 5 собаках породы английский бигль — самцах и самках. Доклинические токсикологические исследования проведены с использованием гранулята ЦФ, который содержал 57,3 мг ЦФ в 1 г гранулята. В качестве растворителя использовали 1 % крахмальный клейстер. В опытах по изучению острой токсичности ЦФ вводили перорально однократно: мышам в дозах 100, 200, 300 и 600 мг/кг, крысам в дозах 100, 200, 400 и 500 мг/кг. Срок наблюдения за животными составил 30 сут. В опытах по хронической токсичности препарат вводили перорально ежедневно 15-кратно: крысам — суммарные дозы 30 и 300 мг/кг; собакам — суммарные дозы 124,5 и 622,5 мг/кг. Срок наблюдения в исследованиях на крысах составил 45 сут, в исследованиях на собаках — 60 сут.

Результаты. В результате изучения острой токсичности на мышах и крысах — самках и самцах — при введении ЦФ в максимально возможной концентрации и максимально возможных объемах препарат не вызывал гибели животных, не оказывал влияния на общее состояние животных, не вызывал внешних проявлений токсичности, не изменял поведенческие реакции животных. При изучении хронической токсичности ЦФ на крысах и собаках при ежедневном пероральном применении в течение 15 дней во всех исследованных дозах также не наблюдалось гибели животных, препарат не вызывал каких-либо внешних проявлений токсичности. Лимитирующий вид токсичности не установлен, так как препарат вызывает незначительные морфофункциональные изменения различной степени обратимости практически во всех органах и системах организма крыс и собак. На основании полученных на экспериментальных животных данных о функциональных и морфологических изменениях в органах и тканях показано, что самки более чувствительны к препарату, чем самцы.

Заключение. С учетом функциональных и морфологических изменений во внутренних органах как крыс, так и собак изученные дозы ЦФ охарактеризованы как дозы, вызывающие слабые незначительные изменения — низкие токсические дозы. На основании анализа данных определена начальная (стартовая) безопасная доза для человека на I фазу клинических испытаний, которая проводится в настоящее время.

Ключевые слова: цифетрилин, доклиническая токсикология, мыши, крысы, собаки

DOI: 10.17650/1726-9784-2018-17-2-63-70

PRE-CLINICAL TOXICOLOGICAL STUDY OF ANALOGUE OF HYPOTHALAMIC HORMONE TSIFETRILIN

O.I. Konyeva, N.Yu. Kulbachevskaya, N.P. Ermakova, V.A. Chaley, I.B. Merkulova,
T.V. Abramova, V.M. Buchman, Z.S. Shprakh

N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia;
24 Kashirskoe Shosse, Moscow 115478, Russia

Introduction. The work is devoted to preclinical toxicological research on laboratory animals tsifetrilin — a drug, an analogue of the hypothalamic hormone somatostatin, selected according to the results of studying hormonal, cytotoxic and antitumor activity.

The purpose was preclinical toxicological studies of the drug's tsifetrilin — an analogue of the hypothalamic hormone for the treatment of malignant hormone — dependent diseases.

Materials and methods. Studies were carried out on 80 healthy mice hybrids (CBA × C57Bl/6J) F₁ males and females, 100 non-inbred healthy mongrel male and female rats and 5 breed dogs English Beagle males and females. Preclinical toxicological studies were carried out using tsifetrilin granulate, which contained 57.3 mg of Citrate in 1 g of granulate. As a solvent, 1 % starch paste was used. In the experiments to study acute toxicity were administered orally once tsifetrilin: mice at doses of 100, 200, 300 and 600 mg/kg, to rats in doses

of 100, 200, 400 and 500 mg/kg. The period of observation of the animals was 30 days. In experiments on chronic toxicity, the drug was administered orally 15 times a day: rats — total doses of 30 and 300 mg/kg; dogs — total doses of 124.5 and 622.5 mg/kg. The observation period in studies in rats was 45 days, in studies on dogs — 60 days.

Results. As a result of the study of acute toxicity in mice and rats in females and males when tsifetrilin was administered at the maximum possible concentration and the maximum possible volumes, the drug did not cause death of animals, did not affect the general condition of the animals, caused no external toxicity, animals. In the study of chronic toxicity of tsifetrilin in rats and dogs with daily oral administration for 15 days, no death was observed in all the doses studied, and the drug did not cause any external toxicity. The limiting type of toxicity is not established, since the drug causes minor morphofunctional changes of varying degrees of reversibility in virtually all organs and systems of the body of rats and dogs. Based on the experimental data on functional and morphological changes in organs and tissues, it was shown that females are more sensitive to the preparation than males.

Conclusion. Taking into account the functional and morphological changes in the internal organs of both rats and dogs, the studied doses of tsifetrilin are characterized as doses that cause slight minor changes—low toxic doses. Based on the analysis of the data, the initial (starting) safe dose for a person in phase I of clinical trials, which is currently being conducted, is determined.

