

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ОЦЕНКА ТОКСИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ЛХТА-2034 ПРИ ПЕРОРАЛЬНОМ ПРИМЕНЕНИИ

М.И. Трещалин, И.Д. Трещалин, В.А. Голибродо, А.Е. Щекотихин, Э.Р. Переверзева
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф. Гаузе»; Россия, 119021
Москва, ул. Большая Пироговская, 11, стр. 1

Контакты: Михаил Иванович Трещалин funky@beatween.ru

Введение. В ФГБНУ «Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф. Гаузе» создан новый противоопухолевый мультитаргетный препарат ЛХТА-2034, который при пероральном применении проявляет высокую активность в отношении прогностически значимых перевиваемых опухолей мышей.

Цель исследования — изучение токсичности ЛХТА-2034 в хроническом эксперименте на крысах при пероральном применении. **Материалы и методы.** В исследовании использовано 30 крыс-самцов линии Wistar. Субстанцию препарата растворяли в питьевой воде и в 2 %-ной концентрации вводили в желудок ежедневно в течение 2 нед в разовых дозах, составляющих 1 и 5 терапевтических (20 и 100 мг/кг соответственно). В ходе исследования определяли массу тела, проводили клинический и биохимический анализ крови, анализ мочи, выполняли электрокардиограмму. На 1-е и 30-е сутки по окончании курса по 5 животных из каждой группы подвергали эвтаназии. Проводили патоморфологическое исследование внутренних органов.

Результаты. Показано, что введение ЛХТА-2034 в разовой дозе, эквивалентной 1 терапевтической, не оказывает влияния на большинство изученных клинико-лабораторных показателей. Только при анализе мочи на 1-е сутки после курса была отмечена гематурия. При микроскопическом исследовании выявлены изменения разной степени выраженности в печени, почках, сердце, желудке, тощей и подвздошной кишке, селезенке и тимусе. Применение ЛХТА-2034 в высокой дозе вызвало гибель 2 животных из 10. У остальных крыс отмечены задержка прироста массы тела, снижение общего количества лейкоцитов и эритроцитов, уровня гемоглобина и величины гематокрита, уменьшение массы тимуса. В моче были найдены эритроциты и нитраты. Гематурия и нитратурия сохранялись в течение 1 мес. У животных, получавших высокую дозу препарата, помимо перечисленных органов повреждающему действию препарата подвергались лимфоузлы, поджелудочная железа, толстая кишка и мозг.

Заключение. Выявленные токсические свойства ЛХТА-2034 зависят от величины примененной дозы. При курсовом применении препарата в дозе, эквивалентной 1 терапевтической, они полностью обратимы в течение 30 дней.

Ключевые слова: ЛХТА-2034, антрафуран, антрацендион, хроническая токсичность, крысы

DOI: 10.17650/1726-9784-2018-17-3-81-88

EXPERIMENTAL EVALUATION OF TOXIC PROPERTIES OF LCTA-2034 BY THE ORAL ROUTE OF ADMINISTRATION

M.I. Treschalin, I.D. Treschalin, V.A. Golibrod, A.E. Shchekotikhin, E.R. Pereverzeva
Gause Institute of New Antibiotics; Bldg. 1, 11 Bol'shaya Pirogovskaya St., Moscow 119021, Russia

Introduction. New antitumor multitarget drug LCTA-2034, obtained in Gause Institute of New Antibiotics, has demonstrated high activity against prognostically significant transplantable mice tumors by the oral application.

Objective. To investigate the toxicological properties of LCTA-2034 by the oral route of administration on rats.

Materials and methods. Toxicological study of LCTA-2034 was performed on 30 male Wistar rats. Drug substance dissolved in potable water. 2 % solution was administrated per os at the 1 and 5 therapeutic dose (15 × 20 mg/kg or 15 × 100 mg/kg with 24-h interval). During the study dynamics of body weight, hematological parameters, blood biochemical parameters, electrocardiography and urinalysis were performed for all animals. Five animals in each group were sacrificed 1 and 30 days post treatment. The internal organs were subjected to histological evaluation.

Results. The results of the study demonstrate that the treatment with low dose of LCTA-2034 does not produce any changes in majority of examined clinical-laboratory parameters with the exception of urinalysis revealed hematuria on day 1 post treatment. Microscopic pathology observation showed structure abnormalities of varying severity in liver, kidneys, heart, stomach, jejunum, ileum, spleen and thymus. Administration of high dose of LCTA-2034 caused mortality of 2 rats in group. The rest of the rats were observed a body weight lag, decrease of total leukocyte and erythrocyte count, hemoglobin and hematocrit level, relative weight of the thymus. Erythrocytes and nitrates were found in urine both on day 1 and on day 30 post treatment. In groups treated with high dose of the drug in addition to the listed above organs damage of the structure of lymph nodes, pancreas, ileum and brain was detected.

Conclusion. Revealed toxic properties of LCTA-2034 depended on dose. Multiple administration of 1 therapeutic dose of the drug produces transient toxic effects completely reversible within 30 days.

