



ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТИ 2-ХИНОЛИН-2-ИЛ-ПРОИЗВОДНОГО 1,3-ТРОПОЛОНА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Е. А. Лукбанова^{1✉}, Е. А. Дженкова¹, А. С. Гончарова¹, А. Ю. Максимов¹, Е. Ф. Комарова¹, В. И. Минкин², Ю. А. Саяпин³, Е. А. Гусаков², Л. З. Курбанова¹, А. А. Киблицкая¹, Е. В. Заикина¹, М. В. Миндарь¹, М. В. Волошин¹, А. В. Шапошников¹, И. Б. Лысенко¹, Н. В. Николаева¹

1. НМИЦ онкологии, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация
 2. НИИ ФОХ Южный Федеральный университет, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация
 3. Южный научный центр РАН, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация
- ✉ katya.samarskaja@yandex.ru

Резюме

Цель исследования. Изучение противоопухолевого эффекта 2-(6,8-диметил-5-нитро-4-хлорхинолин-2-ил)-5,6,7-трихлор-1,3-трополона в отношении подкожных PDX-моделей рака легкого человека.

Материал и методы. Исследуемый трополон синтезирован методом расширения о-хинонового цикла. Оценку его токсических эффектов проводили на основании данных о выживаемости, отклонениях в состоянии здоровья самок мышей Balb/c Nude. Исследование противоопухолевой активности трополона проводилось на подкожных PDX-моделях (Patient-Derived Xenograft) плоскоклеточного рака легкого человека на мышах линии Balb/c Nude. При этом учитывали средний объем опухолевых узлов и показатель торможения роста опухоли – ТРО (%). Помимо этого, проводили биохимический анализ крови мышей-реципиентов и гистологическое исследование опухолевого материала.

Результаты. При проведении исследования токсических эффектов трополона не было выявлено летальной дозы. Наибольшее торможение роста опухоли – 73,5 и 74,4 % для самок и самцов соответственно – наблюдалось на 36-е сутки эксперимента в 5 группе, которой вводили 2,75 мг/г трополона. В данной группе средние объемы у самок достигали максимального значения – $431,3 \pm 1,1$ мм³ на 33-е сутки эксперимента, у самцов – $428,9 \pm 1,7$ мм³ на 30-й день, после чего уменьшались. Проведенные биохимический анализ крови и гистологическое исследование опухолевой ткани мышей-реципиентов отражают выраженность противоопухолевого эффекта от дозы исследуемого трополона.

Заключение. Таким образом, в ходе исследований была продемонстрирована противоопухолевая активность 2-(6,8-диметил-5-нитро-4-хлорхинолин-2-ил)-5,6,7-трихлор-1,3-трополона в отношении подкожных PDX-моделей НМРЛ человека. Выявленные зависимости могут быть использованы в дальнейшем для поиска эффективных режимов применения данного соединения в клинической практике.

Ключевые слова:

трополоны, противоопухолевая активность, мыши линии Balb/c Nude, ксенографт, дозозависимые эффекты, токсическое влияние, немелкоклеточный рак легкого (НМРЛ)

Для корреспонденции:

Лукбанова Екатерина Алексеевна – научный сотрудник ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация.
Адрес: 344037, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, ул. 14-я линия, д. 63
E-mail: katya.samarskaja@yandex.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3036-6199>
SPIN: 4078-4200, AuthorID: 837861

Информация о финансировании: синтез исследуемого соединения осуществляли в рамках реализации Государственного задания ЮНЦ РАН № 01201354239 при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (Государственное задание в области научной деятельности, проект № 0852-2020-0031). Исследования *in vivo* проводили в рамках государственного задания № 121031100253-3 «Изучение противоопухолевой активности фармакологических субстанций *in vivo* и *in vitro*».

Конфликт интересов: все авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности: выражаем слова благодарности старшему научному сотруднику лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей, д.б.н., профессору Алле Ивановне Шихляровой – редактирование статьи, переводчику Олесе Андреевне Оссовской – перевод текста рукописи на английский язык.

Для цитирования:

Лукбанова Е. А., Дженкова Е. А., Гончарова А. С., Максимов А. Ю., Комарова Е. Ф., Минкин В. И., Саяпин Ю. А., Гусаков Е. А., Курбанова Л. З., Киблицкая А. А., Заикина Е. В., Миндарь М. В., Волошин М. В., Шапошников А. В., Лысенко И. Б., Николаева Н. В. Исследование противоопухолевой активности 2-хинолин-2-ил-производного 1,3-трополона в эксперименте. Исследования и практика в медицине. 2022; 9(2): 50-64.
<https://doi.org/10.17709/2410-1893-2022-9-2-4>

Статья поступила в редакцию 18.08.2021; одобрена после рецензирования 22.03.2022; принята к публикации 07.06.2022.

© Лукбанова Е. А., Дженкова Е. А., Гончарова А. С., Максимов А. Ю., Комарова Е. Ф., Минкин В. И., Саяпин Ю. А., Гусаков Е. А., Курбанова Л. З., Киблицкая А. А., Заикина Е. В., Миндарь М. В., Волошин М. В., Шапошников А. В., Лысенко И. Б., Николаева Н. В., 2022

STUDY OF BIOLOGICAL ACTIVITY OF 2-QUINOLINE-2-YL-DERIVATIVE 1,3-TROPOLONE IN EXPERIMENT

E. A. Lukbanova^{1✉}, E. A. Dzhenkova¹, A. S. Goncharova¹, A. Yu. Maksimov¹, E. F. Komarova¹, V. I. Minkin², Yu. A. Sayapin³, E. A. Gusakov², L. Z. Kurbanova¹, A. A. Kiblitckaya¹, E. V. Zaikina¹, M. V. Mindar¹, M. V. Voloshin¹, A. V. Shaposhnikov¹, I. B. Lysenko¹, N. V. Nikolaeva¹

1. National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation

2. Research Institute of Physical and Organic Chemistry of the Southern Federal University, Rostov-on-Don, Russian Federation

3. Southern Scientific Center of the Russian Academy of Sciences, Rostov-on-Don, Russian Federation

✉ katya.samarskaja@yandex.ru

Abstract

Purpose of the study. Was to reveal the antitumor effect of 2-(6,8-dimethyl-5-nitro-4-chloroquinoline-2-yl)-5,6,7-trichloro-1,3-tropolone in subcutaneous PDX models of human lung cancer.

Material and methods. The studied tropolone was synthesized using a method of expanding the o-quinone cycle. Assess to its toxic effects was given by the survival and changes in the health status of female Balb/c Nude mice. Antitumor tropolone effects were studied in subcutaneous patient-derived xenograft (PDX) models of human squamous cell lung cancer in Balb/c Nude mice. The average volumes of tumor nodes and tumor growth inhibition (TGI %) rate were taken into account. Biochemical blood tests and histological analysis of the tumor material were performed in recipient mice.

Results. An analysis of acute tropolone toxic effects did not reveal the lethal dose. The maximal TGI was observed on day 36 of the experiment in group 5 which have received 2.75 mg/g tropolone and accounted 73.5 % for females and 74.4 % for males. The average tumor volumes in females of this group were $431.3 \pm 1,1 \text{ mm}^3$ on day 33 of the experiment, in males – $428.9 \pm 1,7 \text{ mm}^3$ on day 30, and then the tumor volumes declined. The biochemical analysis of blood and histological examination of the tumor tissue of recipient mice reflect the severity of the antitumor effect on the dose of the studied tropolone.

Conclusion. The research demonstrated the antitumor activity of 2-(6,8-dimethyl-5-nitro-4-chloroquinoline-2-yl)-5,6,7-trichloro-1,3-tropolone against subcutaneous PDX models of human NSCLC. The revealed tendencies can be used to search for effective modes of the compound application in clinical practice.

Keywords:

tropolones, antitumor activity, Balb/c Nude mice, xenograft, dose dependent effects, toxic effect, non-small-cell lung carcinoma (NSCLC)

For correspondence:

Ekaterina A. Lukbanova – researcher, National Medical Research Center of Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation.