Key words: tsifetrilin, preclinical toxicology, mice, rats, dogs

Введение

Цифетрилин — пентапептид Вос-Cys (Thp) — Phe-D-Trp-Lys (Z) — Th-OMe — аналог гипоталамического гормона соматостатина, отобранный по результатам изучения гормональной, цитотоксической и противоопухолевой активности для доклинических исследований [1].

Одна из основных функций соматостатина в организме — ингибирование секреции гормона роста. Наряду с этим соматостатин обладает широким спектром биологического действия — угнетает выделение пролактина, инсулина, глюкагона, гормонов поджелудочной железы и желудочно-кишечного тракта, стимулирующих пролиферативные процессы в клетке. Показана высокая экспрессия рецепторов соматостатина на клетках злокачественных опухолей: гастриноме, глюкагономе, карциноидных опухолях, мелкоклеточном раке легкого и др. Отличительные особенности соединений этого класса — отсутствие токсичности и высокая избирательность действия. Недостатком является то, что они быстро метаболизируются под действием протеиназ. В настоящее время в клинической практике применяется зарубежный препарат, структурный аналог соматостатина — сандостатин (октреотид). Показаниями для применения сандостатина служат опухоли островкового аппарата поджелудочной железы, рак поджелудочной железы, карциноидные опухоли, медуллярный рак щитовидной железы, аденомы гипофиза [2, 3].

В ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России на протяжении нескольких лет проводились исследования по поиску потенциальных противоопухолевых соединений в ряду аналогов гипоталамических гормонов, в частности аналогов соматостатина. Синтезировано около 40 аналогов соматостатина. По результатам изучения гормональной, цитотоксической и противоопухолевой активности отобрано 1 соединение — пентапептид, получивший

название «цифетрилин» (ЦФ), для доклинического изучения [4].

При изучении противоопухолевой активности установлено, что ЦФ обладает высокой активностью на перевиваемых опухолях (90 % максимальный эффект), ингибирует рост аденокарциномы простаты крыс R-3327-Н (максимальный эффект = 46–65 %), ДМБА-индуцированную опухоль молочной железы крыс (максимальный эффект = 79–90 %), рост перевиваемого рака молочной железы человека РМ-1 у бестимусных мышей на 47–63 % [5].

Полученные результаты противоопухолевой активности позволили рекомендовать ЦФ для доклинического токсикологического изучения, которое было проведено в лаборатории фармакологии и токсикологии ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, и частично представлены в виде тезисов на конференциях [6–8].

Цель настоящего исследования — доклинические токсикологические исследования ЦФ лекарственного средства — аналога гипоталамического гормона для лечения злокачественных гормонозависимых заболеваний.

Задачи исследования:

- 1) изучение острой токсичности ЦФ при его однократном пероральном введении мышам и крысам-самцам и самкам;
- 2) изучение хронической токсичности ЦФ на крысах и собаках.

Материалы и методы

Исследования проводили в соответствии с российскими и международными требованиями [9–14].

Работа проведена на 80 здоровых мышах гибридах (СВА × C57Bl/6J) F₁ — самцах и самках, 100 здоровых неинбредных беспородных крысах, самцах и самках — и 5 собаках породы английский бигль — самцах и самках. Животные получены из разведения «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава

России. Все животные были здоровы. Доклиническое токсикологическое исследование проведено на мышах, крысах и собаках с использованием гранулята ЦФ, который содержал 57,3 мг ЦФ в 1 г гранулята. В качестве растворителя использовали 1 % крахмальный клейстер.

В опытах по острой токсичности препарат вводили однократно перорально мышам в дозах 100, 200, 300 и 600 мг/кг, крысам в дозах 100, 200, 400 и 500 мг/кг. Дозу препарата 600 мг/кг при введении мышам и 400 и 500 мг/кг при введении крысам разделяли на 2 введения с интервалом 2–3 ч (максимально возможный объем и максимальная 20 % концентрация). Срок наблюдения за животными составил 30 сут.

В опытах по хронической токсичности препарат вводили перорально ежедневно 15-кратно. При выборе доз учитывали оптимальные режим применения препарата и рекомендованную эффективную терапевтическую разовую дозу (ЭТД) для мышей — 10 мг/кг 5-кратно (суммарная доза 50 мг/кг). В исследованиях по изучению хронической токсичности на крысах использовали суммарные дозы 300 и 30 мг/кг. Суммарная доза 300 мг/кг рассчитана исходя из максимально возможной введенной дозы мышам 600 мг/кг, полученной в опытах по острой токсичности, пересчитанная для крыс с использованием видового коэффициента и с учетом максимально возможного разового объема введения. Суммарная доза 30 мг/кг — 1/10 от максимальной дозы и, при пересчете на крыс, близкая к суммарной ЭТД. В качестве контроля использовали 2 группы животных: в 1-й группе применяли раствор «пустого» гранулята, вводившийся в режиме и объеме, соответствующих объему максимальной дозы препарата; 2-я группа — интактные животные. В каждой группе животных использовали по 10 крыс, включая интактный контроль, 5 крыс из каждой группы выводили из эксперимента на 1-е сутки, оставшихся 5 — на 45-е сутки после окончания курса введения.