Key words: LCTA-2034, anthrafuran, anthracendione, chronic toxicity, rats

Введение

В последние десятилетия возможности лечения злокачественных опухолей значительно расширились. В том числе существенно пополнился арсенал противоопухолевых лекарств. В клинической практике появились биотерапевтические средства, направленные на определенные молекулярные мишени, — ингибиторы тирозинкиназ, протеинкиназ, факторов роста и других ферментов и белков и позволяющие контролировать рост опухолей при удовлетворительной переносимости. Многие из этих средств применяются перорально [1]. Пероральные лекарственные формы были созданы и для ряда цитостатиков. Так, один из первых пероральных цитостатиков — анти-метаболит кселода, эффективный при лечении рака желудка, колоректального рака и рака молочной железы, — позволяет провести полный курс химиотерапии в домашних или амбулаторных условиях [2, 3]. Высокая биодоступность позволяет достигать полной или частичной ремиссии при пероральном применении некоторых алкилирующих агентов, противоопухолевых антибиотиков и препаратов других классов. В связи с этим все больше врачей-онкологов стали отдавать предпочтение пероральным химиопрепаратам, поскольку этот путь введения улучшает качество жизни больных и позволяет сократить время их пребывания в клинике [4].

Полученное в ФГБНУ «Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф. Гаузе» соединение антрафуран — синтетическое производное антрацендиона [5–7] — хорошо растворимо в биорелевантных средах. С учетом того, что антрациклины и близкие им по структуре антрацендионы — высокоактивные противоопухолевые препараты, широко применяемые для лечения злокачественных опухолей, на основе антрафурана был разработан препарат ЛХТА-2034, проявивший высокую противоопухолевую активность в отношении прогностически значимых перевиваемых опухолей мышей как при парентеральном (внутрибрюшинном), так и при пероральном введении [8, 9]. Кроме того, было показано, что антрафуран обладает способностью одновременно ингибировать топоизомеразы 1,2 и протеинкиназы, а также индуцировать гибель опухолевых клеток различного гистогенеза, включая резистентные линии [7, 9]. С целью создания перорального лекарственного средства было проведено исследование токсических свойств ЛХТА-2034 при данном пути введения.

Материалы и методы

Работа выполнена в соответствии с этическими нормами обращения с животными, принятыми Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для исследовательских и иных

научных целей [10]. Исследования проводились в соответствии с правилами экспериментального изучения оригинальных фармакологических веществ [11].

Крысы самцы линии Wistar массой 150–170 г, полученные из Центрального питомника РАН «Андреевка», после двухнедельного карантина были разделены на группы по 10 голов в каждой. Животные экспериментальных групп получали препарат в разовых дозах, эквивалентных 1 и 5 терапевтическим. При расчете разовых доз для крыс исходили из терапевтических доз (ТД) для мышей, пересчитанных через коэффициент поверхности тела [12]. Они составили 20 мг/кг (1 ТД) и 100 мг/кг (5 ТД). Субстанцию препарата перед введением растворяли в питьевой воде и в 2 %-ной концентрации вводили в желудок при помощи шприца со специальным металлическим зондом ежедневно в течение 2 нед.

В течение исследования ежедневно проводили оценку состояния и поведения животных, 1 раз в неделю определяли массу тела. Перед началом курса введений (сутки 0), на 7, 15, 18, 20, 22, 30 и 45-е сутки опыта при помощи автоматического гематологического анализатора Abacus Junior Vet (Diatron, Австрия) производили клинический анализ крови (лейкоциты, эритроциты, гемоглобин, тромбоциты, лейкоцитарная формула, гематокрит). Для определения указанных показателей кровь брали из хвостовой вены. Биохимическое исследование сыворотки крови животных (аланинаминотрансфераза, аспартатаминотрансфераза, щелочная фосфатаза, креатинин, мочевины, общий билирубин, прямой билирубин, общий белок, альбумин) осуществляли на 1-й и 30-й дни после окончания введения препарата (15-е и 45-е сутки опыта соответственно) при помощи автоматического биохимического анализатора ChemWell (Awareness Technology Inc., США). Исследование суточного диуреза и анализ мочи (рН, лейкоциты, эритроциты, кетоновые тела, белок, цилиндры, соли, уробилиноген, удельный вес) животных осуществляли на 1-й и 30-й дни после окончания введения препарата, используя автоматический анализатор мочи Laura Smart (Erba Лахема, Чехия). Электрокардиограмму во 2-м стандартном отведении снимали на 1-е и 30-е сутки после курса (электрокардиограф ЭК1Т-07 («Аксион», Россия)).

Статистическую обработку количественных данных проводили по критерию t Фишера–Стьюдента при помощи компьютерных программ StatPlus 2006 и Microsoft Excel. Различия определяли как достоверные при $p \leq 0,05$.

На 1-е и 30-е сутки по окончании курса введения препарата по 5 животных из каждой группы подвергали эвтаназии, определяли массовые коэффициенты тимуса, сердца, печени, почек, селезенки. Участки внутренних органов фиксировали в 10 %-ном

нейтральном формалине, по стандартной методике заливали в парафин. Короткие серии срезов окрашивали гематоксилин-эозином и подвергали световой микроскопии.

Результаты

На всем протяжении эксперимента отклонений в поведенческих реакциях животных не отмечалось. Двухнедельное введение препарата в испытанных дозах не влияло на потребление крысами корма и воды, состояние кожи, видимых слизистых оболочек и шерстного покрова.

Применение препарата в разовой дозе, эквивалентной 1 ТД, гибели животных не вызывало. Они хорошо переносили введения, отмечалась нормальная прибавка массы тела. Препарат, примененный в разовой дозе, равной 5 ТД, к окончанию курса введений вызвал гибель 2 животных из 10 и задержку прироста массы тела у выживших животных, которая сохранялась до конца наблюдения (рис. 1).

