

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ *IN VIVO* ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ СВОЙСТВ В РЯДУ АМИНОКИСЛОТНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ГЛИКОЗИДОВ ИНДОЛОКАРБАЗОЛА (РАЗВЕРНУТОЕ СООБЩЕНИЕ)

И.С. Голубева, О.В. Горюнова, Н.П. Яворская

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

Контакты: Ирина Сергеевна Голубева irinagolubewa52@mail.ru

Введение. Наличие в молекуле индолокарбазола остатка активного метаболита (аминокислоты) изменяет физико-химические и пролекарственные свойства аминокислотных производных гликозидов индолокарбазола (АПГИК). Компьютерным методом была ранее предсказана низкая вероятность их цитотоксической активности *in vitro*, что было подтверждено в МТТ-тесте на 5 линиях опухолевых клеток. Тем же компьютерным методом была спрогнозирована значимая вероятность противоопухолевой активности АПГИК *in vivo*, что требует экспериментальной проверки.

Цель исследования — оценка противоопухолевой активности АПГИК и выбор наиболее эффективных соединений.

Материалы и методы. Исследование противоопухолевой активности АПГИК проводили на опухолевой модели мышей — раке шейки матки РШМ5. Соединения вводили мышам СВА/Лас внутривентриально 5-кратно ежедневно с интервалом 24 ч. Наблюдение за животными продолжали до их гибели. Противоопухолевый эффект препаратов оценивали по торможению роста опухоли, увеличению продолжительности жизни опытных мышей по сравнению с контрольными животными.

Результаты. Оттитрована оптимальная доза для данного ряда соединений, равная 100 мг/кг. Оценена противоопухолевая активность этих соединений на модели РШМ5.

Выводы. На основе полученных данных предполагается расширенное исследование *in vivo* противоопухолевых свойств отобранных 5 лидерных соединений АПГИК.

Ключевые слова: индолокарбазолы, гликозиды и глюкозиды индолокарбазолов, аминокислотные производные, противоопухолевая активность

DOI: 10.17650/1726-9784-2018-17-2-71-77

COMPARATIVE *IN VIVO* STUDYING OF POTENTIAL ANTINEOPLASTIC PROPERTIES AMONG OF AMINO-ACID DERIVATIVE GLYCOSIDES OF THE INDOLOCARBAZOLE (DETAILED REPORT)

I.S. Golubeva, O.V. Goryunova, N.P. Yavorskaya

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

Introduction. The existence of the active metabolite (amino acid) residue in the of an indolocarbazole molecule changes physical-chemical and pro-medicinal properties of aminoacid derivatives glycosides of indolocarbazole. The computer method has earlier foretold low probability of their cytotoxic activity *in vitro* that was confirmed in the MTT-test on 5 lines of tumor cells. The same computer method predicted significant probability of antineoplastic activity of aminoacid derivatives glycosides of indolocarbazole *in vivo* that demands the experimental check.

Purpose of the study — assessment of aminoacid derivatives glycosides of indolocarbazole as potential antitumor medications.

Materials and methods. The research of antineoplastic activity of aminoacid derivatives glycosides of indolocarbazole was performed on mice tumoral models — cervical cancer CC5. Abdominal injections were made to CBA/Lac mice 5 times a day with 24 h interval. Observation of animals was continued till their death. The antineoplastic effect of medicines was estimated according to tumor growth inhibition, increase in life expectancy of experiential mice in comparison with control animals.

Results. The optimum dose for this number of compounds, equal to 100 mg/kg is titrated. The antineoplastic activity of aminoacid derivatives glycosides of indolocarbazole on the model CC5 is estimated.

Conclusions. On the basis of the obtained data the expanded research of antineoplastic properties of the selected 5 aminoacid derivatives glycosides of indolocarbazole is supposed to perform *in vivo*.