В исследованиях по изучению хронической токсичности на собаках препарат вводили в виде гранулята с кормом ежедневно 15-кратно в одно и то же время (утром). Изучены 2 суммарные дозы — 124,5 мг/кг (при пересчете на собак — доза, близкая к суммарной ЭТД для мышей) и в 5 раз выше — суммарная доза 622,5 мг/кг. Собаки были разделены на 2 группы: 1-я, получавшая максимальную дозу препарата, состояла из 3 собак (2 самок и 1 самца); 2-я группа, получавшая меньшую дозу препарата, состояла из 2 собак (1 самки и 1 самца). Срок наблюдения за животными составил 60 сут.

Результаты

В результате изучения острой токсичности ЦФ при введении в максимально возможной 20 % концентрации и максимально возможных объемах каких-либо проявлений токсичности отмечено не было. Установлено, что превышение предполагаемой суммарной терапевтической дозы препарата для мышей (50 мг/кг — 10 мг/кг ежедневно 5-кратно) в 12 раз и у крыс в 10 раз не вызвало гибели животных. ЦФ во всех изученных дозах не влиял на общее состояние животных, не вызывал внешних проявлений токсичности, не изменял поведенческие реакции животных. У мышей-самцов отмечено снижение массы тела во всех группах на 3–14-е сутки наблюдения с восстановлением к 21-м суткам. У мышей-самок отмечено снижение массы тела на 21-е сутки наблюдения в группе, получавшей препарат в дозе 600 мг/кг, с восстановлением к 30-м суткам (рис. 1).

У крыс-самцов отмечено колебание массы тела во всех группах на уровне колебания массы тела контрольных животных. У крыс-самок отмечено увеличение массы тела на 14–21-е сутки наблюдения в группе, получавшей препарат в дозе 500 мг/кг, с возвратом к уровню массы тела контрольных животных к 30-м суткам (рис. 2).

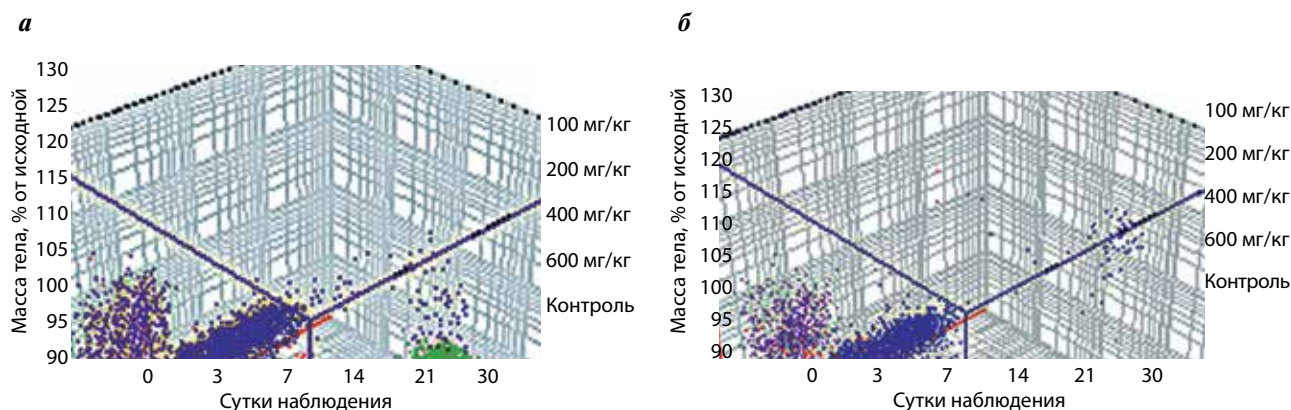


Рис. 1. Изменения массы тела мышей-гибридов (СВА × С57Вl/6J)F1 при изучении острой токсичности гранулята цифетрилина: а — у самцов; б — у самок

