

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ «РОСТОВСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ» МИНИСТЕРСТВА
ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

ДОДОХОВА Маргарита Авдеевна

**ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ВЛИЯНИЯ ГИБРИДНЫХ
ОЛОВООРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ НА РОСТ И РАЗВИТИЕ
ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ**

3.3.3. Патологическая физиология

1.5.4. Биохимия

Диссертация на соискание ученой степени

доктора медицинских наук

Научные консультанты:

доктор медицинских наук, доцент

Котиева Инга Мовлиевна

доктор медицинских наук, доцент

Сафроненко Андрей Владимирович

Симферополь – 2023

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	6
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ: ОЛОВООРГАНИЧЕСКИЕ СОЕДИНЕНИЯ И ПРО/АНТИОКСИДАНТЫ В ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ НА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ МОДЕЛЯХ.....	18
1.1. Строение и свойства оловоорганических соединений.....	18
1.2. Оценка антипролиферативной активности оловоорганических соединений на клеточных моделях злокачественных опухолей.....	25
1.3. Оценка противоопухолевой и антиметастатической активности оловоорганических соединений на моделях перевиваемых опухолей животных.....	34
1.4. Химические соединения с про- и антиоксидантными свойствами в терапии злокачественных опухолей.....	39
1.5. Применение гибридных оловоорганических соединений в патогенетической терапии злокачественных опухолей в эксперименте.....	50
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	63
2.1. Исследуемые соединения.....	63
2.2. Общая характеристика экспериментов на животных.....	65
2.3. Определение характеристик токсичности.....	67
2.4. Опухолевые модели.....	73
2.5. Оценка противоопухолевой и антиметастатической активности на моделях перевиваемых опухолей.....	75
2.6. Морфологическое исследование.....	77
2.7. Иммуногистохимическое исследование.....	79
2.8. Биохимическое исследование.....	79
2.9. Статистическая обработка.....	81
РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	82

ГЛАВА 3. КОМПЛЕКСНАЯ ОЦЕНКА ТОКСИЧНОСТИ ГИБРИДНЫХ ОЛОВООРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ

3.1. Определение класса токсичности исследуемых соединений по протоколу OECD 420.....	85
3.2. Определение токсикометрических характеристик соединений Me-5 и АК-26 при однократном внутривенном введении по протоколу OECD 425.....	90
3.3. Определение токсичности.....	98
3.4. Оценка общетоксического действия, гепато-, кардио- и нефротоксичности в динамике развития интоксикации (крысы линии Wistar-самки) гибридными ООС в МПД.....	99
3.4.1. Оценка клинической картины проявлений интоксикации в период разгара заболевания.....	100
3.4.2. Изменение веса животных.....	102
3.4.3. Сравнительный анализ токсичности тестируемых субстанций по степени выраженности морфологических и биохимических изменений при однократном внутривенном введении гибридных оловоорганических соединений в динамике развития отравления.....	103

ГЛАВА 4. ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ И АНТИМЕТАСТАТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ГИБРИДНЫХ ОЛОВООРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ НА МОДЕЛЯХ ПЕРЕВИВАЕМЫХ ОПУХОЛЕЙ.....

4.1. Скрининговое изучение противоопухолевого и антиметастатического действия гибридных оловоорганических соединений на модели меланомы В16 у мышей.....	130
4.2. Скрининговое изучение противоопухолевого и антиметастатического действия гибридных оловоорганических соединений на модели эпидермоидной карциномы легких Lewis	

(LLC) мышей.....	147
4.3. Комбинированное введение лидерных гибридных ООС с цисплатином.....	169
ГЛАВА 5. УПРОЩЕННАЯ МЕТОДИКА СКРИНИНГОВОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ОЛОВООРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ С ПРЕДПОЛАГАЕМЫМ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫМ ДЕЙСТВИЕМ...	174
ГЛАВА 6. ИЗУЧЕНИЕ НЕКОТОРЫХ ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМОВ ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО И АНТИМЕТАСТАТИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ЛИДЕРНЫХ ГООС....	183
6.1. Интактные животные (крысы-самки линии Wistar).....	187
6.2. Животные-опухоленосители (мыши-самки линии C57Bl/6).....	191
ГЛАВА 7. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ С ПЕРСПЕКТИВОЙ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ ГИБРИДНЫХ ОЛОВООРГАНИЧЕСКИХ ПРОИЗВОДНЫХ.....	209
7.1. Введение фрагмента 2,6-ди-трет-бутилфенола в процессе направленного синтеза гибридных оловоорганических соединений – эффективный способ снижения токсичности модифицированных соединений.....	209
7.2. Соединения-лидеры из линейки исследованных гибридных органических производных олова бис-(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенил)тиолат диметилолова (Me-3) и (3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенил)тиолат трифенилолова (Me-5) имеют инверсивно зависимую от введенной дозы противоопухолевую и антиметастатическую активность, выявленную на перевиваемых опухолях мышей: меланоме B16 и эпидермоидной карциноме легкого Lewis.....	218
7.3. При введении гибридных органических производных олова и	

цисплатина в комбинированной терапии меланомы B16 и эпидермоидной карциномы легкого Lewis наблюдается непрямым синергический противоопухолевый и антиметастатический эффект..	221
7.4. Уровень окислительного стресса и активность апоптотических процессов являются ведущими признаками в патогенетическом механизме влияния гибридных оловоорганических соединений на ранней стадии развития опухолевого процесса и их реализация зависит от введенной дозы.....	223
7.5. Реализация патогенетических механизмов противоопухолевой и антиметастатической эффективности гибридных оловоорганических соединений зависит от соотношения оловосодержащих и антиоксидантных фрагментов в молекуле и введенной дозы.....	231
7.6. Применение «упрощенного» алгоритма скринингового исследования активности соединений с предполагаемым противоопухолевым действием позволит увеличить эффективность отбора перспективных соединений для углубленного изучения.....	234
ВЫВОДЫ.....	239
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	241
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	242
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	244
ПРИЛОЖЕНИЯ.....	290

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования. В 2021 году во всем мире было зарегистрировано около 10 миллионов смертей от онкологической патологии, и, согласно статистическим прогнозам, это число увеличится на 60% к 2040 году. [Vaidya S.P. et al., 2022]. Согласно данным отчетов региональных специализированных учреждений по оказанию онкологической помощи населению, в России ежегодно растет количество пациентов, имеющих злокачественные новообразования (ЗН) различной степени распространенности процесса [Каприн А.Д. и др., 2019, Каприн А.Д. и др., 2020]. На конец 2020 года число человек, находящихся под диспансерным наблюдением с онкопатологией, составило около четырех миллионов [Каприн А.Д. и др., 2021]. Несмотря на успехи ранней диагностики, высокую онкологическую настороженность населения и медицинских работников амбулаторно-поликлинического звена здравоохранения, в группе впервые выявленных пациентов достаточно высоким является процент больных с первично-множественными опухолями и на III – IV стадиях заболевания.

Лекарственная терапия остается одним из основных методов лечения ЗН различной локализации и стадийности онкологического процесса [Безбородова О.А. и др., 2020]. Противоопухолевые средства относятся к одной из наиболее востребованных групп лекарственных препаратов (ЛП). В настоящее время в России зарегистрировано более 120 наименований субстанций для применения в онкологической практике [Государственный реестр лекарственных средств, 2022], которые широко используются в монокимиотерапии и комбинированном лечении. Спектр лекарственных средств (ЛС) чрезвычайно широк и включает в себя соединения с различным механизмом действия. Как правило, высокая активность противоопухолевого препарата тесно связана с его высокой токсичностью [Анисимов В.Н. и др., 2012], большинство препаратов имеют механизм действия, связанный с подавлением быстро делящихся клеток и низкой селективностью воздействия. Эффективность большинства противоопухолевых

ЛС ограничена развитием побочных нежелательных реакций и резистентности при курсовом введении.

В связи с этим актуальной задачей междисциплинарных исследований является разработка новых противоопухолевых ЛП с оптимальным соотношением «активность-токсичность» [Xu J.J. et al., 2022].

В настоящее время активно изучается в качестве кандидатов в противоопухолевые ЛС множество субстанций, в состав молекул которых входит атом металла [Fotopoulou E. et al., 2022]. Металлосодержащие соединения, благодаря отличительным особенностям ионов металлов, которые включают переменные степени окисления, разнообразный диапазон геометрий и координационных чисел, физиологически доступные окислительно-восстановительные состояния и их склонность к координации с различными органическими лигандами, могут стать универсальной платформой для рационального проектирования новых терапевтических и диагностических металлопрепаратов [Imtiyaz Y. et al., 2021].

На мировом фармацевтическом рынке сформировался отдельный сектор, представленный различными препаратами на основе соединений металлов «metal-based drugs» [Антоненко Т.А., 2019]. В последние десятилетия особый интерес вызывают соединения олова (IV), относящиеся к классу металлоорганических соединений и содержащие связи «олово-углерод». Оловоорганические соединения (ООС) проявили себя как высокоэффективные антипролиферативные, противоопухолевые и антиметастатические агенты на модельных системах *in vitro* и *in vivo* [Enis N. et al., 2021; Додохова М.А. и др., 2021]. Для данной группы соединений гомолитический разрыв связи «металл-углерод» оказывается предпочтительным направлением фрагментации [Милаева Е.Р. и др., 1980; Milaeva E.R. et al., 2003]. Органические лиганды в молекуле ООС способствуют модуляции биологической активности. Для преодоления избыточной токсичности, отмеченной в литературе большинством исследователей, при направленном синтезе тестируемых гибридных ООС нашими соавторами (под руководством д.х.н., профессора Милаевой Е.Р.) было произведено

конструирование молекул с фрагментами 2,6-ди-трет-бутилфенола и N-(3-(1H-имидазол-1-ил)пропил)-3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксibenзамида [Мухатова Е.М. и др., 2013; Nikitin E.A. et al., 2022]. Направленный синтез открывает возможность снижения общей токсичности и применения гибридных оловоорганических соединений в патогенетическом лечении ЗН. В результате первого этапа биотрансформации гибридных ООС в клетке образуется два фрагмента: биоцидный оловосодержащий и протекторный, содержащий группы пространственно затрудненных фенолов. Сложный радикал гибридных ООС обладает способностью захватывать свободные электроны и препятствовать образованию свободных радикалов и, таким образом, реализовывать свои антиоксидантные свойства [Milaeva E.R. et al., 2017]. Инновационная природа гибридных органических соединений олова определяет возможность двойственного характера действия данных молекул в окислении субстратов.

Роль влияния антиоксидантов на рост и развитие опухолевого процесса остается предметом дискуссий [Вострикова С.М. и др., 2020]. Известно, что умеренное повышение внутриклеточного содержания активных форм кислорода (АФК) может промотировать клеточную пролиферацию и выживаемость клеток. В то же время превышение содержания АФК выше определенного уровня способствует преодолению возможностей антиоксидантной защиты и, как следствие этого, развитию окислительного повреждения липидов, белков и ДНК [Корман Д.Б. и др., 2019]. Появление и рост опухолевых клеток ассоциированы с повышенным по сравнению с нормальными клетками внутриклеточным уровнем АФК, что частично связано с усиленным метаболизмом и вторичной дисфункцией митохондрий в злокачественных клетках [Корман Д.Б. и др., 2019; Франциянц Е.М. и др., 2021; Kit O.I. et al., 2022]. Степень повышения уровня АФК в опухолевых клетках коррелирует с агрессивностью течения злокачественного процесса и негативным прогнозом [Корман Д.Б. и др., 2019; Шлапакова Т.И. и др., 2020]. Такой разнонаправленный характер действия антиоксидантных средств может быть обусловлен совокупным влиянием множества факторов: таких, как структура самих антиоксидантов, их потенциальная способность при

определенных условиях к прооксидантному действию, специфические свойства продуктов окисления антиоксидантов, вид и особенности роста и развития опухоли при моделировании онкологического процесса у лабораторных животных [Комарова Е.Ф. и др., 2017; Патент № 2632703, 2017]. Установлено, что кроме антиоксидантного и детоксицирующего действия [Shpakovsky D. et al., 2014] фенолы и полифенолы могут самостоятельно проявлять избирательную токсичность в отношении опухолевых клеток в экспериментах *in vitro* [Гайнутдинов П.И. и др., 2018; Дергачева Д.И. и др., 2020].

Таким образом, изучение влияния гибридных ООС, содержащих оловоорганический и протекторный фрагменты, на развитие опухолевого процесса является актуальным в связи с их уникальной двойственной структурой и возможным мультифакторным механизмом действия на злокачественную клетку.

Степень разработанности темы исследования. Большое количество работ в области экспериментальной онкологии и фармакологии посвящено изучению ООС с различными лигандными группировками в качестве антипролиферативных, противоопухолевых и/или антиметастатических агентов [Devi J. et al., 2022].

Активность ООС и комплексных соединений на их основе достаточно подробно изучена на различных линиях опухолевых клеток *in vitro* [Милаева Е.Р. и др., 2021]. Например, оловоорганический комплекс $[\text{Ph}_3\text{Sn}(\text{cmbzt})]$, где cmbzt-5-хлор-2-меркаптобензотиазол продемонстрировал сильное цитотоксическое действие на клетках LMS (леймиосаркома) [Metsios A. et al., 2012]. В исследованиях Adeyemi J. с соавторами [Adeyemi J. et al., 2020] отмечено, что комплексы $[(\text{CH}_3)_2\text{SnL}_2]$, $[(\text{C}_4\text{H}_9)_2\text{SnL}_2]$ и $[(\text{C}_6\text{H}_5)_2\text{SnL}_2]$, где L – бензилдитиокарбамат аммония, проявили высокую антипролиферативную активность в отношении линий опухолевых клеток человека: HeLa (рак шейки матки) и MCF-7 (аденокарцинома молочной железы). Показано, что ООС являются мембранно-активными ксенобиотиками и при накоплении в липидном бислое клеточных мембран могут вызывать окислительный стресс, активацию

апоптотического пути гибели клетки, а также повреждение ДНК (дезоксирибонуклеиновой кислоты) [Stohs S. et al., 1995; Banti C. et al., 2019].

Противоопухолевое и/или антиметастатическое действие ООС (IV) на моделях опухолевого роста *in vivo* изучено мало [Додохова М.А. и др., 2021]. Это отчасти можно объяснить высокой неспецифической токсичностью описанных в литературе ООС [Zhang S. et al., 2021].

Для преодоления избыточной токсичности в ходе направленного синтеза соединений зарубежными учеными были предприняты попытки модификации молекул с целью повышения безопасности их применения. Однако создание комбинации ООС с остатком салициловой кислоты [Gielen M. et al., 1995], 5-хлор-2-меркаптобензотиазолом [Metsios A. et al., 2012], 2-меркаптоникотиновой кислоты [Verginadis I. et al., 2010] и др. не оказало желаемого эффекта по уменьшению токсичности полученных гибридных соединений.

В качестве протекторного фрагмента в ходе направленного синтеза ООС нами были использованы сложные радикалы 2,6-ди-трет-бутилфенил и N-(3-(1H-имидазол-1-ил)пропил)-3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксibenзамид. Высокий протекторный эффект 2,6-ди-трет-бутилфенола, доказанный нами в предыдущих исследованиях [Milaeva E.R. et al., 2006], может внести дополнительный механизм реализации цитотоксического эффекта на уровне как первичного очага, так и процесса метастазирования. Данные литературы о влиянии антиоксидантов различной химической структуры на процесс роста злокачественных новообразований и активность метастатического поражения очень противоречивы: от полного или частичного ингибирования до активации роста и развития опухолей на всех стадиях, включая и процесс диссеминации злокачественных клеток [Зенков Н.К. и др., 2019; Додохова М.А. и др., 2021].

Все вышперечисленное позволяет считать, что комплексное исследование гибридных оловоорганических соединений *in vivo*, включающее оценку токсичности и изучение противоопухолевой и антиметастатической активности на экспериментальных моделях злокачественных новообразований с выявлением патогенетических механизмов ее развития, необходимо для расширения

химиотерапевтических возможностей известной лекарственной терапии в онкологии через разработку инновационного подхода к конструированию лекарственных средств.

Цель исследования – изучить и охарактеризовать влияние гибридных оловоорганических соединений на рост и развитие меланомы B16 и эпидермоидной карциномы легкого Lewis у мышей линии C57Bl/6 и оценить токсичность; установить патогенетические механизмы их противоопухолевого действия.

Для реализации поставленной цели были сформулированы и запланированы к последовательному поэтапному решению следующие **задачи исследования**:

1. Определить токсичность гибридных оловоорганических соединений.
2. Оценить противоопухолевую и антиметастатическую активность гибридных оловоорганических соединений.
3. Выявить эффективность комбинированного введения цисплатина и лидерных гибридных оловоорганических соединений на рост и развитие меланомы B16 и эпидермоидной карциномы легкого Lewis.
4. Выявить влияние лидерных гибридных оловоорганических соединений на митохондриальный гомеостаз и про/антиоксидантное состояние гепатоцитов и клеток первичного опухолевого узла на разных стадиях развития опухолевого процесса.
5. Описать патогенетическую схему дозозависимой инверсивной эффективности гибридных оловоорганических соединений.
6. Разработать универсальный алгоритм скринингового исследования соединений с предполагаемым противоопухолевым действием.

Научная новизна исследования. В рамках выполнения данной работы впервые:

1. проведено *in vivo* комплексное изучение инновационных агентов, потенциально обладающих противоопухолевым и антиметастатическим эффектом, в ряду новых гибридных оловоорганических соединений, содержащих фрагмент 2,6-ди-трет-бутилфенола;

2. продемонстрирована возможность значительного снижения токсичности оловоорганических соединений путем наращивания в молекуле протекторных антиоксидантных органических групп 3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенил;

3. установлено наличие достоверного противоопухолевого и антиметастатического эффектов у соединения бис(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенил)тиолат диметилолова (Me-3) и (3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенил)тиолат трифенилолова (Me-5) на моделях перевиваемых опухолей мышей меланомы B16 и эпидермоидной карциномы Lewis;

4. выявлен косвенный синергический эффект при комбинированном введении лидерных гибридных оловоорганических соединений и цисплатина на обеих моделях опухолевого роста;

5. *in vivo* изучен патогенетический механизм действия эффективной и токсической доз соединений Me-3 и Me-5;

6. предложен и обоснован новый методический подход – «упрощенный» универсальный алгоритм скринингового исследования активности соединений с предполагаемым противоопухолевым действием.

Теоретическая и практическая значимость работы.

Теоретическая значимость работы заключается в выявлении принципиально новых сведений о противоопухолевой и антиметастатической фармакологической активности инновационного класса противоопухолевых агентов – гибридных оловоорганических соединений – и установлении некоторых аспектов патогенетического механизма действия указанной группы соединений.

В работе обобщены и проанализированы результаты исследований отечественных и зарубежных авторов по изучению антипролиферативной, противоопухолевой и антиметастатической активности оловоорганических соединений с различными лигандными группировками. Анализ фармакологической активности ряда синтезированных производных позволил выявить некоторые закономерности «структура – токсичность», «структура – специфичность», а также обосновать применение «упрощенного» алгоритма

скринингового исследования активности соединений с предполагаемым противоопухолевым действием. Сформулированные закономерности зависимости токсичности и противоопухолевой и антиметастатической активности от структуры, а также выявление универсального лиганда могут быть использованы для создания более активных соединений с высокой избирательностью действия и безопасностью применения. Бис-(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенил)тиолат диметилолова (Me3) и (3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенил)тиолат трифенилолова (Me5) могут быть использованы как перспективные кандидаты в противоопухолевые средства для дальнейших модификации их химической структуры.

Комплексное исследование противоопухолевой и антиметастатической активности гибридных ООС, содержащих фрагмент 2,6-ди-трет-бутилфенола, и патогенетических механизмов ее реализации на моделях злокачественных новообразований *in vivo* проводится впервые в нашей работе. Способность гибридных оловоорганических соединений селективно влиять на про- и антиоксидантный статус злокачественной и условно здоровой клетки приводит к запуску различных путей гибели опухолевых клеток [Киселева М.П., 2019] и может способствовать повышению избирательности действия фармакологически активных агентов данной группы.

Практическая значимость данного исследования состоит в обосновании новых методологических подходов доклинических исследований соединений с предполагаемым противоопухолевым действием.

Методология и методы исследования. Методология и алгоритм действий диссертационного исследования соответствуют общепринятой схеме проведения доклинического изучения соединений с предполагаемой противоопухолевой и антиметастатической активностью. Работа проведена в соответствии с международными протоколами по оценке токсичности Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD): OECD 420 и OECD 425 [OECD, 2001; 2008] в центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России согласно методическим рекомендациям по доклиническому

изучению противоопухолевой активности лекарственных средств [Хабриев Р.У., 2005]. Для достижения цели и поставленных задач исследования использовали четыре гибридные субстанции, относящиеся к классу ООС (Ме-3, Ме-4, Ме-5 и АК-26), и два вида животных: крысы Wistar (самки, n=165) и мыши линии C57Bl/6 (самки, n=508), которые в ходе эксперимента были распределены на группы в соответствии с разработанным соискателем дизайном. Для оценки противоопухолевой и антиметастатической активности исследуемых соединений и патогенетического механизма их действия использованы актуальные методы экспериментальной фармакологии и химиотерапии, биохимические и морфологические методы соответственно, которые позволили интерпретировать полученные результаты и сделать экспериментально обоснованные выводы.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Введение фрагмента 2,6-ди-трет-бутилфенола в процессе направленного синтеза гибридных оловоорганических производных – эффективный способ снижения токсичности модифицированных соединений.
2. Соединения-лидеры из линейки исследованных гибридных органических производных олова бис-(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенил)тиолат диметилолова (Ме3) и (3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенил)тиолат трифенилолова (Ме5) имеют инверсивно зависимую от введенной дозы противоопухолевую и антиметастатическую активность, выявленную на перевиваемых опухолях мышей: меланоме В16 и эпидермоидной карциноме легкого Lewis.
3. При введении гибридных органических производных олова и цисплатина в комбинированной терапии меланомы В16 и эпидермоидной карциномы легкого Lewis наблюдается косвенный синергический противоопухолевый и антиметастатический эффект.
4. Уровень окислительного стресса и активность апоптотических процессов являются ведущими признаками в патогенетическом механизме влияния гибридных оловоорганических соединений на ранней стадии развития опухолевого процесса.

5. Реализация патогенетических механизмов противоопухолевой и антиметастатической эффективности гибридных оловоорганических соединений зависит от соотношения оловосодержащих и антиоксидантных фрагментов в молекуле и введенной дозы.

6. Применение «упрощенного» алгоритма скринингового исследования активности соединений с предполагаемым противоопухолевым действием позволит увеличить эффективность отбора перспективных соединений для углубленного изучения.

Степень достоверности и апробация работы. Высокая степень достоверности полученных результатов подтверждается достаточным объемом проведенных экспериментальных исследований с использованием высокотехнологичного оборудования, современных фармакологических, биохимических и морфологических методов, соответствующих поставленным цели и задачам. Сформулированные выводы подкреплены фактическими данными, полученными при выполнении работы, и наглядно представлены в приведенных таблицах и рисунках.

Для статистической обработки полученных результатов применяли программу STATISTICA 6.0.

Материалы и основные положения диссертации представлены и обсуждены на Внеочередном XII Съезде онкологов и радиологов стран СНГ и Евразии имени Н.Н. Трапезникова (Москва, 2021); 57th Annual Meeting of the American Society of Clinical Oncology (Chicago, 2021); VII Петербургском международном онкологическом форуме «Белые ночи 2021» (Санкт-Петербург, 2021); XVI международном научном конгрессе «Рациональная фармакотерапия» (Санкт-Петербург, 2021); VI Всероссийской Конференции по молекулярной онкологии с международным участием (Москва, 2021); 5-ой Российской конференции по медицинской химии с международным участием «МедХим – Россия 2021» (Волгоград, 2021); III Объединенном научном форуме, включающем VII Съезд биохимиков России, X Российском симпозиуме «Белки и пептиды» и VII Съезде физиологов (Сочи, 2021); XXIX Российском Национальном Конгрессе «Человек и

лекарство» (Москва, 2022); XIII Съезде онкологов и радиологов стран СНГ и Евразии (Казахстан, 2022); 58th Annual Meeting of the American Society of Clinical Oncology (Chicago, 2022); VIII Петербургском международном онкологическом форуме «Белые ночи – 2022» (Санкт-Петербург, 2022); XVII Международном научном конгрессе «Рациональная фармакотерапия» (Санкт-Петербург, 2022); XXVI Российском онкологическом конгрессе – 2022 (Москва, 2022), VII Всероссийской Конференции по молекулярной онкологии с международным участием (Москва, 2022).

Апробация диссертации проведена на заседании Проблемной комиссии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Протокол № 16 от 27.12.2022 г.).

Внедрение результатов исследования. Материалы диссертационного исследования внедрены в учебный процесс кафедр патологической физиологии ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России, фармакологии и клинической фармакологии ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России, общей и клинической биохимии №1 ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России. Результаты проведенного исследования будут использованы в учебной и научной деятельности кафедры медицинской химии и тонкого органического синтеза Химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова при разработке новых отечественных противоопухолевых и антиметастатических лекарственных средств на основе металлов при направленном органическом синтезе.

Публикации результатов исследования. По теме диссертационной работы опубликовано 35 печатных работ, из них 10 – во включенных в Перечень рецензируемых или входящих в международные реферативные базы данных и системы цитирования научных изданиях, 6 – в рекомендованных ВАК при Минобрнауки России для опубликования основных научных результатов диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой

степени доктора наук и изданиях, приравненных к ним, получено 2 патента на изобретение.

Личный вклад автора в исследование. Автору принадлежит решающая роль на всех этапах исследования. Личный вклад автора заключался в формулировании цели и задач диссертации, ведении научно-информационного поиска, анализа и обобщения данных для обзора литературы, в постановке экспериментальной части работы с животными, заборе биоматериала и его анализе с использованием актуальных фармакологических, токсикологических и биохимических методов, а также в выполнении статистической обработки полученных результатов исследования, подготовке иллюстрированного материала и текста диссертации, тезисов, статей и патентов на изобретения.

Структура и объем диссертационной работы. Диссертационная работа изложена на 295 страницах, содержит введение, обзор литературы, подробное изложение материалов и методов, четыре главы собственных результатов, отражающие полученные в процессе работы экспериментальные данные и их обсуждение, завершается выводами и практическими рекомендациями. В диссертации представлен список сокращений и условных обозначений. Библиография представлена ссылками на 355 литературных источников (133 – отечественных и 222 – зарубежных авторов). Диссертационная работа проиллюстрирована 61 таблицей и 77 рисунками, содержит приложения.

Автор выражает искреннюю благодарность за неоценимую помощь сотрудникам Химического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова – д.х.н., профессору Е.Р. Милаевой, к.х.н. Д.Б. Шпаковскому и к.х.н. Е.А. Никитину – за методологическую помощь и осуществление направленного синтеза гибридных оловоорганических соединений.

ГЛАВА 1

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ: ОЛОВООРГАНИЧЕСКИЕ СОЕДИНЕНИЯ И ПРО/АНТИОКСИДАНТЫ В ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ НА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ МОДЕЛЯХ

Обзор литературы посвящен структурным особенностям и степени проявления антипролиферативной, противоопухолевой и антиметастатической активности органических и комплексных соединений олова с различными лигандными группировками, роли про/антиоксидантных агентов в развитии опухолевого процесса и химиотерапевтической практике; а также перспективам использования гибридных ООС в качестве кандидатов в противоопухолевые средства.

1.1. Строение и свойства оловоорганических соединений

Открытие противоопухолевых свойств цисплатина и его аналогов (оксалиплатина и карбоплатина) – соединений платины (Pt) (II), а также их успешное клиническое применение в терапии злокачественных новообразований различной локализации вызвало научно-практический интерес к исследованию фармакологической активности различных металлоорганических соединений. Металлокомплексы широко изучаются для лечения злокачественных новообразований [Janoš P. et al., 2021]. Многочисленные переменные, доступные для модификации (металл, лиганд и взаимодействие металл-лиганд), открывают уникальные возможности для разработки лекарств. В настоящее время имеется обширный портфель металлопрепаратов, которые проявляют большее разнообразие функций и механизмов действия по сравнению с чистыми органическими веществами [Peña Q. et al., 2022].

В последние десятилетия в этой связи интенсивно изучаются оловоорганические соединения – R_nSnX_{4-n} (ООС). Спектр предполагаемой фармакологической активности ООС чрезвычайно широк: противоопухолевая,

противовоспалительная, противогрибковая и противомикробная [Graisa A. et al., 2022; Peters V. et al., 2020].

Органические производные олова (IV) могут быть наиболее перспективными металлопрепаратами, поскольку в некоторых случаях они демонстрируют лучшие эффекты, чем цисплатин [Attanzio A. et al., 2020; Jiang W. et al., 2022].

Лекарственные препараты на основе соединений металлов (metal-based drugs) имеют отличительные особенности, которые обуславливают их конкурентные преимущества и, одновременно, недостатки:

1. выбор металла;
2. координационные возможности металла;
3. высокая реакционная способность;
4. редокс-активность;
5. вариабельность лигандов;
6. соединения со связью М-С;
7. скорости лигандного обмена (гидролиз);
8. гидрофильность/липофильность;
9. высокая токсичность;
10. использование белков-транспортеров;
11. новые мишени;
12. неспецифичность.

Как известно из литературных источников, неорганические производные олова (Sn) нетоксичны из-за их плохого всасывания в желудочно-кишечном тракте. Биологическая активность ООС резко отличается от действия свободного олова и его неорганических соединений: ООС обладают разнообразным токсичным действием, которое определяется природой и числом органических групп [Антоненко Т.А., 2019].

В соответствии с общепринятой концепцией механизма токсичности, определяющую роль в реакционной способности ООС играет центральный атом Sn, образующий координационную связь с атомами O, N, S – биосубстратов, при

этом органические фрагменты рассматриваются только в качестве липофильных частей молекул R_nSnX_{4-n} , обеспечивающих перенос вещества через биологические мембраны [Антоненко Т.А., 2019]. Липофильность оловоорганических соединений способствует транспорту комплексов через липидный слой клеточных мембран [Антоненко Т.А., 2019; Anasamy T. et al., 2021]. Способность оловоорганических соединений накапливаться в клетке, а также их высокая токсичность позволяют рассматривать эти соединения в качестве перспективных фармакологически активных агентов специфического действия [Грачева Ю.А., 2012], в том числе антипролиферативного, противоопухолевого и антиметастатического [Milaeva E.R. et al., 2006].

Хорошо известно, что атом Sn взаимодействует сульфидными группами (-SH), что приводит к искажению структуры и потере функциональной активности белковой молекулы. ООС могут вызывать окислительный стресс и промотировать перекисное окисление липидов в клеточных мембранах [Shpakovsky D.B. et al., 2012; Singh H. et al., 2012]. Соединения Sn (IV) действуют на клетки по различным механизмам: изменение проницаемости мембран, ингибирование синтеза ДНК, индуцирование апоптоза [Saxena A. et al., 1989; Devi J. et al., 2022].

Активность ООС определяется: 1 – природой заместителей; 2 – координационной доступностью атома Sn для образования связи с мишенью; 3 – относительно стабильной связью L-Sn (например, S-Sn); 4 – медленной гидролитической деструкцией [Van der Kerk G. et al., 1956; Ullah H. et al., 2019].

Соединения с общей формулой R_nSnX_{4-n} , (X = Cl, Br) содержат атом Sn (IV) и классифицируются как моно-, ди-, три- и тетраоловоорганические в зависимости от числа алкильных или арильных групп [Антоненко Т.А., 2019].

Соединения Sn (IV) с общей формулой R_4Sn являются неактивными, в то время как для оловоорганических соединений R_nSnX_{4-n} , содержащих алкильные группы R, токсичность зависит от длины цепи (чем длиннее алкильная цепь, тем менее токсично соединение) [Gielen M. et al., 2005]. Показано, что соединения со связью Sn-O обладают более высокой активностью по сравнению с соединениями,

в которых атом Sn связан с атомом S [Mushak P. et al., 1982]. Оловоорганические соединения, содержащие три связи Sn-C, обладают наиболее высокой цитотоксичностью [Anasamy T. et al., 2021], причём соединения, содержащие арильные группы, менее токсичны, чем соединения с алкильными группами [Burton G.W. et al., 1985]. Группа X в соединениях R_nSnX_{4-n} может модулировать активность, если она сама обладает биологическим действием или способствует транспорту соединения к мишени.

Оценка токсичности проводилась для низкомолекулярных аналогов тестируемых соединений, которые широко применялись ранее в качестве биоцидных противогрибковых, противогильминтных агентов в составе противообрастающих красок и реагентов для деревообрабатывающей промышленности, а также как стабилизаторов полихлорвинила.

Токсичность оловоорганических соединений определяется несколькими химическими структурными факторами: природой заместителей R, образующего ковалентные связи «металл-углерод»; координационной доступностью атома Sn для образования связи с мишенью; относительно стабильной связью L-Sn (например, S-Sn); медленной гидролитической деструкцией [Banti C.N. et al., 2019].

Из таблицы 1 значений LD_{50} более простых аналогов исследуемых соединений [Ширяев В.И., 2010] следует, что уровень токсичности ООС определяется природой как заместителей R, так и лиганда L, связанного с атомом олова.

Метильные производные более токсичны, чем их фенильные аналоги, причем число метильных групп также сказывается на указанном свойстве: наличие трех метильных групп обуславливает существенно более высокую токсичность, чем в случае двух метильных групп.

Таблица 1 – Значения LD₅₀ для органических соединений олова при внутрижелудочном введении крысам.

Низкомолекулярные аналоги тестируемых соединений	Название	LD ₅₀ , мг/кг
$\begin{array}{c} \text{Me} \\ \diagup \\ \text{Cl} - \text{Sn} - \text{Me} \\ \diagdown \\ \text{Cl} \end{array}$	дихлорид диметилолова	237
$\begin{array}{c} \text{Me} \\ \diagup \\ \text{AcO} - \text{Sn} - \text{Me} \\ \diagdown \\ \text{Me} \end{array}$	ацетат триметилолова	9
$\begin{array}{c} \text{Ph} \\ \diagup \\ \text{AcO} - \text{Sn} - \text{Ph} \\ \diagdown \\ \text{Ph} \end{array}$	ацетат трифенилолова	125-150

Примечание: Обозначение радикалов: Ac – ацетил, tBu – трет-бутил, Me – метил, Ph – фенил.

Липофильные оловоорганические соединения $R_n\text{SnX}_{4-n}$ являются мембранно-активными ксенобиотиками, и при накоплении в липидном бислое клеточных мембран могут вызывать окислительный стресс в живом организме [Milaeva E.R. et al., 2021]. Основной путь этих процессов связан со стимулирующим эффектом пероксидного окисления липидов (LIPH) в присутствии $R_n\text{SnX}_{4-n}$. Оловоорганические соединения способны взаимодействовать с пероксильными радикалами $\text{LPOO}\cdot$, образующимися при пероксидном окислении ненасыщенных жирных кислот молекулярным кислородом, и продуцировать активные органические радикалы $R\cdot$ вследствие

гомолитического расщепления связей Sn-C в реакциях радикального замещения с участием R_nSnX_{4-n} [Milaeva E.R. et al., 2020].

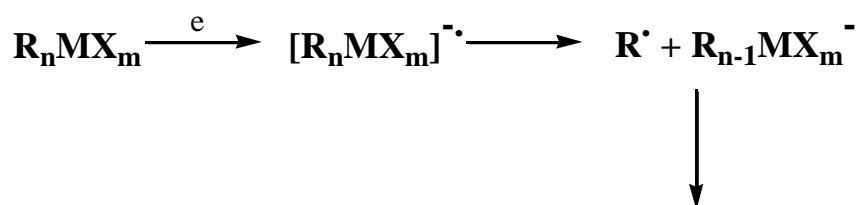
Таким образом, для органических соединений олова можно выделить следующие основные механизмы действия:

1. Взаимодействие со свободными SH группами в белках.
2. Инициирование пероксидного окисления липидов в клеточных мембранах.
3. Связывание с ДНК.

Производные олова взаимодействуют с ДНК по трем маршрутам: связывание бороздки, электростатическое взаимодействие с анионным фосфатным скелетом ДНК и интеркаляция в ДНК, при которой соединение вызывает раскручивание ее локальной структуры, что приводит к повреждению механизмов хранения, транскрипции и генетической трансформации ДНК. Комплексы Sn (IV) в основном связываются с атомом O фосфата полианионной структуры ДНК. Ион Sn^{4+} является жесткой кислотой Льюиса, нейтрализует отрицательный заряд фосфатного фрагмента основной цепи ДНК и, таким образом, вносит конформационные изменения в нее [Jai D. et al., 2018].

Большой интерес представляют окислительно-восстановительные превращения R_nSnX_{4-n} в том случае, если рассматриваемые соединения вовлекаются в биологические процессы транспорта электронов и радикальные процессы [Грачева Ю.А., 2012], в которых происходит расщепление связей C-M и образование реакционноспособных частиц и вторичных продуктов распада, также проявляющих токсические эффекты [Milaeva E. R. et al., 2004]. Особого внимания заслуживают и реакции, затрагивающие органические группы в молекулах оловоорганических производных [Грачева Ю.А., 2012].

Участие оловоорганических соединений R_nSnX_{4-n} в окислительно-восстановительных процессах описывается общей реакцией (рисунок 1) для первой стадии одноэлектронного восстановления [Томилов А.П. и др., 1986; Michman M., 1995; Грачева Ю.А., 2012]:



дальнейшие продукты распада

Рисунок 1 – Образование редокс-активных фрагментов оловоорганических соединений в процессе метаболизма

Одной из основных проблем при создании лекарственных препаратов на основе оловоорганических соединений является рациональное соотношение «активность-токсичность» и снижение побочных эффектов при их применении. С этой целью ведутся многочисленные исследования модификации соединений на основе производных олова.

Исходя из биологической активности и возможных путей метаболизации в организме, Грачева Ю.А. выделяет три наиболее значимые направления химических процессов, которые способствуют снижению токсичного действия R_nSnX_{4-n} :

1. хелатирование атома Sn, что препятствует образованию связей атома Sn с биомолекулами, например, SH-групп цистеина белков;
2. окислительная деградация оловоорганических соединений;
3. ингибирование процессов, которые инициируются образующимися продуктами распада оловоорганических соединений, например, реакционноспособными частицами органической природы, в частности, активными органическими радикалами.

В настоящее время существует основной подход, основанный на хелатировании атома Sn, и предложен ряд детоксицирующих агентов на основе различных лигандных группировок [Грачева Ю.А., 2012].

Все вновь синтезированные органические соединения олова проходят этап доклинического изучения на модельных системах *in vitro* и *in vivo*.

1.2. Оценка антипролиферативной активности оловоорганических соединений на клеточных моделях злокачественных опухолей

Во время исследований и разработок противоопухолевых препаратов эксперимент по ингибированию роста злокачественных клеток *in vitro* является первым шагом проверки фармакологической активности соединений с предполагаемым противоопухолевым действием на моделях злокачественного роста [Devi J. et al., 2020].

Применительно к исследованиям *in vitro* целесообразно классифицировать ООС по типу донорного лиганда. Выделяют производные органических соединений олова с O-, S-, N-донорными лигандами, а также биядерные органические соединения. Указанный принцип положен в основу данного раздела, что позволяет оценить зависимость активности различных субстанций ООС от типа строения молекулы.

Оловоорганические комплексы с O-донорными лигандами

Противоопухолевая активность различных оловоорганических карбоксилатов *in vitro* подробно изучена [Antonenko T.A. et al., 2020]. Растущий в последние годы интерес к оловоорганическим карбоксилатам в значительной степени обусловлен их структурным разнообразием и широтой терапевтической активности [Navakoski de Oliveira K. et al., 2014].

Исследования (Z)-4-(4-цианофениламино)-4-оксобутил-2-еновой кислоты (LH) и ее комплекса с трифенилоловом (Ph_3SnL) выявили спонтанное связывание этих соединений с ДНК посредством интеркаляции. Экспериментальные данные, полученные с помощью спектральных и электрохимических методов (циклическая вольтамперометрия), для этих соединений были сопоставимы. Для Ph_3SnL продемонстрировано более прочное связывание с ДНК при 37°C и двух значениях pH (желудок – pH 4,7 и кровь – pH 7,4), причём координация оказалась стабильнее в кислой среде (pH 4,7). Связывание по механизму интеркаляции также подтверждено методом вискозиметрии, который показал тенденцию к увеличению относительной вязкости ДНК при постепенном добавлении

различных концентраций соединения. При этом для обоих соединений не обнаружено антиоксидантной активности [Arshad N. et al., 2016].

В комплексах олова с тиобарбитуровой кислотой (ТБК) $\{[\text{Ph}_3\text{Sn}(\text{O}-\text{HTBA})]\cdot 0.7 (\text{H}_2\text{O})\}_n$ и $[(n\text{-Bu})_3\text{Sn}(\text{O}-\text{HTBA})\cdot \text{H}_2\text{O}]$ лиганд $\text{H}_2\text{ТБК}$ координирован с атомом Sn (IV) за счет связи Sn-O, в то время как атом S остается свободным. Эти соединения демонстрируют более высокую цитотоксичность, чем цисплатин: по результатам исследований, проведенных на клетках аденокарциномы молочной железы человека (MCF-7), значения концентрации полумаксимального ингибирования (IC_{50}) для них в 272 и 179 раз соответственно ниже, чем у цисплатина. Результаты определения цитотоксичности *in vitro* показали, что комплекс $[(n\text{-Bu})_3\text{Sn}(\text{O}-\text{HTBA})\cdot \text{H}_2\text{O}]$ проявляет более высокую активность по сравнению с $\{[\text{Ph}_3\text{Sn}(\text{O}-\text{HTBA})]\cdot 0,7 (\text{H}_2\text{O})\}_n$ для всех протестированных опухолевых клеточных линий человека – рака шейки матки (HeLa), рака яичников (OAW-42), инвазивного протокового рака молочной железы (MDA-MB-231), карциномы легкого (A549), светлоклеточного рака почки (Caki-1). Результаты анализа с использованием метода проточной цитометрии показали, что данные соединения не имеют избирательности воздействия, вызывая выраженный цитотоксический ответ у нормальных и атипичных клеток и остановку клеточного цикла в S-фазе. Апоптотическая гибель клеток требует прямого или косвенного взаимодействия с ДНК. Поскольку нет никаких доказательств прямого реагирования ООС с нуклеотидами при промежуточных значениях pH (4,0-9,5), противоопухолевая активность ООС может не включать непосредственного взаимодействия с ДНК в физиологических условиях. Напротив, обнаружено, что комплексы ингибируют окисление полиненасыщенных жирных кислот до гидропероксидов при действии фермента липоксигеназы (LOX) и, таким образом, реагируют с ДНК косвенно. Следовательно, можно предположить, что оловоорганические комплексы с ТБК могут взаимодействовать с ферментами, которые вызывают апоптоз атипичных клеток [Balas V.I. et al., 2011].

Введение органического лиганда в виде остатка масляной кислоты сопровождалось образованием стабильных производных и высокой

антипролиферативной эффективностью на опухолевых клетках колоректального рака. Наиболее эффективное соединение, трибутилоловобутират, индуцировало остановку клеточного цикла G2/M, окислительный стресс и апоптическую гибель клеток [Giuliano M. et al., 2021].

Биологическая активность оловоорганических (IV) производных холевой кислоты (CAH) с формулами $R_3Sn(CA)$ ($R = Ph-$ (1), $n-BU-$ (2)) и $R_2Sn(CA)_2$ ($R = Ph-$ (3), $n-BU-$ (4) и $Me-$ (5)) была изучена в отношении клеток аденокарциномы молочной железы человека: MCF-7 (положительные к рецепторам гормонов) и MDA-MB-231 (отрицательные к рецепторам гормонов). Согласно результатам, производные триалкилолова 1-2 проявляют значительно более сильную активность, чем соответствующие диорганотиновые. Соединение 5 неактивно в отношении обеих клеточных линий при испытанных концентрациях. Триалкиловосодержащие соединения 1-2 избирательно ингибируют MCF-7, что указывает на их гормональное миметическое действие. ООС 1-4 ингибируют обе линии опухолевых клеток более сильно, чем цисплатин, причем их активность увеличивается в 55 раз против MCF-7 и в 170 раз против MDA-MB-231. Механизм действия соединений 1-4 против MCF-7 был выяснен *in vitro* с помощью исследований морфологии клеток, остановки клеточного цикла, окрашивания акридиновым оранжевым/бромистым этидием (АО/ЕВ), теста на проницаемость митохондриальной мембраны и на их сродство с ДНК тимуса теленка. [Stathopoulou M. et al., 2021].

Бензилдитиокарбамат аммония, представленный в виде NH_4L , был получен и использован в реакции комплексообразования с участием трех солей триалкилолова (IV), представленных в виде R_2SnCl_2 ($R = CH_3, C_4H_9$ и C_6H_5). Структуры синтезированных комплексов $[(CH_3)_2 SnCl_2]$ (1), $[(C_4H_9)_2 SnCl_2]$ (2) и $[(C_6H_5)_2-SnL_2]$ (3) были установлены с использованием различных спектроскопических методов: инфракрасной спектроскопии (ИК) с преобразованием Фурье, ядерного магнитного резонанса (ЯМР): ЯМР 1H , ЯМР ^{13}C и ЯМР ^{119}Sn , и элементного анализа. Исследования цитотоксичности этих комплексов в отношении линий опухолевых клеток человека (HeLa и MCF-

7) выгодно отличались от используемого стандарта: препарат 5-фторурацила с комплексами 2 и 3, проявляющими очень хорошую активность по отношению к используемым клеточным линиям [Jerry O. et al., 2020].

Комплекс олова с 2-меркаптоникотиновой кислотой (SnMNA) также оказался эффективным и перспективным противоопухолевым агентом. Так, обнаружена значительная антипролиферативная активность *in vitro* для двух различных линий опухолевых клеток HeLa и MCF-7, причем значения IC₅₀ жизнеспособности клеток и пролиферации роста были значительно ниже, чем для цисплатина. SnMNA индуцирует существенное необратимое ингибирование роста клеток, которое сохраняется после обработки средой без него. Данный комплекс в концентрации 60 нМ индуцирует апоптоз в 66% клеток MCF-7. Апоптотическая смерть, вызванная тестируемым соединением, подтверждается анализом фрагментации ДНК, в котором наблюдаются фрагменты олигонуклеосомного размера. Для SnMNA предположительно происходит гидролиз связи Sn-O с сохранением связи Sn-S. В результате образуется мономерный комплекс MNA и гидроксид трифенилолова, активность которого намного выше, чем для индивидуального гидроксида трифенилолова, что, в свою очередь, свидетельствует о лучшем связывании комплекса с активным сайтом мишени. Цитотоксичность карбоксилатов диметил- и дибутилолова на основе 3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксибензойной и 3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенилпропионовой кислот исследована по отношению к четырем типам клеточных линий человека: A-549, MCF-7, аденокарциноме толстой кишки (SW-480), карциноме толстой кишки (HCT-116) и диплоидной линии клеток человека, состоящей из фибробластов (WI-38). Антипролиферативная активность выявлена на всех клеточных линиях [Ioannis I. et al., 2011].

Антимитотическую активность оловосодержащих соединений ароилгидразона *in vitro* оценивали с помощью анализа Cell Counting Kit-8 (ССК-8) на человеческих опухолевых клетках гепатоцеллюлярной карциномы (HepG2) и MCF-7. Комплексы показали интенсивную активность в отношении клеток MCF-7. Анализ проточной цитометрии и наблюдение с помощью просвечивающего

электронного микроскопа продемонстрировали, что комплексы опосредовали апоптоз клеток MCF-7 и остановили клеточный цикл в S-фазе. Вестерн-блоттинг показал, что также было индуцировано повреждение ДНК в клетках MCF-7, что приводило к апоптозу по пути АТМ-CHK2-p53 [Jiang W. et al., 2021].

Биологическая активность органических производных олова с галактуроновой кислотой была изучена по отношению к линиям НСТ-116 и MCF-7. Гибель клеток, индуцированная исследуемыми соединениями, была опосредована через апоптотический путь с потерей митохондриального потенциала [Attanzio A. et al., 2018].

Оловоорганические комплексы с S-донорными лигандами

Оловоорганический комплекс $[\text{Ph}_3\text{Sn}(\text{cmbzt})]$, (SnCMB) cmbzt, где CMB = 5-хлор-2-меркаптобензотиазол продемонстрировал выраженное цитотоксическое, антиметастатическое и противоопухолевое действие. Значения IC_{50} почти в 200 раз ниже (155 нМ), чем для цисплатина (32,8 μM) на клетках леймиосаркомы (LMS). Соединение проявило умеренную цитотоксичность на клетках нормальных фибробластов легких плода человека (MRC-5), которая выявлена при концентрациях, превышающих 250 нМ. Клеточная пролиферация MRC-5 при значении IC_{50} для клеток LMS (155 нМ) снизилась на 17% по сравнению с контролем. Однако, несмотря на то, что значение IC_{50} для опухолевых клеток оказалось чрезвычайно низким, комплекс способен вызывать сильное необратимое ингибирование роста клеток, сохраняющееся после обработки средой без препарата, только в дозах, более чем в 15 раз превышающих значение IC_{50} . Следовательно, для полного подавления пролиферации клеток необходимы более высокие дозы соединения, поскольку при низких концентрациях клетки проявляют лекарственную устойчивость [Metsios A. et al., 2012].

Исследованы комплексы Ph_3SnL с двумя производными тионов – 4,6-диамин-пиримидин-2-тионом – $\text{Ph}_3\text{Sn}(\text{DAPMT})$ и с имидазолидин-2-тионом – $\text{Ph}_3\text{Sn}(\text{HIMT})\text{Cl}$. Была измерена их цитотоксичность после 48 ч. инкубации на

клеточных опухолевых линиях HeLa, MCF-7 и клетках лейомиосаркомы (SK-LMS-1) и нормальных фибробластах человека, выделенных из легких (CCD39Lu). Изменения в клеточной морфологии можно было наблюдать уже через 24 ч. после обработки. Результаты показали, что оба комплекса обладают выраженной цитотоксической активностью. Важно отметить, что сами лиганды (DAMPТ, НМІТ) неактивны в исследуемом диапазоне концентраций, в то время как обе тестируемые субстанции обладают сходной активностью. Соединения наиболее эффективны в отношении клеток SK-LMS-1 ($IC_{50} = 0,1 \mu\text{M}$), что важно, поскольку доступные в настоящее время методы лечения лейомиосаркомы неэффективны. Оба комплекса обладают избирательной цитотоксичностью, а именно, относительно нормальных клеток – в 4 раза и в 3 раза соответственно, более активны в случае SK-LMS-1, чем для CCD39Lu: IC_{50} составляет $0,4 \mu\text{M}$ и $0,34 \mu\text{M}$, соответственно [Grzeńkiewicz A.M. et al., 2017]. Такая селективность редко встречается для ООС и перспективна в случае рассмотрения соединения в качестве кандидата в химиотерапевтические агенты.

Соединения на основе бис(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенил)олова с гетероциклическими тиоамидами – 2-меркаптопиримидином (PMTH), 2-меркапто-4-метилпиримидином (MPMTH), 2-меркаптопиридином (PYTH), 2-меркаптобензотиазолом (MBZTH) были протестированы на цитотоксичность *in vitro* в отношении MCF-7. Исследуемые вещества проявили более высокую цитотоксическую активность, чем цисплатин. Антипролиферативная активность этого ряда соединений зависит от природы тиоамида и наличия затрудненного фенольного фрагмента, способного образовывать относительно стабильные феноксильные радикалы [Shpakovsky D.V., et al., 2012].

Оловоорганические комплексы с N-донорными лигандами

Противоопухолевую активность комплексов с глюкозаминами *in vitro* определяли посредством скрининга 20-ти различных клеточных линий карциномы человека различного гистологического происхождения. Соединения показали выраженную цитотоксическую активность только в отношении

клеточной линии карциномы ротовой полости человека (DWD) при значении $IC_{50} < 10 \mu M$ [Tabassum S., et al., 2011].

ООС на основе 5,7-ди-трет-бутил-1,2,4-триазоло[1,5-а]пиримидина (dbtp) и 5,7-дифенил-1,2,4-триазоло[1,5-а]пиримидина (dptp) продемонстрировали дозозависимый антипролиферативный эффект в отношении клеток HepG2, HeLa и MCF-7. Как правило, цитотоксичность соединений соответствует порядку Bu > Ph > Et > Me в отношении атипичных клеток. Производные бутил- и фенилолова ингибируют рост клеток в S-фазе, вызывая апоптоз, значения IC_{50} лежат в диапазоне 0,3-1,2 μM [Assunta Girasolo M. et al., 2014].

Искаженные октаэдрические одноядерные соединения Sn (IV) 4'-pN,N-бис(2-гидроксиэтил)бензил-2,2':6,2''-терпиридин и 4'-p-9-антраценвинил-2,2':6,2''-терпиридин демонстрируют более высокую или сходную цитотоксичность в отношении клеточных линий HeLa и MCF-7 по сравнению с цисплатином [Shi P.F. et al., 2014]. В ряду указанных соединений производное монометилолова проявляет более высокую активность. Учитывая, что ООС с одной фенильной группой проявляет сходное биологическое действие с соответствующими дизамещенными производными, то активность соединений монометилолова следует связывать с их более низкой липофильностью.

Дизамещенные ООС N-(2-пиридилметил)ариламина оценивали на панели клеточных линий, таких как почечная карцинома человека (A498), аденокарцинома молочной железы (EVSA-T), немелкоклеточная карцинома легкого человека (H226), рак яичника человека (IGROV), меланома человека (M19 MEL), MCF7 и рак толстой кишки человека (WIDR).

Показано, что цитотоксический потенциал зависит от природы группы при атоме олова и длин связей Sn-N (при более длинных связях соединения проявляют более высокую активность). Диапазон значений IC_{50} составляет от 0,003 μM до 4,82 μM [Basu Baul T.S., et al., 2010].

ООС (IV) с основаниями Шиффа 2,2'-{пиридин-2,6-диилбис[(E) метанилиден(E) азанилиден]}дифенолята были протестированы в отношении клеток колоректальной аденокарциномы типа C (HCT-15), MCF-7,

миелогенного лейкоза (K-562), глиобластомы человека (U-251), рака простаты (PC-3) и аденокарциномы легкого человека (SKLU-1). Отмечено, что рассматриваемые соединения проявляют более высокую активность, чем цисплатин (до 52 раз), по отношению к клеточной линии K-562. Диапазон IC_{50} составляет 0,29 – 5,30 μM в случае линии клеток K-562. Наименьшее значение IC_{50} демонстрирует ООС в молекулах, в которых группы Cl и NO_2 находятся в ароматическом кольце [González A. et al., 2009].

Цитотоксичность комплексов с основаниями Шиффа, имеющих общие фрагменты – пиридоксаль и фенол – была изучена *in vitro* на пяти линиях опухолей человека: U-251, K-562, HCT-15, MCF-7 и SKLU-1. Основные структурные различия в этих молекулах заключаются во введении в ароматическое кольцо заместителей в двух различных положениях аминифенольной части, а также в природе органической группы при атоме олова (Bu, Ph). Данные по активности после 48 ч. культивирования показали, что все производные пиридоксаля были значительно более цитотоксичны, чем цисплатин, используемый в качестве положительного контроля. Отмечено, что присутствие нитрогруппы или атома галогена (F, Cl) в ароматическом кольце приводит к повышению активности ООС. Биоизостерическая замена H на F обуславливает возрастание активности для линий HCT-15, K-562 и SKLU-1, в отличие от замены атома S на O, что уменьшает цитотоксичность [Galván-Hidalgo J.M., et al., 2017].

Октаэдрические дизамещенные оловоорганические комплексы с основаниями Шиффа, полученные из 7-метокси-2-гидрокси-1-нафтальдегида, 1,2-фенилендиамина и салицилальдегида, испытаны в отношении клеточной линии рака носоглотки (KB). Комплекс диэтилолова показал наиболее высокую цитотоксичность ($IC_{50} = 0,35 \mu\text{M}$) на клетках KB, сопоставимую с цисплатином. Исследования показали, что указанные соединения взаимодействуют с ДНК. Установлено, что данные комплексы олова плотно прилегают к сайту связывания цисплатина, а энергия связывания комплекса больше, чем для цисплатина [Rehman W., et al., 2016].

ООС на основе арилгидразонов β -дикетона протестированы на линиях HeLa, KB и HepG2. Показано, что эти соединения проявляют селективность по отношению к клеткам KB. Производные диалкилолова с нитрозаместителем более активны, чем незамещенные, и значительно превышают по токсичности цисплатин в отношении клеток HeLa [Shang X., et al., 2015].

Биядерные оловоорганические соединения

В исследовании наших соавторов под руководством д.х.н., профессор Милаевой Е.Р. были синтезированы и охарактеризованы два конъюгата фталоцианина цинка (II) и олова (IV), связанных цепью триэтиленгликоля. В этих комплексах фталоцианин цинка (II) использовался в качестве потенциального фотосенсибилизатора для фотодинамической терапии, а комплекс олова был выбран в качестве цитостатического компонента. Две диады, состоящие из исследуемых комплексов фталоцианина, проявляли высокую цитотоксичность в отсутствие световой стимуляции против MCF-7 клетки рака молочной железы человека с низкими значениями LC_{50} в диапазоне 0,016–0,453 М. Кроме того, эти комплексы показали большую цитотоксичность, чем их смесь [Антоненко Т.А., 2019]. Однако при облучении блока фталоцианина цинка (при 650 нм) не удалось обнаружить никакой фотодинамической активности из-за наиболее вероятного гашения синглетного возбужденного состояния фталоцианина цинка (II) близлежащим комплексом олова в соответствии с процессом фотоиндуцированного переноса электронов. Это исследование демонстрирует потенциал гетерометаллических противоопухолевых химиотерапевтических средств, состоящих из комплекса фталоцианина цинка и олова, и подчеркивает, что разработка таких конъюгатов требует, чтобы сенсибилизатор сохранял свои фотофизические свойства и, в частности, способность к сенсибилизации синглетным кислородом в конъюгате, чтобы сочетать активность фотодинамической терапии (ФДТ) с цитотоксичностью противоопухолевого препарата [Toubia I. et al., 2021].

Производное селена и триорганолова, изоселеноцианат трифенилолова (TPT-NCSe), вызывало более высокую цитотоксичность в гормоночувствительной MCF 7 (IC_{50} –250 нМ) по сравнению с трижды негативной линией клеток карциномы молочной железы MDA-MB-231 (IC_{50} –450 нМ), согласно анализу МТТ [Hunakova L. et al., 2022].

На основании выполненного анализа исследований антипролиферативного действия ООС с различными лигандными группировками *in vitro* на линиях опухолевых клеток выявлен их значительный цитотоксический потенциал.

1.3. Оценка противоопухолевой и антиметастатической активности оловоорганических соединений на моделях перевиваемых опухолей животных

Применительно к исследованиям патогенетических аспектов типового опухолевого процесса на различных моделях *in vivo* ООС целесообразно классифицировать по числу органических групп, связанных с атомом олова [Song X. et al., 2006]. Выделяют моно-, ди-, три- и тетрапроизводные органических соединений олова. Этот принцип положен в основу данного раздела обзора, что позволяет оценить зависимость специфической фармакологической активности различных субстанций ООС как от числа, так и от природы органических групп R [Pellerito C. et al., 2002].

Тризамещенные органические соединения олова

При *in vivo* изучении низкомолекулярных ООС с различными заместителями с общей формулой R_3SnX отмечается высокая неизбирательная токсичность по отношению ко всем клеткам организма животного. Тяжелая степень повреждения отмечена в органах с высоким уровнем метаболизма: печени, почках, головном мозге.

Значения LD_{50} для крыс при пероральном введении для хлоридов и ацетатов триметил-, триэтил- и трибутилолова, а также бис(три-*n*-бутилолово)оксида (ТБТО) лежат в диапазоне от 4 мг/кг до 150 мг/кг [Ширяев В.И., 2010], что

позволяет отнести данные соединения к I и II классам токсичности по СГС (согласованная на глобальном уровне система классификации и маркировки химических веществ) [Wester P.W. et al., 1990]. У всех опытных групп животных при введении максимально переносимой дозы (МПД) ООС с развитием нефро-, гепато- и нейротоксичности тяжелой степени отмечалось уменьшение массы тела более чем на 20% от исходных значений [Бугаев-Макаровский Н.А. и др. 2020]. В нашей ранней работе был описан выраженный характер повреждения печеночной и почечной ткани при действии триметилоловохлорида. При однократном внутрижелудочном введении $(\text{CH}_3)_3\text{SnCl}$ в дозе 5 мг/кг с помощью морфологического метода исследования паренхиматозных органов отмечены выраженная жировая дистрофия гепатоцитов и гиалиново-капельная белковая дистрофия эпителия извитых канальцев нефрона [Додохова М.А., 2006].

Принимая во внимание высокую токсичность ООС, были предприняты попытки создания гибридных молекул тризамещенных органических производных олова, которые содержат протекторные фрагменты, для снижения общей токсикологической нагрузки на организм.

Так, ООС в комбинации с остатком салициловой кислоты 5-сульфосалицилат трифенилолова, 5-аминосалицилат трифенилолова, 4-фторбензоат трифенилолова, 2,6-дифторбензоат три-*n*-бутилолова были исследованы *in vivo* на модели карциномы толстой кишки. Соединения вводились однократно внутрижелудочно в максимально переносимой дозе (МПД). Субстанция 5-сульфосалицилат трифенилолова обладала выраженной нейротоксичностью. Исследуемые соединения не проявили ожидаемого противоопухолевого эффекта на данной модели перевиваемой опухоли [Gielen M. et al., 1995].

Введение группы 5-хлор-2-меркаптобензотиазол в ООС [$\text{Ph}_3\text{Sn}(\text{cmbzt})$], где *cmbzt* = 5-хлор-2-меркаптобензотиазол (SnCMB), не оказало желаемого эффекта по уменьшению общей токсичности. Значение LD_{50} для крыс при пероральном введении данного соединения составило 40 мг/кг (II класс токсичности по СГС). На модели саркомы крыс линии Wistar было показано, что комплекс SnCMB ,

вводимый в двух различных терапевтических схемах (4×2 мг/кг массы тела каждые 5 дней и $3 \times 2,67$ мг/кг массы тела каждые 10 дней), повышал показатель увеличения продолжительности жизни (УПЖ) на 50% и 70% соответственно, но не снижал ТРО по сравнению с контрольной группой ($p < 0,01$) [Metsios A. et al., 2012].

Для комплекса ООС с протекторным фрагментом 2-меркаптоникотиновой кислоты бис[трифенилолово (IV)](3-карбоксопиридин-2-тионат) (SnMNA) значение LD_{50} для крыс при однократном пероральном введении составило 80 мг/кг (II класс токсичности по СГС). Отмечена высокая нефро- и пневмотоксичность. Изучение противоопухолевой активности этой субстанции на модели саркомы C-45 (крысы-самки линии Wistar) показало, что комплекс SnMNA в четырех повторных дозах 5,4 мг/кг каждые три дня увеличивал УПЖ на 200% и снижал торможение роста опухоли (ТРО) по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$) [Verginadis I.I. et al., 2011].

Алкалоиды, содержащие хинолизидиновое ядро, также рассматривались группами авторов в качестве фрагмента молекулы оловоорганического противоопухолевого средства. Подробно изучены люпинисульфиды триэтил- и трибутилолова. LD_{50} для мышей BDF_1 при внутривенном введении гидрохлорида триэтилолова (IV) люпинисульфида (IST-FS 35) составило 21 мг/кг. В качестве терапевтических были использованы дозы 14 мг/кг и 3,5 мг/кг соответственно. На модели злокачественных лимфоидных новообразований при лимфолейкозе P-388 произведена *in vivo* оценка противоопухолевой активности. Гидрохлорид триэтилолова (IV) люпинисульфида индуцировал значительное дозозависимое ТРО до 46% ($p = 0,0062$) без существенной токсичности, что также подтверждалось гистологическим исследованием [Barbieri F. et al., 2000]. Рост опухоли под действием IST-FS35 был ингибирован примерно на 96% в объеме, регистрация эффекта производилась на 11-й день после однократной внутривенной инъекции соединения [Alama A. et al., 2008].

Особого внимания заслуживает биядерный комплекс, содержащий фрагмент как трифенилолова (ТРТ), так и комплекса меди с бензимидазолтиолом,

(TPT-CuCl₂). Антипролиферативная активность этого комплекса была изучена на модели глиомы C₆ (крысы линии Wistar), которая имеет морфологию астроцитомы и маркеры глиальной опухоли [Хомякова Т.И. и др., 2015]. Выявлено, что TPT-CuCl₂ проявил значительную эффективность против развития опухоли с минимальной цитотоксичностью [Höti N. et al., 2004].

Дизамещенные органические соединения олова

ООС общей формулы R₂SnX₂ обладают достаточно высокой токсичностью. Способы ее снижения при сохранении противоопухолевого эффекта могут быть реализованы при направленном синтезе гибридных структур путем введения в их молекулу протекторных групп.

Для сравнительного анализа комплексы олова и сурьмы: дифенилолово- и дифенилсурьма с дитиофосфорными лигандами [Ph₂Sn(S₂PPh₂)₂, Ph₂Sn[S₂P(OPr)₂]₂, Ph₂SbS₂PPh₂ и Ph₂SbS₂P(OPr)₂] были протестированы *in vivo* на модели солидной опухоли карциномы Эрлиха [Bara A. et al., 1991]. Все четыре соединения тормозили рост опухоли. Доказано, что комплексы сурьмы более активны, чем комплексы олова. Введение Ph₂SbS₂P(OPr)₂ (5 мг/кг/сут, внутривенно, на 1-й, 3-й и 5-й дни) приводило к УПЖ на 83%.

Производные дизамещенных ООС с фрагментом N-гидроксибензамидат-бис(4-хлор-N-гидроксибензамидат) дибутилолова (DBDCT), бис(2,6-дифтор-N-гидроксибензамидат) дибутилолова (DBDFT), бис(2,4-фтор-N-гидроксибензамидат) дифенилолова (DPDFT) и бис(2,4-дихлор-N-гидроксибензамидат) дифенилолова (DPDCT) были изучены в качестве противоопухолевых агентов на моделях перевиваемых опухолей мышей: саркоме Крокера (S-180), гепатоцеллюлярной карциноме и асцитной карциноме Эрлиха [Li Y.L. et al., 2013]. Для данных комплексов активность возрастает с увеличением длины углеродной цепи алкильного лиганда, причем выше она в случае хлорзамещенного N-гидроксибензамида. DBDCT проявлял *in vivo* высокую избирательную противоопухолевую активность в отношении гепатоцеллюлярной карциномы H22 и саркомы S180, близкую к таковой для цисплатина (контрольная

группа). Показатели УПЖ у мышей с асцитной карциномой Эрлиха были выше, чем при использовании цисплатина, и, кроме того, наблюдалась выраженная зависимость «доза – эффект».

Введение в молекулу ООС гетероциклического фрагмента не приводило к снижению токсического эффекта, напротив, зафиксировано сильнейшее лимфатическое поражение иммунокомпетентных тканей. Отмечено, что вещества, вводимые перорально – дихлорид-2,2'-бипиридилдибутилолово, 1,10-фенантролиндибутилолово и гистидиндибутилолово – избирательно накапливались в тимусе и селезенке животных [Li Y.L. et al., 2008].

Надмолекулярные комплексы олова

Развитие и успехи супрамолекулярной химии по изучению образования, структуры и свойств частиц, формирующихся в результате избирательной ассоциации за счёт невалентных взаимодействий, открывают широкие перспективы для поиска кандидатов в ЛС, в том числе и противоопухолевых комплексов оловоорганических соединений.

Продемонстрирован высокий терапевтический потенциал соединения ООС, ассоциированного с наноструктурированным кремнием (SBA-15pSn). Важным преимуществом мезопористого материала SBA-15pSn является индукция клеточной дифференцировки. Исследования были проведены на модели меланомы B16 у мышей линии C57Bl/6 и продемонстрировали ТРО на 72% [Cardarelli N.F. et al., 1984].

Биядерный супрамолекулярный координационный полимер (SCP) $\{[Me_3Sn(bpe)]Ag(CN)_2\}_n \cdot H_2O$ показал *in vivo* ингибирование роста опухоли в модели крысиной карциномы молочной железы на 44,8% по сравнению с контролем [Bulatović M.Z. et al., 2014].

Противоопухолевая активность комплексов металлоценового типа $[\eta^5-Cp^*]_2Sn$ (II), $[\eta^5-(PhCH_2)_5C_5]_2Sn$ (II), содержащих олово в качестве центрального атома и два лиганда пентазамещенного циклопентадиенильного кольца в структуре сэндвича, изучена на модели асцитной карциномы Эрлиха

(мышь F1). Эти комплексы вызывали полное излечение от 40% до 90% животных. Токсичность субстанций была низкой, значения LD_{50} составляли 460 мг/кг и 500 мг/кг соответственно [Etaiw Sel-D. et al., 2011].

Все соединения, протестированные в приведенных исследованиях *in vivo*, продемонстрировали противоопухолевый эффект на разных моделях перевиваемых опухолей животных.

Выявлено, что тризамещенные производные общей формулы R_3SnX проявляют более высокую активность, в связи с чем исследование этой группы ООС является наиболее перспективным. Различные органические лиганды модулируют биологическую активность и определяют класс безопасности соединения. Направленный синтез ООС с активным протекторным фрагментом может привести к появлению кандидата с высокой противоопухолевой активностью против широкого спектра опухолей и, одновременно, к уменьшению их общей токсичности.

Детальный анализ соотношения структур ООС и цитотоксической активности *in vitro* и *in vivo* описанных в литературе субстанций использован нами при выборе соединений для дальнейших собственных доклинических исследований гибридных оловоорганических производных.

1.4. Химические соединения с про- и антиоксидантными свойствами в терапии злокачественных опухолей

В настоящее время установлено, что в процессе канцерогенеза клеткам требуется перепрограммировать свой катаболический и анаболический метаболизм, чтобы поддерживать жизнеспособность и интенсивный рост в условиях высокой конкуренции с клетками микроокружения. Для этого опухолевые клетки усиливают энергопродукцию и активируют биосинтетические процессы [Коршунов Д.А. и др., 2019]. Основными источниками макроэргических соединений для злокачественной клетки является модифицированный гликолиз и окислительное фосфорилирование в митохондриях. Стимуляция работы митохондрий неминуемо сопряжена с повышенной продукцией АФК. Следует

отметить, что митохондрии являются не только источником АФК, но также их чувствительной мишенью [Марусова Т.А. и др., 2020]. АФК могут стать пусковым механизмом окислительной модификации высокомолекулярных соединений, что в конечном итоге может запустить гибель клетки по апоптотическому пути. Важную роль в стимуляции и протекании злокачественной модификации играет соотношение про- и антиоксидантных процессов в клетке, поддержание редокс-гомеостаза.

Выделяют два типа АФК – свободные радикалы, имеющие один или более неспаренных электронов на внешних молекулярных орбиталях, и нерадикальные АФК, которые не имеют неспаренных электронов, но химически высокореакционноспособны и могут превращаться в свободные радикалы [Корман Д.Б. и др., 2019].

К радикальным АФК относятся супероксид анион-радикал ($O_2^{\cdot-}$), оксид азота (NO^{\cdot}), гидроксильный радикал (HO^{\cdot}). Нерадикальные АФК включают пероксид водорода, гидроксид и др. [Зенков Н.К. и др., 2020].

В митохондриях супероксидный анион-радикал генерируется главным образом комплексами I и III; мембранные NAD(P)H-оксидазы Nox1, Nox2, Nox3 и Nox5 продуцируют $O_2^{\cdot-}$, Nox4 и двойные оксидазы DUOX-1, DUOX-2 – преимущественно H_2O_2 [Зенков Н.К. и др., 2019].

АФК реакционноспособны и легко переходят из одной формы в другую, окисляя при этом различные молекулы [Пожилова Е.В. и др., 2015] (рисунок 2).

АФК могут действовать как вторичные мессенджеры, например, обратимо окисляя остатки цистеина в белках, что приводит к их активации или инактивации [Holmstrom K.M. et al., 2014]. Они также могут изменять ДНК и часто проходят сквозь клеточные мембраны через аквапорины или другие каналы [Bienert G.P. et al., 2014; Sies H. et al., 2014].

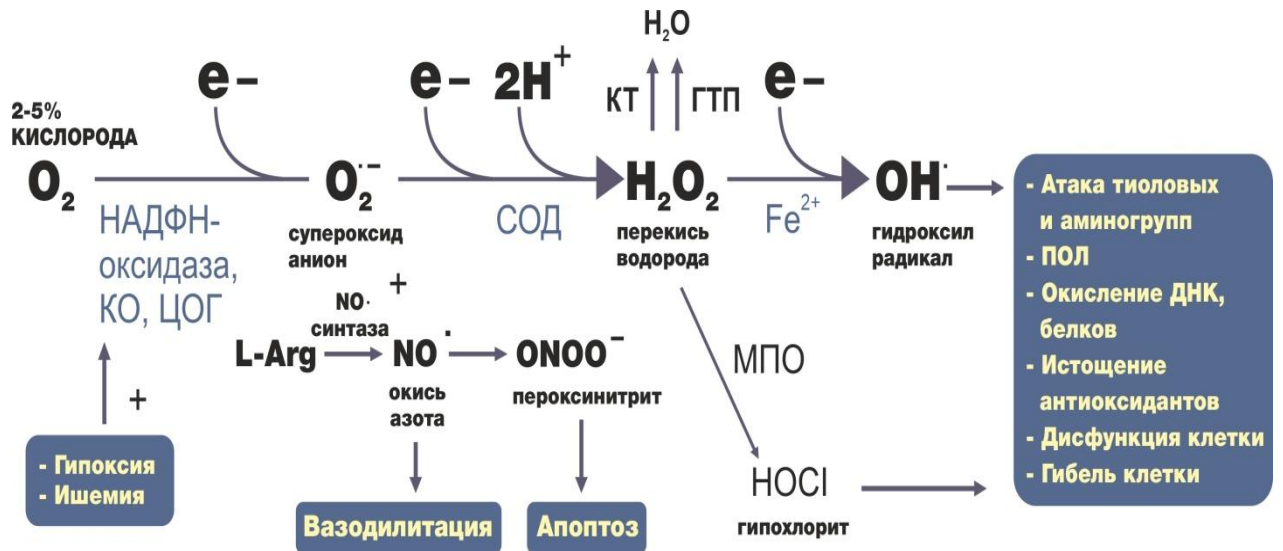


Рисунок 2 – Образование активных форм кислорода и их воздействие на клетку

Примечание: КО – ксантинооксидаза, ЦОГ – циклооксигеназа, L-Arg – L-аргинин, СОД – супероксиддисмутаза, КТ – каталаза, ГТП – глутатионпероксидаза, МПО – миелопероксидаза, ПОЛ – перекисное окисление липидов, ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота.

АФК являются хорошо известными регуляторами сигнальных каскадов, например, путем ингибирования активности фосфатаз или антиоксидантных белков, обычно связанных с киназами [Tonks N.K., 2005]. Высокоактивные остатки цистеина в активных центрах протеинтирозинфосфатаз (РТР) чувствительны к окислительному воздействию перекиси водорода (H_2O_2). Более того, недавние исследования показали, что некоторые цистеиновые группы белка могут быть даже более восприимчивыми к инактивации персульфидами или полисульфидами по сравнению с H_2O_2 , в результате чего образуется цистеинперсульфид (Cys-SSH) или цистеин-полисульфид (Cys-SnSH), и что это относительно многочисленная модификация нативных белков в культурах клеток и в печени мышей [Miller C.G. et al., 2020].

Повышенный уровень АФК может происходить либо по причине увеличения их производства, либо из-за снижения их выведения [Trachootham D. et al, 2009]. Процесс образования АКФ контролируется и поддерживается на определенном уровне посредством системы антиоксидантной защиты (АОС). Эта система состоит из ферментативного и неферментативного звена.

Неферментативные антиоксиданты по механизму антиокислительного действия могут быть антирадикальными и бифункциональными (антиоксиданты комбинированного действия). Механизм действия первой группы заключается в погашении АФК. В основе действия второй группы – уменьшение скорости образования радикалов в реакциях разветвления цепей. В результате действия неферментативных антиоксидантов возникают малоактивные радикалы самого антиоксиданта, гидроперекиси разлагаются без диссоциации на активные радикалы, образуются комплексоны с металлами переменной валентности. Наибольшее значение в клетке имеют фенольные антиоксиданты антирадикального типа действия. К этой группе относятся соединения, в котором одна или несколько гидроксильных групп соединены с ароматическим ядром [Зенков Н.К. и др., 2003].

К системе ферментативных антиоксидантов относятся супероксидредуктаза (СОД), восстанавливающая O_2 в перекись водорода, и каталаза, восстанавливающая H_2O_2 , а также глутатионзависимые пероксидазы и редуктазы, регулирующие соотношение окисленный / восстановленный глутатион и активацию митохондриального пути апоптоза (рисунок 3).

Концентрация АФК определяет судьбу клетки: низкие уровни необходимы для передачи сигналов и поддержания гомеостаза; промежуточные уровни АФК приводят к окислительному стрессу и последующей трансформации в атипичную клетку, в то время как серьезное и продолжительное повышение АФК заканчивается гибелью клеток [Bekhet O. et al, 2021].

Одним из наиболее неоднозначных патологических состояний в плане изменения редокс-баланса и перспектив фармакологического воздействия на него является опухолевый рост [Зенков Н.К. и др., 2019].

Достоверно установлено, что активность образования вторичных очагов зависит от метаболического состояния органов-мишеней метастатического поражения [Liu Q. et al., 2021]. Центральным звеном «метастатического органотропизма» является изменение про- и антиоксидантного баланса в клетках

с активацией окислительного стресса и защитных антиоксидантных систем [Basnet H. et al., 2019; Wang C. et al., 2021].

