

ПРОТИВООПУХОЛЕВАЯ АКТИВНОСТЬ ОРМУСТИНА НА ПЕРЕВИВАЕМЫХ СОЛИДНЫХ ОПУХОЛЯХ МЫШЕЙ. ЧАСТЬ I

Н.С. Сапрыкина¹, Л.М. Борисова¹, М.П. Киселева¹, В.П. Краснов², Г.Л. Левит², В.В. Мусияк²,
М.А. Барышникова, В.М. Бухман¹, З.С. Шпрах¹

¹ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России;
Россия, 115478 Москва, Каширское ш., 24;

²ФГБУН «Институт органического синтеза им. И.Я. Постовского» Уральского отделения РАН;
Россия, 620990 Екатеринбург, ул. С. Ковалевской, 22

Контакты: Нина Семеновна Сапрыкина Saprikina.nin@yandex.ru

Введение. Препараты из группы производных *N*-алкил-*N*-нитрозомочевина активно и успешно применяются в онкологической практике. Однако поиск новых высокоэффективных противоопухолевых агентов из этой группы в настоящее время является актуальным.

Цель исследования — изучение *in vivo* противоопухолевой активности нового отечественного препарата из группы производных *N*-алкил-*N*-нитрозомочевина — ормустина — на солидных перевиваемых опухолях мышей: меланоме B16 и эпидермоидной карциноме легкого Льюис.

Материалы и методы. Оценку противоопухолевой активности ормустина и препарата сравнения — мюстофорана (Les Laboratoires Servier, Франция) — проводили на мышах B6D2F1. Ормустин в диапазоне доз 50–135 мг/кг вводили мышам внутривенно однократно. Мюстофоран вводили внутривенно 2-кратно в дозе 32 мг/кг (на 2-е и 9-е сутки) и 3-кратно в дозе 25 мг/кг (на 2, 6 и 9-е сутки). Наблюдение за животными продолжали до их гибели. Противоопухолевый эффект препаратов оценивали по торможению роста опухоли, увеличению продолжительности жизни опытных мышей по сравнению с контрольными.

Результаты. Установлена терапевтическая доза ормустина, равная 125 мг/кг, при однократном внутривенном введении мышам с меланомой B16 или эпидермоидной карциномой легкого Льюис.

Выводы. Ормустин обладает высокой противоопухолевой активностью на солидных перевиваемых опухолях мышей. На меланоме B16 ормустин по терапевтическому эффекту не уступает мюстофорану.

Ключевые слова: противоопухолевые препараты, нитрозоалкилмочевина, ормустин, мюстофоран, перевиваемые опухоли мышей

DOI: 10.17650/1726-9784-2017-16-4-55-60

ANTITUMOR ACTIVITY OF ORMUSTINE AGAINST TRANSPLANTABLE SOLID MURINE TUMORS. PART I

N.S. Saprykina¹, L.M. Borisova¹, M.P. Kiseleva¹, V.P. Krasnov², G.L. Levit², V.V. Musiyak²,
M.A. Baryshnikova¹, V.M. Bukhman¹, Z.S. Shprakh¹

¹N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology;
24 Kashirskoe Sh., Moscow 115478, Russia;

²Postovsky Institute of Organic Synthesis, Ural Branch of RAS; 22 S. Kovalevskaya St., Ekaterinburg 620990, Russia

Background. Drugs of nitrosourea class are actively and successfully administered in oncology practice. However, at present, the search for new antitumor agents of this class is very urgent.

Objective: to examine *in vivo* antitumor activity of ormustine, a new Russian drug from alkylnitrosourea class, against solid transplantable murine tumors: melanoma B16 and epidermoid Lewis lung carcinoma.

Materials and methods. The assessment of antitumor activity of ormustine and a reference drug mustophoran (Les Laboratoires Servier, France) was carried out in B6D2F1 mice. Ormustine was administered intravenously at a single dose of 50–135 mg/kg. Mustophoran was administered intravenously at a dose of 32 mg/kg twice (on days 2 and 9) and 3 times at a dose of 25 mg/kg (on days 2, 6 and 9). The follow-up period lasted till the death of animals. The antitumor effect of agents was assessed by the tumor growth inhibition and increase in life span of experimental mice compared to control animals.