Address: 63 14 line str., Rostov-on-Don 344037, Russian Federation

E-mail: katya.samarskaja@yandex.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3036-6199>

SPIN: 4078-4200, AuthorID: 837861

Information about funding: the studied compound was synthesized as part of implementation of the SSC RAS State task No. 01201354239, with financial support of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (State task in science, project No. 0852-2020-0031). Studies *in vivo* were performed as part of the State task No. 121031100253-3 "Study of antitumor activity of pharmacological substances *in vivo* and *in vitro*".

Conflict of interest: authors report no conflict of interest.

Acknowledgments: we would like to thank Alla I. Shikhlyarova, chief researcher of the Laboratory of Study of Malignant Tumor Pathogenesis, for the manuscript editing, and Olesya A. Ossovskaya, translator, for the help with the manuscript translation in English.

For citation:

Lukbanova E. A., Dzhenkova E. A., Goncharova A. S., Maksimov A. Yu., Komarova E. F., Minkin V. I., Sayapin Yu. A., Gusakov E. A., Kurbanova L. Z., Kiblitckaya A. A., Zaikina E. V., Mindar M. V., Voloshin M. V., Shaposhnikov A. V., Lysenko I. B., Nikolaeva N. V. Study of biological activity of 2-quinoline-2-yl-derivative 1,3-tropolone in experiment. Research and Practical Medicine Journal (Issled. prakt. med.). 2022; 9(2): 50-64. (In Russ.).

<https://doi.org/10.17709/2410-1893-2022-9-2-4>

The article was submitted 18.08.2021; approved after reviewing 22.03.2022; accepted for publication 07.06.2022.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время злокачественные новообразования лидируют среди заболеваний, приводящих к летальным исходам [1]. Согласно результатам исследований Международного агентства по изучению рака, немелкоклеточный рак легких (НМРЛ) в настоящее время занимает первое место по заболеваемости и смертности от злокачественных новообразований во всем мире, составляя примерно 11,6 % от общего числа случаев и 18,4 % от общего числа смертей от рака, соответственно [2]. Несмотря на постоянное усовершенствование химиотерапевтических, иммуно-терапевтических и таргетных агентов, общая 5-летняя выживаемость больных НМРЛ остается низкой, составляя 19 % [3]. Используемые в настоящее время в клинической практике химиопрепараты имеют существенные недостатки, а именно невысокую избирательность, тяжелые побочные действия, развитие химиорезистентности [4–6]. В связи с этим не теряет актуальности поиск новых противоопухолевых средств, проявляющих высокую противоопухолевую активность в сочетании с незначительными побочными эффектами.

Перспективными соединениями, проявляющими противоопухолевую активность, являются трополоны, наиболее изученными представителями которых являются хиноктиол, колхицин и колхамин. Известны исследования, в которых была продемонстрирована избирательность действия хиноктиола и синтетических α -замещенных трополонов в отношении опухолевых клеток [7; 8]. При этом, согласно имеющимся в литературе данным, эти соединения проявляют биологические свойства путем реализации различных механизмов действия. Например, противоопухолевая активность колхицина основана на ингибировании потенциал-зависимых анионных каналов митохондриальной мембраны, нарушении полимеризации

тубулина, деформации цитоскелета [9; 10], хиноктиол запускает каспазо-3-индуцированный апоптоз, останавливает клеточный цикл в S-фазе, активирует p38/ERK MAPK сигнальный путь и тд. [11; 12]. Перспективность данной группы соединений обуславливает синтез новых трополонов и исследование их дозозависимых биологических эффектов.

Цель исследования: изучение противоопухолевого эффекта 2-(6,8-диметил-5-нитро-4-хлорхинолин-2-ил)-5,6,7-трихлор-1,3-трополона (далее – трополон) в отношении подкожных PDX-моделей рака легкого человека на иммунодефицитных мышах Balb/c Nude.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследуемое соединение – 2-(6,8-диметил-5-нитро-4-хлорхинолин-2-ил)-5,6,7-трихлор-1,3-трополон синтезировано методом расширения о-хинонового цикла в НИИ физической и органической химии Южного федерального университета и имеет структурную формулу, представленную на рисунке 1 [13].

В исследованиях биологических эффектов трополона использовали мышей линии Balb/c Nude, которые были получены из питомника ИЦиГ СО РАН (г. Новосибирск) и содержались в SPF-виварии Испытательного лабораторного центра ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России с соблюдением светового режима день/ночь (12/12 часов) при относительной влажности воздуха 50–60 % и температуре 22–26°C. Исследование одобрено этическим комитетом ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России (протокол № 1/61 от 19.02.2019 г.); все манипуляции с животными, осуществляли в соответствии с этическими принципами, установленными Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей.

Для определения токсических эффектов вещества проводили эксперимент с использованием 25 самок мышей линии Balb/c Nude весом 25,5–27,5 г. В исследовании использовали самок, поскольку они считаются более чувствительными к различным видам воздействия, по сравнению с самцами (ГОСТ 32296–2013). Животные были распределены на 5 групп по 5 особей в каждой. Трополон вводили в форме суспензии в 1 %-м крахмальном геле однократно перорально при помощи зонда для мышей № 16 (1,6 × 80 мм) в следующих дозах: 0,0055 (2 группа), 0,055 (3 группа), 0,55 (4 группа) и 2,75 мг/г (5 группа) в объеме 200 мкл. 1 группа мышей (контроль) получала перорально однократно 1 %-й крахмальным гелем в объеме 200 мкл. Наименьшую дозу исследуемого трополона выбрали, основываясь на литературных данных о дозировках хиноктиола [14].

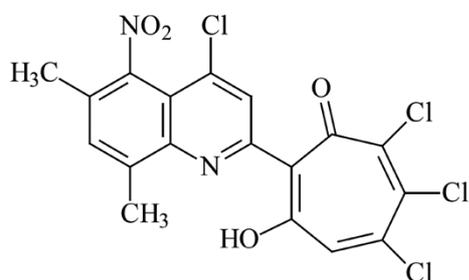


Рис. 1. Структурная формула 2-(6,8-диметил-5-нитро-4-хлорхинолин-2-ил)-5,6,7-трихлор-1,3-трополона.

Fig. 1. The structural formula of 2-(6,8-dimethyl-5-nitro-4-chloroquinoline-2-yl)-5,6,7-trichloro-1,3-tropolone.

Наибольшая доза оказалась предельно допустимой для введения, поскольку при дальнейшем ее увеличении стало недостижимым ресуспендирование в веществе-носителе. Наблюдение за состоянием животных проводили непрерывно в первые сутки после введения вещества, в дальнейшем – ежедневно 1 раз в сутки. Оценку токсических эффектов трополона проводили на основании данных о выживаемости, отклонениях в состоянии здоровья при ежедневном наблюдении (ГОСТ Р 56701–2015). Конечной точкой эксперимента по исследованию токсических эффектов были 14-е сутки после однократного введения вещества. Эвтаназию мышей проводили путем декапитации с последующим взятием крови.

Исследование противоопухолевой активности трополона проводилось на подкожных PDX-моделях (Patient-Derived Xenograft) плоскоклеточного рака легкого человека в 4-м пассаже на иммунодефицитных мышцах линии Balb/c Nude. Донором опухолевого материала был пациент Т., которому был поставлен диагноз: С34.3 Центральный рак нижней доли правого легкого, рТ3N0M0, st IIB. Перед трансплантацией опухолевого материала, который транспортировался из оперблока ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России в питательной среде RPMI с 5 % стрептомицином, мышей наркотизировали при помощи ксилазина концентрацией 20 мг/мл и золетила (тилетамина, золепам основание) концентрацией 22,57 мг/мл [15]. Опухолевый фрагмент размером 3 × 3 × 3 мм имплантировали подкожно в бок мыши (область правого бедра).