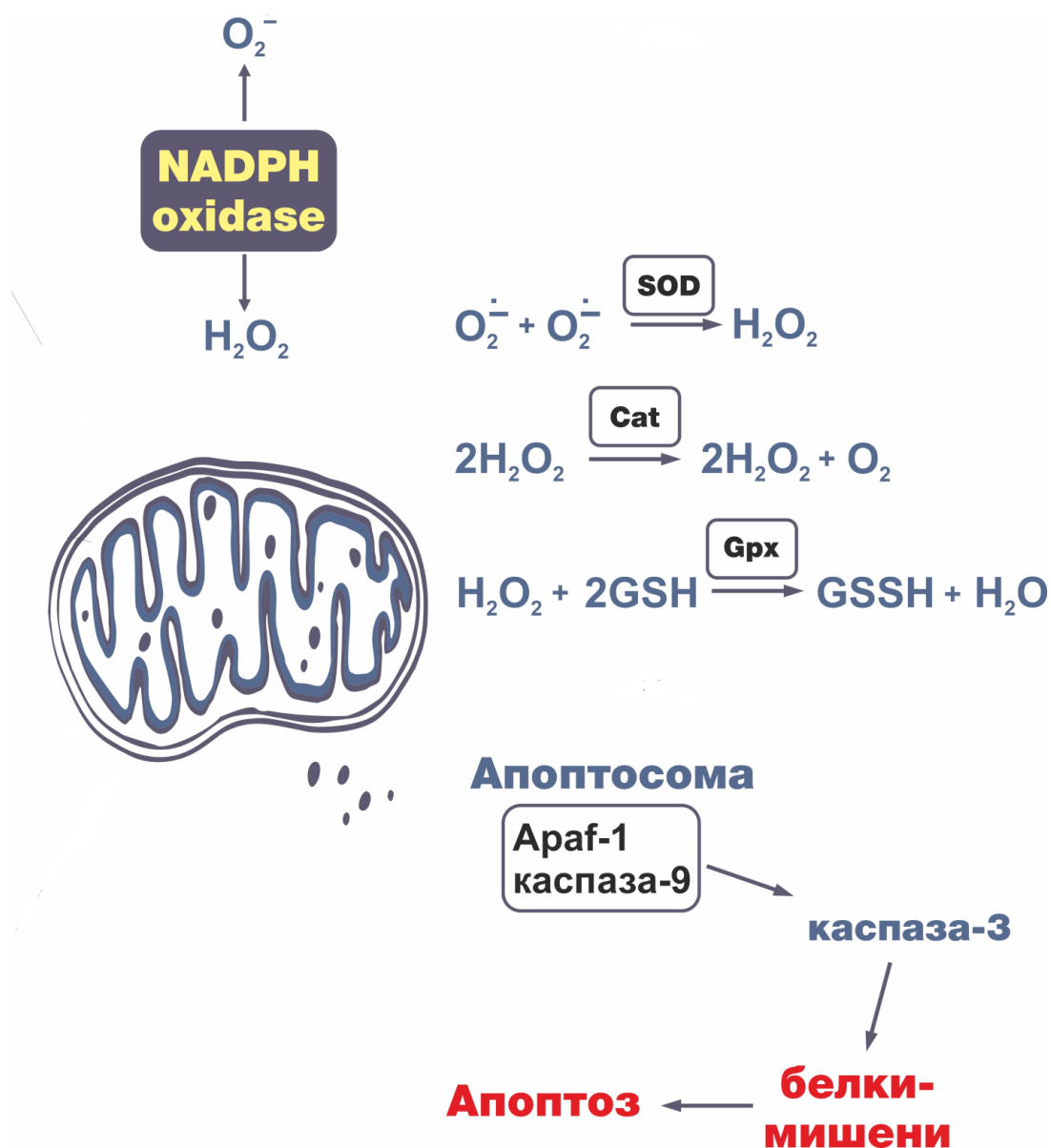


Рисунок 3 – Схема запуска митохондриального звена апоптоза

Примечание: SOD – супероксиддисмутаза, Cat – каталаза, Gpx – глутатионпероксидаза, Араф-1 – серин/треониновая протеинкиназа сигнального пути mitogen-activated protein kinase.

Окислительный стресс в митохондриях активно способствует прогрессированию опухоли и увеличивает метастатический потенциал злокачественных клеток [Gasparre G. et al., 2017]. Особая роль в патогенезе опухолевого процесса отводится содержанию восстановленного глутатиона (GSH) и активности глутатион-зависимых ферментов [Bansal A. et al., 2018; Xiao Y. et al.,

2019; Калинина Е.В. и др., 2020]. В исследованиях последних лет митохондриальная дисфункция как результат окислительного стресса выявлена при развитии ЗН различного типа и локализации [Miyata Y. et al., 2021].

По поводу непосредственного же влияния АФК на опухолевый процесс на современном этапе развития биологической и медицинской химии имеется две противоположные точки зрения: АФК могут как активировать, так и снижать активность опухолевого роста и процесса метастазирования [Мартинovich Г.Г. и др., 2015; Меньщикова Е.Б. и др., 2017; Зенков Н.К. и др., 2019]. Такой разнонаправленный характер действия антиоксидантных средств может быть обусловлен совокупным влиянием множества факторов, таких как структура самих антиоксидантов, их потенциальная способность при определенных условиях к прооксидантному действию, концентрация АФК, специфические свойства продуктов окисления антиоксидантов [Комарова Е.Ф. и др., 2017], вид и особенности роста и развития опухоли при моделировании онкологического процесса у лабораторных животных.

Рассмотрим более подробно результаты применения про- и антиоксидантных агентов в терапии злокачественных новообразований.

В литературе описаны два возможных пути влияния на интенсивность роста и развития опухолевого процесса с позиции свободно-радикального окисления (СРО) [Sahoo B.M. et al., 2022].

Во-первых, интенсивное накопление АФК, наблюдающееся более чем в 50% случаев злокачественных новообразований человека [Kruiswijk F. et al., 2015], обуславливает введение антиоксидантов ферментативного и неферментативного звена в состав сопроводительной терапии.

Во-вторых, использование подобных лекарственных агентов-соединений, направленных на усиление продукции АФК в опухолевых клетках и снижение митохондриальной биоэнергетики, приводит к избирательному уничтожению этих клеток по сравнению с условно нормальными [Котиева И.М. и др., 2018; Postovit L. et al., 2018].

Антиоксиданты в форме пищевых добавок, часто в высоких дозах, использовались как средство альтернативной медицины либо после, либо во время традиционного лечения при злокачественных новообразованиях различной локализации и стадийности – с целью путем поддерживающей терапии улучшить качество жизни пациентов, повысить неспецифическую резистентность и нивелировать побочные эффекты химиотерапии [Kelly K.M. et al., 2000]. Предлагаемое обоснование использования таких добавок во время химиотерапии состоит в том, чтобы компенсировать общее снижение уровня антиоксидантов (измеряемое параметрами общерадикальных процессов) из-за их истощения после химиотерапевтического лечения.

В некоторых крупномасштабных клинических испытаниях в области химиотерапии выявлено положительное влияние антиоксидантных добавок [Perillo V. et al., 2020] на увеличение длительности жизни пациентов и усиление эффективности лечения [Fuchs-Tarlovsky V. 2013].

Наиболее изученными соединениями в этой связи являются собственно антиоксидант – мексидол – и гормон гипофиза мелатонин, обладающий биоритмологическим, иммуномодулирующим и антиоксидантным эффектами [Канаев П.М. и др., 2013].

Установлено, что мексидол оказывает гепатопротекторное действие при курсовой химиотерапии, более выраженное в дозе 25 мг/кг, так как уменьшает степень дистрофических и структурных изменений в печени, возникающих под влиянием опухолевого роста и циклофосфана [Сипров А.В. и др., 2007]. В более поздних работах этого коллектива авторов подробно описано положительное влияние липосомальной и свободной формы мексидола на гранулоцитопоз и миокардиальную дисфункцию при экспериментальной химиотерапии карциномы Walker-256 [Сипров А.В. и др., 2020, Сипров А.В. и др., 2021].

По современным данным, фенольные антиоксиданты в определенных концентрациях действуют как биологические регуляторы антиоксидантной активности, что имеет два разных эффекта. С одной стороны, они способствуют развитию окислительного стресса; с другой – усиливают действие

противоопухолевых препаратов на опухолевые клетки и проявляют защитные свойства в нормальных клетках. [Martinovich G.G. et al., 2020]. Фенольные антиоксиданты, содержащие тиосульфонатную группу, как проявляют противоопухолевую активность, так и повышают структурную устойчивость эритроцитов в условиях индуцированного окислительного стресса. [Мартинович Г.Г. и др., 2019; Kozhin P. et al., 2018].

Также ранее получены экспериментальные данные о прямом онкостатическом эффекте антиоксидантов (мексидол и его аналоги) и препаратов с антиоксидантным эффектом (мелатонин) [Патент № 2632703, 2016].

Менее изучено применение в качестве антиоксидантного агента витамина D₃. Известно, что при его послеоперационном приеме в дозировке 2000 МЕ/день значительно снижается риск рецидивов и смерти: примерно до 30% у пациентов со злокачественными опухолями пищеварительного тракта I–III стадии – от пищевода до прямой кишки [Morita M. et al., 2021].

С другой стороны, повышение концентрации АФК активирует эндогенные механизмы антиоксидантной защиты, что позволяет опухолевым клеткам выживать в условиях окислительного стресса и может лежать в основе устойчивости к радио- и химиотерапии [Мартинович Г.Г. и др., 2017].

Индукторы выработки АФК широко исследуются как возможные противоопухолевые агенты. Получены экспериментальные данные, показывающие, что превышение определенного уровня внутриклеточного содержания АФК может оказывать цитотоксический эффект и вызывать гибель опухолевых клеток [Trachootham D. et al., 2009; Корман Д.Б. и др., 2019]. Так, например, бис(тио-гидразидамид) (elesclomol, STA-4783) способен индуцировать оксидативный стресс путем повышения внутриклеточного содержания пероксида водорода в опухолевых и нормальных клетках [Корман Д.Б. и др., 2019]. В результате в опухолевых клетках истощается антиоксидантная защита и развивается апоптоз по митохондриальному пути, тогда как для нормальных клеток такой уровень АФК не является критичным [Корман Д.Б. и др., 2019; Galadary S. et al., 2017; Kirshner J. R. et al., 2008; O'Day S. et al., 2009].

Еще одним индуктором АФК, дошедшим до клинических испытаний, является препарат Xcytrin[®] (Motexafin gadolinium), представляющий собой ароматический макроцикл, содержащий гадолиний, обладающий высокой аффинностью к электронам и легко восстанавливающийся в присутствии кислорода с образованием различных АФК, в частности, супероксидного анион-радикала. Корманом Д.Б. и соавторами в экспериментах *in vitro* с различными линиями клеток опухолей человека показано, что Xcytrin[®] обладает цитотоксическим эффектом и способен усиливать действие некоторых цитостатиков. В опытах с перевиваемыми опухолями мышей обнаружено, что Xcytrin[®] увеличивает эффективность лучевой терапии. Проведено два контролируемых рандомизированных клинических исследования, включавших 805 больных немелкоклеточным раком легкого (НМКРЛ) с метастазами в головной мозг, в которых в дополнение к стандартной лучевой терапии применялся Xcytrin[®]. Зарегистрировано достоверное увеличение времени до прогрессирования заболевания в группе пациентов, получавших комплексное лечение, по сравнению с больными контрольной группы, которым проводилась только лучевая терапия [Magda D. et al., 2006; Корман Д.Б. и др., 2019].

Выраженный противоопухолевый эффект селеноцистеина (восемь введений внутривенно через день в суточных дозах 5 мг/кг и 10 мг/кг) зарегистрирован на ксенографтах глиомы U-251, при этом в опухолях, помимо ингибирования клеточной пролиферации, отмечалось также нарушение процесса ангиогенеза [Корман Д.Б. и др., 2019; Fan C. et al., 2014; Fan C. et al., 2017], который напрямую связан с диссеминацией опухолевых клеток при метастазировании [Котиева И.М. и др., 2018; Кит О.И. и др., 2017; Кит О.И. и др., 2019].

Витамин В₅ – синтетический аналог еще одного природного ингибитора тиаминпирофосфата куркумина – подавляет активность фермента в результате ковалентного связывания с сайтами Cys497 и SeC498 молекулы тиоредоксинредуктазы (TRP). Обнаружена выраженная цитотоксическая активность В₅ и блокирование клеточного цикла в G2/M под влиянием препарата *in vitro* на клетках рака шейки матки человека линий CaSki и SiHa. Показано, что

инкубация опухолевых клеток с V_5 приводит увеличению содержания АФК, снижению мембранного потенциала митохондрий, увеличению уровня проапоптотических белков и индукции апоптоза. Кроме того, при действии V_5 зарегистрирована гибель клеток в результате аутофагии [Корман Д.Б. и др., 2019; Shao F.Y. et al., 2015].

Соединение партенолид (терпеновый лактон, выделенный из растения *Tanacetum parhenium*, используемого в традиционной китайской медицине в том числе для лечения опухолевых заболеваний), проходящее клинические испытания, взаимодействует с NADPH-зависимыми оксидазами, что способствует генерации супероксид анион-радикала и ведет к накоплению внутриклеточных АФК (клетки HeLa) [Duan D. et al., 2016].

Злокачественные клетки способны хорошо адаптироваться к окислительному стрессу с помощью усиления эндогенной антиоксидантной защиты и, очевидно, с этим связана недостаточная противоопухолевая активность агентов, усиливающих генерацию АФК [Корман Д.Б. и др., 2019].

С другой стороны, было выявлено, что в опухолевых клетках при введении ацетилцистеина (НАС) и витамина *E* значительно снижалось количество повреждений ДНК, обусловленных действием АФК, также в этих клетках определялась инактивация белка p53, что способствовало их стимуляции [Пузаков К.К. и др., 2019; Sayin V.I. et al., 2014]. Отмечена способность НАС и водорастворимого аналога витамина *E* – тролокса – усиливать миграцию клеток меланомы *in vivo*. НАС и тролокс не усиливали пролиферацию клеток первичной опухоли, однако способствовали ускорению метастазирования клеток меланомы в лимфатические узлы. НАС влиял на повышение соотношения восстановленного и окисленного глутатиона. Высокие уровни восстановленного глутатиона коррелировали со скоростью метастазирования опухоли, при этом в клетках первичной опухоли в результате иммуногистохимического анализа было обнаружено значительное снижение повреждения ДНК активными формами кислорода [Пузаков К.К. и др., 2019; Le Gal K. et al., 2015].

Другими авторами отмечено, что прием α -токоферола, ретинола и β -каротина увеличивал смертность от онкологических заболеваний на 4% среди тех участников исследования, кто принимал данные антиоксиданты, по сравнению с теми, кто их не употреблял [Albanes D. et al., 1996; Пузаков К.К. и др, 2019].

Важная концепция, которую следует иметь в виду при оценке статуса окислительного стресса, заключается в том, что, независимо от того, вызывает ли повышенный статус окислительное повреждение биомолекулы, поддержание физиологического уровня окислительного стресса имеет решающее значение для молекулярных и клеточных процессов благодаря передаче окислительно-восстановительных сигналов [Sies H. et al., 2017].

Особую роль состояние редокс-статуса клетки приобретает в ходе диссеминации опухолевого процесса. Метастазирование представляет собой сложный многоступенчатый каскад экстравазации и инвазии атипичных клеток. Недавно был предложен метаболический адаптационный механизм метастазирования ЗН в качестве новой модели взаимодействия между атипичными клетками и микроокружением опухоли [Assi M., 2017].

Повреждение биологических мембран клеток микроокружения опухоли состоит из нескольких этапов: дискретного изменения ионных транспортных систем, изменения мембранного портенциала, повышения проницаемости фосфолипидного бислоя, утечки мелких макромолекул, физического разрушения мембраны с утечкой крупных макромолекул. [Vuja L.M., 2021].

На самом деле, комбинации, с помощью которых интегрируется окислительно-восстановительная передача сигналов, чрезвычайно сложны. Нет уверенности в том, что уменьшение количества окисляющего компонента всегда благоприятно, а также в том, что увеличение содержания антиоксиданта всегда положительно. Соответственно, увеличение содержания оксидантов не обязательно приводит к статусу OxS, когда оно уравновешивается увеличением содержания антиоксидантов, так же как и снижение содержания антиоксидантов не обязательно оказывается неблагоприятным, если оно происходит параллельно с уменьшением количества оксидантов [Gaggini M., et al., 2020]. И наоборот,

поскольку выработка оксидантов в малых количествах необходима для активизации эндогенной антиоксидантной защиты, их продолжительное чрезмерное снижение может быть даже вредным. Точно так же слишком высокая концентрация антиоксидантов может быть неблагоприятной, поскольку они парадоксальным образом способствуют образованию окислительных соединений (например, мочевой кислоты) [Pingitore, A. et al., 2015].

1.5. Применение гибридных оловоорганических соединений в патогенетической терапии злокачественных опухолей в эксперименте

Одной из основных проблем при создании новых противоопухолевых лекарственных агентов является рациональное соотношение «активность-токсичность» и снижение побочных эффектов при курсовом применении в качестве химиотерапевтического агента. [Hanif M. et al., 2018]. Для снижения токсического действия на условно здоровые клетки используется один из приемов медицинской химии – введение в состав молекулы заместителей, обладающих протекторной (антиоксидантной) активностью [Ullah A. et al., 2022].

Установлено, что соединения металлов с фенольными группами способны проявлять как прооксидантную, так и антиоксидантную активность, что является важным аспектом для создания противоопухолевых препаратов цитотоксического действия с минимальными побочными эффектами на условно здоровые клетки [Антоненко Т.А., 2019; Antonenko T.A. et al., 2022].

Различные органические лиганды модулируют биологическую активность и определяют класс безопасности соединения. Направленный синтез ООС с активным протекторным фрагментом может привести к появлению кандидата с высокой противоопухолевой активностью против широкого спектра опухолей и, одновременно, к уменьшению их общей токсичности [Sadovnikov K.S. et al., 2022].

Примечательно, что выбор подходящего лиганда и органической группы, присоединенной к олову, является ключевым фактором для достижения желаемых структурных характеристик и/или биологических свойств. [Storr T. et

al., 2006]. Кроме того, результаты исследований показывают, что для максимальной эффективности ЛС необходимо сбалансировать ряд факторов, таких как структура, растворимость и параметры размера [Nikrou S. et al., 2020].

К настоящему времени накоплен большой массив экспериментальных данных об антиоксидантной активности (АОА) фенолов различного строения.

Установлено, что соединения металлов с фенольными группами способны проявлять как прооксидантную, так и антиоксидантную активность, что является важным аспектом для создания противоопухолевых препаратов цитотоксического действия без нежелательных побочных эффектов на здоровые клетки [Антоненко Т.А., 2019].

Среди большого разнообразия фенолов отдельную группу представляют пространственно-затрудненные фенолы [Ершов В.В. и др., 1972]. Обычно под этим термином подразумевают 2,6-диалкилфенолы и их многочисленные производные. Многие физические и химические свойства фенолов определяются возможностью сопряжения π -электронов ароматической системы связей с p -электронами атома кислорода гидроксильной группы, что зависит в основном от взаимного расположения в пространстве бензольного кольца и гидроксильной группы. К таким свойствам можно отнести повышенную кислотность по сравнению с алифатическими спиртами, склонность к участию в радикальных процессах и особенности механизма электрофильного замещения. Чем больше экранирование НО-группы орто-заместителями, тем слабее выражена способность к образованию водородной связи с молекулами растворителя и самоассоциации. Повышенная кислотность фенолов в растворе связана, в первую очередь, с электроноакцепторными свойствами ароматического кольца. Например, pK_a фенола равно 10,02, а pK_a 2,6-ди-трет-бутилфенола – 11,7. Предполагается, что объемные алкильные группы препятствуют сольватации образующегося в результате диссоциации аниона и уменьшают его стабильность. При рассмотрении влияния природы пара-заместителя на кислотность фенолов надо учитывать, что для некоторых пара-замещенных фенолов появляется возможность таутомерных превращений (рисунок 4).

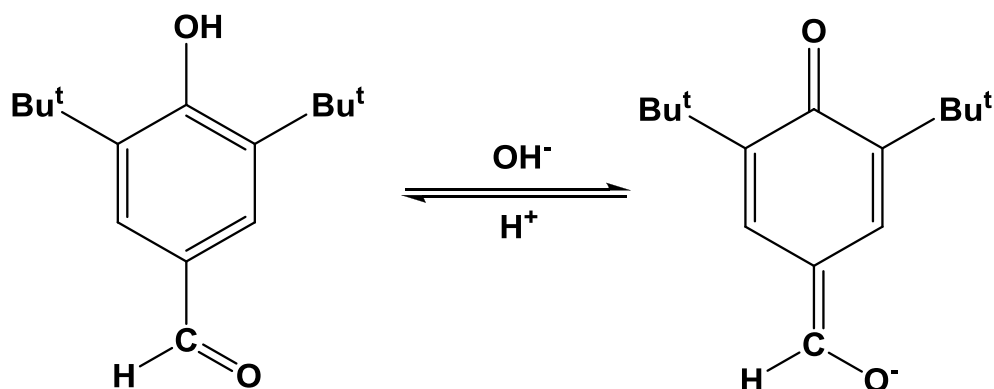


Рисунок 4 – Таутомерное превращение пара-замещённых фенолов

Важным свойством комплексов металлов, содержащих группу 2,6-ди-трет-бутилфенола, является их способность образовывать при окислении феноксильные радикалы (рисунок 5) [Шпаковский Д.Б, 2004]. Они могут легко взаимодействовать с различными радикалами в клетке, образуя стабильные, относительно неактивные феноксильные фрагменты.

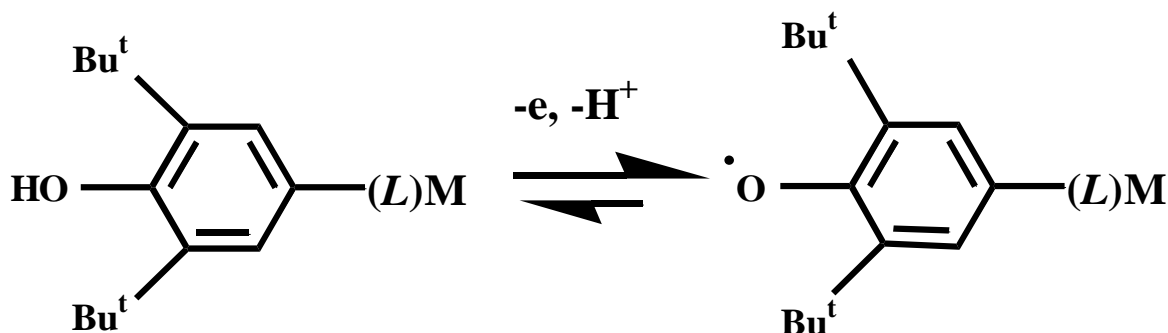


Рисунок 5 – Схема редокс-взаимодействия органических соединений олова, содержащих группу 2,6-ди-трет-бутилфенола, при окислении феноксильных радикалов

Тот факт, что энергия связи O–H в 2,6-диалкилфенолова ниже, чем у незамещённых аналогов, облегчает гомолитический разрыв данной связи с образованием феноксильных радикалов. С другой стороны, разрыв связи приводит к образованию более термодинамически устойчивых частиц. Стерические затруднения около атома кислорода играют более важную роль в

стабилизации радикала, чем дополнительные сопряжения в ароматическом кольце и, следовательно, большая делокализация электрона [Ley K. et al., 1957].

Наличие пространственно-затрудненного заместителя в пара-положении заметно повышает устойчивость феноксильных радикалов. Влияние полярных воздействий заместителя на стабильность феноксильных радикалов можно характеризовать двумя эффектами – индуктивным и мезомерным. Индуктивный эффект состоит в нерезонансной передаче заряда, что может привести к некоторому изменению распределения спиновой плотности в радикале. Этот эффект, как правило, в реакциях феноксильных радикалов проявляется наименее отчётливо – более важен мезомерный эффект (включение π -электронов заместителя в общую систему сопряжения) [Muller E. et al., 1961] (рисунок 6).

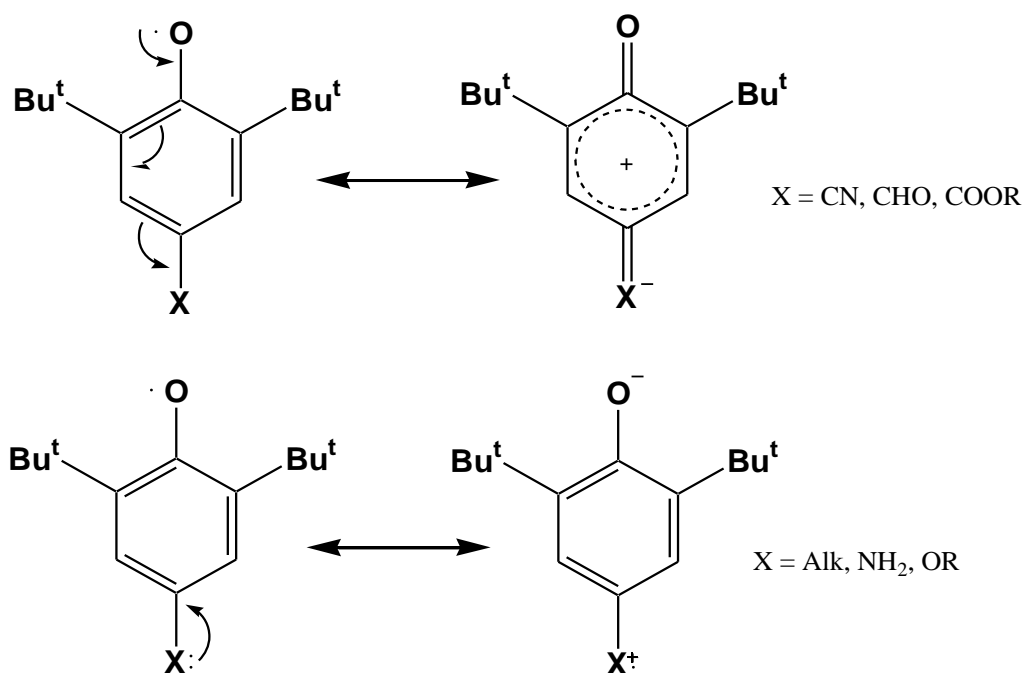


Рисунок 6 – Влияние полярных воздействий заместителя на стабильность феноксильных радикалов

В первом случае локализация электрона в кольце увеличивается, во втором – уменьшается. Однако строгой корреляции между величиной мезомерного эффекта пара-заместителя и стабильностью феноксильного радикала не наблюдается.

Гибель феноксильных радикалов при отсутствии кислорода в зависимости от пара-заместителя обычно происходит либо путём димеризации, либо в процессе диспропорционирования [Вассерман А. и др., 1967]. Например, в случае 2,6-ди-трет-бутилфенола димеризация по атомам кислорода маловероятна из-за стерических затруднений (рисунок 7).

Установлено, что для органических производных олова гомолитический разрыв связи Sn-C оказывается предпочтительным направлением фрагментации образующихся в растворах феноксильных радикалов [Милаев А.Г. и др., 1981]. Гибридные оловоорганические соединения могут подвергаться гидролизу по связи S-Sn с образованием первичных метаболитов: гидроксидов Me_3SnOH или Ph_3SnOH и 2,6-ди-трет-бутил-4-меркаптофенола (рисунок 7).

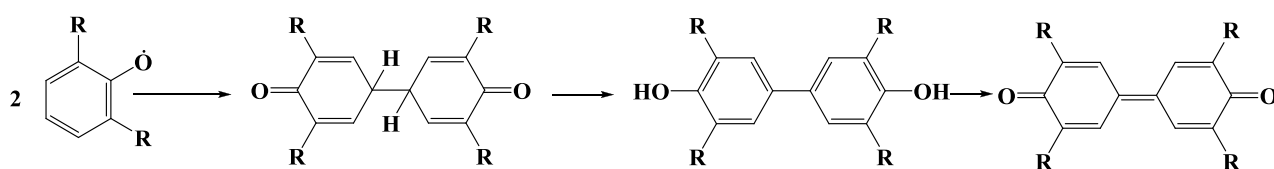


Рисунок 7 – Демонстрация затруднения процесса димеризации по атомам кислорода у 2,6-ди-трет-бутилфенола

В качестве протекторной лигандной группировки нами был использован антиоксидантный фрагмент 2,6-ди-трет-бутилфенола, введение которого в молекулу ООС приводит к снижению токсичности исходного соединения [Коляда М.Н. и др., 2017; Додохова М.А. и др., 2021]. Антиоксидантная активность исследуемых соединений как поглотителей радикалов и восстановителей была доказана спектрофотометрически в тестах со стабильным радикалом DPPH, восстановлением Cu^{2+} (метод CUPRAC) и взаимодействием с супероксид-анион-радикалом [Antonenko T.A. et al., 2018].

Фенольные соединения, такие как 2,6-ди-трет-бутил-4-метоксифенол (БГА, ВGT, E320) и 2,6-ди-трет-бутил-4-метилфенол (БГТ, ВHT, E321), представляют собой примеры синтетических антиоксидантов, разрешенных к применению в Российской Федерации [Antonenko T.A., 2019].

Нашими соавторами достоверно установлено, что атом водорода фенольной ОН-группы фрагмента 2,6-ди-трет-бутилфенола легко отщепляется под действием свободных радикалов (рисунок 8), образуя относительно нереакционноспособный феноксильный радикал, и обрывает цепной радикальный процесс [Антоненко Т.А., 2019; Milaeva E.R. et al., 2020]. Оловосодержащий фрагмент наряду с прямым биоцидным действием (повреждение ДНК и тубулина) промотирует образование АФК и способствует развитию апоптоза [Navakoski de Oliveira K. et al., 2014].

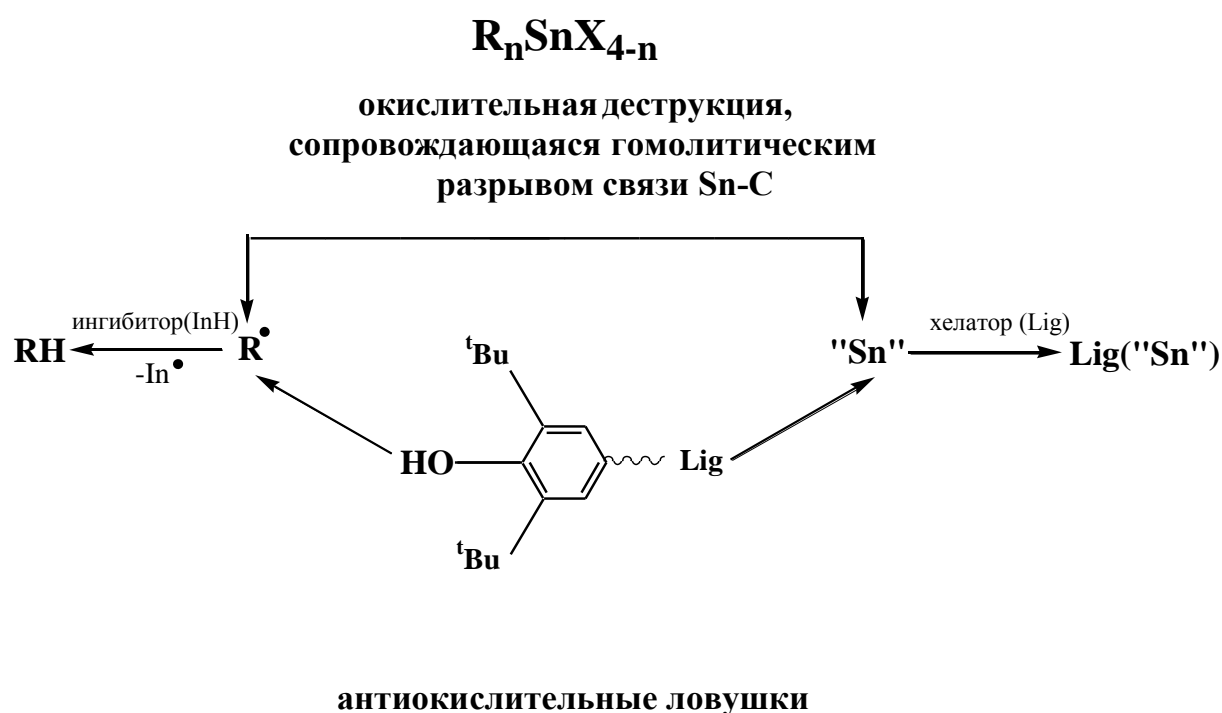


Рисунок 8 – Механизм про- и антиоксидантного действия гибридных оловоорганических соединений при биотрансформации в клетке

Отмечено, что внутриклеточный pH опухолевых клеток является более щелочным по сравнению с pH нормальных клеток организма (7,12 – 7,65 при норме 6,99 – 7,2), а внеклеточный pH опухоли – более кислый (6,2-6,9 при норме 7,3 – 7,4) [Дружкова И.Н., 2021], то есть в опухолевых тканях формируется обратный градиент вне- и внутриклеточного pH: защелачивание внутриклеточного pH и закисление среды вне клетки [Webb В.А., 2011].

Отличия внеклеточного рН в опухолях и нормальных тканях уже используются в противоопухолевой терапии для направленной доставки препаратов за счет активации лекарства в кислой среде опухоли [Jessi E. et al., 2008] и могут реализовываться при введении гибридных оловоорганических соединений за счет изменения диссоциации гидроксильной группы. В более кислой среде субстанции не могут в полной мере проявлять протекторных (антиоксидантных) свойств ввиду протонирования фенольной группы. С другой стороны, в нормальных тканях и клетках антиоксидантная группа активна, что снижает общую токсичность оловоорганического соединения.

Различные модификации органических производных олова приводят к изменениям их физико-химических свойств и биологической активности, что важно для разработки соединений в качестве потенциальных противоопухолевых агентов [Milaeva E.R. et al., 2017; Киселева М.П., 2019].

Таким образом, полученные гибридные оловоорганические молекулы с помощью стратегии молекулярной гибридизации двух важных фармакофоров могут быть полезны для открытия новых антипролиферативных агентов. [Mine A. et al., 2022].

Предварительные испытания гибридных оловоорганических соединений, содержащих протекторный фрагмент 2,6-ди-трет-бутилфенола

Свойства гибридных органических соединений олова зависят от количества атомов углерода, состава и количества протекторных групп [Alaa M. et al., 2020].

Группой авторов под руководством д.х.н., профессора Милаевой Е.Р. была синтезирована серия гибридных ООС. Соединения различаются между собой количественным и качественным составом протекторных групп на основе 2,6-ди-трет-бутилфенола, а также длиной линкерного фрагмента.

Были произведены предварительные испытания полученных соединений.

Изучены окислительно-восстановительные свойства соединения Me-5 (методом циклической вольтамперометрии (CV)), а также его антиоксидантная активность на модельных реакциях извлечения атома водорода (DPPH-тест) и

одноэлектронного восстановления (CUPRAC-тест). В исследовании показана высокая антиоксидантная активность тестируемых соединений [Nikitin E.A. et al., 2020], выявлено их влияние на митохондриальный потенциал и индукцию перехода проницаемости митохондрий. Оловоорганическое соединение Me-5 деполаризует митохондрии и индуцирует переход проницаемости в них. Эти свойства могут быть основными причинами его цитотоксичности. Поскольку гибридные ООС обладают защитными 2,6-ди-трет-бутилфенольными группами, изучено пероксидное окисление липидов (ПОЛ) гомогенатов митохондрий печени крыс линии Wistar с последующим определением тиобарбитуровой кислоты (ТБК)-зависимых продуктов окисления. Исследованное соединение олова Me-5 является эффективным ингибитором ПОЛ [Коляда М.Н. и др., 2018; Антоненко Т.А., 2019].

Установлено, что липофильное соединение Me-5 значительно деполаризует митохондрии при концентрации 0.2 мМ. Однако механизм индуцирования каскадной гибели митохондриальных клеток связан с процессом изменения митохондриальной проницаемости, происходящим из-за открытия неспецифических митохондриальных пор переходной проницаемости (МППп). Соединение Me-5 также индуцирует набухание митохондрий и вызывает раскрытие МППп, что может привести к гибели клеток [Milaeva E.R. et al., 2015; Антоненко Т.А., 2019].

Изучено влияние (3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенил)тиолата трифенилолова на активность индуцибельной синтазы оксида азота (iNOS) как релевантной биологической мишени *in vitro*. Соединение Me-5 (ИК₅₀ = 0.47 мкМ) вызывало значимое подавление образования NO макрофагами, превосходя препарат сравнения дексаметазон (ИК₅₀ = 1.55 мкМ) по величине ингибирующей концентрации. Оценка морфологии макрофагов после инкубации с Me-5 в концентрации 10 мкМ выявила признаки выраженной цитотоксичности – разрушение клеточных мембран, сокращение объема клеток, конденсацию хроматина, усадку ядер. Обнаружено, что оловоорганическое соединение

вызывает выраженное угнетение противовоспалительного ответа и жизнеспособности макрофагов [Милаева Е.Р. и др., 2022].

Скрининговое исследование биологической активности соединений Sn (IV) с 2,6-ди-трет-бутил-4-меркаптофенолом проводилось на клеточных линиях MCF-7 и HeLa, а также эмбриональных фибробластных клетках легких человека (MRC-5). Наибольшая активность на обеих опухолевых клеточных линиях была определена для комплекса трифенилолова со значениями IC_{50} 250 нМ (MCF-7) и 160 нМ (HeLa). В данном исследовании показано, что введение цитопротекторной фенольной группы снижало цитотоксичность соединений, и тем самым была достигнута некоторая селективность, более выраженная цитотоксичность в отношении злокачественных клеток по сравнению с нормальными [Shpakovsky D.V. et al., 2015].

В другой серии экспериментов было выполнено определение выживаемости клеток исследуемых линий при совместном культивировании условно нормальных и злокачественных клеток. В целом наблюдается дозозависимый эффект действия, характерный для соединений олова. При этом отчетливо проявляется существенно более высокая цитотоксичность соединения олова по отношению к опухолевым клеткам [Орлова С.И., 2012].

В предварительных испытаниях *in vivo* на лабораторных мышах линии BALB/c эмпирически выявлен верхний предел переносимости доз при внутрибрюшинном способе введения (максимально переносимая доза 80 мг/кг) [Milaeva E.R. et al., 2020].

Соединение АК-26 синтезировано на основе трифенилоловохлорида, который сам является сильным токсическим агентом. При исследовании цитотоксичности оловоорганических комплексов с имидазолсодержащими 2,6-ди-трет-бутилфенолами обнаружена зависимость от наличия оловоорганического фрагмента, природы и числа органических групп при атоме олова и длины линкера между фенольным и гетероциклическим фрагментом. В ряду оловоорганических комплексов выявлено соединение-хит (АК-26) на основе трифенилолова, проявляющее активность на резистентных клеточных линиях и

образцах опухолевых тканей, полученных от пациентов, что позволяет выдвинуть его в качестве кандидата для дальнейших испытаний *in vivo* [Nikitin E.A. et al., 2022].

Высокая цитотоксичность АК-26 связана в том числе и с большой липофильностью, способствующей пассивному транспорту через клеточную мембрану [Anasamy T. et al., 2021]. Увеличение длины линкера между функциональными группами может привести к изменениям антиоксидантной активности и, как следствие, модуляции цитотоксичности вещества по отношению к различным клеточным линиям [Nikitin E.A. et al., 2022]. При этом имидазольное кольцо играет роль координирующей группы (рисунок 9).

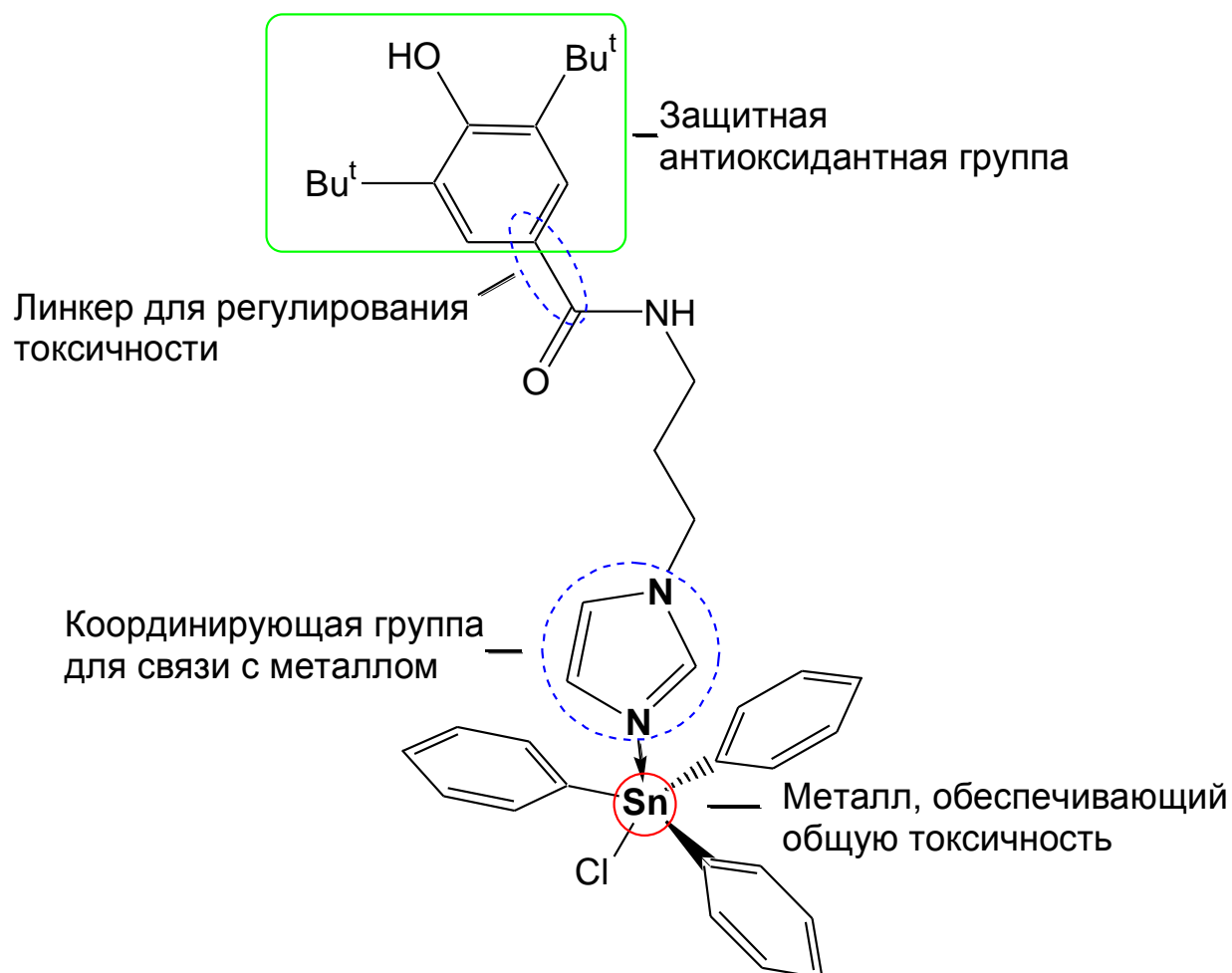


Рисунок – 9 Структура АК-26

Стабильность соединения АК-26 исследована методом спектроскопии ЯМР в системе ДМСО-вода [Nikitin E.A. et al., 2022]. Показано, что соединение стабильно в течение суток. Подобное поведение АК-26 согласуется с литературными данными, согласно которым N-алкилированные имидазолы формируют стабильные комплексы с оловоорганическими соединениями, в отличие от незамещённых аналогов и других N-гетероциклов [Pettinari C. et al., 1998]. При проществе большего количества времени и в иных тестовых системах (в том числе и биологических) не исключена гидратация соединения по механизму, схожему с цисплатином [Rocha C. et al., 2018], однако его дальнейшее токсическое воздействие на клетку носит принципиально иной характер. В исследованиях *ex vivo* с образцами, полученными из ткани крыс Wistar, обнаружено, что АК-26 относится к классу митотических ядов, вызывая нарушения клеточного цикла, а также мешая нормальному делению клеток по механизму, схожему с известным цитостатическим препаратом таксолом [Nikitin E.A. et al., 2022].

Хорошо известно, что атом Sn взаимодействует со свободными SH группами в белках, что приводит к искажению структуры и потере функциональности белков. ООС могут промотировать пероксидное окисление липидов в клеточных мембранах и вызывать окислительный стресс [Коляда М.Н. и др. 2018]. Соединения Sn (IV) действуют на клетки по различным механизмам: изменение проницаемости мембран и синтеза фосфолипидов, накопление в аппарате Гольджи и эндоплазматической сети, ингибирование синтеза ДНК, РНК и белков, индуцируют апоптоз.

В результате анализа литературных данных об исследованиях ООС в терапии злокачественных новообразований на различных модельных объектах и на основании предварительных испытаний тестируемых гибридных ООС возможно охарактеризовать некоторые патогенетические механизмы их действия (таблица 2).

Таблица 2 – Некоторые патогенетические механизмы реализации антипролиферативной, противоопухолевой и антиметастатической фармакологической активности гибридных ООС, а также их неспецифической токсичности

Оловосодержащий фрагмент	Протекторный фрагмент (2,6-ди-трет-бутилфенольные группы)
	Обеспечивает общую стабильность, в том числе, устойчивость к гидролизу вне клетки
Прооксидантная активность	Антиоксидантная активность
Активация образования АФК	Снижение образования АФК
Повреждение макромолекул: белков, липидов, углеводов, нуклеиновых кислот	Обеспечение диссоциации феноксильного фрагмента гибридных ООС в зависимости от рН межклеточной жидкости с изменением активности транспорта
Нарушение проницаемости биологических мембран в клетке (в том числе и митохондриальных)	Возможность селективного действия на атипичные и условно здоровые клетки
Изменение клеточного метаболизма	Снижение неспецифической токсичности на условно здоровые клетки
Нарушение митотического деления	
Запуск апоптоза	

На основании выполненного анализа доступной нам литературы и ранее проведенных исследований можно резюмировать следующие положения, касающиеся действия гибридных ООС на различные модельные системы ЗН:

1. ООС, несмотря на свою высокую токсичность, демонстрируют широкий спектр биологической активности, обладая уникальными характеристиками, такими как каталитическая и окислительно-восстановительная способность, структурное разнообразие, тенденция к обмену лигандов и разнообразие доступных взаимодействий с биологическими мишенями;

2. в зависимости от донорного лиганда ООС проявляют различную цитотоксическую активность и специфичность;

3. в большом количестве проведенных *in vitro* исследований производные ООС продемонстрировали значительный цитотоксический потенциал на различных опухолевых клетках, однако их специфический механизм действия все еще остается предметом дискуссий, что указывает на целесообразность дальнейшего изучения данной группы соединений *in vivo* и разработки их в качестве кандидатов для создания ЛС для противоопухолевой и антиметастатической терапии;

4. для узкого спектра ООС установлена противоопухолевая и/или антиметастатическая активность на стандартных и альтернативных опухолевых моделях в исследованиях *in vivo*;

5. детальный анализ соотношения структур ООС и цитотоксической активности *in vitro* и *in vivo* описанных в литературе субстанций может быть использован при выборе наиболее перспективных кандидатов в противоопухолевые лекарственные средства для дальнейших доклинических исследований выбранных соединений и/или модификации молекул в ходе направленного синтеза молекул ООС с целью получения оптимального соотношения «активность-токсичность».

Все вышеперечисленное позволяет считать, что комплексное исследование гибридных ООС *in vivo* с выяснением некоторых патогенетических механизмов реализации противоопухолевой и антиметастатической активности на экспериментальных моделях злокачественных неоплазий открывает широкие перспективы для поиска среди них новых химиотерапевтических средств.

ГЛАВА 2

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В работе были использованы стандартные методики доклинического изучения соединений с предполагаемым противоопухолевым действием: фармакологические, токсикологические, биохимические и морфологические.

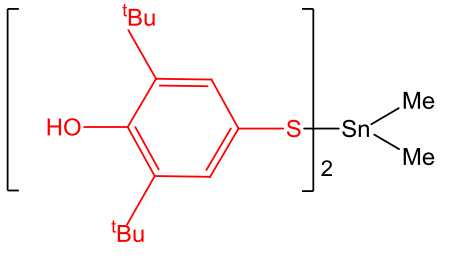
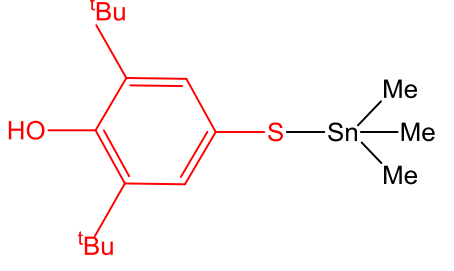
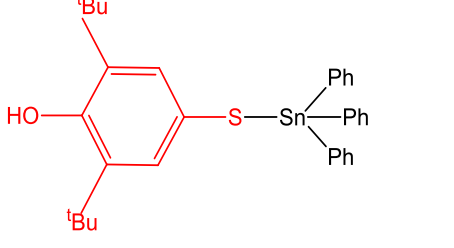
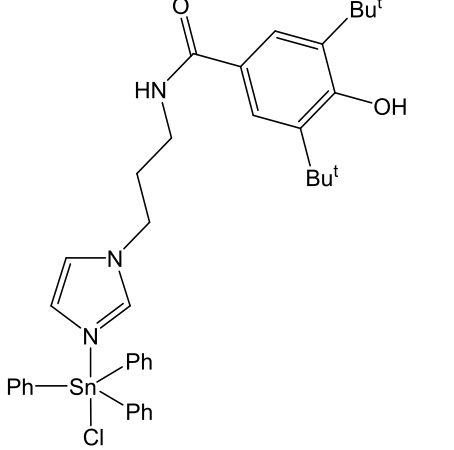
2.1. Исследуемые соединения

В качестве тестируемых соединений нами были выбраны четыре гибридные субстанции, относящиеся к классу ООС и, предположительно, обладающие противоопухолевым и антиметастатическим эффектами. Все соединения получены по известным методикам [Shpakovsky D.V. et al., 2014; Nikitin E.A. et al., 2022] на кафедре органической химии и тонкого органического синтеза Химического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова под руководством заведующего кафедрой, д.х.н., профессора Милаевой Е.Р. и наработаны в количествах, необходимых для проведения всего цикла экспериментальной работы.

В ходе направленного химического синтеза для снижения токсичности по сравнению с аналогами более простой структуры была произведена модификация молекул протекторными фрагментами 2,6-ди-трет-бутилфенола (Me-3, Me-4, Me-5) и N-(3-(1H-имидазол-1-ил)пропил)-3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксибензамидом (AK-26) (таблица 3).

Введение лигандов органической природы в координационные соединения обеспечивает их липофильность, которая усиливает действие препарата за счет эффективной проницаемости через клеточные мембраны и доставки молекулы к мишени [Shpakovsky D.V. et al., 2014; Nikitin E.A. et al., 2022].

Таблица 3 – Структурные формулы исследуемых соединений

Лабораторный шифр исследуемых соединений	Структурная формула	Международное название
Me-3		бис(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенилтиолат) диметиллова
Me-4		(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенилтиолат)триметиллова
Me-5		((3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенилтиолат)трифениллова
AK-26		комплекс хлорида трифениллова с N-(3-(1H-имидазол-1-ил)пропил)-3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксибензамидом

Примечание: Обозначение радикалов: ^tBu – трет-бутил, Ph – фенил.

Тестируемые ООС являются кристаллическими веществами, устойчивыми на воздухе. Исследуемые вещества нерастворимы в воде, поэтому для введения животным исходные соединения суспензировали в 1% растворе желатина. Строение всех соединений подтверждено сравнением температур плавления исходных веществ и данными элементного анализа и ЯМР: ^1H , ^{13}C исследуемых соединений для доказательства их чистоты.

Суспензия является предпочтительной формой для внутрижелудочного введения большинства тестируемых и стандартных объектов [Гущина С.В. и др., 2015]. Белковый носитель (желатин) был выбран после предварительных испытаний различных вспомогательных веществ [Кириченко Д.В. и др., 2020]. Стабильность суспензий оценивалась по следующим показателям: органолептические характеристики, проходимость через зонд для внутрижелудочного введения, pH, высота отстоявшегося слоя [Гущина С.В. и др., 2017]. 1% желатиновая суспензия гибридных ООС обладала оптимальным набором характеристик по указанным показателям.

Дозу вводимых соединений рассчитывали индивидуально в зависимости от массы тела животного (мг/кг). Экспериментальные животные контрольных групп во всех опытах получали носитель в эквивалентном объеме. Препаратом сравнения был выбран цисплатин – как наиболее изученный металлосодержащий лекарственный препарат, применяющийся в клинической практике.

2.2. Общая характеристика экспериментов на животных

Разработка лекарственного средства представляет собой поэтапный исключаящий отбор. На каждом этапе отсеиваются вещества, признанные по результатам соответствующих исследований не обладающими потенциалом стать лекарственным препаратом, терапевтический эффект от применения которого будет превышать риски [Васильев А.Н. и др., 2017].

Исследование было произведено на двух видах животных: крысах Wistar (самки) и мышах (самки) линии C57Bl/6. Животные получены из разведения НИЦ «Курчатовский институт» – «ПЛЖ «Рапполово».

Экспериментальная часть выполнялась в соответствии с принципами Хельсинкской декларации в осенне-зимний период. Животные содержались в клетках по 6 особей в каждой, имели свободный доступ к еде и воде, сбалансированное питание, соответствующее данному виду животных. Температура окружающего воздуха поддерживалась на уровне 20–25°C при относительной влажности 60–65%. В качестве подстила использовались древесные опилки, прошедшие предварительную УФ-стерилизацию. После окончания срока карантинного изолирования (14 суток) животные были осмотрены с целью выявления отсутствия внешних признаков заболеваний, стандартизированы по полу, возрасту и весу, рандомизированы с помощью таблицы случайных чисел. Последовательность случайных чисел была сгенерирована программой, опубликованной в открытом доступе: <https://www.randomizer.org>. Животные, не соответствующие критериям, исключены из исследования. Время выполнения контрольных опытов было варьировано и/или поделено: часть в начале опыта, часть в середине, часть в конце [Прозоровский В.Б., 2007].

Согласно методическим рекомендациям для доклинических исследований на животных [Авдеева О.И. и др., 2018], на токсикологическом этапе в течение всего срока эксперимента каждая особь осматривалась через 1, 3 и 24 часа после введения субстанций, и далее ежедневно на протяжении 14 суток. При осмотре оценивали общее состояние животных по следующим показателям:

1. летальность;
2. динамика изменения массы тела;
3. клиническая картина интоксикации.

На этапе выявления фармакологической активности в отношении опухолевого процесса каждая особь осматривалась через 1, 3 и 24 часа после введения субстанций, и далее ежедневно на протяжении 18 или 21 суток в зависимости от модели.

2.3. Определение токсичности

Исследование острой токсичности проведено на 165 крысах Wistar (самки) весом 190-210 г методом «фиксированной дозы» по протоколу OECD 420 и методом «вверх и вниз» по протоколу OECD 425 [OECD, 2001; OECD, 2008].

Метод «фиксированной дозы» по протоколу OECD 420

При определении класса токсичности в предварительном и основном испытании суспензии Me-3, Me-4 и Me-5 и АК-26 вводили однократно внутрижелудочно в дозах 5, 50, 300 и 2000 мг/кг с интервалом 24-48 ч между приемом доз каждого уровня. Схема проведения процедур по OECD 420 приведена на рисунке 10 а, б.

Схема введения препарата при предварительном исследовании

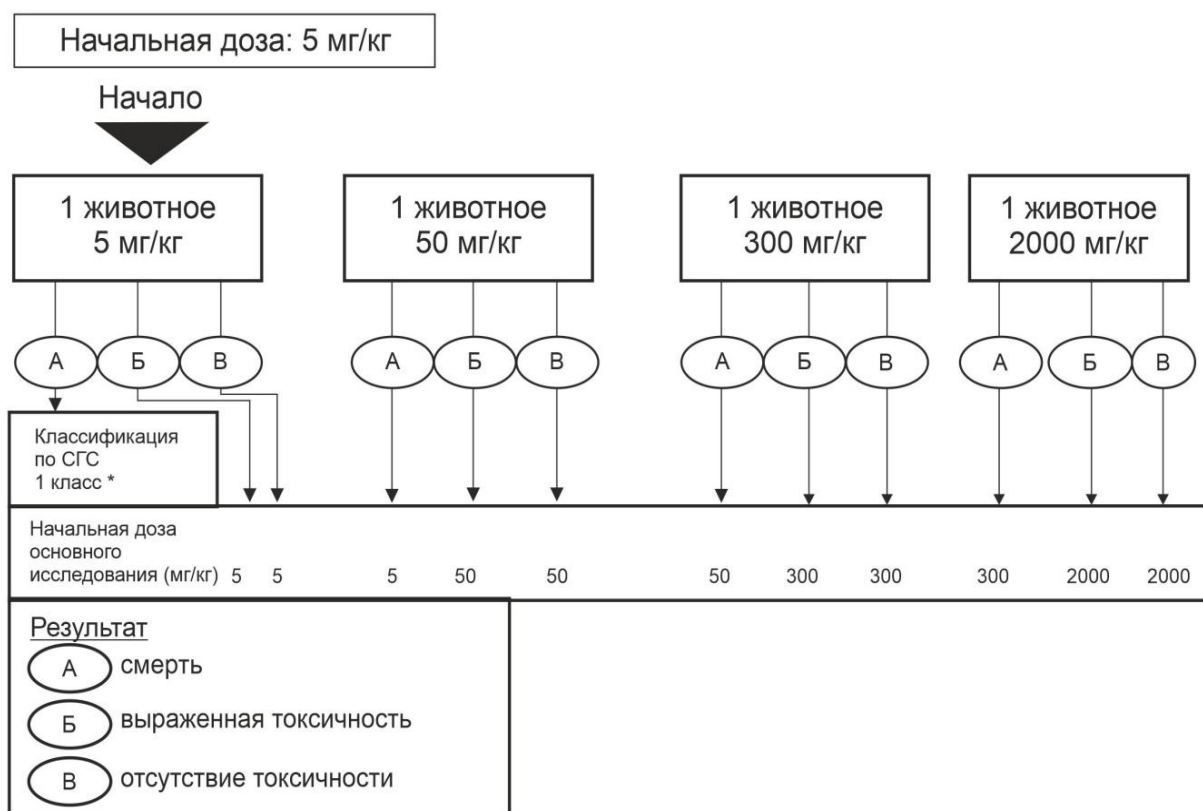


Рисунок 10 а – Схема определения токсикометрических характеристик по методу «фиксированной дозы» по протоколу OECD 420 в предварительном испытании

Схема введения препарата при основном исследовании

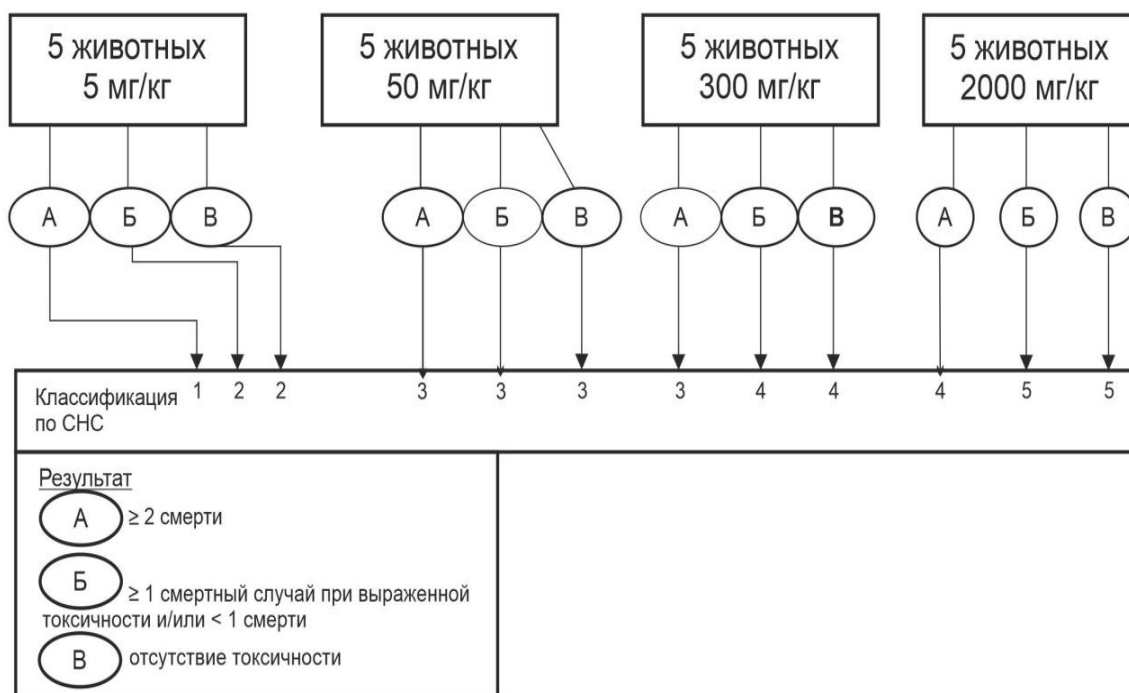


Рисунок 10 б – Схема определения токсикометрических характеристик по методу «фиксированной дозы» по протоколу OECD 420 при основном испытании

Метод «вверх и вниз» по протоколу OECD 425

Присвоение тестируемым субстанциям класса токсичности произведено по «Согласованной на глобальном уровне системе классификации опасности и маркировки химической продукции». Химическая продукция, обладающая острой токсичностью по воздействию на организм, относится к одному из пяти классов опасности в соответствии с таблицей 4 [Хамидулина Х.Х. и др., 2014].

Тестируемые соединения вводили однократно внутривентрикулярно через зонд в виде взвеси, полученной путем суспензирования в 1% водном растворе желатина, объемом не более 2 мл [Рыбакова А.В. и др., 2018]. Животным из контрольных групп были введены 1% водный раствор желатина и вода для инъекций в аналогичных объемах.

Таблица 4 – Классы опасности химических веществ, обладающих острой токсичностью по воздействию на организм.

Путь поступления в организм	Класс опасности				
	I	II	III	IV	V
При введении в желудок, мг/кг массы тела	$LD_{50} \leq 5$	$5 \leq LD_{50} \leq 50$	$50 \leq LD_{50} \leq 300$	$300 \leq LD_{50} \leq 2000$	$2000 \leq LD_{50} \leq 5000$

Оценка LD_{50} с доверительной вероятностью была произведена по протоколу OECD 425 только для соединений Me-5 и АК-26 с применением нестандартного коэффициента интервала дозы. Нахождение расчетных значений токсических доз (LD_{16} , LD_{50} , LD_{84}) производили, используя специальный статистический метод «пробит-анализа» по Личфилду-Уилкоксону [Прозоровский В.Б., 1994; Беленький М.Л., 1963].

При исследовании необходимо использовать широкий диапазон доз, обязательно включающий, с одной стороны, дозы, от которых не погибает ни одно животное и, с другой стороны, дозы, от которых гибнут все особи данной группы [Авдеева О.И. и др., 2018]. Нами строился график результатов исследования (эффективности в «пробитах») в зависимости от «логарифма дозы» введенного соединения. Значения пробита, соответствующие данному проценту гибели особей, находили по таблице 5. На оси абсцисс откладывали логарифмы доз изучаемого препарата, а по оси ординат – процентное выражение гибели подопытных особей, трансформированное в условные вероятностные величины, называемые «пробит» (от английского probability unit – вероятностная единица) [Зельчан Р.В. и др., 2019].

Таблица 5 – Таблица для преобразования процента частоты гибели особей в пробиты

Гибель (в %)	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	–	2,67	2,95	3,12	3,25	3,36	3,45	3,52	3,59	3,66
10	3,72	3,77	3,82	3,87	3,92	3,96	4,01	4,05	4,08	4,12
20	4,16	4,19	4,23	4,26	4,29	4,33	4,36	4,39	4,42	4,45
30	4,48	4,50	4,53	4,56	4,59	4,61	4,64	4,67	4,69	4,72
40	4,75	4,77	4,80	4,82	4,85	4,87	4,90	4,92	4,95	4,97
50	5,00	5,03	5,05	5,08	5,10	5,13	5,15	5,18	5,20	5,23
60	5,25	5,28	5,31	5,33	5,36	5,39	5,41	5,44	5,47	5,50
70	5,52	5,55	5,58	5,61	5,64	5,67	5,71	5,74	5,77	5,81
80	5,84	5,88	5,92	5,95	5,99	6,04	6,08	6,13	6,18	6,23
90	6,28	6,34	6,41	6,48	6,55	6,64	6,75	6,88	7,05	7,33

По графику необходимо было вывести линию тренда и уравнение этой линии.

Как известно, при пробит-анализе доза ЛД₁₆ соответствует пробиту 4, доза ЛД₅₀ – пробиту 5, а доза ЛД₈₄ – пробиту 6.

Подставив в уравнение значение пробита, получаем: ЛД₁₆, ЛД₅₀, ЛД₈₄.

Расчет ЛД₁₀₀ производили по формуле

$$ЛД_{100} = ЛД_{84} + \frac{ЛД_{84} - ЛД_{50}}{2}.$$

Вычисление стандартной ошибки ЛД₅₀ производили по формуле

$$S ЛД_{50} = \frac{ЛД_{84} - ЛД_{16}}{\sqrt{2N}},$$

где N – количество животных в группах, использованных для испытания доз, которые находятся в пределах значений пробитов от 3,5 до 6,5.

Оценка токсического влияния гибридных оловоорганических соединений на поведение животных произведена по модифицированной методике Лысенкова

С.П. [Лысенков С.П. и др., 1982; Ряховский А.Е. и др., 2017]. Категории и критерии балльного оценивания токсикологического статуса экспериментальных животных являются универсальными для оценки воздействия ксенобиотиков различных химических групп, включая металлоорганические соединения, и приведены в таблице 6.

Таблица 6 – Шкала балльной оценки клинической картины интоксикации экспериментальных животных при однократном внутрижелудочном введении гибридных оловоорганических соединений [Ряховский А.Е. и др., 2017].

№ п/п	Тесты	Баллы
1.	<i>Рефлекс переворачивания</i> <ul style="list-style-type: none"> • Нормальный • Слабый • Отсутствует 	0 2 4
2.	<i>Тестирование равновесия</i> <ul style="list-style-type: none"> • Нормальное • Слабое • Отсутствует 	0 2 4
3.	<i>Рефлекс постановки лап на опору</i> <ul style="list-style-type: none"> • Нормальный • Слабый • Отсутствует 	0 2 4
4.	<i>Рефлекс отдергивания хвоста</i> <ul style="list-style-type: none"> • Нормальный • Слабый • Отсутствует 	0 2 4
5.	<i>Сохранение позы</i> <ul style="list-style-type: none"> • Нормальное • Слабое • Отсутствует 	0 2 4

№ п/п	Тесты	Баллы
6.	<i>Судороги</i> <ul style="list-style-type: none"> · Отсутствуют · Клонические · Тонические 	0 2 6
7.	<i>Патологические самопроизвольные движения в конечностях</i> <ul style="list-style-type: none"> · Нет · Да 	0 4
8.	<i>Реакция на шумовой раздражитель</i> <ul style="list-style-type: none"> · Нормальная · Снижена · Повышена · Неадекватная · Отсутствует 	0 2 2 2 4
9.	<i>Реакция на боль</i> <ul style="list-style-type: none"> · Адекватная · Снижена · Парадоксальная · Отсутствует 	0 2 2 4
10.	<i>Поведенческие реакции</i> <ul style="list-style-type: none"> · Нормальные · Гиперактивные · Гипоактивные · Отсутствуют 	0 2 2 6
11.	<i>Грумминг</i> <ul style="list-style-type: none"> · Есть · Нет 	0 2
12.	<i>Внешний вид</i> <ul style="list-style-type: none"> · Опрятный · Неопрятный 	0 2

№ п/п	Тесты	Баллы
13.	<p><i>Отношение к еде</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Ест • Не ест 	<p>0</p> <p>2</p>
14.	<p><i>Отношение к воде</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Пьет • Не пьет 	<p>0</p> <p>2</p>
15.	<p><i>Характер дыхания</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Нормальное • Учащенное • Замедленное или с участием вспомогательной мускулатуры • Апноэ 	<p>0</p> <p>2</p> <p>4</p> <p>6</p>

Суммарную оценку реакции всех животных считали отдельно по каждому параметру и группе. Развитие клинической картины интоксикации фиксировали при определении острой токсичности по протоколу OECD 420 на пике проявлений токсического процесса.

Степень повреждения паренхиматозных органов выявляли с помощью биохимических и морфологических методик.

2.4. Опухолевые модели

Для выявления специфической активности Me-3, Me-5 и АК-26 нами были выбраны универсальные модели перевиваемых опухолей со спонтанным метастазированием – меланома B16 и эпидермоидная карцинома Lewis мышей. Указанные опухолевые штаммы метастазируют в основном гематогенно в легкие (при подкожной перевивке) и характеризуются высокой интенсивностью процесса диссеминации злокачественных клеток, давая макроскопические метастазы, доступные для качественной и количественной оценки простыми способами [Мурин И.И., 2011].

Следует отметить, что в работе выполнено многократное введение субстанций через 48 ч. после перевивки опухолевого материала, т.е. произведена оценка собственно антиметастатической активности, направленной на профилактику образования вторичных очагов в отдаленных органах и тканях [Хабриев Р.У., 2005].

Считается, что данные модели по чувствительности сопоставимы с солидными опухолями человека [Dyigay A.M. et al., 2010].

Штаммы опухолевых клеток получены из банка опухолевых материалов Научно-исследовательского института экспериментальной диагностики и терапии опухолей РОНЦ им. Н.Н. Блохина. Поддержание и перевивку опухолевого штамма осуществляли в соответствии с общепринятыми методиками опытов на мышах линии C57Bl/6, подробно описанными в работах наших соавторов [Кит О.И. и др., 2019, Кит О.И. и др., 2017]. Инокуляцию опухолевых клеток для поддержания штамма и опытной перевивки меланомы B16 проводили подкожно в правую подмышечную область каждой мыши по 50 мг опухолевой взвеси в физиологическом растворе в разведении 1:10. Для поддержания штамма эпидермоидной карциномы Lewis инокулировали в мышцу бедра по 0,3 мл измельченных фрагментов опухолевой ткани LLC в физиологическом растворе хлористого натрия, а перевивку опухоли подопытным животным производили тем же количеством инокулума, но подкожно в правую подмышечную область.

Согласно рекомендациям, использовали второй, третий, четвертый, пятый пассаж опухолевого материала [Островская Л.А. и др., 2018].

Через 48 ч. после перевивки опухолевых клеток мышам-самкам линии C57Bl/6 исследуемые соединения вводили внутривентриально 1 раз в сутки в течение 5 дней по классической методике, используемой для скрининга соединений с предполагаемым противоопухолевым действием [Софьина З.П. и др., 1980].

Начало лечения соответствовало времени интенсивного размножения опухолевых клеток, что обеспечивало их нахождение в наиболее чувствительном к химиотерапии состоянии [Киселева М.П., 2019; Chabner B.A. et al., 2001].

2.5 Оценка противоопухолевой и антиметастатической активности на моделях перевиваемых опухолей

Для обеих субстанций испытание проводили по схеме, применяемой для скринингового исследования фармакологической активности соединений с предполагаемым противоопухолевым и антиметастатическим действием в широком диапазоне доз: разовая доза (РД) составила от 30 мг/кг до 100 мг/кг, суммарная доза (СД) – от 150 мг/кг до 500 мг/кг.

Исследование включало два этапа [Трещалина Е.М. и др., 2012].

На первом этапе (предварительный) при введении Me-3 и Me-5 в широком диапазоне доз наблюдение за животными проводилось ежедневно до их естественной гибели с определением средней продолжительности жизни (СПЖ, сутки), увеличения продолжительности жизни (при наличии) (УПЖ, %) и фиксирования суток смерти первого животного в серии. Сутки падежа первого животного в контрольной группе для каждой модели являлись временем окончания эксперимента на основном (втором) этапе изучения фармакологической активности гибридных ООС.

Изменение средней продолжительности жизни ($\Delta\tau$, %) определялось как

$$(1)\Delta\tau, \% = (\tau_C - \tau_T) / \tau_C,$$

где τ_C и τ_T – средняя продолжительность жизни (СПЖ, дни) мышей в группах контрольных (С) и пролеченных (Т) животных.

Увеличение продолжительности жизни (УПЖ) леченных особей по сравнению с контрольной группой вычисляли по формуле:

$$(2)\text{УПЖ, \%} = (\text{СПЖ}_o - \text{СПЖ}_k) / \text{СПЖ}_k \times 100,$$

где СПЖ_о и СПЖ_к – средняя продолжительность жизни (сутки) в опытных и контрольных группах животных.

На этом этапе были отобраны наиболее перспективные для исследования РД ООС для второго этапа эксперимента (основного), когда на 7-е (для обеих моделей), 18-е (меланома В16) и 21-е (эпидермоидная карцинома Lewis) сутки после перевивки опухолевого материала животные были подвергнуты эвтаназии на гильотине.

На основном этапе на день проведения эвтаназии были определены следующие показатели: масса опухоли (М, г), процент торможения роста опухоли по массе (ТРОм, %), количество метастазов в легких на 1 мышь (q, шт), частота метастазирования опухоли (ЧМ, %), индекс ингибирования метастазирования (ИИМ, %), степень поражения легких по методике D. Tarin и J.E. Price [Хабриев Р.У., 2005; Миронов А. Н., 2014; Tarin D. et al. 1979].

Количество метастазов в легких подсчитывали после фиксации их в растворе Боуэна (время экспозиции не менее 24 ч.) с помощью бинокулярной лупы МБС-9 (увеличение 8×2).

Коэффициент торможения роста опухоли (ТРОм, %) по массе опухоли определялся из соотношения

$$(3) \text{ТРО, \%} = (\text{РС} - \text{РТ}) / \text{РС} ,$$

где РС и РТ – средняя масса опухоли мышей в группах контрольных (С) и пролеченных (Т) животных.

Индекс ингибирования метастазирования (ИИМ, %) рассчитывали по следующей формуле:

$$(4) \text{ИИМ, \%} = \frac{((\text{Ак} \times \text{Вк}) - (\text{А} \times \text{В})) \times 100\%}{\text{Ак} \times \text{Вк}} ,$$

где Ак, А – частота метастазирования в контрольной и опытной группах; Вк, В – среднее число метастазов у животных контрольной и опытной групп соответственно.

Метастатические очаги могут быть описаны как::

- солитарный (1 очаг);
- единичные (2—3 очага);
- множественные (4 и более очагов).

Степень метастатического поражения определялась по шкале, предложенной D. Train и J.E. Price (1979), и позволяющей дифференцировать тяжесть поражения в зависимости от количества метастазов и их размеров. Выделяли низкую (LCP – low colonisation potential: 1 и 2) и высокую (HCP – high colonisation potential: 3, 4 и 5) степени поражения легких (таблица 7).

Таблица 7 – Степень метастатического поражения легких в зависимости от количества и размера метастазов.

Степень поражения	Количество метастазов и их диаметр
0	Метастазы отсутствуют
LCP-1	Меньше 10 шт. с диаметром, не превышающим 1 мм.
LCP-2	От 10 до 30 шт., причем некоторые из них размерами больше 1 мм.
HCP-3	Больше 30 шт. разного размера, однако, нет сливных
HCP-4	Тяжелое поражение легочной ткани, менее 100 шт.
HCP-5	Массивное поражение легочной ткани, более 100 шт., наличие сплошных опухолевых узлов

Показатели эффективности изучаемых соединений определяли в сравнении с контрольной группой животных без лечения.

2.6. Морфологическое исследование

Патологоанатомическое вскрытие производилось по известной методике [Коптяева К.Е. и др., 2018 (крыса); Коптяева К.Е. и др., 2018 (мышь)].

Образцы ткани органов (печень, сердце, почки, первичный опухолевый узел) для световой микроскопии и иммуногистохимического исследования фиксировали в 10% забуференном нейтральном формалине с последующим заключением в парафин, микротомированием по классической методике подготовки гистологических препаратов. На ротационном микротоме из парафиновых блоков с образцами ткани изготавливали серийные срезы толщиной 3-5 мкм и наносили их на предметные стекла. Для визуализации морфологических изменений использовали обзорный метод окраски гематоксилином и эозином по классическому протоколу, а также метод окраски внеклеточных структур соединительной ткани по способу ван Гизона.

Микроскопическое исследование и фотофиксацию полученных гистологических препаратов осуществляли с помощью светового микроскопа «LEICA DM4000 B».

Для описания патоморфологических изменений исследуемых образцов был разработан алгоритм, при котором оценивалось:

1. для ткани печени – состояние паренхимы (гепатоциты) и состояние стромального компонента (синусоиды, центральные вены, портальные тракты (артерия, вена, желчный проток));

2. для миокарда – состояние паренхимы (кардиомиоциты) и состояние стромального компонента (собственно строма, сосуды);

3. для ткани почек – состояние паренхимы (клубочки, канальцы) и состояние стромального компонента (собственно строма, сосуды);

4. для ткани первичного опухолевого узла – структура и степень дистрофических изменений, оценка наличия некроза, воспалительной инфильтрации, фиброза.

Регистрировалось наличие или отсутствие следующих типов патологических изменений:

1. дегенеративных: отек, кровоизлияния, некроз, фиброз, дистрофия и атрофия;

2. воспалительных: состав инфильтрата, степень выраженности процесса (минимальная, умеренная, выраженная), степень распространенности (очаговая, диффузная);

3. компенсаторно-приспособительных: ангиоматоз, гиперплазия и гипертрофия клеток, наличие двуядерных форм (печень);

Оценку воспалительной реакции производили полуколичественным методом: – отсутствие, + – слабая, ++ – умеренно выраженная, +++ – выраженная.

Степень коллагенизации (фиброза) определялась полуколичественным методом по тем же параметрам с окраской материала по ван Гизону.

2.7. Иммуногистохимическое исследование

Иммунофенотипирование образцов ткани органов, полученных в эксперименте, проводили с использованием первичных антител: TGFb1 (Elabscience, dilution of 1:100).

Из парафиновых блоков с образцами ткани изготавливали срезы толщиной 2-3 мкм и наносили на предметные стекла с поли-L-лизиновым покрытием. Преподготовка стекол для иммуногистохимического окрашивания включает в себя депарафинизацию и демаскировку антигенов. Буфер для температурной демаскировки брался с рН 6,0 или рН 9,0, в соответствии с аннотацией к первичным антителам.

Микроскопическое исследование и фотофиксацию полученных иммуногистохимических препаратов осуществляли с помощью светового микроскопа «LEICA DM4000 B». Уровень экспрессии иммуногистохимических маркеров оценивался полуколичественным способом в баллах: 0-отсутствие реакции, 1 – слабая реакция, 2 – умеренная реакция, 3 – выраженная реакция маркер-позитивных элементов.

2.8. Биохимические исследования

Кровь для биохимического исследования получали после декапитации, собирали в специальные пробирки с активатором свертывания и разделительным гелем (биохимическое исследование крови) и центрифугировали 4 мин при 3000 об/мин (1500 g).

Для биохимической оценки функционально-метаболического состояния органов животного нами произведен анализ изменения следующих показателей крови: общий белок, альбумин, мочевины, креатинина, общий и конъюгированный билирубин, активность АсАт – аспартатаминотрансферазы (КФ 2.6.1.1), АлАт – аланинаминотрансферазы (КФ 2.6.1.2), КК – креатинкиназы (КФ 2.7.3.2), ЛДГ – лактатдегидрогеназы (КФ 1.1.1.27). Для определения были использованы автоматический биохимический анализатор ACCENT 300 и стандартные наборы фирмы CORMAY (Польша).