Results. It has been defined that the single intravenous dose of ormustine (125 mg/kg) is therapeutic for mice bearing melanoma B16 and epidermoid Lewis lung carcinoma.

Conclusions. Ormustine possesses high antitumor effect against solid transplantable murine tumors. Ormustine is not inferior to mustophoran in the therapeutic effect against melanoma B16.

Key words: antitumor agents, alkylnitrosoureas, ormustine, mustophoran, transplantable murine tumors

Введение

Производные N-алкил-N-нитрозомочевины (НАМ) как противоопухолевые препараты успешно применяются для лечения злокачественных глиом, метастазов в головной мозг, меланом, а также в комбинированной химиотерапии ряда солидных опухолей и гемобластозов. Однако препараты из группы НАМ вызывают серьезные системные осложнения, для них характерна высокая отсроченная и кумулятивная токсичность, что в сочетании с низкой селективностью значительно ограничивает их использование для химиотерапии [1–4].

Для повышения избирательности действия и снижения токсичности были созданы производные НАМ, молекулы которых содержат в качестве носителей цитотоксических фрагментов остатки аминокислот. В клинической практике применяется производное НАМ фотемустин (мюстофоран) – биоизостерический аналог аланина диэтил-[1-[3-(2-хлорэтил)-3-нитрозоуреидо]этил]фосфонат, эффективный в моно- и поли-терапии при различных неоплазиях (меланома, опухоли мозга, острая рефрактерная лейкемия) [5–10]. Противоопухолевый препарат лизомустин – производное L-лизина, созданное в результате совместных исследований ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России и Института органического синтеза им. И.Я. Постовского Уральского отделения РАН – применяют для лечения злокачественной меланомы и мелкоклеточного рака легкого [11–13]. Фотемустин и лизомустин относятся к III поколению противоопухолевых препаратов – производных нитрозомочевины.

В продолжение исследований по созданию оригинальных противоопухолевых препаратов из подгруппы производных НАМ, содержащих в своем составе остатки аминокислот, на основе природного L-орнитина был синтезирован аналог лизомустина – ормустин, представляющий собой смесь изомеров 8-(2-хлорэтил)-6-нитрозо-L-цитруллина и 8-(2-хлорэтил)-8-нитрозо-L-цитруллина [14]. Лекарственная форма «Ормустин, лиофилизат для приготовления раствора для инъекций 125 мг» в настоящее время успешно проходит доклинические испытания в качестве потенциального противоопухолевого средства [15–20]. Ранее была установлена ее высокая противоопухолевая активность при однократном внутривенном (в/в) введении мышам с перевиваемыми лимфолейкозами [21].

Цель настоящего исследования – оценка *in vivo* специфической активности лекарственной формы «Ормустин, лиофилизат для приготовления раствора для инъекций 125 мг» на солидных перевиваемых опухолях мышей: меланоме В16 и эпидермоидной карциноме легкого Льюис (Lewis lung carcinoma, LLC).

Материалы и методы

Оценку противоопухолевой активности ормустина *in vivo* на солидных перевиваемых опухолях мышей проводили в соответствии с «Методическими рекомендациями по доклиническому изучению противоопухолевой активности лекарственных средств» [22]. Штаммы экспериментальных опухолей с различными кинетическими и патологическими параметрами – меланома В16 и LLC – были получены из Банка опухолевых штаммов ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России и поддерживались путем стандартных серийных перевивок (каждые 11–13 дней) на мышах линии С57В1/6j (меланома В16 – подкожно (п/к), LLC – внутримышечно) [23].

Опыты проводили на иммунокомпетентных мышах гибридах первого поколения F1(DBA/2 × С57В1/6j) (В6D2F1), самцах и самках с массой тела 18–25 г. Животных получили из филиала «Столбовая» ФГБНУ «Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства» и содержали в виварии ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России на брикетированном корме с постоянным доступом к воде. Все эксперименты проводили согласно с этическими аспектами проведения исследований на биомоделях и лабораторных животных, принятыми в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России [24, 25].

Опухоли мышам перевивали п/к в область подмышечной впадины передней лапы по стандартным методикам [22, 23]. Затем методом случайного выбора формировали контрольную (10–12 животных) и опытные группы (по 8–9 животных).