При гематологическом исследовании у крыс, получавших препарат в разовой дозе 100 мг/кг, на 1-е и 3-и сутки после окончания курса введений (15-е

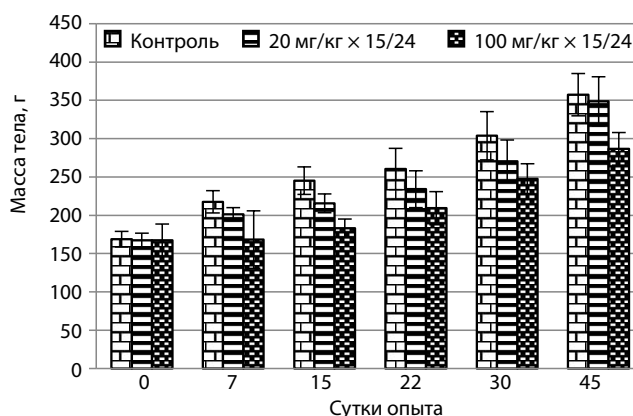


Рис. 1. Динамика массы тела крыс

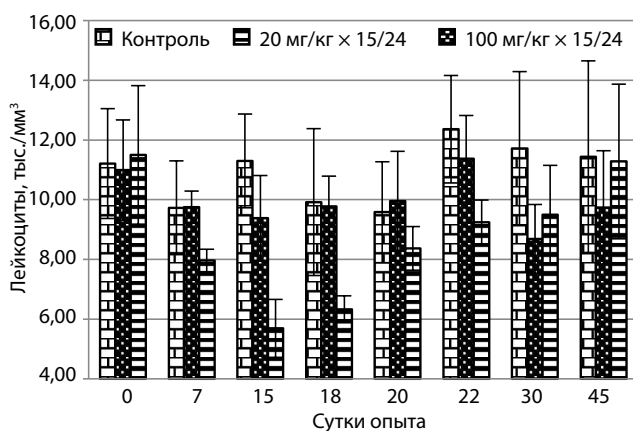


Рис. 2. Динамика общего количества лейкоцитов в периферической крови крыс

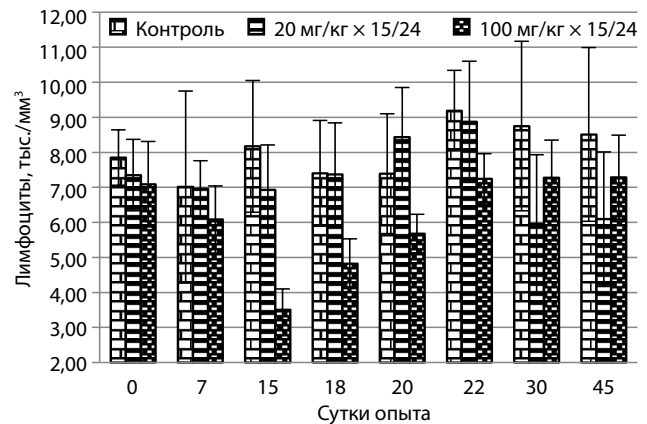


Рис. 3. Динамика количества лимфоцитов в периферической крови крыс

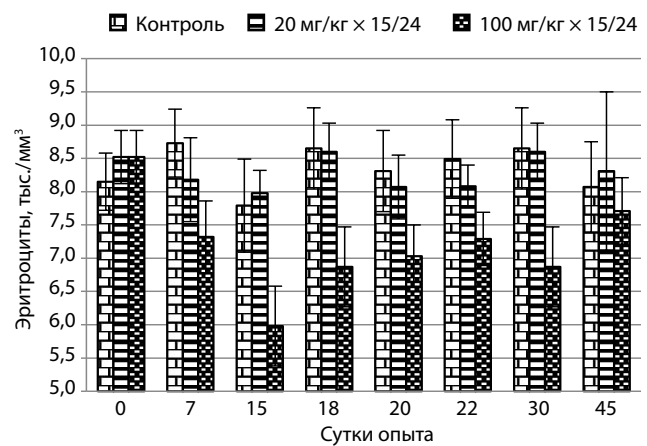


Рис. 4. Динамика количества эритроцитов в периферической крови крыс

и 18-е сутки опыта) было выявлено снижение общего количества лейкоцитов до 5–6 тыс. в 1 мм³ (рис. 2), которое происходило за счет лимфоцитопении (рис. 3). Снижение количества эритроцитов и уменьшение содержания гемоглобина были зарегистрированы после 7-го введения, величины гематокрита – на 1-е сутки по окончании введения препарата и сохранялись до 30-х суток эксперимента (рис. 4–6). К концу наблюдения эти показатели восстанавливались до уровня интактного контроля. Количество тромбоцитов оставалось в пределах физиологической нормы. При применении препарата в дозе 20 мг/кг достоверных изменений клинической картины крови не обнаружено.

В результате биохимического исследования сыворотки крови и изучения функции сердца отклонений от нормы не выявлено.