В гомогенатах печени и первичного опухолевого узла животных-опухоленосителей определяли некоторые маркеры активности ПОЛ и антиоксидантной защиты (АОЗ) стандартными методами иммуноферментного анализа (ИФА) по следующим показателям: малоновый диальдегид (МДА), глутатион восстановленный (GSH), супероксиддисмутаза (СОД) (ЕС 1.15.1.1), каталаза (ЕС 1.11.1.6), глутатионпероксидаза (ГП) (ЕС 1.11.1.9) и глутатионредуктаза (ГР) (ЕС 1.8.1.7).

В печени и первичном опухолевом узле были выделены митохондрии по классической методике [Егорова М.В. и др., 2011] после неоднократной промывки печени ледяным физиологическим раствором с применением дифференциального центрифугирования на высокоскоростной рефрижераторной центрифуге. Применяли механическую обработку тканей с измельчением ножницами и гомогенизацией в стеклянном гомогенизаторе с тефлоновым пестиком. На каждый грамм ткани добавляли по 10 мл среды выделения (0,22 М маннитол, 0,3 М сахараза, 1мМ ЭДТА, 2 мМ TRIS–HCL, 10мМ HEPES, pH 7,4). Ткани гомогенизировали и центрифугировали первый раз в течение 10 мин. при скорости 1000 g и температуре 0-2°C, второе и третье центрифугирование осуществляли 20 мин. при 20000 g, температуре 0-2°C. Между центрифугированием проводили процедуру ресуспендирования осадка митохондрий в среде выделения. Митохондрии дополнительно очищали от лизосом, пероксисом, меланосом и т.п., центрифугируя в 23% градиенте Перколла. Суспензию субклеточных структур наслаивали на градиент Перколла, центрифугировали 15 мин. при 21000 g, после этого наблюдалось разделение на 3 фазы; оставляли нижний слой митохондрий и ресуспендировали средой выделения. Следующую промывку митохондрий осуществляли путем центрифугирования в течение 10 мин. при 15000 g, температуре 0-2°C. В митохондриальных образцах с помощью тест-систем методом ИФА определяли концентрацию: цитохрома С (нг/г белка) («Bioscience», Austria), каспазы-9 (нг/г белка) («Bioscience», Austria), 8-гидрокси-2'-дезоксигуанозина (8-OHdG) (нг/г белка) («Enzo Life Sciences», Switzerland), МДА (нМ/г белка) («BlueGene Biotech»,

China); количество белка (мг/мл) – биуретовым методом («Ольвекс Диагностикум», Россия).

2.9. Статистическая обработка

Для анализа всех результатов применяли описательную статистику. Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием пакета компьютерных программ версии «Statistica 6.0». Нормальность распределения оценивали с помощью модифицированной версии метода Колмогорова-Смирнова, а именно, по методике Андерсона-Дарлинга. Оценка достоверности различий между сравниваемыми параметрами проведена помощью t-критерия Стьюдента. В качестве количественной характеристики показателей в работе проанализированы среднее арифметическое (M) и среднеквадратическое отклонение ($M \pm m$). Различия считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$. Сравнение групп производили попарно.

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

ГЛАВА 3

КОМПЛЕКСНАЯ ОЦЕНКА ТОКСИЧНОСТИ ГИБРИДНЫХ ОЛОВООРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ

Поиск новых противоопухолевых и антиметастатических средств обусловлен потребностью в препаратах с высокой эффективностью при малой неспецифической токсичности. Особый интерес представляют вещества с минимальными побочными эффектами при химиотерапии. Оценка безопасности применения и изучение токсичности новых лекарственных средств является необходимым этапом их доклинической разработки [Karetnikova A.Yu. et al., 2022].

В данной главе представлены предварительные испытания тестируемых веществ для поиска оптимального носителя, результаты комплексной оценки безопасности применения гибридных оловоорганических соединений по протоколам OECD 420, OECD 425 с описанием клинической картины интоксикации, а также углубленным изучением общетоксического действия и специфической гепато-, кардио- и нефротоксичности.

Установление различий в токсических эффектах близких по структуре гибридных оловоорганических веществ необходимо для выбора соединений-лидеров в группе тестируемых средств и с целью формирования стратегии конструирования новых лекарственных препаратов для химиотерапии.

Для экспериментального введения гибридных оловоорганических соединений необходимо было протестировать носители, которые имеют фармацевтическую перспективу применения в лекарственных формах [Терехов Р.П. и др., 2021; Торлак В.Ф., 2020].

Вспомогательные вещества (ВВ) – это дополнительные вещества органической или неорганической природы, используемые для изготовления лекарственной формы (ЛФ) с целью её стабилизации или придания особых

технологических и органолептических свойств. Выбор ВВ должен осуществляться с учетом их влияния на стабильность и на биофармацевтические характеристики готового препарата. При разработке новых ЛФ проводят подбор вспомогательных веществ индивидуально для каждого препарата с учетом возможного их влияния на физико-химические свойства ЛВ и на их терапевтическую эффективность [Мурашкина И.А., Гордеева В.В., 2018].

По происхождению ВВ классифицируются на природные, полусинтетические и синтетические. Природные делятся на органические и неорганические. К органическим относятся углеводы, белки, жиры, к неорганическим – бентониты, тальк, аэросил. Преимуществом природных ВВ является их высокая биологическая и фармакологическая индифферентность. Удельный вес используемых в производстве ЛФ, природных ВВ составляет около 60% от всей номенклатуры вспомогательных веществ. Недостаток природных ВВ – их невысокая стабильность в результате микробной контаминации. К полусинтетическим и синтетическим ВВ относятся модифицированные крахмалы, полиакрилаты, ПВП, ПЭГ. Вспомогательные вещества по химической структуре классифицируются на мономеры и полимеры [Мурашкина И.А., Гордеева В.В., 2018].

Нами в исследования были взяты следующие природные ВВ, как наиболее часто, по мнению Мурашкиной И.А. и соавторов, используемые в фармацевтической промышленности в качестве носителя:

1. Крахмал (Amylum) – смесь полисахаридов, состоящих из полимеров D-глюкозы 80-90% и 20-10% воды.
2. Альгинаты (Alginata) – полисахариды водорослей, состоящие из связанных 1,4-остатков D-маннуроносовой кислоты.
3. Агар-агар (Agaroidum) – полисахарид, выделяемый из морских водорослей. Состоит из сложных эфиров, сульфатов кальция, натрия галактопиранозы и 3,6-сополимеров ангидрогалактозы.
4. Целлюлоза (Cellula – клетка) – распространенный природный полимер полисахаридной природы.

5. Желатин (Gelatina) представляет собой продукт неполного гидролиза коллагена, содержащегося в коже, соединительных тканях и костях животных. Он состоит из аминокислот.

Суспензию оценивали по следующим показателям: внешний вид, седиментационная стабильность, проходимость через внутрижелудочный зонд и иголку шприца для введения. Седиментационную стабильность оценивали по высоте отстоявшегося слоя. Для этого равные объемы суспензии (10 мл) помещали в одинаковые пробирки, взбалтывали в течение 15 сек. и оставляли для отстаивания. Через 1 ч. измеряли высоту (в см) отстоявшегося слоя [Кириченко Д.В., 2020]. Результаты испытания приведены в таблице 8.

Таблица 8 – Результаты испытания вспомогательных веществ через час наблюдения

Показатель оценки суспензии	Крахмал	Альгинаты	Агар-агар	Желатин	Целлюлоза
внешний вид	Суспензия с хлопьями слоистой структуры	Желеобразная достаточно твердая масса		Суспензия без дополнительных включений	Суспензия без дополнительных включений
седиментационная стабильность,	нет	нет	нет	10 см	6 см
проходимость через внутрижелудочный зонд и иголку шприца для введения	нет	нет	нет	да	да

Вывод: По результатам проведения первого этапа был выбран носитель желатин в стандартном 1% разведении.

3.1 Определение класса токсичности исследуемых соединений по протоколу OECD 420 [OECD (2001)]

Для оценки токсичности при однократном внутрижелудочном введении нами был использован протокол OECD 420 [OECD (2001)], изучение проведено на крысах линии Wistar (самки). Интервал между введениями последовательно нарастающих доз составил от 1 до 2 суток, что обусловлено характером течения интоксикации. С целью оценки острой токсичности препараты вводили однократно, регистрацию летальных эффектов осуществляли в течение 14 дней, расчет величин летальных доз проводили методом наименьших квадратов для пробит-анализа кривых летальности [Авдеева О.И. и др., 2018; Прозоровский В.Б., 1994].

Под изучением острой токсичности понимают токсикометрическую характеристику субстанции, выражающую его способность вызывать гибель животных при однократном введении или при введении через короткие (не более 6 ч.) интервалы времени в течение 1 суток [Авдеева О.И. и др., 2018; Миронов А.Н., 2014].

1. Предварительное испытание.

В предварительном испытании введение тестируемых соединений осуществлялось в четырех фиксированных РД: 5, 50, 300, 2000 мг/кг (рисунок 11).

При введении контрольных растворов (1% водный раствор желатина) не было зафиксировано проявлений токсичности за весь период наблюдения.

Результаты оценки летальности данной серии экспериментов приведены в таблице 9.

Степень двигательной активности и клиническая картина интоксикации (таблица 10) описаны по классической схеме [Березовская И.В., 2010; Безбородова О.А. и др., 2020]. К симптомам интоксикации отнесены: отсутствие груминга, отказ от еды и воды, неопрятный внешний вид, изменение поведенческих реакций и т.д.

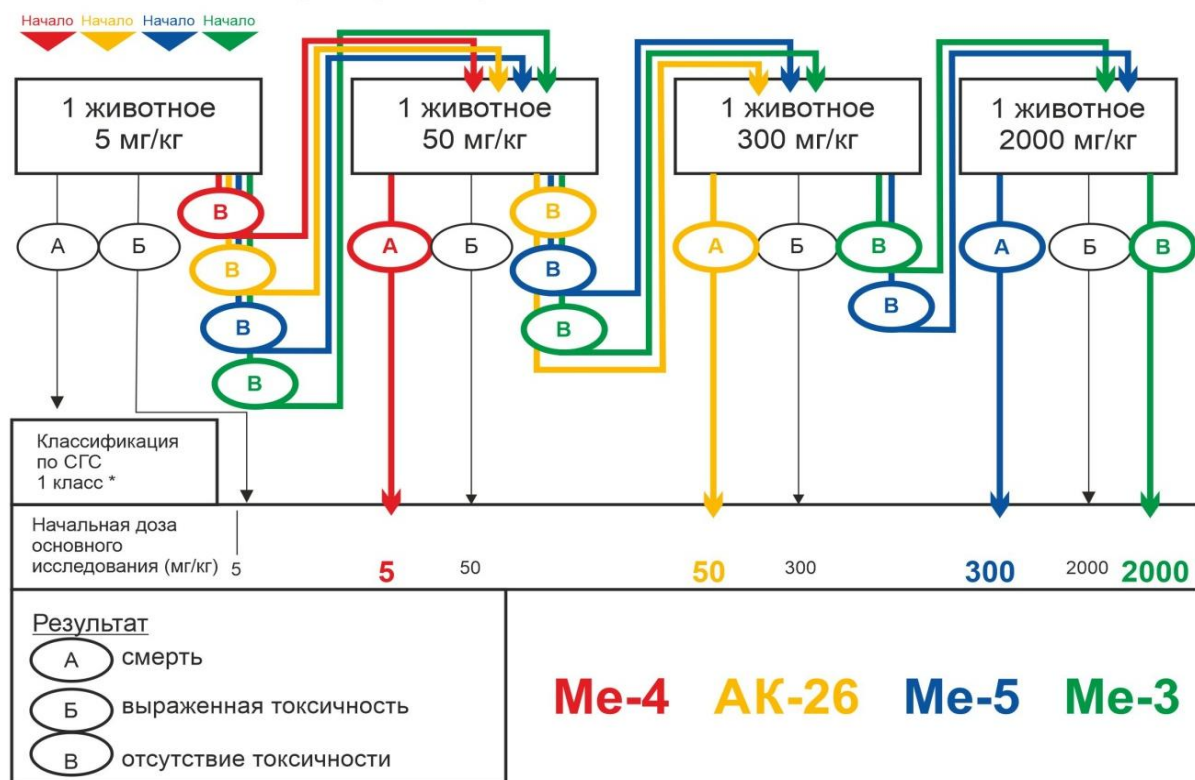


Рисунок 11 – Схема введения гибридных оловоорганических соединений при предварительном исследовании

Таблица 9 – Летальные эффекты (пало / всего) после однократного внутрижелудочного введения самкам крыс Wistar (предварительное испытание) тестируемых субстанций (OECD 420)

Тестируемое соединение	Доза, мг/кг			
	5	50	300	2000
Me-3	0/1	0/1	0/1	0/1
Me-4	0/1	1/1	—*	—*
Me-5	0/1	0/1	0/1	1/1
AK-26	0/1	0/1	1/1	—*

Примечание: все летальные эффекты зафиксированы в течение 14 суток после введения; * – данные дозы не использованы в предварительном испытании.

Таблица 10 – Степень двигательной активности и симптомы интоксикации самок крыс линии Wistar при изучении острой токсичности в предварительном испытании по протоколу OECD

Исследуемое соединение	Доза, мг/кг			
	5	50	300	2000
Me-3 двигательная активность/ симптомы интоксикации	Нормальная	Нормальная	Нормальная	Замедленная (субнормальная)
	симптомов интоксикации нет	симптомы интоксикации полностью исчезли через 1 ч. после введения	симптомы интоксикации полностью исчезли через 24 ч. после введения	симптомы интоксикации полностью исчезли через 8 суток после введения
Me-4 двигательная активность/ симптомы интоксикации	замедленная (субнормальная)	слабая (минимальная)	—*	—*
	незначительные изменения внешнего вида и поведения, продолжительность около 2 ч.	животное эвтаназировано через 72 ч. по соображениям гуманности	—*	—*
Me-5 двигательная активность/ симптомы интоксикации	нормальная	нормальная	замедленная (субнормальная)	слабая (минимальная)
	симптомов интоксикации нет	симптомы интоксикации полностью исчезли через 6 ч. после введения	симптомы интоксикации полностью исчезли через 72 ч. после введения	животное эвтаназировано через 3 суток по соображениям гуманности

Исследуемое соединение	Доза, мг/кг			
	5	50	300	2000
АК-26	нормальная	замедленная (субнормальная)	слабая (минимальная)	—*
двигательная активность/ симптомы интоксикации	симптомов интоксикации нет	симптомы интоксикации полностью исчезли через 16 ч. после введения	животное эвтаназировано через 4-5 суток по соображениям гуманности	—*

2. Основное испытание.

Схема введения тестируемых соединений отображена на рисунке 12.

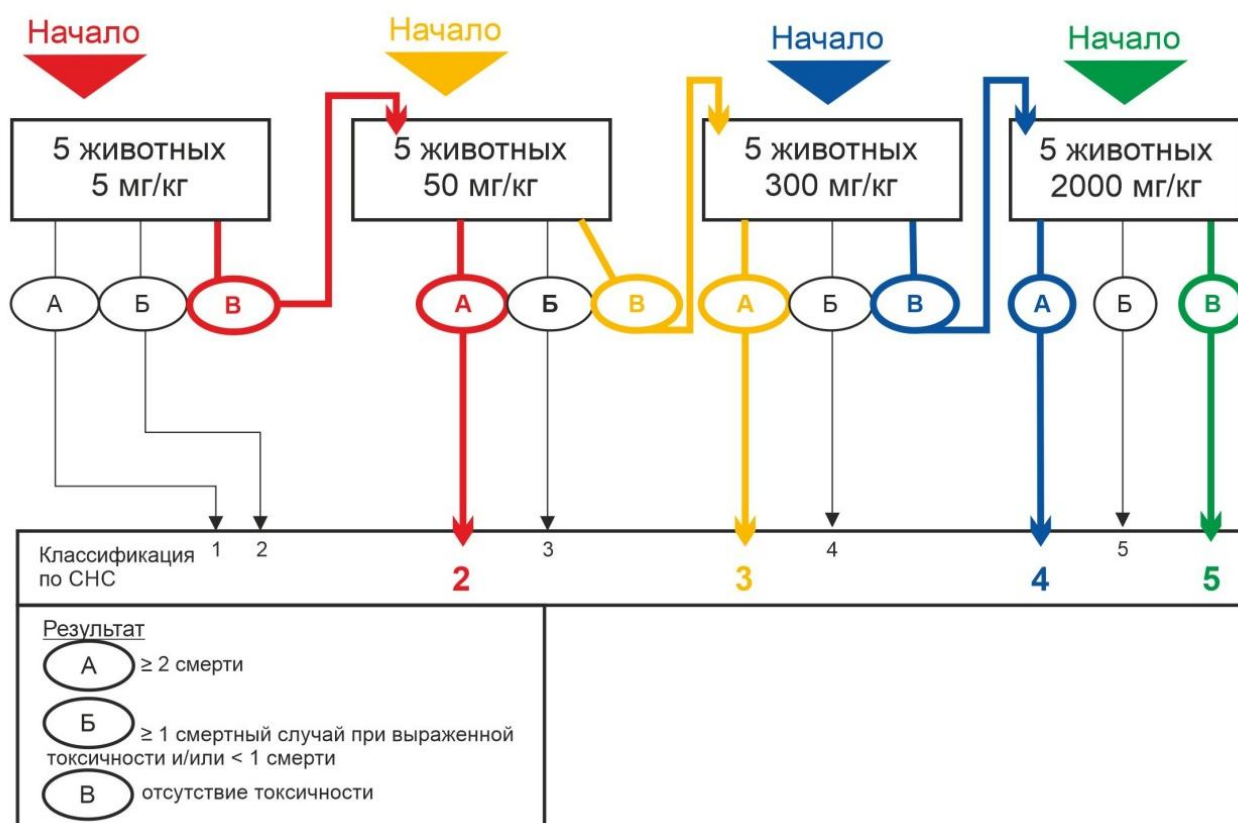


Рисунок 12 – Схема введения гибридных оловоорганических соединений при основном исследовании

В основное испытание, согласно протоколу, были выбраны начальные дозы для веществ: Me-4 – 5 мг/кг, АК-26 – 50 мг/кг, Me-5– 300 мг/кг и Me-3 – 2000 мг/кг. Признаки интоксикации у животных по силе и продолжительности были полностью идентичны описанным в предыдущем этапе испытания. Летальные случаи при введении начальных доз в течение 14 суток не зарегистрированы.

Следующим уровнем вводимых доз выбраны для вещества Me-4 – 50 мг/кг, для АК-26 – 300 мг/кг, для Me-5 – 2000 мг/кг. Отмечались нарастающие по интенсивности токсические признаки у всех особей, в связи с чем при введении Me-4, Me-5 на 3-и сутки животных подвергли эвтаназии, при введении АК-26 эвтаназию провели на 4-е и 5-е сутки.

Общая схема исследования по протоколу OECD 420 отображена в таблице 11.

Таблица 11 – Общая схема введения ООС, содержащих фрагмент 2,6-ди-трет-бутилфенола, однократно, внутрижелудочно, для определения класса токсичности по СГС

Вид испытания	Доза, мг/кг	Количество животных			
		Me-3	Me-4	Me-5	АК-26
Предварительное	5	1	1	1	1
	50	1	1	1	1
	300	1	–**	1	1
	2000	1	–**	1	–**
	1% водный раствор желатина	1	–	–	–
Основное	5	–*	5	–*	–*
	50	–*	5	–*	5
	300	–*	–*	5	5
	2000	5	–*	5	–*
Итого 49		10	12	14	13

Примечание: ** – данные дозы не использованы в предварительном испытании; * – данные дозы не использованы в основном испытании.

В результате проведенного исследования сделаны следующие выводы:

Средняя доза вещества, вызывающая гибель половины животных испытуемой группы (LD_{50}), для Me-3 значительно более 2000 мг/кг, что позволяет отнести это соединение к V классу токсичности; для Me-5, классифицированного как соединение IV класса токсичности, LD_{50} составило от 300 до 2000 мг/кг, АК-26 условно отнесено к III классу токсичности: ожидаемое значение полулетальной дозы – около 300мг/кг; наибольшую токсичность проявило соединение Me-4 – LD_{50} находится в пределах от 5 до 50 мг/кг, данные токсикометрические показатели соответствуют II классу токсичности.

В результате проведенной работы были выявлены две субстанции, для которых определение количественных характеристик токсичности LD_{50} является целесообразным: Me-5 и АК-26. Значение полулетальной дозы для Me-3 условно принимается много более 2000мг/кг (по протоколу). Соединение Me-4 по результатам оценки безопасности применения не может рассматриваться как перспективный кандидат в противоопухолевые и антиметастатические ЛС, его дальнейшее исследование на выбранных моделях было признано нецелесообразным.

3.2 Определение токсикометрических характеристик соединений Me-5 и АК-26 при однократном внутрижелудочном введении по протоколу OECD 425 [OECD (2008)]

В фармакологических и токсикологических исследованиях особое практическое значение для оценки токсичности имеют следующие показатели: минимальная летальная доза (LD_{16}), средняя летальная доза (LD_{50}), высокая летальная доза (LD_{84}) и максимальная летальная доза (LD_{100}) – дозы, вызывающие гибель 16%, 50%, 84%, 100% животных соответственно.

Наиболее стандартизированной методикой определения токсикометрических показателей является протокол OECD 425. Процедура испытания, приведенная в настоящем документе, минимизирует количество

животных, необходимых для оценки острой пероральной токсичности химического вещества.

Определение для соединения Me-5

В широком диапазоне доз (от 550 мг/кг до 2000 мг/кг) с применением нестандартного коэффициента дозы произведено введение соединения Me-5 (таблица 12). Летальные исходы регистрировались в течение 14 дней.

Таблица 12 – Летальные эффекты (пало / всего) при исследовании в широком диапазоне доз с применением нестандартного коэффициента после введения соединения Me-5.

Исследуемое соединение Me-5	Доза, мг/кг					
	550	650	750	850	950	2000
Животных пало/всего	0/5	0/5	0/5	1/5	3/6*	9/9*

Примечание: * – количество животных указано с учетом павших особей в предыдущих сериях введения доз (по протоколу).

При исследовании выявлены дозы Me-5, от которых не погибает ни одно животное (550 мг/кг, 650 мг/кг, 750 мг/кг), и доза, от которой гибнут все животные (2000мг/кг), что необходимо для вычисления токсикометрических характеристик соединения.

По таблице преобразования процента частоты гибели особей в пробиты находили величину пробита в каждом случае эффекта. Расчетные показатели для построения графика представлены в таблице 13.

Таблица 13 – Расчетные показатели для построения графика

Доза препарата, мг/кг	Логарифм от цифры введенных доз	Пробит	Примечание
550	2,740	0	данные не учитываются
650	2,813	2,67	–
750	2,875	2,95	–
850	2,929	4,26	–
950	2,978	5,1	–
2000	3,301	6,64	данные не учитываются

Примечание: в построении графика крайние позиции доз не учитываются.

На оси абсцисс откладывают логарифмы доз Me-5, а по оси ординат – процентное выражение гибели подопытных особей, выраженное в пробитах (рисунок 13).

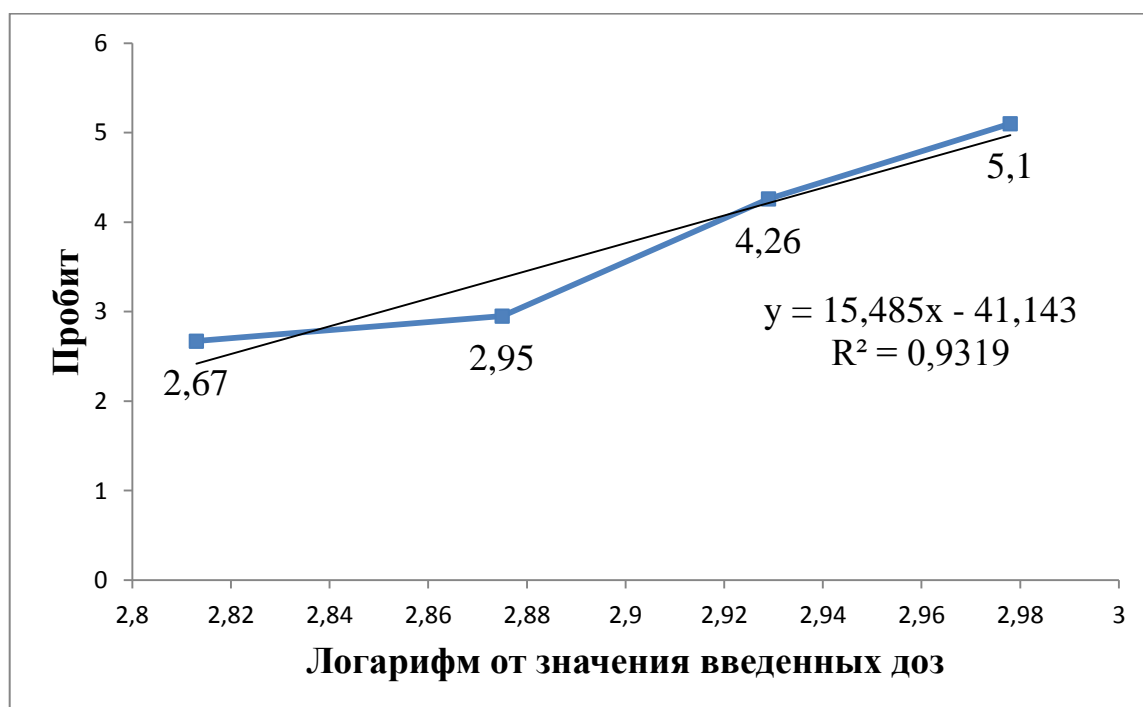


Рисунок 13 – Диаграмма зависимости случаев гибели подопытных особей при введении различных доз Me-5

Выводим линию тренда и уравнение этой линии

$$y = 15,485x - 41,143 \quad R^2 = 0,9319$$

Как известно, при пробит-анализе доза LD₁₆ соответствует пробиту 4, доза LD₅₀ – пробиту 5, а доза LD₈₄ – пробиту 6.

Подставив в уравнение значение пробита, получаем:

– при пробите 4, $x=2,915$, LD₁₆ = 822,3;

– при пробите 5, $x=2,98$, LD₅₀ = 954,0;

– при пробите 6, $x=3,04$, LD₈₄ = 1096,5.

Расчет LD₁₀₀ произвели по формуле:

$$LD_{100} = LD_{84} + \frac{LD_{84} - LD_{50}}{2}$$

$$LD_{100} = 1167,25$$

Вычисление стандартной ошибки LD₅₀:

Зная LD₁₆ и LD₈₄, можно рассчитать стандартную ошибку LD₅₀ по формуле:

$$S \text{ LD}_{50} = \frac{LD_{84} - LD_{16}}{\sqrt{2N}},$$

где N – количество животных в группах, использованных для испытания доз, которые находятся в пределах значений пробитов от 3,5 до 6,5 (N=11).

Значение LD₅₀ при однократном внутрижелудочном введении Me-5 крысам линии Wistar (самки) составляет 954,0±58,3 мг/кг.

Определение для соединения АК-26

По схеме, подробно описанной для соединения Me-5, в широком диапазоне доз (от 100мг/кг до 550мг/кг) произведено введение соединения АК-26 (таблица 15). Летальные исходы регистрировались в течение 14 дней.

Таблица 15 – Летальные эффекты (пало / всего) введение соединения АК-26

Исследуемое соединение АК-26	Доза, мг/кг				
	100	200	300	350	550
Животных пало/всего	0/5	0/5	2/6	3/7*	11/11*

Примечание: * – количество животных указано с учетом павших особей в предыдущих сериях введения доз.

При исследовании выявлены: доза АК-26, от которой не погибает ни одно животное (200 мг/кг) и доза, от которой гибнут все животные (550 мг/кг) (таблица 15).

Расчетные показатели для построения графика представлены в таблице 16.

Таблица 16 – Расчетные показатели для построения графика при введении соединения АК-26

Доза препарата, мг/кг	Логарифм от цифры введенных доз	Пробит	Примечание
100	2,0	0	данные не учитываются
200	2,301	2,67	–
300	2,477	4,53	–
350	2,544	4,82	–
550	2,740	6,55	данные не учитываются

Примечание: в построении графика крайние позиции доз не учитываются.

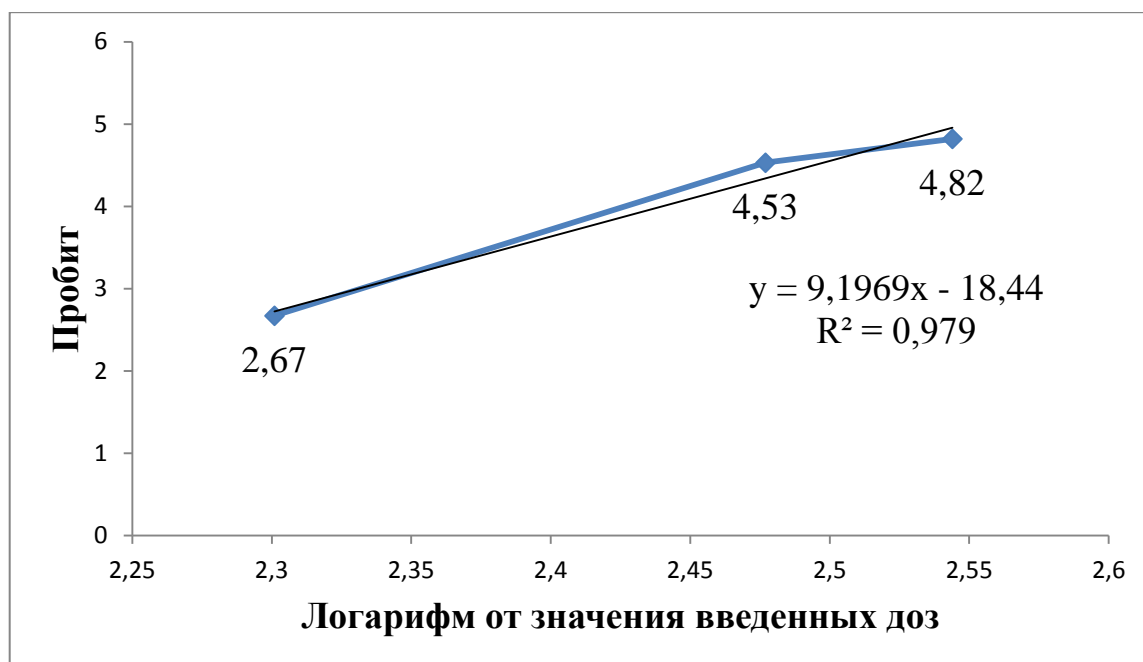


Рисунок 14 – Диаграмма зависимости случаев гибели подопытных особей при введении различных доз АК-26

Выводим линию тренда и уравнение этой линии (рис.14)

$$y = 9,1969x - 18,44$$

$$R^2 = 0,979$$

Подставив в уравнение значения пробита, получаем:

– при пробите 4, $x=2,4399$, $LD_{16} = 275,36$;

– при пробите 5, $x=2,5486$, $LD_{50} = 353,67$;

– при пробите 6, $x=2,6574$, $LD_{84} = 454,36$.

Расчет LD_{100} произвели по формуле:

$$LD_{100} = LD_{84} + \frac{LD_{84} - LD_{50}}{2}$$

$$LD_{100} = 504,705$$

Рассчитываем стандартную ошибку LD_{50} по формуле:

$$S LD_{50} = \frac{LD_{84} - LD_{16}}{\sqrt{2N}},$$

где N – количество животных в группах, использованных для испытания доз, которые находятся в пределах значений пробитов от 3,5 до 6,5 (N=13).

Значение LD_{50} при однократном внутрижелудочном введении АК-26 крысам линии Wistar (самки) составляет $353,67 \pm 31,5$ мг/кг.

Для соединений Me-3 и Me-4 определение среднелетальной дозы не проводилось, так как значение LD_{50} Me-3 условно (в соответствии с протоколом) принято много более 2000 мг/кг, а Me-4, относясь ко II классу токсичности, не может быть рассмотрено в качестве кандидата в противоопухолевые лекарственные средства.

Результаты экспериментальной работы по определению токсикометрических показателей представлены в таблице 17.

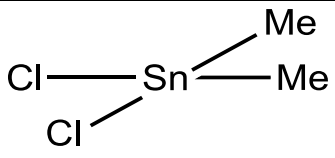
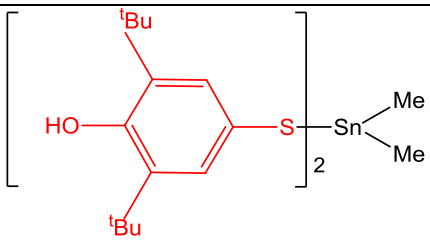
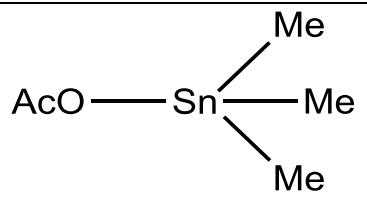
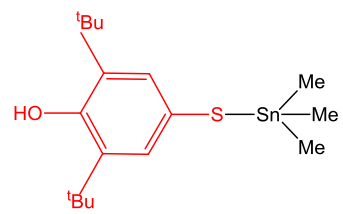
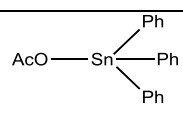
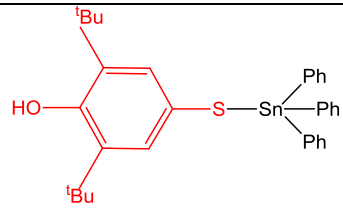
Таблица 17 – Токсикометрические характеристики исследуемых соединений при однократном внутрижелудочном введении крысам Wistar (самки)

Исследуемый объект	Класс токсичности по СГС	LD_{50} , мг/кг	МПД, мг/кг
Me-3	V	$\gg \gg 2000$	2000
Исследуемый объект	Класс токсичности по СГС	LD_{50} , мг/кг	МПД, мг/кг
Me-4	II	$5 \leq LD_{50} \leq 50$	–
Me-5	IV	$954,0 \pm 58,3$	750
АК-26	III	$353,67 \pm 31,5$	200

Примечания: МПД – максимально переносимая доза.

При сравнительном анализе значений LD_{50} исследуемых соединений и их более простых аналогов [Ширяев В.И., 2010] выявлено, что уровень токсичности ООС определяется природой как заместителей R, так и лиганда L, связанного с атомом олова (таблица 18).

Таблица 18 – Значения LD₅₀ для органических соединений олова при внутрижелудочном введении крысам Wistar.

Соединения Me-5, Me-4, Me-3 и их аналоги	Название	LD ₅₀ , мг/кг
	дихлорид диметиллолова	237
	<i>бис</i> (3,5-ди- <i>трет</i> -бутил-4-гидроксифенилтиолат) диметиллолова (Me-3)	> 2000
	ацетат триметиллолова	9
Соединения Me-5, Me-4, Me-3 и их аналоги	Название	LD ₅₀ , мг/кг
	(3,5-ди- <i>трет</i> -бутил-4-гидроксифенилтиолат)триметиллолова (Me-4)	5-50
	ацетат трифениллолова	125-150
	(3,5-ди- <i>трет</i> -бутил-4-гидроксифенилтиолат)трифениллолова (Me-5)	954

Примечание: Обозначение радикалов: Ac – ацетил, ^tBu – трет-бутил, Me – метил, Ph – фенил.

Метильные производные более токсичны, чем их фенильные аналоги, причем число метильных групп также сказывается на токсичности: наличие трех метильных групп обуславливает существенно более высокую токсичность, чем при наличии в молекуле двух метильных групп.

Важно отметить, что во всех случаях для субстанций Me-3, Me-4, Me-5, содержащих антиоксидантную 2,6-ди-*трет*-бутилфенольную группу, значения LD₅₀ на порядок выше, чем для соответствующих исходных оловоорганических соединений. А при наличии двух фенольных групп в молекуле токсичность снижается на 2 порядка [Додохова М.А. и др., 2021].

3.3. Определение токсичности

Расчет токсикометрических показателей включает определение токсичности – величины, характеризующей потенциальную опасность соединения.

Токсичность вычисляется по формуле $Tox=1/[LD50]$, где [LD50] – абсолютное значение показателя среднесмертельной дозы, которая была определена при однократном внутрижелудочном введении крысам линии Wistar (самки) по протоколу «вверх / вниз» OECD 425.

Полученные нами результаты отображены на рисунке 15.

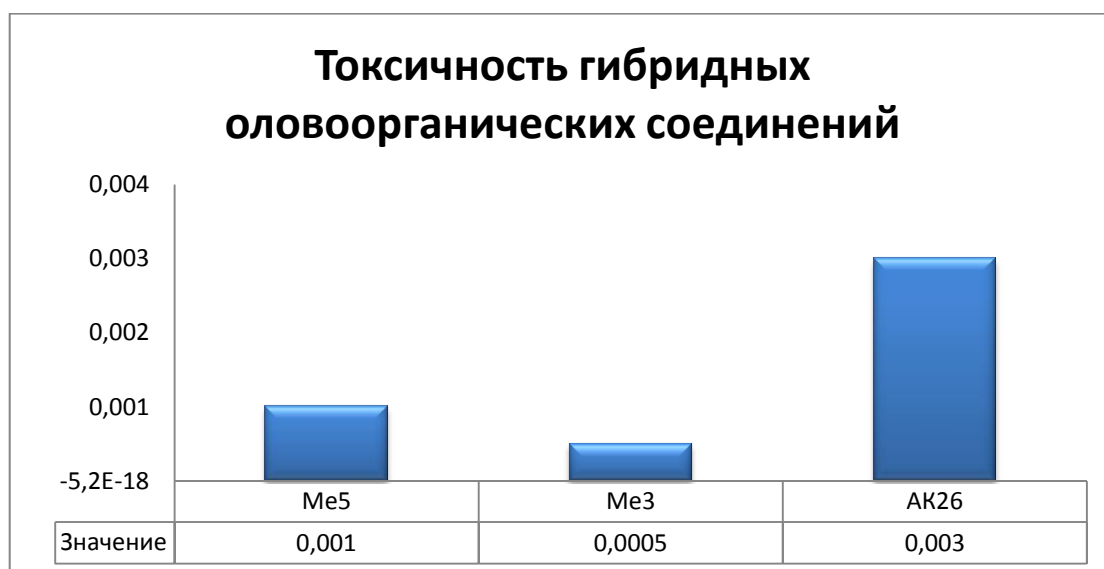


Рисунок 15 – Токсичность гибридных оловоорганических соединений

Спектр лекарственных средств, используемых для лечения онкопатологии, чрезвычайно велик. Все известные химиотерапевтические препараты обладают высокой общей токсичностью и серьезными побочными эффектами, что обуславливает необходимость поиска новых подходов к химической модификации субстанций путем введения протекторных групп для снижения токсичности противоопухолевых препаратов.

На примере модификации оловоорганических соединений Me_3SnCl , Me_2SnCl_2 введением фрагмента 2,6-ди-трет-бутилфенола была выявлена закономерность снижения токсичности по сравнению с соединениями-аналогами [Алхусейн-Кулягинова М.С. и др., 2021].

Нами предложен универсальный способ снижения токсичности оловоорганических соединений в ходе направленного синтеза путем введения в состав молекул перспективных кандидатов в противоопухолевые ЛС антиоксидантного фрагмента 2,6-ди-трет-бутилфенола. Описанная нами закономерность может быть использована для достижения рационального соотношения «активность-токсичность», что приведет к снижению побочных реакций при курсовом применении гибридных ООС в качестве химиотерапевтических агентов.

3.4. Оценка общетоксического действия, гепато-, кардио- и нефротоксичности в динамике развития интоксикации у крыс линии Wistar (самки) гибридными ООС в МПД

Для проведения экспериментальной части была выбрана максимально переносимая доза (МПД), то есть наибольшая доза, введение которой в организм не вызывает его гибели, но сопровождается развитием симптомов интоксикации (Me-3 – 2000 мг/кг, Me-5 – 750 мг/кг, АК-26 – 200 мг/кг).

Распределение животных в группах приведено в таблице 19.

Таблица 19 – Распределение животных в группах при введении максимально переносимых доз

Исследуемый объект	Группы животных в зависимости от сроков наблюдения	
	7 суток	14 суток
Me-3	Ia (n=8)	Ib (n=8)
Me-5	IIa (n=8)	IIb (n=8)
AK-26	IIIa (n=8)	IIIb (n=8)
Носитель (контроль)	IVa (n=6)	IVb (n=6)

Пик выраженности клинической картины интоксикации во всех опытных группах отмечен на 4-е – 5-е сутки. Характер нарушений однотипный: животные заторможены, активно по клетке не передвигаются, но при подталкивании перемещаются на несколько шагов; шерсть тусклая, взъерошенная; следует отметить, что повышенная жажда и отсутствие аппетита нарастали соразмерно ухудшению общего состояния. После шестого дня наблюдения зафиксировано снижение проявлений интоксикации до полного регресса клинической симптоматики острого отравления на девятые (Me-3), одиннадцатые (Me-5) и пятнадцатые (AK-26) сутки после введения тестируемых соединений.

3.4.1. Оценка клинической картины проявлений интоксикации в период разгара заболевания

Как правило, в течение любой интоксикации можно выделить четыре основных периода: период контакта с веществом, скрытый период, период разгара заболевания, период выздоровления.

Для оценки проявлений отравления был выбран период разгара интоксикации – на 5-е сутки после однократного внутрижелудочного введения ГООС (на пике развития токсического поражения).

Таблица 20 – Результаты балльной оценки проявлений у крыс Wistar (самки) при токсическом действии ГООС в МПД (количество животных в каждой опытной группе – 8 особей)

№№	Тесты/группы животных	Сумма баллов в группе по исследуемому параметру			
		Ia Me-3	IIa Me-5	IIIa AK-26	Носитель (контроль)
1.	Рефлекс переворачивания	16	20	28	0
2.	Тестирование равновесия	16	16	24	0
3.	Рефлекс отдергивания хвоста	16	16	16	0
4.	Судороги	0	0	16	0
5.	Патологические самопроизвольные движения в конечностях	4	12	16	0
6.	Реакция на шумовой раздражитель	16	16	28	0
7.	Груминг	16	16	16	0
8.	Внешний вид	16	16	16	0
9.	Отношение к еде	12	16	16	0
10.	Отношение к воде	0	0	0	0
Сумма баллов		112	128	176	0

В этот период была произведена оценка клинической картины интоксикации по общепринятым методикам (таблицы 20, 21) [Лысенков С.П. и др., 1982; Ряховский А.Е. и др., 2017].

Выраженность проявлений токсического действия ГООС была оценена по следующей шкале (таблица 21).

Таблица 21 – Шкала оценки выраженности проявлений токсического действия ГООС.

№№		Сумма баллов (n=8)
1.	Полное благополучие	0
2.	Отравление легкой степени	1–50
3.	Отравление средней степени	51–150
4.	Отравление тяжелой степени	151–272

Состояние животных контрольной группы соответствует полному благополучию, так как внутрижелудочное введение носителя не отразилось на их состоянии.

По результатам балльной оценки клинической картины проявлений отравления на 5-е сутки развития интоксикации при введении МДП Ме-3 и Ме-5 было зафиксировано развитие отравления средней степени тяжести, при введении АК-26 симптомы интоксикации имели тяжелую степень выраженности.

3.4.2. Изменение веса животных

Вес животных использовался нами как один из показателей, характеризующий общую токсичность. Значения фиксировались на 7-е и 14-е сутки после введения испытуемых соединений (таблица 22).

На 7-е сутки после введения Ме-3, Ме-5, АК-26 у животных отмечалось максимальное уменьшение веса ($p \leq 0,05$) на 10,3%, 16,6% и 19,1% соответственно.

Таблица 22 – Динамика изменения массы тела

Исследуемый объект	Средний вес животных в группе, г исходный / перед эвтаназией	
	7 суток	14 суток
Ме-3	197,7±3,2/	*199,5±3,8/
	177,3±4,4	201,5±4,5
Ме-5	200,6±3,6/	196,7±5,5/
	167,2±5,0	189,4±3,5
АК-26	196,5±5,5/	192,9±4,4/
	158,9±3,4	169,8±5,4
Носитель (контроль)	*191,2±6,6/	196,3±4,6/
	201,2±7,0	217,2±7,2

Примечание: * – достоверных отличий между значениями исходного веса и веса перед эвтаназией нет ($p \leq 0,05$).

На 14-е сутки эксперимента значения веса всех особей в опытных группах увеличивались по сравнению с предыдущим периодом наблюдения. Максимальный прирост массы был выявлен при введении Ме-3 и Ме-5 – 13,7% и 13,3% соответственно. При введении АК-26 прирост массы животных был менее выражен и составлял 6,9%.

3.4.3. Сравнительный анализ токсичности тестируемых субстанций по степени выраженности морфологических и биохимических изменений при однократном внутрижелудочном введении гибридных оловоорганических соединений в динамике развития отравления

Химиотерапия остается универсальным методом лечения и широко применяется в онкологии, но ее возможности ограничены высокой токсичностью ЛС. Прием цитотоксических препаратов сопровождается различными побочными эффектами, как правило, связанными с низкой селективностью и активной биотрансформацией соединений [Трякин А.А. и др., 2021].

Наиболее неблагоприятными реакциями при приеме противоопухолевых ЛП являются: лекарственно индуцированные поражения печени [Azad A. et al., 2018; Казюлин А.Н. и др., 2012]; сердца [Чазова И.Е. и др., 2017] и почек [Громова Е.Г. и др., 2020].

На этапе доклинического изучения соединений с предполагаемым противоопухолевым действием необходимой является оценка гепато-, кардио- и нефротоксического потенциала тестируемых агентов. Токсический эффект необходимо оценивать с помощью определения функциональных и структурных изменений органов и систем [Лужников Е.А., 2014].

Оценку гепато-, кардио- и нефротоксических побочных эффектов при введении МПД тестируемых соединений производили биохимическим (неспецифические маркеры) и морфологическим (специфические маркеры) методами на 7-е и 14-е сутки от начала развития интоксикации.

Современные исследования по разработке методов биомониторинга включают три категории биомаркеров для экспериментальных исследований: экспозиции, эффекта и чувствительности [Nordberg G.F., 2010]. Нами были использованы биохимические биомаркеры «эффекта», которые имеют эндогенное происхождение, их концентрация в крови изменяется в ответ на воздействие химического агента. Данные маркеры являются неспецифическими, но отражают общий, комплексный токсический эффект воздействия гибридных ООС.

Результаты приведены и описаны по периодам (7-е и 14-е сутки) развития интоксикации. Нами были оценены деструктивные и ответные компенсаторные реакции органов и тканей.

7 суток после введения тестируемых соединений

В формировании патологического процесса интоксикации в период выраженной клинической картины отравления особую значимость приобретает морфофункциональное состояние печени и почек как главных органов детоксикации и выведения ксенобиотиков. При срыве обезвреживающей и

выводящей функции печени и почек может произойти генерализованное воздействие на организм экзогенных токсикантов и продуктов цитолиза – с дальнейшим развитием полиорганной недостаточности [Слуханчук Е.В. и др., 2021; Громова Е.Г. и др., 2021; Когония Л.М. и др., 2022].

С точки зрения патологической физиологии выделяют 2 основных механизма повреждающего действия ксенобиотиков на печеночную ткань. Специфическое поражение основано на непосредственном влиянии химических веществ на гепатоциты, что сопровождается их гибелью. При неспецифической гепатотоксичности нарушения показателей гомеостаза провоцируют вторичное повреждение паренхимы органа, которое может сопровождаться появлением второго пика проявления интоксикации.

Макроскопическая картина на вскрытии в группах Ia, IIa, IIIa характеризовалась изменениями разной степени выраженности: общим венозным застоем, изменением цвета и консистенции органов, что позволило предположить развитие некротических и дистрофических процессов в печени, почках и миокарде при введении гибридных ООС.

Изменения биохимических маркеров на 7-е сутки отравления приведены в таблице 23.

При введении гибридных ООС на 7-е сутки развития интоксикации наблюдаются однотипные изменения биохимических показателей в крови экспериментальных животных, что подтверждается статистической обработкой полученных результатов.

Умеренное повышение активности ЩФ и количества общего билирубина за счет обеих фракций (показатель прямого билирубина при введении Me-3 составляет 49%; Me-5 – 55,3%, АК-26 – 45,8 %) свидетельствует о развитии нарушений пигментного обмена по типу печеночно-клеточной желтухи.

Таблица 23 – Биохимические показатели животных на 7-е сутки развития интоксикации ($M \pm m$, p)

Группы Показатели	Группа IVa	Группа Ia	Группа IIa	Группа IIIa
Общий белок, г/л	78,3±2,8	65,7±4,7 $p < 0,05$	64,0±2,8 ¹ $p < 0,05$	51,5±3,5 $p < 0,05$
Альбумин, г/л	37,9±1,4	29,7±3,7	28,7±3,5* ¹	28,4±4,4 ² $p < 0,05$
Мочевина, ммоль/л	7,3±0,7	12,9±0,9 $p < 0,05$	16,9±1,4 ¹ $p < 0,05$	21,9±1,5 ¹ $p < 0,05$
Креатинин, мкмоль/л	39,2±5,4	45,4 ±6,8	54,6±5,8 ¹ $p < 0,05$	65,4±9,4 $p < 0,05$
Общий билирубин, мкмоль/л	1,12±0,3	1,65±0,6 $p < 0,05$	1,81±0,4 ¹ $p < 0,05$	2,6±0,8* $p < 0,05$
Конъюгирован- ный билирубин, мкмоль/л	0,36±0,11	0,81±0,34 $p < 0,05$	1,0±0,4 ¹ $p < 0,05$	1,19±0,42 ² $p < 0,05$
АлАт, ед/л	45,3±5,2	37,5±6,2	35,8±5,6 ¹ $p < 0,05$	30,5±4,0 ² $p < 0,05$
АсАт, ед/л	63,5±4,0	54,9±7,2*	48,2±10,0 $p < 0,05$	41,0±4,7 ¹ $p < 0,05$
ЛДГ, ед/л	696,6±56,0	1313,9±128,5 $p < 0,05$	1417,1 ±124,1 ¹ $p < 0,05$	1728,1±131,6 $p < 0,05$
КК, ед/л	2560,7±394, 0	4276,1±719,4 $p < 0,05$	6355,2±634,6 $p < 0,05$	7450,9±1195,5 ¹ $p < 0,05$ *
ЩФ, ед/л	355,8±29,4	461,5±76,6 $p < 0,05$	479±49,8 ¹ $p < 0,05$ *	594,5±70,9 $p < 0,05$

Примечание: $p < 0,05$ – по отношению к контрольным значениям различие статистически значимо с вероятностью 95%, * – нет достоверных отличий по

отношению к показателям в контрольной группе, X^1 – нет достоверных отличий по отношению к показателям в предыдущей группе, X^2 – нет достоверных отличий в опытных группах.

Максимальное снижение уровня общего белка (34,2%) было выявлено при воздействии АК-26. Количество альбумина у животных опытных групп не имело достоверных отличий.

В количественном отношении среди белков плазмы наиболее представлена фракция альбуминов, которая играет существенную роль в поддержании коллоидно-осмотического давления крови, транспорте липофильных веществ и служит для организма важным резервом аминокислот [Скворцов В.В. и др., 2022].

Снижение уровня белков в плазме может быть связано, прежде всего, с уменьшением устойчивости белков крови при изменении их структуры, а также с прямым токсическим действием гибридных ООС на гепатоцит с уменьшением их синтеза и прямой потерей белков (нефротический синдром). Изменение белкового состава крови ведет к повышению концентрации токсических и биологически активных веществ в крови и затруднению процессов детоксикации [Пашина Е.В., Золотавина М.Л., 2019].

При анализе мочевинообразовательной функции печени было отмечено повышение уровня в крови данного метаболита, что может быть связано с одновременным увеличением распада белка из-за цитолиза и снижением обезвреживающей функции почек.

При однократном введении МПД тестируемых соединений выявлены однонаправленные изменения косвенных маркеров цитолиза клеток в крови: умеренное снижение активности трансаминаз и увеличение активности КК, ЛДГ и уровня креатинина.

Биохимическая картина интоксикации при однократном введении тестируемых соединений была дополнена данными морфологического исследования.

При гистологическом исследовании печени экспериментальных животных получены следующие результаты

При введении Me-3 выявлены отек, неравномерное полнокровие синусоидных капилляров, с хорошей их визуализацией. Гепатоциты центральной части долек – в состоянии гиалиново-капельной дистрофии, единичные – в состоянии апоптоза, с набухшими ядрами, по периферии долек – гепатоциты в состоянии мелкокапельной жировой дистрофии, портальные тракты – обычных размеров, желчные протоки и вены триад – с очаговой десквамацией эпителия и эндотелия, со скудными лимфоцитарными инфильтратами в строме (рисунок 16).

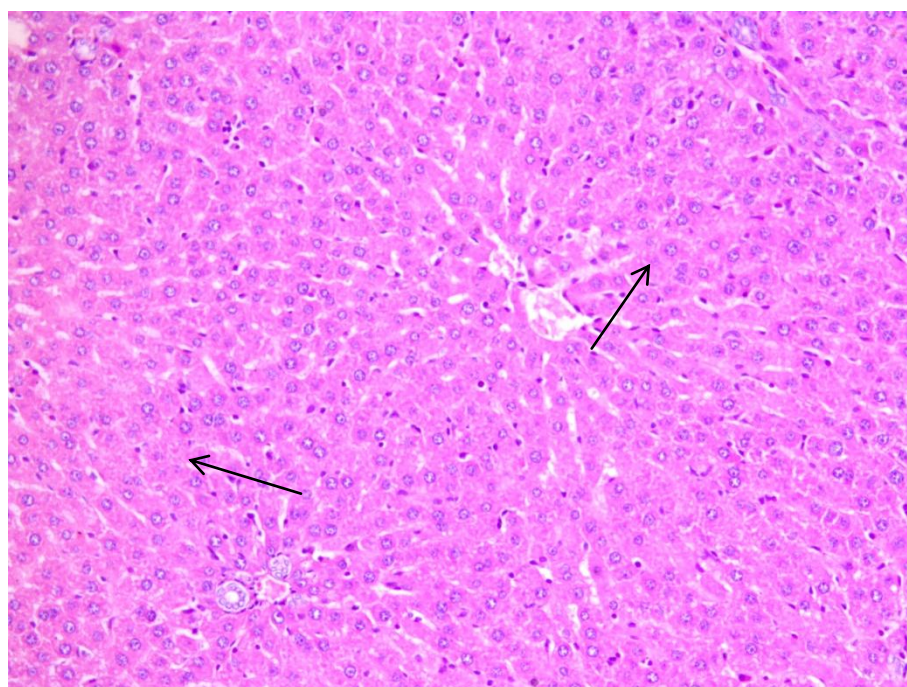


Рисунок 16 – Микроскопическая картина печени при введении Me-3. Гепатоциты в состоянии гиалиново-капельной дистрофии (→). Окраска гематоксилином и эозином, x200

При введении Me-5 выявлены резкий отек, полнокровие, синусоидные капилляры четко визуализируются, эктазированы, центролобулярные гепатоциты – в состоянии пылевидной и мелкокапельной жировой дистрофии, состоянии апоптоза, местами некротизированы, отмечена очаговая пролиферация клеток Купфера, портальные тракты увеличены в размерах за счет отека,

очагового фиброза, эпителий желчных протоков – набухший. В сосудах – сладж эритроцитов, неравномерная гиперплазия эндотелия, в строме – единичные лимфоцитарные инфильтраты, кровоизлияния, периваскулярные экстравазаты (рисунок 17).

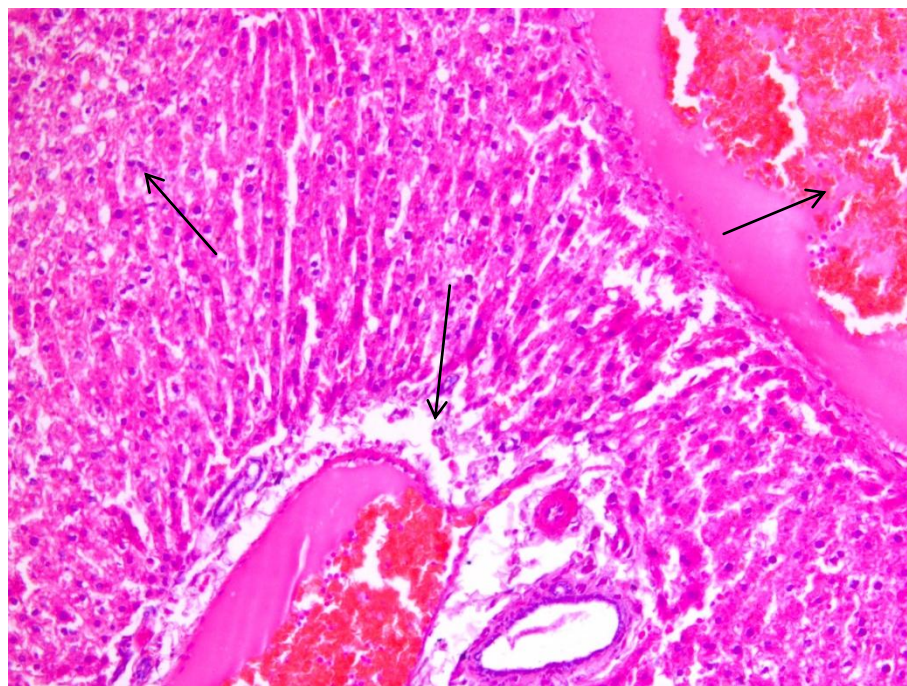


Рисунок 17 – Микроскопическая картина печени при введении Ме-5. Мелкокапельной жировой дистрофия гепатоцитов (→1), межбалочный и периваскулярный отек (→2), сладж эритроцитов в сосудах (→3). Окраска гематоксилином и эозином, x200

При введении АК-26 в паренхиме печени отмечены резкий отек, ее полнокровие, эктазия и полнокровие синусоидных капилляров, гепатоциты – в состоянии гидропической дистрофии, локально некротизированы, выявлены пролиферация клеток Купфера, портальные тракты незначительно увеличены в размерах за счет отека, очагового фиброза, зарегистрирована пролиферация клеток желчных протоков, артерии спазмированы, вены эктазированы, резко полнокровны, отмечается гиперплазия и десквамация эндотелия, в строме и паренхиме – единичные лимфоцитарные инфильтраты (рисунок 18).

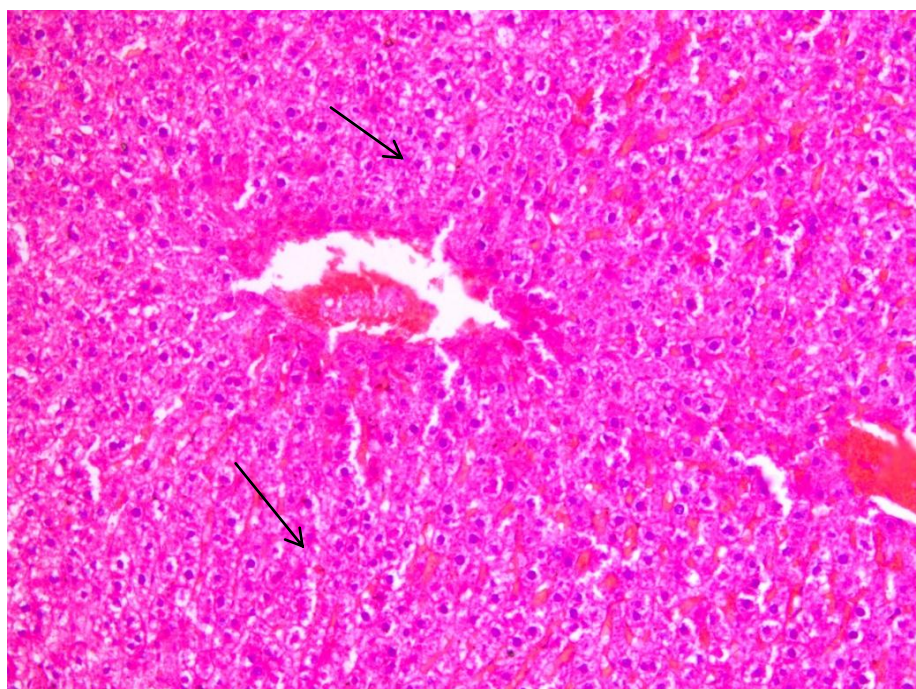


Рисунок 18 – Микроскопическая картина печени при введении АК-26. Локальные некрозы гепатоцитов (→). Окраска гематоксилином и эозином, х200

Биохимические и морфологические изменения в печени являются однонаправленными для всех тестируемых соединений.

Понимание степени повреждения почек необходимо в доклиническом исследовании новых противоопухолевых агентов [Huang G. et al., 2022]. Для платиновых противоопухолевых препаратов, например, частым осложнением при курсовом применении является острый канальцевый некроз. Под канальцевым некрозом понимают развитие некробиотических изменений эпителиальных клеток канальцев той или иной степени выраженности [Остроумова О.Д. и др., 2020].

При гистологическом исследовании почек обнаружено:

При введении Ме-3 – неравномерное полнокровие, гломерулы клеточные, местами коллабированы, незначительный перигломерулярный отек, в интерстиции – отек, очаговые геморрагии, нефротелий канальцев набухший, местами десквамирован, в просвете некоторых проксимальных канальцев – эозинофильный белковый субстрат (рисунок 19).

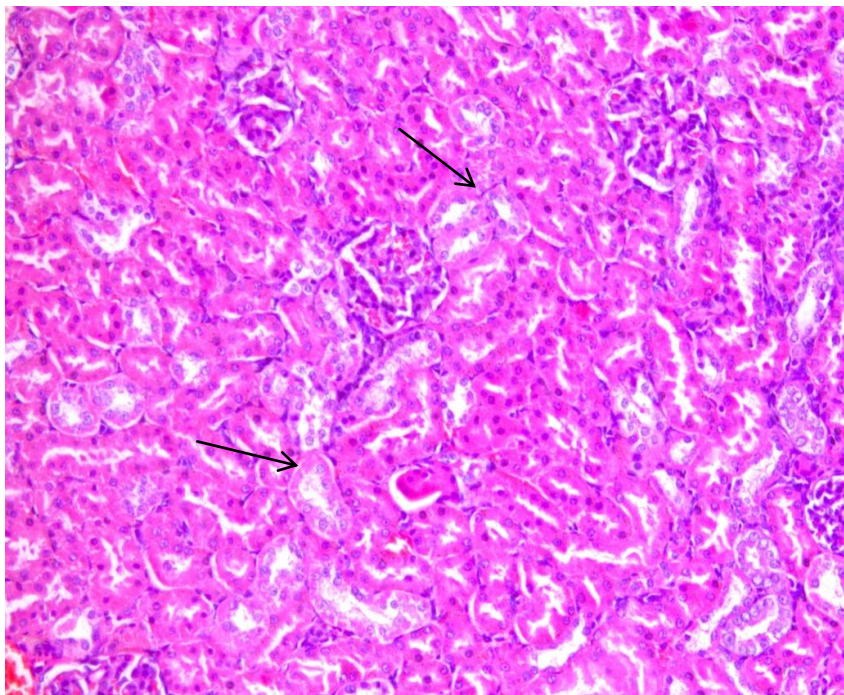


Рисунок 19 – Микроскопическая картина почки при введении Ме-3. Отек и дистрофические изменения нефротелия канальцев (→). Окраска гематоксилином и эозином, x200

При введении Ме-5 выявлены полнокровие, гломерулы клеточные, разнокалиберные, местами коллабированы, перигломерулярный отек, в интерстиции – отек, очаговые геморрагии, нефротелий канальцев набухший, фокально десквамирован, субтотально в состоянии гиалиново-капельной дистрофии, в просвете части проксимальных канальцев – эозинофильный белковый субстрат (рисунок 20).

При введении АК-26 регистрируются отек, полнокровие, разнокалиберные гломерулы, местами субтотально коллабированы, эктазия капсулы Шумлянско-Боуэна, в интерстиции – очаговые кровоизлияния, нефротелий канальцев – с выраженными дистрофическими изменениями, фокально десквамирован и некротизирован, в просвете некоторых проксимальных канальцев – эозинофильный белковый субстрат (рисунок 21).

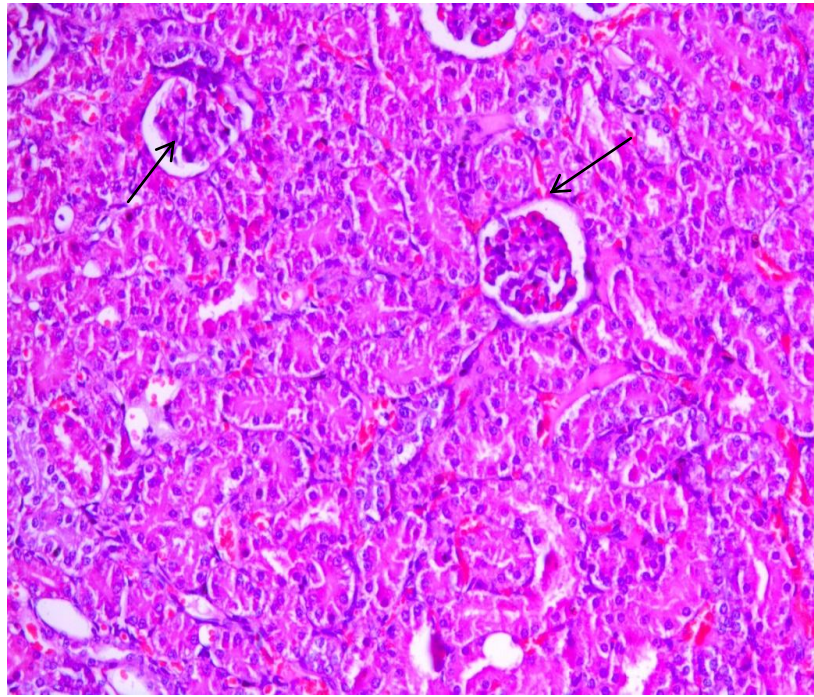


Рисунок 20 – Микроскопическая картина почки при введении Ме-5. Перигломерулярный отек (→). Окраска гематоксилином и эозином, x200

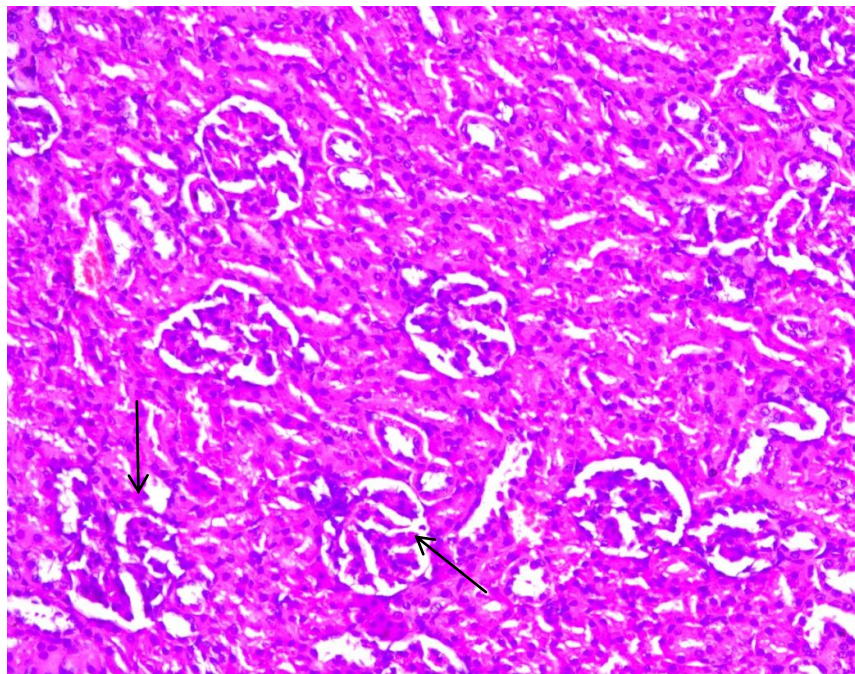


Рисунок 21 – Микроскопическая картина почки при введении АК-26. Дистрофические изменения гломерул (→). Окраска гематоксилином и эозином, x200

На примере сердечной мышцы можно проследить патогенетические закономерности развития морфологических изменений органов, напрямую не участвующих в детоксикации и выведении гибридных ООС.

При введении Me-3 зарегистрированы отек, полнокровие, зернистость саркоплазмы, ядра кардиомиоцитов увеличены в размерах, единичные ядра – в состоянии кариопикноза и кариорексиса, в строме – набухание, умеренный периваскулярный отек (рисунок 22).

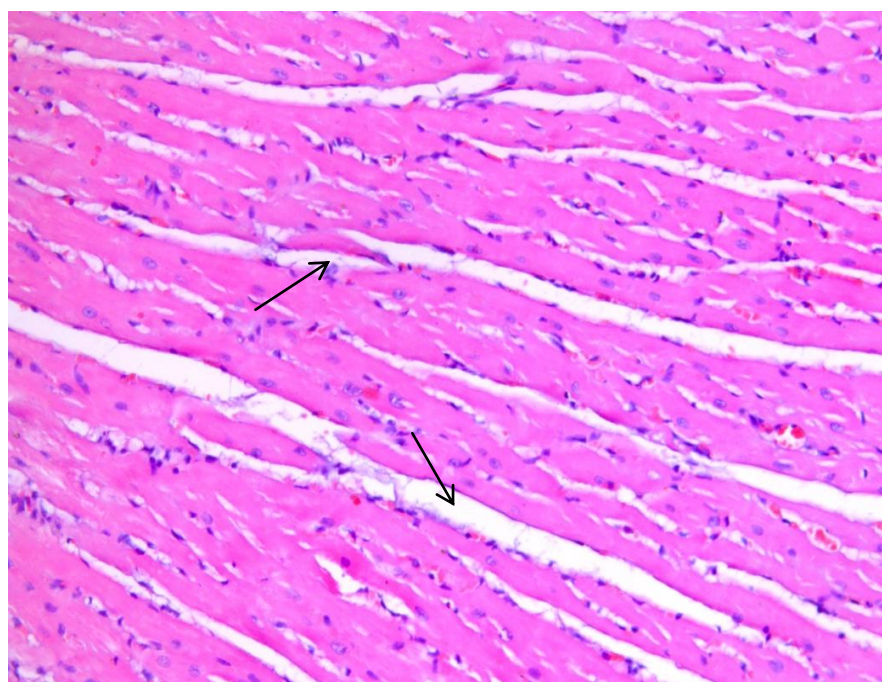


Рисунок 22 – Микроскопическая картина миокарда при введении Me-3. Межмышечный отек (→). Окраска гематоксилином и эозином, x200

При введении Me-5 выявлены отек, полнокровие, кардиомиоциты – с умеренно выраженными дистрофическими изменениями, с наличием мышечных контрактур, отеком цитоплазмы, увеличенными ядрами, с признаками дегенерации по типу кариолизиса, в ядрах кардиомиоцитов – явления апоптоза и некроптоза, локусы некроза кардиомиоцитов, единичные нейтрофилы (рис.23). В строме – отек, дистрофические изменения стенок мелких ветвей коронарных артерий, сладж эритроцитов с формированием красных тромбов, экстравазаты.

При окраске по ван Гизону – умеренно выраженный межмышечный и периваскулярный отек, очаговый фиброз (рисунок 23).

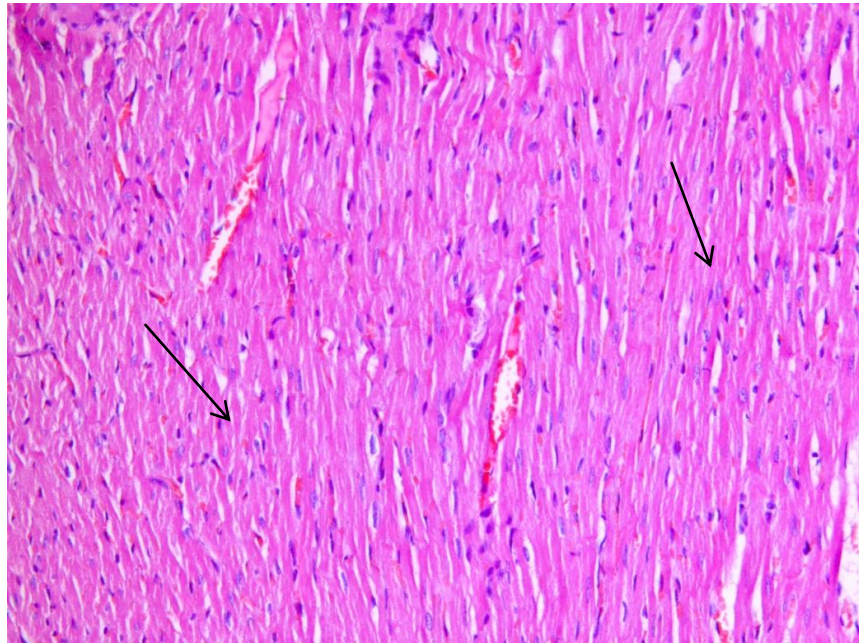


Рисунок 23 – Микроскопическая картина миокарда при введении Me-5. Дистрофические изменения кардиомиоцитов (→). Окраска гематоксилином и эозином, x200

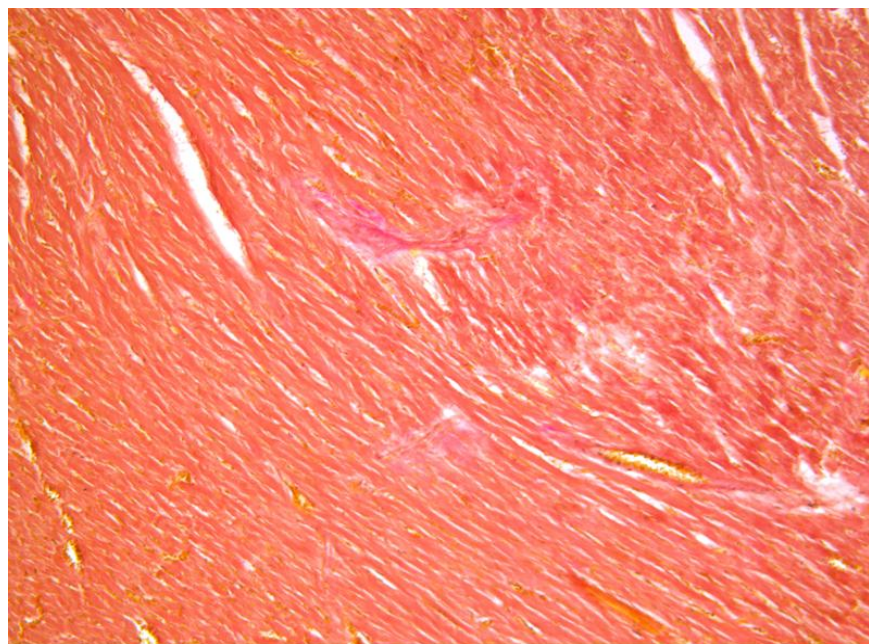


Рисунок 24 – Микроскопическая картина миокарда при введении Me-5. Окраска по ван Гизону, x200

При окраске по ван Гизону отмечался слабый периколлагеновый отек, мышечные волокна однонаправлены, без признаков дистрофических изменений (рисунок 24).

При введении АК-26 в миокарде выявлены отек, кардиомиоциты с выраженными дистрофическими изменениями, мышечными контрактурами и набуханием цитоплазмы, в ядрах – явления лизиса и пикноза, очаги некроза, в строме – выраженный отек, дистрофические изменения стенок мелких ветвей коронарных артерий, резкое полнокровие (рисунок 25).

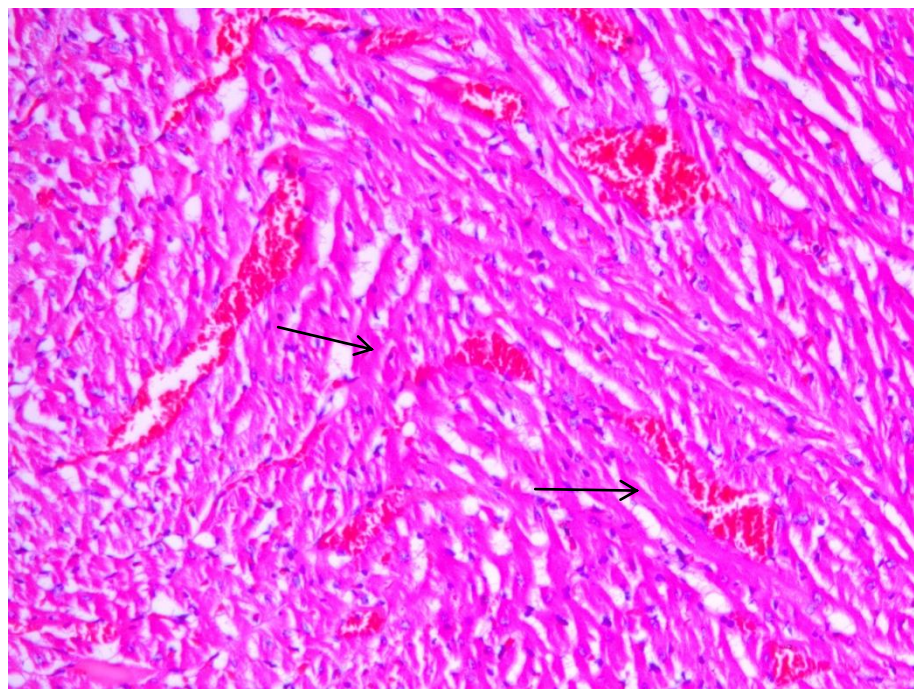


Рисунок 25 – Микроскопическая картина миокарда при введении АК-26. Очаги некроза кардиомиоцитов (→). Окраска гематоксилином и эозином, x200

При окраске по ван Гизону визуализируется дезорганизация коллагенового каркаса стромы и некроз мышечных волокон (рисунок 26).

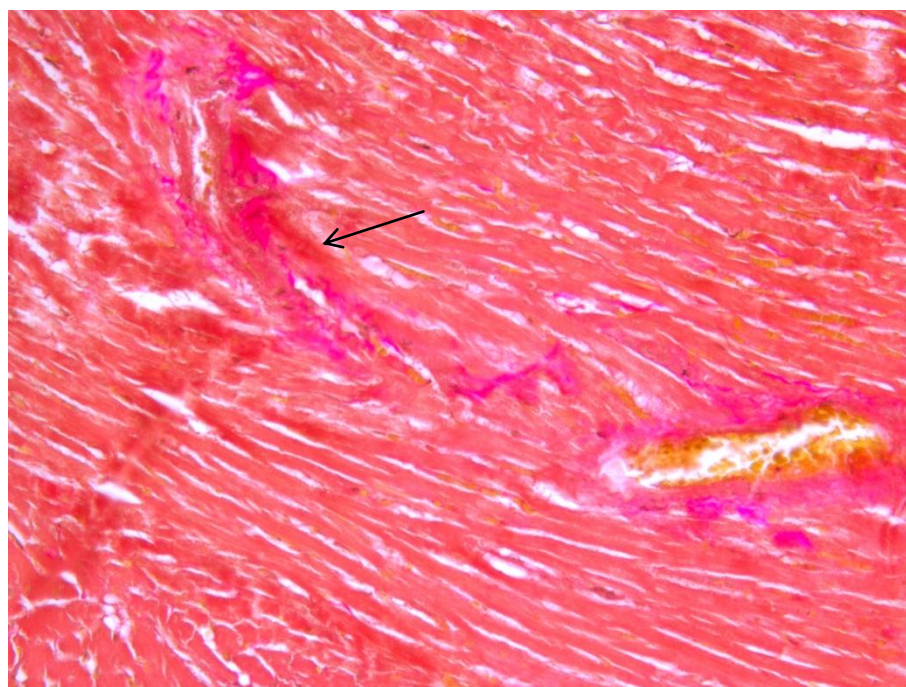


Рисунок 26 – Микроскопическая картина миокарда при введении АК-26. Дезорганизация коллагенового каркаса стромы (→). Окраска по ван Гизону, x200

При введении гибридных ООС были зафиксированы дистрофические и некротические изменения ткани миокарда, что сопровождалось выходом внутриклеточных ферментов и метаболитов в межклеточное пространство и повышением их уровня и/или активности в крови. Снижение активности АлАт и АсАт связано с неконкурентным ингибированием ферментов трансаминирования в крови [Додохова М.А. и др., 2005].