В работе использовали лекарственную форму «Ормустин, лиофилизат для приготовления раствора для инъекций 125 мг», полученную в лаборатории разработки лекарственных форм Научно-исследовательского института экспериментальной диагностики и терапии опухолей ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России [15, 16]. Леофилизат *ex tempore* регидратировали 5 % раствором глюкозы и вводили однократно в/в мышам в диапазоне доз 50–135 мг/кг через 48 ч после перевивки опухолей. Однократное введение препарата соответствует режиму, применяемому в клинической практике для данной группы противоопухолевых соединений [1].

В качестве препарата сравнения использовали мюстофоран (фотемустин; диэтил-[1-[3-(2-хлорэтил)-3-нитрозоуреидо]этил]фосфонат) производства Les Laboratoires Servier (Франция). Препарат в оригинальном растворителе вводили мышам В6D2F1 в/в 2-кратно в дозе 32 мг/кг на 2-е и 9-е сутки (суммарная доза 64 мг/кг) и 3-кратно в дозе 25 мг/кг на 2, 6 и 9-е сутки (суммарная доза 75 мг/кг). Дозы мюстофорана для мышей были рассчитаны

в соответствии с дозами, используемыми в клинике для человека. Они совпали с дозами для мышей (34–50 мг/кг), указанными в литературе [26]. Также был использован режим введения мюстофорана животным, аналогичный эффективному режиму применения фотемустина в терапии опухолей человека [1].

Объемы опухолей у экспериментальных животных измеряли каждые 3–5 дней в зависимости от скорости роста опухоли. Объем опухоли (V) вычисляли умножением 3 максимальных взаимно перпендикулярных размеров опухоли (длина, ширина, высота) у каждого животного [22].

Критериями оценки противоопухолевой активности служили торможение роста опухоли (ТРО, %) и увеличение продолжительности жизни (УПЖ, %) подопытных животных по сравнению с контрольными, которые рассчитывали по формулам:

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

где V_k – средний объем опухолей в контрольной группе, V_o – средний объем опухолей в опытной группе (мм^3);

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

где СПЖ_k – средняя продолжительность жизни животных в контрольной группе (дни), СПЖ_o – средняя продолжительность жизни животных в опытной группе (дни).

Минимальные критерии активности – ТРО ≥ 50 %, УПЖ ≥ 25 % [22].

Наблюдение за животными продолжали до их гибели. О токсичности препаратов судили по более ранней гибели мышей опытных групп по сравнению с гибелью контрольных животных и макроскопической картине внутренних органов при их аутопсии, а также по снижению массы тела более чем на 20 %.

Статистическую значимость противоопухолевого эффекта по отношению к контрольной группе определяли по методу Фишера–Стьюдента. Различия между сравниваемыми группами считались статистически достоверными при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

В табл. 1–3 представлены результаты тестирования противоопухолевой активности ормустина *in vivo* на солидных перевиваемых опухолях мышей: меланоме В16 и LLC.

Однократное в/в введение ормустина в интервале доз 50–135 мг/кг мышам В6D2F1 с меланомой В16 вызывало дозозависимое значительное и продолжительное ингибирование роста первичных подкожных опухолевых узлов (см. табл. 1). В дозе 50 мг/кг ормустина умеренно подавлял рост опухоли только с 6-го до 13-го дня после окончания введения препарата (ТРО 85–54 % соответственно, УПЖ 25 %), тогда как в дозе 125 мг/кг ингибирующее действие ормустина было значительным (ТРО 100–87 %, УПЖ 50 %) и длительным (в течение 20 дней после окончания введения препарата). Увеличение дозы препарата до 135 мг/кг не вызвало дальнейшего усиления ингибирования роста меланомы В16, но привело к гибели при явлениях токсичности 22 % животных в группе.

Таким образом, доза ормустина 125 мг/кг при однократном в/в введении на 2-е сутки опыта мышам с меланомой В16 является терапевтической.

В табл. 2 представлены результаты сравнения эффективности действия ормустина и мюстофорана на рост меланомы В16 у мышей В6D2F1.