При клиническом исследовании мочи у животных, получавших ЛХТА-2034 в 1 ТД, была отмечена гематурия, которая проявилась на 1-е сутки после курса введений препарата. У животных, получавших высокую дозу ЛХТА-2034, в моче помимо эритроцитов были найдены нитраты. Гематурия и нитратурия

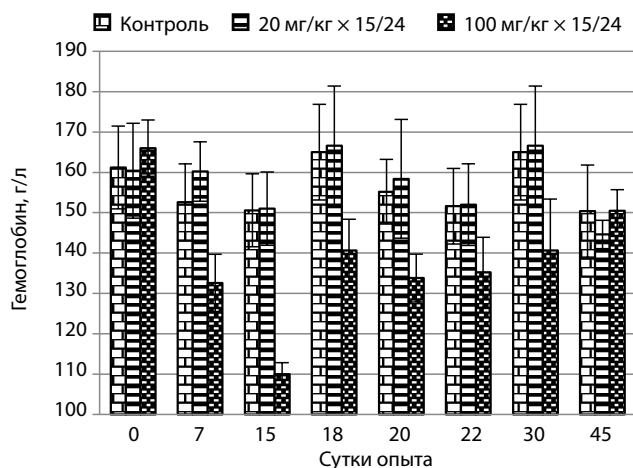


Рис. 5. Динамика содержания гемоглобина в периферической крови крыс

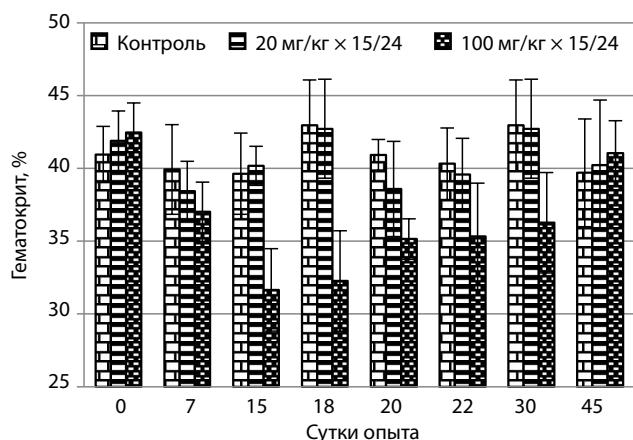


Рис. 6. Динамика величины гематокрита в периферической крови крыс

были обнаружены сразу по окончании курса и сохранялись в течение 1 мес.

Массовые коэффициенты внутренних органов животных, получавших ЛХТА-2034, не отличались от контроля, за исключением тимуса, уменьшение массы которого было выявлено на 1-е сутки после курса введений препарата в разовой дозе 100 мг/кг.

Изучение патологических изменений внутренних органов крыс под действием ЛХТА-2034 показало, что препарат, примененный перорально ежедневно в течение 2 нед в разовой дозе, эквивалентной 1 ТД, вызывает морфологические изменения разной степени выраженности в печени, почках, сердце, желудке, тощей и подвздошной кишке, селезенке и тимусе. При курсовом введении препарата в дозе, превышающей терапевтическую в 5 раз, помимо перечисленных органов повреждающему действию подвергаются также лимфоузлы, поджелудочная железа, толстая кишка и мозг.

При применении ЛХТА-2034 в количестве 1 ТД повреждение ткани печени проявляется в виде мелких очагов некроза в различных зонах (рис. 7а — контроль, 7б).

В почках на фоне сильного периваскулярного отека встречаются единичные мелкие очаги некроза извитых канальцев, которые локализуются вокруг сосудов и клубочков корковой зоны (рис. 8а — контроль, 8б).

В сердце морфологические изменения выражаются в полнокровии сосудов миокарда (рис. 9а — контроль, 9б).

Реакция слизистой оболочки желудочно-кишечного канала на пероральное введение препарата проявляется в виде гиперемии, отека и очаговой деструкции клеточных элементов поверхностных слоев. Так, в желудке отмечаются резкое полнокровие капилляров, атрофия или деструкция покровно-яточного эпителия и обкладочных клеток, умеренная атрофия слизистой оболочки (рис. 10а — контроль, 10б).

Воздействие ЛХТА-2034 на структуру селезенки выражается в умеренной атрофии лимфоидной ткани фолликулов, тимуса — в умеренной атрофии лимфоидной ткани в корковой и мозговой зонах отдельных долек. Все эти явления полностью обратимы в течение 1 мес.

Пятикратное превышение ТД вызывает намного более глубокие повреждения в органах и тканях, а иногда изменяется и их характер. Так, в печени,

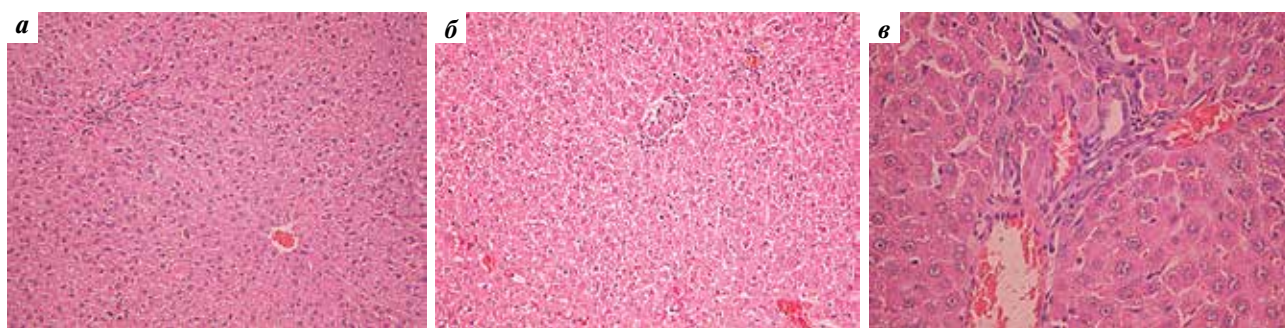


Рис. 7. Печень крысы: а — интактный контроль, $\times 20$; б — ЛХТА-2034, 20 мг/кг $\times 14$. Первые сутки после курса. Очаг микро-некроза вблизи портального тракта, $\times 20$; в — ЛХТА-2034, 100 мг/кг $\times 14$. Тридцатые сутки после курса. Жировая дистрофия гепатоцитов вблизи триады, $\times 40$