Исследование противоопухолевой активности проводили на 25 самцах и 25 самках мышей линии Balb/c Nude, которые были распределены по группам:

- 1 ♀ (контроль) – получали 1 % крахмальный гель;
- 1 ♂ (контроль) – получали 1 % крахмальный гель;
- 2 ♀ (опытная) – получали 0,0055 мг/г исследуемого трополона;
- 2 ♂ (опытная) – получали 0,0055 мг/г исследуемого трополона;
- 3 ♀ (опытная) – получали 0,055 мг/г исследуемого трополона;
- 3 ♂ (опытная) – получали 0,055 мг/г исследуемого трополона;
- 4 ♀ (опытная) – получали 0,55 мг/г исследуемого трополона;
- 4 ♂ (опытная) – получали 0,55 мг/г исследуемого трополона;
- 5 ♀ (опытная) – получали 2,75 мг/г исследуемого трополона;
- 5 ♂ (опытная) – получали 2,75 мг/г исследуемого трополона.

Введение веществ начиналось после достижения опухолевыми узлами объемов 100 мм³. Носителем

выступал 1 % крахмальный гель. Вещества вводили независимо от приема пищи и воды перорально при помощи зонда для мышей № 16 (1,6 × 80 мм) в 4 дозах в объеме 200 мкл в 12 приемов с кратностью 1 раз в 3 дня.

Динамика роста ксенографтов оценивалась путем измерения опухолевых узлов с 3 дня после первого введения веществ с частотой один раз в 3 дня. Объем ксенографтов рассчитывали по формуле Шрека для эллипсоида – $V = a \times b \times c \times \pi/6$, где V – объем опухоли (мм³), a , b , c – максимальные диаметры эллипсоида в трех плоскостях (мм).

Оценка противоопухолевого эффекта трополона проводилась с учетом среднего объема опухолевых узлов и показателя торможения роста опухоли – ТРО (%) [16].

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

где V_k и V_o – средний объем опухоли (мм³) в контрольной и опытных группах соответственно.

Длительность эксперимента по исследованию противоопухолевого эффекта трополона составляла 36 дней, начиная с первого введения веществ. Далее продолжать эксперимент оказывалось негуманным, поскольку активный рост ксенографтов в контрольной группе отрицательно влиял на состояние здоровья мышей. Эвтаназия проводилась путем дислокации шейных позвонков с последующей декапитацией, необходимой для осуществления забора крови. Выделенный опухолевый материал делился на 2 части, одна из которых помещалась в 10 % раствор формалина для проведения гистологического исследования, вторая часть помещалась в криобирки для хранения в жидком азоте в Биобанке ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России с целью дальнейших исследований.

Для оценки биохимических показателей крови использовали биохимический анализатор VetScanVS2 (ABAXIS Inc., Германия).

Для проведения гистологического анализа выделенный опухолевый материал проходил пробоподготовку, а именно подвергался фиксации в 10 %-м растворе формалина, обезвоживанию, пропитке парафином, после чего заключался в парафиновые блоки. Далее изготавливали при помощи роторного микротомы срезы, которые в дальнейшем подвергали депарафинизации и окрашиванию гематоксилином и эозином. При помощи светового микроскопа ZEISS Axio проводили гистологическое исследование донорской опухоли человека, PDX-моделей интактных и с воздействием исследуемого соединения. Для получения изображений использовали сканер Aperio Scan Scope XT и программное обеспечение ImageScope.

При статистическом анализе результатов оценивали средние значения, стандартные отклонения.

Для определения межгрупповых различий использовали критерий Манна-Уитни. Статистический анализ данных проводился с использованием программного обеспечения Microsoft Excel 2019, Statistica (<https://statsoft.ru/products/statsoft.ru>).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведенного исследования токсических эффектов трополона не было выявлено летальной дозы, поскольку в течение всего периода наблюдения отсутствовал падеж животных, а также не было обнаружено отклонений в состоянии здоровья. При проведении некропсии не отмечались патологические изменения цвета слизистых оболочек и кожи, структуры, цвета и консистенции внутренних органов, экссудата во внутренних полостях и следов вещества в желудке и кишечнике. В связи с этим при проведении эксперимента по исследованию противоопухолевой активности трополона на PDX-модели рака легкого человека были выбраны такие же дозы данного соединения.

Оценку противоопухолевого эффекта трополона проводили, используя показатели среднего объема опухолевых узлов и торможения роста опухолей. Объемы ксенографтов среди самцов и самок статистически значимо отличались в группе 1 на 3, 6, 9, 12, 15, 18, 33 и 36-е сутки наблюдения, в группе 2 – на 9, 15, 24, 27, 33 и 36-е сутки, в группе 3 – на 6, 9, 15, 21, 27, 33 и 36 сутки, в группе 4 – на 6, 15, 18, 24, 33 и 36-е сутки, в группе 5 – на 3, 9, 12, 15, 18, 24, 27, 33 и 36 сутки (табл. 1). Объемы опухолей статистически значимо не отличались между самцами и самками на 30-е сутки эксперимента. Таким образом, на протяжении всего эксперимента наблюдалась статистически значимая разница объемов опухолей между самцами и самками, что может быть объяснено их физиологическими отличиями, а, следовательно, и различным характером роста ксенографтов. Ввиду этого нами был проведен анализ динамики изменений размеров опухолевых узлов в зависимости от применяемой дозы трополона отдельно для самцов и самок.

Средний объем опухолей самок мышей Balb/c Nude, представленный на рисунке 1, на 3 сутки

Таблица 1. Статистическая значимость отличий объема опухолей между самцами и самками (критерий Манна-Уитни)
Table 1. Statistical significance of differences in tumor volume between males and females (Mann-Whitney criterion)

№ гр. / group No.	Сутки эксперимента/р-критерий / Days of experiment/p value											
	3	6	9	12	15	18	21	24	27	30	33	36
1	0,012	0,012	0,012	0,012	0,012	0,022	0,403	0,676	0,676	0,144	0,012	0,012
2	0,060	0,144	0,012	0,144	0,012	0,095	0,060	0,012	0,012	0,095	0,037	0,210
3	0,060	0,012	0,037	0,144	0,012	0,095	0,012	0,210	0,012	0,060	0,012	0,012
4	0,060	0,037	0,403	0,531	0,012	0,012	0,403	0,012	0,403	0,095	0,012	0,012
5	0,022	0,060	0,012	0,012	0,012	0,012	0,531	0,037	0,012	1,000	0,012	0,012

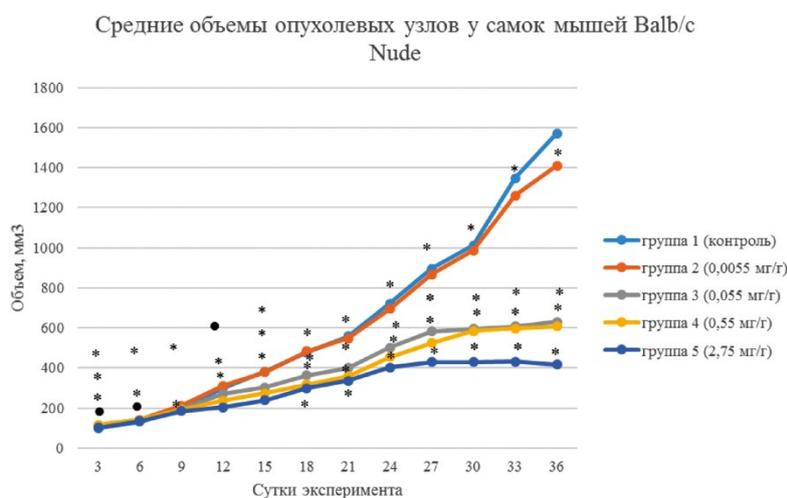


Рис. 1. Средние объемы опухолевых узлов у самок мышей Balb/c Nude в динамике. Примечание: * – достоверные отличия между опытной группой и группой контроля, $p \leq 0,01$ (критерий Манна-Уитни), • – достоверные отличия между опытной группой и группой контроля, $p \leq 0,05$ (критерий Манна-Уитни).