Key words: indolocarbazoles, glycosides and glucosides of indolocarbazoles, amino-acid derivatives, antineoplastic activity

Введение

Конференция Всемирной организации здравоохранения осенью 2017 г. была посвящена борьбе с неинфекционными, в том числе онкологическими, заболеваниями как важнейшей проблеме здравоохранения в мире [1]. В докладе от 1 ноября 2017 г. министр здравоохранения Российской Федерации В.И. Скворцова доложила о разработке в России инновационных таргетно действующих иммунопрепаратов в области онкологии. Эти весьма затратные изыскания необходимы для создания персонально действующих лекарств с учетом гетерогенности опухолевых клеток и их множественной лекарственной устойчивости по отношению к известным препаратам. В то же время актуальны и значительно менее затратны исследования, посвященные поиску противоопухолевых низкомолекулярных иммунопрепаратов и опирающиеся на возможность компьютерного прогнозирования их биологической активности. В работе [2] авторы провели оценку перспективности создания производных N-гликозидов индолакарбазола, содержащего в гетероциклическом ядре аминокислотные остатки, как потенциальных противоопухолевых средств. В настоящее время за рубежом проходят II–III фазы клинических испытаний N-гликозилированных производных индола[2,3-а]пироло[3,4-с]карбазола [3], в которых гетероциклическая часть препарата обуславливает его противоопухолевые свойства, а заместители, в том числе углеводный остаток, модулируют растворимость и пути фармакокинетического продвижения лекарства в организме. Добавление в структуру молекулы индола[2,3-а]пироло[3,4-с]карбазола остатков аминокислот или пептидов [4–6] способно значительно видоизменить фармакокинетические свойства таких производных индолакарбазолов, что определяется биологической активностью введенных компонентов, участвующих в важнейших процессах энергообмена в клетке. Аминокислотные производные гликозидов индолакарбазола (АПГИК) были синтезированы в лаборатории химического синтеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (НМИЦ онкологии) и предоставлены для исследований [7]. Ранее показано [2], что в соответствии с данным *in silico* прогнозом (информационно-компьютерные технологии для доэкспериментального скрининга и прогнозирования различных свойств и биологической активности по структурным формулам соединений) с использованием программы PASS [8, 9] соединения АПГИК не обнаружили цитотоксическую активность *in vitro*: показатель цитотоксической активности $IC_{50} > 10$ мкМ был подтвержден в МТТ-тесте на 5 линиях опухолевых клеток. При этом производные АПГИК проявили значимую противоопухолевую активность *in vivo* в опытах на мышах с перевиваемой

опухолью рака шейки матки РШМ5 [10], чему соответствовали данные прогноза о значимой вероятности противоопухолевой активности АПГИК (57–74 %) [2]. Помимо этого, предсказанные *in silico* их биологические свойства, в том числе вероятность 60 % наличия иммуностимулирующего действия у ряда соединений АПГИК, лягут в дальнейшем в основу изучения механизма их противоопухолевой активности.

Цель исследования – анализ результатов сравнительного изучения противоопухолевых свойств соединений АПГИК *in vivo* в опытах на мышах с перевиваемой опухолью РШМ5 и выделение среди них веществ, наиболее перспективных для дальнейшего расширенного изучения.

Материалы и методы

Опыты проводили на мышах-самках в возрасте 1,5–2 мес с начальной массой тела 19–23 г, гибридах 1-го поколения F1 (DBA/2 × C57Bl/6j) (B6D2F1) с меланомой B16 и раком молочной железы Ca755, линии DBA₂ с лимфолейкозом P388, линии CBA/Lac с раком шейки матки РШМ5. Животных получали из филиала «Столбовая» ФГБНУ «Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства» и содержали в экспериментально-биологической лаборатории (виварий) ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России в соответствии с санитарными правилами по содержанию лабораторных животных [11]: на брикетированном корме и постоянном доступе к воде, в помещении с естественным освещением, контролируемой температурой 18–22 °С и влажностью воздуха 65 %. Клетки из полипропилена, подстил – опилки.

Противоопухолевую активность *in vivo* гликозидов АПГИК определяли по методике, принятой в НМИЦ онкологии для экспериментов с использованием асцитных и солидных моделей опухолевого роста мышей [12, 13].