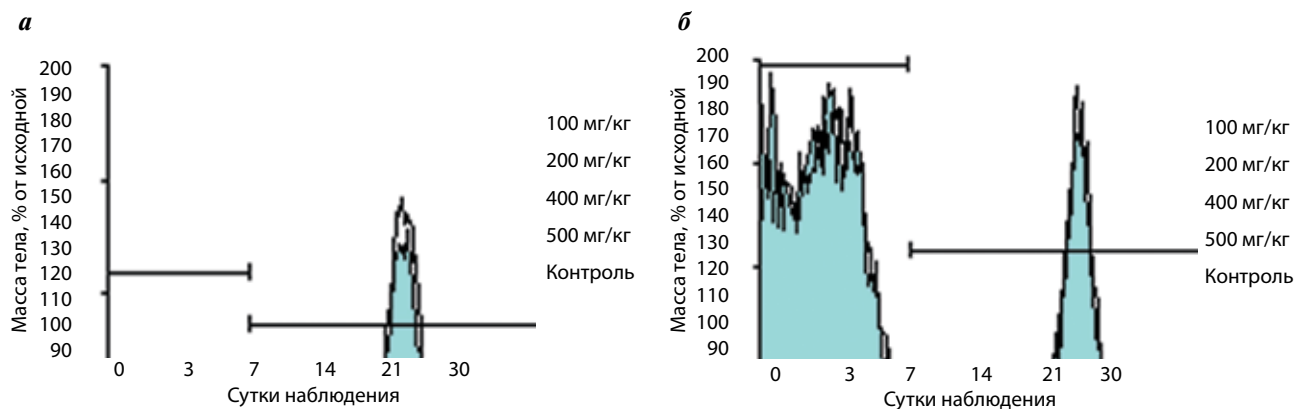


Рис. 2. Изменения массы тела неинбредных беспородных крыс при изучении острой токсичности гранулята цифетрилина: а — у самцов; б — у самок

При изучении хронической токсичности ЦФ на крысах и собаках при ежедневном пероральном применении в течение 15 дней во всех исследованных дозах не наблюдалось гибели животных, препарат не влиял на общее состояние животных, не вызывал внешних проявлений токсичности, не изменял поведенческие реакции животных. При ежедневном пероральном применении ЦФ на крысах и собаках в изученных дозах изменений показателей периферической крови отмечено не было.

Показано, что при ежедневном пероральном применении ЦФ у крыс в течение 15 дней во всех исследованных дозах функциональных изменений на электрокардиограмме не обнаружено, морфологически при применении препарата в суммарной дозе 300 мг/кг в миокарде большинства крыс обнаруживаются очаги гиперэозинофилии кардиомиоцитов, косвенно свидетельствующие об очагах ишемии, обратимость которых к 45-м суткам наблюдения была неполной. У собак ЦФ при ежедневном пероральном применении в течение 15 дней вызывал недозозависимые не обратимые к концу наблюдения (60 суток) как количественные, так и качественные изменения электрокардиограммы, более выраженные у самок — уменьшение числа сердечных сокращений, нарушение сердечного ритма, связанного с электрической проводимостью, и увеличение интервалов QT, инверсию зубцов Р и Т, свидетельствующих о трофических нарушениях сердечной мышцы. Морфологически ЦФ, введенный в суммарной дозе 622,5 мг/кг, вызывал очаговые дистрофические и деструктивные изменения в сердце, наблюдаемые на 1-е сутки после окончания введения препарата только у собаки-самки (рис. 3, 4).

Цифетрилин, независимо от примененной дозы, у собак вызывал небольшие колебания в сыворотке крови биомаркеров печени (белок, альбумин) на протяжении всего срока наблюдения и увеличение содержания мочевины на 60-е сутки наблюдения у 2 собак, получавших препарат в суммарной дозе 124,5 мг/кг (таблица).

Установлено, что при ежедневном пероральном применении ЦФ на крысах в суммарных дозах 300 и 30 мг/кг влияния препарата на функциональное состояние печени, почек, поджелудочной железы не отмечено. Морфологически: у собак имели место несильно выраженные очаговые дистрофические изменения в печени; в почках отмечены очаговые дистрофические, деструктивные и воспалительные изменения, более выраженные у самок и не обратимые к концу наблюдения (60-е сутки) (рис. 5, 6); у крыс, получавших препарат в суммарной дозе 300 мг/кг, наблюдаются обратимые к 45-м суткам опыта несильно выраженные деструктивные изменения в почках и в печени.

Ежедневное пероральное применение ЦФ в суммарной дозе 622,5 мг/кг на собаках морфологически вызывало деструктивно-дегенеративные изменения в яичниках собак-самок как на 1-е, так и на 60-е сутки (рис. 7, 8); а также торможение сперматогенеза

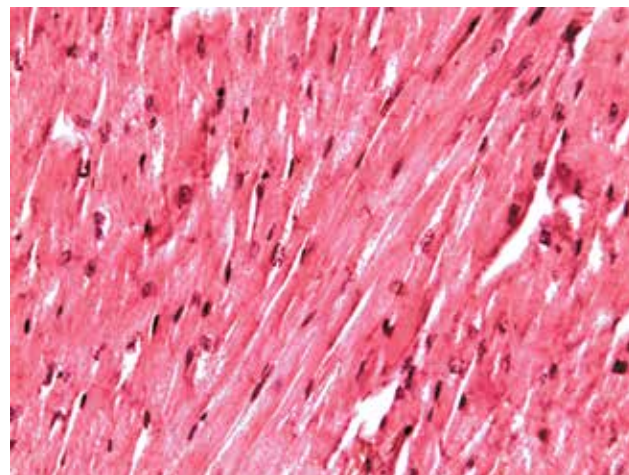


Рис. 3. Сердце собаки, цифетрилин в Σ дозе 622,5 мг/кг, 1-е сутки. Миокард. Стенка левого желудочка с рыхлым расположением кардиомиоцитов. Гиперэозинофильные волокна. Некоторые кардиомиоциты с признаками зернистой дистрофии. Окраска гематоксилин-эозин, $\times 400$