Для сравнения с мюстофораном использовали наиболее эффективные по критерию УПЖ дозы ормустина: 125 и 135 мг/кг (см. табл. 1). Мюстофоран в дозе 32 мг/кг при 2-кратном в/в введении на 2-е и 9-е сутки (суммарная доза 64 мг/кг) проявил

Таблица 1. Противоопухолевая активность ормустина при однократном в/в введении мышам с меланомой В16

№ группы	Доза, мг/кг	ТРО, %					УПЖ, %	Гибель от токсичности, <i>n/N</i> (%) **
		Дни после окончания лечения						
		6	9	13	16	20		
1	50	85*	80*	54*	47	40	25	0/9
2	100	100*	99*	98*	86*	68*	28	0/9
3	125	100*	99*	99*	99*	87*	50***	0/9
4	135	100*	99*	99*	99*	96*	63***	2/9 (22)

*Различия с контрольной группой статистически достоверны ($p < 0,05$); ** n/N (%) – отношение числа животных, погибших от токсичности препарата, к общему числу животных в группе, % случаев; ***различие в средней продолжительности жизни мышей между группами 3 и 4 недостоверно ($p > 0,05$).

Таблица 2. Сравнение противоопухолевой активности ормустина и мюстофорана при в/в введении мышам с меланомой B16

№ группы	Препарат, доза (мг/кг) × режим введения	ТРО, %					УПЖ, %	Гибель от токсичности, n/N (%) **
		Дни после перевивки опухоли						
		7	10	14	17	21		
1	Ормустин 125 × 1 раз на 2-е сутки	99	99	99	97	91	84*	0/8
2	Ормустин 135 × 1 раз на 2-е сутки	99	99	99	97	86	93***	1/8 (12,5)
3	Мюстофоран 32 × 2 раза (на 2-е и 9-е сутки)	98	99	99	99	99	119*	3/8 (37,5)
4	Мюстофоран 25 × 3 раза (на 2, 6 и 9-е сутки)	99	99	99	99	99	104***	1/8 (12,5)

*Различия в средней продолжительности жизни мышей между группами 1 и 3 статистически недостоверно ($p > 0,05$); **n/N (%) — отношение числа животных, погибших от токсичности препарата, к общему числу животных в группе, % случаев; ***различия в средней продолжительности жизни мышей между группами 2 и 4 недостоверно ($p > 0,05$).

длительную стойкую противоопухолевую активность (ТРО 98–99 % до 21-го дня после перевивки опухоли). Ормустин в терапевтической дозе 125 мг/кг при однократном в/в введении также значительно (ТРО 99–91 %) и длительно (до 21-го дня после перевивки опухоли) ингибировал рост меланомы B16. Оба препарата в использованных дозах и режимах значительно увеличивали продолжительность жизни мышей в опытных группах по сравнению с контрольными (см. табл. 2). УПЖ при применении ормустина в дозе 125 мг/кг было несколько ниже, чем при применении мюстофорана в суммарной дозе 64 мг/кг: 84 % против 119 % соответственно, однако это различие являлось статистически недостоверным ($p > 0,05$). Мюстофоран при этом проявил достаточно высокую токсичность, вызвав гибель 3 из 8 животных (37,5 % случаев).

При повышении дозы ормустина до 135 мг/кг при однократном в/в введении и суммарной дозы мюстофорана до 75 мг/кг при 3-кратном в/в введении оба препарата оказались эквитоксичными и вызывали гибель мышей в 12,5 % случаев. УПЖ

при применении ормустина составило 93 %, а при применении мюстофорана — 104 %, однако различие было статистически недостоверным ($p > 0,05$).

Таким образом, противоопухолевые эффекты ормустина и мюстофорана в изученных дозах и режимах в отношении меланомы B16 мышей равнозначны.

Следует отметить, что на мышах BALB/c nude с п/к перевитыми ксенографтами беспигментной меланомы человека Mel7 (Bro) лечение ормустином и мюстофораном также оказалось равнозначным по уровню достоверного противоопухолевого эффекта и переносимости терапии [27].

В табл. 3 представлены результаты изучения противоопухолевого действия ормустина на LLC мышей.

Отмечено, что ормустин в исследуемых дозах при однократном в/в введении дозозависимо ингибировал рост первичного опухолевого узла у мышей с LLC. Высокий статистически значимый противоопухолевый эффект ормустина наблюдался при дозе 100 мг/кг: ТРО 92–72 % с 4-го по 18-й день после

Таблица 3. Противоопухолевая активность ормустина при однократном в/в введении мышам с LLC

№ группы	Доза, мг/кг	ТРО, %							УПЖ, %	Гибель от ток- сичности, n/N (%) **
		Дни после окончания лечения								
		4	11	18	22	25	29	35		
1	100	92*	89*	72*	58*	43	37	28	26	0/8
2	125	97*	99*	97*	91*	85*	76*	66*	35	0/8
3	135	95*	99*	93*	88*	85*	74*	67*	16	1/8 (12,5)

*Различия с контрольной группой статистически достоверны ($p < 0,05$); **n/N (%) — отношение числа животных, погибших от токсичности препарата, к общему числу животных в группе, % случаев.