Fig. 1. Average volumes of tumor nodes in female Balb/c Nude mice in dynamics. Note: * – significant differences between the experimental group and the control group, $p \leq 0.01$ (Mann-Whitney criterion), • – significant differences between the experimental group and the control group, $p \leq 0.05$ (Mann-Whitney criterion).

эксперимента варьировался от 100,7 до 115,9 мм³, статистически значимо отличаясь во всех опытных группах от группы контроля ($p \leq 0,01$). На 36-е сутки наблюдения средние объемы опухолевых узлов самок составляли в группах 1, 2, 3, 4 и 5 1570,2 ± 1,3; 1408,7 ± 2; 629,3 ± 1,3; 606,6 ± 1,1 и 416,5 ± 2,4 мм³ соответственно, статистически значимо отличаясь во всех опытных группах по сравнению с контрольной ($p \leq 0,01$).

Статистическая значимость отличий объемов опухолей у самок мышей при разных дозах трополона с помощью критерия Манна-Уитни показана в таблице 2. Проведенный статистический анализ данных показал, что объемы опухолей у самок мышей значимо отличались между всеми опытными группами, за исключением группы 3 и 4. Таким образом, трополон в дозах от 0,055 мг/г до 0,55 мг/г оказывает на опухоль соизмеримое воздействие.

Средний объем опухолевых узлов самцов мышей Balb/c Nude составлял на 3 сутки эксперимента от 104,5 до 113,5 мм³, статистически значимо отличаясь

во 2 и 4-й опытных группах от группы контроля ($p \leq 0,01$) (рис. 2). На 36-е сутки эксперимента средние объемы ксенографтов у самцов в группах 1, 2, 3, 4 и 5 составляли 1578,5 ± 1,6; 1410 ± 1,6; 633,6 ± 1,3; 610,2 ± 1,8 и 404,2 ± 2,6 мм³ соответственно, статистически значимо отличаясь во всех опытных группах по сравнению с контрольной ($p \leq 0,01$).

Попарное сравнение объемов опухолей у самцов мышей при разных дозах трополона с помощью критерия Манна-Уитни представлено в таблице 3. В результате проведенного статистического анализа данных было обнаружено, что объемы опухолей у самцов мышей значимо отличались между всеми опытными группами, за исключением группы 3 и 4. Таким образом, трополон в дозах от 0,055 мг/г до 0,55 мг/г оказывает на опухоль соизмеримое воздействие.

Показатель торможения роста опухолей, представленный на рисунке 3, постепенно увеличивался в каждой опытной группе в течение всего периода наблюдения, что вероятно может свидетельствовать

Таблица 2. Статистическая значимость отличий объема опухолей у самок мышей при разных дозах трополона (критерий Манна-Уитни)

Table 2. Statistical significance of differences in tumor volume in female mice at different doses of tropolone (Mann-Whitney criterion)

	Группа 2 (0,0055 мг/г) / Group 2 (0.0055 mg/g)	Группа 3 (0,055 мг/г) / Group 3 (0.055 mg/g)	Группа 4 (0,55 мг/г) / Group 4 (0.55 mg/g)	Группа 5 (2,75 мг/г) / Group 5 (2.75 mg/g)
Группа 1 (контроль) / Group 1 (control)	0,01	0,003	0,003	0,003
Группа 2 (0,0055 мг/г) / Group 2 (0.0055 mg/g)	---	0,03	0,01	0,01
Группа 3 (0,055 мг/г) / Group 3 (0.055 mg/g)	---	---	0,26	0,01
Группа 4 (0,55 мг/г) / Group 4 (0.55 mg/g)	---	---	---	0,01

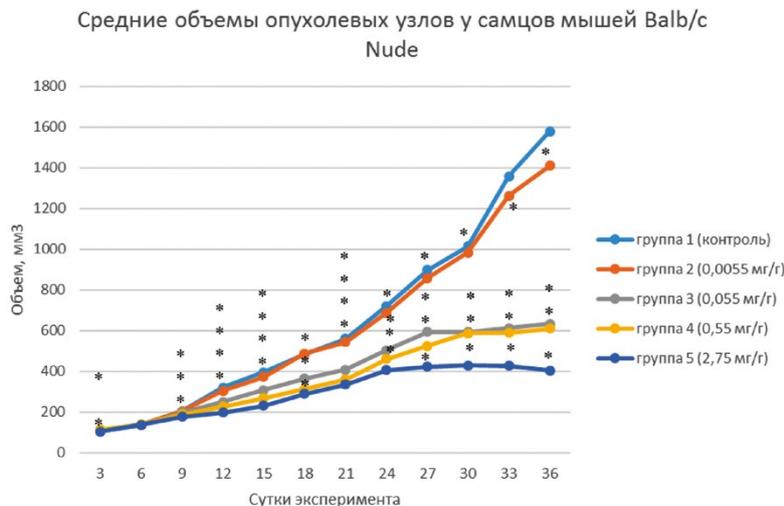


Рис. 2. Средние объемы опухолевых узлов у самцов мышей Balb/c Nude в динамике. Примечание: * – достоверные отличия между опытной группой и группой контроля, $p \leq 0,01$ (критерий Манна-Уитни), • – достоверные отличия между опытной группой и группой контроля, $p \leq 0,05$ (критерий Манна-Уитни).

Fig. 2. Average volumes of tumor nodes in male Balb/c Nude mice in dynamics. Note: * – significant differences between the experimental group and the control group, $p \leq 0.01$ (Mann-Whitney criterion), • – significant differences between the experimental group and the control group, $p \leq 0.05$ (Mann-Whitney criterion).

о накопительном эффекте исследуемого соединения. Наибольшее торможение роста опухоли – 73,5 и 74,4 % для самок и самцов соответственно – наблюдалось на 36-е сутки эксперимента в 5 группе, которой вводили 2,75 мг/г трополона. В данной группе у особей обоего пола отмечалось торможение роста опухолей, средние объемы которых у самок достигали максимального значения – 431,3 ± 1,1 мм³ на 33-е

сутки эксперимента, у самцов – 428,9 ± 1,7 мм³ на 30-й день, после чего объемы опухолевых узлов уменьшались. При этом в 5-й группе самок наблюдалась незначительная регрессия опухолей у 3 из 5 особей на 0,1; 0,1 и 0,4 %, а у самцов – у 4 из 5 мышей на 0,5; 1; 1,1 и 1,6 %. Таким образом, при воздействии трополона в дозе 2,75 мг/г можно добиться не только торможения, но и незначительной регрессии роста

Таблица 3. Статистическая значимость отличий объема опухолей у самцов мышей при разных дозах трополона (критерий Манна-Уитни)

Table 3. Statistical significance of differences in tumor volume in male mice at different doses of tropolone (Mann-Whitney criterion)

	Группа 2 (0,0055 мг/г) / Group 2 (0.0055 mg/g)	Группа 3 (0,055 мг/г) / Group 3 (0.055 mg/g)	Группа 4 (0,55 мг/г) / Group 4 (0.55 mg/g)	Группа 5 (2,75 мг/г) / Group 5 (2.75 mg/g)
Группа 1 (контроль) / Group 1 (control)	0,01	0,003	0,003	0,003
Группа 2 (0,0055 мг/г) / Group 2 (0.0055 mg/g)	---	0,01	0,003	0,003
Группа 3 (0,055 мг/г) / Group 3 (0.055 mg/g)	---	---	0,26	0,03
Группа 4 (0,55 мг/г) / Group 4 (0.55 mg/g)	---	---	---	0,03



Рис. 3. Показатель торможения роста опухоли в исследуемых группах мышей Balb/c Nude с имплантированными ксенографтами НМРЛ человека на 9, 18, 27 и 36-е сутки эксперимента.

Fig. 3. The indicator of inhibition of tumor growth in the studied groups of Balb/c Nude mice with implanted xenografts of human NSCLC on the 9th, 18th, 27th and 36th days of the experiment.