Биохимические показатели сыворотки крови собак после ежедневного перорального введения цифетрилина в течение 15 дней

Номер собаки/ Σ доза (мг/кг)	Пол	Показатель/ норма	Сутки опыта									
			фон 1	фон 2	1	3	7	14	21	30	45	60
1 / 622,5	♂	Альбумин (г/л)/ 25–37	31,2	36,6	25,3	36,1	28,6	32,9	35,2	37,2	37,8	35,9
2 / 124,5	♀		37,3	29,6	29,3	36,7	30,9	35,4	41,3	40,6	40,1	37,3
3 / 124,5	♂		37,6	38,3	34,5	34,1	37,4	23,9	30,9	39,8	40,6	38,9
4* / 622,5	♀		34,6	24,4	38,9	—	—	—	—	—	—	—
5 / 622,5	♀		39,3	41,0	28,5	31,6	32,9	30,5	38,7	40,8	41,0	38,2
1 / 622,5	♂	Билирубин (мкмоль/л)/ 0–7,5	1,0	1,4	0,8	1,1	1,1	1,9	1,4	2,0	1,9	1,8
2 / 124,5	♀		2	1,3	1,1	2,1	1,3	1,5	1,8	3,3	2,6	1,6
3 / 124,5	♂		1,5	1,3	1,5	1,8	1,9	1,5	1,4	3,0	2,2	2,1
4* / 622,5	♀		1,5	0,8	1,6	—	—	—	—	—	—	—
5 / 622,5	♀		1,4	1,9	1,2	1,5	1,3	1,3	1,9	1,9	1,3	1,4
1 / 622,5	♂	Мочевина (ммоль/л)/ 4,3–8,5	5,0	2,5	5,5	5,9	4,5	5,0	4,2	6,8	5,5	6,7
2 / 124,5	♀		7,3	5,7	4,4	6,2	5,3	5,4	7,5	5,7	6,7	9,3
3 / 124,5	♂		8,6	7,9	7,0	5,8	5,4	5,8	4,5	7,9	6,2	9,5
4* / 622,5	♀		6,3	4,6	4,9	—	—	—	—	—	—	—
5 / 622,5	♀		5,2	7,0	4,2	4,8	5,2	4,0	4,4	7,0	6,2	6,6
1 / 622,5	♂	Белок (г/л)/ 54–77	55,1	62,9	41,3	59,8	46,9	53,9	56,1	60,7	60,1	57,3
2 / 124,5	♀		60,7	47,1	45,7	56,9	46,7	53,8	64,6	62,9	62,5	56,8
3 / 124,5	♂		61,7	61,9	55,5	54	61,3	38,6	48,2	63,8	66,3	63,0
4* / 622,5	♀		57,0	37,9	60,6	—	—	—	—	—	—	—
5 / 622,5	♀		59,7	64,3	44,6	49,2	51,4	47,9	61,5	63,8	64,2	59,9

*Собака усыплена на 1-е сутки после окончания введения цифетрилина.

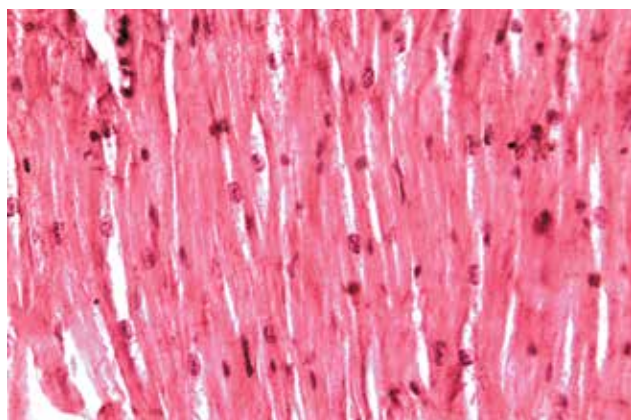


Рис. 4. Сердце собаки, цифетрилин в Σ дозе 622,5 мг/кг, 1-е сутки. Миокард. Стенка левого желудочка с рыхлым расположением кардиомиоцитов. Гиперэозинофильные волокна. Некоторые кардиомиоциты с признаками зернистой дистрофии. Окраска гематоксилин-эозин, × 400

в семенниках у собаки-самца на 60-е сутки (рис. 9). Установлены морфологические изменения и морфологические особенности в ряде эндокринных органов собак (надпочечники, гипофиз, щитовидная железа), отражающие изменения функционального статуса и наиболее выраженные у собак-самок.