окончания введения препарата, УПЖ 26 %. Максимальный терапевтический эффект ормустина на LLC отмечался при его введении в терапевтической дозе 125 мг/кг: ТРО от 97–99 до 85 % в течение 25 дней. Противоопухолевый эффект сохранялся до 35-го дня наблюдения (ТРО 66 %), УПЖ при этом составляло 35 %.

Повышение дозы ормустина до 135 мг/кг не давало преимуществ по критерию ТРО (95–67 % в течение 35 дней после окончания лечения) перед дозой 125 мг/кг. При этом УПЖ составило 16 % и наблюдалась гибель 1 из 8 подопытных животных (12,5 % случаев), что свидетельствует о токсическом действии ормустина на организм мышей.

Выводы

В результате проведенных доклинических исследований нового отечественного препарата «Ормус-

тин, лиофилизат для приготовления раствора для инъекций 125 мг» выявлена его высокая противоопухолевая активность в отношении солидных экспериментальных опухолей мышей: меланомы В16 и LLC. Установлено, что при применении ормустина на перевиваемых опухолях мышей доза 125 мг/кг является терапевтической. Ормустин при однократном в/в введении ингибирует рост меланомы В16 на 100–87 % в течение 20 дней и увеличивает продолжительность жизни подопытных мышей на 50 %, замедляет рост LLC на 99–66 % в течение 35 дней, УПЖ мышей при этом составляет 35 %.

Изучение противоопухолевой активности отечественного препарата ормустин в сравнении с коммерческим препаратом мюстофоран при в/в введении на меланоме В16 показало, что ормустин по терапевтическому эффекту не уступает мюстофорану.