Штаммы перевиваемых опухолей получали из банка опухолевых штаммов НМИЦ онкологии и поддерживали *in vivo* в лаборатории экспериментальной химиотерапии на линейных животных. В опытах использовали 2–10-й пассажи штаммов *in vivo*.

Перед лечением мышей распределяли по группам. Число животных в контрольной группе составляло 10, в опытных группах – по 5–7.

Солідные опухоли перевивали половозрелым мышам массой тела 18–23 г в возрасте 1,5–2 мес. Инокуляцию опухолевых клеток проводили подкожно в правую подмышечную область каждой мыши по 50 мг опухолевой взвеси в среде 199 в разведении 1:10 (5×10^6 клеток). Лейкозные клетки перевивали самкам гибридам BDF₁ внутрибрюшинно по 10^6 клеток на мышь в 0,4 мл питательной среды 199. Лечение мышей с асцитной опухолью начинали через 24

ч, а мышей с солидными опухолями — через 48 ч после перевивки опухолей. Препараты вводили внутривенно ежедневно в течение 5 дней с интервалом 24 ч. Навески соединений растворяли в диметилсульфоксиде и разводили физиологическим раствором до 10 % концентрации для получения готовых препаратов с концентрацией 5 мг/мл. Растворы препаратов готовили *ex tempore*. Наблюдение за животными проводили до их гибели.

Исходя из подобия строения аминокислот, использованных в синтезе производных индолокарбазола, соединения сравнивали, объединяя в группы с I по VII, и проводили в одном опыте лечение соединениями отдельно взятой группы.

I группа

L-треониновое производное N-глюкозида индолопирролокарбазола;

L-треониновое производное N-рибозида индолопирролокарбазола;

D-треониновое производное N-глюкозида индолопирролокарбазола;

N-глюкозид индолопирролокарбазола.

Далее изучаемые соединения разделили по группам — N-глюкозиды индолопирролокарбазола для следующих аминокислот:

II группа

L-треонин

L-серин

L-тирозин

L-тирозин (метиловый эфир)

III группа

L-аланин

L-валин

IV группа

глицин

β -аланин

ГАМК

V группа

L-аргинин (нитропроизводное)

L-лизин (Кбз-производное)

L-глутаминовая кислота

VI группа

L-триптофан

L-фенилаланин

VII группа

L-метионин

L-метионина сульфоксид.

Оценку результатов лечения проводили по показателям торможения роста опухолей (ТРО) и увеличения продолжительности жизни (УПЖ).

ТРО вычисляли по формуле

$$\text{ТРО (\%)} = (V_k - V_o) / V_k \times 100,$$

где V_k и V_o — средний объем опухолей (мм^3) в контрольной и опытной группах соответственно, который

для каждой солидной опухоли определяли как произведение размеров 3 перпендикулярных диаметров опухолевого узла. Измерение объема опухолей проводили каждые 4 дня после окончания лечения.

УПЖ леченых животных по сравнению с контролем вычисляли по формуле

$$\text{УПЖ (\%)} = (\text{СПЖ}_o - \text{СПЖ}_k) / \text{СПЖ}_k \times 100,$$

где СПЖ_o и СПЖ_k — средняя продолжительность жизни (сутки) в опытных и контрольных группах животных соответственно. Показатели эффективности изучаемого препарата определяли в сравнении с контрольными группами.

Активными в противоопухолевом отношении считали дозы препаратов, вызывающие ТРО ≥ 50 % продолжительностью не менее 8–12 дней после окончания лечения или УПЖ животных ≥ 25 %.

Токсичность препаратов в использованных режимах и дозах оценивали по срокам гибели леченых животных в сравнении с гибелью животных в контрольной группе. Трупы животных утилизировали в соответствии с санитарными правилами НМИЦ онкологии.

Для выполнения экспериментов составляли группы численностью, достаточной для проведения статистического анализа и расчета показателей достоверности. Для всех количественных данных вычисляли групповое среднее арифметическое (M) и стандартную ошибку среднего (SEM). Различия между контрольными и экспериментальными группами считали достоверными при 95 % уровне значимости ($p \leq 0,05$). Статистическую обработку данных выполняли с помощью программы Statistica for Windows 5.5.