опухоли. Наблюдаемая в ходе исследования динамика роста опухолей отражает дозозависимый эффект исследуемого соединения.

На рисунке 4 представлена обратная зависимость между дозой трополона и объемом опухолевых узлов у самцов и самок мышей Balb/c Nude на 36-е сутки эксперимента. При этом наибольший противоопухолевый эффект достигается при максимальной дозе трополона – 2,75 мг/г. При увеличении дозы от 0,0055 до 0,055 мг/г происходит значительное уменьшение объема опухолей – в 2,2 раза. Дальнейшее увеличение дозы сначала в 10, а затем в 5 раз ведет к более постепенному уменьшению объемов опухолевых узлов – в 1,04 и 1,5 раз соответственно. Применение наибольшей дозы трополона приводит к уменьшению объемов опухолей по сравнению с таковыми в контрольной группе в 3,9 раз, что свидетельствует о высоком противоопухолевом эффекте.

Все биохимические показатели крови мышей Balb/c Nude с имплантированным НМРЛ человека на 36-е сутки эксперимента во всех группах, представленные в таблице 4, среди самцов и самок статистически значимо не отличались. Содержание белка в крови в 1, 2, 3, 4 и 5 группах увеличивалось соответственно, при этом значимо отличаясь в группах 2 ($p \leq 0,05$), 3, 4 и 5 ($p \leq 0,01$) от группы контроля. Дозозависимое увеличение данного показателя крови может быть связано с некротическими процессами, происходящими вследствие воздействия исследуемого трополона. Также в группах 1, 2, 3, 4 и 5 соответственно увеличивалось содержание креатинина (от $0,55 \pm 0,01$ мг/дл у самок, $0,6 \pm 0,1$ мг/дл у самцов – в группе 1 (контроль) до $1,1 \pm 0,3$ мг/дл

у самок и $1,05 \pm 0,25$ мг/дл у самцов – в 5-й группе) и мочевины в крови (от $0,3 \pm 0,1$ мг/дл у самок и $0,4 \pm 0,1$ мг/дл у самцов – в 1-й (контрольной) группе до $1,3 \pm 0,3$ мг/дл у самок и $1,4 \pm 0,2$ мг/дл у самцов – в 5-й группе) соответственно. Повышение этих показателей может быть связано с наличием некротических процессов в организме животных опухоленосителей, в результате которых высвобождается большое количество белка. Также повышается содержание в крови аланинаминотрансферазы (АЛТ) в группах 1, 2, 3, 4 и 5 и составляет у самок $49 \pm 5,5$, $47 \pm 5,5$, $52 \pm 6,2$, 56 ± 7 и $61 \pm 7,5$ ед/л соответственно и у самцов $48 \pm 5,4$, $48 \pm 5,7$, $53 \pm 6,1$, $58 \pm 7,1$ и $61 \pm 7,4$ ед/л соответственно. Дозозависимое увеличение всех описанных выше биохимических показателей крови мышей, вероятно, связано с активными процессами распада опухолевой ткани под воздействием трополона с высвобождением большого количества белка. При этом уровень мочевины в 3 ($p \leq 0,05$), 4 и 5-й ($p \leq 0,01$) группах, уровень креатинина – в 3, 4 и 5-й ($p \leq 0,01$) группах и АЛТ – во 2 и 3 ($p \leq 0,05$), 4 и 5-й ($p \leq 0,01$) группах соответственно статистически значимо отличались от такового в 1-й (контрольной) группе. Содержание глюкозы в крови мышей во всех группах варьировалось незначительно – от 178 ± 10 до 184 ± 14 мг/дл и статистически значимо не отличалось в группах 2, 3, 4 и 5 от такового в группе 1 (контроль), как и уровень аспартатаминотрансферазы (АСТ), который составлял $67 \pm 5,7$ – $71 \pm 5,5$ ед/л. Таким образом, уровень АСТ и глюкозы в крови мышей не коррелирует с развитием опухоли и воздействием исследуемым соединением. Уровень щелочной фосфатазы в крови статистически значимо отличался в группах

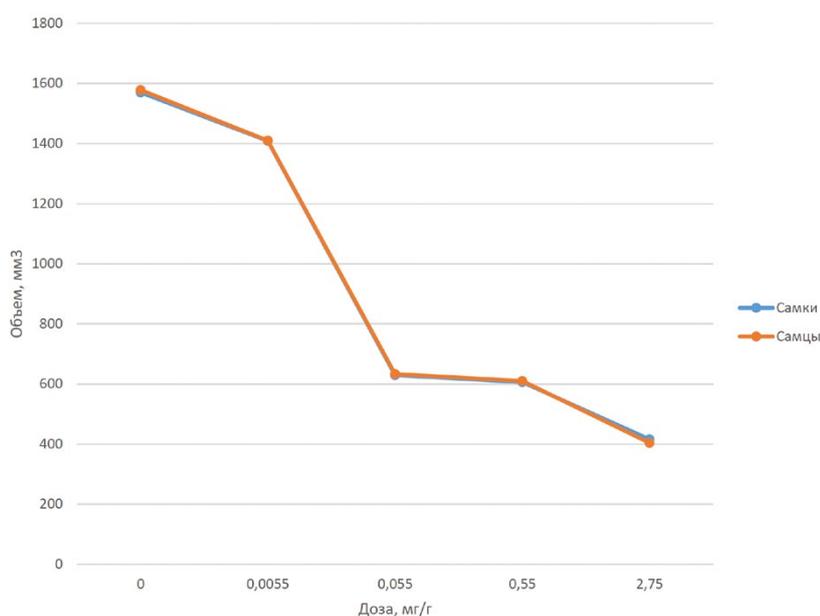


Рис. 4. Зависимость между дозой трополона и объемом опухолевых узлов у самцов и самок мышей Balb/c Nude на 36-е сутки эксперимента.

Fig. 4. The relationship between the dose of tropolone and the volume of tumor nodes in male and female Balb/c Nude mice on the 36th day of the experiment.

3 ($p \leq 0,05$), 4 и 5 ($p \leq 0,01$) от 1-й группы (контроль), снижаясь в группах 1, 2, 3, 4 и 5 и составляя у самок $63 \pm 7,1$, $60 \pm 8,1$, $57 \pm 6,9$, $52 \pm 6,8$ и $49 \pm 6,2$ ед/л соответственно, у самцов $62 \pm 6,7$, $61 \pm 7,9$, $56 \pm 7,5$, $52 \pm 6,5$ и $47 \pm 6,4$ ед/л соответственно. Таким образом, при увеличении дозы трополона снижается активность щелочной фосфатазы, что может являться следствием физиологических нарушений в организме животных, развивающейся на фоне воздействия исследуемым соединением [17].

Первичная донорская опухоль, отобранная для создания PDX-модели НМРЛ человека на иммунодефицитных мышах Balb/c Nude, была верифицирована как плоскоклеточный рак легкого с очагами ороговения и некроза (рис. 5).