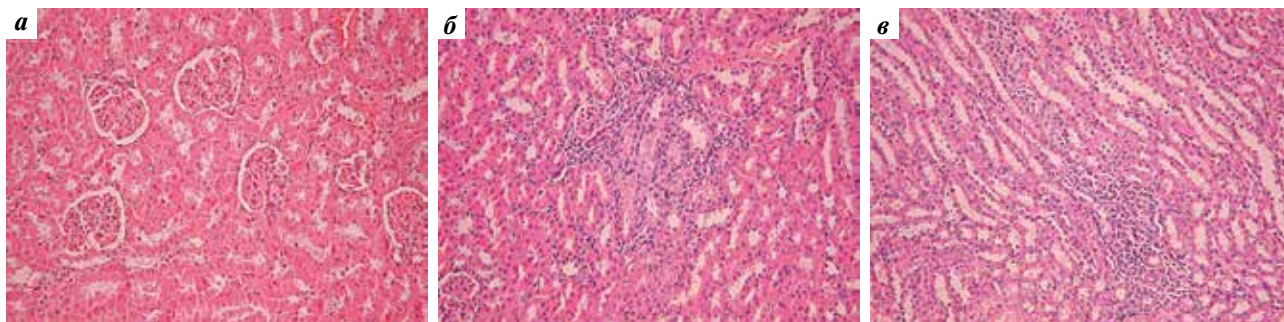


Рис. 8. Почка крысы: а – интактный контроль, $\times 20$; б – ЛХТА-2034, 20 мг/кг $\times 14$. Первые сутки после курса. Очаг некроза извитых канальцев вблизи клубочка и сосуда, $\times 20$; в – ЛХТА-2034, 100 мг/кг $\times 14$. Первые сутки после курса. Очаг некроза прямых канальцев в мозговой зоне, $\times 20$

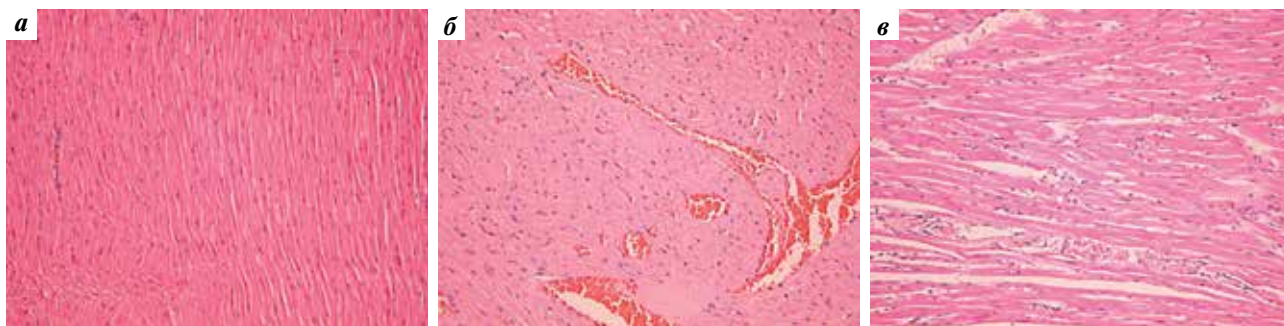


Рис. 9. Миокард крысы: а – интактный контроль, $\times 20$; б – ЛХТА-2034, 20 мг/кг $\times 14$. Первые сутки после курса. Резкое полнокровие капилляров и венул, $\times 20$; в – ЛХТА-2034, 100 мг/кг $\times 14$. Тридцатые сутки после курса. Отек, очаги атрофии мышечных волокон, $\times 20$

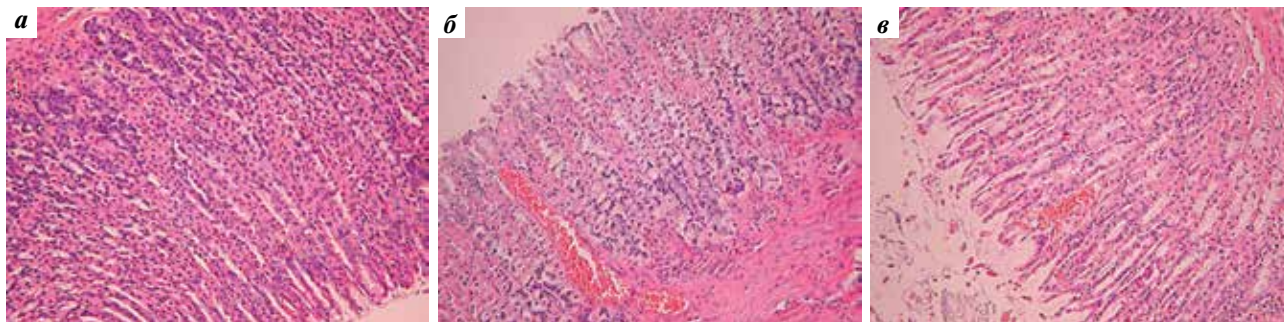


Рис. 10. Желудок крысы: а – интактный контроль, $\times 20$; б – ЛХТА-2034, 20 мг/кг $\times 14$. Первые сутки после курса. Умеренная атрофия слизистой оболочки, деструкция обкладочных клеток и покровно-ямочного эпителия, полнокровие капилляров, $\times 20$; в – ЛХТА-2034, 100 мг/кг $\times 14$. Первые сутки после курса. Глубокая атрофия эпителия желез, атрофия, деструкция и десквамация покровно-ямочного эпителия, деструкция обкладочных клеток $\times 20$