Результаты

Значимый прогноз (57–74 %) вероятности противоопухолевой активности АПГИК был дан на основе их исследования *in silico* [2]. Для сравнительного изучения соединений АПГИК *in vivo* при подборе условий эксперимента был выбран глюкозид L-треонина. Титрование доз обычно проводят в опытах на мышах с лимфоидным лейкозом Р388. Однако выбранный глюкозид не показал активности на лимфолейкозе Р388. На меланоме В16 получили только непосредственный эффект 80 % ТРО. На аденокарциноме молочной железы Са755 в дозе 120 мг/кг с ежедневным 5-кратным введением с интервалом 24 ч соединение выявило непосредственный эффект 73 % ТРО, сохранявшийся до 12-го дня наблюдения после окончания лечения (табл. 1). Несмотря на то что на модели Са755 были получены противоопухолевые эффекты, она неудобна для экспериментов, так как имеет выраженную сезонную зависимость.

Далее глюкозид L-треонина изучали на модели рака шейки матки РШМ5. В исследованиях на этой модели он показал высокую противоопухолевую активность: после окончания лечения 93 % ТРО, с сохранением на уровне 63 % ТРО до 18-го дня наблюдения, а в отдельных опытах — до 21–29-го дня, с УПЖ мышей до 25 %, что укладывалось в принятые критерии потенциальной противоопухолевой активности препарата.

Таблица 1. Противоопухолевое действие глюкозида L-треонина на мышах с опухолями B16 и Ca755

Доза, мг/кг × 5/24 ч	ТРО, % в день после окончания лечения				УПЖ, %	Гибель животных
	1-й	4-й	8-й	12-й		
B16						
100	80	41	30	27	12	0/6
Ca755						
120	73	72	27	59	—	0/7

При поиске новых активных в противоопухолевом отношении соединений в ряду производных АПГИК противоопухолевое действие оценивали по показателям ТРО и УПЖ, полученным в результате лечения мышей с опухолью РШМ5 по методике, принятой для глюкозида треонина: растворы препаратов в дозе 100 мг/кг вводили внутривенно 5-кратно ежедневно через 24 ч. В каждом опыте глюкозид треонина использовали как стандарт сравнения. Результаты изучения противоопухолевого действия производных АПГИК на мышах с опухолью РШМ5 представлены в табл. 2.

В группе I сравнивали L-треониновые производные глюкозида и рибозида карбазола. Результаты показали преимущество глюкозидного производного L-треонина перед рибозидным: ТРО 93–61 % до 21-го дня наблюдения с УПЖ 25 % или 70–50 % до 8-го дня наблюдения после окончания лечения с УПЖ 23 % соответственно. Далее сравнивали L- и D-треониновые глюкозиды, где по результатам исследования L-изомер превосходил по активности D-изомер.

Сравнительное изучение противоопухолевой активности глюкозидов группы II с наличием гидроксильной группы в боковой цепи аминокислоты показало, что при лечении глюкозидом серинового производного непосредственный противоопухолевый эффект после окончания лечения 61 % ТРО сохранялся на этом уровне до 22-го дня наблюдения, на 25-й день ТРО был равен 48 %, УПЖ — 19 %. Глюкозиды L-тирозина и его метилового эфира сохраняли ТРО в пределах 80–56 % до 8–12-го дня наблюдения без УПЖ. Гибели леченых животных в группах не было.

Глюкозиды группы III содержали алкильный заместитель в остатке аминокислоты. Глюкозид производного L-аланина, так же как и L-тирозина

(II группа), сохранял противоопухолевое действие до 12-го дня наблюдения, без УПЖ. Для производного L-валина доза 100 мг/кг в использованных условиях оказалась токсичной (гибель 3 мышей из 7), а доза 75 мг/кг вызывала минимальный противоопухолевый эффект: не выше 59 % ТРО только до 12-го дня наблюдения, без УПЖ, с гибелью 1 мыши в группе.