Полученные PDX-модели НМРЛ человека на иммунодефицитных мышах Balb/c Nude по гистотипу совпадали с донорской опухолью, представляя собой

плоскоклеточный рак легкого с ороговением, выраженным, однако, менее четко по сравнению с первичной опухолью (рис. 6). Клетки опухоли в PDX-моделях имели полигональную форму. При этом клеток вытянутой и веретеновидной формы было значительно меньше по сравнению с первичной опухолью. В полях зрения встречалось много клеток с признаками протекающего митоза, что свидетельствовало о пролиферативной активности малигнизированной ткани. В подавляющем большинстве опухолевых клеток ядра были центрально расположены, полиморфными и гиперхромными, а цитоплазма была плотной с четкими контурами и мелкими эозинфильными гранулами («кератиновый жемчуг»). Такие морфологические особенности являются характерными для плоскоклеточного рака легкого. На препарате встречаются отдельные опухолевые клетки с признаками ороговения. При этом, «раковые жемчужины», являющиеся

Таблица 4. Изменение биохимических показателей крови мышей Balb/c Nude с имплантированным НМРЛ человека на 36-е сутки эксперимента
Table 4. Changes in biochemical blood parameters of Balb/c Nude mice with implanted human NSCLC on the 36th day of the experiment

Группа / Group	Белок, мг/дл / Protein, mg/dL	Мочевина, мг/дл / Urea, mg/dL	Креатинин, мг/дл / Creatinine, mg/dL	Глюкоза, мг/дл / Glucose, mg/dL	АЛТ, ед/л / ALT, u/L	АСТ, ед/л / AST, u/L	ЩФ, ед/л / Alk.Phos, u/L
Группа 1♀ (контроль) / Group 1♀ (control)	5,1 ± 0,1	0,3 ± 0,1	0,55 ± 0,01	180 ± 9	49 ± 5,5	68 ± 5,2	63 ± 7,1
Группа 1♂ (контроль) / Group 1♂ (control)	5,1 ± 0,1	0,4 ± 0,1	0,6 ± 0,1	178 ± 10	48 ± 5,4	69 ± 5,3	62 ± 6,7
Группа 2♀ (0,0055 мг/г) / Group 2♀ (0.0055 mg/g)	5,2 ± 0,1**	0,5 ± 0,1	0,6 ± 0,05	183 ± 13	47 ± 5,5**	69 ± 5,2	60 ± 8,1
Группа 2♂ (0,0055 мг/г) / Group 2♂ (0.0055 mg/g)	5,3 ± 0,2**	0,5 ± 0,1	0,65 ± 0,1	184 ± 14	48 ± 5,7**	70 ± 5,1	61 ± 7,9
Группа 3♀ (0,055 мг/г) / Group 3♀ (0.055 mg/g)	5,5 ± 0,2*	0,7 ± 0,2**	0,8 ± 0,1*	183 ± 12	52 ± 6,2**	68 ± 5,5	57 ± 6,9**
Группа 3♂ (0,055 мг/г) / Group 3♂ (0.055 mg/g)	5,7 ± 0,4*	0,8 ± 0,2**	0,85 ± 0,2*	179 ± 9	53 ± 6,1**	70 ± 5,4	56 ± 7,5**
Группа 4♀ (0,55 мг/г) / Group 4♀ (0.55 mg/g)	6,1 ± 0,3*	1 ± 0,1*	0,9 ± 0,25*	182 ± 11	56 ± 7*	71 ± 5,5	52 ± 6,8*
Группа 4♂ (0,55 мг/г) / Group 4♂ (0.55 mg/g)	6,2 ± 0,4*	1,1 ± 0,2*	0,9 ± 0,2*	180 ± 10	58 ± 7,1*	70 ± 5,5	52 ± 6,5*
Группа 5♀ (2,75 мг/г) / Group 5♀ (2.75 mg/g)	6,5 ± 0,3*	1,3 ± 0,3*	1,1 ± 0,3*	179 ± 10	61 ± 7,5*	67 ± 5,7	49 ± 6,2*
Группа 5♂ (2,75 мг/г) / Group 5♂ (2.75 mg/g)	6,5 ± 0,3*	1,4 ± 0,2*	1,05 ± 0,25*	183 ± 13	61 ± 7,4*	69 ± 5,6	47 ± 6,4*

Примечание: * – отличается от значений в контрольной группе, $p \leq 0,01$; критерий Манна-Уитни, ** – отличается от значений в контрольной группе, $p \leq 0,05$; критерий Манна-Уитни.

Note: * – differs from the values in the control group, $p \leq 0.01$; Mann-Whitney criterion, ** – differs from the values in the control group, $p \leq 0.05$; Mann-Whitney criterion.

отличительным признаком для плоскоклеточного рака легкого, не наблюдаются ни в PDX-модели НМРЛ, ни в опухоли донора.

В PDX-модели НМРЛ мышей из 1-й (контрольной) группы не отмечалось признаков некроза (рис. 6), тогда как в PDX-моделях из опытных групп наблюдались значительные очаги некроза и ороговения (рис. 7).

Результаты проведенного нами исследования, позволившие выявить дозозависимый противоопухолевый эффект 2-(6,8-диметил-5-нитро-4-хлорхинолин-2-ил)-5,6,7-трихлор-1,3-трополона, являются сопоставимыми с литературными данными. А именно, на 36-е сутки эксперимента средний объем опухоли

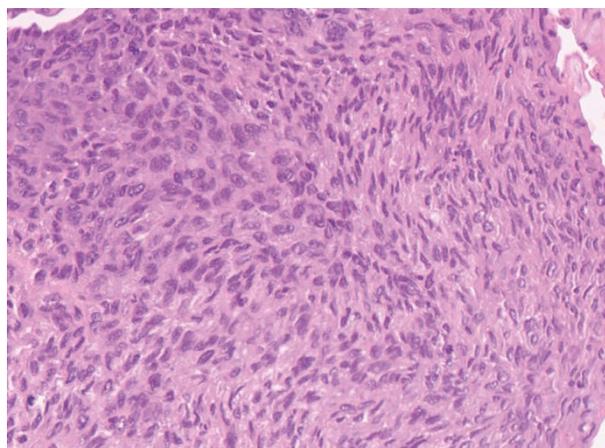


Рис. 5. Плоскоклеточный рак легкого человека – донора опухолевого материала. Окраска гематоксилином-эозином. Увеличение: $\times 200$.

Fig. 5. Squamous cell lung cancer of a human donor of tumor material. H&E staining. Magnification: $\times 200$.

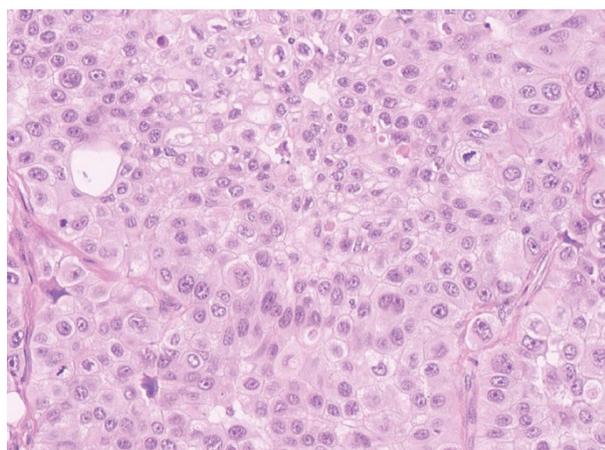


Рис. 6. PDX-модель немелкоклеточного рака легкого на иммунодефицитных мышах Balb/c Nude из 1-й (контрольной) группы. Окраска гематоксилином-эозином. Увеличение: $\times 400$.

Fig. 6. PDX model of non-small cell lung cancer in immunodeficient Balb/c Nude mice from the 1st (control) group. H&E staining. Magnification: $\times 400$.

в 5-й группе (2,75 мг/г – максимальная использованная нами доза трополона) был равен $416,5 \pm 2,4 \text{ мм}^3$ у самок и $404,2 \pm 2,6 \text{ мм}^3$ у самцов, что составляло 26,5 % и 25,6 % от среднего объема ксенографта в контрольной группе у самок и самцов соответственно. Zhang G. и соавторы показали, что при воздействии аналогичного соединения – β -туяплицина (хиноктиола) в дозе 5 мг/кг массы тела на ксенографты, полученные в результате трансплантации культуры опухолевых клеток HerG2, объем опухоли в опытной группе составлял 16 % от объема ксенографтов в контроле [18]. Помимо этого, результаты данного исследования согласуются с данными, полученными ранее нами в исследовании противоопухолевого эффекта 2-(6,8-диметил-5-нитро-4-хлорхинолин-2-ил)-5,6,7-трихлор-1,3-трополона на подкожных ксенографтах культуры клеток немелкоклеточного рака легкого A549 [19]. Согласно этим данным, на 36-е сутки исследования средний объем ксенографтов в группе 4 с воздействием изучаемого соединения в максимальной дозе (2,75 мг/г) был равен $678,9 \text{ мм}^3$, что составляло 24,8 % от среднего объема опухолей в группе контроля. Результаты настоящего исследования, как уже было отмечено выше, согласуются с результатами указанных других исследований, а различия показателей могут быть связаны с разницей в химическом строении веществ, дозах, а также различии используемых в экспериментах моделях (PDX- и CDX-моделях).