На 7-е сутки развития интоксикации при введении соединений Me-3 и Me-5 выявлены биохимические и морфологические изменения, которые можно отнести к средней степени выраженности; ввиду большой регенеративной способности печеночной и почечной ткани они являются, по-видимому, потенциально обратимыми. Процессы образования мочевины, синтеза белка и обезвреживания токсических веществ (образование прямого билирубина) функционально сохранены.

При введении соединения АК-26 выявлены биохимические и патоморфологические признаки, которые характерны для токсического

поражения органов тяжелой степени, декомпенсации защитных и регуляторных систем, накопления специфических метаболитов в высоких концентрациях и появления продуктов нарушенного функционирования, что может привести к образованию вторичного (отсроченного) повреждения.

14 суток после введения тестируемых соединений

Макроскопическая картина вскрытия не имела особенностей ни в одной из групп экспериментальных животных.

Результаты анализа биохимических маркеров токсического поражения печени и, косвенно, всех цитолитических процессов, в крови животных, получавших субстанции Me-3 и Me-5 в максимально переносимых дозах и эвтаназированных через 14 суток после однократного внутрижелудочного введения приведены в таблице 24.

Таблица 24 – Биохимические показатели животных (M±m, p)

Группы Показатели	Группа IVb	Группа Ib	Группа IIb	Группа IIIb
Общий белок, г/л	79,8±4,0	75,9±2,4*	68,4±2,6 p<0,05	57,3±5,3 p<0,05
Альбумин, г/л	39,9±2,9	39,0±3,0*	32,9±3,0*	29,5±3,4 ¹ p<0,05
Мочевина, ммоль/л	7,45±0,3	8,1±0,4*	9,08±0,2 p<0,05	5,9±0,8 p<0,05
Креатинин, мкмоль/л	36,4±1,5	40,4 ±2,4*	43,1±3,0 ¹ p<0,05	51,8±3,9 p<0,05
Общий билирубин, мкмоль/л	1,11±0,17	1,42±0,16*	1,63±0,11 p<0,05	1,72±0,14 ¹ p<0,05

Группы Показатели	Группа IVb	Группа Ib	Группа IIb	Группа IIIb
Конъюгированный билирубин, мкмоль/л	0,34±0,03	0,48±0,05 p<0,05	0,64±0,05 p<0,05	0,23±0,07 p<0,05
АлАт, ед/л	42,9±3,0	45,9±4,8*	56,2±3,0 p<0,05	73,4±6,4 p<0,05
АсАт, ед/л	64,8±3,3	70,4±5,6*	81,1±9,1 p<0,05	106,9±17,5 p<0,05
ЛДГ, ед/л	651,5±22,9	1069,6±75,0 p<0,05	1281,2 ±74,0 p<0,05	1528,1±91,5 p<0,05
КК, ед/л	2719,6±135,3	3584±192,8 p<0,05	5285±520,5 p<0,05	5564,2±467,2 ¹ p<0,05*
ЩФ, ед/л	364,2±15,4	404,5±24,8*	431±30,5 ¹ p<0,05*	518,1±38,9 p<0,05

Примечание: p<0,05 – по отношению к контрольным значениям различие статистически значимо с вероятностью 95%, * – нет достоверных отличий по отношению к показателям в контрольной группе, X¹ – нет достоверных отличий по отношению к показателям в предыдущей группе.

Во всех опытных группах под влиянием ООС произошли изменения активности маркерных ферментов ишемического и цитолитического повреждения разной степени выраженности.

При введении Ме-3 увеличение активности было отмечено для ферментов образования макроэргического соединения креатинфосфата (31,7%) и обратимого превращения пировиноградной кислоты в молочную (64,1%). Умеренное повышение конъюгированного билирубина (41,1%) на фоне сохранения более стабильного уровня общего билирубина (27,9%) может быть интерпретировано как часть компенсаторно-приспособительного механизма. Изменение остальных

показателей биохимического исследования либо не имело достоверных отличий от контрольных значений, либо имело вид слабой тенденции.

При введении Me-5 изменения содержания и активности неспецифических маркеров токсического процесса были значительнее, что говорит о более выраженном, чем для Me-3, влиянии Me-5 на клетку. Снижение уровня общего белка и альбумина было пропорциональным (19,1% и 17,6% соответственно). Умеренное увеличение мочевины (21,8%), креатинина (18,4%), общего билирубина за счет конъюгированной фракции свидетельствует о сохранении функционального состояния клеточного гомеостаза. Проницаемость биологических мембран и/или степень вторичного цитолиза имеет умеренную выраженность.

При введении АК-26 через 14 суток наблюдения сохраняется высокая концентрация внутриклеточных ферментов, менее выраженная для ферментов трансаминирования. Такое длительное нарушение проницаемости мембран может обуславливать высокую интенсивность и продолжительность токсического процесса.

Биохимические изменения полностью согласовывались с морфологической картиной интоксикации.

При введении Me-3 в печени на 14-е сутки развития интоксикации зафиксированы отек, полнокровие, спавшиеся синусоидные капилляры, гепатоциты центральной части долек в состоянии гиалиново-капельной дистрофии; по периферии долек гепатоциты без изменений, портальные тракты обычных размеров, без воспалительных инфильтратов (рисунок 25).

На 14-е сутки при введении Me-5 в печени регистрируются отек, полнокровие, синусоидные капилляры четко визуализируются, местами эктазированы, гепатоциты в состоянии гиалиново-капельной и очаговой мелкокапельной жировой дистрофии центральной части, портальные тракты обычных размеров. Сосуды – с набухшим эндотелием, наблюдаются единичные скудные лимфоцитарные инфильтраты в строме (рисунок 26).

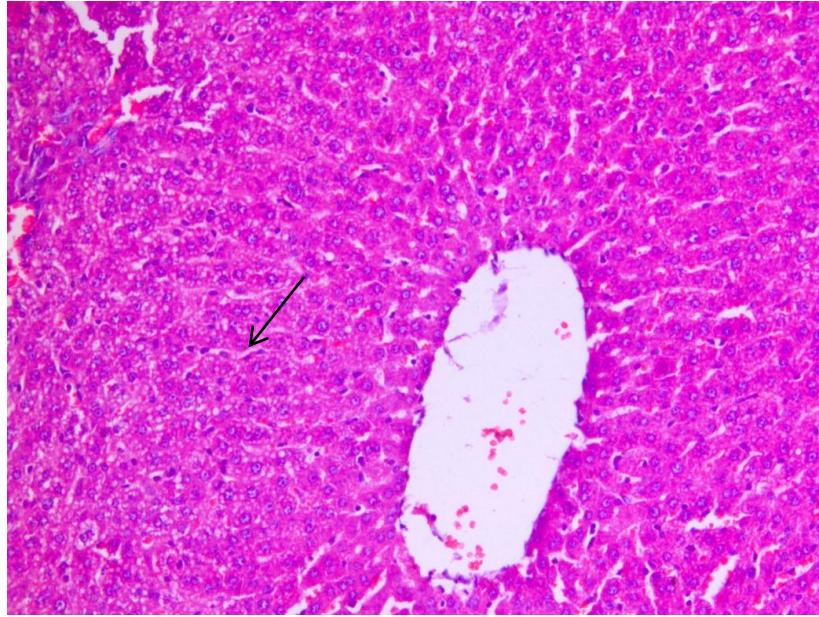


Рисунок 25 – Микроскопическая картина печени при введении Ме-3. Гепатоциты в состоянии гиалиново-капельной дистрофии (→). Окраска гематоксилином и эозином, x200

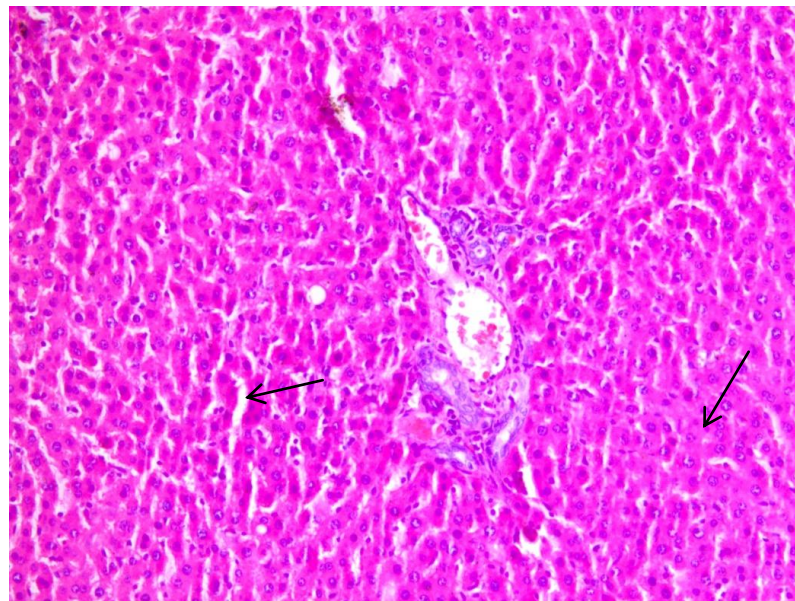


Рисунок 26 – Микроскопическая картина печени при введении Ме-5. Мелкокапельной жировой дистрофия гепатоцитов (→1), межбалочный и переваскулярный отек (→2). Окраска гематоксилином и эозином, x200

На 14-е сутки после введения А-26 в печени определяются резкий отек и острое полнокровие, синусоидные капилляры эктазированы, гепатоциты в состоянии гидропической дистрофии, отмечена пролиферация клеток Купфера, портальные тракты незначительно увеличены за счет отека, наблюдается пролиферация клеток желчных протоков. В сосудах – сладж эритроцитов, набухание эндотелиоцитов, единичные скудные лимфоцитарные инфильтраты в строме (рисунок 27).

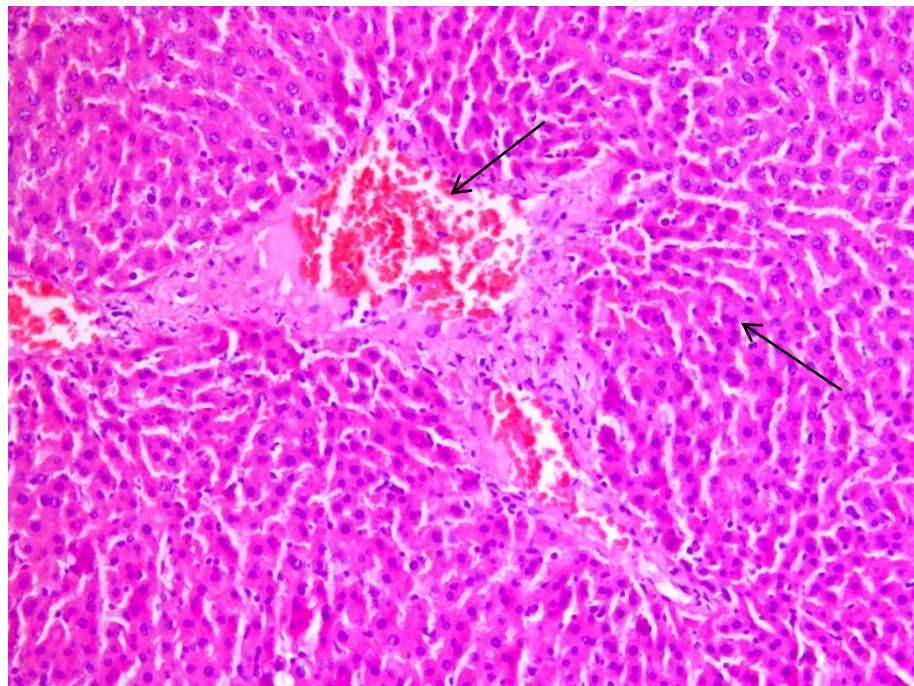


Рисунок 27 – Микроскопическая картина печени при введении АК-26. Дистрофические изменения гепатоцитов (→1), сладж эритроцитов (→2).

Окраска гематоксилином и эозином, x200

На 14-е сутки после введения Ме-3 в почке регистрируются отек, неравномерное полнокровие, гломерулы клеточные, в интерстиции – очаговые геморрагии, нефротелий канальцев набухший, местами десквамирован (рисунок 28).

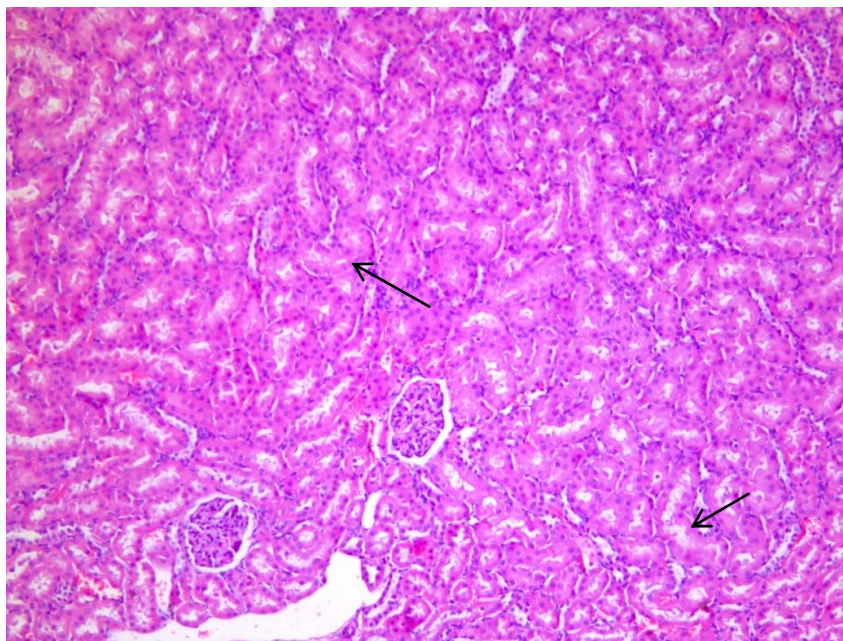


Рисунок 28 – Микроскопическая картина почек при введении Me-3. Отек и дистрофические изменения нефротелия канальцев (→).

Окраска гематоксилином и эозином, x200

На 14-е сутки от введения Me-5 в почке – неравномерное полнокровие, гломерулы разнокалиберные, с эктазией перигломерулярной капсулы, в интерстиции – отек, очаговые геморрагии, нефротелий канальцев набухший, местами десквамирован, в состоянии гиалиново-капельной дистрофии (рисунок 29).

На 14-е сутки после введения A-26 в почке отмечено полнокровие, гломерулы увеличены в размерах, разнокалиберные, местами «лапчатые», перигломерулярный отек, в интерстиции – геморрагии, нефротелий канальцев – с признаками гиалиново-капельной и гидропической дистрофии, субтотально десквамирован (рисунок 30).

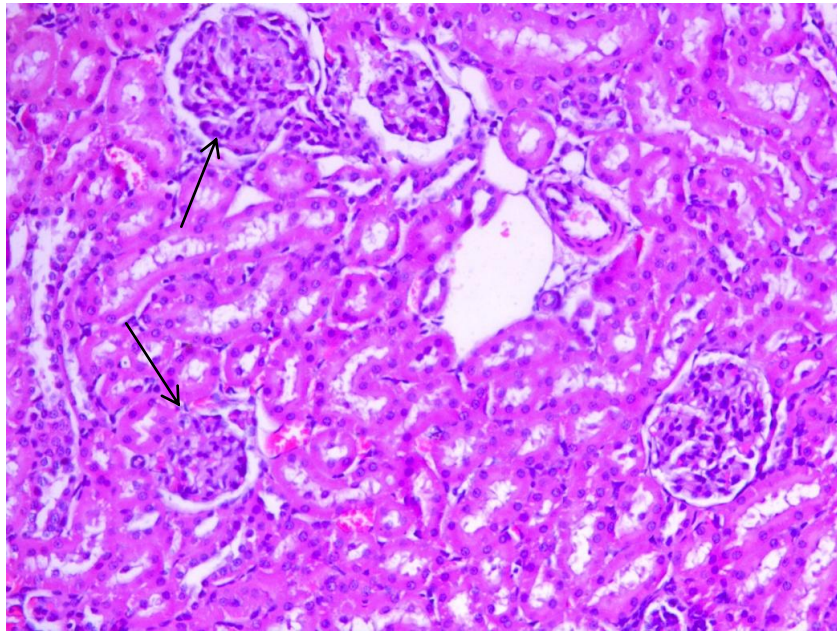


Рисунок 29 – Микроскопическая картина почек при введении Ме-5.
Разнокалиберные гломерулы с дистрофическими изменениями (→).
Окраска гематоксилином и эозином, x200

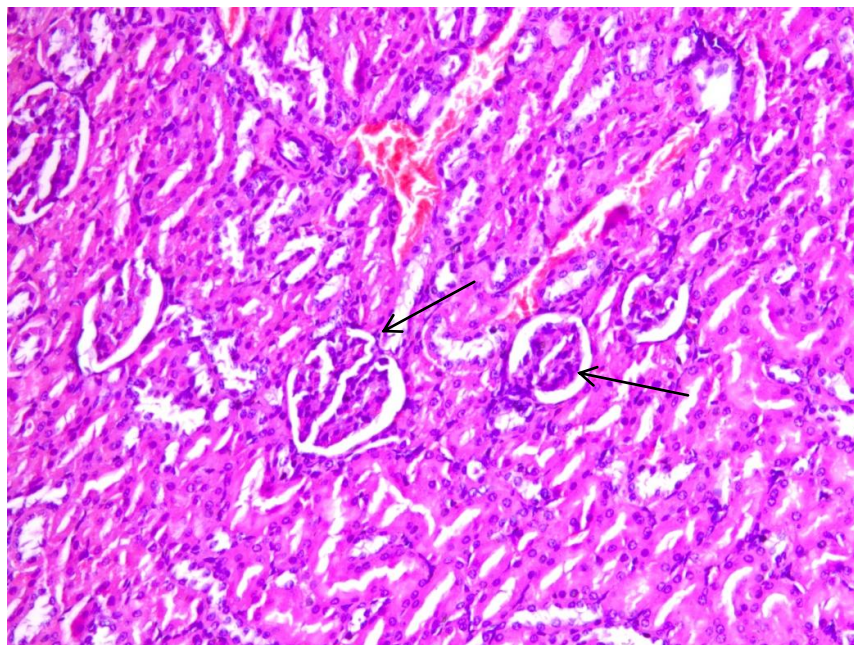


Рисунок 30 – Микроскопическая картина почек при введении АК-26.
Перегломерулярный отек, «лапчатые» гломерулы (→). Окраска гематоксилином и
эозином, x200

При микроскопии сердечной мышцы под воздействием Ме-3 на 14-е сутки определяются отек, незначительное набухание и зернистость саркоплазмы субэндокардиальных кардиомиоцитов, ядра увеличены в размерах, в строме (межмышечная соединительная ткань) – отек, очаговые геморрагии (рисунок 31).

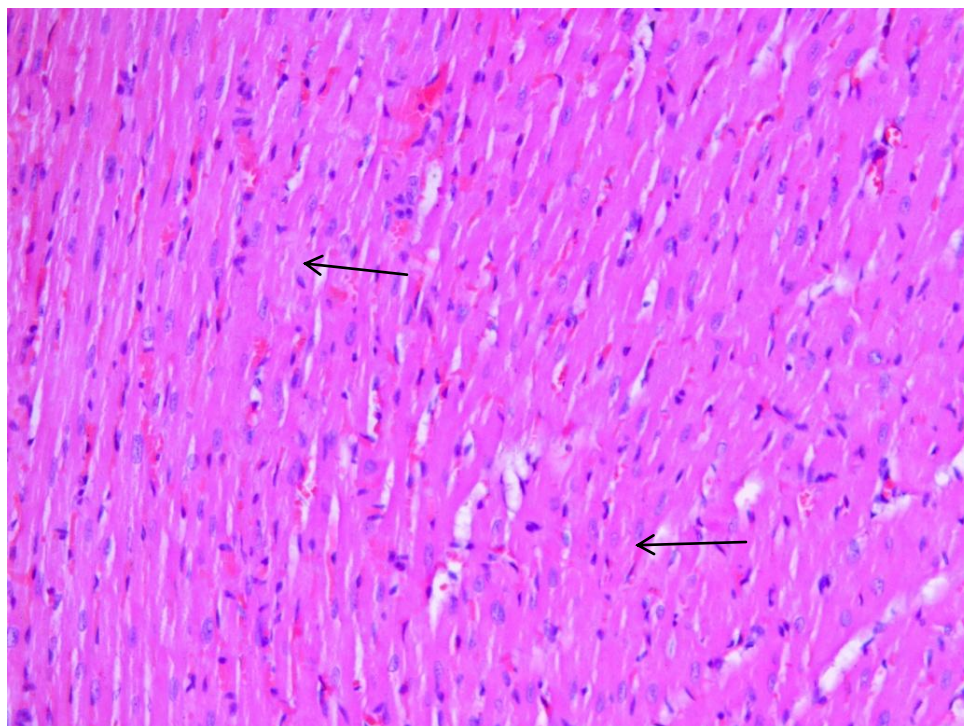


Рисунок 31 – Микроскопическая картина миокарда при введении Ме-3. Дистрофические изменения кардиомиоцитов (→). Окраска гематоксилином и эозином, x 200

На 14-е сутки после введения Ме-5 в миокарде – очаговое неравномерное полнокровие, кардиомиоциты с умеренно выраженными дистрофическими изменениями, с очаговыми мышечными контрактурами, выраженной зернистостью цитоплазмы, увеличенными в размерах ядрами, с признаками дегенерации по типу кариолизиса, в строме – отек, дистрофические изменения стенок мелких ветвей коронарных артерий со сладжем эритроцитов в их просвете (рисунок 32).

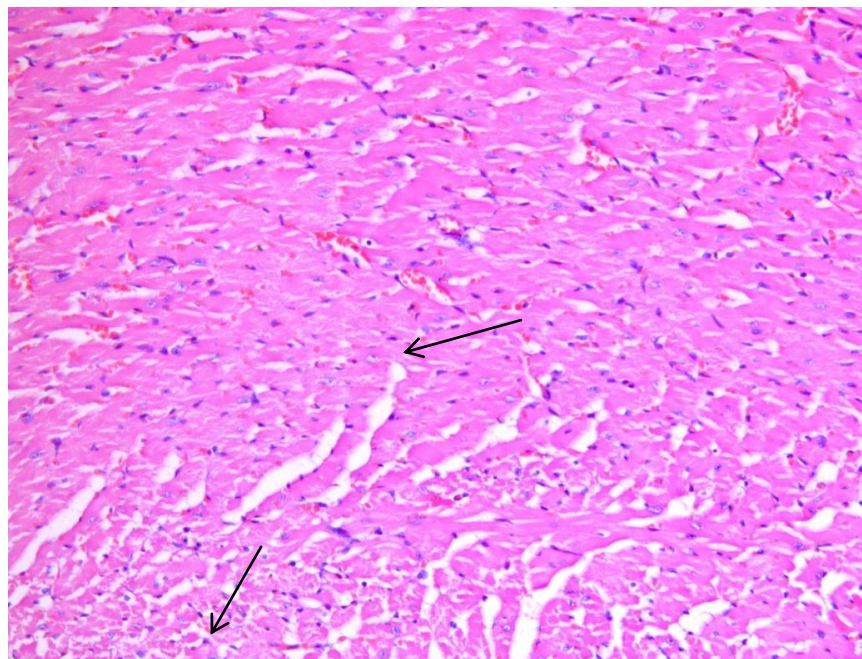


Рисунок 32 – Микроскопическая картина миокарда при введении Me-5. Кардиомиоциты с умеренно выраженными дистрофическими изменениями и очаговыми мышечными контрактурами (→). Окраска гематоксилином и эозином, x200

На 14-е сутки после введения А-26 в миокарде зафиксированы отек, полнокровие, кардиомиоциты с выраженными дистрофическими изменениями, мышечными контрактурами, очаговой вакуолизацией цитоплазмы, увеличенными в размерах ядрами, с признаками дегенерации по типу кариолизиса, местами некротизированными. В строме выявлены периваскулярный фиброз, отек, дистрофические изменения стенок мелких ветвей коронарных артерий и артериол со сдвигем эритроцитов в просвете, периваскулярными экстравазатами (рисунок 33).

При окраске по ван Гизону определяются межмышечный и периваскулярный отек, очаговый фиброз (рисунок 34).

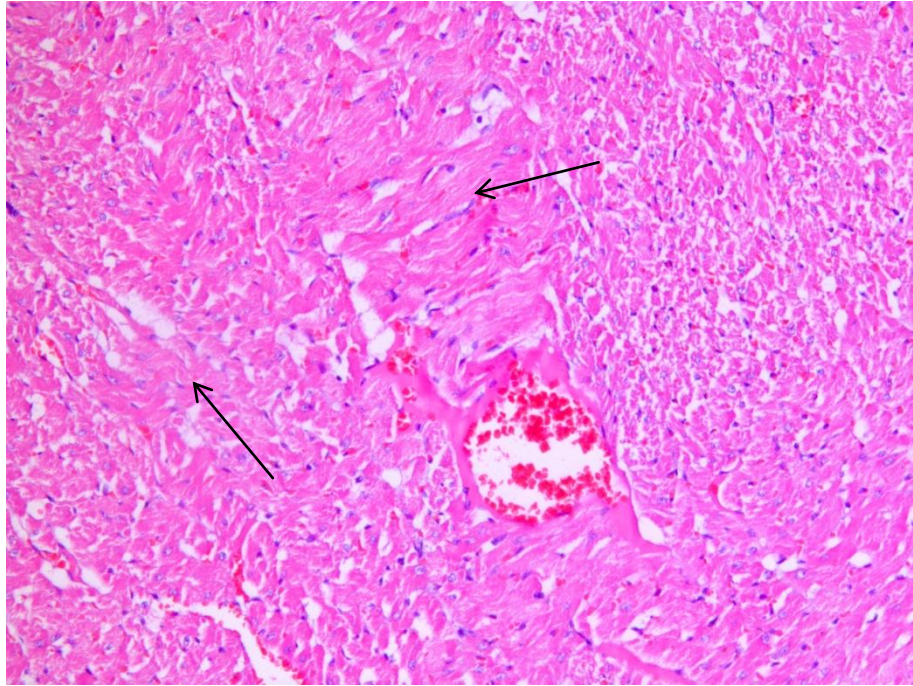


Рисунок 33 – Микроскопическая картина миокарда при введении АК-26. Локальные некрозы кардиомиоцитов (→). Окраска гематоксилином и эозином, х 200

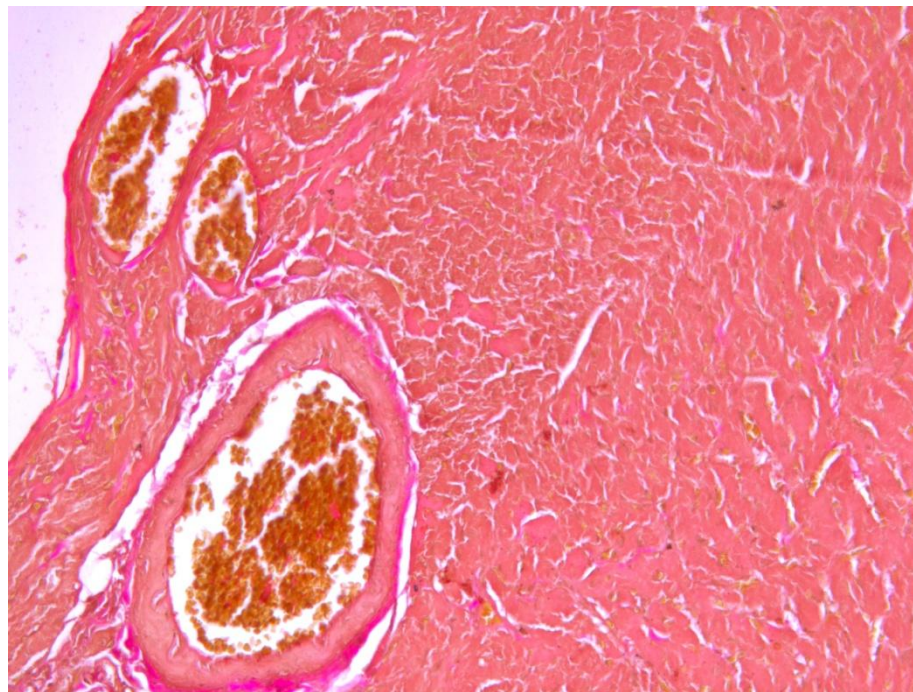


Рисунок 34 – Микроскопическая картина миокарда при введении АК-26. Окраска по ван Гизону, х200

Таким образом, на 7-е сутки эксперимента у крыс при введении соединений Me-3 и Me-5 отмеченные морфологические изменения в паренхиматозных органах можно отнести к низкой / умеренной степени выраженности, что связано с высокой регенеративной способностью печеночной и почечной ткани, низкой чувствительностью кардиомиоцитов к вводимым соединениям. Структурные изменения в исследуемых органах являются потенциально обратимыми, что подтверждается функционально сохраненными процессами образования мочевины, синтеза белка и обезвреживания токсических веществ (образование прямого билирубина). На 14-е сутки при морфологическом исследовании в паренхиматозных органах регистрируются признаки умеренно выраженной дистрофии вплоть до локального некроза клеток, преобладают очаговые альтеративные изменения. Также на 14-е сутки наблюдения при воздействии Me-5 в паренхиматозных органах зафиксированы изменения, более выраженные по сравнению с воздействием Me-3: субтотально в паренхиме и строме отмечаются дистрофические изменения, апоптоз, некроз, скудная воспалительная инфильтрация, преобладают альтеративные процессы с минимальным воспалительным компонентом (токсический путь).

На 7-е сутки при введении соединения АК-26 морфологическая картина характерна для токсического поражения органов тяжелой степени, определяются признаки декомпенсации защитных и регуляторных систем, это подтверждается биохимическими показателями (накоплением специфических метаболитов в высоких концентрациях и появлением продуктов нарушенного функционирования), что может привести к появлению вторичного (отсроченного) повреждения. На 14-е сутки морфологическая картина соответствует выраженным дегенеративно-дистрофическим изменениям с превалированием некробиотических процессов (токсический путь), развивающихся субтотально в паренхиме всех исследуемых органов, в строме отмечается пролиферация фибробластов с началом развития фиброза.

Установлено, что органы-мишени определяются свойствами металла, а специфика токсического действия (сроки проявления, интенсивность

повреждающего действия, скорость репарации повреждений, тропность к определенным тканям) зависят от структуры лиганда [Переверзева Э.Р., 2007], что полностью согласуется с полученными нами данными.

Результаты собственных исследований, как и опыт других ученых, свидетельствуют о высокой информативной значимости патоморфологического метода изучения структуры внутренних органов экспериментальных животных для доклинической оценки безопасности лекарственных средств [Додохова М.А. и др., 2021; Переверзева Э.Р., 2003; Трещалин И.Д. и др., 2005] и невозможности делать заключения о неспецифической токсичности, опираясь только на биохимические маркеры.

Модификация молекулы ООС введением фрагмента 2,6-ди-трет-бутилфенола позволяет получить снижение общей и специфической токсичности на организм животного, решающую роль в конструировании эффективных соединений играют природа лигандной группировки и длина линкера между биоцидным и антиоксидантным фрагментами гибридных ООС.

Комплексное токсикологическое, биохимическое и морфологическое исследование паренхиматозных органов после воздействия соединений Ме-3, Ме-4, Ме-5 и АК-26 показало целесообразность использования соединений Ме-3 и Ме-5; АК-26 условно допущен к следующему этапу испытаний.

ГЛАВА 4

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ И АНТИМЕТАСТАТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ГИБРИДНЫХ ОЛОВООРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ НА МОДЕЛЯХ ПЕРЕВИВАЕМЫХ ОПУХОЛЕЙ

Несмотря на большое количество работ, посвященных расчетным методам компьютерного изучения новых биологически активных молекул и оценке их эффективности на моделях *in vitro*, решающую роль в медико–биологических исследованиях играет изучение активности при моделировании типовых патологических процессов на животных [Васильев А.Н. и др., 2017].

Для работ в области экспериментальной онкологии приоритетным является выбор проведения оценки противоопухолевой и антиметастатической активности исследуемых соединений на моделях солидных опухолей со спонтанным метастазированием [Трещалина Е.М. и др., 2012]. Использование подобных моделей для испытания веществ с предполагаемым противоопухолевым эффектом позволяет оценить влияние тестируемых соединений как на рост и развитие перичного опухолевого очага, так и на процесс диссеминации злокачественных клеток в отдаленные органы.

Для скинингового изучения противоопухолевой и антиметастатической активности гибридных ООС использованы две экспериментальные модели злокачественных неоплазий: меланомы В16 и эпидермоидная карцинома Lewis (LLC) [Хабриев Р.У, 2005].

При проведении основного этапа эксперимента изучались морфологические изменения в первичном опухолевом узле и печени мышей линии С57В1/6 (самки), носителей меланомы В16 и эпидермоидной карциномы Lewis, при введении ООС Ме-3 и Ме-5 – в максимально эффективных дозах (375 мг/кг и 250 мг/кг соответственно) и токсических дозах (500 мг/кг и 375 мг/кг соответственно).

4.1. Скрининговое изучение противоопухолевого и антиметастатического действия гибридных оловоорганических соединений на модели меланомы В16 мышей

Меланома В16 представляет собой модель классической злокачественной опухоли, для которой характерно развитие отдалённых метастазов в различных тканях и внутренних органах [Califano J. et al, 2009].

Предварительный этап исследования

Формирование экспериментальных групп на I этапе исследования отражено в таблице 35:

Таблица 35 – Распределение испытуемых животных по группам на предварительном этапе эксперимента на модели меланомы В16

Вводимые соединения и дозы	Группы животных (мышь-самки линии С57В1/6)
Ме-3 в РД 30 мг/кг (СД 150 мг/кг)	I
Ме-3 в РД 50 мг/кг (СД 250 мг/кг)	II
Ме-3 в РД 75 мг/кг (СД 375 мг/кг)	III
Ме-3 в РД 100 мг/кг (СД 500 мг/кг)	IV
Ме-5 в РД 30 мг/кг (СД 150 мг/кг)	V
Ме-5 в РД 50 мг/кг (СД 250 мг/кг)	VI
Ме-5 в РД 75 мг/кг (СД 375 мг/кг)	VII
Ме-5 в РД 100 мг/кг (СД 500 мг/кг)	VIII
АК-26 в РД 5 мг/кг (СД 25 мг/кг)	IX
АК-26 в РД 10 мг/кг (СД 50 мг/кг)	X
АК-26 в РД 15 мг/кг (СД 75 мг/кг)	XI
АК-26 в РД 20 мг/кг (СД 100 мг/кг)	XII
Контрольная группа	XIII

Примечание: РД – разовая доза, СД – суммарная доза.

Введение исследуемых соединений проводилось в классическом режиме по Софьиной З.П. [Софьина З.П., 1980]. Регистрацию изменения общего состояния животных, летальных исходов осуществляли ежедневно до гибели всех особей.

Во всех опытных группах частота метастазирования не отличалась от таковой у контрольных животных и составила 100%. Результаты экспериментальной серии по выявлению влияния соединений Ме-3 и Ме-5 на развитие меланомы В16 (мыши линии С57В1/6, самки) в классическом режиме введения по Софьиной З.П. приведены в таблице 36.

Таблица 36 – Влияние соединений Ме-3 и Ме-5 на развитие меланомы В16 (мыши линии С57В1/6, самки) в классическом режиме введения по Софьиной З.П.

Экспериментальные группы	Вводимые дозы РД / СД, мг/кг	Средняя продолжительность жизни (СПЖ), дни
Соединение Ме-3		
I	30 / 150	21,5±0,98
II	50 / 250	23,58±0,92
III	75 / 375	30,75±1,64 p≤0,05
IV	100 / 500	17,75±1,15 p≤0,05
Соединение Ме-5		
V	30 / 150	21,41±1,25
VI	50 / 250	25,83±1,56 p≤0,05
VII	75 / 375	18,66±1,42
VIII	100 / 500	15,83±0,95 p≤0,05
Соединение АК-26		
IX	5 / 25	20,75±1,7
X	10 / 50	20,5±1,55
XI	15 / 75	18,0±1,65 p≤0,05
XII	20 / 100	14,91±0,98 p≤0,05
Без соединения		
XIII	Контрольная группа	21,83±1,68

При введении Me-3 и Me-5 в СД 150 мг/кг продолжительность жизни животных в контрольной и опытных группах достоверно не отличалась. В опытной группе II отмечена тенденция к увеличению продолжительности жизни животных, при введении аналогичной дозы в группе VI выявлен максимальный прирост данного показателя для соединения Me-5. При введении в СД 375 мг/кг для соединения Me-3 увеличение средней продолжительности жизни составило 41%, для соединения Me-5, наоборот, произошло снижение данного показателя. При дальнейшем увеличении разовой дозы обеих субстанций средняя продолжительность жизни резко снижалась.

Токсический эффект был отмечен при введении Me-3 в СД 500 мг/кг и Me-5 в двух дозах: 375 мг/кг и 500 мг/кг. Продолжительность жизни животных достоверно снижалась для Me-3 на 18%, для Me-5 – на 14% и 28% соответственно.

Снижение продолжительности жизни сопровождалось дополнительным нетипичным для меланомы B16 распространением опухоли. Наличие метастазов обнаружено в печени в 100% случаев. Результаты проведенного экспериментального исследования показали наличие нелинейной зависимости между продолжительностью жизни экспериментальных животных и величиной вводимой дозы гибридных ООС. В группе VIII в предварительной серии эксперимента отмечалось раннее падение животных (СПЖ 16 дней), поэтому вторая серия эксперимента с использованием СД 500 мг/кг для Me-5 не проводилась.

Соединение АК-26 (опытные группы IX-XIII) не оказало предполагаемой терапевтической активности на рост и развитие меланомы B16 и было исключено из дальнейшего исследования на основном этапе изучения фармакологической эффективности.

Для дальнейшего изучения патогенетических механизмов дозозависимой противоопухолевой и антиметастатической активности гибридных ООС соединения Me-3 и Me-5 были выбраны в максимально эффективных дозах

(375 мг/кг и 250 мг/кг соответственно) и токсических дозах (500 мг/кг и 375 мг/кг соответственно).

Основной этап исследования

Формирование экспериментальных групп на I этапе исследования отражено в таблице 37:

Таблица 37 – Распределение испытуемых животных по группам на основном этапе эксперимента на модели меланомы B16

Вводимые соединения и дозы	Группы животных (мыши-самки линии C57Bl/6)
Me-3 в РД 75 мг/кг (СД 375 мг/кг)	Ia
Me-3 в РД 100 мг/кг (СД 500 мг/кг)	IIa
Me-5 в РД 50 мг/кг (СД 250 мг/кг)	IIIa
Me-5 в РД 75 мг/кг (СД 375 мг/кг)	IVa
Контрольная группа	Va

Примечание: РД – разовая доза, СД – суммарная доза.

Для оценки противоопухолевой и антиметастатической фармакологической активности тестируемых соединений эвтаназию животных проводили на гильотине на 18-е сутки после перевивки.

Во всех опытных группах частота метастазирования не отличалась от таковой у контрольных животных и составила 100%.

Результаты экспериментальной серии влияния соединений Me-3 и Me-5 на развитие меланомы B16 (мыши линии C57Bl/6, самки) в классическом режиме введения по Софьиной З.П. на основном этапе испытания приведены в таблице 38.

Таблица 38 – Влияние соединений Me-3 и Me-5 на развитие меланомы B16 (мышь линии C57Bl/6, самки) в классическом режиме введения по Софьиной З.П.

Экспериментальные группы	Вводимые дозы РД / СД, мг/кг	Торможение (+) или стимуляция (-) роста опухоли по массе, %	Индекс ингибирования (+) или стимуляции (-) метастазирования, %
Соединение Me-3			
Ia	75 / 375	27 $p \leq 0,05$	54 $p \leq 0,05$
IIa	100 / 500	-15 $p \leq 0,05$	-27,3 $p \leq 0,05$
Соединение Me-5			
IIIa	50 / 250	22,9 $p \leq 0,05$	36 $p \leq 0,05$
IVa	75 / 375	-10,6 $p \leq 0,05$	-26,4 $p \leq 0,05$
Без соединения			
Va	Контрольная группа	–	–

В СД 375 мг/кг Me-3 (группа Ia) достигнуто снижение массы опухоли и количества метастатических очагов в легких на 27% и 54% соответственно.

В опытной группе IIIa при введении Me-5 в СД 250 мг/кг на 22,9 % снизилась масса опухоли и на 36% – количество метастазов в легких.

Отмечен прирост массы первичного очага опухоли: у животных, получавших 500 мг/кг Me-3 и 375 мг/кг Me-5 – на 15% и 11% соответственно. Также выявлено увеличение метастатического поражения легких – на 27% (Me-3) и 26% (Me-5). Снижение продолжительности жизни, увеличение массы первичного опухолевого очага и интенсивности метастазирования в легкие сопровождалось дополнительным нетипичным для меланомы B16 распространением опухоли. Наличие метастазов обнаружено в печени, почках и других органах и тканях.

Результаты проведенного экспериментального исследования показали наличие нелинейной зависимости ингибирующего эффекта на первичный

опухолевый очаг и процесс метастазирования меланомы B16 у мышей при увеличении вводимой дозы исследуемых ООС.

Для выявления особенностей влияния Me-3 и Me-5 на первичный опухолевый узел меланомы B16 и нетипичный очаг метастазирования (печень) были выполнены морфологическое и иммуногистохимическое (ИГХ) исследования.

При ИГХ исследовании произведена оценка экспрессии TGF- β 1, который может вызывать эпителиально-мезенхимальную трансформацию (ЭМП), что приводит к увеличению миграции злокачественных клеток [Parageorgis P., 2015]. Множество клинических отчетов связывают высокие уровни TGF- β 1 с неблагоприятным прогнозом при многих типах ЗН через активизацию процесса метастазирования [Li J. et al., 2019; Huang M. et al., 2021].

Для получения максимально возможного количества информации о новом соединении с предполагаемой противоопухолевой активностью было проведено морфологическое исследование в экспериментальных группах, получивших эффективные и токсические дозы тестируемых соединений.

Me-3 – эффективная доза

При морфологическом исследовании печени и первичного опухолевого узла у животных-опухоленосителей при введении эффективной дозы Me-3 были выявлены следующие изменения.

Для соединения Me-3 максимально эффективная противоопухолевая и антиметастатическая активность наблюдается на обеих моделях опухолевого роста при введении в суммарной дозе 375 мг/кг.

Печень

В печени (рисунок 27) определяются выраженная диффузная гиалиново-капельная дистрофия, апоптоз и некробиоз отдельных групп гепатоцитов, встречаются двухъядерные формы, эктазия центральных вен, в просвете – опухолевые клетки, очаговый перисинусоидальный фиброз, лимфоцитарные инфильтраты в строме дископлексируемых печеночных долек.

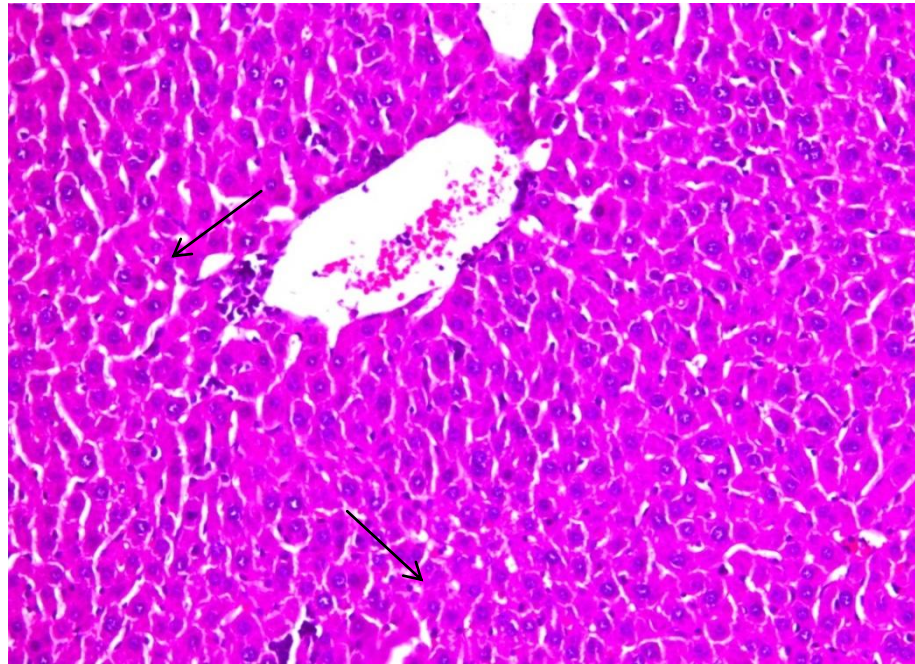


Рисунок 27 – Микроскопическая картина печени при введении Me-3 в максимально эффективной суммарной дозе 375 мг/кг. Животные – мыши линии C57Bl/6 (самки), носители меланомы B16. Гиалиново-капельная дистрофия гепатоцитов (→). Окраска гематоксилином и эозином, x200.

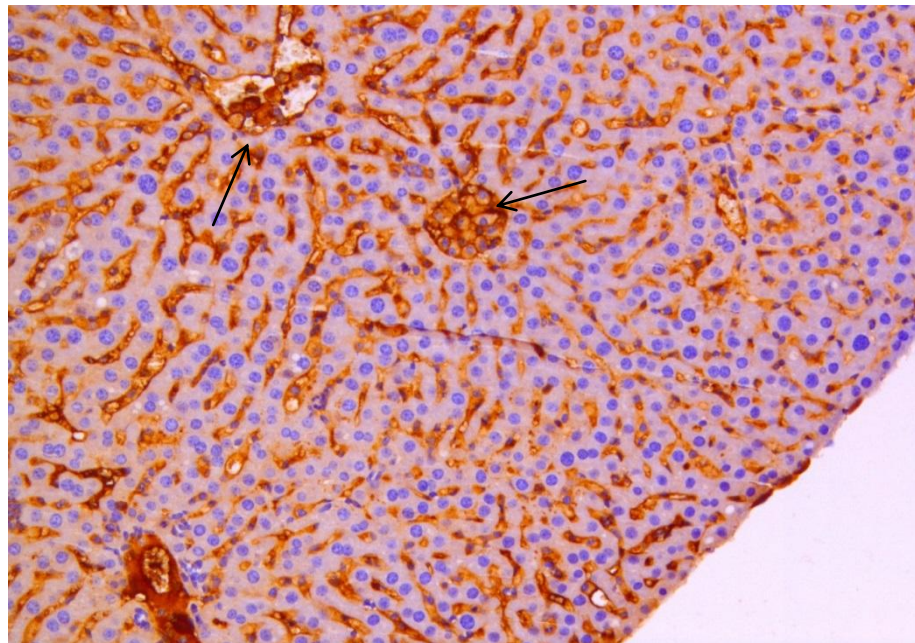


Рисунок 28 – Иммуновизуализация (антитела TGFβ1) в печени при введении Me-3 в максимально эффективной суммарной дозе 375 мг/кг. Животные – мыши линии C57Bl/6 (самки), носители меланомы B16. Опухолевые клетки в просвете сосудов (→), x200

В гепатоцитах выявлена выраженная дискретная экспрессия TGFb1 и максимальная – в эндотелии сосудов, отмечена ядерная экспрессия в опухолевых клетках (рисунок 28).

Опухоль

Нами отмечены резко выраженные дистрофические изменения в опухолевой ткани с субтотальным некрозом, миксоматозом, кровоизлияниями (рисунок 29).

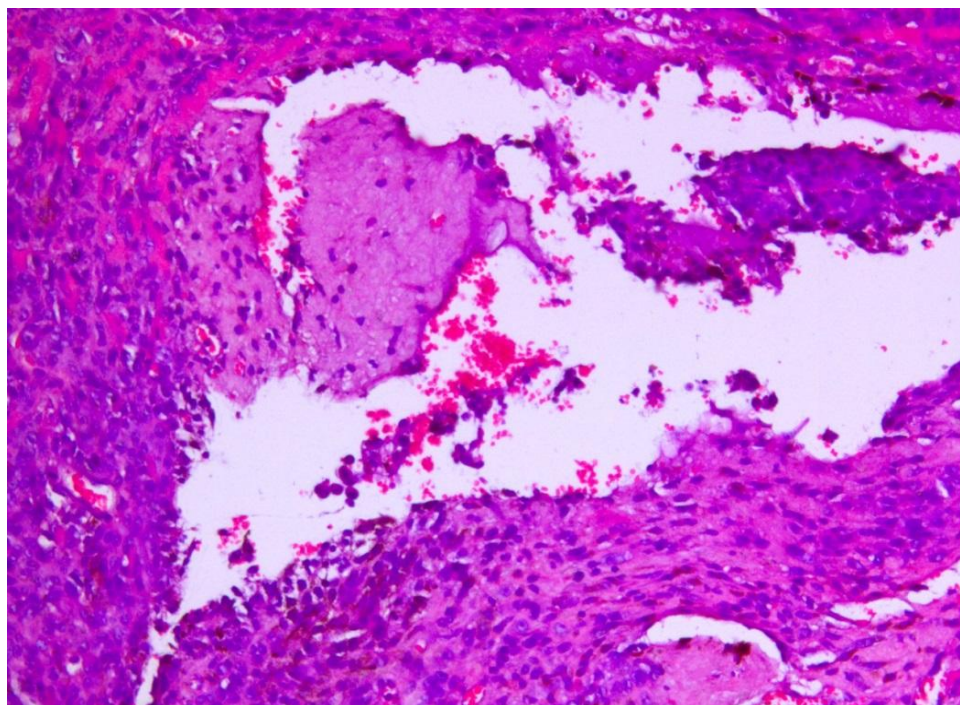


Рисунок 29 – Микроскопическая картина первичного опухолевого узла при введении Me-3 в максимально эффективной суммарной дозе 375 мг/кг. Животные – мыши линии C57Bl/6 (самки), носители меланомы B16. Окраска гематоксилином и эозином, x200

На рисунке 30 представлена слабая неравномерная экспрессия TGFb1 в разных полях зрения.

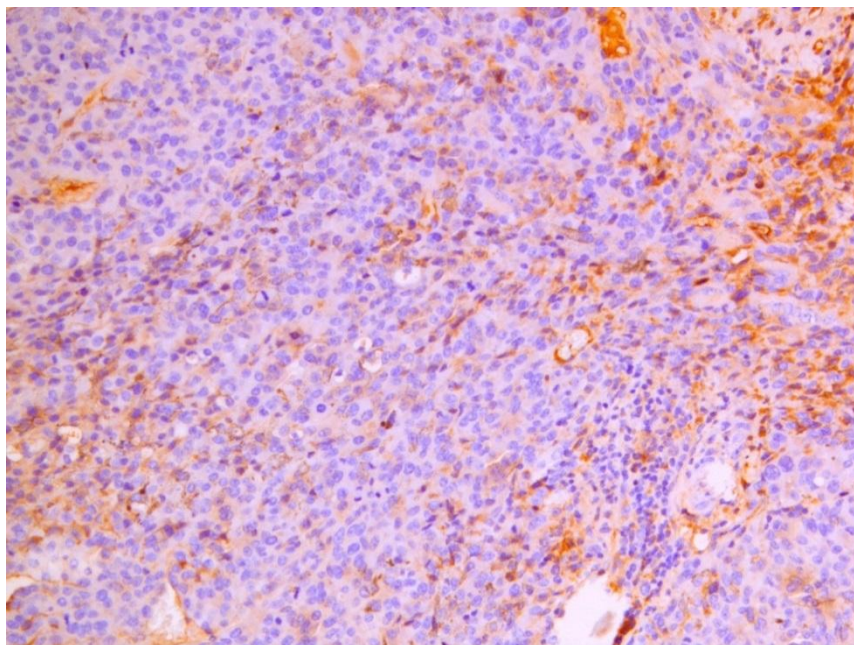


Рисунок 30 – Иммуновизуализация (антитела TGFβ1) в первичном опухолевом узле при введении Me-3 в максимально эффективной суммарной дозе 375 мг/кг. Животные – мыши линии C57Bl/6 (самки), носители меланомы B16. x200.

Me-3 – токсическая доза

Для соединения Me-3 токсический эффект наблюдается на обеих моделях опухолевого роста при введении в суммарной дозе 500 мг/кг.

При морфологическом исследовании печени и первичного опухолевого узла у животных-опухоленосителей при введении токсической дозы Me-3 были выявлены следующие изменения.

Печень

В печени – выраженная диффузная гиалиново-капельная и микровезикулярная гидропическая дистрофия гепатоцитов, некроз отдельных групп гепатоцитов, наличие двухъядерных форм, эктазия центральных вен, в просвете которых регистрируются опухолевые клетки, полнокровие синусоидных капилляров, очаговый перисинусоидальный фиброз, в портальных трактах – скудные лимфоцитарные инфильтраты, пролиферация клеток желчных протоков, развитие фиброзной ткани (рисунок 31).

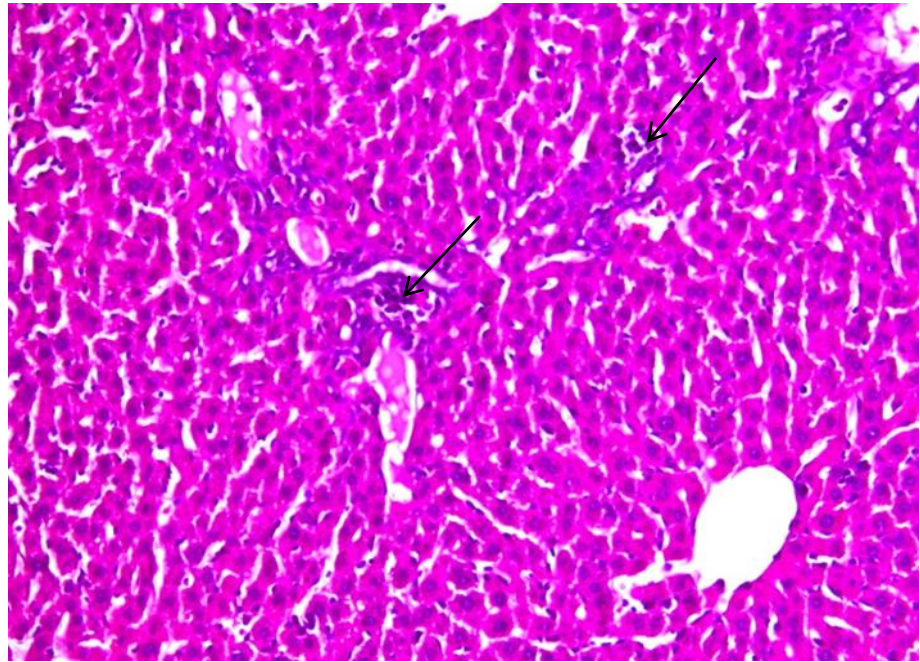


Рисунок 31 – Микроскопическая картина печени при введении Me-3 в токсической суммарной дозе 500 мг/кг. Животные – мыши линии C57Bl/6 (самки), носители меланомы B16. Опухолевые клетки в просвете сосудов (→).

Окраска гематоксилином и эозином, x200

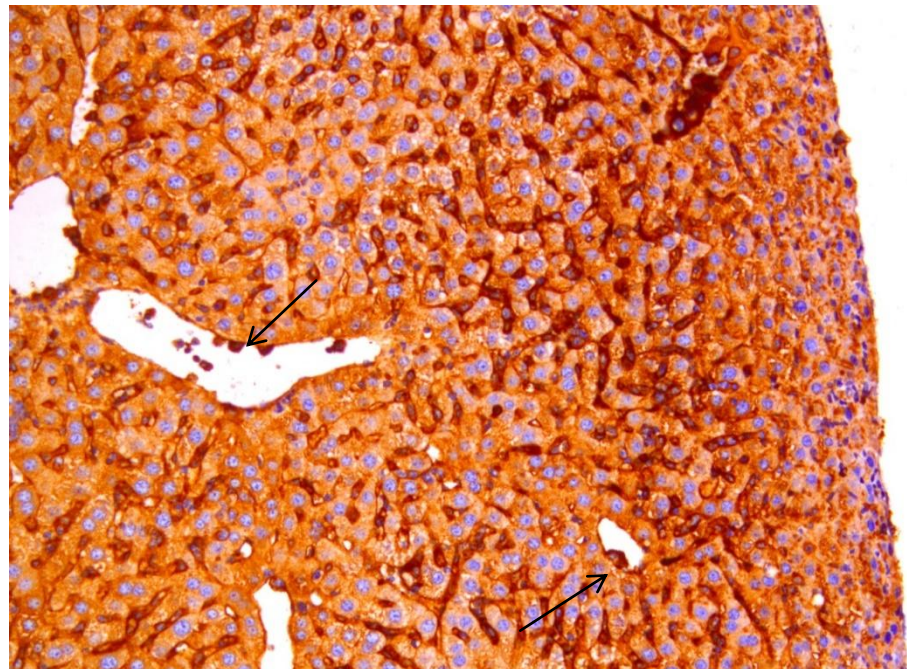


Рисунок 32 – Иммуновизуализация (антитела TGFb1) в печени при введении Me-3 в токсической суммарной дозе 500 мг/кг. Животные – мыши линии C57Bl/6 (самки), носители меланомы B16. Опухолевые клетки в просвете сосудов (→). x200

В гепатоцитах выявлена выраженная диффузная экспрессия TGFb1, и максимальная – в эндотелии сосудов, ядерная экспрессия – в опухолевых клетках (рисунок 32).

Опухоль

В опухолевой ткани выявляются незначительные дегенеративно-дистрофические изменения клеток с локальными некрозами, кровоизлияниями и полнокровием, перифокальным ангиоматозом (рисунок 33).

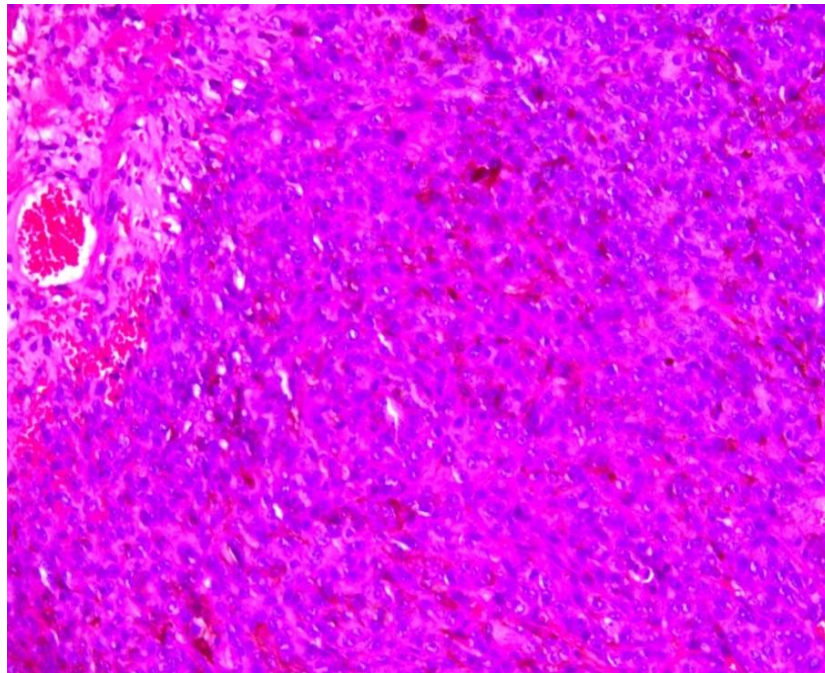


Рисунок 33 – Микроскопическая картина первичного опухолевого узла при введении Me-3 в максимально эффективной суммарной дозе 375 мг/кг. Животные – мыши линии C57Bl/6 (самки), носители меланомы B16. Окраска гематоксилином и эозином, x200

В опухоли регистрируется диффузная максимально выраженная ядерная экспрессия TGFb1 (рисунок 34).

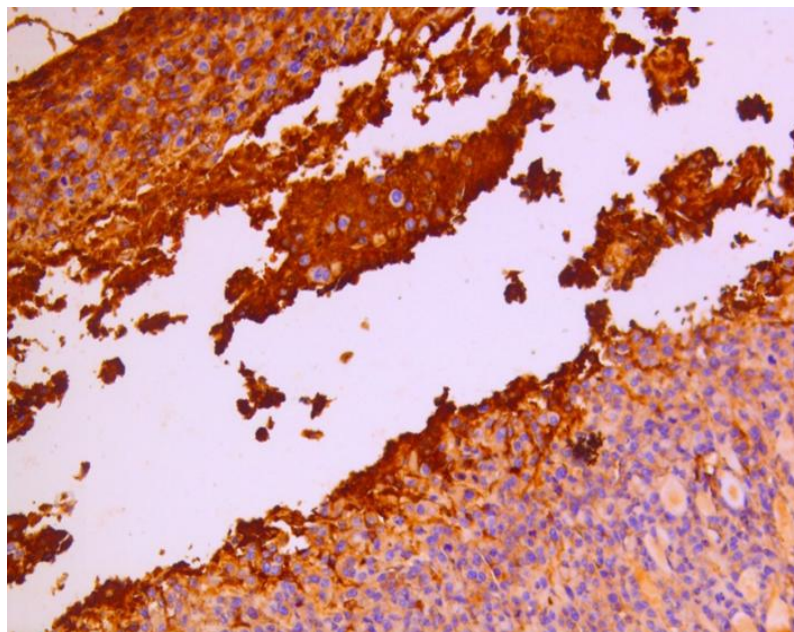


Рисунок 34 – Иммуновизуализация (антитела TGFβ1) в первичном опухолевом узле при введении Me-3 в максимально эффективной суммарной дозе 375 мг/кг. Животные – мыши линии C57Bl/6 (самки), носители меланомы B16.
x200

Me-5 – эффективная доза

При морфологическом исследовании печени и первичного опухолевого узла у животных-опухоленосителей при введении эффективной дозы Me-5 были выявлены следующие изменения.

Печень

Для соединения Me-5 максимально эффективная противоопухолевая и антиметастатическая активность наблюдается на обеих моделях опухолевого роста при введении в суммарной дозе 250 мг/кг.

В печени – выраженная диффузная гиалиново-капельная и жировая мелкокапельная дистрофия гепатоцитов, апоптоз и некробиоз отдельных их групп, с «мумифицированными» опухолевыми клетками в просвете синусоидов, в просвете эктазированных центральных вен – единичные опухолевые клетки, дископлексаия печеночных долек (рисунок 35).

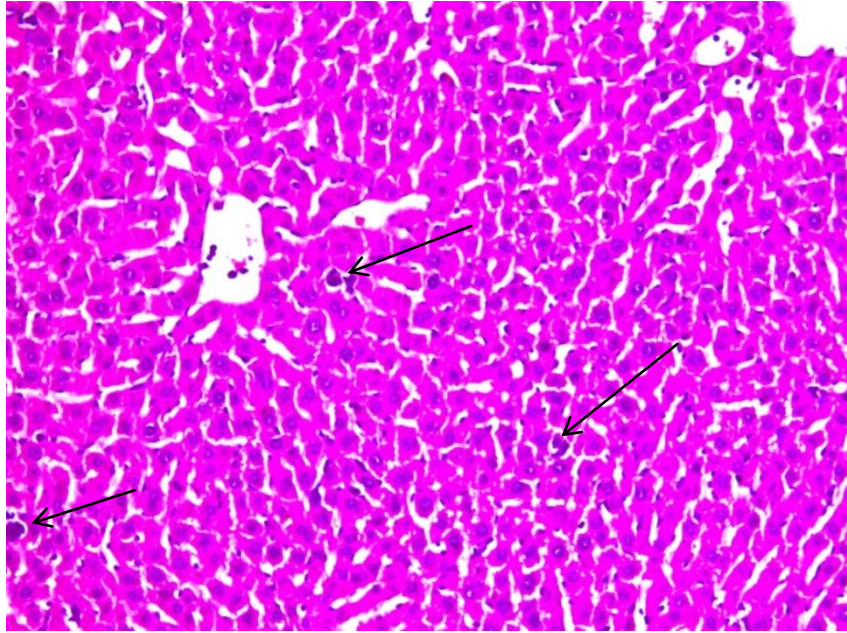


Рисунок 35 – Микроскопическая картина печени при введении Me-5 в максимально эффективной суммарной дозе 250 мг/кг. Животные – мыши линии C57Bl/6 (самки), носители меланомы B16. «Мумифицированные» опухолевые клетки в просвете синусоидов (→). Окраска гематоксилином и эозином, x200

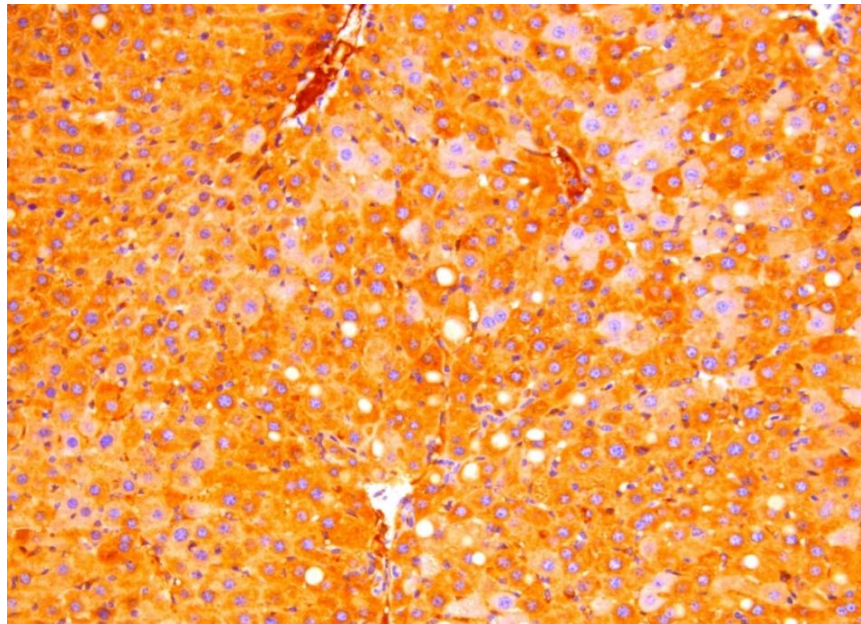


Рисунок 36 – Иммуновизуализация (антитела TGFβ1) в первичном опухолевом узле при введении Me-5 в максимально эффективной суммарной дозе 250 мг/кг. Животные – мыши линии C57Bl/6 (самки), носители меланомы B16, x200

В гепатоцитах и эндотелии синусоидов зарегистрирована выраженная диффузная экспрессия TGFb1, в опухолевых клетках визуализируется ядерная экспрессия (рисунок 36).

Опухоль

В опухолевой ткани определяются резко выраженные дистрофические изменения с субтотальным некрозом, кровоизлияниями и заместительной коллагенизацией стромы (рисунок 37).

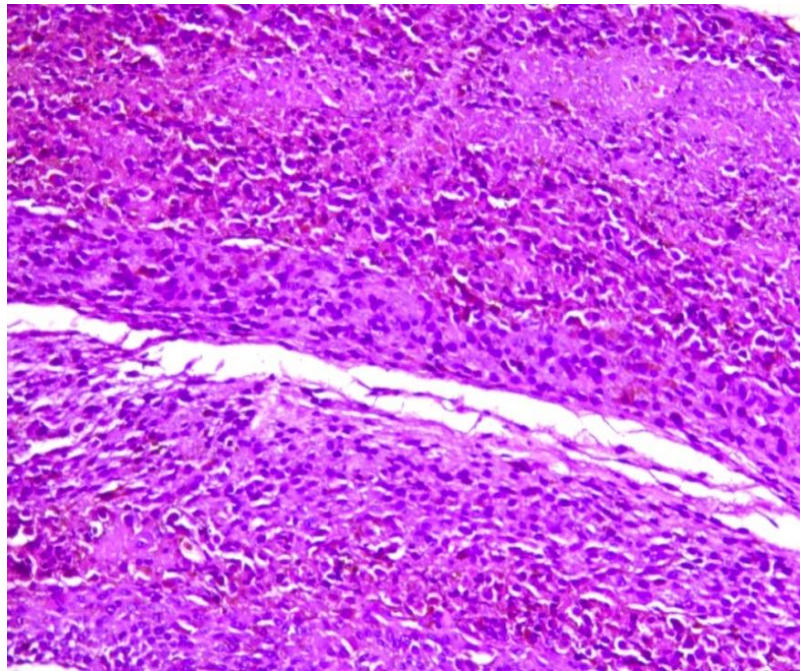


Рисунок 37 – Микроскопическая картина первичного опухолевого узла при введении Me-5 в максимально эффективной суммарной дозе 250 мг/кг. Животные – мыши линии C57Bl/6 (самки), носители меланомы B16. Окраска гематоксилином и эозином, x200

В опухолевых клетках при введении Me-5 регистрируется отсутствие экспрессии, дискретная позитивная реакция в эндотелии сосудов и фибробластах (рисунок 38).

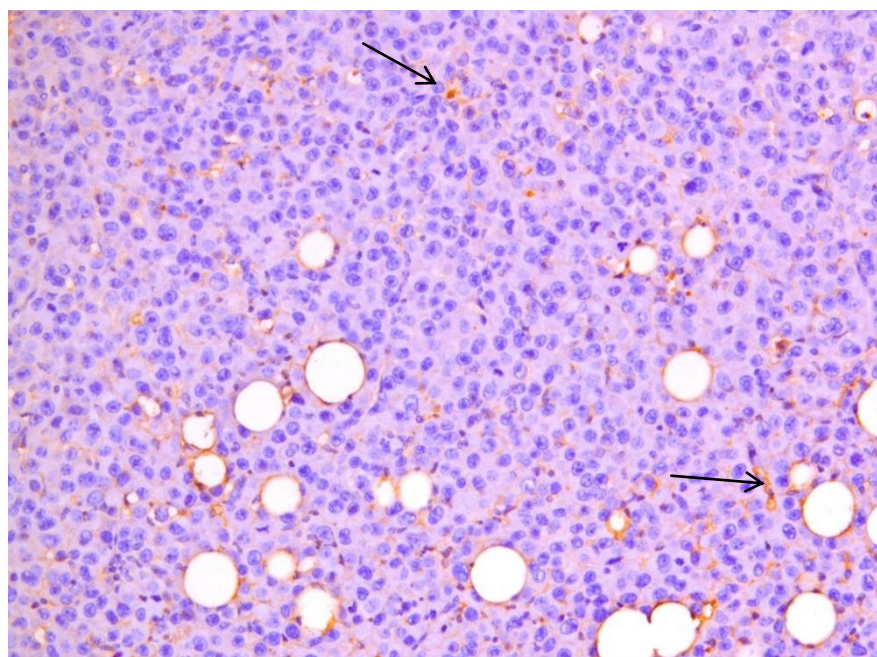


Рисунок 38 – Иммуновизуализация (антитела TGFb1) в первичном опухолевом узле при введении Me-5 в максимально эффективной суммарной дозе 250 мг/кг. Животные – мыши линии C57Bl/6 (самки), носители меланомы B16, слабая дискретная экспрессия в эндотелии сосудов, x200

Me-5 – токсическая доза

При морфологическом исследовании печени и первичного опухолевого узла у животных-опухоленосителей при введении токсической дозы Me-5 были выявлены следующие изменения.

Печень

Для соединения Me-5 токсический эффект наблюдается на обеих моделях опухолевого роста при введении в суммарной дозе 375 мг/кг.

В печени определяются выраженная диффузная гиалиново-капельная дистрофия гепатоцитов, некроз отдельных групп гепатоцитов, наличие двухъядерных форм, эктазия и сближение центральных вен, в просвете – опухолевые клетки с формированием эмболов, перисинусоидальный фиброз, лимфоцитарные инфильтраты в дисконкомплексированных печеночных дольках (рисунок 39).

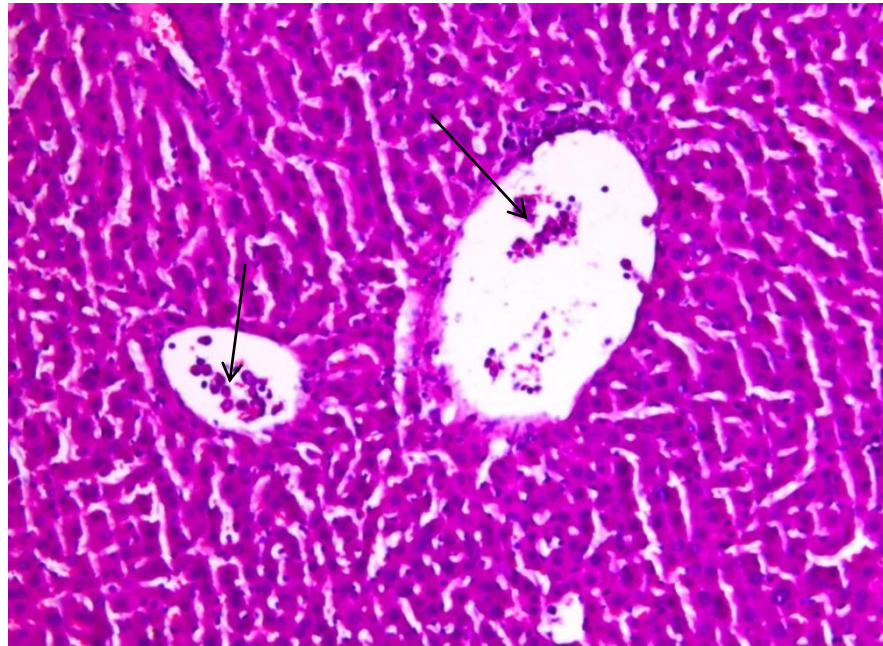


Рисунок 39 – Микроскопическая картина печени при введении Me-5 в токсической суммарной дозе 375 мг/кг. Животные – мыши линии C57Bl/6 (самки), носители меланомы B16. Опухолевые клетки в просвете сосудов (→).
Окраска гематоксилином и эозином, x200

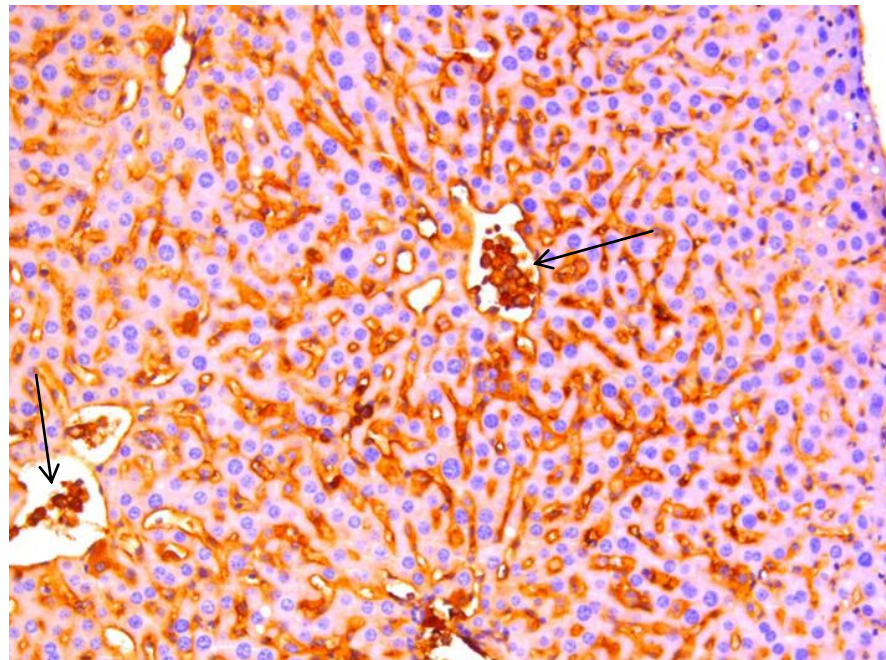


Рисунок 40 – Иммуновизуализация (антитела TGFβ1) при введении Me-5 в токсической суммарной дозе 375 мг/кг. Животные – мыши линии C57Bl/6 (самки), носители меланомы B16. Опухолевые эмболы в просвете сосудов (→).

x200

В гепатоцитах, эндотелии синусоидов определяется умеренная дискретная экспрессия TGF β 1 и высокая – в эндотелии более крупных сосудов, в опухолевых клетках – ядерная экспрессия (рисунок 40).

Опухоль

В опухолевой ткани регистрируются резко выраженные дегенеративно-дистрофические изменения, дисконфлексация опухолевых клеток, субтотальный некроз паренхимы (рисунок 41).

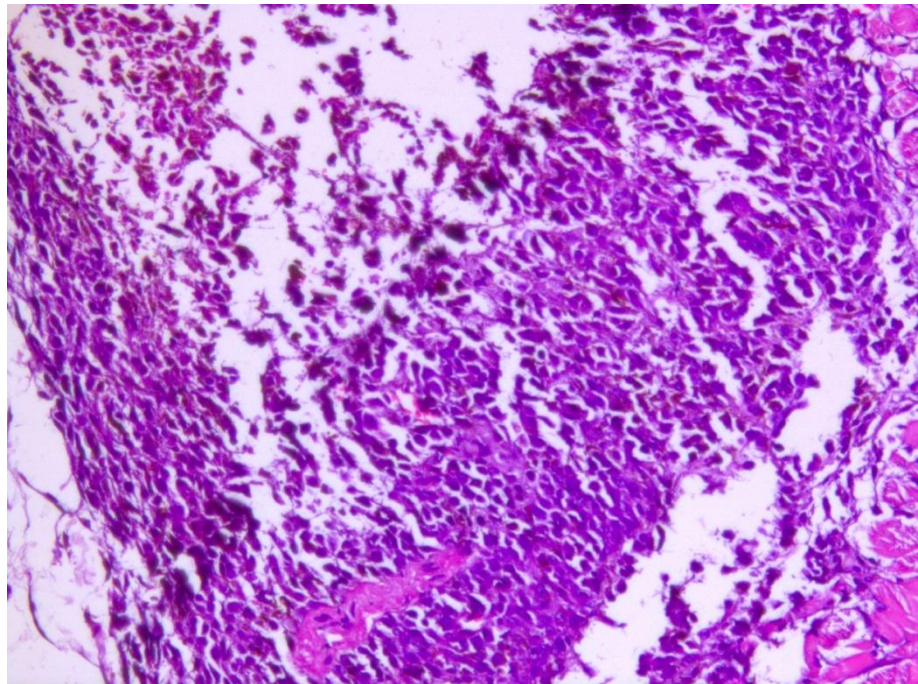


Рисунок 41 – Микроскопическая картина первичного опухолевого узла при введении Me-5 в токсической суммарной дозе 375 мг/кг. Животные – мыши линии C57Bl/6 (самки), носители меланомы B16. Окраска гематоксилином и эозином, x200

В опухолевых клетках определяются дискретная позитивная экспрессия TGF β 1, максимальная реакция в эндотелии капилляров опухоли и зонах ее распада (рисунок 42).