наряду с некрозом ткани, был выявлен апоптоз единичных гепатоцитов. Через 1 мес после курса введенный деструктивные изменения в печени отсутствуют, но в отдельных клетках появляются дистрофические (см. рис. 7в).

При 5-кратном увеличении разовой дозы ЛХТА-2034 резко усиливается повреждающее действие препарата на ткань почек: очаги некроза канальцев возникают не только в корковой зоне, но и в других зонах почки (см. рис. 8в). В отдельных клубочках юкстамедуллярной зоны появляются очаги деструкции капилляров. В течение 1 мес структура почек

восстанавливается, единичные очаги деструкции подвергаются организации.

Применение высокой дозы ЛХТА-2034 приводит как к гемодинамическим нарушениям, так и к очаговому повреждению миокарда, которое у отдельных животных через 1 мес после курса становится причиной атрофии небольших групп мышечных волокон (см. рис. 9в).

При курсовом пероральном введении высокой дозы также отмечается усиление повреждающего действия препарата на слизистую оболочку желудочно-кишечного канала. В желудке к деструктивным

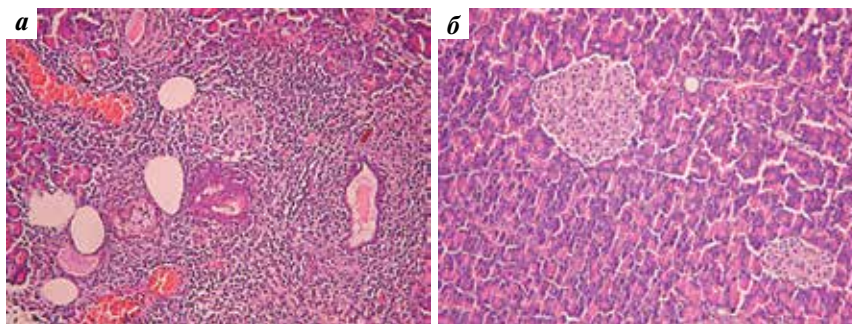


Рис. 11. Поджелудочная железа крысы: а — интактный контроль, $\times 20$; б — ЛХТА-2034, 100 мг/кг $\times 14$. Тридцатые сутки после курса. Очаг некроза ацинусов. Некроз желчных протоков. Кисты на месте разрушения протоков. Деструкция клеток в островке Лангерганса, $\times 20$

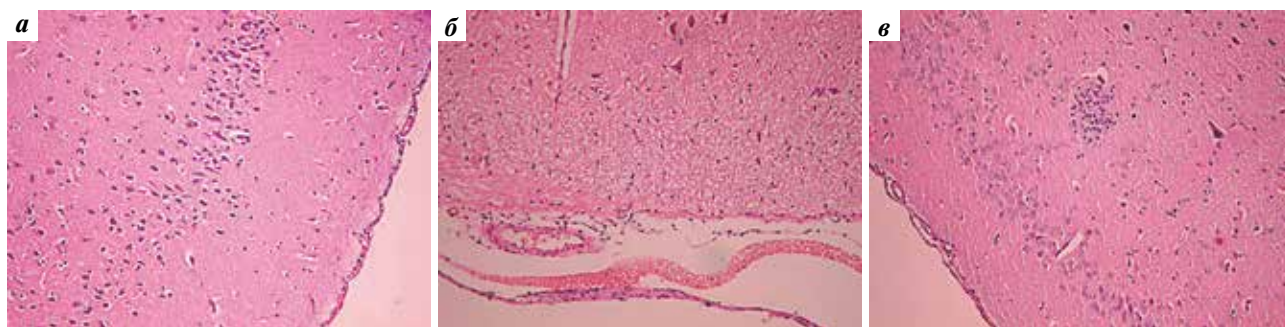


Рис. 12. Мозг крысы. Большое полушарие: а — интактный контроль, $\times 20$; б — ЛХТА-2034, 100 мг/кг $\times 14$. Первые сутки после курса. Набухание и разрывление мягкой мозговой оболочки, вакуолизация нейронию молекулярного слоя, отек вокруг капилляров наружной пирамидной пластинки, клетки-тени на месте пирамидных нейронов, $\times 20$; в — ЛХТА-2034, 100 мг/кг $\times 14$. Первые сутки после курса. Клетки астроглии на месте пирамидных нейронов, микроглиальный узелок в наружной зернистой пластинке, уменьшение количества пирамидных нейронов во внутренней пирамидной пластинке, $\times 20$

изменениям покровно-ямочного эпителия присоединяется глубокая атрофия слизистой оболочки, которая сохраняется до конца наблюдения (см. рис. 10в). В тощей и подвздошной кишке усиливаются гиперемия, отек и увеличивается объем ткани, подвергающейся деструкции. В течение 1 мес структура слизистой оболочки тощей кишки восстанавливается, в подвздошной сохраняются признаки атрофии. Появляются умеренно выраженные воспалительные реакции в толстой кишке, которые в слабой форме сохраняются до конца эксперимента.