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

1. Переводчикова Н.И. Клинико-фармакологическая характеристика противоопухолевых средств. В кн.: Руководство по химиотерапии опухолевых заболеваний. Под ред. Н.И. Переводчиковой и В.А. Горбуновой. М.: Практическая медицина, 2015. С. 37–41, 49–57.
2. Островская Л.А., Корман Д.Б., Деметьева Н.П. и др. Препараты класса нитроалкилмочевин в отечественной противоопухолевой химиотерапии. Российский биотерапевтический журнал 2004;3(1):24–36.
3. Nikolova T., Roos W.P., Krämer O.H. et al. Chloroethylating nitrosoureas in cancer therapy: DNA damage, repair and cell death signaling. *Biochim Biophys Acta* 2017;1868(1):29–39. DOI: 10.1016/j.bbcan.2017.01.004. PMID: 28143714.
4. Сыркин А.Б., Горбачева Л.Б. Биохимические механизмы действия N-алкил-N-нитрозомочевин. Возможные причины лекарственной устойчивости к этим соединениям. Экспериментальная и клиническая фармакология 1996;59(2):69–75.
5. Поддубная И.В. Клиническое значение противоопухолевого препарата мюстофоран. Современная онкология 2000;2(4):121–3.
6. Quéreux G., Dréno B. Fotemustine for the treatment of melanoma. *Expert Opin Pharmacother* 2011;12(18):2891–904. DOI: 10.1517/14656566.2011.633513. PMID: 22077794.
7. De Rossi A., Rossi L., Laudisi A. et al. Focus on fotemustine. *J Exp Clin Cancer Res* 2006;25(4):461–8. PMID: 17310834.
8. Lombardi G., Farina P., Della Puppa A. et al. An overview of fotemustine in high-grade gliomas: from single agent to association with bevacizumab. *Biomed Res Int* 2014;2014:698542. DOI: 10.1155/2014/698542. PMID: 24800248.
9. Pérez-Segura P., Manneh R., Ceballos I. et al. GEINOFOTE: efficacy and safety of fotemustine in patients with high-grade recurrent gliomas and poor performance status. *Clin Transl Oncol* 2016;18(8):805–12. DOI: 10.1007/s12094-015-1444-2. PMID: 26542177.
10. Fabi A., Metro G., Vidiri A. et al. Low-dose fotemustine for recurrent malignant glioma: a multicenter phase II study. *J Neurooncol* 2010;100(2):209–15. DOI: 10.1007/s11060-010-0163-3. PMID: 20352471.
11. Краснов В.П., Чупахин О.Н., Левит Г.Л. и др. Химические аспекты создания оригинального противоопухолевого препарата лизомустин. В кн.: Экспериментальная онкология на рубеже веков. Под ред. М.И. Давыдова и А.Ю. Барышниковой. М.: РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, 2003. С. 135–46.
12. Горбунова В.А., Манзюк Л.В., Демидов Л.В., Харкевич Г.Ю. Лизомустин — отечественный препарат из группы производных нитрозомочевин в лечении меланомы кожи. Российский биотерапевтический журнал 2014;13(1):55–6.
13. Краснов В.П., Левит Г.Л., Барышникова М.А. и др. Нитрозомочевинны на основе аминокислот. Оригинальный противоопухолевый препарат лизомустин. Российский биотерапевтический журнал 2013;12(2):46.
14. Краснов В.П., Левит Г.Л., Матвеева Т.В. и др. N-нитрозо-N-[(2-хлорэтил)карбамоил]-L-орнитин. Патент на изобретение № 2503657 от 24.08.2012.
15. Nikolaeva L., Oborotova N., Bunyatyan N. et al. The development of a parenteral pharmaceutical formulation of a new class of compounds of nitrosourea. *Pharmaceutics* 2016;9(4):68. DOI: 10.3390/ph9040068.
16. Николаева Л.Л., Ланцова А.В., Санарова Е.В. и др. Парентеральная лекарственная форма нового соединения из класса алкилнитрозомочевин. Российский биотерапевтический журнал 2015;14(1):113.
17. Грищенко И.В., Альбассит Б., Барышников М.А. и др. Сравнение цитотоксического действия 2 лекарственных форм противоопухолевых препаратов из класса нитрозомочевин. Российский биотерапевтический журнал 2014;13(1):49–54.
18. Барышников М.А., Альбассит Б., Сапрыкина Н.С. и др. Противоопухолевая активность нового соединения из класса нитроалкилмочевин. Российский биотерапевтический журнал 2013;12(2):8.

19. Сапрыкина Н.С., Барышникова М.А., Краснов В.П. и др. Противоопухолевая активность соединения OR-2011 на перевиваемых меланомах мышей. Российский биотерапевтический журнал 2014;13(1):125.
20. Пятаев Н.А., Минаева О.В., Столяров Г.С. и др. Фармакокинетика и тканевое распределение противоопухолевого химиопрепарата ормустина. Российский биотерапевтический журнал 2015;14(1):124.
21. Сапрыкина Н.С., Борисова Л.М., Киселева М.П. и др. Противоопухолевая активность ормустина на перевиваемых лейкозах мышей. Российский биотерапевтический журнал 2016;15(2):24–31.
22. Трещалина Е.М., Жукова О.С., Герасимова Г.К. и др. Методические рекомендации по доклиническому изучению противоопухолевой активности лекарственных средств. В кн.: Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть I. Под ред. А.Н. Миронина, Н.Д. Бунятян, А.Н. Васильева и др. М.: Гриф и Ко, 2012. С. 640–54.
23. Экспериментальная оценка противоопухолевых препаратов в СССР и США. Под ред. З.П. Софьиной, А.Б. Сыркина, А. Година, А. Кляйна. М.: Медицина, 1980. С. 71–112.
24. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. ETS 1986;123. Available at: <http://www.coe.int>.
25. 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.
26. Vassal G., Boland I., Terrier-Lacombe M.J. et al. Activity of fotemustine in medulloblastoma and malignant glioma xenografts in relation to O6-alkylguanine-DNA-alkyltransferase and alkylpurine-DNA-N-glycosylase activity. Clin Cancer Res 1998;4(2):463–8. PMID: 9516937.
27. Смирнова Г.Б., Борисова Ю.А., Калишьян М.С. и др. Сравнительное изучение нового нитрозопроизводного ормустина с мюстофораном на подкожных ксенографтах меланомы человека Mel7. Российский биотерапевтический журнал 2015;14(1):132–3.