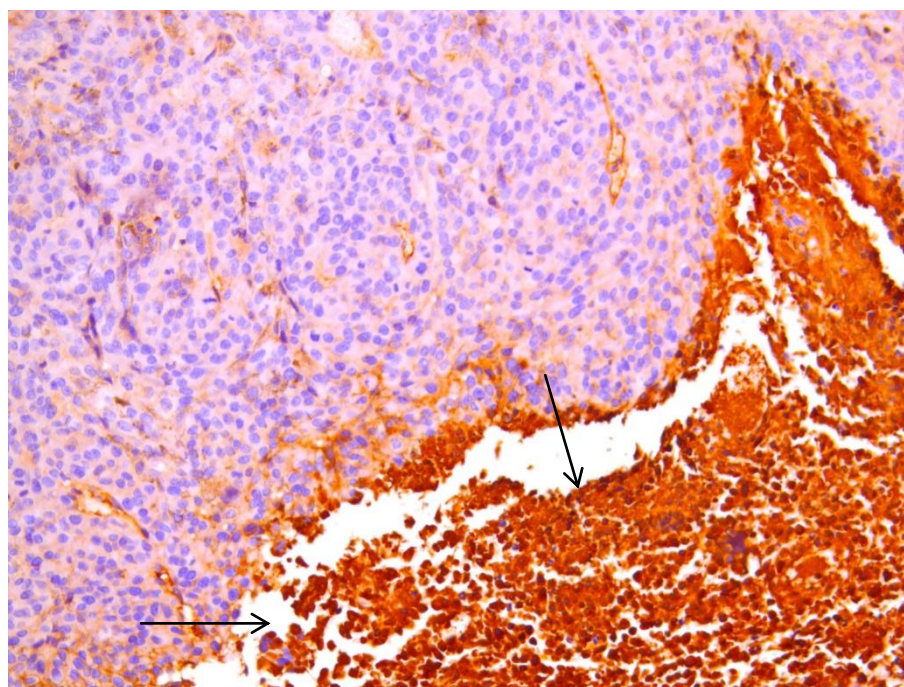


Рисунок 42 – Иммуновизуализация (антитела TGFβ1) в первичном опухолевом узле при введении Me-5 в токсической суммарной дозе 375 мг/кг. Животные – мыши линии C57Bl/6 (самки), носители меланомы B16, гиперэкспрессия маркера в зоне некроза опухоли (→), x200

4.2. Скрининговое изучение противоопухолевого и антиметастатического действия гибридных оловоорганических соединений на модели эпидермоидной карциномы легких Lewis (LLC) мышей C57Bl/6 (самки)

Для тестируемых субстанций испытание проводили по схеме, применяемой для первичного исследования в широком диапазоне доз: разовая доза составила от 30 до 100мг/кг, суммарная доза – от 150 до 500 мг/кг.

Исследование включало два этапа: предварительный и основной.

Предварительный этап исследования

На первом этапе эксперимента наблюдения за животными проводили до момента их естественной гибели (таблица 39).

Таблица 39 – Распределение испытуемых животных по группам на первом этапе эксперимента

Вводимые соединения и дозы	Группы животных (мышь-самки линии С57В1/6)
Ме-3 в РД 30 мг/кг (СД 150 мг/кг)	1
Ме-3 в РД 50 мг/кг (СД 250 мг/кг)	2
Ме-3 в РД 75 мг/кг (СД 375 мг/кг)	3
Ме-3 в РД 100 мг/кг (СД 500 мг/кг)	4
Ме-5 в РД 30 мг/кг (СД 150 мг/кг)	5
Ме-5 в РД 50 мг/кг (СД 250 мг/кг)	6
Ме-5 в РД 75 мг/кг (СД 375 мг/кг)	7
Ме-5 в РД 100 мг/кг (СД 500 мг/кг)	8
АК-26 в РД 5 мг/кг (СД 25 мг/кг)	9
АК-26 в РД 10 мг/кг (СД 50 мг/кг)	10
АК-26 в РД 15 мг/кг (СД 75 мг/кг)	11
АК-26 в РД 20 мг/кг (СД 100 мг/кг)	12
Контрольная группа	13

Влияние Ме-3 и Ме-5 на среднюю продолжительность жизни животных приведено на рисунке 43. Введение Ме-3 и Ме-5 в суммарной дозе 150 мг/кг достоверно не изменяло среднюю величину продолжительности жизни. При увеличении дозы степень изменения данного показателя была различной. Максимально эффективными оказались дозы: для Ме-3 – 375 мг/кг, для Ме-5 – 250 мг/кг. Наиболее высокий прирост отмечался для соединения Ме-5 в дозе 250 мг/кг (29,5%). При дальнейшем увеличении вводимой дозы наблюдался обратный эффект: снижение показателя средних значений времени жизни, более значимое для соединения Ме-5 в дозе 375 мг/кг и 500 мг/кг составило 16,75% и 24,9% соответственно. Первая мышь в контрольной группе пала на 21-е сутки после

перевивки опухолевого материала, именно этот срок и взят нами как день для эвтаназии животных на втором (основном) этапе эксперимента (рисунок 43).

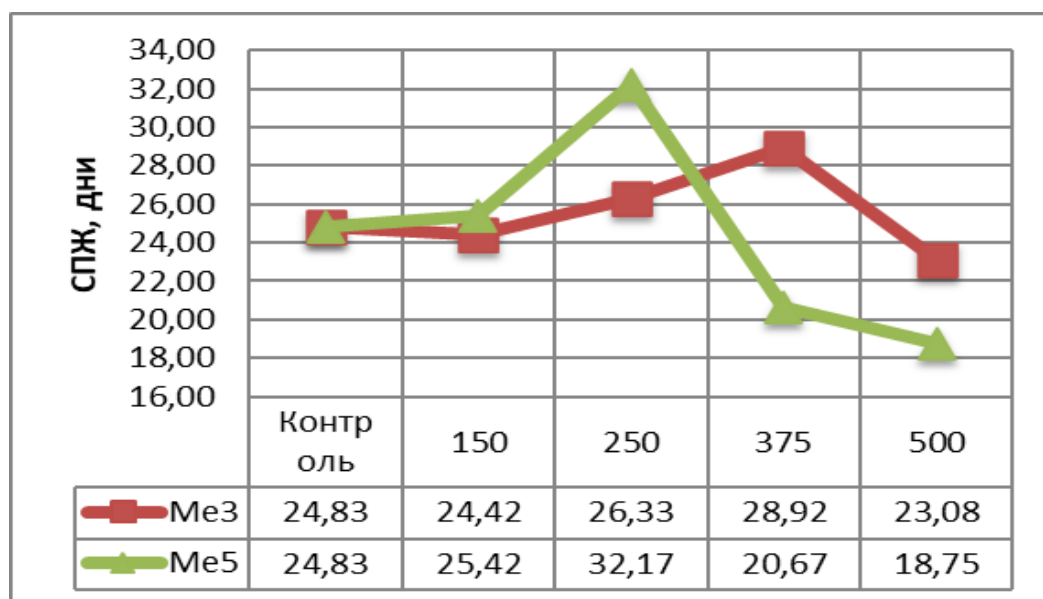


Рисунок 43 – Влияние Me-3 и Me-5 на среднюю продолжительность жизни животных-опухоленосителей эпидермоидной карциномы Lewis (мыши-самки линии C57Bl/6)

Для соединения АК-26 при введении СД 25 мг/кг, 50 мг/кг не выявлены достоверные отличия продолжительности жизни животных по сравнению с контрольной группой.

Введение СД 75 мг/кг и 100 мг/кг привело к токсическому эффекту: снижение СПЖ составило 16% и 26% соответственно.

Принимая во внимание результаты предварительного этапа изучения фармакологической активности на модели эпидермоидной карциномы Lewis, соединение АК-26 было исключено из последующих исследований на основном этапе. Для соединений Me-3 и Me-5 как максимально эффективные были охарактеризованы СД 375 мг/кг и 250 мг/кг. Дальнейшее увеличение вводимой дозы тестируемых соединений привело к токсическому действию на организм животных-опухоленосителей, которое заключалось в существенном снижении СПЖ и диссеминации метастазирования.

Основной этап исследования

Формирование экспериментальных групп на I этапе отражено в таблице 40.

Таблица 40 – Распределение испытуемых животных по группам на основном этапе эксперимента на модели эпидермоидной карциномы Lewis.

Вводимые соединения и дозы	Группы животных (мыши-самки линии C57Bl/6)
Ме-3 в РД 75 мг/кг (СД 375 мг/кг)	1а
Ме-3 в РД 100 мг/кг (СД 500 мг/кг)	2а
Ме-5 в РД 50 мг/кг (СД 250 мг/кг)	3а
Ме-5 в РД 75 мг/кг (СД 375 мг/кг)	4а
Контрольная группа	5а

Примечание: РД – разовая доза, СД – суммарная доза.

На втором этапе эксперимента было оценено влияние тестируемых соединений как на первичный очаг эпидермоидной карциномы Lewis (рисунок 44, таблица 41), так и на активность метастазирования в легкие (рисунок 45, таблицы 41, 42).

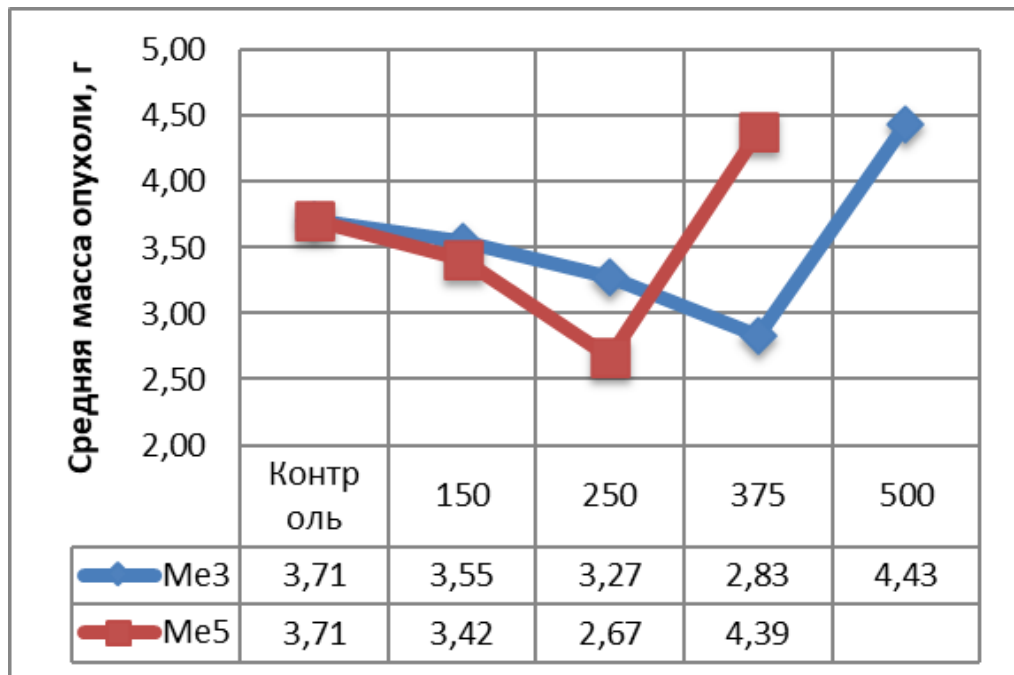


Рисунок 44 – Влияние Me-3 и Me-5 на среднюю массу опухоли (мышь-самки линии C57Bl/6)

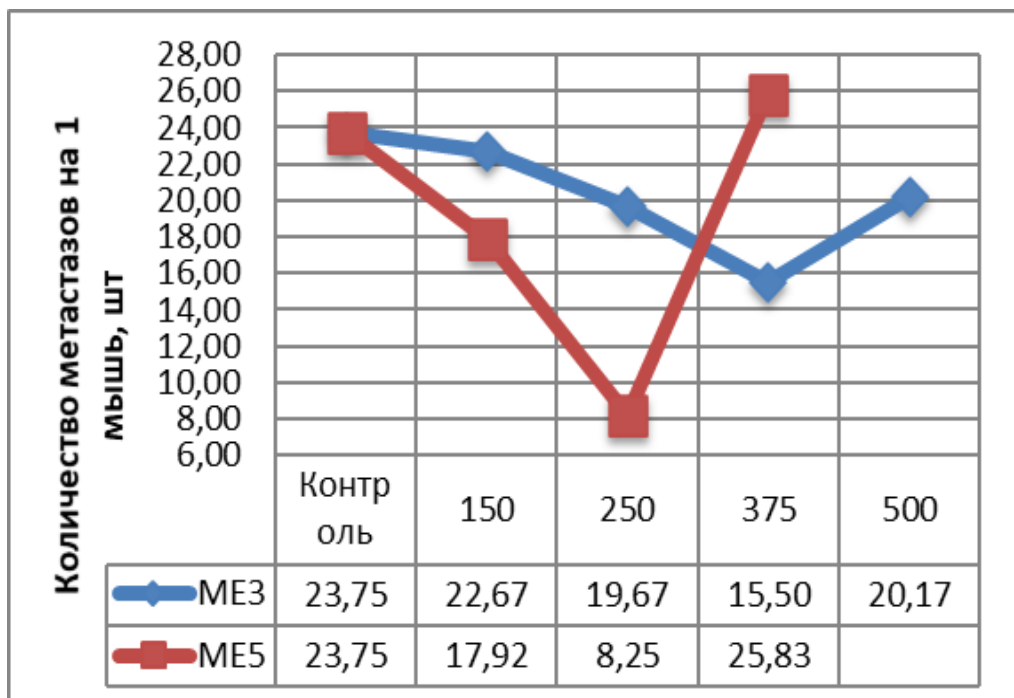


Рисунок 45 – Влияние Me-3 и Me-5 на среднее количество метастазов на 1 мышь у носителей эпидермоидной карциномы Lewis (мышь-самки линии C57Bl/6).

Таблица 41 – Показатели эффективности противоопухолевой и антиметастатической терапии на 21-е сутки после перевивки опухолевого материала при введении Ме-3 и Ме-5 (мышы-самки линии С57В1/6)

Показатели Группы	ТРО, %	ЧМ, %	ИИМ, %
1а (Ме-3 375мг/кг)	23,72 $p \leq 0,05$	100	34,7 $p \leq 0,05$
2а (Ме-3 500мг/кг)	-19,4 $p \leq 0,05$	100	23,4 $p \leq 0,05$
3а (Ме-5 250мг/кг)	28 $p \leq 0,05$	100	68 $p \leq 0,05$
4а (Ме-5 375мг/кг)	-18,2 $p \leq 0,05$	100	-8,6 $p \leq 0,05$
5а (контроль)	–	100	–

Таблица 42 – Оценка влияния Ме-3 и Ме-5 на тяжесть метастатического поражения по методике D. Tarin и J.E. Price

Группа	Степень поражения легких метастазами (%)				
	LCP			HCP	
	1	2	3	4	5
1а (Ме-3 375мг/кг)	36	64	0	0	0
2а (Ме-3 500мг/кг)	0	100	0	0	0
3а (Ме-5 250мг/кг)	58	42	0	0	0
4а (Ме-5 375мг/кг)	0	59	41	0	0
5а (контроль)	0	75	25	0	0

Примечание: LCP - low colonisation potential, HCP - high colonisation potential

У всех животных серии наблюдались метастазы в легкие, частота метастазирования 100%.

Субстанция Me-3 в дозе 150 мг/кг существенно не влияла на опухолевый рост и развитие метастатического поражения, поэтому доза охарактеризована нами как неэффективная. Me-5 в той же дозе показал себя как более эффективный противометастатический агент: количество вторичных очагов уменьшилось на 24,6% в рамках второй степени поражения легких, по классификации D. Tarin и J.E. Price, и наметилась тенденция к снижению первичного узла.

Для субстанции Me-3 СД 250мг/кг является максимально эффективной по влиянию на опухолевый процесс: ТРОм (%) и ИИМ (%) – 23,72% и 34,7% соответственно. Для субстанции Me-5, при незначительном увеличении эффективности в отношении первичного очага, ИИМ увеличилась в 1,9 раза.

Введение Me-3 и Me-5 в СД 500 мг/кг и 375 мг/кг соответственно привело к активации опухолевого процесса на всех этапах его развития: раннему и более выраженному метастазированию, а также диссеминации в нетипичные для эпидермоидной карциномы Lewis места и, как следствие, ранней гибели животных (уменьшение средней продолжительности жизни ниже контрольных значений). Особенностью течения злокачественного новообразования отличались животные 2а группы: несмотря на антиметастатический эффект (23,4%), отмечена стимуляция роста первичного очага на 19,4%. Именно с размером солидной опухоли, на наш взгляд, связано достоверное снижение продолжительности жизни животных в этой группе. В группе 4а (Me-5) при вскрытии животных отмечалось более агрессивное развитие (двухфокусный рост) опухолевого процесса с активацией роста солидной опухоли и диссеминацией опухолевых узлов в нетипичные зоны: печень, почки, матку, перикард и т.д.

В связи с особенностями экспериментальной опухолевой модели (большое количество метастатических очагов, доступных для макроскопической визуализации) целесообразно было произвести оценку интенсивности метастазирования в легкие по методике D. Tarin и J.E. Price.

Для выявления особенностей влияния Me-3 и Me-5 на первичный опухолевый узел эпидермоидной карциномы Lewis и нетипичный очаг метастазирования (печень) было выполнено морфологическое и иммуногистохимическое исследование.

Me-3 – эффективная доза

При морфологическом исследовании печени и первичного опухолевого узла у животных-опухоленосителей при введении максимально эффективной дозы Me-3 были выявлены следующие изменения.

Печень

В печени – диффузная микровезикулярная жировая дистрофия гепатоцитов, апоптоз и некробиоз отдельных групп с отеком, синусоиды очагово расширены (рисунок 46).

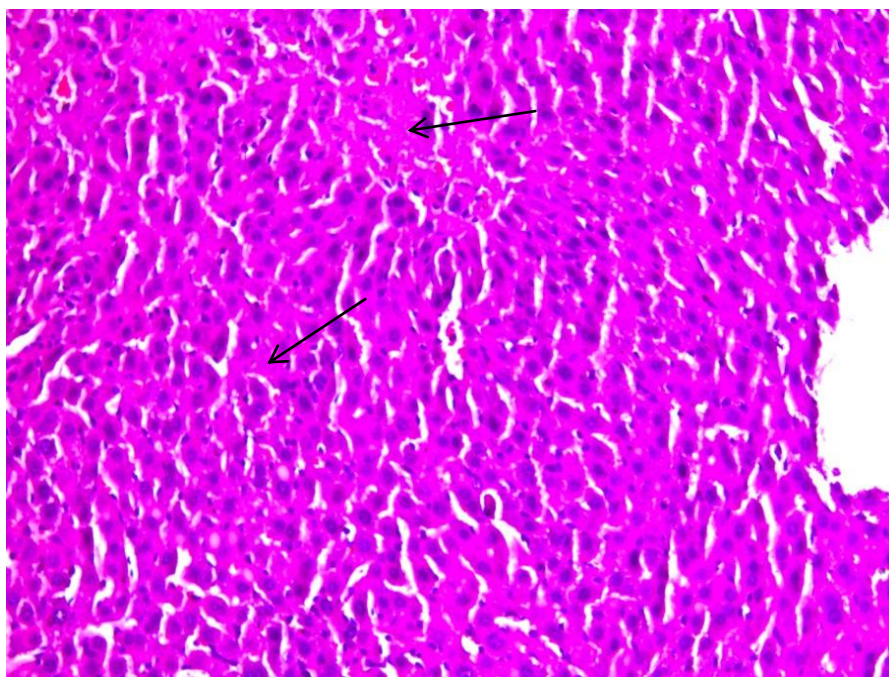


Рисунок 46 – Микроскопическая картина печени при введении Me-3 в максимально эффективной суммарной дозе 375 мг/кг. Животные – мыши линии C57Bl/6 (самки), носители эпидермоидной карциномы Lewis. Локальные некрозы гепатоцитов (→). Окраска гематоксилином и эозином, x200

В гепатоцитах, эндотелии синусоидов отмечена умеренная диффузная экспрессия TGFb1 и высокая – в эндотелии более крупных сосудов (рисунок 47).

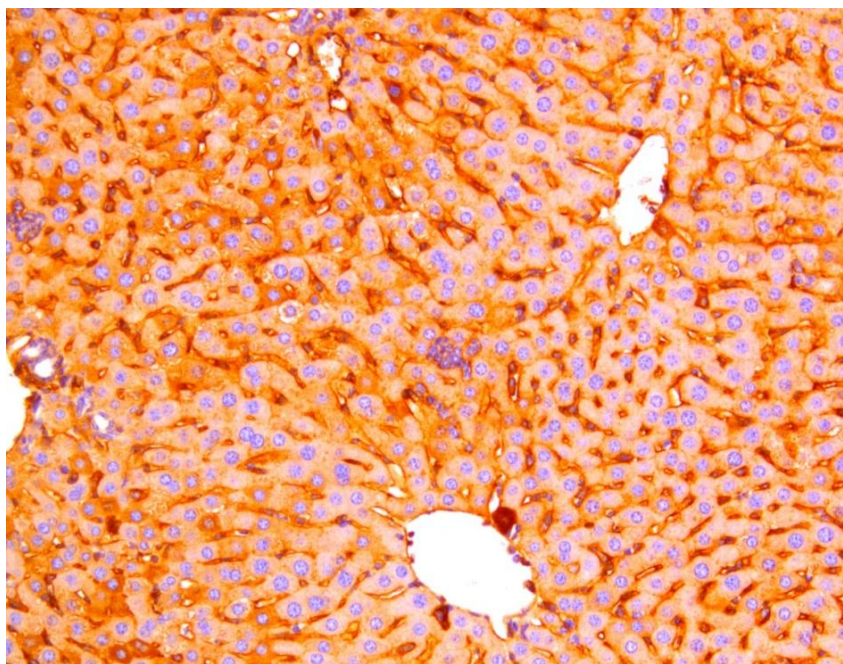


Рисунок 47 – Иммуновизуализация антитела (TGFb1) в печени при введении Me-3 в максимально эффективной суммарной дозе 375 мг/кг. Животные – мыши линии C57Bl/6 (самки), носители эпидермоидной карциномы Lewis, x200

Опухоль

Регистрируются выраженные дистрофические изменения опухоли с локальными некрозами, кариопикнозом и кариолизисом, признаками «мумификации» опухолевых клеток, макровезикулярной жировой дистрофией (рисунок 48).

В опухолевых клетках при введении Me-3 зарегистрирована слабо выраженная дискретная экспрессия TGFb1, максимальная в «мумифицированных» клетках (рисунок 49).

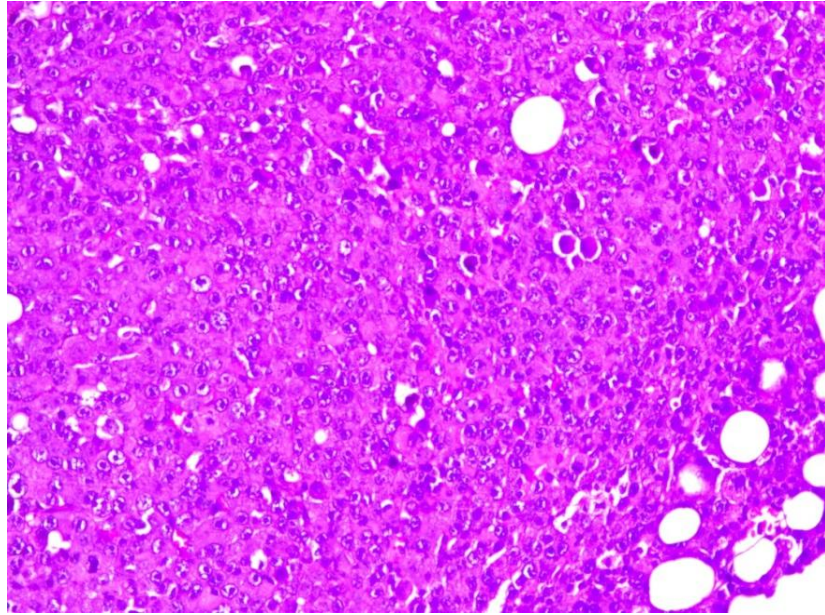


Рисунок 48 – Микроскопическая картина первичного опухолевого узла при введении Me-3 в максимально эффективной суммарной дозе 375 мг/кг. Животные – мыши линии C57Bl/6 (самки), носители эпидермоидной карциномы Lewis.

Окраска гематоксилином и эозином, x200

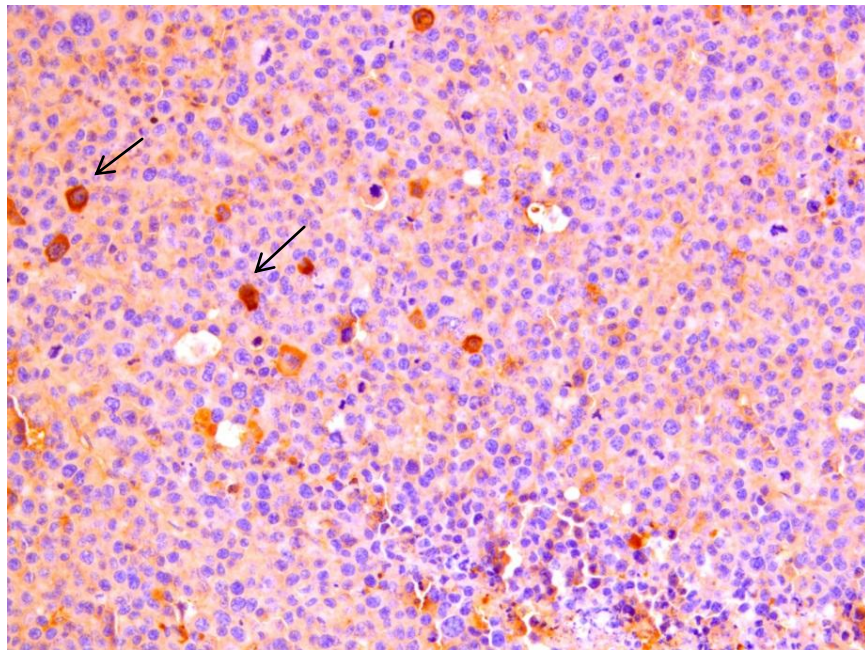


Рисунок 49 – Иммуновизуализация (антитела TGFβ1) в первичном опухолевом узле при введении Me-3 в максимально эффективной суммарной дозе 375 мг/кг. Животные – мыши линии C57Bl/6 (самки), носители эпидермоидной карциномы Lewis, выраженная экспрессия в «мумифицированных» клетках (→),

x200

Me-3 – токсическая доза

При морфологическом исследовании печени и первичного опухолевого узла у животных-опухоленосителей при введении токсической дозы Me-3 были выявлены следующие изменения.

Печень

В печени определяются диффузная микровезикулярная жировая дистрофия гепатоцитов, апоптоз и некробиоз отдельных групп гепатоцитов с перисинусоидальным отеком и очаговым фиброзом, дисконфлексация печеночных балок, с субкапсулярными некрозами без реактивной воспалительной реакции, наличием единичных микрометастазов в паренхиме (рисунок 50).

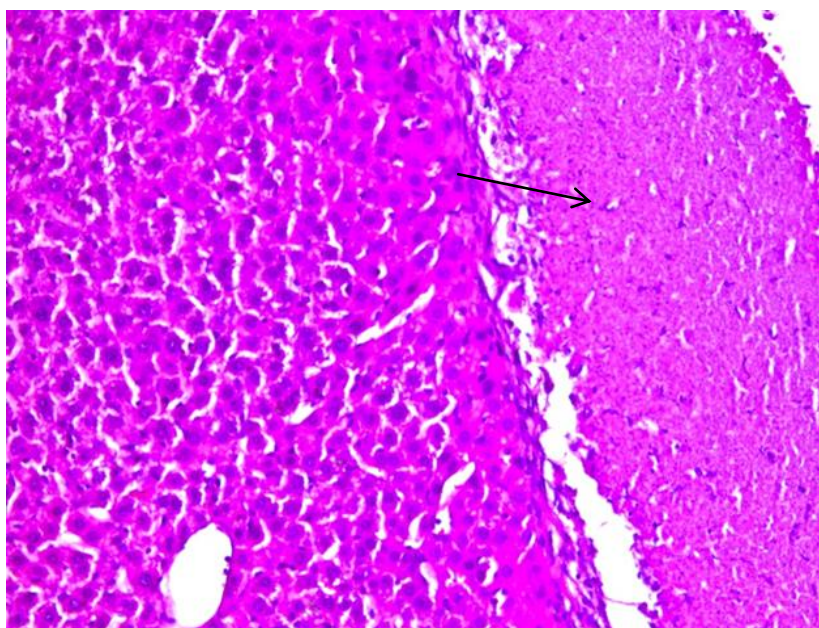


Рисунок 50 – Микроскопическая картина печени при введении Me-3 в токсической суммарной дозе 500 мг/кг. Животные – мыши линии C57Bl/6 (самки), носители эпидермоидной карциномы Lewis. Субкапсулярные некрозы (→). Окраска гематоксилином и эозином, x200

В гепатоцитах, эндотелии синусоидов, опухолевых клетках выявлена максимальная диффузная экспрессия TGFb1 (рисунок 51).

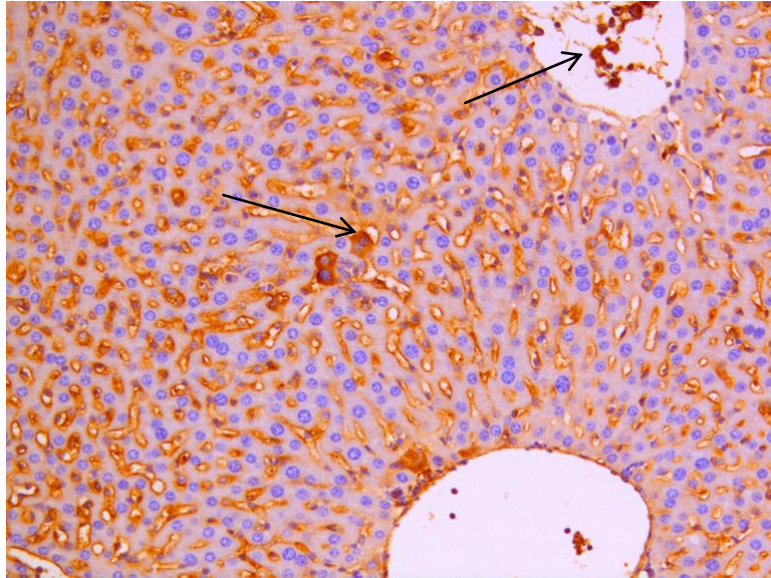


Рисунок 51 – Иммуновизуализация (антитела TGFβ1) в печени при введении Me-3 в токсической суммарной дозе 500 мг/кг. Животные – мыши линии C57Bl/6 (самки), носители эпидермоидной карциномы Lewis, выраженная экспрессия маркера в опухолевых клетках (→), x200

Опухоль

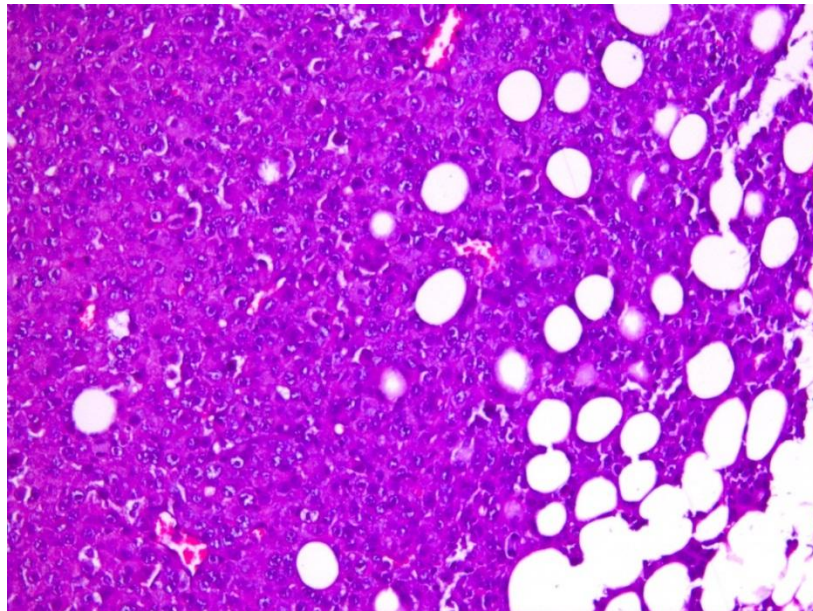


Рисунок 52 – Микроскопическая картина первичного опухолевого узла при введении Me-3 в токсической суммарной дозе 500 мг/кг. Животные – мыши линии C57Bl/6 (самки), носители эпидермоидной карциномы Lewis. Окраска гематоксилином и эозином, x200

Регистрируются выраженные дистрофические изменения опухоли с локальными некрозами и субтотальной макровезикулярной жировой дистрофией, «мумификацией» опухолевых клеток, фокусами вакуольной дегенерации (рисунок 52).

В опухолевых клетках – выраженная диффузная экспрессия TGF β 1, максимальная в «мумифицированных» клетках (рисунок 53).

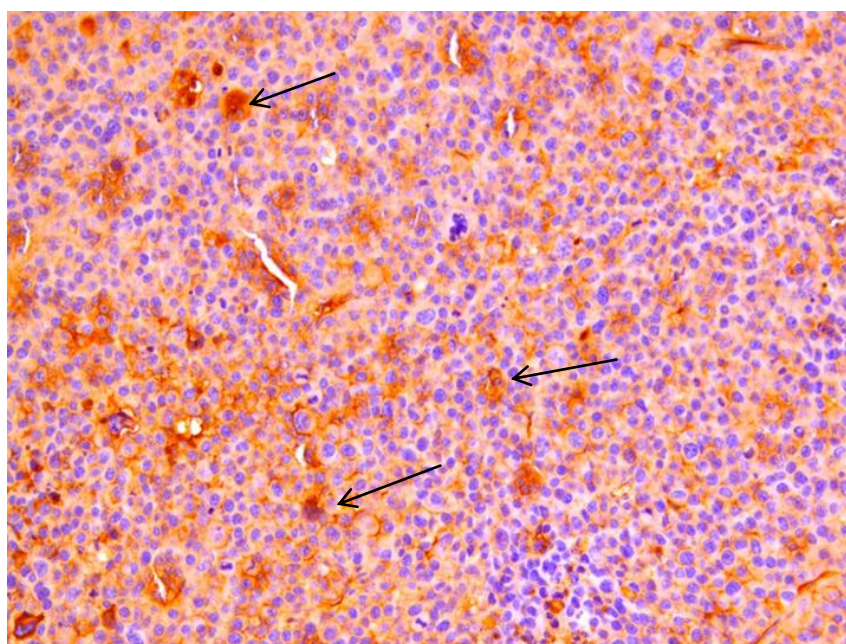


Рисунок 53 – Иммуновизуализация (антитела TGF β 1) в первичном опухолевом узле при введении Me-3 в токсической суммарной дозе 500 мг/кг. Животные – мыши линии C57Bl/6 (самки), носители эпидермоидной карциномы Lewis, выраженная экспрессия маркера в структурах опухоли (→), x200

Me-5 – эффективная доза

При морфологическом исследовании печени и первичного опухолевого узла у животных-опухоленосителей при введении максимально эффективной дозы Me-5 были зафиксированы следующие изменения.

Печень

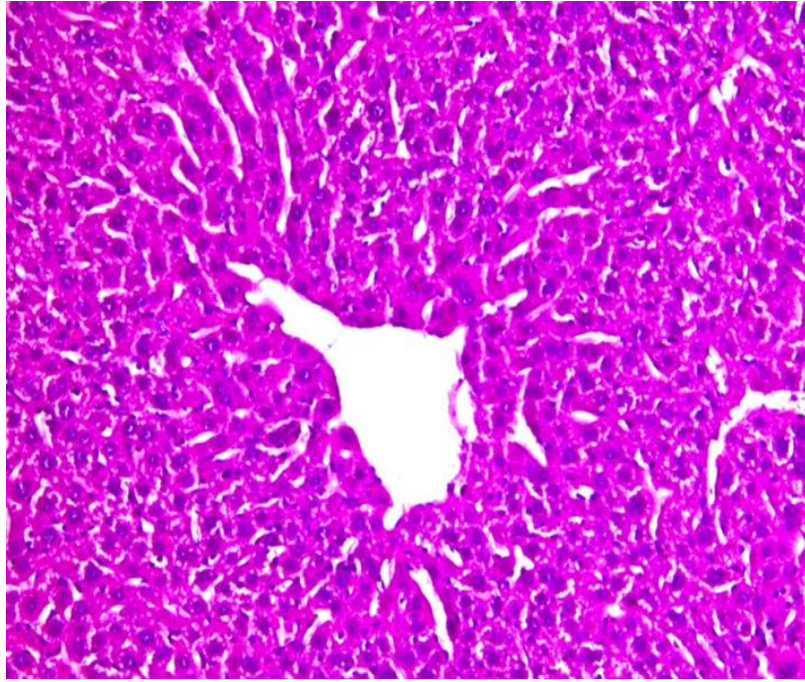


Рисунок 54 – Микроскопическая картина печени при введении Me-5 в максимально эффективной дозе 250 мг/кг. Животные – мыши линии C57Bl/6 (самки), носители эпидермоидной карциномы Lewis. Окраска гематоксилином и эозином, x200

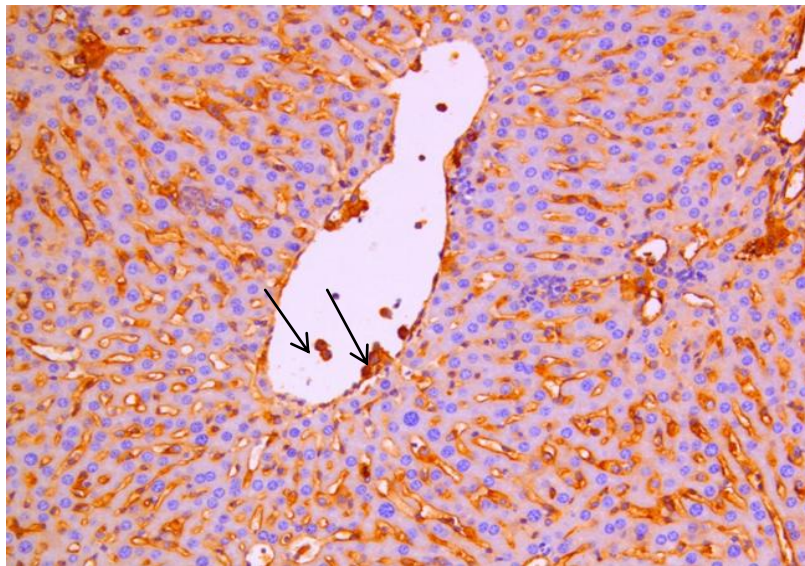


Рисунок 55 – Иммуновизуализация (антитела TGFβ1) в печени при введении Me-5 в максимально эффективной суммарной дозе 250 мг/кг. Животные – мыши линии C57Bl/6 (самки), носители эпидермоидной карциномы Lewis, выраженная экспрессия в опухолевых клетках (→), x200

В печени выявлены диффузная гиалиново-капельная и мелкокапельная жировая дистрофия гепатоцитов, апоптоз и некробиоз отдельных групп гепатоцитов, дисконплексація печеночных балок, резкая эктазия центральных вен и прилегающих синусоидов, в просвете отдельных капилляров – опухолевые клетки (рисунок 54).

В гепатоцитах, эндотелии синусоидов зафиксирована умеренная дискретная экспрессия TGFb1 и высокая – в эндотелии крупных сосудов, в опухолевых клетках – выраженная ядерная экспрессия (рисунок 55).

Опухоль

В опухолевой ткани отмечаются выраженные дистрофические изменения с фокальными некрозами, обилием «мумифицированных» клеток, отеком (рисунок 56).

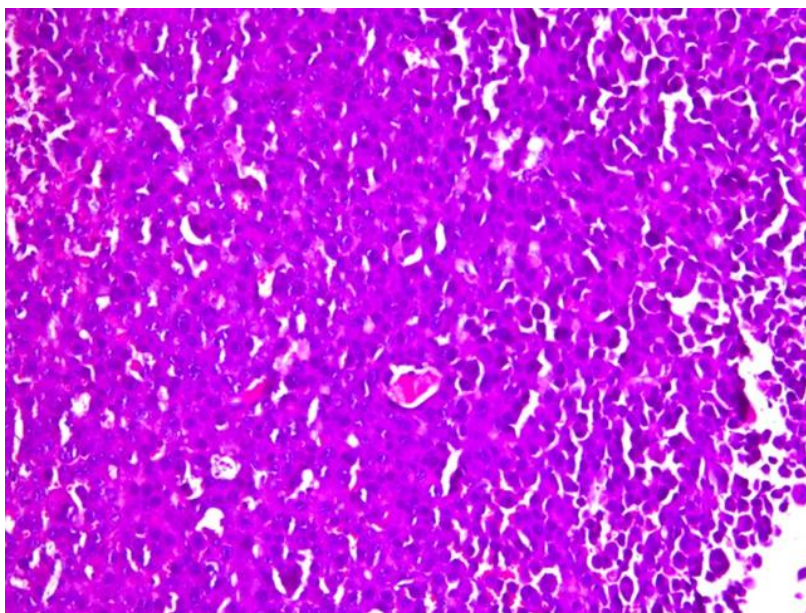


Рисунок 56 – Микроскопическая картина первичного опухолевого узла при введении Me-5 в максимально эффективной суммарной дозе 250 мг/кг. Животные – мыши линии C57Bl/6 (самки), носители эпидермоидной карциномы Lewis.

Окраска гематоксилином и эозином, x200

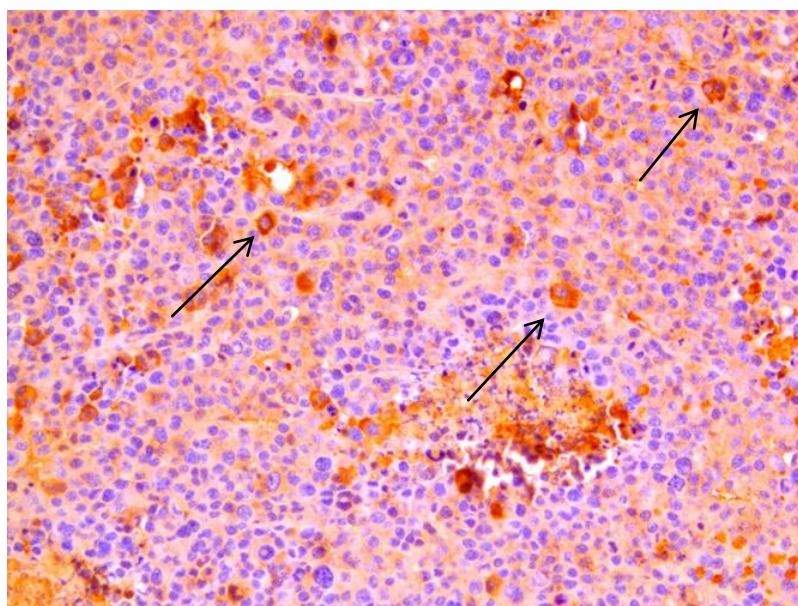


Рисунок 57 – Иммуновизуализация (антитела TGFb1) в первичном опухолевом узле при введении Me-5 в максимально эффективной суммарной дозе 250 мг/кг. Животные – мыши линии C57Bl/6 (самки), носители эпидермоидной карциномы Lewis, выраженная экспрессия в опухолевых клетках (→), x200

В опухолевых клетках зарегистрирована слабо выраженная дискретная экспрессия TGFb1, наиболее выраженная в «мумифицированных клетках» образования (рисунок 57).

Me-5 – токсическая доза

При морфологическом исследовании печени и первичного опухолевого узла у животных-опухоленосителей при введении токсической дозы Me-5 были зафиксированы следующие изменения.

Печень

При микроскопическом исследовании печени выявлены диффузная гиалиново-капельная и мелкокапельная жировая дистрофия гепатоцитов (рисунок 58).

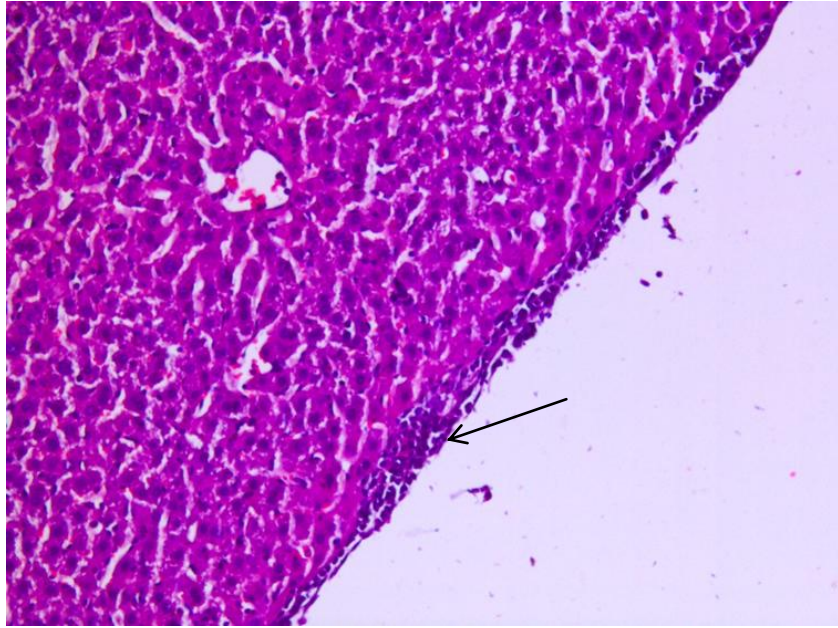


Рисунок 58 – Микроскопическая картина печени при введении Me-5 в токсической суммарной дозе 375 мг/кг. Животные – мыши линии C57Bl/6 (самки), носители эпидермоидной карциномы Lewis. Окраска гематоксилином и эозином, реактивная воспалительная инфильтрация вокруг опухолевых клеток (→), x200

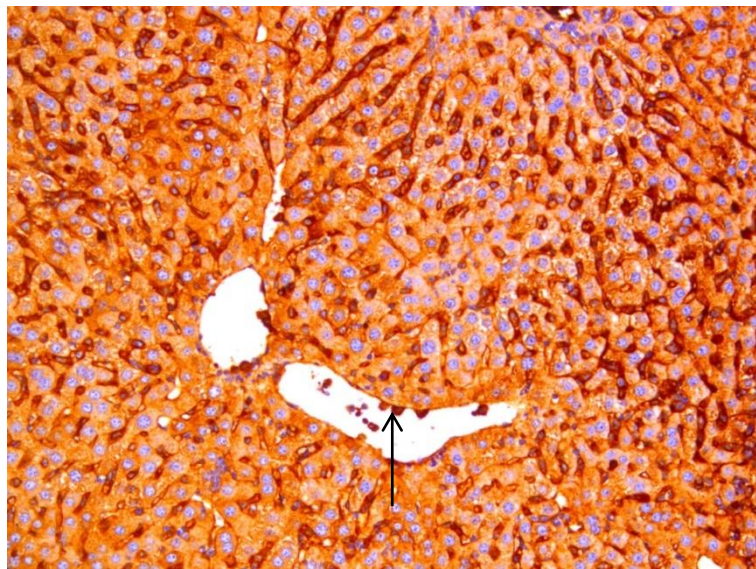


Рисунок 59 – Иммуновизуализация (антитела TGFb1) в печени при введении Me-5 в токсической суммарной дозе 375 мг/кг. Животные – мыши линии C57Bl/6 (самки), носители эпидермоидной карциномы Lewis, выраженная экспрессия в опухолевых клетках (→), x200

Также отмечены апоптоз, некробиоз и некроз обширных групп гепатоцитов, синусоиды очагово раширены, микрометастазы в паренхиме печени и субкапсулярно – с наличием реактивной умеренно выраженной воспалительной инфильтрации (рисунок 58).

В гепатоцитах, эндотелии синусоидов отмечена диффузная экспрессия TGF β 1, и максимальная – в эндотелии крупных сосудов, в опухолевых клетках – ядерная экспрессия (рисунок 59).

Опухоль

Отмечается выраженная дегенерация опухолевой массы с субтотальными некрозами, единичными «мумифицированными» опухолевыми клетками, гидропической дистрофией и перифокальной воспалительной реакцией (рисунок 60).

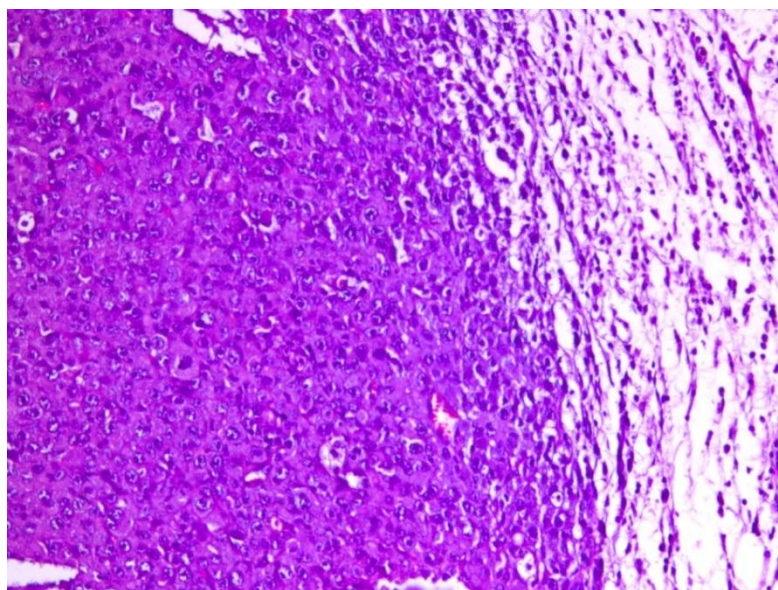


Рисунок 60 – Микроскопическая картина первичного опухолевого узла при введении Me-5 в токсической суммарной дозе 375 мг/кг. Животные – мыши линии C57Bl/6 (самки), носители эпидермоидной карциномы Lewis. Окраска гематоксилином и эозином, x200

В опухоли выявлена диффузная максимально резко выраженная ядерная экспрессия TGF β 1 (рисунок 61).

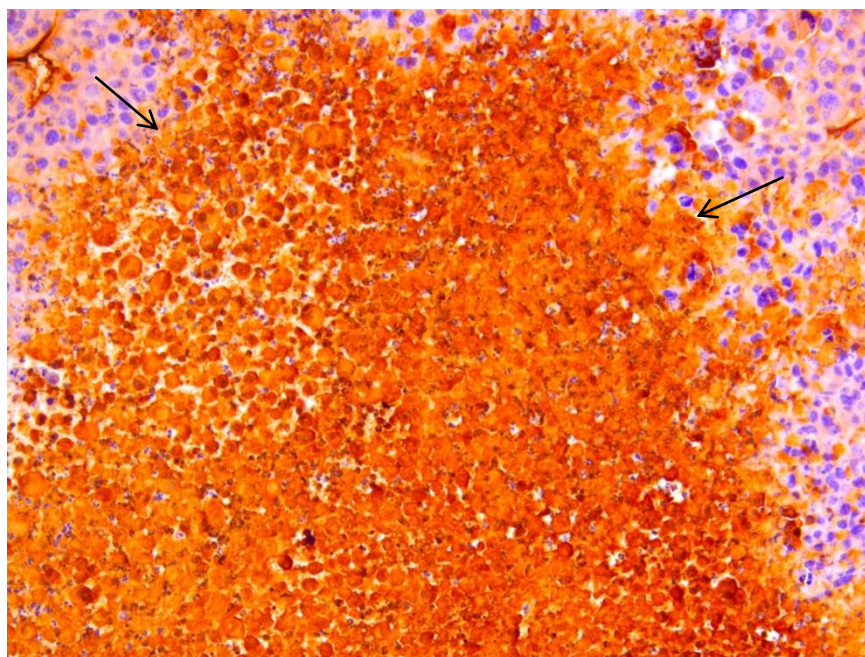


Рисунок 61 – Иммуновизуализация (антитела TGFβ1) в первичном опухолевом узле при введении Me-5 в токсической суммарной дозе 375 мг/кг. Животные – мыши линии C57Bl/6 (самки), носители эпидермоидной карциномы Lewis, гиперэкспрессия маркера в зоне некроза опухоли (→), x200

Выраженный антиметастатический эффект, нелинейно зависящий от величины вводимой дозы, позволяет предположить, что это влияние многофакторно и связано как с процессами изменения прооксидантно-оксидантного равновесия, митохондриальной проницаемости с последующим набуханием митохондрий (Le Gal K. et al., 2015; Puzakov K.K. et al., 2019; Durnova N.A. et al., 2019), так и с нарушением клеточного метаболизма в целом. Достоверно известно, что антиоксиданты из класса пространственно затрудненных фенолов стабилизируют функциональное состояние органов с высокой степенью метаболизма, что препятствует быстрому распространению метастатических очагов (El'kova K.V., 1996). Опухолевая прогрессия влечет за собой гипоксию и истощение антиоксидантных ресурсов в клетке.

Таким образом, можно высказать предположение, что названные факторы могут быть реализованы при влиянии гибридных ООС на рост и развитие при эпидермоидной карциноме Lewis у мышей.

Комплексное морфологическое исследование первичного опухолевого узла меланомы В16 и печени показало, что при введении эффективной дозы Me-3 (375 мг/кг) в опухолевой ткани выявлены резко выраженные дистрофические изменения с субтотальным некрозом, миксоматозом, кровоизлияниями. При ИГХ исследовании – слабая неравномерная экспрессия TGFb1 в разных полях зрения. В печени определялись очаговая гиалиново-капельная дистрофия, апоптоз и некробиоз отдельных групп гепатоцитов, встречались двухъядерные формы, эктазия центральных вен, в просвете – опухолевые клетки, очаговый перисинусоидальный фиброз, лимфоцитарные инфильтраты в строме дископлексируемых печеночных долек. При ИГХ анализе в гепатоцитах выявлена выраженная дискретная экспрессия TGFb1, и максимальная – в эндотелии сосудов и опухолевых клетках. При введении токсической суммарной дозы Me-3 (500 мг/кг) патоморфологические изменения в первичном опухолевом узле и печени носили более выраженный характер. В печени превалировали некротические процессы, в отличие от первичного опухолевого узла, что указывает на низкий терапевтический эффект дозы данного соединения. Данное заключение подтверждает ИГХ реакция с высокой экспрессией TGFb1 во всех структурах органа.

При введении эффективной дозы Me-5 (250 мг/кг) в опухолевой ткани определялись резко выраженные дистрофические изменения с субтотальным некрозом, кровоизлияниями и заместительной коллагенизацией стромы. При иммуногистохимическом анализе в опухолевых клетках регистрировалась слабая экспрессия. В печени выявлены выраженная диффузная гиалиново-капельная и жировая мелкокапельная дистрофия гепатоцитов, апоптоз и некробиоз отдельных их групп, с «мумифицированными» опухолевыми клетками в просвете синусоидов, в просвете эктазированных центральных вен отмечены единичные опухолевые клетки, дископлексиация печеночных долек. При ИГХ выявлена

выраженная экспрессия TGFb1 в гепатоцитах и эндотелии синусоидов, в клетках опухолевых эмболов – яркая ядерная экспрессия.

При введении токсической суммарной дозы Me-5 (375 мг/кг) в опухолевой ткани регистрировались резко выраженные дегенеративно-дистрофические изменения, дисконплексація опухолевых клеток, субтотальный некроз паренхимы. Иммуновизуализация в опухолевых клетках выявляла дискретную позитивную экспрессию TGFb1 с максимальной реакцией в эндотелии капилляров опухоли и зонах ее распада. В печени при введении токсической суммарной дозы Me-5 отмечались выраженная диффузная гиалиново-капельная и жировая дистрофия гепатоцитов, некроз отдельных групп гепатоцитов, наличие двухъядерных форм, эктазия и сближение центральных вен, в просвете четко визуализировались опухолевые клетки с формированием опухолевых эмболов, перисинусоидальный фиброз, лимфоцитарные инфильтраты в дисконплексированных печеночных дольках. При ИГХ в гепатоцитах, эндотелии синусоидов определялась умеренная дискретная экспрессия TGFb1, и высокая экспрессия – в эндотелии более крупных сосудов.

При введении эффективной дозы Me-3 (375 мг/кг) в первичном опухолевом узле обнаружены умеренно выраженные дистрофические изменения с локальными некрозами, кариопикнозом и кариолизисом, признаками «мумификации» опухолевых клеток. При иммуновизуализации в опухолевых клетках определялись слабо выраженная дискретная экспрессия TGFb1, максимальная – в «мумифицированных клетках». В печени зафиксированы очаговая микровезикулярная жировая дистрофия гепатоцитов, апоптоз и некробиоз отдельных групп с внутриклеточным отеком, эктазией синусоидов. В гепатоцитах, эндотелии синусоидов – умеренная диффузная экспрессия TGFb1, и высокая – в эндотелии более крупных сосудов.

При введении токсической суммарной дозы Me-3 (500 мг/кг) выявлены умеренно выраженные дистрофические изменения опухоли с локальными некрозами и субтотальной макровезикулярной дистрофией, «мумификацией» опухолевых клеток, фокусами вакуольной дегенерации. В опухолевых клетках –

выраженная диффузная экспрессия TGFb1, максимальная – в «мумифицированных клетках». В печени определялись диффузная микровезикулярная жировая дистрофия гепатоцитов, апоптоз и некробиоз отдельных групп гепатоцитов с перисинусоидальным отеком и очаговым фиброзом, дисконкомплексация печеночных балок, субкапсулярные некрозы – без реактивной воспалительной реакции, отмечалось наличие единичных микрометастазов в паренхиме. В гепатоцитах, эндотелии синусоидов, опухолевых клетках – максимальная диффузная экспрессия TGFb1.

При введении эффективной дозы Me-5 (250 мг/кг) в опухолевой ткани обнаружены выраженные дистрофические изменения с фокальными некрозами, обилием «мумифицированных» клеток. В опухолевых клетках – слабо выраженная дискретная экспрессия TGFb1, наиболее выраженная в «мумифицированных клетках» первичного узла. В печени выявлялись диффузная гиалиново-капельная и мелкокапельная жировая дистрофия гепатоцитов, апоптоз и некробиоз отдельных групп клеток, дисконкомплексация печеночных балок, резкая эктазия центральных вен и прилегающих синусоидов, в просвете отдельных капилляров – опухолевые клетки. В гепатоцитах, эндотелии синусоидов отмечена умеренная дискретная экспрессия TGFb1, и высокая – в эндотелии крупных сосудов, в опухолевых клетках – выраженная ядерная экспрессия этого маркера.

При введении токсической суммарной дозы Me-5 (375 мг/кг) отмечались выраженная дегенерация опухолевой массы с субтотальными некрозами, единичными «мумифицированными» опухолевыми клетками, гидропической дистрофией и перифокальной воспалительной реакцией. В опухоли выявлена диффузная максимально резко выраженная ядерная экспрессия TGFb1. При микроскопическом исследовании печени зарегистрированы диффузная гиалиново-капельная и мелкокапельная жировая дистрофия гепатоцитов, апоптоз, некробиоз и некроз обширных групп гепатоцитов, синусоиды очагово раширены, микрометастазы в паренхиме печени и субкапсулярно – с наличием реактивной умеренно выраженной воспалительной инфильтрации. В гепатоцитах, эндотелии

синусоидов – диффузная экспрессия TGF β 1, и максимальная – в эндотелии крупных сосудов, выраженная ядерная экспрессия – в опухолевых клетках.

Таким образом, применение максимально эффективной дозы Me-3 (375 мг/кг) и Me-5 (250 мг/кг) при развитии меланомы B16 и эпидермоидной карциномы Lewis вызывает оптимальный терапевтический эффект на первичный опухолевый узел и печень, тогда как токсические дозы Me-3 (500 мг/кг) и Me-5 (375 мг/кг) провоцируют выраженный токсический эффект и в первичном узле, и в паренхиме печени.

4.3. Комбинированное введение лидерных гибридных ООС с цисплатином

К наиболее распространённым противоопухолевым ЛС относят алкилирующие ЛС, в том числе соединения платины. Первым ЛС на основе данного металла был цисплатин, который до сих пор используется в качестве основного лекарственного средства для лечения опухолей различной локализации [Imran M. et al., 2018]. Однако эффективность терапии платиносодержащими ЛС ограничивается, главным образом, их высокой системной токсичностью, в том числе нейро-, нефро- и ототоксичностью [Критченков А.С. и др., 2019]. Несмотря на серьезные побочные эффекты и появление лекарственной устойчивости, использование препаратов платины, нацеленных на ДНК, остается эффективным. [Hanif M. et al., 2018].

Данные литературы показывают, что одним из самых успешных приемов преодоления избыточной токсичности производных платины является комбинированная терапия [Tsvetkova D. et al., 2022].

Действие новых соединений с предполагаемой опухолевой активностью обязательно изучается в комбинации с известным лекарственным препаратом при разработке новых противоопухолевых средств. Эти комбинации могут уменьшить системную токсичность и увеличить эффективность химиотерапии [Vaidya S.P. et al., 2022].

Под комбинированным влиянием понимают эффект, получаемый при совместном применении нескольких соединений или при последовательном введении их друг за другом, при этом могут быть следующие варианты:

1. соединения могут усиливать эффект друг друга, или одно вещество усиливает эффект другого;
2. соединения не оказывают влияния на эффекты друг друга;
3. соединения ослабляют эффект друг друга или одно вещество ослабляет эффект другого.

Для комбинированной терапии препаратом сравнения был выбран цисплатин – как наиболее изученный из металлосодержащих соединений, используемых в онкологической практике.

С целью изучения возможности применения гибридных ООС в комбинированном режиме введения с цисплатином было проведено изучение противоопухолевой и антиметастатической активности Me-3 и Me-5 на обеих моделях злокачественных неоплазий через 48 часов после перевивки опухолевых клеток в классическом режиме введения 1 раз в сутки внутривентрально пятикратно.

В предыдущем исследовании максимальная противоопухолевая и антиметастатическая эффективность выявлена при введении гибридных ООС в суммарной дозе 375 мг/кг (Me-3) и 250 мг/кг (Me-5) при 5-кратном внутривентральном введении на обеих экспериментальных моделях злокачественных неоплазий. Для комбинированного введения с цисплатином были выбраны разовые дозы, составляющие 1/10 максимально эффективных СД: 37,5 мг/кг (Me-3) и 25 мг/кг (Me-5), для цисплатина определена доза 1 мг/кг/сутки. Количество животных в каждой группе составило 12 особей.

Дизайн исследования представлен в таблице 43.

Таблица 43 – распределение животных в экспериментальной серии по выявлению эффективности комбинированной терапии с цисплатином (мышь-самки линии C57Bl/6)

Меланома B16	Эпидермоидная карцинома Lewis
Без тестируемых соединений (контрольная группа М)	Без тестируемых соединений (контрольная группа L)
ЦП, 1 мг/кг (группа сравнения 1М)	ЦП, 1 мг/кг (группа сравнения 1L)
Ме-3, 37,5 мг/кг (группа сравнения- 2М)	Ме-3, 37,5 мг/кг (группа сравнения- 2L)
Ме-5, 25 мг/кг (группа сравнения- 3М)	Ме-5, 25 мг/кг (группа сравнения- 3L)
ЦП, 1 мг/кг +Ме-3, 37,5 мг/кг (опытная группа-1М)	ЦП, 1 мг/кг +Ме-3, 37,5 мг/кг (опытная группа-1L)
ЦП, 1 мг/кг +Ме-5, 25 мг/кг (опытная группа-2М)	ЦП, 1 мг/кг +Ме-5, 25 мг/кг (опытная группа-2L)

Результаты экспериментальной серии по выявлению эффективности комбинированной терапии с цисплатином представлены в таблице 44.

Нами было отмечено, что влияние комбинации исследуемых веществ в малых дозах имеет более выраженный противоопухолевый и антиметастатический эффект во всех категориях оценивания, чем применение данных соединений в монорежиме [Додохова М.А., и др., 2021]. Данное наблюдение позволяет говорить о синергическом эффекте двух повреждающих противоопухолевых и антиметастатических веществ при их совместном применении [Евстратова Е.С., 2020; Чубенко В.А. и др., 2019], что открывает широкие перспективы для использования гибридных органических производных олова (IV) в экспериментальной и клинической фармакологии.

Таблица 44 – Изменение активности роста и метастазирования опухолей меланомы В16 и эпидермоидной карциномы Lewis при введении гибридных ООС в комбинированном режиме с цисплатином

Исследуемые вещества	Процент торможения роста опухоли по массе (ТРОМ, %)	Частота метастазирования опухоли (ЧМ, %)	Индекс ингибирования метастазирования (ИИМ, %)
Меланома В16			
контрольная группа М	–	100	–
группа сравнения- 1М	15,1, $p \leq 0,05$	100	17,6, $p \leq 0,05$
группа сравнения- 2М	9,2, $p \leq 0,05$	100	20,2, $p \leq 0,05$
группа сравнения- 3М	7,0, $p \leq 0,05$	100	16,7, $p \leq 0,05$
опытная группа-1М	24,3, $p \leq 0,05$	100	33,1, $p \leq 0,05$
опытная группа-2М	19,5, $p \leq 0,05$	100	25,8, $p \leq 0,05$
Эпидермоидная карцинома Lewis			
контрольная группа L	–	100	–
группа сравнения- 1Lцп	15,6, $p \leq 0,05$	100	24, $p \leq 0,05$
группа сравнения- 2L	-2,8	100	11,4, $p \leq 0,05$
Эпидермоидная карцинома Lewis			
группа сравнения- 3L	5	100	19, $p \leq 0,05$
опытная группа-1L	18,2, $p \leq 0,05$	100	28,4, $p \leq 0,05$
опытная группа-2L	27, $p \leq 0,05$	100	32, $p \leq 0,05$

Примечание: Сравнение показателей было проведено по отношению к контрольной группе.

Для опытной группы и групп сравнения изменения имели однонаправленный характер, но были разной степени выраженности. У всех животных было выявлено метастазирование опухоли.

При введении гибридных ООС в монорежиме обнаружена тенденция к уменьшению массы первичного очага и достоверный антиметастатический эффект. Введение ЦП в монорежиме оказало более выраженный противоопухолевый, по сравнению с антиметастатическим, эффект. Наибольшее подавление роста первичного очага опухоли и интенсивности метастазирования получено при комбинированном введении (1) цисплатина и Me-3 на модели меланомы B16 и (2) цисплатина и Me-5 на модели эпидермоидной карциномы Lewis. Следует отметить, что регистрируемые эффекты сохраняются на протяжении достаточно длительного времени и наблюдаются спустя 16 суток после окончания лечения.

При классическом 5-кратном внутрибрюшинном введении комбинации исследуемых соединений в малых дозах показано синергическое влияние на рост и развитие опухолевого процесса, а также увеличение эффективности, по сравнению с результатами влияния цисплатина, Me-3 и Me-5 в монорежимах. Применение исследуемой комбинации противоопухолевых и антиметастатических веществ в малых дозах является целесообразным и требует дальнейшего всестороннего изучения [Переводчикова Н.И., Горбунова В.А., 2018; Трякин А.А. и др., 2020].

ГЛАВА 5

УПРОЩЕННАЯ МЕТОДИКА СКРИНИНГОВОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ОЛОВООРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ С ПРЕДПОЛАГАЕМЫМ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫМ ДЕЙСТВИЕМ

Разработка новых оригинальных высокоэффективных лекарственных средств для лечения широкого круга социально значимых заболеваний, в том числе онкологических, является одной из основных целей Стратегии развития медицинской науки в Российской Федерации на период до 2025 года [Указ Президента РФ от 6 июня 2019 г. № 254]. Создание новых противоопухолевых лекарственных препаратов – приоритетная задача для специалистов в области медицинской химии, а также экспериментальной фармакологии и онкологии.

Процесс создания лекарственного препарата требует колоссальных затрат времени и средств, не говоря о его трудоемкости [Казанчева О.Д. и др., 2016]. Несмотря на большое количество работ, посвященных расчетным методам компьютерного изучения новых биологически активных молекул и оценке антипролиферативной эффективности на моделях *in vitro*, решающую роль при исследовании новой субстанции играет изучение фармакологической активности на животных [Авдеева О.И. и др., 2018]. Стадия доклинической разработки включает следующие этапы: выбор и обоснование группы перспективных соединений, синтез и/или оптимизация структуры тестируемых соединений, экспериментальное обоснование использования оптимального вспомогательного вещества-носителя, доклиническую оценку безопасности применения, предполагаемых фармакологических свойств и возможных побочных реакций.

Прогноз безопасности применения лекарственных средств является важнейшей задачей доклинической разработки. Трудоемкость, длительность и большая стоимость исследований на животных делает актуальным повышение уровня их информативности [Переверзева Э.Р., 2007; Pandey P. et al., 2022].

Отраженные в обзоре доступной литературы результаты скринингового мониторинга ООС [Додохова М.А. и др., 2021], посвященные изучению безопасности применения, противоопухолевого и антиметастатического эффектов, являются неоднозначными, так как авторы используют различные методологические подходы и не имеют единого дизайна исследований. В этой связи актуальной является стандартизация последовательности процедур, описывающих порядок действий для решения вопроса о целесообразности дальнейшего изучения конкретного ООС с предполагаемым противоопухолевым действием.

Разработка лекарственного средства представляет собой поэтапный исключаящий отбор, на каждом этапе которого отсеиваются вещества, признанные по результатам соответствующих исследований не обладающими потенциалом стать лекарственным препаратом, польза от применения которого будет превышать риски [Васильев А.Н. и др., 2017]. На базе существующих инструктивных документов и примерах из собственной научной практики доклинического изучения гибридных ООС с различными лигандными группировками нами разработана упрощенная методика скринингового мониторинга безопасности применения и фармакологической активности вновь синтезированных соединений с предполагаемым противоопухолевым и антиметастатическим действием. Использование разработанной нами методики позволит увеличить эффективность и скорость отбора соединений-лидеров для углубленного изучения.

Упрощенная методика скринингового мониторинга фармакологической активности оловоорганических соединений с предполагаемым противоопухолевым действием состоит из следующих этапов:

Этап 1. Оценка безопасности применения (токсичности).

Ориентировочные данные о токсичности (класс токсичности по СГС) исследуемых ООС были получены по модифицированному протоколу OECD 420 – введение еще одной промежуточной дозы 1000 мг/кг в процедуры

предварительного испытания – 1 животное) дало возможность предположить более узкий диапазон LD₅₀ для соединения Me-5.

Мы абсолютно согласны с утверждением коллектива авторов под руководством д.м.н., профессора М.Н. Макаровой о том, что исследования токсичности при однократном введении необходимо проводить на двух видах животных, в том числе, обоих полов, для исключения видовой и гендерной специфичности [Авдеева О.И. и др., 2018]. Однако, на наш взгляд, данное углубленное изучение токсичности и возможных побочных реакций при применении тестируемых агентов необходимо проводить лишь с соединениями-лидерами, рекомендованными к дальнейшему изучению после оценки фармакологической активности.

Проведение протокола OECD 425 на двух видах лабораторных животных (крысы Wistar, мыши C57BL/6) целесообразно осуществлять с соединениями-лидерами для экономии времени и средств на доклинические исследования.

Использование модифицированного протокола (введение еще одной промежуточной дозы 1000 мг/кг в процедуры предварительного испытания – 1 животное) дало возможность предложить более узкий диапазон LD₅₀ для соединения Me5.

Сравнительный анализ классической и упрощенной методики доклинического исследования гибридных ООС представлены в таблице 45.

Таблица 45 – Сравнительная характеристика классического и упрощенного варианта проведения этапа оценки безопасности применения.

Вид исследования Процедуры	Классический вариант	Упрощенный вариант
Оценка безопасности применения		
по протоколу OECD 420 (в модификации)	Класс токсичности по СГС: Me-3 – V; Me-4 – II; Me-5 – IV; АК-26 – III (ориентировочно 300мг/кг);	Класс токсичности СГС: Me-3 – V; Me-4 – II; Me-5 – IV (ориентировочно 1000 мг/кг); АК-26 –III (ориентировочно 300мг/кг);
Оценка безопасности применения		
по протоколу OECD 425	Определение среднелетальных доз, мг/кг: А) крысы, внутрижелудочно: Me-3 – более 2000; Me-5 – 954; АК-26 – 350.	Нет необходимости в проведении в ходе скринингового изучения.
отбор ООС для следующего этапа по критериям безопасности применения.	Результат испытания: исключено из дальнейшего исследования соединение Me-4 на этапе реализации процедуры «оценка безопасности применения».	

Таким образом, на основании результатов проведения оценки безопасности применения (таблица 45) как по классическому, так и по упрощенному варианту методики из дальнейшего исследования исключено соединение Me-4.

Этап 2. Оценка фармакологической активности.

Для снижения затрат на доклинические исследования выбор разовых доз тестируемых соединений для скринингового этапа изучения фармакологической активности (до естественной смерти животных) необходимо проводить в зависимости от класса токсичности ООС.

К изучению специфической фармакологической активности на моделях злокачественных новообразований целесообразно отбирать соединения IV и V класса токсичности по СГС.

Возможность использовать вещества III класса токсичности по СГС в экспериментальной химиотерапии ограничена узким терапевтическим диапазоном при их применении. Решение о реализации доклинических исследований АК-26 продиктовано получением фундаментальных знаний о влиянии структуры ООС (длины связи между оловоорганическим и антиоксидантным фрагментом) на противоопухолевую и антиметастатическую активность при пятикратном внутрибрюшинном введении по Софьиной З.П. на моделях солидных опухолей со спонтанным метастазированием [Софьиная З.П., 1980].

На этапе скрининга при вскрытии павшего животного необходимо зафиксировать массу первичного очага и количество метастазов в легких на одну мышь. Статистические методы анализа в данном случае применить не представляется возможным из-за гибели животных в разные сроки, но эта информация будет служить основанием для более детальной проработки дизайна доклинических исследований основного этапа оценки фармакологической активности тестируемых соединений (эвтаназия на определенные сутки после перевивки опухолевых клеток).

Таблица 46 а – Сравнительная характеристика классического и упрощенного варианта проведения этапа оценки фармакологической активности (скрининг)

Вид исследования Процедуры	Классический вариант	Упрощенный вариант
5-кратное внутрибрюшинное введение по Софьиной З.П. в широком диапазоне доз на моделях перевиваемых опухолей мышей со спонтанным метастазированием	Эффект влияния на рост и развитие меланомы В16 в суммарной дозе, мг/кг: АК-26 25, 50, 75 – нет эффекта, 100 – токсический эффект. 100 – нет эффекта (Ме-3 и Ме-5); 150 – нет эффекта Ме-3, Ме-5 – тенденция; 250 – Ме-3 – эффект малой интенсивности, Ме-5 – максимальная эффективность; 375– Ме-3 – максимальная эффективность, Ме-5 – токсический эффект; 500 – токсический эффект (Ме-3 и Ме-5);	Эффект влияния на рост и развитие меланомы В16 в суммарной дозе, мг/кг: для соединений III класса токсичности (LD ₅₀ ориентировочно около 300мг/кг) АК-26: 25, 75 – нет эффекта, 100 – токсический эффект; для соединений IV класса токсичности (LD ₅₀ ориентировочно около 1000 мг/кг) Ме-5: 150– тенденция; 250 – максимальная эффективность; 350 – токсический эффект; для соединений V класса токсичности (LD ₅₀ ориентировочно около 2000 мг/кг и более) Ме-3: 250 – эффект малой интенсивности; 350 – максимальная эффективность; 450 – токсический эффект.

Результаты проведения этапа оценки фармакологической активности (скрининг) приведены в таблице 46 а и 46 б.

При классическом 5-кратном внутрибрюшинном введении гибридных ООС Me-3 и Me-5 показано наличие влияния на рост и развитие опухолевого процесса на обеих моделях солидных опухолей мышей. Соединение АК-26 не оказывало достоверного влияния на рост первичного очага и активность метастазирования. На используемых моделях углубленное изучение АК-26 не является целесообразным. Выявленная умеренная нейротоксичность АК-26 позволяет для следующего этапа изучения рекомендовать данное соединение к исследованию на экспериментальных глиальных опухолях. По результатам проведения процедур двух методик рекомендованы к дальнейшему углубленному изучению два соединения – Me-3 и Me-5 (Таблица 46а и 46 б).

В ходе скринингового мониторинга фармакологической активности оловоорганических соединений с предполагаемым противоопухолевым действием в классическом и упрощенном варианте были получены идентичные данные. Упрощенная методика характеризуется более высокой скоростью получения результата и меньшей трудоемкостью процесса. Данный алгоритм является универсальным и может быть использован для скринингового исследования *in vivo* большого количества соединений с предполагаемым противоопухолевым действием.

Таблица 46 б – Сравнительная характеристика классического и упрощенного варианта проведения этапа оценки фармакологической активности (основное испытание)

Исследование фармакологической активности		
<p>5-кратное внутрибрюшинное введение по Софьиной З.П. в широком диапазоне доз на моделях перевиваемых опухолей мышей со спонтанным метастазированием</p>	<p>Эффект влияния на рост и развитие эпидермоидной карциномы Lewis в суммарной дозе, мг/кг: АК-26 25, 50, 75 – нет эффекта, 100 – токсический эффект. 100 – нет эффекта (Ме-3 и Ме-5); 150 – нет эффекта (Ме-3 и Ме-5); 250– Ме-3 – тенденция, Ме-5 – максимальная эффективность, 375 – Ме-3 – максимальная эффективность, Ме-5 – токсический эффект; 500 – токсический эффект (Ме-3 и Ме-5);</p>	<p>Эффективность влияния на рост и развитие эпидермоидной карциномы Lewis в суммарной дозе, мг/кг: для соединений III класса токсичности (LD₅₀ ориентировочно около 300мг/кг) АК-26: 25, 75 – нет эффекта, 100 – токсический эффект, для соединений IV класса токсичности (LD₅₀ ориентировочно около 1000 мг/кг) Ме-5: 150 – нет эффекта; 250 – максимальная эффективность; 350 – токсический эффект, для соединений V класса токсичности (LD₅₀ ориентировочно около 2000 мг/кг и более) Ме-3: 250– тенденция; 350 – максимальная эффективность; 450 – токсический эффект.</p>

Результат испытания по отбору оловоорганических соединений для следующего этапа по критериям максимальной эффективности: выявлены максимально эффективные суммарные дозы Me-3 и Me-5 для введения на двух моделях перевиваемых опухолей мышей со спонтанным метастазированием; рекомендованные для углубленного изучения соединения – Me-3 и Me-5. Исключено из дальнейшего исследования на используемых моделях соединение АК-26.