Максимальное торможение роста опухоли – 73,5 и 74,4 % для самок и самцов соответственно, наблюдалось на 36-е сутки эксперимента в 5 группе (2,75 мг/г). В проведенном нами ранее исследовании

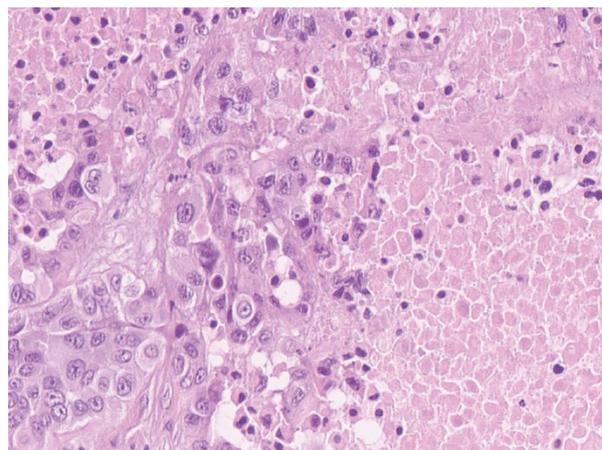


Рис. 7. PDX-модель немелкоклеточного рака легкого на иммунодефицитных мышах Balb/c Nude из 5-й (2,75 мг/г) группы. Окраска гематоксилином-эозином. Увеличение: $\times 400$.

Fig. 7. PDX model of non-small cell lung cancer in immunodeficient Balb/c Nude mice from the 5th (2.75 mg/g) group. H&E staining. Magnification: $\times 400$.

противоопухолевого эффекта 2-(6,8-диметил-5-нитро-4-хлорхинолин-2-ил)-5,6,7-трихлор-1,3-трополона на подкожных ксенографтах культуры клеток немелкоклеточного рака легкого A549 при воздействии данного соединения в наибольшей дозе наблюдалось торможение роста опухоли до 75,1 % [20]. Таким образом, результаты проведенных нами исследования противоопухолевой активности трополона на различных моделях рака легкого являются близкими по значению. При сравнении противоопухолевого эффекта исследуемого нами трополона с таковым доксорубицина, используемого в клинической практике цитостатика, показало выраженный противоопухолевый эффект трополона, тогда как при оценке действия доксорубицина в дозе LD10 на сингенной модели карциномы легкого Льюис у мышей линии C57Bl/6 TPO составлял только 44,1 % [21].

Проведенные биохимический анализ крови и гистологическое исследование опухолевой ткани мышей-реципиентов в определенной степени отражают выраженность противоопухолевого эффекта в зависимости от дозы исследуемого трополона, которая может быть обусловлена различными механизмами действия вещества на опухолевые клетки. Известно, что соединение, относящееся к группе трополонов, хиноктиол проявляет высокую противоопухолевую активность по отношению к различным злокачественным новообразованиям за счет индукции им каспазозависимого апоптоза [22; 23], а также аутофагии, остановки клеточного цикла в S-фазе, повреждения и деметилирования ДНК опухолевых клеток [12; 23; 24].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследование токсических эффектов 2-(6,8-диметил-5-нитро-4-хлорхинолин-2-ил)-5,6,7-трихлор-1,3-трополона в выбранном диапазоне доз (0,0055, 0,055, 0,55 и 2,75 мг/г), ограниченном ввиду его нерастворимости в воде, не позволило выявить полудетальную дозу (LD_{50}), поскольку у всех животных на протяжении эксперимента не было выявлено отклонений в состоянии здоровья и летальных исхо-

дов. Учитывая полученные данные, для исследования противоопухолевой активности трополона *in vivo* был выбран такой же диапазон доз. В исследовании противоопухолевой активности трополона были продемонстрированы половые отличия в изменениях динамики роста ксенографтов при воздействии испытуемым веществом. Были показаны статистически значимые отличия объемов опухолевых узлов во всех опытных группах в течение всего периода наблюдения по сравнению с контрольной группой. Максимальный противоопухолевый эффект наблюдается при использовании трополона в наибольшей концентрации – 2,75 мг/г. При этом происходит уменьшение объемов опухолевых узлов в сравнении с контрольной группой в 3,9 раз. Наибольшее значение показателя торможения роста опухолей было отмечено для 5 группы мышей, которым вводили исследуемый трополон в максимальной дозе – 2,75 мг/г, и составляло 73,5 и 74,4 % для самок и самцов соответственно. Помимо этого, в данной группе животных была отмечена незначительная регрессия роста опухоли, свидетельствующая о высоком противоопухолевом эффекте исследуемого соединения.

Исследованные биохимические показатели крови, такие как белок, мочевины, креатинин, АЛТ и щелочная фосфатаза, имели ряд межгрупповых различий, отражающих дозозависимое влияние исследуемого соединения на опухоль и организм мышей-реципиентов опухолевого материала в целом. Гистологический анализ PDX-моделей НМРЛ в опытных группах продемонстрировал наличие в опухолевой ткани значительных очагов некроза, что может быть связано с проявлением противоопухолевой активности исследуемого соединения.

Таким образом, в ходе исследований была продемонстрирована противоопухолевая активность 2-(6,8-диметил-5-нитро-4-хлорхинолин-2-ил)-5,6,7-трихлор-1,3-трополона в отношении подкожных PDX-моделей НМРЛ человека. Выявленные зависимости между дозой трополона и противоопухолевым эффектом могут быть использованы в дальнейшем для поиска эффективных режимов применения данного соединения в клинической практике.

Список источников

1. Кит О. И., Франциянц Е. М., Меньшенина А. П., Моисеенко Т. И., Ушакова Н. Д., Попова Н. Н. и др. Роль плазмфереза и ксенонтерапии в коррекции острых последствий хирургической менопаузы у больных раком шейки матки. Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета. 2016;(117):472–486.
2. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin.* 2018 Nov;68(6):394–424. <https://doi.org/10.3322/caac.21492>
3. National Cancer Institute. Cancer Stat Facts: Lung and Bronchus Cancer. 2019. Доступно по: <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/lungb.html>, Дата обращения: 23.03.2022.