При ежедневном пероральном применении как ЦФ на крысах в суммарных дозах 300 и 30 мг/кг, так и «пустого» гранулята в течение 15 дней по сравнению с интактным контролем отмечены более выраженные признаки лимфоидной и ретикуло-плазмочитарной гиперплазии в лимфопролиферативных органах — селезенке и брыжеечных лимфатических узлах. У крыс, получавших препарат во всех исследованных дозах, морфологически отмечено обратимое увеличение коры надпочечников и вакуольная

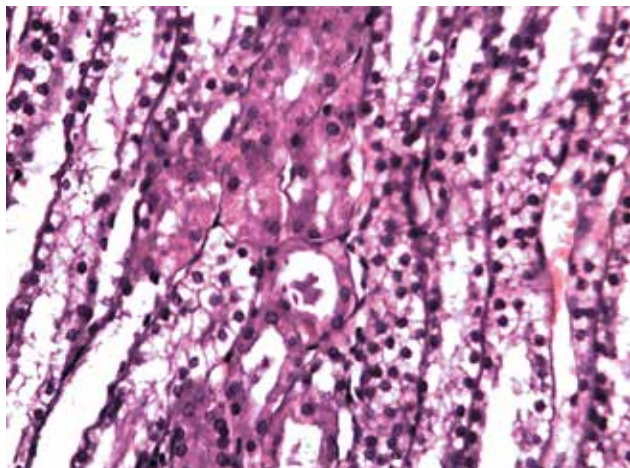


Рис. 5. Почка собаки, цифетрилин в Σ дозе 622,5 мг/кг, 60-е сутки. В бертиньевых колонках в извитых (дистальных) и прямых канальцах (узкая часть петли Генле) — признаки дистрофии эпителиальных клеток, а в их просвете — скопления клеточного детрита. Окраска гематоксин-эозин, $\times 400$

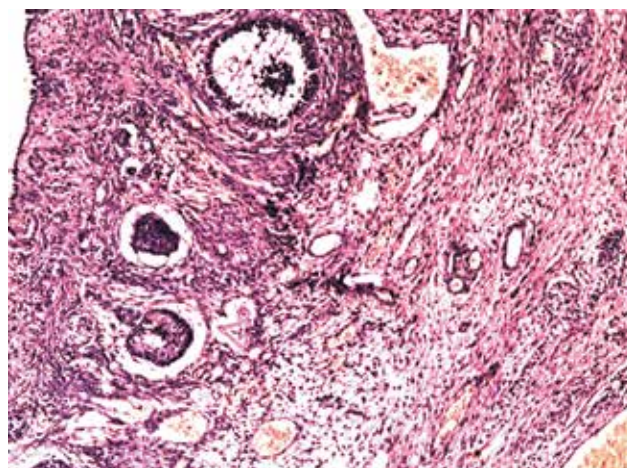


Рис. 8. Яичник собаки, цифетрилин в Σ дозе 622,5 мг/кг, 60-е сутки. В корковом веществе видны отдельные атретические фолликулы. Окраска гематоксин-эозин, $\times 100$

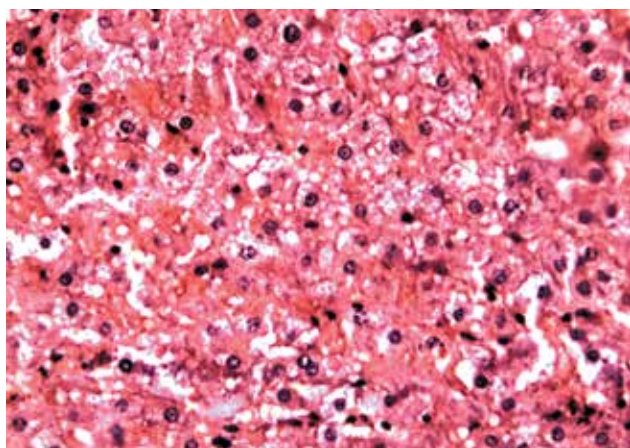


Рис. 6. Печень собаки, цифетрилин в Σ дозе 622,5 мг/кг, 60-е сутки. Участок с вакуольной (жировой) дистрофией гепатоцитов. Окраска гематоксин-эозин, $\times 400$

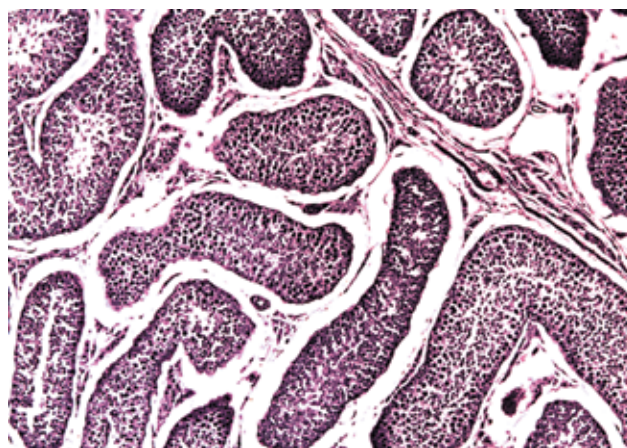


Рис. 9. Семенники собаки, цифетрилин в Σ дозе 622,5 мг/кг, 60-е сутки. Общий вид. В срезах семенных канальцев — сперматогенный эпителий на разных стадиях сперматогенеза. Окраска гематоксин-эозин, $\times 100$