Для соединения III класса токсичности по СГС при ориентировке в фармакологической активности возможно использовать 3 РД – 5 мг/кг, 15 мг/кг, 20 мг/кг; для соединения IV класса – 30 мг/кг, 50 мг/кг, 70 мг/кг; для соединения V класса – 50 мг/кг, 70 мг/кг, 90 мг/кг.

В целом, описанная методика может обеспечить надежную перспективу для быстрой и рентабельной разработки экономически эффективных противоопухолевых препаратов.

ГЛАВА 6

ИЗУЧЕНИЕ НЕКОТОРЫХ ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМОВ ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО И АНТИМЕТАСТАТИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ЛИДЕРНЫХ ГООС

При молекулярном конструировании Me-3 и Me-5 путем введения в молекулу протекторного фрагмента 2,6-ди-трет-бутилфенола удалось повысить безопасность их применения, с уменьшением общей и кардио, гепато- и нефротоксичности по сравнению с соединениями-аналогами более простой структуры [Dodokhova M.A, et al., 2021], а также увеличить уровень исследуемой суммарной дозы до 500 мг/кг для Me-3 и 375 мг/кг для Me-5 – для расширения терапевтического индекса противоопухолевого и антиметастатического действия. Соотношение специфической эффективности и токсичности определяет перспективность лидерных субстанций Me-3 и Me-5 в качестве кандидатов в противоопухолевые лекарственные средства.

В организме наиболее вероятным способом биотрансформации для Me-3 и Me-5 является гидролиз с образованием RSH ($R = 3,5\text{-ди-трет-бутил-4-гидроксифенил}$) и $\text{Me}_2\text{Sn}(\text{OH})_2/\text{Ph}_3\text{SnOH}$, что приводит к накоплению в среде биоцидного фрагмента, содержащего Sn (IV), и свободной антиоксидантной группы.

Исследования активности ООС с различными лигандными группами *in vitro* и *in vivo* [Milaeva E.R. et al., 2021] доказывают широкий спектр их влияния на клеточный метаболизм. В предыдущих работах нами был описан выраженный прооксидантный эффект [Milaeva E.R. et al., 2006] низкомолекулярных ООС. Образование реакционноспособных органических радикалов $\text{R}\cdot$ может быть причиной, вызывающей инициирование цепного радикального окисления субстратов. Окислительный стресс, как типовой биохимический процесс, приводит к нарушению проницаемости мембран, в том числе и митохондриальной, что является отправной точкой нарушения клеточного метаболизма. Причиной повышения уровня свободнорадикального окисления в

органах и тканях может быть как усиление генерации активных метаболитов кислорода, так и недостаточная эффективность антиоксидантных систем. Фрагмент 2,6-ди-трет-бутилфенола, безусловно, обладает влиянием на про- и антиоксидантное равновесие в клетке.

Большое количество современных научных работ посвящено митохондриальной терапии злокачественных новообразований на различных моделях [Chiu H.Y. et al., 2020; Дятлова А.С. и др., 2021; Франциянц Е.М. и др., 2020].

Как известно, митохондрии являются двумембранной органеллой клетки и выполняют множество функций: обеспечивают конечный этап катаболизма углеводов, белков и липидов, а также окислительно–восстановительный и про/антиоксидантный баланс, играют центральную роль в регуляции апоптоза, выработке энергии, гомеостазе кальция [Шлапакова Т.И. и др., 2020; Лысенко В.И., 2020; Дятлова А.С. и др., 2018; He X.D. et al., 2022].

В митохондриях активные формы кислорода (АФК) образуются в гидрофобной области внутренней мембраны, их количество многократно увеличивается при гипоксии. Кроме разобщения окислительного фосфорилирования, что неминуемо приведет к истощению пула макроэргических соединений, избыточное содержание АФК может инициировать перекисное окисление высокомолекулярных соединений как самой мембраны митохондрии, так и других органелл клетки [Ахмедова С.Э.К. и др., 2020; Васильева И.Н. и др., 2018]. Увеличение АФК в конечном итоге приводит к нарушению проницаемости биологической мембраны, появлению вторичных продуктов (малонового диальдегида, диеновых конъюгатов и т.д.) и повреждению митохондриальной ДНК (8–ОНdG). Изменение структуры ДНК запускает апоптотический каскад, центральным звеном в котором является каспаза – 9. Высвобождение и активация ферментов каспаз происходит последовательно в результате протеолитического взаимодействия с тиол–дисульфидными группами. При нарушении целостности митохондриальной мембраны в процессе запуска окислительного стресса цитохром С выделяется в цитозоль клетки и служит дополнительным

стимулирующим фактором апоптоза при взаимодействии с клеточным цитозольным белком (Araf-1), комплекс Цит С/Araf-1/каспаза-9 образует апоптосому [Назаретян А.Ш. и др., 2020; Егоршина А.Ю. и др., 2018].

Митохондриальная дисфункция может способствовать росту, развитию и метастазированию ЗН. На стадиях III и IV происходит сдвиг в окислительном метаболическом профиле, который регистрируется в опухолевой ткани после достижения стадии метастазирования. Окислительный метаболизм способствует продвижению и поддержанию метастатического фенотипа с признаками нарушения митохондриальной функции в опухолевой ткани IV стадии [Hernández López R. et al., 2022].

Явление неслучайного метастазирования различных опухолей известно как «метастатический органотропизм» или «органоспецифическое метастазирование» [Liu Q. et al., 2017]. Существует множество факторов, определяющих метастатический органотропизм, в том числе паттерны системы кровообращения, внутренние характеристики ЗН, ткане- или органоспецифическое микроокружение и взаимодействие между атипичными клетками и микроокружением хозяина [Gao Y. et al., 2019].

Привычным сайтом для метастазирования обеих модельных систем являются легкие. Печень имеет гипоксическую микросреду, что затрудняет метаболическую адаптацию метастатических клеток. Гипоксическая микросреда в печени вынуждает метастатические опухолевые клетки подвергаться усиленному энергетическому метаболизму и увеличивает характеристики эффекта Варбурга. С одной стороны, мигрирующим клеткам необходимо адаптироваться к метаболическому микроокружению вторичной среды, чтобы выживать и размножаться. С другой стороны, атипичные клетки, которые не могут адаптироваться к первичному метаболическому микроокружению, могут покинуть исходное место и колонизировать микроокружение, которое лучше подходит для их метаболических потребностей.

В литературе описаны случаи, когда метастатические клетки покидают богатую кислородом микросреду легких и метастазируют в гипоксическую среду [Hung P.F. et al., 2019].

При введении токсических доз ГООС отмечена трансформация отдаленного метаболического микроокружения вторичных органов посредством различных механизмов, что представляет собой процесс формирования новой предметастатической ниши в печени. При диссеминации во вторичные органы-мишени и переходе от микрометастаза к макрометастазу их микроокружение постоянно модифицируется. Следовательно, метаболическая адаптация органоспецифического метастазирования — это не просто процесс, при котором атипичные клетки постоянно меняются; это также процесс, при котором опухолевые клетки и метастатические органы постоянно адаптируются, влияют друг на друга и изменяют друг друга [Elia I. et al., 2018].

Согласно механизму метаболической адаптации метастазирования ЗН, разные опухолевые клетки, метастазирующие в один и тот же орган, имеют сходные метаболические характеристики. Из этого следует, что разработка терапевтических мишеней для этих метаболических характеристик может дать новые идеи для профилактики и лечения метастазов ЗН [Wang C. et al., 2021].

Соотношение количества про- и антиоксидантных фрагментов в тестируемых соединениях Me-3 и Me-5 может изменять привычный органотропизм и быть причиной дозозависимого инверсионного противоопухолевого и антиметастатического действия, описанного в Главе 4.

Для проверки данной гипотезы была осуществлена серия определений основных маркеров окислительного повреждения клетки, активности антиоксидантной системы и митохондриального метаболизма на интактных животных (крысы-самки линии Wistar и мыши-самки линии C57Bl/6) и животных-носителях меланомы B16 и эпидермоидной карциномы Lewis. При моделировании злокачественных новообразований экспериментальная часть выполнена с учетом различных сроков развития опухолевого процесса.

Для оценки выраженности апоптотических процессов, уровня ПОЛ и

антиоксидантной защиты в клетке были выбраны показатели, наиболее полно описывающие данные взаимосвязанные процессы: уровень малонового диальдегида (МДА), восстановленного (GSH) глутатиона, 8-гидрокси-2'-дезоксигуанозина (8-OHdG), цитохрома С (Цит С) и активности каспазы-9 (К9), активность супероксиддисмутазы (СОД), каталазы (КАТ), глутатионпероксидазы (ГП), глутатионредуктазы (ГР).

6.1. Интактные животные (крысы-самки линии Wistar), 14 суток наблюдения

Проведение определений маркеров окислительного повреждения клетки, активности антиоксидантной системы и митохондриального метаболизма на интактных крысах-самках линии Wistar было произведено после однократного внутрижелудочного введения Me-3 и Me-5 в МПД в гомогенатах печени и митохондриальной фракции ткани печени (таблицы 46-47).

Группы животных были сформированы следующим образом: I опытная группа – введение Me-3 в МПД 2000 мг/кг, II опытная группа – введение Me-5 в МПД 750 мг/кг, III контрольная группа – введение носителя (1% желатин) в эквивалентных объемах.

В соединении Me-3 действие прооксидантного и антиоксидантного фрагментов уравновешено в здоровой клетке, о чем свидетельствует содержание МДА, не имеющее достоверных отличий от контрольных значений. Me-5 ведет себя как умеренный прооксидант, уровень МДА увеличен на 31,2%. Активность в паре СОД-КАТ изменилась более значительно: при введении Me-3 зафиксировано снижение активности СОД на 12% и увеличение активности КАТ на 11%, при введении Me-5 увеличение активности отмечено для СОД на 29,4% и КАТ – на 64%, что доказывает более мощный прооксидантный потенциал Me-5 в здоровой клетке.

Во всех опытных группах уровень глутатиона достоверно не отличался от контрольных значений, причем активность ГП и ГР увеличилась при введении Me-3 на 77% и 17,5%, при введении Me-5 – на 178% и 59,7% соответственно.

Приведенные цифры говорят об успешной компенсации данной ветви метаболизма GSH.

Митохондриальная фракция.

У животных I группы не отмечалось статистически достоверных отличий уровня МДА и Цит С по отношению к контрольной группе, не выявлено повреждения митДНК, но на 17% увеличилась активность К9. При введении Me-5 на 55,5% увеличилось значение показателя МДА, на 12,4% – 8-OHdG и на 66,2% – Цит С. Значения исследуемых показателей в обеих опытных группах были достоверно ($p \leq 0,05$) отличны между собой (таблица 31).

Me-5 при остром введении не проявлял своих антиоксидантных свойств. В опытной группе II наблюдалось накопление конечного продукта ПОЛ и поврежденной митохондриальной ДНК с увеличением уровня Цит С. Значительное снижение активности К9 может быть связано с дезактивацией активного центра фермента, содержащего цистеин. В предыдущих исследованиях более простых ООС нами было доказано необратимое связывание с SH группами различных белков [Milaeva E.R. et al., 2006]. Предположительно, данный механизм и объясняет снижение активности иницирующей К9.

Me-3 в обеих сериях эксперимента проявил себя как более выраженный антиоксидант, чем Me-5. В группе I отмечено снижение содержания 8-гидрокси-2'-дезоксигуанозина как одного из главных маркеров повреждения митохондриальной ДНК и МДА, как конечного продукта ПОЛ, а также менее выраженная дезактивация каскадного механизма запуска апоптоза через К9 и относительная стабильность структуры мембраны митохондрии.

Увеличение уровня Цит С отмечено как для Me-3, так и для Me-5. Предположительно, данное явление связано с изменением проницаемости мембраны митохондрий: образованием пор во внешней мембране и/или ее разрывом.

Гибридные ООС, содержащие фрагмент 2,6-ди-трет-бутилфенола, обладают двойственной структурой. Оловосодержащий компонент является прооксидантным, а радикал пространственно затрудненного фенола – наоборот,

антиоксидантным. Именно различное соотношение описанных фрагментов в молекулах исследуемых субстанций, на наш взгляд, привело к появлению разной степени влияния на метаболизм клетки.

Таблица 46 – Изменения маркеров перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты тканей печени крыс (самки) линии Wistar после однократного внутрижелудочного введения Me-3 и Me-5 в максимально переносимой дозе

Группы животных	МДА, мкмоль/л	СОД, активность/ г белка	КАТ, активность/ г белка	GSH, мкмоль/г белка	ГП, нг/г белка	ГР, нг/г белка
I	6,13±0,91 ¹	10,43±1,3 ¹	19,57±1,5 ²	3,45±0,57 ¹	15,33±1,41 ²	31,25±3,91 ²
II	9,0±1,0 ²	15,36±2,1 ²	28,96±2,8 ²	4,08±0,81 ¹	24,15±4,63 ²	42,5±6,62 ²
III	6,86±0,72	11,87±1,8	17,65±1,32	4,12±0,68	8,66±0,85	26,61±2,25

Примечание: * $p \leq 0,05$, сравнение приведено с показателем в группе контроля; X¹ – нет достоверных отличий по отношению к контролю, X² – есть достоверные отличия по отношению к контролю.

Таблица 47 – Изменение молекулярных маркеров апоптотических процессов и МДА митохондриальной фракции печени крыс (самки) линии Wistar после однократного внутрижелудочного введения Me-3 и Me-5 в максимально переносимой дозе

Группы животных	Малоновый диальдегид, нМ/г белка	8-гидрокси-2'- дезоксигуанозин, нг/г белка	Цитохром С, нг/г белка	Каспаза-9, нг/г белка
I	9,41±0,41 ¹	6,18±0,40 ²	2,11±0,23 ¹	0,39±0,04 ²
II	14,31±0,86 ²	12,26±0,98 ²	2,96±0,28 ²	0,52±0,15 ^{2,3}
III	9,2±0,70	10,74±1,09	1,96±0,19	0,47±0,05

Примечание: * $p \leq 0,05$, сравнение приведено с показателем в группе контроля; X¹ – нет достоверных отличий по отношению к контролю, X² – есть достоверные отличия по отношению к контролю, X³ – нет достоверных отличий по отношению к предыдущей опытной группе.

Известно, что атипичные клетки имеют особенности метаболизма глюкозы и макроэргических соединений [Марусова Т.А. и др., 2020], а также про/антиоксидантного баланса, часто находятся в условиях гипоксии, которая облегчает рост, миграцию и инвазию в виде метастатических очагов, а также обеспечивает их резистентность к химиотерапии [Калинина Е.В. и др., 2020; Guerra–Castellano A. et al., 2018].

Описанные в Главах 3 и 4 результаты изучения гибридных ООС позволили предположить отличные от цисплатина механизмы действия, центральными звеньями которых являются изменение про/антиоксидантного статуса клетки и митохондриального метаболизма с активацией проапоптотического пути повреждения клетки.

Для подтверждения или опровержения данной гипотезы была выполнена серия экспериментов на животных-опухоленосителях в различные сроки развития ЗН на двух моделях экспериментальных неоплазий.

6.2. Животные-опухоленосители (мыши-самки линии C57Bl/6)

Кроме степени агрессии опухоли, активность образования вторичных очагов зависит от метаболического состояния органов-мишеней метастатического поражения [Liu Q. et al., 2017]. Центральным звеном метастатического органотропизма является изменение про/антиоксидантного баланса в клетках с активацией окислительного стресса и защитных антиоксидантных систем [Basnet H. et al., 2019].

Дизайн экспериментальной части на мышах-опухоленосителях (таблица 48), описанный в данной главе, продиктован инверсией терапевтического эффекта в зависимости от дозы гибридных ООС и предположением о модифицирующем влиянии тестируемых соединений на ткани, являющиеся органотропными для метастазирования.

Таблица 48 – Распределение экспериментальных животных по группам

Группы экспериментальных животных, тестируемое соединение, СД	Меланома В16	Эпидермоидная карцинома Lewis
Контрольная группа (интактные животные)	К (7)	
7 суток		
Группа сравнения (носитель)	1М (7)	1L (7)
Опытная 1: Ме-3, СД 375 мг/кг	2М (7)	2L (7)
Опытная 2: Ме-3, СД 500 мг/кг	3М (7)	3L (7)
Опытная 3: Ме-5, СД 250 мг/кг	4М (7)	4L (7)
Опытная 4: -Ме-5, СД 375 мг/кг	5М (7)	5L (7)
18 суток (М) и 21 сутки (L)		
Группа сравнения (носитель)	1М (18)	1L (21)
Опытная 1: Ме-3, СД 375 мг/кг	2М (18)	2L (21)
Опытная 2: Ме-3, СД 500 мг/кг	3М (18)	3L (21)
Опытная 3: Ме-5, СД 250 мг/кг	4М (18)	4L (21)
Опытная 4: Ме-5, СД 375 мг/кг	5М (18)	5L (21)

На 7-е сутки после перевивки опухолевых клеток изучено влияние гибридных оловоорганических соединений на выраженность изменения маркеров апоптотических процессов, уровня ПОЛ и антиоксидантной защиты в печени животных-носителей меланомы В16 и эпидермоидной карциномы Lewis до появления макроскопических метастазов (1-я неделя после перевивки опухоли). Выявлено, что рост и развитие опухолевого процесса через 7 суток после перевивки опухолевых клеток не исключает возможность микродиссеминации опухолевого процесса.

Пальпаторно у всех животных через 7 суток после перевивки на месте введения опухолевой взвеси были обнаружены первичные узелки.

Результаты, выявленные в данный срок наблюдения, отображены в таблицах 49-53.

При развитии меланомы В16 без лечения на 7-е сутки наблюдались активация ПОЛ и увеличение активности ферментов АОЗ, что подтверждается данными других исследователей [Piskounova E. et al., 2015; Бандовкина В.А. и др., 2017].

В зависимости от дозы соединения Me-3, имеющее в составе молекулы как про-, так и антиоксидантные компоненты, ведёт себя как типичный антиоксидант (суммарная доза 375 мг/кг, уменьшение МДА на 64% по сравнению с группой без лечения) или как прооксидант (суммарная доза 500 мг/кг, увеличение МДА на 30% по сравнению с группой без лечения). Можно предположить, что после гидролитического расщепления в клетке исследуемое соединение даёт устойчивый антиоксидантный метаболит, который активно снижает образование АФК. В условно здоровой ткани более чем в 2 раза увеличивалось количество МДА и возрастала активность ГП, при этом активность СОД, каталазы и ГР была повышена в меньшей степени.

Повышение активности в паре СОД—КАТ в опытных группах 2М (7) и 3М (7) было умеренным. Активность ГП и ГР под действием максимально эффективной противоопухолевой и антиметастатической дозы Me-3 достоверно снижалась относительно группы без лечения на 14% и 34,8% соответственно. Противоположное влияние на изменение активности ферментов превращения глутатиона оказывало соединение Me-3 в суммарной дозе 500 мг/кг — наблюдалось промотирование процессов окисления и восстановления компонентов глутатионовой антиоксидантной системы.

Именно данный механизм может играть определённую роль в устойчивости меланомы В16 к химиотерапии [Cannavò S. et al., 2019].

Чрезмерный клеточный окислительный стресс широко воспринимается как ключевой фактор патофизиологических состояний и развития ЗН. Здоровые клетки используют несколько механизмов для поддержания внутриклеточных уровней активных форм кислорода (АФК) и общего окислительно-

восстановительного гомеостаза, чтобы избежать повреждения ДНК, белков и липидов. Атипичные клетки, напротив, демонстрируют повышенный уровень АФК и усиленную регуляцию защитных антиоксидантных путей [Azmanova M. et al., 2022]. Органические производные и комплексы переходных металлов при рациональном конструировании могут проявлять противоопухолевую и антиметастатическую активность через воздействие на окислительно-восстановительные процессы [Murillo M.I. et al., 2022].

Сложный радикал обладает способностью захватывать свободные электроны и препятствовать образованию свободных радикалов и, таким образом, реализовывать свои антиоксидантные свойства [Liu Q. et al., 2017]. Прооксидантное действие ООС инициирует в митохондриях повреждение липидов и ДНК. При запуске апоптотического пути гибели клетки повышается концентрация цитохрома С, прокаспаз-2, -3, -9, фактора, индуцирующего апоптоз (apoptosis inducing factor). Далее, аналогично цепи реакций во внешнем пути передачи сигнала, с участием цитохрома С формируется апоптосома, в которой происходит активация инициирующей каспазы-9. Активная каспаза-9 взаимодействует с эффекторной прокаспазой-3, активирует ее, запускается каспазный каскад для реализации дальнейших реакций эффекторной фазы апоптоза.

Глутатион (GSH) является основным внутриклеточным окислительно-восстановительным буфером, который переключает внеклеточное окислительно-восстановительное состояние из окисленного в восстановленное. Активация образования и истощение GSH могут являться решающими факторами для модификации метаболизма условно здоровых клеток в дометастатической стадии развития ЗН [Venè R. et al., 2011; Калинина Е.В. и др., 2020].

При анализе биохимических маркеров окислительного стресса в митохондриях печени животных-опухоленосителей без лечения на 7-е сутки после перевивки опухолевых клеток выявлено статистически значимое по сравнению с таковыми у интактных особей увеличение всех изучаемых показателей при развитии опухолевого процесса. Данные результаты говорят о

вовлечении печени в метастатический процесс меланомы B16 при отсутствии вторичных макроскопических очагов. Необходимо отметить выраженное снижение (44,8%) активности каспазы-9, зафиксированное на 18-е сутки после перевивки опухолевого материала (таблицы 54 – 60). При высокой активности окислительного повреждения липидов, нуклеиновых кислот и нарушении проницаемости мембран митохондрий не происходит активации инициирующей фазы апоптоза в полной мере. Это создает благоприятные условия для дальнейшей диссеминации процесса. Me-3, содержащий два фрагмента 2,6-ди-трет-бутилфенола, ожидаемо проявил себя как более активный антиоксидант, чем Me-5. Снижая активность окислительных процессов, Me-3 создает условия для снижения пролиферации в печени как в зоне вторичного роста. Me-5 является промотором окислительных повреждений с активацией каспазы-9, что тоже препятствует активному метастазированию [Piskounova E. et al., 2015].

Более выраженная активация окислительных процессов в первичном опухолевом узле при введении Me-3 и Me-5, предположительно, связана с избирательным транспортом ООС через биологические мембраны в опухолевой клетке. Одним из функциональных различий между нормальными и опухолевыми тканями является то, что в опухолях межклеточное пространство представляет собой более кислую среду по сравнению с внутриклеточной. Низкое значение pH во внеклеточном пространстве стимулирует инвазию и метастазирование [Wang C. et al., 2021]. В более кислой среде и Me-3, и Me-5 обладают большей липофильностью, что, на наш взгляд, объясняет избирательную проницаемость и, опосредованно, достаточно выраженный противоопухолевый и антиметастатический эффект и снижение токсичности данных соединений. Увеличение проницаемости мембраны опухолевой клетки для гибридных ООС открывает широкие перспективы в изучении селективных противоопухолевых свойств на основе органических соединений олова (IV).

Для влияния ГООС определены важнейшие механизмы, реализация которых зависит от соотношения количества оловоорганических и антиоксидантных фрагментов, дозы и времени развития опухолевого процесса.

Таблица 49 – Изменения маркеров перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты печени животных-опухоленосителей меланомы В16 через 7 суток после перевивки опухолевых клеток

Исследуемые маркеры	Интактные животные Группа К (7)	Меланома В16 без лечения Группа 1М (7)	Ме-3 375 мг/кг Группа 2М (7)	Ме-3 500мг/кг Группа 3М (7)	Ме-5 250 мг/кг Группа 4М (7)	Ме-5 375 мг/кг Группа 5М (7)
МДА, мкмоль/л,	8,78±0,86	18,05±2,01*	11,57±0,83*	23,48±1,53*	17,8±5,43*	42,29±5,18*
СОД, активность/г белка	1,21±0,25	1,91±0,33*	1,43±0,16*	1,96±0,57*	1,49±0,36	3,14±0,56*
КАТ, активность/г белка	1,49±0,16	1,82±0,21*	1,65±0,12*	2,67±0,49*	2,12±0,32*	3,62±0,40*
GSH, мкмоль/г белка	5,75±1,10	27,76±6,67*	19,22±2,29*	32,41±4,52*	22,33±3,85*	33,28±3,24*
ГП, нг/г белка	4,46±0,24	9,01±0,51*	7,75±0,68*	13,20±2,14*	8,33±0,44*	26,06±5,33*
ГР, нг/г белка	15,87±0,35*	23,40±1,87*	15,26±1,21*	26,61±5,18*	19,79±1,89*	38,40±3,99*

Примечание: * – $p \leq 0,05$, сравнение приведено с показателем в группе контроля.

Таблица 50 – Изменения маркеров перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты печени животных-опухоленосителей эпидермоидной карциномы Lewis через 7 суток после перевивки опухолевых клеток

Исследуемые маркеры	Интактные животные Группа К (7)	Эпидермоидная карцинома Lewis без лечения Группа 1L (7)	Me-3 375 мг/кг Группа 2L (7)	Me-3 500мг/кг Группа 3L (7)	Me-5 250 мг/кг Группа 4L (7)	Me-5 375 мг/кг Группа 5L (7)
МДА, мкмоль/л,	8,78±0,86	27,20±7,11*	18,47±3,83*	36,27±6,90*	17,02±4,15*	44,17±5,43*
СОД, активность/1г белка	1,21±0,25	2,58±0,58*	1,60±0,24*	2,54±0,71*	1,42±0,5	2,72±0,88*
КАТ, активность/1г белка	1,49±0,16	2,08±0,42*	1,79±0,46	2,99±0,37*	1,71±0,42	2,82±0,54*
GSH, мкмоль/г белка	5,75±1,10	37,43±6,4*	29,7±4,74*	38,35±4,85*	28,22±5,13*	41,03±5,65*
ГП, нг/1г белка	4,46±0,24	14,01±2,84*	9,30±1,40*	13,4±2,42*	14,7±1,45*	14,85±1,38*
ГР, нг/1г белка	15,87±3,35*	19,78±2,27*	12,19±1,74	19,64±2,0*	11,91±1,43*	23,7±3,45*

Примечание: * – $p \leq 0,05$, сравнение приведено с показателем в группе контроля.

Таблица 51 – Изменение молекулярных маркеров апоптотических процессов и МДА митохондриальной фракции печени мышей-опухоленосителей меланомы В16 через 7 суток после перевивки опухолевых клеток

Группы животных	Малоновый диальдегид, нМ/г белка	8-гидрокси-2'-дезоксигуанозин, нг/г белка	Цитохром С, нг/г белка	Каспаза-9, нг/г белка
Интактные животные Группа К (7)	8,7±0,3	6,45±1,5	4,45±0,37	0,38±0,09
Меланома В16 без лечения Группа 1М (7)	24,3±4,15*	17,4±4,31*	16,1±1,92*	0,72±0,08*
Ме-3 375 мг/кг Группа 2М (7)	14,8±3,65*	8,71±2,35	9,3±1,75*	0,62±0,1*
Ме-3 500мг/кг Группа 3М (7)	31,1±2,48*	20,1±2,43*	18,6±1,81*	1,51±0,15*
Ме-5 250 мг/кг Группа 4М (7)	28,4±1,84*	15,3±3,23*	12,4±2,31*	0,64±0,14*
Ме-5 375 мг/кг Группа 5М (7)	32,7±3,71*	26,8±4,13*	25,4±2,11*	1,78±0,21*

Примечание: * – $p \leq 0,05$, сравнение приведено с показателем в группе контроля.

Таблица 52 – Изменение молекулярных маркеров апоптотических процессов и МДА митохондриальной фракции печени мышей-опухоленосителей эпидермоидной карциномы Lewis через 7 суток после перевивки опухолевых клеток

Группы животных	Малоновый диальдегид, нМ/г белка	8-гидрокси-2'-дезоксигуанозин, нг/г белка	Цитохром С, нг/г белка	Каспаза-9, нг/г белка
Интактные животные Группа К (7)	8,7±0,3	6,45±0,5	4,45±0,37	0,38±0,09
Эпидермоидная карцинома Lewis без лечения Группа 1L (7)	35,1±5,12*	25,1±2,65*	21,6±4,82*	0,56±0,02*
Ме-3 375 мг/кг Группа 2L (7)	9,4±1,25	11,8±1,63*	15,3±1,67*	0,42±0,1
Ме-3 500мг/кг Группа 3L (7)	32,4±3,12*	22,7±4,62*	30,1±3,58*	1,51±0,15*
Ме-5 250 мг/кг Группа 4L (7)	18,6±3,66*	15,3±3,23*	16,1±3,13*	0,54±0,04*
Ме-5 375 мг/кг Группа 5L (7)	37,1±4,92*	28,5±5,31*	18,7±3,41*	1,28±0,21*

Примечание: * – $p \leq 0,05$, сравнение приведено с показателем в группе контроля.

Таблица 53 – Изменения маркеров перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты печени животных-опухоленосителей меланомы В16 через 18 суток после перевивки опухолевых клеток

Исследуемые маркеры	Меланома В16 без лечения Группа 1М (18)	Ме-3 375 мг/кг Группа 2М (18)	Ме-3 500мг/кг Группа 3М (18)	Ме-5 250 мг/кг Группа 4М (18)	Ме-5 375 мг/кг Группа 5М (18)
МДА, мкмоль/л,	24,1±3,8	19,25±1,74	22,8±4,1	28,15±4,21	31,2±5,4
СОД, активность/г белка	0,52±0,22	3,82±0,52*	2,12±0,31*	2,24±0,31*	1,34±0,31*
КАТ, активность/г белка	0,85±0,12	4,34±0,38*	2,65±0,12*	3,72±0,18*	1,21±0,18*
GSH, мкмоль/г белка	14,4±1,15	10,3±1,82*	12,1±2,21	15,1±1,45	16,1±3,42
ГП, нг/г белка	2,84±0,41	6,12±1,14*	10,54±1,51*	6,87±2,13*	10,35±2,54*
ГР, нг/г белка	11,14±1,35	13,65±3,47	15,14±3,65	12,23±2,15	14,35±1,85

Примечание: * – $p \leq 0,05$, сравнение приведено с показателем в группе контроля.

Таблица 54 – Изменения маркеров перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты первичного опухолевого узла животных-опухоленосителей меланомы В16 через 18 суток после перевивки опухолевых клеток

Исследуемые маркеры	Меланома В16 без лечения Группа 1М (18)	Ме-3 375 мг/кг Группа 2М (18)	Ме-3 500мг/кг Группа 3М (18)	Ме-5 250 мг/кг Группа 4М (18)	Ме-5 375 мг/кг Группа 5М (18)
МДА, мкмоль/л,	12,3±2,11	15,85±2,45	16,24±3.62	21,1±3,15	23,18±2,78
СОД, активность/г белка	0,78±0,14	1,28±0,11*	0,34±0,06*	0,31±0,05*	0,28±0,04*
КАТ, активность/г белка	0,52±0,18	0,95±0,21*	0,26±0,1*	0,25±0,05*	0,31±0,08*
GSH, мкмоль/г белка	15,16±1,42	8,91±1,41*	14,8±2,0	10,7±2,15*	17,2±2,12
ГП, нг/г белка	2,25±0,11	3,18±0,24*	1,6±0,41*	2,15±0,24	1,56±0,23*
ГР, нг/г белка	4,35±0,65	5,42±0,95	4,12±1,13	4,32±1,05	3,15±0,15*

Примечание: * – $p \leq 0,05$, сравнение приведено с показателем в группе контроля.

Таблица 55 – Изменение молекулярных маркеров апоптотических процессов и МДА митохондриальной фракции печени мышей-опухоленосителей меланомы В16 через 18 суток после перевивки опухолевых клеток

Группы животных	Малоновый диальдегид, нМ/г белка	8-гидрокси-2'-дезоксигуанозин, нг/г белка	Цитохром С, нг/г белка	Каспаза-9, нг/г белка
Меланома В16 без лечения Группа 1М (18)	12,92±2,6	10,11±1,7	7,34±1,4	0,21±0,04
Ме-3 375 мг/кг Группа 2М (18)	8,21±1,35*	7,22±1,5	5,37±0,5*	0,42±0,05*
Ме-3 500мг/кг Группа 3М (18)	13,25±2,75	9,12±1,74	8,18±1,74	1,14±0,01*
Ме-5 250 мг/кг Группа 4М (18)	10,7±2,64	9,36±2,52 p<0,05	8,21±1,6 p<0,05*	0,50±0,08* p<0,05*
Ме-5 375 мг/кг Группа 5М (18)	14,22±1,52*	12,34±2,11	10,32±2,14*	1,22±0,02*

Примечание: * – p≤0,05, сравнение приведено с показателем в группе контроля.

Таблица 56 – Изменение молекулярных маркеров апоптотических процессов и МДА митохондриальной фракции первичного опухолевого узла мышей-опухоленосителей меланомы В16 через 18 суток после перевивки опухолевых клеток

Группы животных	Малоновый диальдегид, нМ/г белка	8-гидрокси-2'-дезоксигуанозин, нг/г белка	Цитохром С, нг/г белка	Каспаза-9, нг/г белка
Меланома В16 без лечения Группа 1М (18)	9,0±0,5	4,26±0,35	3,18±0,33	0,17±0,04
Ме-3 375 мг/кг Группа 2М (18)	15,36±2,5*	6,22±0,6*	5,22±0,44*	0,32±0,08*
Ме-3 500мг/кг Группа 3М (18)	22,45±1,26*	12,2±2,15*	6,74±1,85*	0,41±0,05*
Ме-5 250 мг/кг Группа 4М (18)	19,2±1,8*	8,73±0,64*	7,14±1,5*	0,27±0,07*
Ме-5 375 мг/кг Группа 5М (18)	32,0±3,04	14,5±3,1*	7,82±1,54*	0,45±0,04*

Примечание: * – $p \leq 0,05$, сравнение приведено с показателем в группе контроля.

Таблица 57 – Изменения маркеров перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты печени животных-опухоленосителей эпидермоидной карциномы Lewis через 21 сутки после перевивки опухолевых клеток

Исследуемые маркеры	Эпидермоидная карцинома Lewis без лечения Группа 1L (21)	Me-3 375 мг/кг Группа 2L (21)	Me-3 500мг/кг Группа 3L (21)	Me-5 250 мг/кг Группа 4L (21)	Me-5 375 мг/кг Группа 5L (21)
МДА, мкмоль/л,	15,4±1,65	11,8±1,35*	16,2±2,14	16,8±3,1	17,3±2,58
СОД, активность/1г белка	0,88±0,11	1,71±0,21*	1,34±0,35*	1,57±0,41*	0,92±0,19
КАТ, активность/1г белка	0,12±0,05	1,28±0,17*	0,58±0,04*	1,12±0,07*	0,21±0,03*
GSH, мкмоль/г белка	3,14±0,52	4,18±0,47	2,88±0,61	4,78±0,15*	1,95±0,34*
ГП, нг/1г белка	2,18±0,54	3,16±0,56	3,05±0,48	2,88±0,35	3,46±0,35
ГР, нг/1г белка	6,78±1,64	9,18±1,47*	6,16±1,65	8,85±1,58	7,12±1,95

Примечание: * – $p \leq 0,05$, сравнение приведено с показателем в группе контроля.

Таблица 58 – Изменения маркеров перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты первичного опухолевого узла животных-опухоленосителей эпидермоидной карциномы Lewis через 21 сутки после перевивки опухолевых клеток

Исследуемые маркеры	Эпидермоидная карцинома Lewis без лечения Группа 1L (21)	Me-3 375 мг/кг Группа 2L (21)	Me-3 500мг/кг Группа 3L (21)	Me-5 250 мг/кг Группа 4L (21)	Me-5 375 мг/кг Группа 5L (21)
МДА, мкмоль/л,	10,5±1,85	18,1±1,57*	19,2±1,63*	24,6±2,25*	31,4±3,15*
СОД, активность/1г белка	1,12±0,15	1,85±0,34*	1,23±0,28	2,15±0,32*	1,65±0,07*
КАТ, активность/1г белка	1,28±0,26	1,64±0,41	0,88±0,2	1,52±0,25	0,94±0,14
GSH, мкмоль/г белка	18,1±2,4	12,36±1,24*	17,8±1,68	10,11±1,32*	24,14±3,18*
ГП, нг/1г белка	2,66±0,5	4,16±0,56*	2,89±0,75	4,32±0,75*	3,15±1,18
ГР, нг/1г белка	8,17±1,32	10,1±1,16	6,12±1,56	6,16±1,61	7,12±2,15

Примечание: * – $p \leq 0,05$, сравнение приведено с показателем в группе контроля.

Таблица 59 – Изменение молекулярных маркеров апоптотических процессов и МДА митохондриальной фракции печени мышей-опухоленосителей эпидермоидной карциномы Lewis через 21 сутки после перевивки опухолевых клеток

Группы животных	Малоновый диальдегид, нМ/г белка	8-гидрокси-2'-дезоксигуанозин, нг/г белка	Цитохром С, нг/г белка	Каспаза-9, нг/г белка
Карцинома Lewis без лечения Группа 1 L (21)	28,6±3,6	12,11±1,8	12,5±1,21	0,25±0,07
Ме-3 375 мг/кг Группа 2 L (21)	17,52±1,35*	6,14±1,42*	8,75±1,85*	0,52±0,15*
Ме-3 500мг/кг Группа 3 L (21)	26,1±4,22	13,45±2,82	11,63±2,12	0,61±0,18*
Ме-5 250 мг/кг Группа 4 L (21)	22,8±3,78	8,16±1,23*	9,36±2,31	0,88±0,16*
Ме-5 375 мг/кг Группа 5 L (21)	42,18±6,32*	18,9±3,41*	18,68±3,58*	1,57±0,12*

Примечание: * – $p \leq 0,05$, сравнение приведено с показателем в группе контроля.

Таблица 60 – Изменение молекулярных маркеров апоптотических процессов и МДА митохондриальной фракции первичного опухолевого узла мышей-опухоленосителей эпидермоидной карциномы Lewis через 21 сутки после перевивки опухолевых клеток

Группы животных	Малоновый диальдегид, нМ/г белка	8-гидрокси-2'-дезоксигуанозин, нг/г белка	Цитохром С, нг/г белка	Каспаза-9, нг/г белка
Карцинома Lewis без лечения Группа 1 L (21)	23,4±2,35	16,8±2,16	9,15±1,85	0,36±0,05
Ме-3 375 мг/кг Группа 2 L (21)	27,2±1,89	17,8±1,75	12,35±1,24	0,65±0,04*
Ме-3 500мг/кг Группа 3 L (21)	35,3±3,45*	18,2±2,25	14,85±1,35*	0,88±0,11*
Ме-5 250 мг/кг Группа 4 L (21)	41,1±1,24*	24,3±1,32*	18,21±1,12*	0,97±0,24*
Ме-5 375 мг/кг Группа 5 L (21)	46,1±5,12*	28,4±4,17*	24,32±2,58*	1,12±0,18*

Примечание: * – $p \leq 0,05$, сравнение приведено с показателем в группе контроля.

На основании полученных результатов проведенного исследования можно сделать выводы, что изучаемые нами соединения бис(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенилтиолат) диметиллова (Me-3) и (3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенилтиолат) трифениллова (Me-5) обладают свойствами модулировать окислительный стресс и апоптотические процессы в митохондриях животных-опухоленосителей с меланомой B16 и эпидермоидной карциномой Lewis. Полученные данные полностью коррелируют с изменением роста первичного очага и активностью метастазирования опухолевого процесса. Одной из основных мишеней воздействия гибридных оловоорганических соединений Me-3 и Me-5 является митохондрия.

ГЛАВА 7

ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ С ПЕРСПЕКТИВОЙ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ ГИБРИДНЫХ ОЛОВООРГАНИЧЕСКИХ ПРОИЗВОДНЫХ

Данная глава диссертационной работы построена по принципу обсуждения каждого положения, выносимого на защиту.

7.1. Введение фрагмента 2,6-ди-трет-бутилфенола в процессе направленного синтеза гибридных оловоорганических соединений – эффективный способ снижения токсичности модифицированных соединений

Под «токсичностью» в широком понимании понимают способность вещества обуславливать нарушения физиологических функций организма. В токсикологии «токсичность» – более узкое понятие: величина, обратно пропорциональная LD50. В диссертационной работе мы впервые произвели комплексную оценку токсичности гибридных оловоорганических соединений по определению класса токсичности, среднелетальной дозы, общей и органотоксичности (печень, сердце, почки).

Неорганические соли олова плохо всасываются и быстро выводятся; в результате они имеют низкую токсичность.

Изучение низкомолекулярных органических производных олова в 1980–1990 гг. было связано с широким применением этой группы соединений в качестве стабилизаторов полихлорвинила и противообрастающих красок. Введение органического компонента в молекулу в разы увеличивает токсичность соединений [Krigman M.R. et al., 1984; Chang L.W., 1990]. Наиболее токсичными из органических производных олова являются триметилолово и триэтилолово [Winship K.A., 1988].

Триметилолово при введении крысам через зонд имеет LD50 12,6 мг/кг [Brown A.W. et al., 1979], острая пероральная LD50 у крыс для гидроксида трифенилолова составила 171 мг/кг для самцов и 268 мг/кг для самок [Wineck C.L.

et al., 1978], для диметилэтиллола и метилдиэтиллола пероральная LD50 составила 14 мг/кг и 7,5–10,0 мг/кг соответственно [Aldridge W.N, et al., 1987]. Для ООС характерна биоаккумуляция, что приводит к комбинированной токсичности [Zhang S. et al., 2021].

Высокая токсичность и биоцидный потенциал ООС обуславливают большой интерес к разработке способов ее снижения.

Одним из способов снижения токсичности является применение сопроводительной терапии. В идеале ЛС, используемые для устранения токсических эффектов, не должны иметь побочных эффектов сами по себе, особенно при длительном применении, а также не должны уменьшать эффективность лечения [Панченко А.В., 2020]. В этом плане одними из многообещающих являются полифенолы. Поскольку первичным результатом активации свободнорадикального окисления является деградация фосфолипидов мембранных структур гепатоцитов, использование самих субстратов окисления способствует коррекции липидной матрицы мембран. Антиоксиданты защищают здоровые ткани, в частности, уменьшают продукцию внутриклеточных активных форм кислорода [Cossia A. et al., 2016].

Некоторые исследователи отмечают повышение противоопухолевого эффекта в отношении первичного опухолевого узла базовых цитостатических препаратов при их комбинации с антиоксидантами, например, мексидолом и эмоксипином [Зорькина А.В. и др., 2009; Микуляк Н.И. и др., 2007]. Учеными описано влияние пропофола на пролиферацию и апоптоз злокачественных клеток печени через сигнальный путь TGF- β 1/Smad2 (рисунок 62).

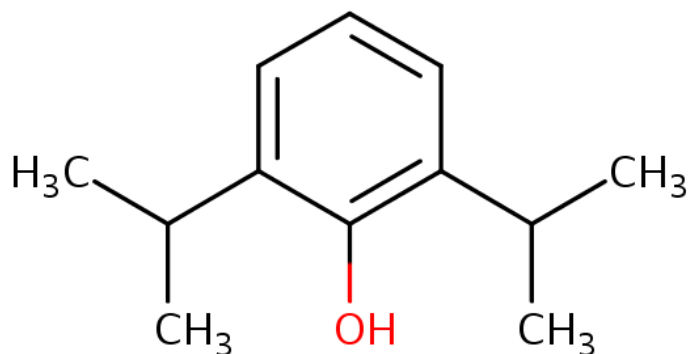


Рисунок 62 – Структурная формула препарата пропофола

Пропофол ингибирует скорость пролиферации клеток рака печени на 10% через сигнальный путь Smad2 и экспоненциально увеличивает апоптотическое число рака печени [Li Z. et al., 2021].

Аскорбиновая кислота является мощным антиоксидантом и проявляет значительный защитный эффект при введении низкомолекулярных ООС [Alkahtane A.A., 2020].

Фрагмент 2,6-ди-трет-бутилфенола является известным антиоксидантом из ряда пространственно затрудненных фенолов.

В работах нашего соавтора Никитина Е.А. подробно описаны возможности применения препарата Дибуфелон[®] (фенозановая кислота) (рисунок 63), зарегистрирован в РФ (РУ № ЛП-005332), используется в качестве компонента комбинированной терапии у пациентов с парциальными эпилептическими приступами с вторичной генерализацией или без нее.

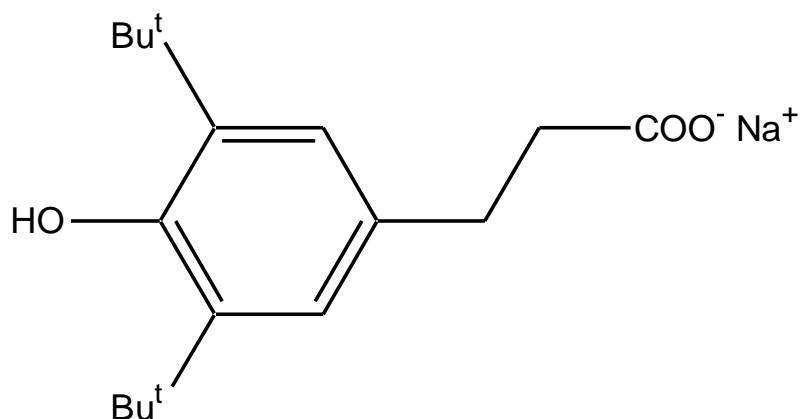


Рисунок 63 – Структурная формула препарата Дибуфелон[®]

Многие противоэпилептические препараты нейротоксичны, и их длительный приём может индуцировать окислительный стресс, вызывая повреждение нейронов и угнетение функций нервной системы [Trimble M., Schmitz B., 2002; Никитин Е.А., 2022]. Дибуфелон[®] в составе комплексной терапии не только оказывает нейропротекторное действие, нивелируя токсический эффект противоэпилептических препаратов, но и стабилизирует нейрональные мембраны, ингибируя процессы пероксидного окисления липидов, регулируя активность протеинкиназы С и аденилатциклазы и нормализуя вязкость мембраны. Благодаря представленным механизмам действия, Дибуфелон[®] нормализует процессы возбуждения в центральной нервной системе, предупреждает развитие судорожных припадков, тонического разгибания и способствует уменьшению неврологического дефицита и улучшению общей двигательной активности [Никитин Е.А., 2022].

Одним из наиболее перспективных и практически важных направлений в медицинской химии является синтез гибридных соединений, сочетающих антиоксидантную активность со способностью структурного взаимодействия с биосистемой [Никифоров Г.А. и др., 2003].

Введение антиоксидантного фрагмента в состав потенциального препарата позволяет повысить его селективность и снизить эффект повреждения здоровых клеток.

В литературе имеются сведения о синтезе различных оловоорганических комплексов, содержащих лиганды схожего строения, однако их биологическая активность изучена лишь на единичных примерах.

Токсичность ООС, содержащих фрагмент 2,6-дитретбутилфенола, зависит от количества протекторных групп (рисунок 63 и таблица 61).

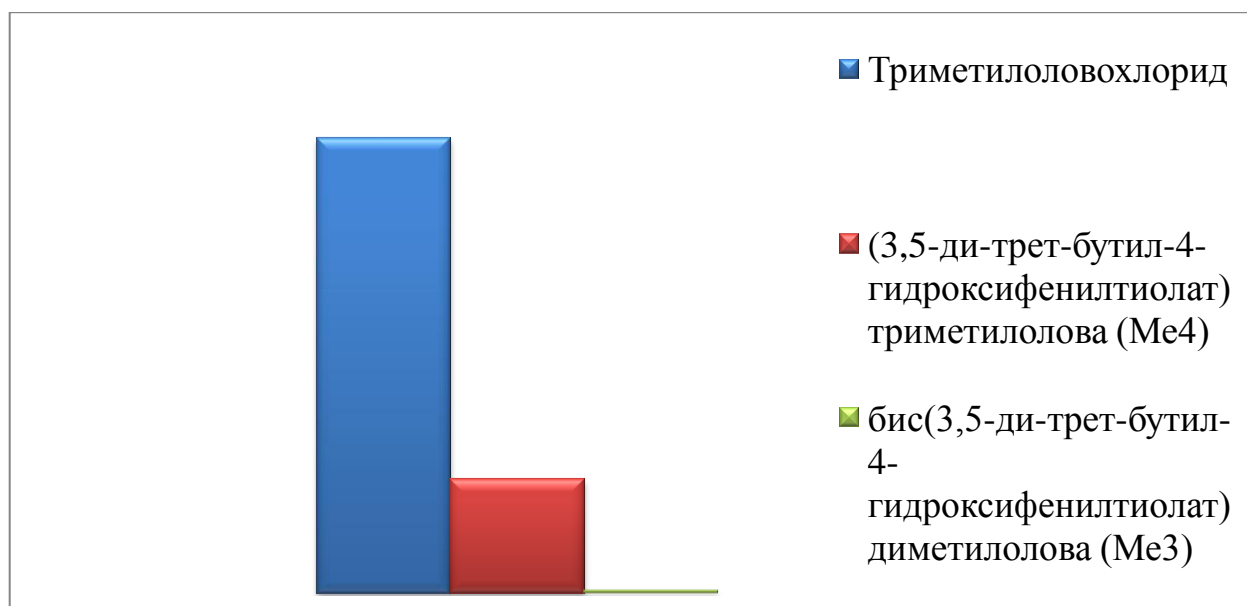


Рисунок 63 – Токсичность оловоорганических соединений по сравнению с аналогом более простой структуры

Снижение токсичности при введении фрагмента 2,6 ди-трет-бутил-фенола происходит на порядок.

Проявления изменений паренхиматозных органов при введении ООС с различными лигандными группировками в литературе описано мало.

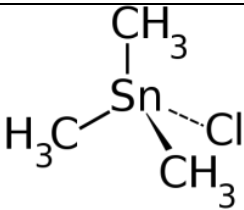
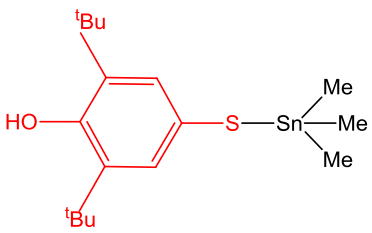
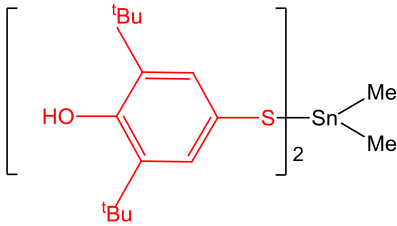
Ди-н-бутил-ди-(4-хлорбензогидроксамато)олово (IV) (DBDCT) увеличивает активность АсАТ и снижает активность АлАТ; ингибирование активности ферментов и окислительный стресс были основными механизмами, с помощью которых DBDCT индуцировала гепатотоксичность [Tang L. et al., 2017].

Нефротоксичность также связана с увеличением количества активных форм кислорода (АФК). Это увеличение приводит к перекисному окислению липидов, нарушению клеточной функции и гибели клеток. В сочетании ферментативная и неферментативная системы антиоксидантной защиты становятся дефицитными, что приводит к неконтролируемому образованию АФК, что, в свою очередь, является причиной повреждения почечной ткани [Barbosa C.M.L. et al., 2018].

Вместе эти данные свидетельствуют *in vivo* о том, что трибутиловохлорид токсичен для нормальной функции почек и что эти эффекты могут быть связаны с

осложнениями гистопатологии почек, такими как воспаление и фиброз [Coutinho J.V. et al., 2016].

Таблица 61 – Сравнительный анализ химической структуры ООС, последовательно модифицируемых введением фрагмента 2,6 ди-трет-бутил-фенола

Химическая формула	Международное название и лабораторный шифр	Химическая модификация
	триметилоловохлорид	Последовательное введение фрагмента 2,6 ди-трет-бутил-фенола в молекулу ООС.
	(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенилтиолат) триметилолова (Me-4)	
	бис(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенилтиолат) диметилолова (Me-3)	Последовательное введение фрагмента 2,6 ди-трет-бутил-фенола в молекулу ООС.

Примечание: Обозначение радикалов: tBu – трет-бутил, Me – метил.

В формировании патологического процесса интоксикации особую значимость приобретает морфофункциональное состояние печени и почек в период выраженной клинической картины отравления, как главных органов детоксикации и выведения ксенобиотиков. При срыве обезвреживающей и выводящей функции печени и почек может развиваться генерализованное воздействие экзогенных токсикантов и продуктов цитолиза на организм с дальнейшим развитием полиорганной недостаточности.

В доклинических исследованиях лекарственных препаратов некропсия и последующее гистопатологическое изучение органов и тканей – основные методы изучения токсичности, без которых невозможна адекватная оценка результатов эксперимента. Макроскопическая картина печени и почек в опытных группах характеризовалась изменениями разной степени выраженности: общим венозным застоем, изменением цвета и консистенции органов, что позволило предположить развитие дистрофических и/или некротических процессов.

Оценку специфической гепато-, нефро- и кардиотоксичности производили по изменению биохимических и морфологических маркеров токсичности.

Для характеристики токсичности тестируемых соединений наиболее информативной является оценка нарушений морфофункционального состояния на 7-е сутки развития интоксикации (рисунок 64). Традиционно используемые методы определения в крови активности ряда индикаторных ферментов и низкомолекулярных соединений, обладающих относительной органоспецифичностью, таких как АлАт, АсАт, ЛДГ, ЩФ и др. обладают низкой специфичностью по отношению к заболеваниям печени и почек. Условно можно разделить исследуемые биохимические маркеры на 2 типа - показатели : 1) цитолиза, 2) биосинтетической функции печени и выделительной функции почек.

Данные маркеры были использованы в исследовании для определения общего токсического воздействия тестируемых гибридных ООС, а также в качестве косвенных маркеров функционального состояния исследуемых органов.

Снижение активности трансаминаз не отражает истинной картины интоксикации. Данная группа ферментов относится к внутриклеточным ферментам, повышение активности АсАТ и АлАТ можно рассматривать как косвенный маркер цитолиза. Признаки цитолиза разной степени отмечены при морфологическом исследовании и наиболее выражены в печени животных, получивших соединение АК-26. Несоответствие биохимической и морфологической картины интоксикации может быть связано с химическим взаимодействием гибридных ООС и ферментов аминотрансфераз по принципу ингибирования. Увеличение активности других косвенных маркеров цитолиза

соответствует клинической и морфологической картине интоксикации. Биосинтетическая функция печени сохранена: во всех опытных группах выявлено увеличение мочевины и конъюгированного билирубина. По биохимическим и морфологическим признакам токсические повреждения можно отнести к разным степеням тяжести: при введении Me-3 – легкой, Me-5 – умеренной, АК-26 – тяжелой.

Для повышения ценности доклинического исследования новых соединений с предполагаемым противоопухолевым действием необходимо рассматривать неспецифические биохимические маркеры токсического повреждения органов параллельно с морфологическим исследованием, как ключевым методом доказательной медицины.

Высокий биоцидный потенциал низкомолекулярных ООС и возможности направленного молекулярного синтеза открыли широкие перспективы для разработки противоопухолевых и антиметастатических ЛП на основе производных олова. Введение фрагмента 2,6-ди-трет-бутилфенола – эффективный способ снижения токсичности модифицированных соединений по отношению к аналогам более простой структуры.

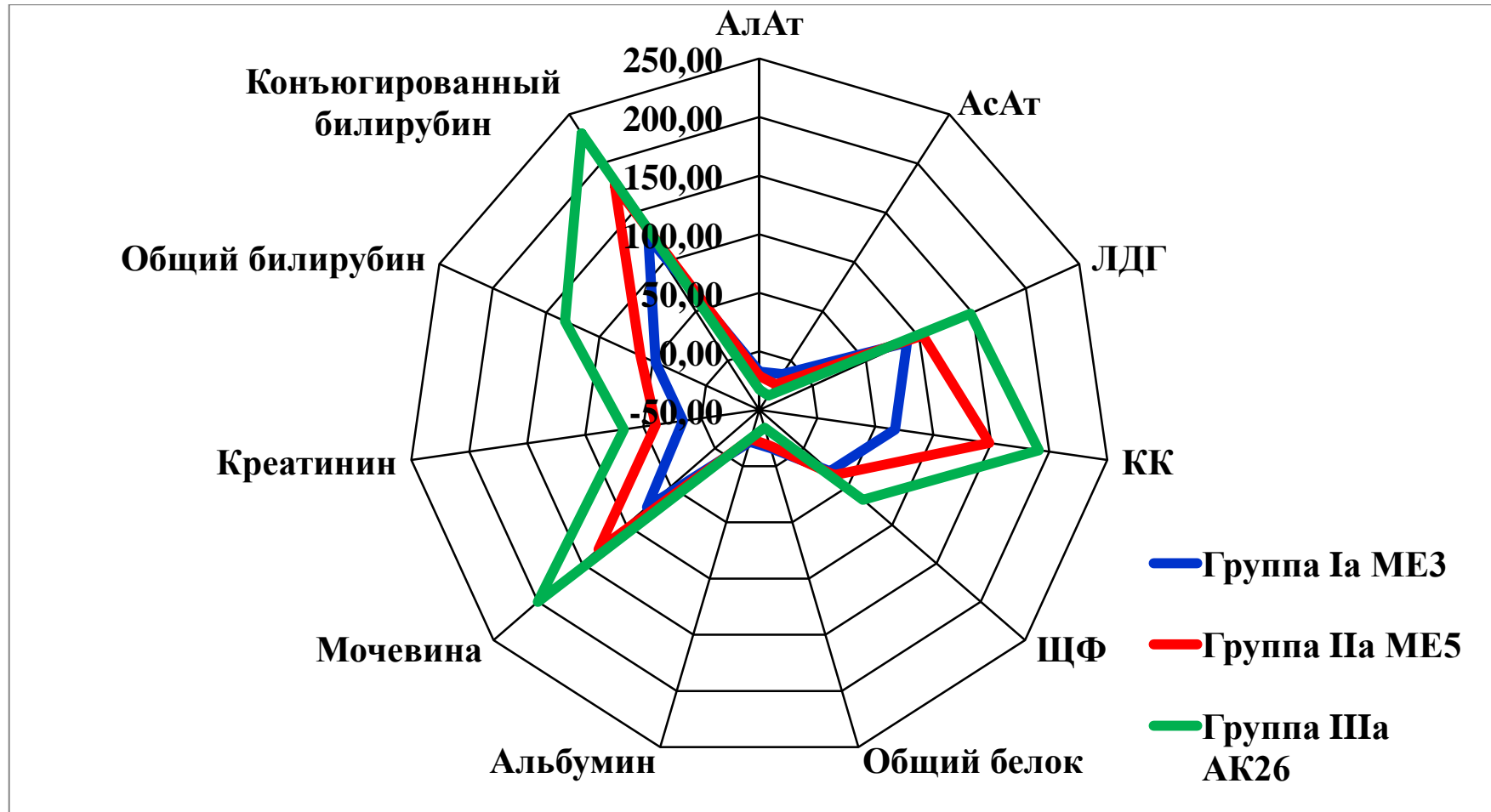


Рисунок 64 – Оценка нарушений морфофункционального состояния на 7-е сутки развития интоксикации

7.2. Соединения-лидеры из линейки исследованных гибридных органических производных олова бис-(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенил)тиолат диметилолова (Me-3) и (3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенил)тиолат трифенилолова (Me-5) имеют инверсивно зависимую от введенной дозы противоопухолевую и антиметастатическую активность, выявленную на перевиваемых опухолях мышей: меланоме B16 и эпидермоидной карциноме легкого Lewis.

Распространение злокачественных клеток из первичных опухолей, последующее образование ими новых опухолевых колоний в отдаленных тканях включает многостадийный процесс, известный как каскад инвазии–метастазирования [Markina I.G. et al., 2018]. Именно этот процесс и определяет степень злокачественности опухоли, продолжительность жизни и результативность лечения. Следует отметить, что эксперимент проведен таким образом, чтобы оценить возможности лечения первичного опухолевого очага и профилактики метастазирования под влиянием исследуемых ООС: в работе выполнено многократное введение субстанций через 48 часов после перевивки опухолевых клеток; то есть оценивался собственно антиметастатический эффект, направленный на профилактику образования вторичных очагов в отдаленных органах и тканях.

В результате скринингового исследования специфической активности выявлен умеренный противоопухолевый и высокий антиметастатический эффект соединения-лидера Me-3 на модели перевиваемой меланомы B16 мышей [Dodokhova M.A. et al., 2022] в максимально эффективной дозе 75мг/кг в сутки (торможение роста опухоли по массе 27%, индекс ингибирования метастазирования 54%). При повышении разовой дозы был отмечен токсический эффект, заключающийся в активации (стимуляция роста опухоли на 15%, индекс ингибирования метастазирования 27.3%) и генерализации опухолевого процесса с появлением новых сайтов метастазирования (печень).

На модели эпидермоидной карциномы Lewis наибольшую фармакологическую активность проявило соединение Me-5: торможение роста

первичного узла на 28% и активности метастазирования – на 68% [Dodokhova M.A. et al., 2021]. Для субстанции Me-5 суммарная доза 250мг/кг является максимально эффективной по влиянию на рост и развитие экспериментальной неоплазии. Введение ООС в высоких дозах привело к активации опухолевого процесса на всех этапах его развития: раннему и более выраженному метастазированию, а также диссеминации в нетипичные для экспериментальных моделей места (печень) и, как следствие, ранней гибели животных (снижение средней продолжительности жизни ниже контрольных значений).

Произведен сравнительный анализ изменения активности роста первичного опухолевого очага (ТРОМ, %) и метастазирования (ИИМ, %) на двух моделях солидного роста (рисунки 65, 66).

Однонаправленный характер изменений роста первичного опухолевого узла и метастазирования позволяет предположить, что гибридные ООС являются модифицирующими агентами.

Известно, что между опухолевой и нормальной тканями существуют значительные различия, которые проявляются на гистологическом и клеточно-молекулярном уровнях. В результате высокой интенсивности гликолиза клетки злокачественного новообразования в значительных количествах продуцируют лактат, который играет очень важную роль в формировании условий опухолевого микроокружения [Sotgia F. et al., 2011], облегчающих опухолевую инвазию и метастазирование [Payen V.L. et al., 2016]. Развитие и прогрессирование злокачественного новообразования зависят от продолжающейся коэволюции и взаимодействия с микроокружением опухоли [Huang Q. et al., 2021].



Рисунок 65 – Изменение активности роста первичного опухолевого узла (ТРОМ, %) под влиянием гибридных ООС

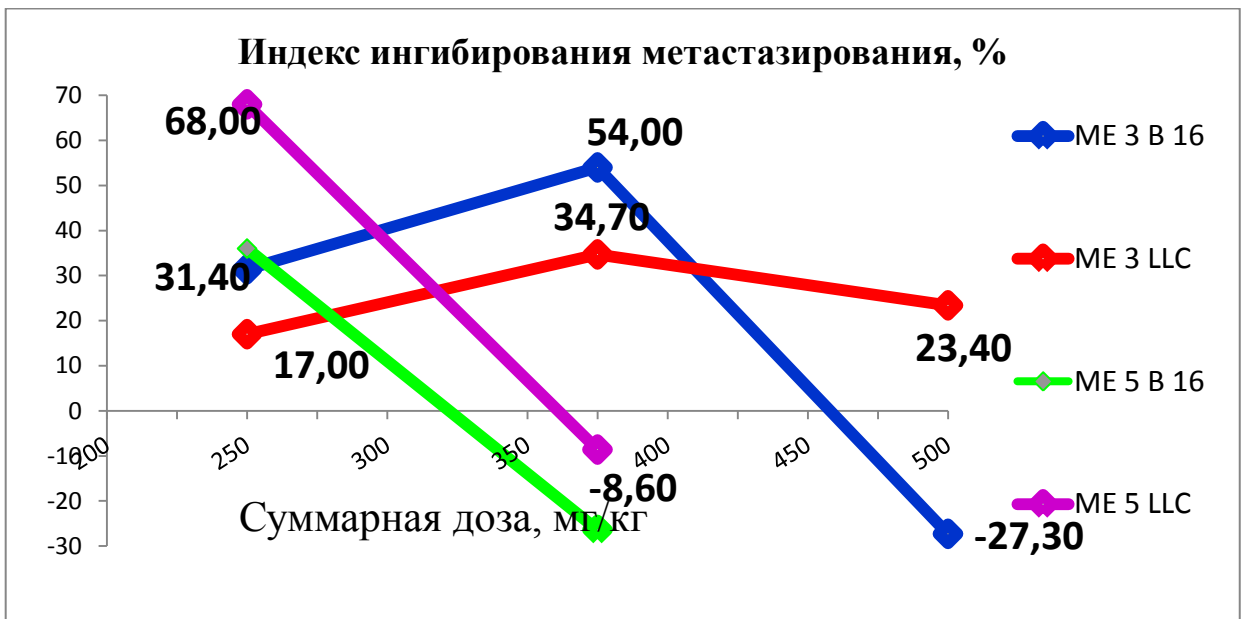


Рисунок 66 – Изменение активности метастазирования (ИИМ, %) под влиянием гибридных ООС

Меланома В16 и эпидермоидная карцинома Lewis являются универсальными моделями для оценки влияния соединений с предполагаемым противоопухолевым действием на первичный очаг опухолевого роста и процесс диссеминации опухолевых клеток. Темпы роста и развития опухолевого процесса

являются сопоставимыми и удобными для планирования доклинических исследований *in vivo*.

При проведении поискового изучения фармакологической активности в широком диапазоне доз более высокой степенью удобства для интерпретации данных (количество метастатических очагов в легких) обладает модель эпидермоидная карцинома Lewis.

Исходя из экспериментальных данных, возможно предположить, что инверсия противоопухолевого и антиметастатического эффекта и изменение привычного органотропизма может быть следствием модифицирующего влияния ГООС, которое зависит как от соотношения оловосодержащих и протекторных фрагментов, так и от вводимой дозы.

7.3. При введении гибридных органических производных олова и цисплатина в комбинированной терапии меланомы B16 и эпидермоидной карциномы легкого Lewis наблюдается не прямой синергический противоопухолевый и антиметастатический эффект.

К наиболее распространённым противоопухолевым препаратам относят алкилирующие лекарственные средства, в том числе и соединения платины. Первым химиотерапевтическим средством на основе металла был цисплатин, который до сих пор используется в качестве основного средства для лечения опухолей различных локализаций.

С целью повышения эффективности химиотерапии и преодоления резистентности при повторном курсовом и метронном режиме лечения злокачественных новообразований, успешно применяется подход комбинированного использования уже известных противоопухолевых и антиметастатических препаратов, а также новых перспективных кандидатов в лекарственные средства на этапе их изучения.

Как известно, действие двух и более веществ в одном направлении называют синергизмом. Если вещества действуют на одну и ту же систему организма – это прямой синергизм, если на разные системы – косвенный, или

непрямой. Когда после введения синергистов общий показатель действия не превышает сумму эффектов от доз каждого из них, говорят о суммированном (аддитивном – от лат. «прибавление») действии [Жуленко В.Н. и др., 2008]. Если же фармакологический эффект выше ожидаемого, то такое явление называют потенцированием.

При введении малых доз тестируемых соединений во всех опытных группах был получен результат, сопоставимый с суммой эффектов их применения в монорежиме введения (рисунки 67, 68).

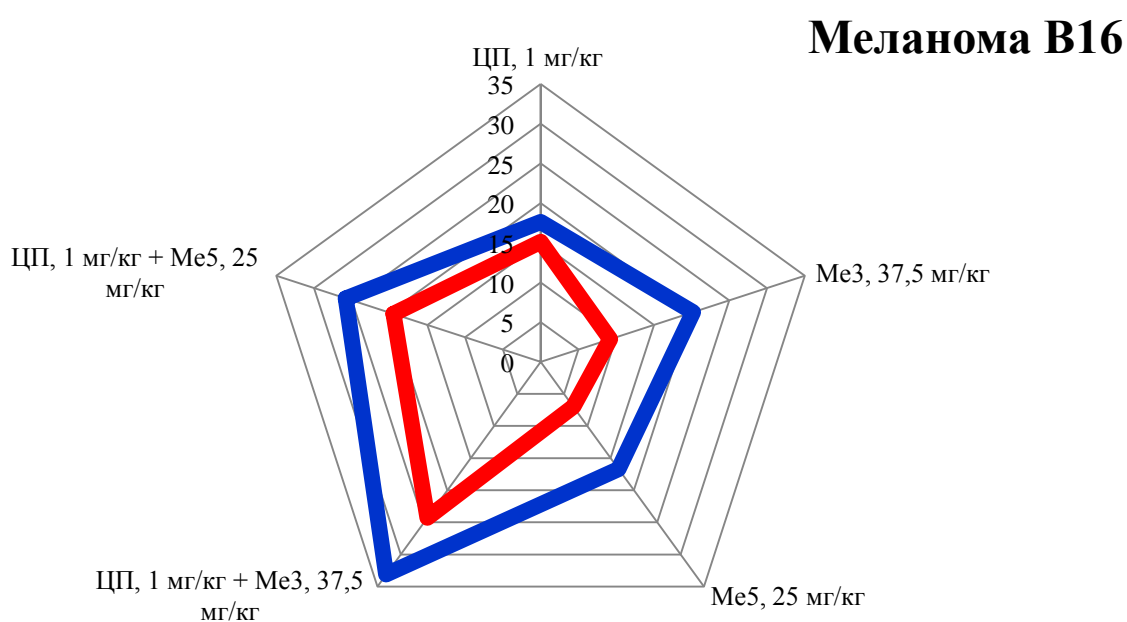


Рисунок 67 – Сравнительный анализ эффективности комбинированного введения цисплатина и гибридных ООС на модели меланомы В16.

Эпидермоидная карцинома Lewis

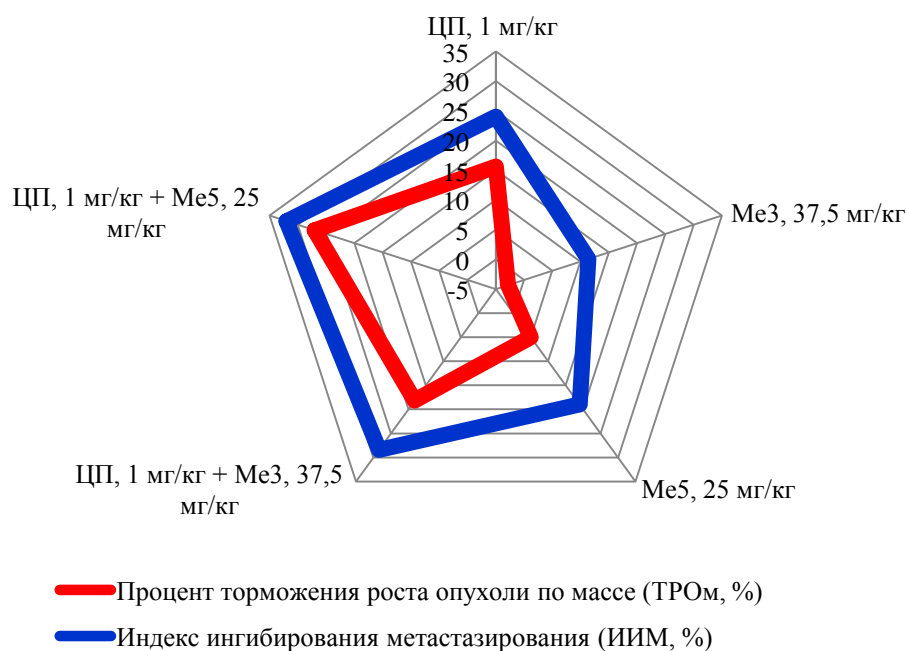


Рисунок 68 – Сравнительный анализ эффективности комбинированного введения цисплатина и гибридных ООС эпидермоидной карциномы Lewis.

Комплексное лечение лекарственными средствами обосновывает дальнейший шаг по пути совершенствования терапевтических возможностей – создание новых комбинированных препаратов. Анализ данных литературы свидетельствует о существенном росте в последние годы количества комбинированных препаратов, их появлении среди средств в разных фармакологических группах и положительной оценке их клинического применения [Копылов Н.А. и др., 2011].

7.4. Уровень окислительного стресса и активность апоптотических процессов являются ведущими признаками в патогенетическом механизме влияния гибридных оловоорганических соединений на ранней стадии развития опухолевого процесса.

Новые тестируемые нами гибридные биологически активные соединения на основе олова, сочетают стерически затрудненные фенольные и оловосодержащие

фрагменты в одной молекуле, могут иметь как прооксидантный, так и антиоксидантный потенциал.

Генетическая экспрессия, которая участвует в различных биологических процессах, связанных с метастазированием, также зависит от кислородного гомеостаза в микроокружении опухоли [Carnero A. et al., 2016]. Повышенные АФК были обнаружены почти при всех видах ЗН, где они способствуют многим аспектам развития и прогрессирования злокачественных новообразований. Однако опухолевые клетки также экспрессируют повышенные уровни антиоксидантных белков для детоксикации от АФК, что позволяет предположить, что для функционирования злокачественных клеток необходим тонкий баланс внутриклеточных уровней АФК [Liou, G.Y. et al., 2016]. Противоопухолевое лечение повышает внутриклеточные уровни активных форм кислорода [Klaunig J.E. et al., 2018; Jelic M. et al., 2021], что является ранним и необходимым событием для активации киназ, регулируемых внеклеточными сигналами.

В свою очередь, опухолевые клетки экспрессируют повышенные уровни антиоксидантных белков для детоксикации повышенных уровней АФК, установления окислительно-восстановительного баланса при сохранении протуморогенной передачи сигналов и устойчивости к апоптозу. Злокачественные клетки имеют измененный окислительно-восстановительный баланс по сравнению с их нормальными аналогами, и это идентифицирует манипуляции с АФК как потенциальной мишенью для лечения рака [Moloney J.N. et al., 2018]. В отличие от вредного воздействия окислительного стресса при различных патологиях, кроме ЗН, АФК могут ускорять передачу противоопухолевых сигналов и вызывать апоптоз опухолевых клеток посредством окислительного стресса. Многие сигнальные пути, связанные с онкогенезом, могут также регулировать метаболизм активных форм кислорода посредством прямых или косвенных механизмов [Gorrini C. et al., 2013]. Антиоксиданты в злокачественных клетках могут удалять избыток АФК, вызывая устойчивость к апоптозу, индуцированному АФК [Montero A.J. et al., 2011].

Оловоорганические соединения, будучи биологически активными, влияют на различные клеточные функции (рисунок 69-72) благодаря своей способности накапливаться в биологических мембранах и проникать в них [Przybyło M. et al., 2017].

Действие ООС с различными лигандными группировками было проанализировано с точки зрения митохондриального метаболизма. Карбоксилаты дибутилолова (IV) способны активировать каспазы-3 с реализацией антипролиферативного действия через активацию апоптоза [Waseem D. et al., 2022].

Четыре новых оловоорганических комплекса с лигандом 2-тиенилселеноуксусной кислоты: $[\text{Me}_3\text{Sn}(\text{O}_2\text{CCH}_2\text{SeC}_4\text{H}_3\text{S}-\text{o})]_n$, $[(\text{Ph}_3\text{Sn})_6(\text{O}_2\text{CCH}_2\text{SeC}_4\text{H}_3\text{S}-\text{o})_6]$, $[(\text{Me}_2\text{Sn})_4(\mu_3-\text{O})_2(\text{O}_2\text{CCH}_2\text{SeC}_4\text{H}_3\text{S}-\text{o})_4]$ и $[(\text{PhSn})_6(\mu_3-\text{O})_6(\text{O}_2\text{CCH}_2\text{SeC}_4\text{H}_3\text{S}-\text{o})_6]$ вызывают апоптозную гибель клеток за счет накопления АФК и коллапса митохондриальной мембраны (ММП) [Zhang Y.Y. et al., 2016]. Низкомолекулярные ООС необратимо ингибируют энергетический метаболизм в митохондрии [Liu Z. et al., 2021]. Трибутиловохлорид увеличивает цитозольную, митохондриальную продукцию АФК и снижает потенциал митохондриальной мембраны [Pereira C.L.V. et al., 2019].