При введении препарата в высокой дозе на 30-е сутки по окончании курса были обнаружены обширные очаги некроза вокруг сосудов и протоков экзокринной части поджелудочной железы (рис. 11). Несмотря на то что эти изменения были выявлены только у 1 животного, они заслуживают особого внимания, так как затрагивают не только ацинусы, но и отдельные желчные протоки, а также сопровождаются деструкцией клеток островков Лангерганса, расположенных в зоне некроза.

Применение препарата в высокой дозе вызывает атрофию лимфоидной ткани. В лимфоузлах она выражена умеренно. В селезенке глубокая атрофия сопровождается активацией экстрамедуллярного

кроветворения, в отдельных долях тимуса она приобретает характер аплазии. Если структура селезенки и лимфоузлов восстанавливается полностью, то в отдельных долях тимуса регенерация лимфоидной ткани происходит на фоне склеротических изменений стромы.

Изучение структуры мозга позволяет утверждать, что при использовании в высоких дозах препарат преодолевает гематоэнцефалический барьер, вызывая токсическую энцефалопатию, морфологические признаки которой наблюдаются в сером и белом веществе больших полушарий и мозжечке. Сразу после курса введений ЛХТА-2034 они проявляются в виде полнокровия сосудов мягкой мозговой оболочки и белого вещества, перикапиллярного отека в сером веществе, дегенеративных изменений отдельных пирамидных нейронов (рис. 12а — контроль, 12б).

Через 1 мес после прекращения введений регистрируются кровоизлияния в мягкой мозговой оболочке больших полушарий и мозжечка. Развивается диффузная атрофия мозговых структур серого вещества, которая выражается в дегенеративных изменениях нейронов, замещении наружного слоя пирамидных нейронов клетками астроглии, формировании микроглиальных узелков в наружной зернистой

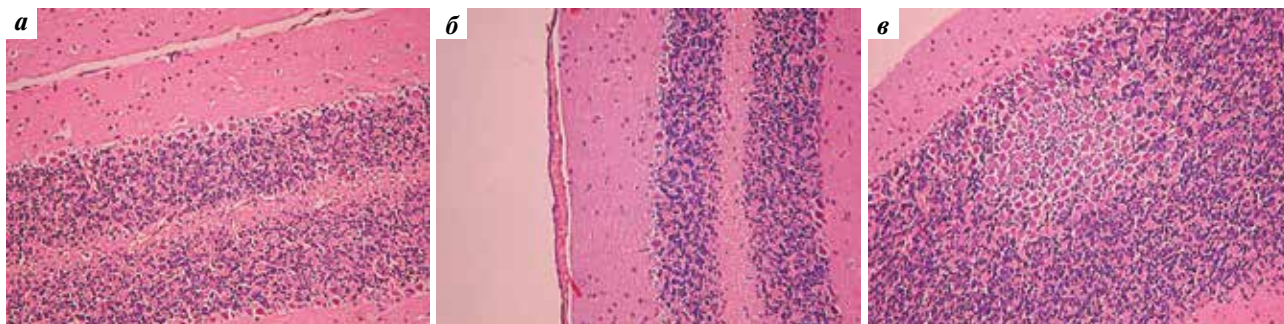


Рис. 13. Мозжечок крысы: а — интактный контроль, $\times 20$; б — ЛХТА-2034, 100 мг/кг $\times 14$. Первые сутки после курса. Полнокровие капилляров мягкой мозговой оболочки. Разрежение и дегенерация отдельных клеток Пуркинье, $\times 20$; в — ЛХТА-2034, 100 мг/кг $\times 14$. Тридцатые сутки после курса. Очаг гиперплазии клеток Пуркинье, $\times 20$

пластинке, уменьшении количества пирамидных нейронов во внутренней пирамидной пластинке (см. рис. 12в). Наиболее тяжелые изменения локализуются в сером и белом веществе затылочной области.

В мозжечке препарат вызывает дегенерацию, разрежение, а на отдельных участках и выпадение клеток Пуркинье (рис. 13а — контроль, 13б), которое, по-видимому, компенсируется их очаговой гиперплазией (см. рис. 13в).

Сопоставляя клиничко-лабораторные и патоморфологические данные, полученные в ходе исследования, можно утверждать, что гастроинтестинальная токсичность ЛХТА-2034 по критерию прироста массы тела выявляется только при введении препарата в высокой дозе. При патоморфологическом исследовании найдены изменения в желудке и отделах кишечника, интенсивность которых зависит от дозы ЛХТА-2034.

Гематотоксические свойства ЛХТА-2034 при курсовом введении в 1 ТД выражены умеренно и регистрируются только при изучении структуры лимфоидных органов. При применении в высокой дозе препарат вызывает транзитное уменьшение числа эритроцитов, содержания гемоглобина, величины гематокрита, а также снижение общего количества лейкоцитов в периферической крови, которое происходит за счет относительной лимфоцитопении. Лимфотоксическое действие препарата подтверждается атрофическими изменениями лимфоидной ткани селезенки, лимфоузлов и тимуса, а также уменьшением массового коэффициента тимуса.