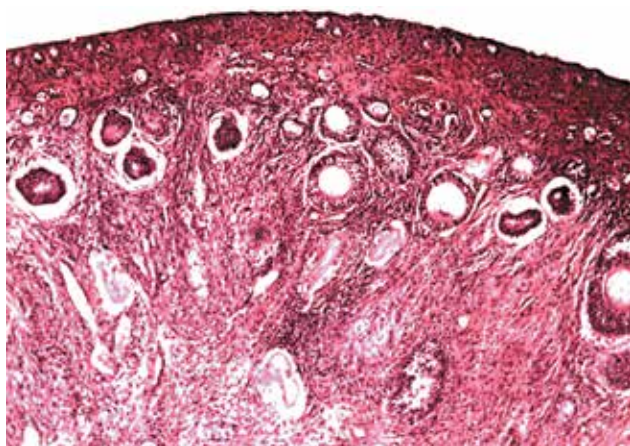


Рис. 7. Яичник собаки, цифетрилин в Σ дозе 622,5 мг/кг, 1-е сутки. Корковое вещество. Деструкция примордиальных и первичных фолликулов. Окраска гематоксин-эозин, $\times 100$

дистрофия секреторных (ацинарных) клеток концевых отделов поджелудочной железы.

Заключение

Таким образом, на основании данных, полученных в опытах по острой токсичности на мышах и крысах — самках и самцах и хронической токсичности при 15-кратном пероральном ежедневном введении крысам и собакам, ЦФ во всех изученных дозах не вызывал гибели животных и внешних проявлений интоксикации, не изменял поведенческие реакции животных в течение всего срока наблюдения. Животные охотно ели корм, сохраняли двигательную активность. В исследованиях по хронической токсичности на крысах и собаках четкой

дозовой зависимости не выявлено. С учетом функциональных и морфологических изменений во внутренних органах как крыс, так и собак изученные дозы ЦФ охарактеризованы как дозы, вызывающие слабые незначительные изменения, — низкие токсические дозы. Лимитирующий вид токсичности не установлен, так как препарат вызывает незначительные морфофункциональные изменения различной степени обратимости практически во всех органах и системах организма крыс и собак. На основании полученных на экспериментальных животных данных о функциональных и морфологических измене-

ниях в органах и тканях показано, что самки более чувствительны к препарату, чем самцы.