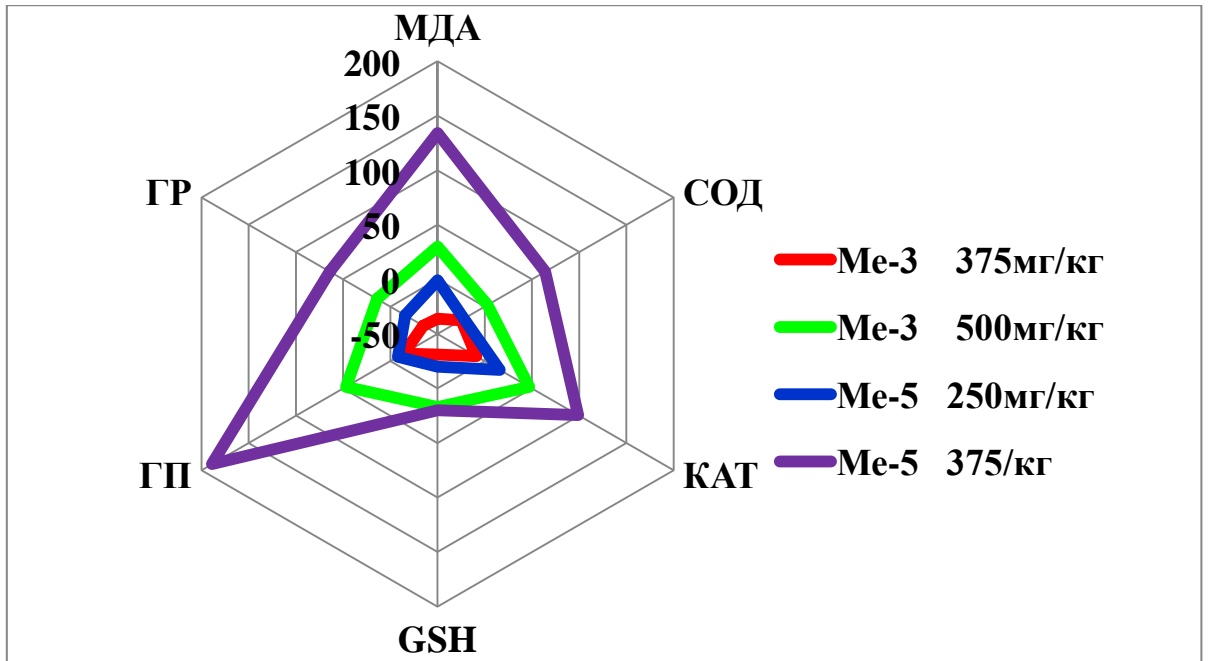


Рисунок 69 – Сравнительный анализ изменения маркеров перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты печени животных-носителей меланомы B16 через 7 суток после перевивки опухолевых клеток

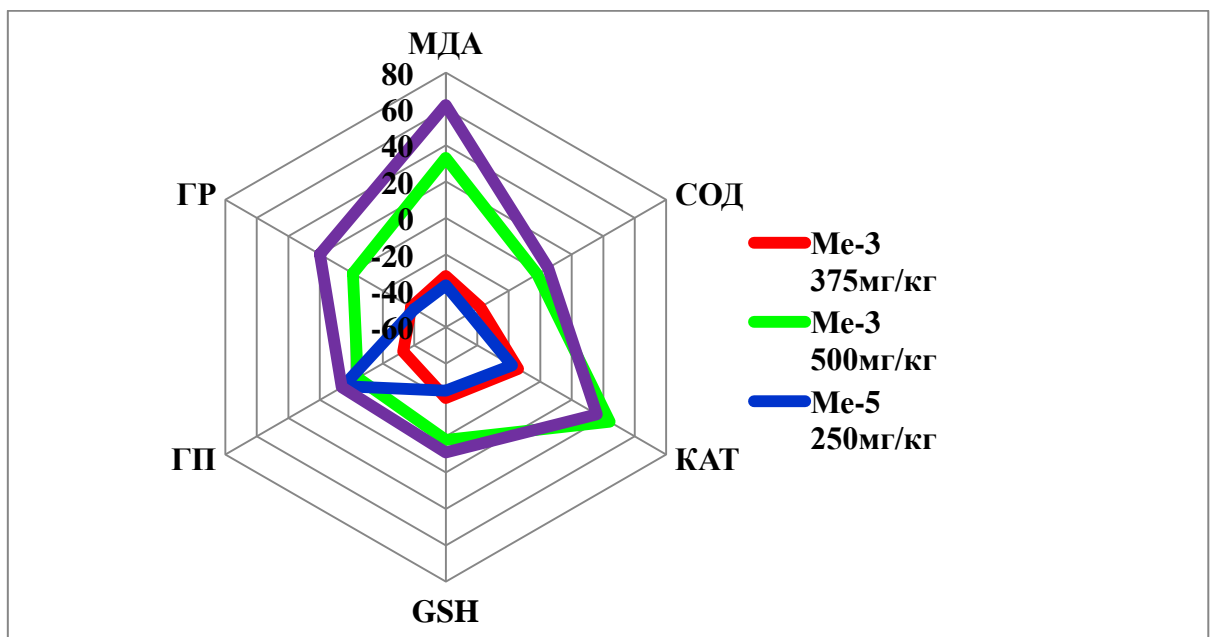


Рисунок 70 – Сравнительный анализ изменения маркеров перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты печени животных-носителей эпидермоидной карциномы Lewis через 7 суток после перевивки опухолевых клеток

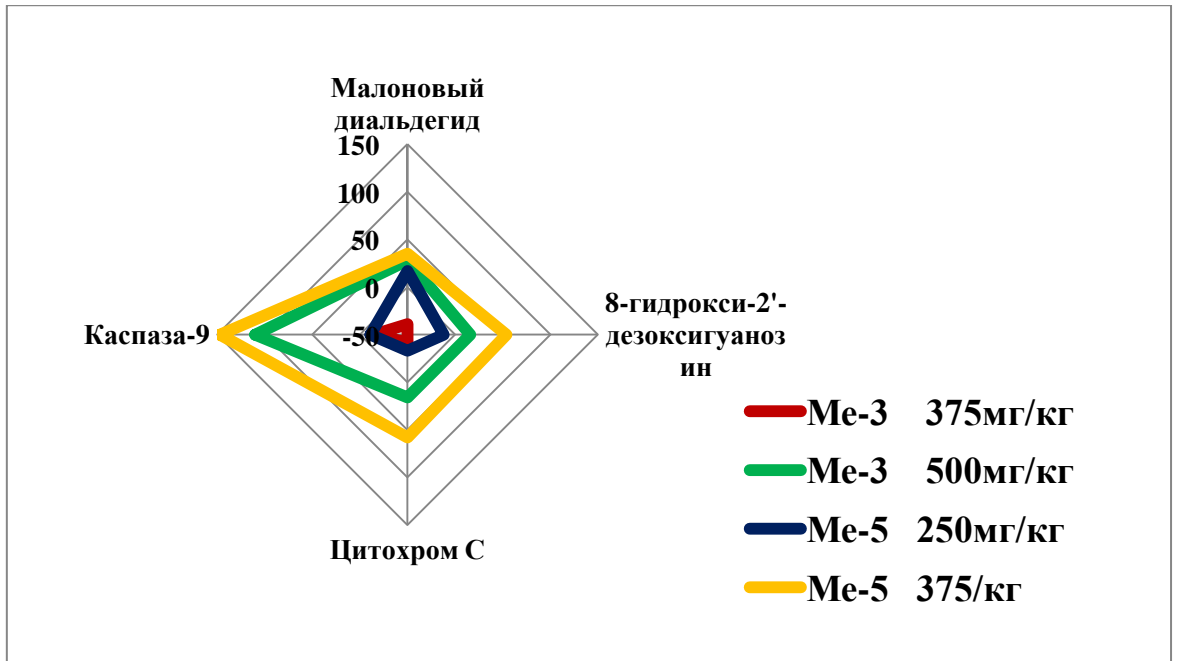


Рисунок 71 – Сравнительный анализ изменения молекулярных маркеров апоптотических процессов и МДА митохондриальной фракции печени мышечных носителей меланомы В16 через 7 суток после перевивки опухолевых клеток

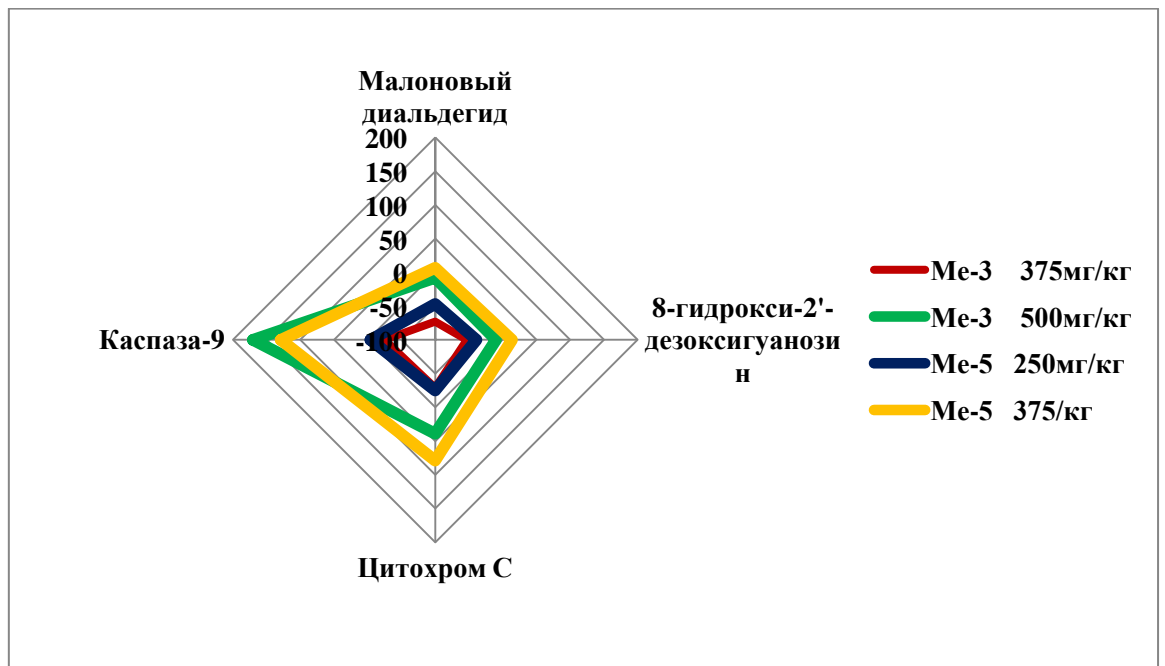


Рисунок 72 – Сравнительный анализ изменения молекулярных маркеров апоптотических процессов и МДА митохондриальной фракции печени мышечных носителей эпидермоидной карциномы Lewis через 7 суток после перевивки опухолевых клеток

Изменения клеточного метаболизма в ответ на АФК очень сложны и зависят от множества факторов, включая типы, уровни, локализацию и стойкость АФК, а также происхождение, среды и стадии развития опухолевого процесса. Это растущее понимание сложности АФК при злокачественных новообразованиях открывает широкие перспективы для раскрытия потенциала терапии, направленной на АФК, для лечения ЗН с помощью гибридных ООС [Cheung E.C. et al., 2022].

Интенсивность окислительного стресса из-за дисбаланса между продукцией и детоксикацией АФК играет ключевую роль в определении изменения метаболизма при введении гибридных ООС. При введении тестируемых соединений величина противоопухолевой и антиметастатической активности зависит не только от соотношения про/антиоксидантных фрагментов в молекуле, но и от вводимой дозы, что ведет к реализации различных патогенетических механизмов их действия. Различия в интенсивности апоптоза в условно здоровой и опухолевой клетке могут быть вызваны разными значениями рН межклеточного пространства [Sun H.N. et al., 2017]. Определенную роль в избирательной проницаемости играют различные липофильно-гидрофильные свойства Me-3 и Me-5 [Cano A. et al., 2002].

Установлено, что опухолевые клетки имеют более высокий внутриклеточный рН (pH_c) – 7,12-7,65 при норме 6,99-7,2 – и более низкий внеклеточный рН (pH_e) – 6,2-6,9 при норме 7,3-7,4 [Reshkin S.J. et al., 2013]. В результате на мембране клеток формируется обратный градиент рН ($\Delta pH_c/\Delta pH_e$), существенно смещенный от электрохимического равновесия протонов, что, в конечном счете, способствует опухолевой прогрессии. Было показано, что обратный градиент рН формируется в самом начале неопластического процесса и со временем увеличивается [Cardone R.A. et al., 2005]. Такой специфический и патологически измененный градиент рН опухолевых и условно здоровых клеток полностью меняет течение термодинамических процессов в клетке на молекулярном уровне и в настоящее время рассматривается в качестве определяющей характеристики опухолевых клеток [Дружкова И.Н., 2021;

Swietach P. et al., 2014; White K.A. et al., 2017]. При закислении среды возможным механизмом избирательной проницаемости может быть повышение липофильности гибридных ООС при их протонировании [Cardone R.A. et al., 2005].

Динамические изменения про/антиоксидативного состояния микросреды ткани печени как мишени метастазирования меланомы В16 можно объяснить с точки зрения опухолевой перестройки клеточного метаболизма организма в целом [Morresi C. et al., 2018]. Гипоксия и дефицит макроэргических соединений, наблюдаемые при развитии злокачественной неоплазии [Butkevičiūtė A. et al., 2018], индуцирует развитие окислительного стресса, что ведёт к повреждению биологических мембран с изменением их проницаемости. Увеличенное образование АФК и гидроперекисей липидов приводит к активации ферментативного звена АОЗ клетки преимущественно за счёт ГП.

Микроокружение опухоли играет важную роль в управлении судьбой опухолевых клеток и сильно зависит от состава внеклеточного матрикса [Butkeviciute A. et al., 2021].

Клетки многих злокачественных новообразований для поддержания пролиферации и выживания увеличивают скорость гликолиза, обеспечивая повышенный поток субстрата биосинтетических путей, частично осуществляемых в митохондриях. В результате активации метаболического потока через митохондриальные пути повышается связанное с этим производство АФК в опухолевых клетках, что влечет за собой активацию путей антиоксидантного ответа клеток с угнетением всех антиоксидантных ферментов [Bandovkina V.A. et al., 2017]. Дисбаланс скоростей ПОЛ и активности ферментативной и неферментативной антиоксидантной защиты – одно из условий, способствующих окислительному стрессу в организме.

Исследуемые биологически активные соединения на основе металлокомплексов олова (IV) за счет введения фрагмента пространственно-затрудненного фенола приобретают свойство избирательной проницаемости в

здоровую и злокачественно измененную клетку и активно влияют на про/антиоксидантный баланс в ней [Dodokhova M.A. et al., 2021].

Me-3 и Me-5 внутри клетки могут подвергаться гидролизу по связи S-Sn с образованием первичных метаболитов: гидроксидов Me_3SnOH или Ph_3SnOH и 2,6-ди-трет-бутил-4-меркаптофенола. Атом водорода фенольной OH-группы легко отщепляется под действием пероксильных радикалов, образуя относительно нереакционноспособный феноксильный радикал, который может взаимодействовать с другими пероксильными радикалами, обрывая цепной радикальный процесс [Антоненко Т.А., 2019; Milaeva E.R. et al., 2020, Milaeva E.R. et al., 2021]. Оловосодержащий фрагмент наряду с прямым биоцидным действием (повреждение ДНК и тубулина) промотирует образование АФК и способствует развитию апоптоза [Милаева Е.Р. и др., 2022; Kobliakov V.A., 2019; Alfarouk K.O. et al., 2020].

В торможении злокачественной инвазии, как и в увеличении проницаемости в опухолевую клетку Me-3 и Me-5, большую роль играет изменение концентрации водородных ионов при активном росте первичного узла и отдаленных очагов злокачественного роста. Показано, что инвазия происходит из зон опухоли с пониженным уровнем pH, а в зонах опухоли с нормальным уровнем pH инвазии не наблюдается [Kobliakov V.A., 2017].

При введении в терапевтических дозах, Me-3 и Me-5, имея в своем составе антиоксидантный фрагмент, снижают уровень АФК и продуктов повреждения молекул в процессе окислительного стресса – в мембранах гидроперекисей, кетоальдегидов и других продуктов, избыточно синтезируемых в тканях организма при перестройке метаболизма в целом. Защитное действие гибридных ООС реализуется в увеличении устойчивости внутренних органов к метастазированию. В подтверждение нашей гипотезы можно привести результаты исследований других авторов. Так, например, была установлена эффективность антиоксидантов из класса пространственно затрудненных фенолов в плане защиты печени от метастазирования при токсической гепатопатии [Menshchikova E.B. et al., 2019].

В более кислой среде межклеточного пространства опухолевой ткани соединения Me-3 и Me-5 более липофильны, что способствует эффективному проникновению через биологические мембраны. Полученные результаты указывают на существенное значение функционального состояния органа для устойчивости в отношении развития метастазов в нем.

При введении доз гибридных ООС, являющихся токсическими, избыточное образование АФК способствует клеточной пролиферации, последующей опухолевой инвазии и стимулирует процессы метастазирования [Puzakov K.K. et al., 2018; Vostrikova S.M. et al., 2018].

Полученные результаты позволяют сделать вывод о том, что объединение в одной молекуле редокс-активного металлического центра и цитопротекторной функциональной органической части с антиоксидантной функцией является перспективным направлением рационального конструирования металлопрепаратов в современной медицинской химии [Milaeva E.R. et al., 2017]. Снижение продукции клеточных АФК под действием эффективной дозы гибридных ООС может подавить экстравазацию опухолевых клеток [Ma S. et al., 2017].

Необходимо отметить, что в ответ на чрезмерное количество АФК при введении токсических доз гибридных ООС активируется апоптотический сигнальный путь, способствующий гибели клеток [Sajadimajd S. et al., 2018].

Сформулированные положения о модификационных особенностях в структуре органических производных олова (IV) могут быть использованы для создания более активных соединений с высокой избирательностью действия.

7.5. Реализация патогенетических механизмов противоопухолевой и антиметастатической эффективности гибридных оловоорганических соединений зависит от соотношения оловосодержащих и антиоксидантных фрагментов в молекуле и введенной дозы.

Некоторая селективность действия на условно здоровую и опухолевую клетку в большей степени зависит от структуры молекулы и обусловлена

различной степенью диссоциации фенольного фрагмента в более кислой среде межклеточного пространства опухолевой ткани (рисунок 73).

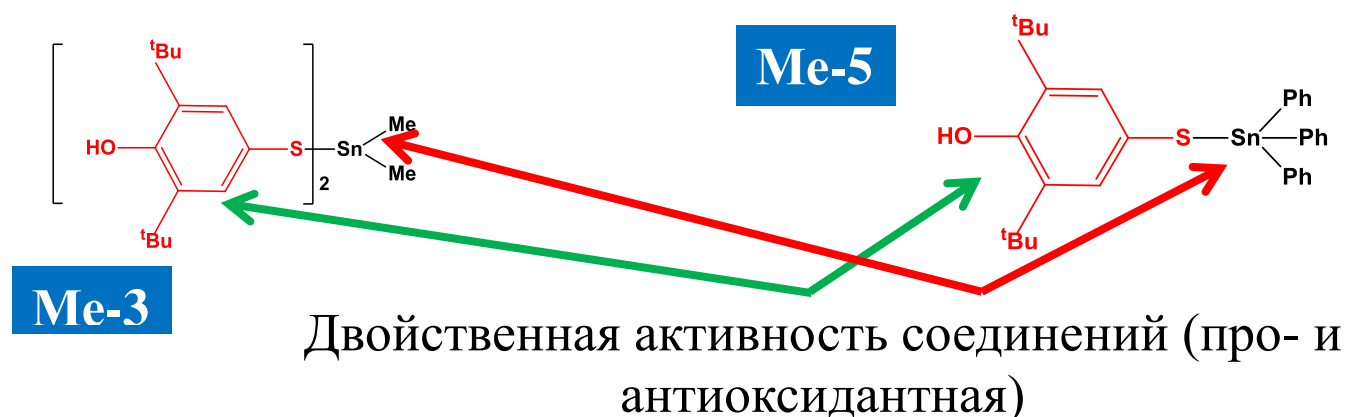


Рисунок 73 – Сравнительный анализ молекулярного строения тестируемых соединений

Инверсионная дозозависимая активность тестируемых соединений обусловлена активацией различных звеньев клеточного метаболизма.

Высокий антиметастатический эффект гибридных оловоорганических соединений в большей степени обусловлен увеличением резистентности тканей-мишеней для метастазирования.

Активация опухолевого процесса в сильнее связана с массивным повреждением высокомолекулярных соединений в клетке и неселективным запуском митохондриального апоптотического механизма (рисунок 74).

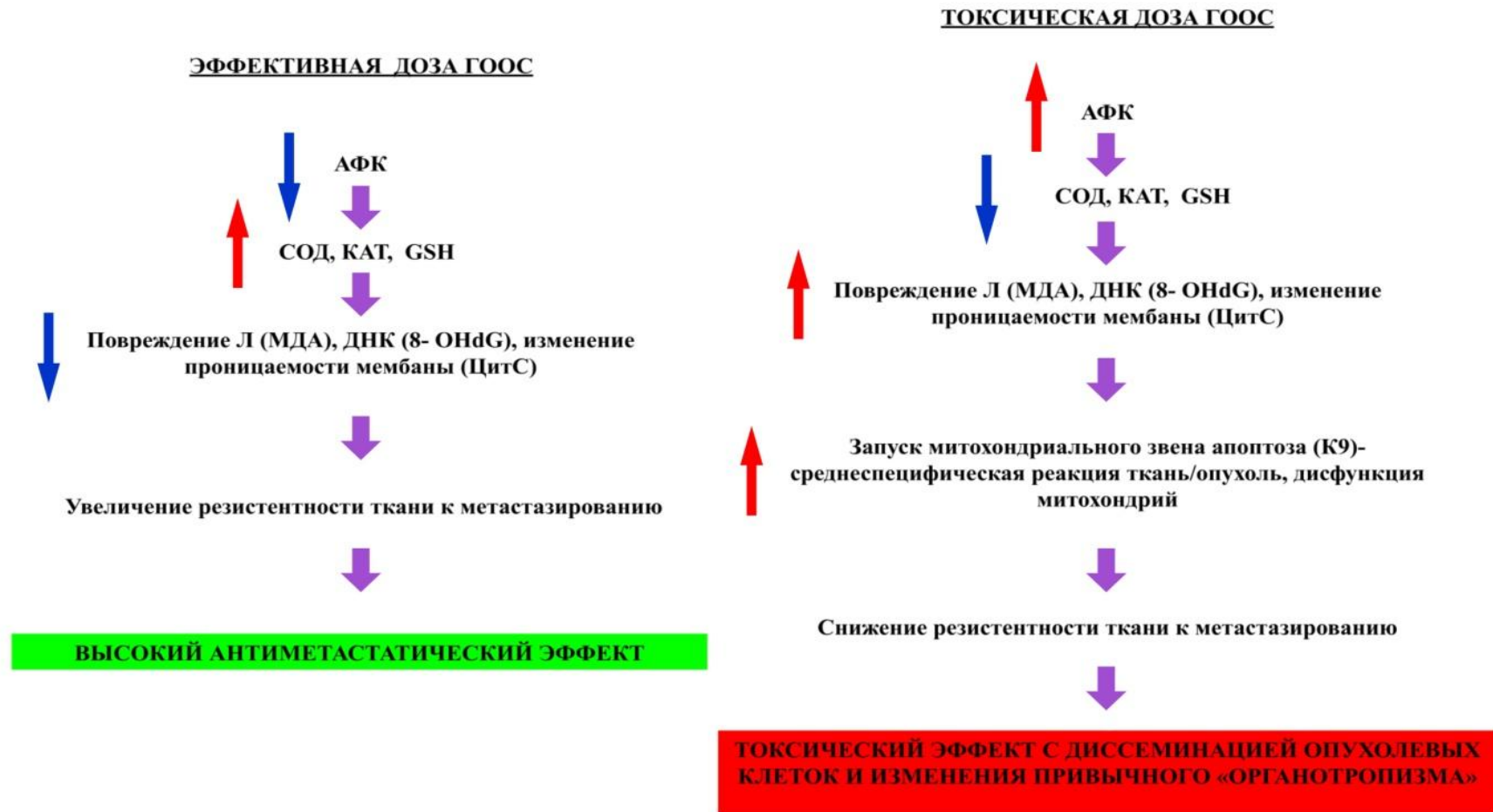


Рисунок 74 – Патогенетическая схема реализации противоопухолевого и антиметастатического действия гибридных оловоорганических соединений

7.6. Применение «упрощенного» алгоритма скринингового исследования активности соединений с предполагаемым противоопухолевым действием позволит увеличить эффективность отбора перспективных соединений для углубленного изучения.

Разработка новых оригинальных высокоэффективных лекарственных средств для лечения онкологических заболеваний, является одной из основных целей Стратегии развития медицинской науки в Российской Федерации на период до 2025 года.

Мировые продажи лекарственных препаратов в области лечения онкологических заболеваний в 2020 году лидируют среди других терапевтических групп. Результаты годового отчета «Фармацевтический рынок России за 2020г» убедительно показывают, что количество соединений, которые находятся на этапах доклинических и клинических исследований в качестве кандидатов в лекарственные средства в России в 2015-2019 годах неуклонно растет (рисунок 75).

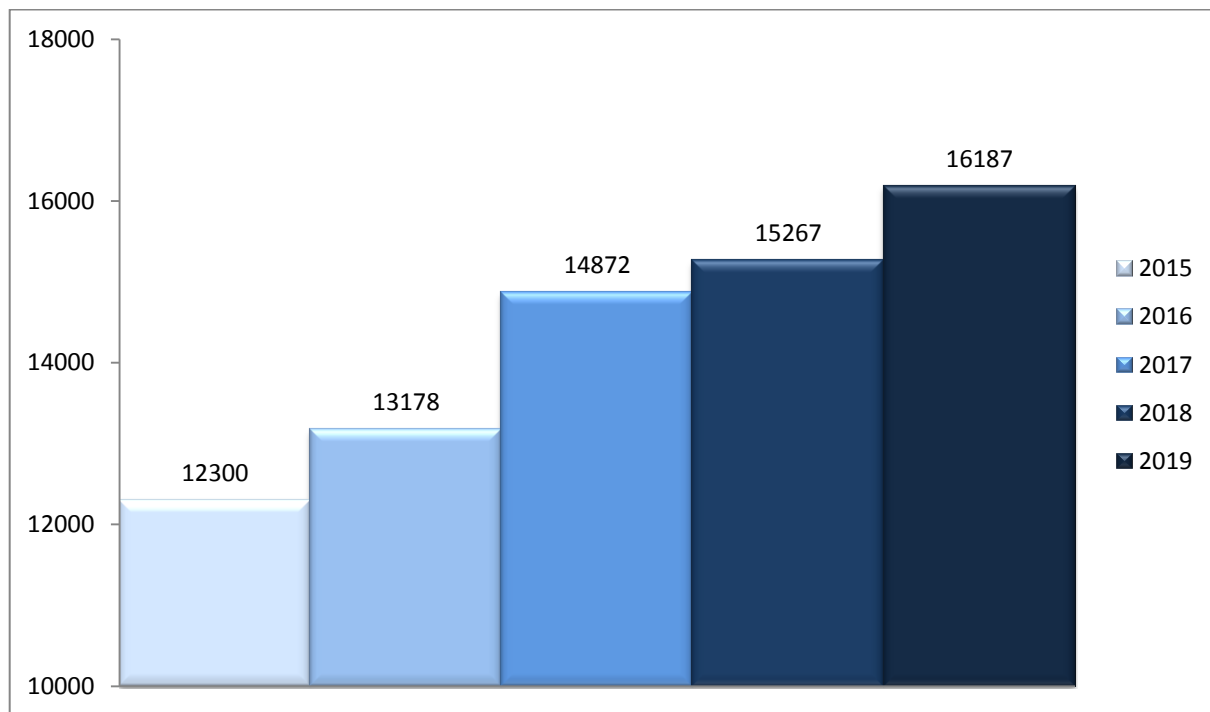


Рисунок 75 - количество соединений, которые находятся на этапах доклинических и клинических исследований в качестве кандидатов в лекарственные средства в России в 2015-2019 годах

Около 40 % из общего количества соединения - субстанции с предполагаемым противоопухолевым действием.

Несомненно, путь к любому лекарственному препарату начинается с научных разработок.

Трудоемкость, длительность и большая стоимость исследований на животных делает актуальным повышение уровня их информативности и эффективности. Стандартизация процедур и увеличение результативности доклинических исследований для перспективной разработки новых отечественных противоопухолевых препаратов является важнейшей задачей для междисциплинарных исследований.

Экспериментальные исследования в этой области многочисленны, но не стандартизированы. В этой связи актуальной является стандартизация последовательности процедур, описывающих порядок действий для решения вопроса о целесообразности дальнейшего исследования конкретного соединения с предполагаемым противоопухолевым действием.

Разработанная нами методика имеет следующие принципиально новые авторские подходы:

1. Получение более точных данных о токсичности (класс токсичности по СГС и ориентировочное значение LD_{50} исследуемых ООС по модифицированному протоколу OECD 420 – введение еще одной промежуточной дозы 1000 мг/кг в процедуры предварительного испытания) дает возможность предположить более узкий диапазон LD_{50} для соединения Me-5 (рисунок 76).

2. Выбор разовых доз тестируемых соединений для скринингового (до естественной смерти животных) изучения необходимо проводить в зависимости от класса токсичности ООС, а не эмпирически. Нами выведена тенденция отбора доз (рисунок 77).

3. К изучению специфической фармакологической активности на моделях злокачественных новообразований целесообразно использовать соединения IV и V класса токсичности по СГС. Возможность использовать

вещества III класса токсичности по СГС в экспериментальной химиотерапии ограничена узким терапевтическим диапазоном применения (рисунок 76).

Методика является универсальной и может быть использована для скринингового исследования *in vivo* большого количества соединений с предполагаемым противоопухолевым действием.

I этап доклинических исследований in vivo

Оценка безопасности применения

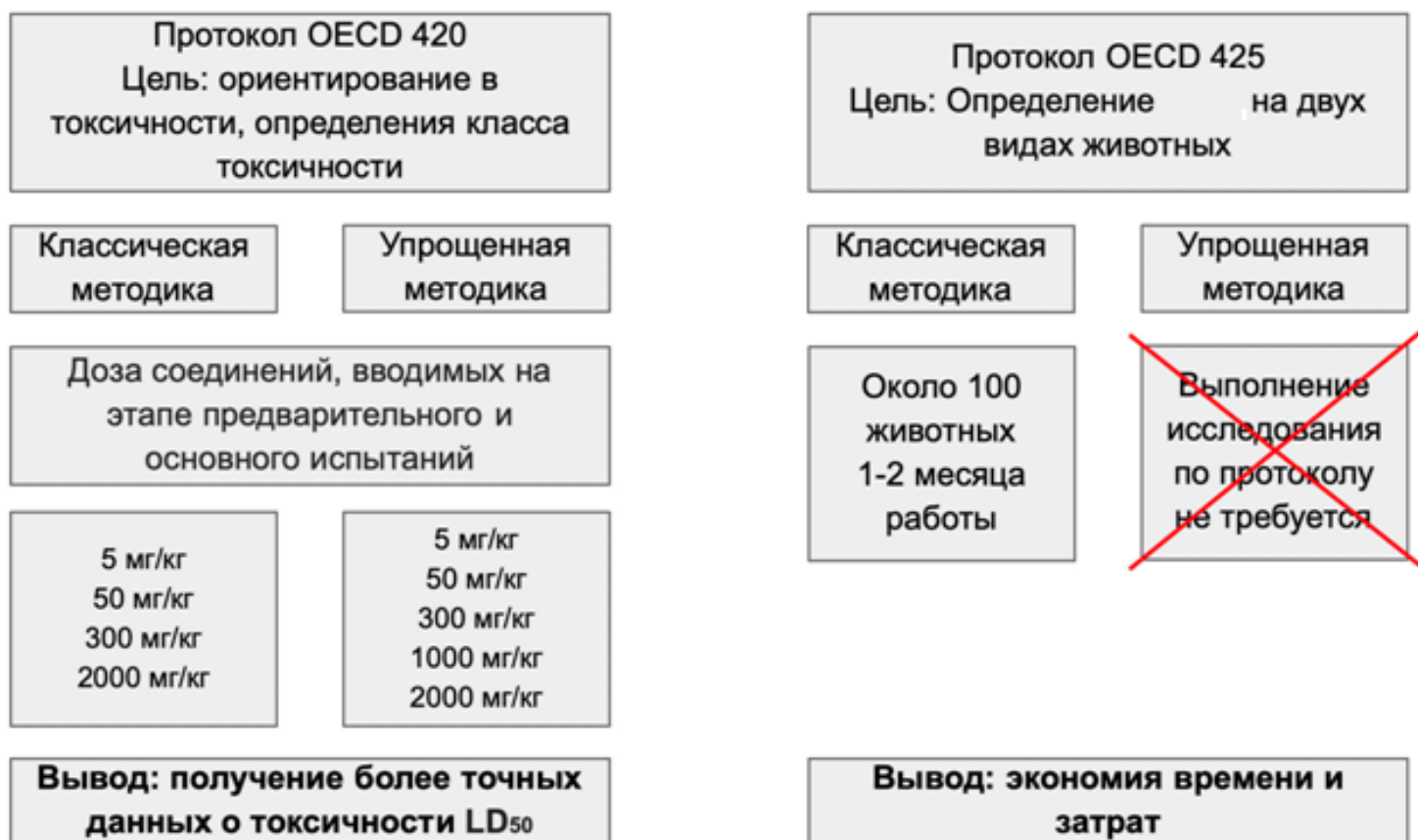


Рисунок 76 – Сравнительный анализ выполнения первого этапа доклинических исследований *in vivo* по двум методикам его проведения

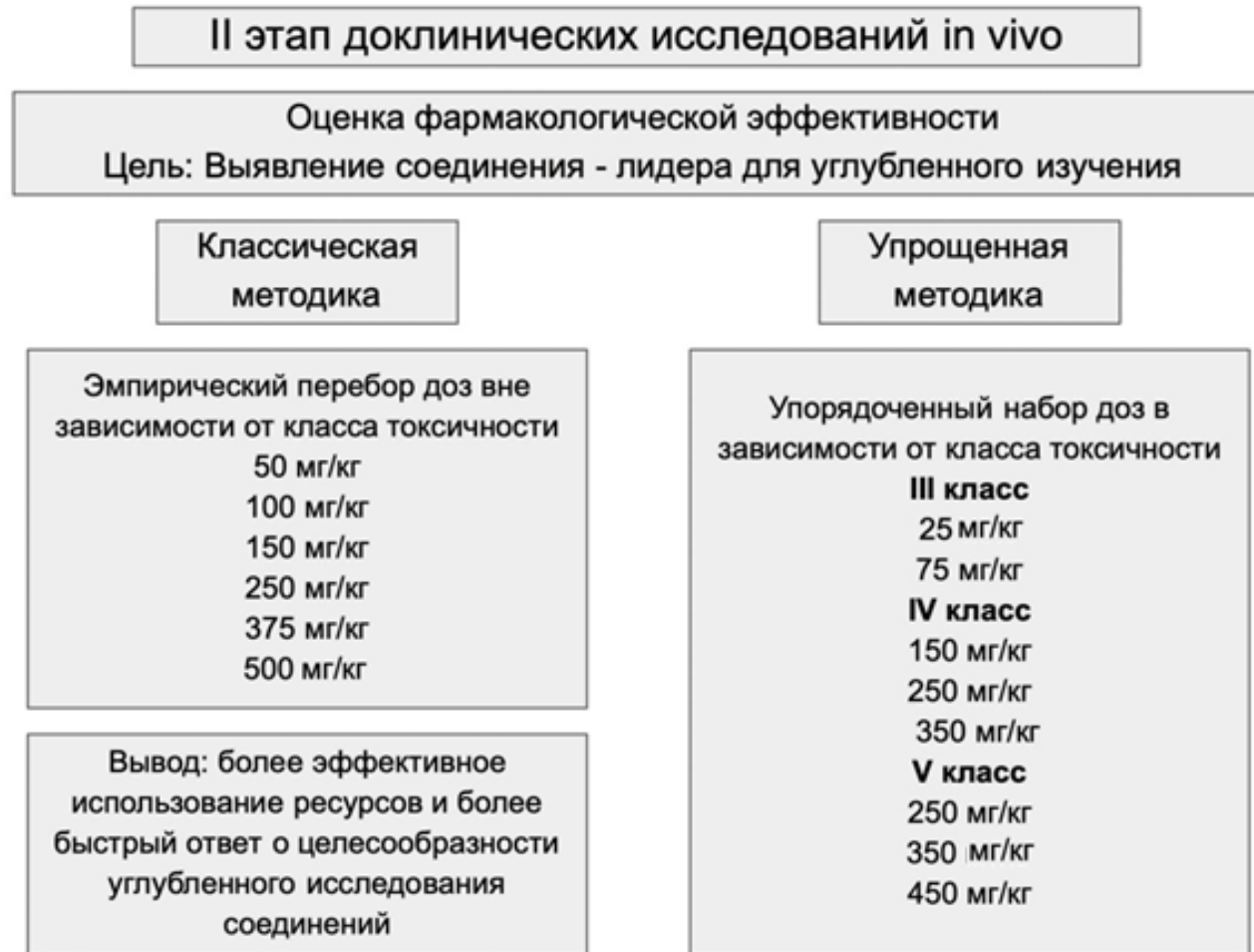


Рисунок 77 – Сравнительный анализ выполнения второго этапа доклинических исследований *in vivo* по двум методикам его проведения

ВЫВОДЫ

1. Средняя доза вещества, вызывающая гибель половины животных испытуемой группы (LD_{50}), для Me-3 значительно более 2000 мг/кг, что позволяет отнести это соединение к V классу токсичности; для Me-5, классифицированного как соединение IV класса токсичности, LD_{50} составило от 954 мг/кг; АК-26 отнесено к III классу токсичности: значение его полуметальной дозы около 354 мг/кг; наибольшую токсичность проявило соединение Me-4 – его LD_{50} находится в пределах от 5 до 50 мг/кг, данные токсикометрические показатели соответствуют II классу токсичности. Степень токсического влияния на паренхиматозные органы оценивается как умеренная при введении соединений Me-3 и Me-5; как тяжелая – при введении АК-26.

2. При введении гибридных органических производных олова Me-3 и Me-5 максимально эффективными на обеих моделях опухолевого роста оказались суммарные дозы 375 мг/кг и 250 мг/кг соответственно, Дальнейшее увеличение вводимой дозы привело к инверсии влияния на рост и развитие экспериментальных неоплазий с активацией диссеминарования опухолевого процесса.

3. Влияние комбинации Me-3 и Me-5 с цисплатином в малых дозах имеет более выраженный противоопухолевый и антиметастатический эффект по всем категориям оценивания, чем применение данных соединений в монорежиме.

4. В зависимости от дозы соединение Me-3 ведёт себя как типичный антиоксидант (суммарная доза 375 мг/кг) или как прооксидант (суммарная доза 500 мг/кг). Me-5 не проявляет свой антиоксидантный потенциал в дозе 250 мг/кг, с увеличением его дозы прооксидантный потенциал увеличивается вдвое. Механизм развития противоопухолевого и антиметастатического эффекта зависит от введенной дозы.

5. При введении эффективной дозы гибридных оловоорганических соединений происходит снижение активности перекисного окисления и увеличение резистентности ткани к метастазированию. Введение токсичной дозы

запускает неспецифическую активацию митохондриального звена апоптоза с изменением привычного органотропизма.

6. Введение одной промежуточной дозы 1000 мг/кг в процедуры предварительного испытания (1 животное) дает возможность предположить более узкий диапазон LD₅₀. Применение упорядоченного подбора доз в зависимости от класса токсичности не требует исследования по протоколу OECD 425 и при определении эффективности на моделях опухолевого роста позволяет сократить количество подопытных животных на 50%.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для снижения неспецифической токсичности металлоорганических соединений в процессе конструирования новых противоопухолевых средств эффективным способом является введение фрагмента 2,6-ди-трет-бутилфенола.

2. Морфологическое исследование паренхиматозных органов в динамике развития токсического повреждения является более информативным и доказательным, чем биохимическое исследование.

3. При изучении гибридных соединений металлов как кандидатов в противоопухолевые средства их патогенетические механизмы необходимо оценивать не только в разные сроки опухолевого процесса, но и в разных дозах введения.

4. Упрощенный алгоритм доклинического исследования соединений с предполагаемым противоопухолевым действием целесообразно использовать для изучения широкого спектра органических соединений на основе различных металлов.

5. В качестве кандидатов в противоопухолевые средства целесообразно рассматривать соединения IV и V классов токсичности по СГС.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

8-OHdG	– 8-гидрокси-2'-дезоксигуанозина
GSH	– восстановленный глутатион
HCT-15	– клетки колоректальной аденокарциномы, типа C
HeLa	– рак шейки матки
HepG2	– гепатоцеллюлярная карцинома
K-562	– миелогенный лейкоз
KB	– клеточная линия рака носоглотки
LMS	– клетки леймиосаркомы
MCF-7	– аденокарцинома молочной железы
MDA-MB-231	– инвазивный протоковый рак молочной железы
MRC-5	– клетки нормальных фибробластов легких плода человека
NAC	– ацетилцистеин
OECD	– Organisation for Economic Co-operation and Development (Организация экономического сотрудничества и развития)
SK-LMS-1	– клетки лейомиосаркомы
SKLU-1	– аденокарцинома легкого человека
SnCMB	– оловоорганический комплекс
SnMNA	– комплекс олова с 2-меркаптотоникотиновой кислотой
U-251	– глиобластома человека
АОЗ	– антиоксидантная защита
АОС	– антиоксидантная система
АФК	– активные формы кислорода
ВВ	– вспомогательные вещества
ГП	– глутатионпероксидаза
ГР	– глутатионредуктаза
ДНК	– дезоксирибонуклеиновая кислота
ЗН	– злокачественные новообразования
ИГХ	– иммуногистохимическое исследование
ИИМ	– индекс ингибирования метастазирования
ИК	– инфракрасная спектроскопия
ЛП	– лекарственные препараты
ЛС	– лекарственные средства
ЛФ	– лекарственная форма
МДА	– малоновый диальдегид
МПД	– максимально переносимая доза
ООС	– оловоорганические соединения
РД	– разовая доза

СГС	– согласованная на глобальном уровне система классификации и маркировки химических веществ
СД	– суммарная доза
СОД	– супероксидредуктаза
СРО	– свободно-радикальное окисление
ТБК	– тиобарбитуровая кислота
ТРО _м	– торможение роста опухоли по массе
УПЖ	– показатель увеличения продолжительности жизни
ЧМ	– частота метастазирования опухоли
ЯМР	– ядерный магнитный резонанс

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Adeyemi, J. Diorganotin (IV) benzyldithiocarbamate complexes: synthesis, characterization, and thermal and cytotoxicity study / J. Adeyemi, D. Onwudiwe, N. Nundkumar, M. Singh // *Open Chemistry*. – 2020. – Vol. 18. – № 1. – P. 453-462.
2. Alaa M. Cytotoxic Effects of Valsartan Organotin (IV) Complexes on Human Lung Cancer Cells / M. Alaa, M. Raghda, Al-A. Muataz, R. Rasha, Y. Emad // *Biointerface Research in Applied Chemistry*. – 2020. – Vol. 11. – P. 8156-8164.
3. Alama, A. In vitro cytotoxic activity of tri-n-butyltin (IV)lupinylsulfide hydrogen fumarate (IST-FS 35) and preliminary antitumor activity in vivo / A. Alama, M. Viale, M. Cilli [et al.] // *Invest New Drugs*. – 2009. – Vol. 27.– № 2. – P. 124-130.
4. Albanes, D. Alpha-Tocopherol and beta-carotene supplements and lung cancer incidence in the alpha-tocopherol, beta-carotene cancer prevention study: effects of base-line characteristics and study compliance / D. Albanes, O.P. Heinonen, P.R. Taylor [et al.] // *J. Natl. Cancer. Inst.* – 1996. – Vol. 88. – № 21. – P. 1560-1570.
5. Aldridge, W.N. The toxicity and neuropathology of dimethylethyltin and methyl-diethyltin in rats / W.N. Aldridge, R.D. Verschoyle, C.A. Thompson, A.W. Brown // *Neuropathol Appl. Neurobiol.* – 1987. – Vol. 13. – № 1. – P. 55-69.
6. Alkahtane, A.A. Protective potency of ascorbic acid supplementation against cytotoxicity and DNA fragmentation induced by triphenyltin on human liver carcinoma cells / A.A. Alkahtane // *Environ Sci Pollut Res Int.* – 2020. – Vol. 27. – № 23. – P. 28890-28898.
7. Anasamy, T. Triorganotin complexes in cancer chemotherapy: Mechanistic insights and future perspectives [Электронный ресурс] / T. Anasamy, C.F. Chee, Y.F. Wong [et al.] // *Appl. Organomet. Chem.* – 2021. – Vol. 35. – № 2: e6089. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1002/aoc.6089>.
8. Antonenko, T.A. Antioxidant activity of new organotin compounds with 2,6-di-tertbutylphenol groups / T.A. Antonenko, D.B. Shpakovsky, Yu.A. Gracheva [et al.] // *The 8th International Symposium on Bioorganometallic Chemistry ISBOMC16, Moscow, 2016.* – P. 46.

9. Antonenko, T.A. Antioxidative vs cytotoxic activities of organotin complexes bearing 2,6-di-tert-butylphenol moieties [Электронный ресурс] / Т.А. Antonenko, D.B. Shpakovsky, M.A. Vorobyov [et al.] // *Appl. Organometal. Chem.* – 2018. – Vol. 32. – Iss. 7: 32: e4381. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1002/aoc.4381>.
10. Antonenko, T.A. Biological activity of novel Sn (IV) carboxylates with protective phenol group / Т.А. Antonenko, D.B. Shpakovsky, M.A. Vorobyov [et al.] // Сборник трудов 3-ей Российской конференции по медицинской химии, Казань, 2017. – С. 215.
11. Antonenko, T.A. Cytotoxic activity of organotin carboxylates based on synthetic phenolic antioxidants and polycyclic bile acids [Электронный ресурс] / Т.А. Antonenko, D.B. Shpakovsky, D.A. Berseneva [et al.] // *J. Organomet. Chem.* – 2020. – Vol. 909: e5815. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1016/j.jorganchem.2019.121089>.
12. Antonenko, T.A. Cytotoxic activity of organotin compounds containing non-steroidal anti-inflammatory drugs / Т.А. Antonenko, Y.A. Gracheva, D.B. Shpakovsky, M.A. Vorobyev, V.A. Tafeenko, D.M. Mazur, E.R. Milaeva // *Journal of Organometallic Chemistry.* – 2022. – Vol. 960. – P. 122-191.
13. Antonenko, T.A. Lanthanide benzoates with 2,6-di-tert-butylphenol moiety: synthesis, luminescent and antioxidant properties / Т.А. Antonenko, D.B. Shpakovsky, Yu.A. Gracheva [et al.] // *Inorg. Chim. Acta.* – 2017. – Vol. 455, P 1. – P. 276-282.
14. Arshad, N. Synthesis, photochemical and electrochemical studies on triphenyltin (IV) derivative of (Z)-4-(4-cyanophenylamino)-4-oxobut-2-enoic acid for its binding with DNA: Biological interpretation [Электронный ресурс] / N. Arshad, M.H. Bhatti, S.I. Farooqi [et al.] // *Arab. J. Chem.* – 2016. – Vol. 9. – № 3. – P. 451-462. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1016/j.arabjcs.2014.08.018>.
15. Assi, M. The differential role of reactive oxygen species in early and late stages of cancer [Электронный ресурс] / M. Assi // *Am. J. Physiol. Regul. Integr.*

Comp. – 2017. – Vol. 313(6): R646-R653. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00247.2017>.

16. Assunta Girasolo, M. Organotin (IV) derivatives with 5,7-disubstituted-1,2,4-triazolo[1,5-a]pyrimidine and their cytotoxic activities: The importance of being conformers / M. Assunta Girasolo, A. Attanzio, P. Sabatino [et al.] // *Inorg. Chim. Acta.* – 2014. – Vol. 423. – Part B. – P. 168-176.

17. Attanzio, A. Anti-cancer activity of di- and tri-organotin (IV) compounds with D-(+)-Galacturonic acid on human tumor cells / A. Attanzio, M. Ippolito, M.A. Girasolo [et al.] // *J. Inorg. Biochem.* – 2018. – Vol. 188. – P. 102-112.

18. Attanzio, A. Cytotoxic Activity of Organotin (IV) Derivatives with Triazolopyrimidine Containing Exocyclic Oxygen Atoms [Электронный ресурс] / A. Attanzio, S. D'Agostino, R. Busà [et al.] // *Molecules.* – 2020. – Vol. 25. – № 4. – P. 859. – Режим доступа: <https://doi.org/10.3390/molecules25040859>.

19. Aykin-Burns, N. Increased levels of superoxide and H₂O₂ mediate the differential susceptibility of cancer cells versus normal cells to glucose deprivation / N. Aykin-Burns, I.M. Ahmad, Y. Zhu [et al.] // *The Biochemical journal.* – 2009. – Vol. 418. – № 1. – P. 29-37.

20. Azad, A. Real world experience of drug induced liver injury in patients undergoing chemotherapy [Электронный ресурс] / A. Azad, P. Chang, D. Deepika [et al.] // *J. Clin. Gastroenterol. Hepatol.* – 2018. – Vol. 2(3): 18. – Режим доступа: <https://doi.org/10.21767/2575-7733.1000047>.

21. Azmanova, M. Oxidative Stress in Cancer Therapy: Friend or Enemy? [Электронный ресурс] / M. Azmanova, A. Pitto-Barry // *Chembiochem.* – 2022. – Vol. 23(10): e202100641. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1002/cbic.202100641>.

22. Balas, V.I. Synthesis, structural characterization and biological studies of the triphenyltin (IV) complex with 2-thiobarbituric acid [Электронный ресурс] / N. Arshad, M.H. Bhatti, S.I. Farooqi [et al.] // *Eur. J. Med. Chem.* – 2011. – Vol. 46 – № 7. – P. 2835-2844. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2011.04.005>.

23. Bansal, A. Glutathione metabolism in cancer progression and treatment resistance / A. Bansal, M.C. Simon // *J. Cell Biol.* – 2018. – Vol. 217. – № 7. – P. 2291-2298.
24. Banti, C.N. Anti-proliferative and antitumor activity of organotin (IV) compounds. An overview of the last decade and future perspectives / C.N. Banti, S.K. Hadjikakou, T. Sismanoglu, N. Hadjiliadis // *J. Inorg. Biochem.* – 2019. – Vol. 194. – P. 144-152.
25. Banti, C.N. Anti-proliferative and antitumor activity of organotin (IV) compounds. An overview of the last decade and future perspectives / C.N. Banti, S.K. Hadjikakou, T. Sismanoglu, N. Hadjiliadis // *J. Inorg. Biochem.* – 2019. – Vol. 194. – P. 114-152.
25. Bara, A. Antitumor organometallics. I. Activity of some diphenyltin (IV) and diphenylantimony (III) derivatives on in vitro and in vivo Ehrlich ascites tumor / A. Bara, C. Socaciu, C. Silvestru, I. Haiduc // *Anticancer Res.* – 1991. – Vol. 11. – № 4. – P. 1651–1655.
26. Barbieri, F. Cytotoxicity in vitro and preliminary antitumor activity in vivo of a novel organotin compound / F. Barbieri, M. Viale, F. Sparatore [et al.] // *Anticancer Res.* – 2020. – Vol. 20. – № 2A. – P. 977-980.
27. Barbosa, C.M.L. Organotin Compounds Toxicity: Focus on Kidney [Электронный ресурс] / C.M.L. Barbosa, F.M. Ferrão, J.B. Graceli // *Front Endocrinol (Lausanne)*. – 2018. – Vol. 22. – № 9: 256. – Режим доступа: <https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00256>.
28. Basnet, H. Flura-seq identifies organ-specific metabolic adaptations during early metastatic colonization / H. Basnet, L. Tian, K. Ganesh [et al.] // *eLife* – 2019. – Vol. 8: e43627. – Режим доступа: <https://doi.org/10.7554/eLife.43627>.
29. Basu Baul, T.S. In vitro cytotoxic evaluation of novel dichlorodiorgano[N-(2-pyridylmethylene)arylamine]tin (IV) derivatives in human tumor cell lines / T.S. Basu Baul, D. de Vos // *Investig. New Drugs.* – 2010. – Vol. 28. – № 5. – P. 609-614.

30. Bekhet, O.H. The interplay between reactive oxygen species and antioxidants in cancer progression and therapy: a narrative review / O.H. Bekhet, M.E. Eid // *Translational cancer research*. – 2021. – Vol. 10. – № 10. – P. 4196-4206.
31. Bienert, G.P. Aquaporin-facilitated transmembrane diffusion of hydrogen peroxide / G.P. Bienert, F. Chaumont // *Biochim. Biophys. Acta*. – 2014. – Vol. 1840. – P. 1596-1604.
32. Brown, A.W. The behavioral and neuropathologic sequelae of intoxication by trimethyltin compounds in the rat / A.W. Brown, W.N. Aldridge, B.W. Street, R.D. Verschoyle // *Am J Pathol*. – 1979. – Vol. 97. – № 1. – P. 59-82.
33. Buja, L.M. The cell theory and cellular pathology: Discovery, refinements and applications fundamental to advances in biology and medicine [Электронный ресурс] / L.M. Buja // *Exp Mol Pathol*. – 2021. – Vol. 121: 104660. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1016/j.yexmp.2021.104660>.
34. Bulatović, M.Z. Organotin (IV) loaded mesoporous silica as a biocompatible strategy in cancer treatment / M.Z. Bulatović, D. Maksimović-Ivanić, C. Bensing [et al.] // *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* – 2014. – Vol. 53. – № 23. – P. 5982-5987.
35. Burton, G.W. Autoxidation of biological molecules. Maximizing the antioxidant activity of phenols / G.W. Burton, T. Dob, E.J. Gabe [et al.] // *Journal of the American Chemical Society*. – 1985. – Vol. 107. – № 24. – P. 7053-7065.
36. Butkeviciute, A. Antioxidant, Anti-Inflammatory, and Cytotoxic Activity of Extracts from Some Commercial Apple Cultivars in Two Colorectal and Glioblastoma Human Cell Lines [Электронный ресурс] / A. Butkeviciute, V. Petrikaite, V. Jurgaityte, M. Liaudanskas, V. Janulis // *Antioxidants*. – 2021. – Vol. 10: 1098. – Режим доступа: <https://doi.org/10.3390/antiox10071098>.
37. Butkevičiūtė, A. Detection and analysis of triterpenic compounds in apple extracts / A. Butkevičiūtė, M. Liaudanskas, D. Kviklys, Z. Zymonė, R. Raudonis, J. Viškelis, N. Uselis, V. Janulis // *Int. J. Food Prop.* – 2018. – Vol. 21. – P. 1716–1727.
38. Califano, J. Malignant melanoma / J. Califano, M. Nance // *Facial Plast. Surg. Clin. North Am.* – 2009. – Vol. 17(3). – P. 337–348.

39. Cannavò, S. The role of oxidative stress in the biology of melanoma: A systematic review / S. Cannavò, A. Tonacci, L. Bertino, M. Casciaro, F. Borgia, S. Gangemi // *Pathology- Research and Practice*. – 2019. – Vol. 215, Iss. 1. – P. 21-28.
40. Cano, A. On-line antioxidant activity determination: Comparison of hydrophilic and lipophilic antioxidant activity using the ABTS•+ assay / A. Cano, O. Alcaraz, M. Acosta, M.B. Arnao // *Redox Rep*. – 2002. – Vol. 7. – P. 103–109.
41. Cardarelli, N.F. Organotin implications in anticarcinogenesis. Effects of several organotins on tumour growth rate in mice / N.F. Cardarelli, B.M. Cardarelli, E.P. Libby, E. Dobbins // *Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci.* – 1984. – Vol. 62. – Pt. 9. – P. 209-214.
42. Cardone, R. A. The role of disturbed pH dynamics and the Na⁺/H⁺ exchanger in metastasis / R.A. Cardone, V. Casavola, S.J. Reshkin // *Nat. Rev. Cancer*. – 2005. – Vol. 5. – № 10. – P. 786-795.
43. Carnero, A. The hypoxic microenvironment: A determinant of cancer stem cell evolution [Электронный ресурс] / A. Carnero, M. Lleonart // *Bioessays*. – 2016. – Vol. 38, Suppl 1: S65-74. Режим доступа: <https://doi.org/10.1002/bies.201670911>.
44. Chabner, B.A. *Cancer Chemotherapy and Biotherapy: Principles and Practice* / B.A. Chabner, D.L. Longo. – Philadelphia: Lippincott-Raven, 2001. – P. 678-690.
45. Chang, L.W. The neurotoxicology and pathology of organomercury, organolead, and organotin / L.W. Chang // *J. Toxicol. Sci.* – 1990. – Suppl. 4. – P. 125-151.
46. Cheung, E.C. The role of ROS in tumour development and progression / E.C. Cheung, K.H. Vousden // *Nat. Rev. Cancer*. – 2022. – Vol. 22. – № 5. – P. 280-297.
47. Chiu, H.Y. Mitochondrial Dysfunction at the Center of Cancer Therapy / Y.C. Hsin, X.Y.T. Emmy, S.T.O. Derrick, T. Reshma // *Antioxidants & redox signaling*. 2020. – Vol. 32. – №5. – P. 309-330.
48. Coccia, A. Extra-virgin olive oil phenols block cell cycle progression and modulate chemotherapeutic toxicity in bladder cancer cells / A. Coccia, L. Mosca,

R. Puca, G. Mangino, A. Rossi, E. Lendaro // *Oncol Rep.* – 2016. – Vol. 36. – № 6. – P. 3095-3104.

49. Coutinho, J.V. Tributyltin chloride induces renal dysfunction by inflammation and oxidative stress in female rats / J.V. Coutinho, L.C. Freitas-Lima, F.F. Freitas, F.P. Freitas, P.L. Podratz, R.P. Magnago, M.L. Porto, S.S. Meyrelles, E.C. Vasquez, P.A. Brandão, M.T. Carneiro, F.D. Paiva-Melo, L. Miranda-Alves, I.V. Silva, A.L. Gava, J.B. Graceli // *Toxicol Lett.* – 2016. – Vol. 17. – № 260. – P. 52-69.

50. Devi, J. Recent Advancements in Organotin (IV) Complexes as Potent Cytotoxic Agents [Электронный ресурс] / J. Devi, A. Boora, M. Rani, T. Arora // *Anticancer. Agents Med. Chem.* – 2022. – Vol. 20. – Режим доступа: <https://doi.org/10.2174/1871520622666220520095549>.

51. Devi, J. Recent Advancements in Organotin (IV) Complexes as Potential Anticancer Agents [Электронный ресурс] / J. Devi, J. Yadav // *Anti-cancer agents in medicinal chemistry.* – 2018. – Vol. 18. – № 3. – P. 335-353. – Режим доступа: <https://doi.org/10.2174/1871520617666171106125114>.

52. Devi, J. Synthesis, spectral analysis and in vitro cytotoxicity of diorganotin (IV) complexes derived from indole-3-butyric hydrazide [Электронный ресурс] / J. Devi, J. Yadav, D. Kumar [et al.] // *Appl. Organomet. Chem.* – 2020. – Vol. 34. – № 10: e5815. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1002/aoc.5815>.

53. Dodokhova, M.A. Evaluation of the pharmacological activity of hybrid organotin compounds in a B16 melanoma model in the classical and metronomic administration modes / M.A. Dodokhova, A.V. Safronenko, I.M. Kotieva, M.S. Alkhuseyn-Kulyaginova, D.B. Shpakovsky, E.R. Milaeva // *Research Results in Pharmacology.* – 2022. – Vol. 8. – № 1. – P. 85-94.

54. Dodokhova, M.A. Impact of organotin compounds on the growth of epidermoid Lewis carcinoma / M.A. Dodokhova, A.V. Safronenko, I.M. Kotieva, M.S. Alkhuseyn-Kulyaginova, D.B. Shpakovsky, E.R. Milaeva // *Research Results in Pharmacology.* – 2021. – Vol. 7. – № 4. – P. 81-88.

55. Duan, D. Targeting Thioredoxin Reductase by Parthenolide Contributes to Inducing Apoptosis of HeLa Cells / D. Duan, J. Zhang, J. Yao [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 2016. – Vol. 291. – № 19. – P. 10021-10031.
56. Elia, I. Metabolic hallmarks of metastasis formation / I. Elia, G. Doglioni, Fendt. S.M. // *Trends Cell. Biol.* – 2018. – Vol. 28(8). – P. 673–84.
57. Enis, N.M.Y. Cytotoxicity of Tin (IV)-based compounds: A review [Электронный ресурс] / Enis Nadia Md Yusof and Thahira B.S.A. Ravooof and Alister J. Page // *Polyhedron.* – 2021. – Vol. 198. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1016/j.poly.2021.115069>.
58. Etaiw Sel-D. A novel hydrogen bonded bimetallic supramolecular coordination polymer {[SnMe₃(bpe)] [Ag(CN)₂] 2H₂O} as anticancer drug / Etaiw Sel-D, Sultan AS, Badr El-Din AS. // *Eur. J. Med. Chem.* – 2011. – Vol. 46. – № 11. – P. 5370–5378.
59. Fan, C. Enhancement of auranofin-induced lung cancer cell apoptosis by selenocystine, a natural inhibitor of TrxR1 in vitro and in vivo [Электронный ресурс] / C. Fan, W. Zheng, X. Fu [et al.] // *Cell. Death. Dis.* – 2014. – Vol. 5: e1191. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1038/cddis.2014.132>.
60. Fan, Cd. Selenocysteine induces apoptosis in human glioma cells: evidence for TrxR1-targeted inhibition and signaling crosstalk [Электронный ресурс] / Cd. Fan, Ху. Fu, Zy. Zhang [et al.] // *Sci. Rep.* – 2017. – Vol. 7: 6465. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1038/s41598-017-06979-2>.
61. Finkel, T. The common biology of cancer and ageing / T. Finkel, M. Serrano, M.A. Blasco // *Nature.* – 2007. – Vol. 448. – № 71155. – P. 767-774.
62. Fotopoulou, E. Metallodrugs as Anticancer Chemotherapeutics and Diagnostic Agents: A Critical Patent Review (2010-2020) / E. Fotopoulou, I. Titilas, L. Ronconi // *Recent. Pat. Anticancer. Drug. Discov.* – 2022. – Vol. 17 (1). – P. 42-54.
63. Fuchs-Tarlovsky, V. Role of antioxidants in cancer therapy / V. Fuchs-Tarlovsky // *Nutrition (Burbank, Los-Angeles County, Calif.)*. – 2013. – Vol. 29. – № 1. – P. 15-21.

64. Gaggini, M. Conventional and innovative methods to assess oxidative stress biomarkers in the clinical cardiovascular setting / M. Gaggini, L. Sabatino, C. Vassalle // *BioTechniques*. – 2020. – Vol. 68. – № 4. – P. 223-231.
65. Galadary, S. Reactive oxygen species and cancer paradox: To promote or to suppress? / S. Galadary, A. Rahman, A. Palliehakandys, F. Thayyullathie // *Free Rad. Biol. Med.* – 2017. – Vol. 104. – P. 144-164.
66. Galván-Hidalgo, J.M. Tin (IV) Schiff base complexes derived from pyridoxal: Synthesis, spectroscopic properties and cytotoxicity [Электронный ресурс] / J.M. Galván-Hidalgo, G.M. Chans, T. Ramírez-Apan [et al.] // *Appl. Organomet. Chem.* – 2017. – Vol. 31. – № 9: e3704. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1002/aoc.3704>.
67. Gao, Y. Metastasis organotropism: redefining the congenial soil / Y. Gao, I. Bado, H. Wang, W. Zhang, J.M. Rosen, X.H. Zhang // *Dev Cell*. – 2019. – № 49(3). – P. 375–391.
68. Gasparre, G. Mitochondria in Cancer / G. Gasparre, R. Rossignol, P. Sonveaux // *Biochimica et biophysica acta. Bioenergetics*. – 2017. – Vol. 1858. – № 8. – P. 553-555.
69. Geng, J. The diverse role of TIGAR in cellular homeostasis and cancer / J. Geng, X. Yuan, M. Wei // *Free Radic. Res.* – 2018. – Vol. 52. – № 11-12. – P. 1240-1249.
70. Gielen, M. In vitro antiproliferative effects, toxicity profiles in vivo in mice and antitumour activity in tumour-bearing mice of five organotin compounds / M. Gielen, R. Willem, A. Bouhdid [et al.] // *In vivo (Athens, Greece)*. – 1995. – Vol. 9. – № 1. – P. 59-63.
71. Gielen, M. Organotin Compounds: From Kinetics to Stereochemistry and Antitumour Activities / M. Gielen, M. Biesemans, R. Willem // *Appl. Organomet. Chem.* – 2005. – Vol. 19. – № 4. – P. 440-450.
72. Giuliano, M. Tributyltin (IV) Butyrate: A Novel Epigenetic Modifier with ER Stress- and Apoptosis-Inducing Properties in Colon Cancer Cells [Электронный

ресурс] / M. Giuliano, C. Pellerito, A. Celesia [et al.] // *Molecules*. – 2021. – Vol. 26. – № 16: 5010. – Режим доступа: <https://doi.org/10.3390/molecules26165010>.

73. González, A. Heptacoordinate tin (IV) compounds derived from pyridine Schiff bases: synthesis, characterization, in vitro cytotoxicity, anti-inflammatory and antioxidant activity / A. González, E. Gómez, A. Cortés-Lozada [et al.] // *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)*. – 2009. – Vol. 57. – №1. – P. 5-15.

74. Gorrini, C. Modulation of oxidative stress as an anticancer strategy / C. Gorrini, I.S. Harris, T.W. Mak // *Nat. Rev. Drug. Discov.* – 2013. – Vol. 12. – № 12. – P. 931-947.

75. Graisa, A. Toxicity and anti-tumour activity of organotin (IV) compounds. / A. Graisa, K. Zainulabdeen, I. Salman, A. Al-Ani, R. Mohammed, N. Hairunisa, S. Mohammed, E. Yousif // *Baghdad Journal of Biochemistry and Applied Biological Sciences*. – 2022. – Vol. 3 (02). – P. 99-108.

76. Grzeškiewicz, A.M. Structural peculiarities and anticancer activities of two organotin compounds / A.M. Grzeškiewicz, A. Owczarzak, M. Kucińska [et al.] // *Journal of Coordination Chemistry*. – 2017. – Vol. 70. – № 10. – P. 1776-1789.

77. Guerra–Castellano, A. Oxidative stress is tightly regulated by cytochrome c phosphorylation and respirasome factors in mitochondria / A. Guerra–Castellano, A. Díaz–Quintana, G. Pérez–Mejías [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. – 2018. – Vol. 115. – № 31. – P. 7955–7960.

78. Hanif, M. Anticancer metallodrugs: where is the next cisplatin? / M. Hanif, C.G. Hartinger // *Future Med. Chem.* – 2018. – Vol. 10. – № 6. – P. 615-617.

79. He, X.D. Potential Indicators of Mitochondrial Structure and Function / X.D. He, F. Zhang, Y. Huang, J.J. Hao, M. Zhang, J.B. He, X.M. Pu, Y.J. Li, L. Zi, J. Yu, X.X. Yang // *Curr. Pharm. Des.* – 2022. – Vol. 28. – № 21. –P. 1738-1744.

80. Hernández López, R. Mitochondrial Function Differences between Tumor Tissue of Human Metastatic and Premetastatic CRC [Электронный ресурс] / R. Hernández López, M. Torrens Mas, C. Margalida, D. Pons, M. Company, E. Falcó, T. Fernández, J. Rosa, J. Oliver, J. Sastre-Serra // *Biology*. – 2022. – Vol. 11(293). – Режим доступа: <https://doi.org/10.3390/biology11020293>.

81. Holmstrom, K.M. Cellular mechanisms and physiological consequences of redox-dependent signalling / K.M. Holmstrom, T. Finkel // *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* – 2014. – Vol. 15. – P. 411-421.
82. Höti, N. p53-dependent apoptotic mechanism of a new designer bimetallic compound tri-phenyl tin benzimidazolethiol copper chloride (TPT-CuCl₂): in vivo studies in Wistar rats as well as in vitro studies in human cervical cancer cells / N. Höti, D.E. Zhu, Z. Song [et al.] // *Pharmacol. Exp. Ther.* – 2004. – Vol. 311. – № 1. – P. 22-33.
83. Huang, G. Mechanism of kidney injury induced by cisplatin / G. Huang, Q. Zhang, C. Xu, L. Chen, H. Zhang // *Toxicol. Res. (Camb)*. – 2022. – Vol. 11(3). – P. 385-390.
84. Huang, M. TGF- β 1-activated cancer-associated fibroblasts promote breast cancer invasion, metastasis and epithelial-mesenchymal transition by autophagy or overexpression of FAP- α [Электронный ресурс] / M. Huang, M. Fu, J. Wang, C. Xia, H. Zhang, Y. Xiong, J. He, J. Liu, B. Liu, S. Pan, F. Liu // *Biochem. Pharmacol.* – 2021. – Vol. 188: 114527. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2021.114527>.
85. Huang, Q. Small extracellular vesicle-packaged TGF β 1 promotes the reprogramming of normal fibroblasts into cancer-associated fibroblasts by regulating fibronectin in head and neck squamous cell carcinoma [Электронный ресурс] / Q. Huang, C.Y. Hsueh, Y.J. Shen, Y. Guo, J.M. Huang, Y.F. Zhang, J.Y. Li, H.L. Gong., L. Zhou // *Cancer. Lett.* – 2021. – Vol. 571. – P. 1-13.
86. Hunakova, L. In vitro antiproliferative and cytotoxic activities of novel triphenyltin isoselenocyanate in human breast carcinoma cell lines MCF 7 and MDA-MB-231 [Электронный ресурс] / L. Hunakova, E. Horvathova, M. Matuskova, P. Bobal, J. Otevrel, J. Brtko // *Med. Oncol.* – 2022. – Vol. 39(5): 99. – Режим доступа: <https://doi.org/1007/s12032-022-01692-1>.
87. Hung, P.F. Hypoxia-induced Slug SUMOylation enhances lung cancer metastasis [Электронный ресурс] / P.F. Hung, T.M. Hong, C.C. Chang, C.L. Hung, Y.L. Hsu, Y.L. Chang, C.T. Wu, Chang G.C., Chan N.L., Yu S.L. [et al.] // *J. Exp. Clin.*

Cancer Res. – 2019. – Vol. 38(1): 5. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1186/s13046-018-0996-8>

88. Iessi, E. Tumor acidity and malignancy: novel aspects in the design of anti-tumor therapy // E. Iessi, M. Marino, F. Lozupone [et al.] // *Canc. Ther.* – 2008. – Vol. 6. – P. 55-66.

89. Imran, M. Photoactivated platinum-based anticancer drugs / M. Imran, W. Ayub, I.S. Butler, Z.U. Rehman // *Coord. Chem. Rev.* – 2018. – Vol. 376. – P. 405-429.

90. Imtiyaz, Y. Advancement of metal compounds as therapeutic and diagnostic metallodrugs: Current frontiers and future perspectives [Электронный ресурс] / Y. Imtiyaz, B. Masrat, F. Arjmand, S. Tabassum // *Coordination Chemistry Reviews.* – 2021. – Vol. 445 (214104). – P. 1-30. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2021.214104>.

91. Janoš, P. All-atom simulations to studying metallodrugs/target interactions / P. Janoš, A. Spinello, A. Magistrato // *Curr. Opin. Chem. Biol.* – 2021. – Vol. 61. – P. 1-8.

92. Jelic, M. Oxidative stress and its role in cancer / M.D. Jelic, A.D. Mandic, S.M. Maricic, B.U. Srdjenovic // *J. Cancer. Res. Ther.* – 2021. – Vol. 17. – № 1. – P. 22-28.

93. Jiang, L. Ferroptosis as a p53-mediated activity during tumour suppression / L. Jiang, N. Kon, T. Li [et al.] // *Nature.* – 2015. – Vol. 520. – P. 57-62.

94. Jiang, W. Arylhydrazone Diorganotin Complexes Causes DNA Damage and Apoptotic Cell Death: From Chemical Synthesis to Biochemical Effects [Электронный ресурс] / W. Jiang, Y. Tan, Y. Peng // *Int. J. Mol. Sci.* – 2021. – Vol. 22: 13525. – Режим доступа: <https://doi.org/10.3390/ijms222413525>.

95. Jiang, W. Self-assembly synthesis of diorganotin complexes based on arylformylhydrazone possessing ONO donor set: anticancer activity and mechanism [Электронный ресурс] / W. Jiang, Z. Zhang, P. Ni, Y. Tan // *Metallomics.* – 2022. – Vol. 14. – № 5: mfac 021. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1093/mtomcs/mfac021>.

96. Karetnikova, A.Yu. Study of the acute toxicity of *Thymus marschallianus* Willd. extracts and analysis of blood biochemical parameters under their influence / A.Yu. Karetnikova, A.S. Sheremetyeva, N. Durnova // *Journal of siberian medical sciences*. – 2022. – Vol. 6. – P. 7-17.
97. Kelly, K.M. Use of unconventional therapies by children with cancer at an urban medical center / K.M. Kelly, J.S. Jacobson, D.D. Kennedy [et al.] // *J. Pediatr. Hematol. Oncol.* – 2020. – Vol. 22. – № 5. – P. 412-416.
98. Kirshner, J.R. Elesclomol induces cancer cell apoptosis through oxidative stress / J.R. Kirshner, S. He, V. Balasubramanyam [et al.] // *Mol. Cancer. Ther.* – 2008. – Vol. 7. – № 8. – P. 2319-2327.
99. Kit O.I., Frantsiyants E.M., Shikhlyarova A.I., Neskubina I.V., Kaplieva I.V., Cheryarina N.D., Vereskunova A.A., Trepitaki L.K., Pogorelova Y.A., Bandovkina V.A., Surikova E.I., Kachesova P.S., Sheiko E.A., Kotieva I.M., Gusareva M.A., Luganskaya R.G., Bosenko E.S. Biological effects of mitochondrial therapy: preventing development of myocardial infarction and blocking metastatic aggression of B16/F10 melanoma. / *Cardiometry*. – 2022. – № 22. – P. 50-55.
100. Klaunig, J.E. Oxidative Stress and Cancer / J.E. Klaunig // *Curr. Pharm. Des.* – 2018. – Vol. 24. – № 40. – P. 4771-4778.
101. Kozhin, P. Antitumor effect of synthetic phenolic antioxidant TS-13 in Lewis lung carcinoma mouse model / P. Kozhin, E. Menshchikova, Z. Nikolay [et al.] [Электронный ресурс] // *Free Radical Biology and Medicine*. – 2018. – Vol. 128. – № S1: S69. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2018.10.146>.
102. Krigman, M.R. General toxicology of tin and its organic compounds / M.R. Krigman, A.P. Silverman // *Neurotoxicology*. – 1984. – Vol. 5. – № 2. – P. 129-139.
103. Kruiswijk, F. p53 in survival, death and metabolic health: a lifeguard with a licence to kill / F. Kruiswijk, C. Labuschagne, K. Vousden // *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* – 2015. – Vol. 16. – № 7. – P. 393-405.

104. Le Gal, K. Antioxidants can increase melanoma metastasis in mice / K. Le Gal, M.X. Ibrahim, C. Wiel [et al.] // *Sci. Transl. Med.* – 2015. – Vol. 7. – № 308: 308re8. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1126/scitranslmedaad3740>.
105. Levine, A. The first 30 years of p53: growing ever more complex / A. Levine, M. Oren // *Nat. Rev. Cancer.* – 2009. – Vol. 9. – P. 749-758.
106. Li, J. Prognostic value of TGF-beta in lung cancer: systematic review and meta-analysis BMC / J. Li [et al.] // *Cancer.* – 2019. – Vol. 19. – P. 691.
107. Li, Y. Synthesis and antitumor activity of a new mixed-ligand complex di-n-butyl-(4-chlorobenzohydroxamato)tin (IV) chloride / Y. Li, Y. Li, X. Niu [et al.] // *J. Inorg. Biochem.* – 2008. – Vol. 102. – № 9. – P. 1731-1735.
108. Li, Y.L. Diorganotin (IV) derivatives of substituted N-hydroxybenzamides with selective cytotoxicity in vitro and potent antitumor activity in vivo / Li Y.L., Z.W. Wang, P. Guo [et al.] // *J. Inorg. Biochem.* – 2014. – Vol. 133. – P. 1-7.
109. Li, Z. The effect of propofol on the proliferation and apoptosis of hepatocellular carcinoma cells through TGF-B1/Smad2 signaling pathway / Z. Li, H. Liu, Y. Zhang, H. Tan // *Bioengineered.* – 2021. – Vol. 12. – № 1. – P. 4581-4592.
110. Liou, G.Y. Reactive oxygen species in cancer / G.Y. Liou, P. Storz // *Free Radic. Res.* – 2010. – Vol. 44. – № 5. – P. 479-496.
111. Liu, Q. Factors involved in cancer metastasis: a better understanding to “seed and soil” hypothesis [Электронный ресурс] / Q. Liu, H. Zhang, X. Jiang, C. Qian, Z. Liu, D. Luo // *Mol. Cancer.* – 2017. – Vol. 16(1): 176. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1186/s12943-017-0742-4>.
112. Liu, Z. The main mechanisms of trimethyltin chloride-induced neurotoxicity: Energy metabolism disorder and peroxidation damage / Z. Liu, J. Lv, Z. Zhang, B. Wang, L. Duan, C. Li, H. Xie, T. Li, X. Zhou, R. Xu, N. Chen, W. Liu, H. Ming // *Toxicol. Lett.* – 2021. – Vol. 345. – № 1. – P. 67-76.
113. Luo, Y. The Significance of Mitochondrial Dysfunction in Cancer [Электронный ресурс] / Y. Luo, J. Ma, W. Lu // *Int. J. Mol. Sci.* – 2020. – Vol. 21. – № 16: 5598. – Режим доступа: <https://doi.org/10.3390/ijms21165598>.

114. Ma, S. Hemodynamic shear stress stimulates migration and extravasation of tumor cells by elevating cellular oxidative level / S. Ma, A. Fu, G.G. Chiew, K.Q. Luo // *Cancer. Lett.* – 2017. – Vol. 388 (1). – P. 239-248.
115. Magda, D. Motexafin gadolinium: a novel redox active drug for cancer therapy / D. Magda, R.A. Miller // *Semin. Cancer. Biol.* – 2006. – Vol. 16. – № 6. – P. 466-476.
116. Martinovich, G.G. Chemosensitization of Tumor Cells by Phenolic Antioxidants: The Role of the Nrf2 Transcription Factor / G.G. Martinovich, I.V. Martinovich, A.V. Vcherashniaya [et al.] // *Biophysics.* – 2020. – Vol. 65. – № 6. – P. 920-930.
117. Metsios, A. Cytotoxic and Anticancer Effects of the Triorganotin Compound $[(C_6H_5)_3Sn(Cmbzt)]$: An in Vitro, Ex Vivo and in Vivo Study / Synthesis, antiradical activity and in vitro cytotoxicity of novel organotin complexes based on 2,6-di-tert-butyl-4-mercaptophenol / A. Metsios, I. Verginadis, Y. Simos, [et al.] // *Eur. J. Pharm. Sci.* – 2012. – Vol. 47. – № 2. – P. 490-496.
118. Metsios, A. Cytotoxic and anticancer effects of the triorganotin compound $[(C_6H_5)_3Sn(cmbzt)]$: an in vitro, ex vivo and in vivo study / A. Metsios, I. Verginadis, Y. Simos [et al.] // *Eur. J. Pharm. Sci.* – 2012. – Vol. 47. – № 2. – P. 490-496.
119. Michman, M. The electrochemistry of alkyl compounds of germanium, tin and lead. Chapter 13. In *The chemistry of organic germanium, tin and lead compounds* / M. Michman // Ed. S. Patai. John Wiley, Sons Ltd. – 1995. – P. 665-722.
120. Miki, H. Regulation of intracellular signalling through cysteine oxidation by reactive oxygen species / H. Miki, Y. Funato // *J. Biochem.* – 2012. – Vol. 151. – № 3. – P. 255-261.
121. Milaeva, E. Organic derivatives of mercury and tin as promoters of membrane lipid peroxidation / E. Milaeva, V. Petrosyan, N. Berberova, Y. Pimenov, L. Pellerito // *Bioinorg. Chem. Appl.* – 2004. – Vol. 2. – № 1-2. – P. 69-91.
122. Milaeva, E.R. Hybrid metal complexes with opposed biological modes of action – promising selective drug candidates / E.R. Milaeva, V.Y. Tyurin // *Pure and Applied Chemistry.* – 2017. – Vol. 89. – № 8. – P. 1065-1088.

123. Milaeva, E.R. Hybrid Metal Complexes with Opposed Biological Modes of Action – Candidates for Biomedical Application / E.R. Milaeva, D.B. Shpakovsky, A.A. Nazarov [et al.] // 8th International IUPAC Symposium «Macro- and Supramolecular Architectures and Materials: Multifunctional Materials and Structures», Sochi, 2017. – P. 58.