Глюкозиды группы IV имели открытую карбоксильную группу, разнотеленную от ароматического ядра карбазола. У производного глицина ТРО изменялся волнообразно, но не превышал 55 % на 21-й день наблюдения после окончания лечения. Наличие в молекуле глюкозида остатка β-аланина вызывало умеренный противоопухолевый эффект 62–59 % ТРО, который сохранялся до 22-го дня. У производного γ-аминомасляной кислоты ТРО изменялся с 80 до 49 % (16-й день наблюдения). У 2 соединений (производных глицина и γ-аминомасляной кислоты) наблюдалась гибель 1 мыши без УПЖ.

Глюкозиды группы V несли в остатке аминокислоты протонакцепторный или протондонорный фрагмент. Производные нитро-L-аргинина, карбобензоксид-L-лизина (Кбз-L-лизина) и L-глутаминовой кислоты обладали невысокой противоопухолевой активностью: непосредственно после окончания лечения в пределах 50–65 % ТРО, которая, однако, сохранялась у всех групп мышей в процессе наблюдения на уровне ТРО 57–61 % до 16-го дня и 48–54 % на 25-й день, а противоопухолевая активность производного лизина, изменяясь волнообразно, достигала 65 % ТРО на 29-й день. УПЖ наблюдался для всех соединений, но не достигал принятого критерия 25 %.

Глюкозиды группы VI содержали ароматический фрагмент в боковой цепи аминокислоты. На модели опухолевого роста РШМ5 в стандартных дозах и режиме производное L-триптофана вызывало гибель 2 животных из 6 при минимальных показателях активности: ТРО <56 % до 8-го дня наблюдения. Глюкозид, содержащий остаток L-фенилаланина, при той же гибели мышей проявлял умеренную активность до 29-го дня наблюдения — 54 % ТРО, без УПЖ. При снижении дозы до 75 мг/кг противоопухолевый эффект составлял 72–49 % ТРО только до 16-го дня, уменьшаясь как по величине, так и по продолжительности, но без гибели животных.

Глюкозиды группы VII имели содержащий серу фрагмент в боковой цепи аминокислоты. Глюкозид, имеющий остаток L-метионина, в дозе 100 мг/кг вызывал противоопухолевый эффект 71–52 % ТРО, сохраняющийся до 21-го дня, без УПЖ, с гибелью 1 мыши в группе, а производное сульфоксида L-метионина не проявило противоопухолевой активности в принятых критериях.

Изученный в 1 опыте с препаратами VII группы глюкозид индолопиролокарбазола, не имевший

Таблица 2. Противоопухолевое действие N-гликозидов аминокислотных производных гликозидов индолакарбазола на мышей с опухолью РШМ 5

Аминокислотный остаток	Доза, мг/кг × × 5/24 ч	ТРО, % в день после окончания лечения								УПЖ, %	Гибель животных	Вероятность эффекта**
		1-й	4-й	8-й	12-й	16-й	21-й	25-й	29-й			
I группа												
L-треонин	100	93	80	66	77	49	61	—	—	25	0/5	72
D-треонин*	75	74	68	65	52	36	—	—	—	—	1/7	72
L-треонин рибозид	100	70	58	50	40	7	—	—	—	23	0/5	72
II группа												
L-треонин	100	93	79	80	82	63	60	59	52	25	0/7	72
L-серин	100	61	69	64	60	49	61	48	—	19	0/6	72
L-тирозин	100	79	79	69	44	37	—	—	—	—	0/7	72
L-тирозина метиловый эфир	100	78	80	67	56	40	28	25	14	18	0/6	72
III группа												
L-аланин	100	80	74	59	57	44	43	—	—	—	0/6	74
L-валин	100	75	67	74	58	53	55	57	30	—	3/7	75
	75	46	50	55	59	46	28	24	16	—	1/7	
IV группа												
Глицин	100	45	41	59	51	44	55	—	—	—	1/7	72
β-аланин	100	62	58	64	61	46	59	—	—	—	0/7	69
γ-аминомасляная кислота	100	81	79	82	63	49	34	33	—	—	1/7	70
V группа												
Нитро-L-аргинин	100	60	56	54	50	61	56	54	41	17	0/6	57
Кбз-L-лизин	100	40	44	46	64	59	51	47	65	20	0/7	62
Глутаминовая кислота	80	50	64	64	58	57	—	48	—	14	0/7	74
VI группа												
L-триптофан	100	50	52	56	39	42	23	33	—	—	2/6	68
L-фенилаланин	100	81	74	81	62	65	63	64	54	—	2/6	73
	75	46	72	63	64	49	41	—	—	—	0/7	
VII группа												
L-метионин	100	71	66	72	67	41	52	—	—	—	1/6	64
L-метионина сульфоксид	100	28	42	35	28	40	23	30	—	—	1/6	63
—NH— (без аминокислотного остатка)	100	86	53	26	43	29	17	—	—	—	0/6	81