На основании анализа данных, полученных в опытах по острой и хронической токсичности ЦФ при 15-кратном пероральном ежедневном введении крысам и собакам, определена начальная (стартовая) безопасная доза для человека на I фазу клинических испытаний с последующей эскалацией доз по модифицированному методу Fibonacci [15]. В настоящее время лекарственная форма ЦФ (таблетки по 6 мг) находится на I фазе клинических испытаний.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Смирнова Л.И., Устинкина С.В., Смирнова А.П. и др. Средство, обладающее противоопухолевым действием. Патент РФ № 2254139. 2003. [Smirnova L.I., Ustinkina S.V., Smirnova A.P. et al. An agent with an antitumor effect. Patent of the Russian Federation No. 2254139. 2003 (In Russ.).]
2. Spada F., Valente M. Review of recent advances in medical treatment for neuroendocrine neoplasms: somatostatin analogs and chemotherapy. *Journal of Cancer Metastasis and Treatment* 2016;2:313–20. DOI: <http://dx.doi.org/10.20517/2394-4722.2016.38>.
3. Моргунов Л.Ю. Октреотид в лечении нейроэндокринных опухолей: достигнут ли успех? Исследования и практика в медицине 2015;2(2):63–72. [Morgunov L.Yu. Octreotide in the treatment of neuroendocrine tumors: has success been achieved? *Issledovaniya i praktika v medicine* = Research and practice in medicine 2015;2(2):63–72 (In Russ.).] DOI: <http://dx.doi.org/10.17709/2409-2231-2015-2-2-63-72>.
4. Шпрах З.С., Ярцева И.В., Игнатьева Е.В. и др. Синтез и химико-фармацевтические характеристики аналога соматостатина, обладающего противоопухолевой активностью. Химико-фармацевтический журнал 2014;48(3):19–22. [Shprakh Z.S., Yartseva I.V., Ignatieva E.V. et al. Synthesis and chemical-pharmaceutical characteristics of the somatostatin analog having antitumor activity. *Khimiko-pharmaceuticheskii zhurnal* = Chemical-Pharmaceutical Journal 2014;48(3):19–22 (In Russ.).]
5. Кубасова И.Ю., Борисова Л.М., Киселева М.П. и др. Поиск потенциальных противоопухолевых соединений среди аналогов гипоталамического гормона соматостатина. Российский биотерапевтический журнал 2006;5(3):128–133. [Kubasova I.Yu., Borisova L.M., Kiseleva M.P. et al. Search potential antitumor compounds among analogues of the hypothalamic hormone somatostatin. *Rossiyskiy Bioterapevticheskiy zhurnal* = Russian Journal of Biotherapy 2006;5(3):128–33 (In Russ.).]
6. Коняева О.И., Кульбачевская Н.Ю., Ермакова Н.П. и др. Изучение «острой» токсичности цифтрелина на мышах и крысах. Материалы XI Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Отечественные противоопухолевые препараты (экспериментальная онкология)»: тез. докл. М., 2012. С. 28. [Konyaeva O.I., Kulbachevskaya N.Yu., Ermakova N.P. et al. Study of the “acute” toxicity of digitetrelin in mice and rats. Materials of the XI All-Russian scientific and practical conference with international participation “Domestic antitumor drugs (experimental oncology)”: report abstract. Moscow, 2012. P. 28 (In Russ.).]
7. Коняева О.И., Кульбачевская Н.Ю., Ермакова Н.П. и др. Изучение «субхронической» токсичности Цифтрелина на крысах. Материалы Белорусско-российской научно-практической конференции с международным участием «Отечественные противоопухолевые препараты»: тез. докл. М., 2013. С. 44. [Konyaeva O.I., Kulbachevskaya N.Yu., Ermakova N.P. et al. A study of the “subchronic” toxicity of Tsiphetrelin in rats. Materials of the Belarusian-Russian scientific and practical conference with international participation “Domestic antitumor drugs”: report abstract. Moscow, 2013. P. 44 (In Russ.).]
8. Коняева О.И., Кульбачевская Н.Ю., Ермакова Н.П. и др. Предклиническое токсикологическое изучение Цифтрелина. Материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Противоопухолевая терапия: от эксперимента к клинике»: тез. докл. М., 2014. С. 98. [Konyaeva O.I., Kulbachevskaya N.Yu., Ermakova N.P. et al. Preclinical toxicological study of Tsiphetrelin. Materials of the All-Russian Scientific and Practical Conference with International Participation “Antitumor therapy: from experiment to clinic”: report abstract. M., 2014. P. 98 (In Russ.).]
9. Большаков О.П., Незнанов Н.Г., Бабаханян Р.В. Дидактические и этические аспекты проведения исследований на биомоделях и на лабораторных животных. Качественная клиническая практика 2002;1–53. [Bolshakov O.P., Neznanov N.G., Babakhanyan R.V. Didactic and Ethical Aspects of Research on Biomodels and Laboratory Animals. *Kachestvennaya klinicheskaya praktika* = Qualitative clinical practice 2002:1–53 (In Russ.).]
10. Методические указания по изучению общетоксического действия противоопухолевых фармакологических средств. В кн.: Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Под общ. ред. чл.-корр. РАМН проф. Р.У. Хабриева. 2-е изд., перераб. и доп. М., 2005. С. 170–204. [Methodological instructions for studying the general toxic effects of antitumor drugs. In: Guide to experimental (pre-clinical) study of new pharmacological substances / under the general ed. Corresponding Member of the Russian Academy of Medical Sciences prof. R.U. Khabriev.

- 2nd revised and additional edition. Moscow, 2005. P. 170–204 (In Russ.)).
11. Михайлова Л. М., Сыркин А. Б., Гарин А. М. и др. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / Под общ. ред. д. м. н. А. Н. Миронова. М., 2012. 944 с. [Mikhailova L. M., Syrkin A. B., Garin A. M. et al. A guide to preclinical drug research / under the general ed. Dr. med. A. N. Mironov. M., 2012. 944 p. (In Russ.)].
12. Национальный стандарт Российской Федерации (ГОСТ 53434–2009) «Принципы надлежащей лабораторной практики». М., «Стандартинформ», 2010. [National Standard of the Russian Federation (GOST 53434–2009) “Principles of Good Laboratory Practice”. Moscow: Standardinform, 2010. (In Russ.)].
13. Приказ Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации (Минздравсоцразвития России) от 01 апреля 2016 г. № 199н «Об утверждении Правил лабораторной практики». [Order of the Ministry of Health and Social Development of the Russian Federation (Ministry of Health and Social Development of Russia) from 01 April 2016 No. 199n “On approval of the Rules of Laboratory Practice” (In Russ.)].
14. Гуськова Т. А. Токсикология лекарственных средств. 2-е изд., доп. М., 2008. С. 196. [Gus’kova T. A. Toxicology of medicines (second edition supplemented). M., 2008. P. 196. (In Russ.)].
15. Collins J. M., Zaharko D. S., Didrich R. L., Chabner B. A. Potential roles for preclinical pharmacology in phase I clinical trials. *Cancer Treat. Rep.* 1986;70(1):73–80.