124. Milaeva, E.R. Novel selective anticancer agents based on Sn and Au complexes. Mini-review [Электронный ресурс] / E.R. Milaeva, D.B. Shpakovsky, Y.A. Gracheva [et al.] // Pure and Applied Chemistry. – 2020. – Vol. 92. – № 8. – P. 1201-1216. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1515/pac-2019-1209>.

125. Milaeva, E.R. Organotins-promoted peroxidation of unsaturated fatty acids: a new antioxidative scavenger for promoters / E.R. Milaeva, V.Yu. Tyurin, D.B. Shpakovsky [et al.] // Heteroatom. Chem. – 2006. – Vol. 17. – № 6. – P. 475-480.

126. Milaeva, E.R. Polyfunctional activity of metal complexes containing 2,6-di-tert-butylphenol in catalytic oxidation / E.R. Milaeva, D.B. Shpakovsky, V.S. Petrosyan // Macromolecular Symposia. – 2003. – Vol. 204. – P. 191-204.

127. Milaeva, E.R. Protective effect of meso-tetrakis-(3,5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl) porphyrin on the in vivo impact of trimethyltin chloride on the antioxidative defense system / E.R. Milaeva, V.Yu. Tyurin, Y.A. Gracheva [et al.] // Bioinorg. Chem. Appl. – 2006. – Vol. 2006. – P. 64927.

128. Milaeva, E.R. Some insight into the mode of cytotoxic action of organotin compounds with protective 2,6-di-tert-butylphenol fragments / E.R. Milaeva, D.B. Shpakovsky, Y.A. Gracheva [et al.] // Journal of Organometallic Chemistry. – 2015. – Vol. 782. – P. 96-102.

129. Milaeva, E.R. Some insight into the mode of cytotoxic action of organotin compounds with protective 2,6-di-tert-butylphenol fragments / E.R. Milaeva, D.B. Shpakovsky, Y.A. Gracheva [et al.] // Journal of Organometallic Chemistry. – 2015. – Vol. 782. – P. 96-102.

130. Milaeva, E.R. Some insight into the mode of cytotoxic action of organotin compounds with protective 2,6-di-tert-butylphenol fragments / E.R. Milaeva,

D.B. Shpakovsky, Y.A. Gracheva [et al.] // *J. Organomet. Chem.* – 2015. – Vol. 782. – P. 96-102.

131. Milaeva, E.R. Synthesis and biological activity of novel Au (I) complexes with a protective antioxidant 2,6-di-tert-butylphenol group / E.R. Milaeva, D.B. Shpakovsky, V.P. Dyadchenko [et al.] // *Polyhedron.* – 2017. – Vol. 127. – P. 512-519.

132. Miller, C.G. Sulfur Metabolism Under Stress / C.G. Miller, E.E. Schmidt // *Antioxid. Redox. Signal.* – 2020. – Vol. 33. – P. 1158-1173.

133. Mine, A. In Vitro and In Silico Study to Assess Toxic Mechanisms of Hybrid Molecules of Quinone-Benzocaine as Plastoquinone Analogues in Breast Cancer Cells / M. Ayse, A. Jannuzzi, N. Bayrak, M. Yıldız, H. Yildirim, M. Otsuka, M. Fujita, M. Radwan, A. Tuyun // *ACS Omega.* – 2022. – Vol. 34. – № 7. – P. 30250-30264.

134. Miyata, Y. Pathological and Pharmacological Roles of Mitochondrial Reactive Oxygen Species in Malignant Neoplasms: Therapies Involving Chemical Compounds, Natural Products, and Photosensitizers [Электронный ресурс] / Y. Miyata, Y. Mukae, J. Harada [et al.] // *Molecules.* – 2020. – Vol. 25. – № 22: 5252. – Режим доступа: <https://doi.org/10.3390/molecules25225252>.

135. Moloney, J.N. ROS signalling in the biology of cancer / J.N. Moloney, T.G. Cotter // *Semin. Cell. Dev. Biol.* – 2018. – Vol. 80. – P. 50-64.

136. Montero, A.J. Cellular redox pathways as a therapeutic target in the treatment of cancer / A.J. Montero, J. Jassem // *Drugs.* – 2011. – Vol. 71. – № 11. – P. 1385-1396.

137. Morita, M. Vitamin D Supplementation Regulates Postoperative Serum Levels of PD-L1 in Patients with Digestive Tract Cancer and Improves Survivals in the Highest Quintile of PD-L1: A Post Hoc Analysis of the AMATERASU Randomized Controlled Trial / M. Morita, M. Okuyama, T. Akutsu [et al.] // *Nutrients.* – 2021. – Vol. 13. – № 6: 1987. – Режим доступа: <https://doi.org/10.3390/nu13061987>.

138. Morresi, C. Polyphenolic compounds and nutraceutical properties of old and new apple cultivars [Электронный ресурс] / C. Morresi, L. Cianfruglia,

T. Armeni, F. Mancini, G.C. Tenore, E. D'Urso, A. Micheletti, G. Ferretti, T. Bacchetti // *J. Food Biochem.* – 2018. – Vol. 42: e12641. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1111/jfbc.12641>.

139. Murillo, M.I. Targeting of the intracellular redox balance by metal complexes towards anticancer therapy [Электронный ресурс] / M.I. Murillo, C. Gaiddon, R. Le Lagadec // *Front Chem.* – 2022. – Vol. 10: 967337. – Режим доступа: <https://doi.org/10.3389/fchem.2022.967337>.

140. Mushak, P. Comparative organotin toxicity in the developing rat: somatic and morphological changes and relationship to accumulation of total tin / P. Mushak, M.R. Krigman, R.B. Mailman // *Neurobehav. Toxicol. Teratol.* – 1982. – Vol. 4. – № 2 – P. 209-215.

141. Navakoski de Oliveira, K. Organotin complexes containing carboxylate ligands with maleimide and naphthalimide derived partial structures: TrxR inhibition, cytotoxicity and activity in resistant cancer cells [Электронный ресурс] / K. Navakoski de Oliveira, V. Andermark, L.A. Onambele, G. Dahl [et al.] // *Eur. J. Med. Chem.* – 2014. – Vol. 87. – P. 794-800. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2014.09.075>.

142. Navakoski de Oliveira, K. Organotin complexes containing carboxylate ligands with maleimide and naphthalimide derived partial structures: TrxR inhibition, cytotoxicity and activity in resistant cancer cells / K. Navakoski de Oliveira, V. Andermark, L.A. Onambele [et al.] // *Eur. J. Med. Chem.* – 2014. – Vol. 87. – P. 794-800.

143. Nikitin, E.A. Antioxidant activity of pyridines with 2,6-di-tert-butylphenol moieties / E.A. Nikitin, D.B. Shpakovsky, A.D. Pryakhin [et al.] // *Pharm. Pharmacol. Int. J.* – 2020. – Vol. 8. – № 3. – P. 122-134.

144. Nikitin, E.A. Novel organotin complexes with phenol and imidazole moieties for optimized antitumor properties [Электронный ресурс] / E.A. Nikitin, D.B. Shpakovsky, V.Yu. Tyurin, A.A. Kazak, Yu. A. Gracheva, V.A. Vasilichin, M.S. Pavlyukov, E.M. Mironova, V.E. Gontcharenko, K.A. Lyssenko, A.A. Antonets, L.G. Dubova, P.N. Shevtsov, E.F. Shevtsova, M.A. Shamraeva, A.A. Shtil,

E.R. Milaeva // *J. Organomet. Chem.* – 2022. – Vol. 959: 122212. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1016/j.jorganchem.2021.122212>.

145. Nikpour, S. Nano- and micro-structure tin (IV) complexes bearing 4-pyridinecarbacylamidophosphate: Sonochemical synthesis, crystal structure, anti-cholinesterase activity, and docking studies [Электронный ресурс] / S. Nikpour, N. Dorosti, F. Afshar, M. Kubicki // *Appl. Organomet. Chem.* – 2020. – Vol. 34: 34: e5724. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1002/aoc.5724>.

146. Nordberg, G.F. Biomarkers of exposure, effects and susceptibility in humans and their application in studies of interactions among metals in China / G.F. Nordberg // *Toxicol. Lett.* – 2010. – V. 192. – P. 45–49.

147. O'Day, S. Phase II, randomized, controlled, double-blinded trial of weekly elesclomol plus paclitaxel versus paclitaxel alone for stage IV metastatic melanoma / S. O'Day, R. Gonzalez, D. Lawson [et al.] // *J. Clin. Oncol.* – 2009. – Vol. 27. – № 32. – P. 5452-5458.

148. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4: Health Effects. Test №. 420: Toxicité orale aiguë - Méthode de la dose prédéterminée [Электронный ресурс]. – Paris: OECD Publishing, 2001. – 15 p. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1787/9789264070950-fr>.

149. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4: Health Effects. Test No. 425: Acute Oral Toxicity: Up-and-Down Procedure [Электронный ресурс]. – Paris: OECD Publishing, 2008. – 27 p. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1787/9789264071049-en>.

150. Pandey, P. Evidence of Metallic and Polyether Ionophores as Potent Therapeutic Drug Candidate in Cancer Management [Электронный ресурс] / P. Pandey, F. Khan, H.A. Qari, T.K. Upadhyay, A.F. Alkhateeb, M. Oves // *Molecules.* – 2022. – Vol. 27(15): 4708. – Режим доступа: <https://doi.org/10.3390/molecules27154708>.

151. Papageorgis, P. TGFbeta signaling in tumor initiation, epithelial-to-mesenchymal transition, and metastasis [Электронный ресурс] / P. Papageorgis // *J Oncol.* – 2015: 5871932015. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1155/2015/587193>.

152. Payen, V.L. Metabolic changes associated with tumor metastasis, part 1: tumor pH, glycolysis and the pentose phosphate pathway / V.L. Payen, P.E. Porporato, B. Baselet, P. Sonveaux // *Cell. Mol. Life Sci.* – 2016. – Vol. 73. – № 7. – P. 1333-1348.

153. Pellerito, L. Organotin (IV) n^+ complexes formed with biologically active ligands: Equilibrium and structural studies, and some biological aspects / L. Pellerito, L. Nagy // *Coord. Chem. Rev.* – 2002 – Vol. 224, Iss. 1-2. – P. 111-150.

154. Peña, Q. Metallodrugs in cancer nanomedicine / Q. Peña, A. Wang, O. Zaremba, Y. Shi, H.W. Scheeren, J.M. Metselaar, F. Kiessling, R.M. Pallares, S. Wuttke, T. Lammers // *Chem Soc Rev.* – 2022. – Vol. 51. – № 7. – P. 2544-2582.

155. Pereira, C.L.V. Cardiotoxicity of environmental contaminant tributyltin involves myocyte oxidative stress and abnormal Ca²⁺ handling / C.L.V. Pereira, C.F. Ximenes, E. Merlo, A.S. Sciortino, J.S. Monteiro, A. Moreira, B.B. Jacobsen, J.B. Graceli, K.S. Ginsburg, R.F. Ribeiro Junior, D.M. Bers, I. Stefanon // *Environ Pollut.* – 2019. – Vol. 247. – P. 371-382.

156. Perillo, B. ROS in cancer therapy: the bright side of the moon / B. Perillo, M. Di Donato, A. Pezone [et al.] // *Exp. Mol. Med.* – 2020. – Vol. 52. – № 2. – P. 192-203.

157. Peters, B. Current advances in tin cluster chemistry / B. Peters, N. Lichtenberger, E. Dornsiepen, S. Dehnen // *Chemical Science.* – 2020. – Vol. 11(1). – P. 16-26.

158. Pettinari, C. Tin (IV) and organotin (IV) complexes containing mono or bidentate N-donor ligands—IV. 2-methyl-, 2-isopropyl- and 4-methyl-imidazole derivatives: synthesis, characterization and behaviour in solution / C. Pettinari, M. Pellei, F. Marchetti, C. Santini, M. Miliani // *Polyhedron.* – 1998. – Vol. 17(4). – P.561-576.

159. Pingitore, A. Exercise and oxidative stress: potential effects of antioxidant dietary strategies in sports / A. Pingitore, G.P. Lima, F. Mastorci [et al.] // *Nutrition (Burbank, Los-Angeles County, Calif.)*. – 2015. – Vol. 31. – № 7-8. – P. 916-922.

160. Piskounova, E. Oxidative stress inhibits distant metastasis by human melanoma cells / E. Piskounova, M. Agathocleous, M.M. Murphy, Z. Hu, S.E. Huddleston, Z. Zhao, A.M. Leitch, T.M. Johnson, R.J. DeBerardinis, S.J. Morrison // *Nature*. – 2015. – Vol. 527. – P. 186-191.

161. Postovit, L. Harnessing oxidative stress as an innovative target for cancer therapy / L. Postovit, C. Widmann, P. Huang, S.B. Gibson [Электронный ресурс] // *Oxidative medicine and cellular longevity*. – 2018. – Vol. 2018: 6135739. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1155/2018/6135739>.

162. Przybyło, M. Changes in lipid membrane mechanics induced by di- and triphenyltins / M. Przybyło, D. Drabik, K. Szostak, T. Borowik, B. Klösgen, J. Dobrucki, A.F. Sikorski, M. Langner // *Biochim. Biophys. Acta. Biomembr.* – 2017. – Vol. 1859. – № 8. – P. 1301-1309.

163. Rehman, W. Synthesis biological screening and molecular docking studies of some tin (IV) Schiff base adducts / W. Rehman, R. Yasmeen, F. Rahim [et al.] // *J. Photochem. Photobiol.* – 2016. – Vol. 164. – P. 65-72.

164. Reshkin, S.J. Na⁺-H⁺ exchanger, pH regulation and cancer / S.J. Reshkin, R.A. Cardone, S. Harguindey // *Recent. Pat. Anticancer. Drug. Discov.* – 2013. – Vol. 8. – № 1. – P. 85-99.

165. Rocha, C. DNA repair pathways and cisplatin resistance: An intimate relationship [Электронный ресурс] / C. Rocha, M. Silva, A. Quinet, J. Cabral-Neto, C. Menck // *Clinics (Sao Paulo)*. – 2018. – Vol. 73 (Suppl 1): e478s – Режим доступа: <https://doi.org/10.6061/clinics/2018/e478s>.

166. Sadovnikov, K.S. Novel substituted 5-methyl-4-acylaminoisoxazoles as antimetabolic agents: evaluation of selectivity to IncaP cancer cells [Электронный ресурс] / K.S. Sadovnikov, D.A. Vasilenko, Y.A. Gracheva, N.A. Zefirov, E.V. Radchenko, V.A. Palyulin, Y.K. Grishin, V.A. Vasilichin, A.A. Shtil, T.S. Kuznetsova, O.N. Zefirova, E.R. Milaeva, E.B. Averina, P.N. Shevtsov, E.F. Shevtsova, S.A. Kuznetsov, A.S. Bunev // *Archiv der Pharmazie*. – 2022. – Vol. 11. – № 9. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1002/ajoc.202200355>.

167. Sahoo, B.M. Reactive Oxygen Species (ROS): Key Components in Cancer Therapies / B.M. Sahoo, B.K. Banik, P. Borah, A. Jain // *Anticancer. Agents. Med. Chem.* – 2022. – Vol. 22. – № 2. – P. 215-222.
168. Sajadimajd, S. Oxidative Stress and Cancer: The Role of Nrf2 / S. Sajadimajd, M. Khazaei // *Curr Cancer Drug Targets.* – 2018. – Vol. 18 (6). – P. 538–557.
169. Saxena, A.K. Organotin Compounds and Cancer Chemotherapy / A.K. Saxena, F. Huber // *Coord. Chem. Rev.* – 1989. – Vol. 95. – № 1. – P. 109-123.
170. Sayin, V.I. Antioxidants accelerate lung cancer progression in mice [Электронный ресурс] / V.I. Sayin, M.X. Ibrahim, E. Larsson [et al.] // *Sci. Transl. Med.* – 2014. – Vol. 221. – № 6: 221ra15. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3007653>.
171. Seizures, affective disorders and anticonvulsant drugs / M.R. Trimble, B. Schmitz. – Clarus Press Ltd: Guildford, UK, 2002. – 199 p.
172. Semenza, G.L. Hypoxia-inducible factors in physiology and medicine / G.L. Semenza // *Cell.* – 2012. – Vol. 148. – № 3. – P. 399-408.
173. Shang, X. Dimeric diorganotin (IV) complexes with arylhydrazones of β -diketones: synthesis, structures, cytotoxicity and apoptosis properties / X. Shang, B. Zhao, G. Xiang [et al.] // *RSC Adv.* – 2015. – № 5. – P. 45053-45060.
174. Shao, F.Y. B5, a thioredoxin reductase inhibitor, induces apoptosis in human cervical cancer cells by suppressing the thioredoxin system, disrupting mitochondrion-dependent pathways and triggering autophagy / F.Y. Shao, Z.Y. Du, D.L. Ma [et al.] // *Oncotarget.* – 2015. – Vol. 31. – № 6. – P. 30939-30956.
175. Shi, P.-F. Synthesis, characterization and cytotoxicity of fluorescent organotin complexes of terpyridine derivatives / P.-F. Shi, Q. Jiang, H.-C. Duan [et al.] // *Chin. Chem. Lett.* – 2014. – Vol. 25, Iss. 4. – P. 586-588.
176. Shpakovsky, D.B. Synthesis, antiradical activity and in vitro cytotoxicity of novel organotin complexes based on 2,6-di-tert-butyl-4-mercaptophenol / D.B. Shpakovsky, C.N. Banti, E.M. Mukhatova [et al.] // *Dalton Transactions: An*

International Journal of Inorganic Chemistry – 2014. – Vol. 43. – № 18. – P. 6880-6890.

177. Shpakovsky, D.B. Synthesis, structural characterization and in vitro inhibitory studies against human breast cancer of the bis-(2,6-di-tert-butylphenol)tin (IV) dichloride and its complexes / D.B. Shpakovsky, C.N. Banti, G. Beaulieu-Houle [et al.] // Dalton Transactions: An International Journal of Inorganic Chemistry. – 2012. – Vol. 41. – № 48. – P. 14568-14582.

178. Shpakovsky, D.B. The antioxidant 2,6-di-tertbutylphenol moiety attenuates the pro-oxidant properties of the auranofin analogue / D.B. Shpakovsky, A.A. Shtil, E.V. Kharitonashvili [et al.] // Metallomics. – 2018. – Vol. 10. – P. 406-413.

179. Sies, H. Oxidative stress / H. Sies, C. Berndt, D.P. Jones // Ann. Rev. Biochem. – 2017. – Vol. 86. – P. 715-748.

180. Sies, H. Role of metabolic H₂O₂ generation: Redox signaling and oxidative stress / H. Sies // J. Biol. Chem. – 2014. – Vol. 289. – P. 8735-8741.

181. Singh, H.L. Synthesis, Spectral, 3D Molecular Modeling and Antibacterial Studies of Dibutyltin (IV) Schiff Base Complexes Derived from Substituted Isatin and Amino Acids / H.L. Singh, J. Singh // Natural Science. – 2012. – Vol. 4. – № 4. – P. 170-178.

182. Song, X. Organotins and quantitative-structure activity/property relationships / X. Song, A. Zapata, G. Eng. // J. Organomet. Chem. – 2006. – Vol. 691, Iss. 8. – P. 1756-1760.

183. Sotgia, F. Mitochondrial oxidative stress drives tumor progression and metastasis: should we use antioxidants as a key component of cancer treatment and prevention? [Электронный ресурс] / F. Sotgia, U.E. Martinez-Outschoorn, M.P. Lisanti // BMC Med. – 2011. – Vol. 9: 62. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1186/1741-7015-9-62>.

184. Stathopoulou, M.E.K. Organotin derivatives of cholic acid induce apoptosis into breast cancer cells and interfere with mitochondrion; Synthesis, characterization and biological evaluation [Электронный ресурс] /

M.E.K. Stathopoulou, N. Zoupanou, C.N. Banti [et al.] // *Steroids*. – 2021. – Vol. 167: 108798. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2021.108798>.

185. Stohs, S.J. Oxidative mechanisms in the toxicity of metal ions / S.J. Stohs, D. Bagchi // *Free Radic Biol Med*. – 1995. – Vol. 18. – № 2. – P. 321-336.

186. Storr, T. Design of targeting ligands in medicinal inorganic chemistry / T. Storr, K.H. Thompson, C. Orvig // *Chem. Soc. Rev.* – 2006. – Vol. 35. – № 6. – P. 534-544.

187. Sun, H.N. Effect of pH, heat, and light treatments on the antioxidant activity of sweet potato leaf polyphenols / H.N. Sun, T.H. Mu, L.S. Xi // *Int. J. Food Prop.* – 2017. – Vol. 20. – P. 318–332.

188. Swietach, P. The chemistry, physiology and pathology of pH in cancer / P. Swietach, R.D. Vaughan-Jones, A.L. Harris, A. Hulikova // *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* – 2014. – Vol. 369. – № 1638. – P. 20130099.

189. Tabassum, S. Exploration of glycosylated-organotin (IV) complexes as anticancer drug candidates / S. Tabassum, S. Yadav, F. Arjmand // *Inorg. Chim. Acta.* – 2014. – Vol. 423. – Part B. – P. 38-45.

190. Tabassum, S. Synthesis and characterization of glycoconjugate tin(IV) complexes: In vitro DNA binding studies, cytotoxicity, and cell death / S. Tabassum, R.A. Khan, F. Arjmand [et al.] // *J. Organomet. Chem.* – 2011. – Vol. 696. – № 8. – P. 1600-1608.

191. Tang, L. Hepatotoxicity and proteomic mechanism of Di-n-butyl-di-(4-chlorobenzohydroxamato)tin (IV) (DBDCT) in vivo / L. Tang, J.R. Luo, Y.L. Li, R. Ge, Q.S. Li // *Environ. Toxicol. Pharmacol.* – 2017. – Vol. 51. – P. 38-44.

192. Tarin, D. Metastatic colonization potential of primary tumor cells in mice / D. Tarin, J. Price // *Br. J. Cancer.* – 1979. – Vol. 39. – № 6. – P. 740-754.

193. Tonks, N.K. Redox redux: Revisiting PTPs and the control of cell signaling / N.K. Tonks // *Cell*. – 2005. – Vol. 121. – P. 667-670.

194. Toubia, I. Study of Cytotoxic and Photodynamic Activities of Dyads Composed of a Zinc Phthalocyanine Appended to an Organotin [Электронный ресурс]

/ I. Toubia, C. Nguyen, S. Diring [et al.] // *Pharmaceuticals (Basel)*. – 2021. – Vol. 14, Iss. 5: 413. – Режим доступа: <https://doi.org/10.3390/ph14050413>.

195. Trachootham, D. Targeting cancer cells by ROS-mediated mechanisms: a radical therapeutic approach? / D. Trachootham, J. Alexandre, P. Huang // *Nat. Rev. Drug. Discov.* – 2009. – Vol. 8. – P. 579-591.

196. Trachootham, D. Targeting cancer cells by ROS-mediated mechanisms: a radical therapeutic approach? / D. Trachootham, J. Alexandre, P. Huang // *Nature Rev. Drug. Discov.* – 2009. – Vol. 8. – № 7. – P. 579-591.

197. Tsuchiya, Y. Protein CoAlation: a redox-regulated protein modification by coenzyme A in mammalian cells / Y. Tsuchiya, S.Y. Peak-Chew, C. Newell [et al.] // *Biochem. J.* – 2017. – Vol. 474. – № 14. – P. 2489-2508.

198. Tsvetkova, D. Application of Approved Cisplatin Derivatives in Combination Therapy against Different Cancer Diseases [Электронный ресурс] / D. Tsvetkova, S. Ivanova // *Molecules*. – 2022. – Vol. 27(8): 2466. – Режим доступа: <https://doi.org/10.3390/molecules27082466>.

199. Ullah, A. Plant extract-based synthesis of metallic nanomaterials, their applications, and safety concerns / A. Ullah, S.I. Lim // *Biotechnol. Bioeng.* – 2022. – Vol. 119. – № 9. – P. 2273-2304.

200. Ullah, H. Structure-activity relationships of new Organotin (IV) anticancer agents and their cytotoxicity profile on HL-60, MCF-7 and HeLa human cancer cell lines [Электронный ресурс] / H. Ullah, V. Previtali, H.B. Mihigo, B. Twamley, M.K. Rauf, F. Javed, A. Waseem, R.J. Baker, I. Rozas // *Eur. J. Med. Chem.* – 2019. – Nov. 1. – Vol. 181: 111544. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.07.047>.

201. Vaidya, S.P. Challenges and opportunities in the development of metal-based anticancer theranostic agents [Электронный ресурс] / S.P. Vaidya, S. Gadre, R.T. Kamiseti, M. Patra // *Biosci. Rep.* – 2022. – Vol. 42 (5): BSR20212160. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1042/BSR20212160>

202. Vaidya, S.P. Challenges and opportunities in the development of metal-based anticancer theranostic agents [Электронный ресурс] / S.P. Vaidya, S. Gadre,

R.T. Kamisetti, M. Patra // *Biosci. Rep.* – 2022. – Vol. 42(5): BSR20212160. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1042/BSR20212160>.

203. Van der Kerk, G.J.M. Investigations on Organo-Tin Compounds. V The Preparation and Antifungal Properties of Unsymmetrical Tri-n-Alkyltin Acetates [Электронный ресурс] / G.J.M. Van der Kerk, J.G.A. Luijten // *J. of Appl. Chem.* – 1956. – Vol. 6. – № 2. – P. 56-60. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1002/jctb.5010060202>.

204. Venè, R. The Cystine/Cysteine Cycle and GSH Are Independent and Crucial Antioxidant Systems in Malignant Melanoma Cells and Represent Druggable Targets [Электронный ресурс] / R. Venè, P. Castellani, L. Delfino, M. Lucibello, M.R. Ciriolo, A. Rubartelli // *Antioxidants & Redox Signaling.* – 2011. – Vol. 15. – № 9. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1089/ars.2010.3830>.

205. Verginadis, I.I. Anticancer and cytotoxic effects of a triorganotin compound with 2-mercapto-nicotinic acid in malignant cell lines and tumor bearing Wistar rats / I.I. Verginadis, S. Karkabounas, Y. Simos [et al.] // *Eur. J. Pharm. Sci.* – 2011. – Vol. 42. – № 3. – P. 253-261.

206. Wang, A. Rhein induces liver cancer cells apoptosis via activating ROS-dependent JNK/Jun/caspase-3 signaling pathway / A. Wang, H. Jiang, Y. Liu [et al.] // *J. Cancer.* – 2020. – Vol. 11. – № 2. – P. 500-507.

207. Wang, C. The metabolic adaptation mechanism of metastatic organotropism / Wang C., Luo D. // *Exp. Hematol. Oncol.* – 2021. – Vol. 10. – № 1: 30. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1186/s40164-021-00223-4>.

208. Wang, C. The metabolic adaptation mechanism of metastatic organotropism [Электронный ресурс] / C. Wang, D. Luo // *Exp. Hematol. Oncol.* – 2021. – Vol. 10, 30. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1186/s40164-021-00223-4>

209. Waseem, D. Dibutylstannanediyl (2Z,2'Z)-bis(4-(benzylamino)-4-oxobut-2-enoate inhibits prostate cancer progression by activating p38 MAPK/PPAR α /SMAD4 signaling [Электронный ресурс] / D. Waseem, G.M. Khan, I.U. Haq, D.N. Syed // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* – 2022. – Vol. 449: 116127. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1016/j.taap.2022.116127>.

210. Wätjen, W. Low concentrations of flavonoids are protective in rat H4IIE cells whereas high concentrations cause DNA damage and apoptosis / W. Wätjen, G. Michels, B. Steffan [et al.] // *The Journal of nutrition*. – 2005. – Vol. 135. – № 3. – P. 525-531.

211. Webb, B.A. Dysregulated pH: a perfect storm for cancer progression / B.A. Webb, M. Chimenti, M.P. Jacobson, D.L. Barber // *Nature reviews. Cancer*. – 2011. – Vol. 11. – № 9. – P. 671-677.

212. Weng, M.S. The interplay of reactive oxygen species and the epidermal growth factor receptor in tumor progression and drug resistance [Электронный ресурс] / M.S. Weng, J.H. Chang, W.Y. Hung [et al.] // *J. Exp. Clin. Cancer Res*. – 2018. – Vol. 37. – № 61 (2018). – Режим доступа: <https://doi.org/10.1186/s13046-018-0728-0>.

213. Wester, P.W. Chronic toxicity and carcinogenicity of bis(tri-n-butyltin)oxide (TBTO) in the rat / P.W. Wester, E.I. Krajnc, F.X. van Leeuwen [et al.] // *Food Chem Toxicol*. – 1990. – Vol. 28, № 3. – P. 179-196.

214. White, K.A. Cancer cell behaviors mediated by dysregulated pH dynamics at a glance / K.A. White, B.K. Grillo-Hill, D.L. Barber // *J. Cell. Sci*. – 2017. – Vol. 130. – № 4. – P. 663-669.

215. Winek, C.L. Acute and subacute toxicology and safety evaluation of triphenyl tin hydroxide (Vancide KS) / C.L. Winek, M.J. Jr. Marks, S.P. Shanor, E.R. Davis // *Clin. Toxicol*. – 1978. – Vol. 13. – № 2. – P. 281-296.

216. Winship, K.A. Toxicity of tin and its compounds / K.A. Winship // *Adverse Drug. React. Acute. Poisoning Rev*. – 1988. – Vol. – № 1. – P. 19-38.

217. Winterbourn, C.C. Biological chemistry of superoxide radicals [Электронный ресурс] / C.C. Winterbourn // *Chem. Texts*. – 2020. – Vol. 6. – № 7. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1007/s40828-019-0101-8>.

218. Xanthopoulou, M.N. Synthesis, structural characterization, and biological studies of six- and five-coordinate organotin (IV) complexes with the thioamides 2-mercaptobenzothiazole, 5-chloro-2-mercaptobenzothiazole, and 2-mercaptobenzoxazole [Электронный ресурс] / M.N. Xanthopoulou, S.K. Hadjikakou, N. Hadjiliadis [et al.] //

Inorg. Chem. – 2007. – Vol. 46. – № 4. – P. 1187-1195. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1021/ic061601f>.

219. Xiao, Y. Glutathione metabolism in renal cell carcinoma progression and implications for therapies [Электронный ресурс] / Y. Xiao, D. Meierhofer // Int. J. Mol. Sci. – 2019. – Vol. 20. – № 158: 3672. – Режим доступа: <https://doi.org/10.3390/ijms20153672>.

220. Xu J.J. Metal nanoparticles as a promising technology in targeted cancer treatment / J.J. Xu, W.C. Zhang, Y.W. Guo, X.Y. Chen, Y.N. Zhang // Drug. Deliv. – 2022. – Vol. 29. – № 1. – P. 664-678.

221. Zhang, S. Toxicity of organotin compounds and the ecological risk of organic tin with co-existing contaminants in aquatic organisms [Электронный ресурс] / S. Zhang, P. Li, Z.H. Li // Comp. Biochem. Physiol. C. Toxicol. Pharmacol. – 2021. – Vol. 246: 109054. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2021.109054>.

222. Zhang, Y.Y. Syntheses, structures and anti-tumor activity of four new organotin(IV) carboxylates based on 2-thienylselenoacetic acid / Y.Y. Zhang, R.F. Zhang, S.L. Zhang, S. Cheng, Q.L. Li, C.L. Ma // Dalton. Trans. – 2016. – Vol. 45. – № 20. – P. 8412-8421.

223. Авдеева, О.И. Биоэтические и экономические аспекты в основе выбора метода изучения токсичности лекарственных средств при однократном введении / О.И. Авдеева, М.Н. Макарова, А.В. Калатанова, М.А. Ковалева // Лабораторные животные для научных исследований. – 2018. – № 1. – С. 4-11.

224. Алхусейн-Кулягинова, М.С. Изучение взаимосвязи структуры и токсичности оловоорганических соединений, содержащих фрагмент 2,6-ди-трет-бутилфенола / М.С. Алхусейн-Кулягинова, М.А. Додохова, И.М. Котиева, А.В. Сафроненко, Д.Б. Шпаковский, Е.Р. Милаева // В сборнике: MedChem-Russia 2021. Материалы 5-ой Российской конференции по медицинской химии с международным участием. – Волгоград. – 2021. – С. 281.

225. Анисимов, В.Н. Современные подходы к изучению канцерогенной безопасности, противоопухолевой, антиканцерогенной и геропротекторной

активности фармакологических препаратов / В.Н. Анисимов, М.А. Забежинский, И.Г. Попович [и др.] // Вопросы онкологии. – 2012. – Т. 58. – № 1. – С. 7-18.

226. Антоненко, Т.А. Антиоксидантная активность карбоксилатов редкоземельных элементов, содержащих фрагменты 2,6-ди-трет-бутилфенола / Т.А. Антоненко, Д.Б. Шпаковский, Ю.А. Грачева [и др.] // Сборник трудов Второй междисциплинарный симпозиум и молодежный форум по медицинской, органической и биологической химии. – Республика Крым: Новый Свет. – 2015. – С. 102.

227. Антоненко, Т.А. Антирадикальная активность комплексов оловоорганических соединений с производными 2,6-ди-трет-бутилфенола / Т.А. Антоненко, Д.Б. Шпаковский, Ю.А. Грачева [и др.] // Тезисы докладов Третьей Всероссийской конференции (с международным участием) «Успехи синтеза и комплексообразования». – М.: РУДН, 2014. – С. 59.

228. Антоненко, Т.А. Координационные соединения олова, золота и редкоземельных элементов с антиоксидантными фенольными группами в лигандах. Синтез, структура и биологическая активность: дис. ... канд. хим. наук: 02.00.01, 02.00.12 / Антоненко Таисия Алексеевна. – М., 2019. – 144 с.

229. Антоненко, Т.А. Кристаллические и молекулярные структуры новых оловоорганических соединений с антиоксидантными группами / Т.А. Антоненко, Д.Б. Шпаковский, Е.Р. Милаева [и др.] // Сборник трудов «Совещание по использованию рассеяния нейтронов и синхротронного излучения в конденсированных средах», Старый Петергоф, Санкт-Петербург, 2014. – с. 179.

230. Антоненко, Т.А. Фотолюминесцентные карбоксилаты лантанидов с антиоксидантным фенольным фрагментом / Т.А. Антоненко, Ю.А. Грачева, Д.Б. Шпаковский [и др.] // Тезисы докладов в 5 томах XX Менделеевский съезд по общей и прикладной химии.– Екатеринбург: Уральское отделение РАН, 2016. – с. 585.

231. Ахмедова, С.Э.К. Изменения активности НАДН оксидазы и выхода цитохрома из внутренней мембраны митохондрий при автоокислении и перекисном окислении липидов при ишемии / С.Э.К. Ахмедова,

Г.М.К. Джаббарова, С.О. Мирзакулов, Г.Т. Абдуллаева, Г.А. Анварова // *Universum: химия и биология*. – 2020. – № 11-1 (77). – С. 24-28.

232. Бандовкина, В.А. Влияние роста перевивной меланомы В16/F10 на функционирование системы перекисного окисления липидов в печени самок мышей С57BL/6 / В.А. Бандовкина, И.В. Нескубина, Е.М. Франциянц, Л.Д. Ткаля, Ю.В. Пржедецкий // *Известия высших учебных заведений. Северо-Кавказский регион. Серия: Естественные науки*. – 2017. – № 3-2 (195-2). – С. 4-10.

233. Безбородова, О.А. Противоопухолевые лекарственные препараты: планирование доклинических исследований по оценке эффективности и безопасности / О.А. Безбородова, А.А. Панкратов, Е.Р. Немцова [и др.] // *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. – 2020. – Т.10, №2. – С. 96-110.

234. Беленький, М.Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффект / Л.М. Беленький. – Л.: Госмедиздат, 1963. – 146 с.

235. Березовская, И.В. Прогноз безопасности лекарственных средств в доклинических токсикологических исследованиях / И.В. Березовская // *Токсикологический вестник*. – 2010. – Т. 104. – № 5. – С. 17-22.

236. Бугаев-Макаровский, Н.А. Моделирование нейротоксического повреждения мозга хлоридом триметилолова на крысах линии Wistar / Н.А. Бугаев-Макаровский, Е.В. Першина // *Сборник трудов XXIV научной школы-конференции молодых ученых по физиологии и высшей нервной деятельности и нейрофизиологии*. – 2020. – №1. – С. 21-24.

237. Васильев, А.Н. Проблемы планирования и проведения доклинических исследований в Российской Федерации / А.Н. Васильев, Р.Р. Ниязов, Е.В. Гавришина [и др.] // *Ремедиум. Журнал о российском рынке лекарств и медицинской техники*. – 2017. – № 9. – С. 6-18.

238. Васильев, А.Н. Проблемы планирования и проведения доклинических исследований в Российской Федерации / А.Н. Васильев, Р.Р. Ниязов, Е.В. Гавришина, М.А. Драницына, Д.А. Куличев // *Ремедиум. Журнал о российском рынке лекарств и медицинской техники*. – 2017. – № 9. – С. 6-19.

239. Васильев, А.Н. Проблемы планирования проведения доклинических исследований в Российской Федерации / А.Н. Васильев, Р.Р. Ниязов, Е.В. Гавришина [и др.] // Ремедиум. Журнал о российском рынке лекарств и медицинской техники. – 2017. – № 9. – С. 6-19.

240. Васильева, И.Н. Доклиническое и клиническое изучение внеклеточной ДНК при онкологических и других заболеваниях, связанных с нарушением апоптоза / И.Н. Васильева, В.Г. Беспалов // Вопросы онкологии. – 2018. – Т. 64. – № 3. – С. 435-439.

241. Вострикова, С.М. Активные формы кислорода и антиоксиданты в канцерогенезе и терапии опухолей / С.М. Вострикова, А.Б. Гринев, В.Г. Гогвадзе // Биохимия. – 2020. – Т. 85. – № 10. – С. 1474-1488.

242. Вспомогательные вещества в фармацевтической технологии: учебное пособие / И.А. Мурашкина, В.В. Гордеева; ФГБОУ ВО ИГМУ Минздрава России, кафедра фармацевтической технологии. – Иркутск: ИГМУ, 2018. – 64 с.

243. Гайнутдинов, П.И. Обратная зависимость между антиоксидантной активностью синтетических монофенолов структурно взаимосвязанного ряда и их токсичностью в отношении опухолевых клеток / П.И. Гайнутдинов, П.М. Кожин, А.В. Чечушков, Г.Г. Мартинович [и др.] // Сибирский научный медицинский журнал. – 2018. – Т. 38. – № 1. – С. 22-31.

244. Государственный реестр лекарственных средств [Электронный ресурс]. – М.: Минздрав РФ. – 2022. – Режим доступа: <http://grls.rosminzdrav.ru>.

245. Грачева, Ю.А. Новый подход к снижению прооксидантной активности токсичных оловоорганических соединений с использованием «антиокислительных ловушек»: дис. ... канд. хим. наук: 02.00.08 / Грачева Юлия Александровна. – М., 2012. - 159 с.

246. Грачева, Ю.А. Биологическая активность новых оловоорганических соединений с антиоксидантными 2,6-ди-трет-бутилфенольными фрагментами / Ю.А. Грачева, Т.А. Антоненко, Д.Б. Шпаковский [и др.] // Сборник тезисов докладов третьего междисциплинарного симпозиума по медицинской, органической и биологической химии и фармацевтике 2017 (МОБИ-ХимФарма

2017) / Под редакцией К.В. Кудрявцева, Е.М. Паниной. – Севастополь: Перо, 2017. – С. 14.

247. Громова, Е.Г. Практические рекомендации по коррекции нефротоксичности противоопухолевых препаратов Громова Е.Г., Бирюкова Л.С., Джумабаева Б.Т., Курмуков И.А. Злокачественные опухоли. – 2020. – Т. 10. – № 3S2-2. – С. 118-130.

248. Громова, Е.Г. Практические рекомендации по коррекции нефротоксичности противоопухолевых препаратов / Е.Г. Громова, Л.С. Бирюкова, Б.Т. Джумабаева, И.А. Курмуков // Злокачественные опухоли. – 2021. – Т. 11. – № 3S2-2. – С. 132-144.

249. Гущина, С.В. Доклинические исследования стабильности суспензий, приготовленных из готовых лекарственных препаратов / С.В. Гущина, В.М. Косман, М.Н. Макарова, А.Н. Шиков // Фармация. – 2017. – Т. 66. – № 3. – С. 27-32.

250. Гущина, С.В. Сравнительное токсикологическое изучение носителей для лекарственных средств, применяемых в доклинических исследованиях / С.В. Гущина, М.Н. Макарова, О.Н. Пожарицкая // Международный вестник ветеринарии. – 2015. – № 3. – С. 92-98.

251. Дергачева, Д.И. Антиоксидантное действие природных полифенолов на митохондрии печени крыс с токсическим гепатитом / Биологические мембраны / Д.И. Дергачева, О.И. Кляйн, А.А. Мариничев [и др.] // Биологические мембраны. – 2020. – Т. 37. – № 3. – С. 197-207.

252. Додохова, М.А. Влияние гибридных оловоорганических соединений в максимально эффективной дозе на рост и активность метастазирования меланомы в16 у мышей линии С57BL/6 / М.А. Додохова, И.М. Котиева, А.В. Сафроненко [и др.] // Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины. – 2021. – Т. 11. – № 3. – С. 12-17.

253. Додохова, М.А. Влияние хлорида триметиллова на функционально-метаболическое состояние печени, почек и оценка корректирующего действия

порфирина с антиоксидантными группами: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 03.00.04 / Додохова Маргарита Авдеевна. – Ростов-на-Д., 2006. – 21 с.

254. Додохова, М.А. Исследование острой пероральной токсичности оловоорганических соединений, содержащих фрагмент 2,6-ди-трет-бутилфенола / М.А. Додохова, А.В. Сафроненко, И.М. Котиева, Е.Ф. Комарова, В.Г. Трепель, М.С. Алхусейн-Кулягинова, Д.Б. Шпаковский, Е.Р. Милаева // Уральский медицинский журнал. – 2021. – Т. 20. – № 3. – С. 73-77.

255. Додохова, М.А. Оценка фармакотерапевтического потенциала оловоорганических соединений *in vivo* / М.А. Додохова, А.В. Сафроненко, И.М. Котиева [и др.] // Биофармацевтический журнал. – 2021. – Т. 13. – № 3. – С. 30-34.

256. Додохова, М.А. Токсическое действие органических производных олова на активность ЩФ и трансаминаз в сыворотке крови человека / М.А. Додохова, Е.А. Пионтик // Вестник РГМУ. Материалы IX Пироговской научной конференции. – М., 2005. – С. 164.

257. Дружкова, И.Н. Новый подход к снижению прооксидантной активности токсичных оловоорганических соединений с использованием «антиокислительных ловушек»: дис. ... канд. биол. наук: 1.5.2 / Дружкова Ирина Николаевна. – Нижний Новгород., 2021. – 109 с.

258. Дятлова, А.С. Молекулярные маркеры каспаза-зависимого и митохондриального апоптоза: роль в развитии патологии / А.С. Дятлова, А.В. Дудков, Н.С. Линькова, В.Х. Хавинсон // *Advances in modern biology*. – 2018. – Т. 138. – № 2. – С. 126-137.

259. Дятлова, А.С. Процесс апоптоза опухолевых клеток при воздействии орексинов / А.С. Дятлова, Н.С. Новикова, К.З. Деревцова, Е.А. Корнева // *Медицинская иммунология*. – 2021. – Т. 23. – № 3. – С. 421-438.

260. Евстратова, Е.С. Идеи синергизма в онкологии: перспективы практической реализации / Е.С. Евстратова, В.Г. Петин // *Исследования и практика в медицине*. – 2020. – Т. 7. – № 2. – С. 82-91.

261. Егорова, М.В. Выделение митохондрий из клеток и тканей животных и человека: современные методические приемы / М.В. Егорова, С.А. Афанасьев // Сибирский медицинский журнал. – 2011. – Т. 26. – № 1-1. – С. 22-28.

262. Егоршина, А.Ю. Каспаза-2 – онкосупрессор и регулятор метаболизма: что день грядущий нам готовит? / А.Ю. Егоршина, А.В. Замараев, И.Н. Лаврик, Б.Д. Животовский, Г.С. Копейна // Молекулярная биология. – 2018. – Т. 52. – № 5. – С. 750-763.

263. Жуленко, В.Н. Фармакология: учебник для студентов высших учебных заведений, обучающихся по специальности "Ветеринария" / В.Н. Жуленко, Г.И. Горшков; под ред. В.Н. Жуленко. – М.: КолосС, 2008. – 511с.

264. Зельчан, Р.В. Изучение общей острой токсичности нового радиофармпрепарата 99МТС-1-ТНО-D-ГЛЮКОЗА в эксперименте / Р.В. Зельчан, А.А. Медведева, О.Д. Брагина [и др.] // Молекулярная медицина. – 2019. – Т. 17. – № 1. – С. 58-66.

265. Зенков, Н.К. Окислительный стресс при старении / Н.К. Зенков, П.М. Кожин, А.В. Чечушков [и др.] // Успехи геронтологии. – 2020. – Т. 33. – № 1. – С. 10-22.

266. Зенков, Н.К. Особенности редокс-регуляции в опухолевых клетках / Н.К. Зенков, П.М. Кожин, А.В. Вчерашняя [и др.] // Сибирский научный медицинский журнал. – 2019. – Т. 39. – № 2. – С. 11-26.

267. Зенков, Н.К. Фенольные биоантиоксиданты / Н.К. Зенков, Н.В. Кандалинцева, В.З. Ланкин, Е.Б. Меньщикова, А.Е. Просенко. – Новосибирск: СО РАМН, 2003. – 328 с.

268. Зорькина, А.В. Изучение комбинированного применения противоопухолевой химиотерапии и препаратов антиоксидантного действия / А.В. Зорькина, П.И. Скопин, А.А. Усанова, Е.С. Маланьина // Уральский медицинский журнал. – 2009. – №8 (62). – С. 17-19.

269. Казанчева, О.Д. Методология поиска новых биологически активных фармакологических веществ с рецептурной активностью / О.Д. Казанчева,

А.С. Герасименко // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2016. – № 8-4. – С. 522-525.

270. Казюлин А.Н. Лекарственная гепатотоксичность при проведении противоопухолевой химиотерапии онкологических заболеваний и возможности ее коррекции / А.Н. Казюлин, Л.З. Вельшер, Н.Н. Данилевская, Е.А. Маевская // Фарматека. – 2012. – № 8. – С. 37 – 44

271. Калинина, Е.В. Синтез глутатиона в опухолевых клетках / Е.В. Калинина, Л.А. Гаврилюк // Биохимия. – 2020. – Т. 85. – № 8. – С. 1051-1065.

272. Канаев, П.М. Патоморфологическая характеристика экспериментальной карциномы легкого Льюиса при коррекции антиоксидантами / П.М. Канаев, Н.А. Плотникова // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Медицинские науки. – 2013. – Т. 27. – № 3. – С. 5-10.

273. Кириченко, Д.В. Влияние физико-химических свойств компонентов препарата на выбор носителя для введения лабораторным животным / Д.В. Кириченко // Лабораторные животные для научных исследований. – 2020. – № 2. – С. 76-81.

274. Кит, О.И. Влияние хронической боли на динамику некоторых ростовых факторов в интактной и патологически измененной коже самок мышей с меланомой B16/F10 / О.И. Кит, Е.М. Франциянц, И.М. Котиева [и др.] // Российский журнал боли. – 2017. – Т. 54. – № 3-4. – С. 37-44.

275. Кит О.И. Регуляция ангиогенеза факторами роста в интактной и патологически измененной коже самок мышей при злокачественной меланоме, развивающейся на фоне хронической боли. / О.И. Кит, И.М. Котиева, Е.М.Франциянц [и др.] // Российский журнал боли. – 2017. – № 3-4 (54). – С. 17-25.

276. Кит О.И. Способ стимуляции хронической болью злокачественного роста в лёгких крыс. / О.И. Кит, Е.М. Франциянц, И.В. Каплиева [и др.] // Патент на изобретение RU 2676641 С1, 09.01.2019. Заявка № 2018112353 от 05.04.2018.

277. Кит, О.И. Динамика концентрации компонентов NO-системы в процессе роста меланомы b16/f10 на фоне хронической нейрогенной боли у самок

мышей / О.И. Кит, Е.М. Франциянц, И.М. Котиева [и др.] // Вопросы онкологии. – 2019. – Т. 65. – № 6. – С. 898-903.

278. Киселева, М.П. Новые N-гликозиды индоло[2,3-а]пирроло[3,4-с]карбазолов: противоопухолевые свойства и механизм действия: дис. ... канд. биол. наук: 14.01.12 / Киселева Мария Петровна. – М., 2019. – 174 с.

279. Когония, Л.М. Кардиотоксичность противоопухолевых препаратов и лучевой терапии у пациентов со злокачественными заболеваниями крови и солидными злокачественными новообразованиями / Л.М. Когония, М.О. Русанов, В.Е. Шикина // Онкогематология. 2022. – Т. 17. – № 3. – С. 127-136.

280. Коляда, М.Н. Антиоксидантная активность производных 2,6-ди-трет-бутилфенола в пероксидном окислении липидов и разложении H_2O_2 эритроцитами крови человека *in vitro* / М.Н. Коляда, В.П. Осипова, Н.Т. Берберова, Д.Б. Шпаковский, Е.Р. Милаева // Журнал общей химии. – 2018. – Т. 88. – № 12. – С. 1995-1999.

281. Коляда, М.Н. Снижение прооксидантной активности бутильных и фенильных производных олова в присутствии мезо-тетраakis(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенил)порфирина / М.Н. Коляда, В.П. Осипова, Н.Т. Берберова [и др.] // Макрогетероциклы. – 2017. – Т. 10. – № 1. – С. 57-61.

282. Комарова, Е.Ф., Оценка противоопухолевой активности антиоксиданта эноксифола на модели меланомы В16 в эксперименте. / Е.Ф. Комарова, А.И. Шихлярова, М.И. Брагина [и др.] // Известия высших учебных заведений. Северо-Кавказский регион. Серия: Естественные науки. – 2017. – № 3 – С. 67-73.

283. Коптяева, К.Е. Методика вскрытия и извлечения органов лабораторных животных (крысы) / К.Е. Коптяева, А.А. Мужикян, Я.А. Гуцин [и др.] // Лабораторные животные для научных исследований. – 2018. – № 2. – С. 71-92.

284. Коптяева, К.Е. Методика вскрытия и извлечения органов лабораторных животных. Сообщение 2: мышь / К.Е. Коптяева, А.А. Мужикян,

Я.А. Гуцин [и др.] // Лабораторные животные для научных исследований. – 2018. – № 4. – С. 50-73.

285. Копылов Н.А., Махмудов А.Г., Шапаренко А.В. Методические предпосылки к созданию комбинированных лекарственных препаратов // Успехи современного естествознания. – 2011. – № 8. – С. 110-110.

286. Корман, Д.Б. Индукция оксидативного стресса в опухолевых клетках – новый подход к лекарственному лечению злокачественных опухолей / Д.Б. Корман, Л.А. Островская, В.А. Кузьмин // Биофизика. – 2019. – Т. 64, № 3. – С. 552-562.

287. Коршунов, Д.А. Современные представления о метаболическом перепрограммировании в злокачественных новообразованиях / Д.А. Коршунов, И.В. Кондакова, Е.Е. Шашова // Биохимия. – 2019. – Т. 84. – № 10. – С. 1385-1400.

288. Котиева И.М. Влияние хронической боли на некоторые метаболические процессы в коже самок мышей. / И.М. Котиева, Е.М. Франциянц, И.В. Каплиева [и др.] // Российский журнал боли. 2018. – № 4 (58). – С. 46-54.

289. Котиева И.М. Влияние экспериментальной хронической боли на уровень биогенных аминов в коже у мышей в динамике роста меланомы В16/F10. / И.М. Котиева, О.И. Кит, Е.М. Франциянц [и др.] // Известия высших учебных заведений. Северо-Кавказский регион. Серия: Естественные науки. – 2018. – № 1 (197). – С. 130-139.

290. Критченков, А.С. Дизайн и противоопухолевая активность комплексных соединений платины / А.С. Критченков, Я.М. Станишевский, Ю.А. Скорик // Химико-фармацевтический журнал. – 2019. – Т. 53. – № 1. – С. 8-16.

291. Лысенко, В.И. Оксидативный стресс как неспецифический фактор патогенеза органных повреждений (обзор литературы и собственных исследований) / В.И. Лысенко // Медицина неотложных состояний. – 2020. – Т. 16. – № 1. – С. 24-35.

292. Лысенков, С.П. Балльная оценка общего состояния крыс, перенесших клиническую смерть / С.П. Лысенков, В.Г. Карпачев, Л.З. Тель // Всесоюзная

конференция «Клиника, патогенез и лечение неотложных состояний». – Новосибирск. – 1982. – С. 8-13.

293. Мартинович, Г.Г. Антиоксидантная и противоопухолевая активность новых синтетических серосодержащих монофенолов / Г.Г. Мартинович, И.В. Мартинович, А.В. Вчерашняя // Актуальные вопросы биологической физики и химии. – 2019. – Т. 4. – № 2. – С. 253-258.

294. Мартинович, Г.Г. Механизмы редокс-регуляции химиорезистентности опухолевых клеток фенольными антиоксидантами / Г.Г. Мартинович, И.В. Мартинович, А.В. Вчерашняя [и др.] // Биофизика. – 2017. – Т. 62. – № 6. – С. 1142-1152.

295. Мартинович, Г.Г. Индуктор экспрессии ARE-регулируемых генов фенольный антиоксидант ТС-13 вызывает гибель опухолевых клеток через митохондриально-опосредованный путь. / Г.Г. Мартинович, И.В. Мартинович, Н.К. Зенков [и др.] // Биофизика. – 2015. – Т. 60. – № 1. – С. 120-128.

296. Марусова, Т.А. Метаболизм глюкозы раковых клеток как мишень в противоопухолевой терапии / Т.А. Марусова, М.В. Иготти // Цитология. – 2020. – Т. 62. – № 11. – С. 773-781.

297. Марусова, Т.А. Метаболизм глюкозы раковых клеток как мишень в противоопухолевой терапии / Т.А. Марусова, М.В. Иготти // Цитология. 2020. – Т. 62. – № 11. – С. 773-781.

298. Медицинская токсикология: нац. рук. / ред. Е.А. Лужников. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2014. – 928 с.

299. Меньщикова, Е. Б. Окислительный стресс: Патологические состояния и заболевания / Е. Б. Меньщикова, Н. К. Зенков, В.З. Ланкин [и др.]. – Новосибирск: АРТА, 2008. – 284 с.

300. Микуляк, Н.И. Изучение противоопухолевого и антиметастатического эффектов противоопухолевых антибиотиков при отдельном и совместном применении с мексидолом / Н.И. Микуляк, Ю.А. Кинзирская, О.О. Соломанина, Л.В. Поницева // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Медицинские науки. – 2007. – № 3 (3). – С. 10-17.

301. Милаев, А.Г. Свободные феноксильные радикалы в ряду олово-, талий- и борорганических соединений / А.Г. Милаев, В.Б. Панов, О.Ю. Охлобыстин // Журн. общ. химии. – 1981. – Т. 51. – № 12. – С. 2715–2720.

302. Милаева, Е.Р. Двойственная реакционная способность пространственно-затрудненных фенолов в реакциях комплексообразования / Е.Р. Милаева, А.З. Рубежов, Л.Ю. Ухин, О.Ю. Охлобыстин // Изв. АН СССР. Сер. хим. – 1980. – № 2. – С. 443-446.

303. Милаева Е.Р. Оловоорганическое соединение - ингибитор образования оксида азота(II). / Е.Р. Милаева, Д.Б. Шпаковский, Е.В. Радченко [и др.] // Известия Академии наук. Серия химическая. – 2022. – № 12. – С. 2605-2611.

304. Милаева, Е.Р. Механизмы цитотоксического действия оловоорганических соединений / Е.Р. Милаева, М.А. Додохова, Д.Б. Шпаковский, Т.А. Антоненко [и др.] // Биомедицина. – 2021. – Т. 17. – № 2. – С. 88-99.

305. Милаева, Е.Р. Механизмы цитотоксического действия оловоорганических соединений / Е.Р. Милаева, М.А. Додохова, Д.Б. Шпаковский [и др.] // Биомедицина. – 2021. – Т. 17. – № 2. – С. 88-99.

306. Мурин, И.И. Фитохимическое и фармакологическое изучение травы манжетки: дис. ... канд. фарм. наук: 14.04.02, 14.03.06 / Мурин Илья Игоревич. - М., 2011. – 174 с.

307. Мухатова, Е.М. Синтез и антиоксидантная активность новых оловоорганических соединений, содержащих фрагмент 2,6-ди-трет-бутилфенола / Е.М. Мухатова, В.П. Осипова, М.Н. Коляда, Н.О. Мовчан, Д.Б. Шпаковский, Ю.А. Грачева, С.И. Орлова, Е.Р. Милаева // Докл. Акад. наук. – 2013. – Т. 451. – № 1. – С. 46–49.

308. Назаретян, А.Ш. Влияния окисленной внеклеточной днк на повреждение днк и активацию транскрипции генов, регулирующих репарацию ДНК и апоптоз в клетках линии астроцитомы человека / А.Ш. Назаретян, Е.М. Малиновская, А.Д. Филев, Е.С. Ершова, Н.Н. Вейко, В.М.Писарев, А.С. Халанский, Л.В. Каменева, В.Ю. Табаков, М.С. Конькова, С.В. Костюк // Медицинская генетика. – 2020. – Т. 19. – № 6 (215). – С. 96-99.

309. Никитин, Е.А. Синтез и биологическая активность оловоорганических комплексов с антиоксидантными фенольными лигандами: дис. ... канд. хим. наук: 02.00.12; 02.00.16/ Никитин Евгений Александрович. – М., 2022. – 143 с.

310. Никифоров, Г.А. Биоантиоксиданты "поплавкового" типа на основе производных 2,6 ди-трет-бутил-фенола / Г.А. Никифоров, И.С. Белостоцкая, В.Б. Вольева, Н.Л. Комиссарова, Д.Б. Горбунов // Науч. вестник Тюмен. мед. академии. – 2003. – № 1(23). – С. 50-51.

311. Орлова, С.И. Комплексная система оценки антиоксидантной активности полифункциональных элементоорганических соединений и комплексов биометаллов: дис. ... канд. хим. наук: 02.00.16 / Орлова София Ивановна. – М., 2012. – 164 с.

312. Островская, Л.А. Экспериментальное изучение фармакокинетики противоопухолевого препарата аурумакрил / Л.А. Островская, Д.Б. Корман, Ж.П. Бурмий [и др.] // Биофизика. – 2018. – Т. 63. – № 3. – С. 606-614.

313. Остроумова, О.Д. Лекарственно-индуцированный острый канальцевый некроз / О.Д. Остроумова, М.В. Клепикова, К.К. Джамихов, В.А. Дё, С.Н. Литвинова // Сибирское медицинское обозрение. – 2020. – № 5. – С. 49-62.

314. Панченко, А.В. Новый класс препаратов на основе продуктов гидролизного лигнина: обоснование применения в качестве средств сопроводительной химио- и лучевой терапии злокачественных новообразований (экспериментальное исследование): дис. ... док. мед. наук: 14.01.12 / Панченко Андрей Владимирович. – СПб., 2020. – 267 с.

315. Пат. № 2632703 Российская Федерация, МПК А61К 31/4188, А61Р 35/04. Средство для ингибирования метастазирования в легких / Кит О.И., Комарова Е.Ф., Спасов А.А. [и др.]; заявитель и патентообладатель. – федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Южный федеральный университет», федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "»Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, федеральное государственное бюджетное учреждение

«Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Министерства здравоохранения Российской Федерации. – № 2016148670; заявл. 12.12.2016; опубл. 09.10.2017; Бюл. № 28.

316. Пашина, Е.В. Комплекс биохимических показателей в оценке формирования стадий эндогенной интоксикации в клетке / Е.В. Пашина, М.Л. Золотавина // Современные проблемы науки и образования. – 2019. – № 6. – С. 200.

317. Переверзева, Э.Р. Фитохимическое и фармакологическое изучение травы манжетки: дис. ... док. биол. наук: 14.00.14, 14.00.25 / Переверзева Элеонора Рафаиловна. – М., 2007. - 294 с.

318. Переверзева, Э.Р. Роль патоморфологических исследований в лекарственной токсикологии / Э.Р. Переверзева // II съезд токсикологов России Тез докл. – М: 2003. – С 476.

319. Прозоровский, В.Б. Практическое пособие по ускоренному определению средних эффективных доз и концентраций биологически активных веществ / В.Б. Прозоровский. – Байкальск: Институт экологической токсикологии, 1994. – 46 с.

320. Прозоровский, В.Б. Статистическая обработка результатов фармакологических исследований / В.Б. Прозоровский // Психофармакология и биологическая наркология. – 2007. – Т. 7. – № 3–4. – С. 2090–2120.

321. Пузаков, К.К. Современные представления о влиянии экзогенных антиоксидантов на рост злокачественных опухолей / К.К. Пузаков, Н.А. Дурнова, И.Г. Рыженкова // Обзоры по клинич. фармакол. и лек. терапии. – 2019. – Т. 17. – № 2. – С. 29-33.

322. Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских технологиях / под ред. Н.Н. Каркищенко, С.В. Грачев. – М.: Профиль, 2010. – 358 с.

323. Руководство по химиотерапии опухолевых заболеваний / Под ред. Н.И. Переводчиковой, В.А. Горбуновой – М.: Практическая медицина, 2018. – 688 с.

324. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / под. ред. Р.У. Хабриева. –2-е изд., перераб. и доп. – М.: Медицина, 2005. – 832 с.

325. Руководство по экспертизе лекарственных средств. Том I. – М.: Гриф и К, 2014. – 328 с.

326. Рыбакова, А.В. Существующие требования и подходы к дозированию лекарственных средств лабораторным животным / А.В. Рыбакова, М.Н. Макарова, А.Е. Кухаренко [и др.] // Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. – 2018. – Т. 8. – № 4. – С. 207-2017.

327. Ряховский, А.Е. Экспериментальное моделирование различных степеней алкогольного опьянения у крыс / А.Е. Ряховский, Д.А. Еникеев, Д.Э. Байков, К.В. Фаткуллин // Медицинский вестник Башкортостана. – 2017. – Т. 12. – № 1(67). – С. 76-81.

328. Сипров, А.В. Возможности мексидола в коррекции свободнорадикальных процессов и морфофункциональных изменений в печени при химиотерапии мышей с карциномой легкого Льюис / А.В. Сипров, В.И. Инчина, И.Н. Чаиркин // Морфологические ведомости. – 2007. – № 1-2. – С. 219-222.

329. Сипров, А.В. Сравнительная оценка влияния липосомальной и свободной формы мексидола в сочетании с антибластомными препаратами на состояние гранулоцитопоеза крыс с карциномой Walker-256 / А.В. Сипров, М.А. Соловьева, В.П. Агеев // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2021. – Т. 84. – № 5. – С. 11-16.

330. Сипров, А.В. Электрокардиографические маркеры миокардиальной дисфункции и критерии оценки эффективности новых подходов к оптимизации кардиопротекции при потенциально кардиотоксичной противоопухолевой терапии в эксперименте / А.В. Сипров, Ю.А. Костина, М.А. Соловьева, И.М. Вашуркина // Российский кардиологический журнал. – 2020. – Т. 25. – № S2. – С. 3-4.

331. Скворцов, В.В. Нефротический синдром в работе врача общей практики / В.В. Скворцов, Р.Ю. Бангаров, Е.М. Скворцова // Врач. – 2022. – Т. 33. – № 2. – С. 77-83.

332. Слуханчук, Е.В. Факторы риска тромбозов у онкологических больных / Е.В. Слуханчук, В.О. Бицадзе, А.Г. Тянь, Д.Х. Хизроева, М.В. Третьякова, А.Г. Солопова, М. Муян, И. Элалами, Ж.К. Гри, С. Ай, А.Д. Макацария // Вестник Российской академии медицинских наук. – 2021. – Т. 76. – № 5. – С. 465-475.

333. Состояние онкологической помощи населению России в 2018 году / под. ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, Г.В. Петровой – М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2019. – 236 с.

334. Состояние онкологической помощи населению России в 2019 году / под. ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, Г.В. Петровой – М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2020. – 239 с.

335. Состояние онкологической помощи населению России в 2020 году / под. ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, Г.В. Петровой – М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2021. – 239 с.

336. Софьина, З.П. Экспериментальная оценка противоопухолевых препаратов в СССР и США / З.П. Софьина, А.Б. Сыркин, А.А. Голдин и др. – М.: Медицина, 1980. – 296 с.

337. Терехов, Р.П. Контроль полиморфизма фармацевтических субстанций / Р.П. Терехов, Д.И. Панков, Е.А. Анфиногенова, И.А. Селиванова // Фармацевтическое дело и технология лекарств. – 2021. – № 6. – С. 37-55.

338. Торлак, В.Ф. Вспомогательные вещества и некоторые проблемы качества современных лекарственных средств / В.Ф. Торлак // Вестник Приднестровского университета. Серия: Медико-биологические и химические науки. – 2020. – № 2(65). – С. 98-105.

339. Трещалин, И.Д. Модификация токсичности противоопухолевых препаратов как метод повышения эффективности химиотерапии злокачественных новообразований / И.Д. Трещалин, Э.Р. Переверзева, Д.А. Бодягин, Е.П. Мирчинк, В.М. Бухман // Российский биотерапевтический журнал. – 2005. – Т. 4. – № 3. – С. 87-94.

340. Трещалина, Е.М. Методические рекомендации по доклиническому изучению противоопухолевой активности лекарственных средств / Е.М. Трещалина, О.С. Жукова, Г.К. Герасимова, Н.В. Андропова, А.М. Гарин // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2012. – С. 642.

341. Трякин, А.А. Практические рекомендации по общим принципам проведения противоопухолевой лекарственной терапии / А.А. Трякин, Н.С. Бесова, Н.М. Волков, О.А. Гладков, В.В. Карасева, Д.Д. Сакаева, И.Ю. Страдаева, Н.В. Фадеева // Злокачественные опухоли. – 2021. – Т. 11. – № 3, S2-1. – С. 23-35.

342. Трякин, А.А. Практические рекомендации по общим принципам проведения противоопухолевой лекарственной терапии. Злокачественные опухоли [Электронный ресурс] / А.А. Трякин, Н.С. Бесова, Н.М. Волков, О.А. Гладков, В.В. Карасева, Д.Д. Сакаева // Практические рекомендации RUSSCO. – 2020. – Т. 10. – № 3s2-1. – Режим доступа: <https://doi.org/10.18027/2224-5057-2020-10-3s2-01>.

343. Указ Президента РФ от 6 июня 2019 г. N 254 «О Стратегии развития здравоохранения в Российской Федерации на период до 2025 года». [Электронный ресурс] – Режим доступа: <http://www.kremlin.ru/acts/bank/44326>

344. Франциянц, Е.М. Влияние варианта развития меланомы B16/F10 на содержание цитохрома с в митохондриях различных органов самок мышей / Е.М. Франциянц, И.В. Нескубина, Н.Д. Черярина, Е.И. Сурикова, Л.А. Немашкалова // Ученые записки СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова. – 2020. – Т. 27. – № 4. – С. 46-52.

345. Франциянц, Е.М. Функциональное состояние митохондрий кардиомиоцитов при злокачественном процессе на фоне коморбидной патологии

в эксперименте. / Е.М. Франциянц, И.В. Нескубина, Н.Д. Черярина [и др.] // Южно-Российский онкологический журнал. – 2021. – 2(3). – С. 13-22.

346. Хабриев, Р.У. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / под общ. ред. Р.У. Хабриева – 2-изд., перераб. и доп. – М.: Медицина, 2005. – 832 с.

347. Хамидулина, Х.Х. Классификация смесей в соответствии с согласованной на глобальном уровне системой классификации и маркировки химической продукции (СГС) / Х.Х. Хамидулина, Д.Н. Рабикова // Токсикологический вестник. – 2014. – Т. 124. – № 1. – С. 43-64.

348. Хомякова, Т.И. Экспериментальные модели мультиформной глиобластомы человека / Т.И. Хомякова, О.В. Макарова, А.С. Халанский [и др.] // Клиническая и экспериментальная морфология. – 2015. – Т. 13. – №1. – С. 60-69.

349. Чазова, И.Е. Руководство по диагностике, профилактике и лечению сердечно-сосудистых осложнений противоопухолевой терапии. Часть I. / И.Е. Чазова, С.А. Тюлядин, М.В. Вицень, А.Г. Овчинников, М.Г. Полтавская, М.Ю. Гиляров, Т.В. Мартынюк, Е.П. Панченко, Ю.А. Федоткина, М.Б. Стенина, О.П. Трофимова, Ф.Т. Агеев // Системные гипертензии. – 2017. – №14(3). – С. 6–20.

350. Чубенко, В.А. Метрономная терапия: место в лечении злокачественных опухолей / В.А. Чубенко, Л.А. Загорская, В.С. Чубенко, Ф.В. Моисеенко, Н.Х. Абдуллова, А.С. Жабина, М.М. Крамчанинов, К.В. Шелехова, А.А. Мелдо, Е.М. Зыков, А.А. Кудрявцев, Е.В. Напольская, В.М. Моисеенко // Практическая онкология. – 2019. – Т. 20(4). – С. 289-298.

351. Ширяев, В.И. Оловоорганические соединений как инсектоакарициды / В.И. Ширяев // Агрехимия. – 2010. – №3. – С. 83-94.

352. Шлапакова, Т.И. Активные формы кислорода: участие в клеточных процессах и развитии патологии / Т.И. Шлапакова, Р.К. Костин, Е.Е. Тягунова // Биоорганическая химия. – 2020. – Т. 46. – № 5. – С. 466-485.

353. Шпаковский, Д.Б. Антиоксидантная активность комплексов металлов, содержащих 2,6-ди-трет-бутилфенольные группы: автореф. дис. ... канд. химич. наук: 02.00.03 / Шпаковский, Дмитрий Борисович. – М., 2004. – 24 с.

354. Шпаковский, Д.Б. Комплексы редкоземельных элементов, содержащие антиоксидантные фрагменты, как ингибиторы свободнорадикальных процессов / Д.Б. Шпаковский, Т.А. Антоненко, Ю.А. Грачева [и др.] // Сборник тезисов XXVI Международной Чугаевской конференции по координационной химии. – Казань: Изд-во Казан. ун-та, 2014. – С. 300.

355. Электрохимия элементоорганических соединений (элементы IV, V и VI групп периодической системы) / под. ред. Томилов А.П., Каргин Ю.М., Черных И.Н. – М.: Наука, 1986. – 286 с.

ПРИЛОЖЕНИЕ 1

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

**ПАТЕНТ**

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2762730**СРЕДСТВО ДЛЯ ИНГИБИРОВАНИЯ
МЕТАСТАЗИРОВАНИЯ В ЛЕГКИХ**

Патентообладатели: *Милаева Елена Рудольфовна (RU), Додохова
Маргарита Авдеевна (RU)*

Авторы: *Милаева Елена Рудольфовна (RU), Шпаковский
Дмитрий Борисович (RU), Додохова Маргарита Авдеевна
(RU), Котиева Инга Мовлиевна (RU), Сафроненко Андрей
Владимирович (RU), Алхусейн-Кулягинова Маргарита
Стефановна (RU)*

Заявка № 2021108737

Приоритет изобретения **30 марта 2021 г.**

Дата государственной регистрации
в Государственном реестре изобретений

Российской Федерации **22 декабря 2021 г.**

Срок действия исключительного права

на изобретение истекает **30 марта 2041 г.**

*Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности*

Г.П. Ивлиев



ПРИЛОЖЕНИЕ 2

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2765955

СРЕДСТВО ДЛЯ ИНГИБИРОВАНИЯ
МЕТАСТАЗИРОВАНИЯ В ЛЕГКИХ

Патентообладатели: *Милаева Елена Рудольфовна (RU), Додохова
Маргарита Авдеевна (RU)*

Авторы: *Милаева Елена Рудольфовна (RU), Шпаковский
Дмитрий Борисович (RU), Додохова Маргарита Авдеевна
(RU), Котиева Инга Мовлиевна (RU), Сафроненко Андрей
Владимирович (RU), Алхусейн-Кулягинова Маргарита
Стефановна (RU)*

Заявка № 2021108740

Приоритет изобретения 30 марта 2021 г.

Дата государственной регистрации
в Государственном реестре изобретений
Российской Федерации 07 февраля 2022 г.

Срок действия исключительного права
на изобретение истекает 30 марта 2041 г.

Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности

Г.П. Ивлиев



ПРИЛОЖЕНИЕ 3**УТВЕРЖДАЮ**

И.О. Декана химического факультета
МГУ имени М.В. Ломоносова,

доктор химических наук, профессор

Карлов С.С.

«10» декабря 2022г.

**АКТ О ВНЕДРЕНИИ РЕЗУЛЬТАТОВ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ РАБОТЫ**

Наименование предложения для внедрения: «Патогенетические механизмы влияния гибридных оловоорганических соединений на рост и развитие злокачественных новообразований». Результаты представлены в диссертационной работе на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальностям 3.3.3. Патологическая физиология и 1.5.4. Биохимия.

Автор разработки: Додохова Маргарита Авдеевна, заведующая центральной научно-исследовательской лабораторией, доцент кафедры патологической физиологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Куда и где внедрено: использовано в учебной деятельности кафедры медицинской химии и тонкого органического синтеза химического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова» в рамках изучения медицинской химии и разработки подходов к созданию лекарственных препаратов.

Результаты внедрения: данная методология и результаты проведенных исследований позволят оптимизировать методику преподавания предмета «Неорганическая медицинская химия» в курсе обучения студентов по специальности «Медицинская химия».

Заведующая кафедрой

медицинской химии и тонкого органического синтеза

химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова,

почетный работник сферы образования Российской Федерации,

доктор химических наук,

профессор

Е.Р. Милаева

ПРИЛОЖЕНИЕ 4

УТВЕРЖДАЮ

Проректор по учебной работе
ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России,
доктор медицинских наук, профессор
Дроботя Н.В.

«18» декабря 2022г.



АКТ О ВНЕДРЕНИИ РЕЗУЛЬТАТОВ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ РАБОТЫ

Наименование предложения для внедрения: «Патогенетические механизмы влияния гибридных оловоорганических соединений на рост и развитие злокачественных новообразований». Результаты представлены в диссертационной работе на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 3.3.3. Патологическая физиология и 1.5.4. Биохимия.

Автор разработки: Додохова Маргарита Авдеевна, заведующая центральной научно-исследовательской лабораторией, доцент кафедры патологической физиологии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Куда и где внедрено: использовано в учебной деятельности кафедры патологической физиологии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации в рамках изучения злокачественных опухолей как типового патологического процесса.

Результаты внедрения: данная методология и результаты проведенных исследований позволят оптимизировать методику проведения патофизиологического эксперимента применительно к экспериментальной онкологии.

Заведующий кафедрой патологической физиологии
ФГБОУ ВО «РостГМУ» Минздрава России,
заслуженный работник Высшей школы
Российской Федерации,
доктор медицинских наук,
профессор

В.Г. Овсянников

Начальник учебной части кафедры
патологической физиологии
ФГБОУ ВО «РостГМУ»
Минздрава России,
кандидат медицинских наук, доцент
кафедрой

А.Е. Шумарин

Кафедра патологической физиологии ФГБОУ ВО «РостГМУ» Минздрава России:
344022, г. Ростов-на-Дону, пер. Нахичеванский, 29, УЛК №1, 5 этаж,
тел.: +7(863)201-44-12, эл. почта: ovsyannikov_vg@mail.ru.

ПРИЛОЖЕНИЕ 5

УТВЕРЖДАЮ

Проректор по учебной работе
ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России,
доктор медицинских наук, профессор

Дроботя Н.В.

«12» декабря 2022г.



АКТ О ВНЕДРЕНИИ РЕЗУЛЬТАТОВ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ РАБОТЫ

Наименование предложения для внедрения: «Патогенетические механизмы влияния гибридных оловоорганических соединений на рост и развитие злокачественных новообразований». Результаты представлены в диссертационной работе на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 3.3.3. Патологическая физиология и 1.5.4. Биохимия.

Автор разработки: Додохова Маргарита Авдеевна, заведующая центральной научно-исследовательской лабораторией, доцент кафедры патологической физиологии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Куда и где внедрено: использовано в учебной деятельности кафедры фармакологии и клинической фармакологии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации в рамках применения новых методологических подходов при проведении доклинических исследований соединений с предполагаемым противоопухолевым действием.

Результаты внедрения: данная методология и результаты проведенных исследований позволят оптимизировать методику отбора соединений для углубленного доклинического исследования.

Заведующий кафедрой
фармакологии и клинической фармакологии
ФГБОУ ВО «РостГМУ»
Минздрава России,
доктор медицинских наук, доцент

А.В. Сафроненко

Начальник учебной части кафедры
фармакологии и клинической фармакологии
ФГБОУ ВО «РостГМУ»
Минздрава России,
кандидат медицинских наук, доцент

Н.В. Сухорукова

Кафедра фармакологии и клинической фармакологии ФГБОУ ВО «РостГМУ»
Минздрава России:
344022, г. Ростов-на-Дону, пер. Нахичеванский, 29, УЛК №1, 6 этаж,
тел.: +7 (863) 201-44-27, эл. почта: natasuh77@mail.ru.

ПРИЛОЖЕНИЕ 6

УТВЕРЖДАЮ

Проректор по учебной работе
ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России,
доктор медицинских наук, профессор
Дроботя Н.В.

«12» *сентября* 2022г.

АКТ О ВНЕДРЕНИИ РЕЗУЛЬТАТОВ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ РАБОТЫ

Наименование предложения для внедрения: «Патогенетические механизмы влияния гибридных оловоорганических соединений на рост и развитие злокачественных новообразований». Результаты представлены в диссертационной работе на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 3.3.3. Патологическая физиология и 1.5.4. Биохимия.

Автор разработки: Додохова Маргарита Авдеевна, заведующая центральной научно-исследовательской лабораторией, доцент кафедры патологической физиологии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации;

Куда и где внедрено: использовано в учебной деятельности кафедры общей и клинической биохимии №1 федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации в рамках изучения роли свободно-радикального окисления в модификации роста и развития злокачественных опухолей.

Результаты внедрения: результаты проведенных исследований позволят расширить представления о роли активных форм кислорода и окислительного стресса в механизме реализации опухолевой прогрессии.

И. о. заведующего кафедрой
общей и клинической биохимии №1
ФГБОУ ВО «РостГМУ»
Минздрава России,
доктор медицинских наук,
доцент



О.Г. Саркисян

Кафедра общей и клинической биохимии №1 ФГБОУ ВО «РостГМУ» Минздрава России:
344022, Ростов-на-Дону, пер. Нахичеванский, 29; УЛК №1, 4 этаж,
тел.: (863)201-44-17, эл. почта: kbunpk-rostov@yandex.ru.