* Внутривенное введение. ** Вероятность противоопухолевой активности, рассчитанная методами *in silico* [2].

аминокислотного остатка при пирольном атоме азота карбазола, проявляет непосредственный эффект 86 % ТРО, который к 4-му дню снижается до 53 % и далее, без УПЖ.

Таким образом, проведенные эксперименты подтвердили результаты прогноза *in silico* [2] о высокой вероятности противоопухолевой активности соединений АПГИК (см. табл. 2). В то же время лечение

препаратами, включенными в группы III, IV, VI и VII, сопровождалось гибелью животных либо умеренными значениями ТРО. При отсутствии остатка аминокислоты в молекуле глюкозид индолопирролокарбазола, невзирая на предсказанную вероятность 81 % противоопухолевого эффекта, проявил значимый процент ТРО только до 4-го дня после лечения.

Путем анализа полученных результатов для дальнейшего расширенного изучения были выбраны 5 глюкозидов карбазола: производные L-треонина, L-серина, нитро-L-аргинина, Кбз-L-лизина и L-глутаминовой кислоты.

Заключение

Использование возможностей компьютерного анализа для вероятностной оценки противоопухолевых свойств соединений на основе их виртуальной структуры — важнейший в настоящее время этап

направленного поиска лекарств. В работе, являющейся продолжением изучения аминокислотных производных гликозидов индолопирролокарбазола АПГИК [2, 7, 10] в качестве потенциальных противоопухолевых средств, были удачно использованы прогностические возможности компьютерной программы PASS [8, 9]. Была подтверждена спрогнозированная *in silico* значимая противоопухолевая активность АПГИК в опытах *in vivo* на мышах с опухолью рака шейки матки РШМ5 с отбором 5 лидерных соединений для углубленного изучения. Важно отметить, что по результатам определения цитотоксической активности *in vitro* в экспериментах на 5 видах опухолевых клеток ($IC_{50} > 10$ мкМ) соединения АПГИК должны были быть отбракованы в соответствии с принятыми в настоящее время критериями отбора соединений на дальнейшее изучение, но подтвердили перспективность углубленного исследования.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Информационный бюллетень портала ONCOLOGY.ru от 10 ноября 2017 г. Новости онкологии. [ONCOLOGY.ru Portal newsletter from November 10, 2017 onwards. Oncology news (In Russ.)].
2. Апрышко Г.Н., Жукова О.С., Фетисова Л.В. и др. Изучение свойств потенциальных противоопухолевых аминокислотных производных гликозидов индолокарбазолов *in silico* и *in vitro*. Российский биотерапевтический журнал 2017;16(4):46–54. DOI: 17650/1726-9784-2017-16-4-46-54. [Apryshko G.N., Zhukova O.S., Fetisova L.V. et al. *In silico* and *in vitro* research of potential antineoplastic amino acid derivatives of indolocarbazole glycosides properties. Rossijskij bioterapevticheskij zhurnal = Russian Journal of Biotherapy 2017;16(4):46–54 (In Russ.)].
3. Butler M.S. Natural products to drugs: natural product derived compounds in clinical trials. Nat. Prod. Rep 2005;22(2):162–95. DOI: 10.1039/b402985m. PMID: 15806196.
4. Trostmann U., Hartenstein J., Barth H. et al. Patent Ger. Offen DE 4243321 A1. June 23, 1994.
5. Trostmann U., Schaechtele C., Hartenstein J. et al. Patent USA 5750555. May 12, 1998.