Нефротоксическое действие ЛХТА-2034 определяется как клинически, так и морфологически. При пятикратном превышении ТД оно выражается в повреждении канальцевой и клубочковой системы почек и проявляется в виде длительно сохраняющейся гематурии и нитратурии.

Гепато- и кардиотоксические свойства препарата регистрируются только морфологически. Влияние ЛХТА-2034 на структуру миокарда выявлено у животных, получавших препарат в высокой дозе, и проявляется на позднем сроке наблюдения.

Изучение структуры мозга позволяет утверждать, что при использовании в высокой дозе препарат преодолевает гематоэнцефалический барьер и вызывает токсическую энцефалопатию.

Заключение

Результаты изучения токсичности ЛХТА-2034 в хроническом эксперименте на крысах позволяют заключить, что препарат обладает гемато-, нефро-, кардио-, гепатотоксическими свойствами, оказывает токсическое действие на пищеварительную систему. В дозе, пятикратно превышающей терапевтическую, ЛХТА-2034 вызывает изменения структуры мозга. Функциональные и морфологические изменения, возникающие под действием ЛХТА-2034, зависят от величины примененной дозы. При курсовом введении препарата в дозе, эквивалентной 1 ТД, они полностью обратимы в течение 30 дней. Это позволяет рекомендовать ЛХТА-2034 для дальнейшего изучения.

Л И Т Е Р А Т У Р А / R E F E R E N C E S

1. Клиническая фармакология по Гудману и Гилману. Под ред. А.Г. Гилмана. Т. 3. М.: Практика, 2006. 488 с. [Goodman and Gilman's clinical pharmacology. Vol. 3. Ed. A.G. Gilman. Moscow: Praktika, 2006. 488 p. (In Russ.)].
2. Руководство по химиотерапии опухолевых заболеваний. Под ред. Н.И. Переводчиковой, В.А. Горбуновой. М.: Практическая медицина, 2015. 688 с. [Guidelines for chemotherapy of tumor diseases. Eds. N.I. Perevodchikova, V.A. Gorbunova. Moscow: Prakticheskaya Meditsina, 2015. 688 Pp. (In Russ.)].
3. Cunningham D., Starling N., Rao S. et al. Capecitabine and oxaliplatin for advanced esophagogastric cancer. *N Engl J Med* 2008;358(1):36–46. DOI: 10.1056/NEJMoa073149. PMID: 18172173.
4. Decision Resources Survey. Oral chemotherapeutic agents: key success factors and reimbursement issues. A survey of US Oncologists and HMO pharmacy directors. June 2005.
5. Shchekotikhin A.E., Luzikov Y.N., Preobrazhenskaya M.N. et al. 3-aminomethyl derivatives of 4,11-dihydroxynaphtho [2,3-f] indole-5,10-dione for circumvention of anticancer drug resistance. *Bioorg Med Chem* 2005;13(6):2285–91. DOI: 10.1016/j.bmc.2004.12.044. PMID: 15727877.
6. Shchekotikhin A.E., Glazunova V.A., Dezhenkova L.G. et al. Synthesis and evaluation of new antitumor 3-aminomethyl-4,11-dihydroxynaphtho [2,3-f]indole-5,10-diones. *Eur J Med Chem* 2014;86:797–805. DOI: 10.1016/j.ejmech.2014.09.021. PMID: 25244612.
7. Shchekotikhin A.E., Dezhenkova L.G., Tsvetkov V.B. et al. Discovery of antitumor anthra[2,3-b]furan-3-carboxamides: Optimization of synthesis and evaluation of antitumor properties. *Eur J Med Chem* 2016;112:114–29. DOI: 10.1016/j.ejmech.2016.01.050. PMID: 26890118.
8. Щекотихин А.Е., Преображенская М.Н., Синкевич Ю.Б. и др. Цитотоксические линейные гетероциклические производные антрацендиона, содержащие в боковой цепи циклические диамины, активные в отношении опухолевых клеток с множественной лекарственной устойчивостью. Патент РФ № 2412166 от 15.06.2009. [Shchekotikhin A.E., Preobrazhenskaja M.N., Sinkevich J.B. et al. Cytotoxic linear heterocyclic derivatives of anthracenedione having in side chain cyclic diamines, active towards tumour cells with multidrug resistance. Patent RU 2412166 (In Russ.)].
9. Щекотихин А.Е., Синкевич Ю.Б., Деженкова Л.Г. и др. Противоопухолевый антрафурандион и фармацевтические композиции на его основе. Патент РФ № 2554939 от 03.06.15. [Shchekotikhin A.E., Sinkevich J.B., Dezhenkova L.G. et al. Antitumor anthrafurandione and pharmaceutical compositions based on it. Patent RU 2554939 (In Russ.)].
10. Council of Europe. European Convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. ETS 1986:123.
11. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Под ред. А.Н. Миронова. Часть 1. М.: Гриф и Ко, 2012. С. 13–24. [Guideline for preclinical studies of drugs(part 1). Moscow: Grif i Ko, 2012. P. 13–24 (In Russ.)].
12. Freireich E.J., Gehan E.A., Rall D.P. et al. Quantitative comparison of toxicity of anticancer agents in mouse, rat, hamster, dog, monkey and man. *Cancer Chemother Rep* 1966;50(4):219–44. PMID: 4957125.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.