6. Горюнова О.В., Захарчук Г.М., Жукова О.С. и др. N6-Дипептидные производные N12-рибозил-индоло [2,3-а] карбазола. Биоорганическая химия 2014;40(1):12–9. DOI: 10.7868/S0132342314010047. [Goryunova O.V., Zakharchuk G.M., Zhukova O.S. et al. N6-Dipeptide Derivatives of N12-Ribosyl indolo [2,3-a] carbazole. Bioorganicheskaya Khimiya = Bioorganic chemistry 2014;40(1):12–9. (In Russ.)].
7. Мельник С.Я. Синтез и изучение гликозидов, производных бисиндола и родственных индоло [2,3-а] карбазолов. Экспериментальная онкология на рубеже веков. Под ред. М.И. Давыдова, А.Ю. Барышникова. М., 2003. С. 281–294. [Mel'nik S.Ya. Synthesis and study of glycosides, bisindole derivatives and related indolo [2,3-a] karbazolov. Experimental oncology at the turn of the century. Eds. M.I. Davydova, A.Yu. Baryshnikova. Moscow, 2003. P. 281–294 (In Russ.)].
8. Filimonov D.A., Poroikov V.V. Probabilistic approach in activity prediction. In: Chemoinformatics approaches to virtual screening. Eds. A. Varnek, A. Tropsha. Cambridge (UK): RSC Publishing, 2008. P. 182–216.
9. Филимонов Д.А., Лагунин А.А., Глоризова Т.А. и др. Предсказание спектров биологической активности органических соединений с помощью веб-ресурса PASS Online. Химия гетероциклических соединений 2014;3:483–99. [Filimonov D.A., Lagunin A.A., Glorizova T.A. et al. Prediction of biological activity spectra of organic compounds using a Web resource PASS Online. Himiya geterociklicheskih soedinenii = Chemistry of heterocyclic compounds 2014;3:483–99 (In Russ.)].
10. Голубева И.С., Яворская Н.П., Горюнова О.В. Изучение *in vivo* потенциальных противоопухолевых свойств аминокислотных производных гликозидов индолокарбазола. Российский биотерапевтический журнал 2017;16(4):85–8. DOI: 17650/1726-9784-2017-16-4-85-88. [Golubeva I.S., Yavorskaya N.P., Goryunova O.V. Research *in vivo* the qualities of potential antitumor amino-acid derivatives of glycosides of indolocarbazole. Rossijskij bioterapevticheskij zhurnal = Russian Journal of Biotherapy 2017;16(4):85–8 (In Russ.)].
11. 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 carrying out researches on biomodels and on laboratory animals. Kachestvennaya klinicheskaya praktika = High-quality clinical practice 2002;1–53 (In Russ.)].
12. Трещалина Е.М., Жукова О.С., Герасимова Г.К. и др. Методические рекомендации по доклиническому изучению противоопухолевой актив-

ности лекарственных средств. В кн.: Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. 1. Под ред. А.Н. Миронова, Н.Д. Бунятян и др. М.: Гриф и К, 2012. С. 642–657. [Treshchalina E.M., Zhukova O.S., Gerasimova G.K. et al. Guidance on pre-clinical

study of antitumor activity of drugs. In: Guide to conduct preclinical studies of drugs. Part 1. Eds. A.N. Mironov, N.D. Bunyatyan et al. Moscow: Grif i K, 2012. P. 642–657 (In Russ.)].

13. Экспериментальная оценка противоопухолевых препаратов в СССР и США. Ред. З.П. Софьина,

А.Б. Сыркин (СССР), А. Голдин, А. Кляйн (США). М.: Медицина, 1980. С. 71–112. [Experimental evaluation of anticancer agents in the Soviet Union and the United States. Eds. Z.P. Sofina, A.B. Syrkin (USSR), A. Goldin, A. Klein (USA). Moscow: Meditsina, 1980. P. 71–112 (In Russ.)].