4. Gonzalez-Rajal A, Hastings JF, Watkins DN, Croucher DR, Burgess A. Breathing New Life into the Mechanisms of Platinum Resistance in Lung Adenocarcinoma. *Front Cell Dev Biol.* 2020;8:305. <https://doi.org/10.3389/fcell.2020.00305>
5. Бурнашева Е. В., Шатохин Ю. В., Снежко И. В., Мацура А. А. Поражение почек при противоопухолевой терапии. *Нефрология.* 2018;22(5):17–24. <https://doi.org/10.24884/1561-6274-2018-22-5-17-24>
6. Kit OI, Shikhlyarova AI, Maryanovskaya GY, Barsukova LP, Kuzmenko TS, Zhukova GV, et al. Theory of health: successful translation into the real life. General biological prerequisites. *Cardiometry.* 2015;(7):11–17. <https://doi.org/10.12710/cardiometry.2015.7.1117>
7. Haney SL, Allen C, Varney ML, Dykstra KM, Falcone ER, Colligan SH, et al. Novel tropolones induce the unfolded protein response pathway and apoptosis in multiple myeloma cells. *Oncotarget.* 2017 Sep 29;8(44):76085–76098. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.18543>
8. Zhang G, He J, Ye X, Zhu J, Hu X, Shen M, et al. β -Thujaplicin induces autophagic cell death, apoptosis, and cell cycle arrest through ROS-mediated Akt and p38/ERK MAPK signaling in human hepatocellular carcinoma. *Cell Death Dis.* 2019 Mar 15;10(4):255. <https://doi.org/10.1038/s41419-019-1492-6>
9. Maldonado EN, Patnaik J, Mullins MR, Lemasters JJ. Free tubulin modulates mitochondrial membrane potential in cancer cells. *Cancer Res.* 2010 Dec 15;70(24):10192–10201. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-10-2429>
10. Kurek J, Kwaśniewska-Sip P, Myszkowski K, Cofta G, Barczyński P, Murias M, et al. Antifungal, anticancer, and docking studies of colchicine complexes with monovalent metal cation salts. *Chem Biol Drug Des.* 2019 Sep;94(5):1930–1943. <https://doi.org/10.1111/cbdd.13583>
11. Ido Y, Muto N, Inada A, Kohroki J, Mano M, Odani T, et al. Induction of apoptosis by hinokitiol, a potent iron chelator, in teratocarcinoma F9 cells is mediated through the activation of caspase-3. *Cell Prolif.* 1999 Feb;32(1):63–73. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2184.1999.3210063.x>
12. Zhang G, He J, Ye X, Zhu J, Hu X, Shen M, et al. β -Thujaplicin induces autophagic cell death, apoptosis, and cell cycle arrest through ROS-mediated Akt and p38/ERK MAPK signaling in human hepatocellular carcinoma. *Cell Death Dis.* 2019 Mar 15;10(4):255. <https://doi.org/10.1038/s41419-019-1492-6>
13. Патент РФ. RU 2741311 C1. Заявка № 2020123736 от 17.07.20 г. Минкин В. И., Кит О. И., Гончарова А. С., Лукбанова Е. А., Саяпин Ю. А., Гусаков Е. А. и др. Средство, обладающее цитотоксической активностью в отношении культуры клеток немелкоклеточного рака легких А 549. Доступно по: <https://patenton.ru/patent/RU2741311C1.pdf>, Дата обращения: 23.03.2022.
14. Li L-H, Wu P, Lee J-Y, Li P-R, Hsieh W-Y, Ho C-C, et al. Hinokitiol induces DNA damage and autophagy followed by cell cycle arrest and senescence in gefitinib-resistant lung adenocarcinoma cells. *PLoS One.* 2014;9(8):e104203. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0104203>
15. Патент RU № 2712916, опубл. 03.02.2020, Бюл. № 4. Колесников Е. Н., Лукбанова Е. А., Ванжа Л. В., Максимов А. Ю., Кит С. О., Гончарова А. С. и др. Способ проведения наркоза у мышей Balb/c Nude при оперативных вмешательствах. Доступно по: <https://patenton.ru/patent/RU2712916C1.pdf>, Дата обращения: 23.03.2022.
16. Трещалина Е. М., Жукова О. С., Герасимова Г. К., Андропова Н. В., Гарин А. М. Методические указания по изучению противоопухолевой активности фармакологических веществ. В кн.: Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. Под ред. Хабриева Р. У. М: Медицина, 2005, 637–651 с.
17. Чибуновский В. А. Интерпретация результатов клинико-биохимических лабораторных исследований. Алматы, 1998.
18. Zhang G, He J, Ye X, Zhu J, Hu X, Shen M, et al. β -Thujaplicin induces autophagic cell death, apoptosis, and cell cycle arrest through ROS-mediated Akt and p38/ERK MAPK signaling in human hepatocellular carcinoma. *Cell Death Dis.* 2019 Mar 15;10(4):255. <https://doi.org/10.1038/s41419-019-1492-6>
19. Лукбанова Е. А., Заикина Е. В., Саяпин Ю. А., Гусаков Е. А., Филиппова С. Ю., Златник Е. Ю. и др. Оценка противоопухолевого эффекта 2-(6,8-диметил-5-нитро-4-хлорхинолин-2-ил)-5,6,7-трихлор-1,3-трополона на подкожных ксенографтах культуры опухолевых клеток А-549. *Альманах клинической медицины.* 2021;49(6):396–404. <https://doi.org/10.18786/2072-0505-2021-49-021>
20. Заборовский А. В., Кокорев А. В., Бродовская Е. П., Фирстов С. А., Минаева О. В., Куликов О. А. и др. Направленная доставка доксорубина с помощью экзогенных биосовместимых нановекторов при экспериментальных неоплазиях. *Вестник Мордовского университета.* 2017;27(1):93–107. <https://doi.org/10.15507/0236-2910.027.201701.093-107>
21. Ido Y, Muto N, Inada A, Kohroki J, Mano M, Odani T, et al. Induction of apoptosis by hinokitiol, a potent iron chelator, in teratocarcinoma F9 cells is mediated through the activation of caspase-3. *Cell Prolif.* 1999 Feb;32(1):63–73. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2184.1999.3210063.x>
22. Chen S-M, Wang B-Y, Lee C-H, Lee H-T, Li J-J, Hong G-C, et al. Hinokitiol up-regulates miR-494-3p to suppress BMI1 expression and inhibits self-renewal of breast cancer stem/progenitor cells. *Oncotarget.* 2017 Sep 29;8(44):76057–76068. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.18648>
23. Lee Y-S, Choi K-M, Kim W, Jeon Y-S, Lee Y-M, Hong J-T, et al. Hinokitiol inhibits cell growth through induction of S-phase arrest and apoptosis in human colon cancer cells and suppresses tumor growth in a mouse xenograft experiment. *J Nat Prod.* 2013 Dec 27;76(12):2195–2202. <https://doi.org/10.1021/np4005135>
24. Seo JS, Choi YH, Moon JW, Kim HS, Park S-H. Hinokitiol induces DNA demethylation via DNMT1 and UHRF1 inhibition in colon cancer cells. *BMC Cell Biol.* 2017 Feb 27;18(1):14. <https://doi.org/10.1186/s12860-017-0130-3>

References

1. Kit OI, Frantsiyants EM, Menshenina AP, Moiseenko TI, Ushakova ND, Popova NN, et al. Role of plasmapheresis and xenon therapy in correcting the acute effects of surgical menopause in patients with cervical cancer. Polythematic online electronic scientific journal of the Kuban State Agrarian University. 2016;(117):472–486. (In Russ.).
2. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*. 2018 Nov;68(6):394–424. <https://doi.org/10.3322/caac.21492>
3. National Cancer Institute. Cancer Stat Facts: Lung and Bronchus Cancer. 2019. Available at: <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/lungb.html>, Accessed: 23.03.2022.
4. Gonzalez-Rajal A, Hastings JF, Watkins DN, Croucher DR, Burgess A. Breathing New Life into the Mechanisms of Platinum Resistance in Lung Adenocarcinoma. *Front Cell Dev Biol*. 2020;8:305. <https://doi.org/10.3389/fcell.2020.00305>
5. Burnasheva EV, Shatokhin YuV, Snezhko IV, Matsuga AA. Kidney injury in cancer therapy. *Nephrology (Saint-Petersburg)*. 2018;22(5):17–24. (In Russ.). <https://doi.org/10.24884/1561-6274-2018-22-5-17-24>
6. Kit OI, Shikhlyarova AI, Maryanovskaya GY, Barsukova LP, Kuzmenko TS, Zhukova GV, et al. Theory of health: successful translation into the real life. General biological prerequisites. *Cardiometry*. 2015;(7):11–17. <https://doi.org/10.12710/cardiometry.2015.7.1117>
7. Haney SL, Allen C, Varney ML, Dykstra KM, Falcone ER, Colligan SH, et al. Novel tropolones induce the unfolded protein response pathway and apoptosis in multiple myeloma cells. *Oncotarget*. 2017 Sep 29;8(44):76085–76098. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.18543>
8. Zhang G, He J, Ye X, Zhu J, Hu X, Shen M, et al. β -Thujaplicin induces autophagic cell death, apoptosis, and cell cycle arrest through ROS-mediated Akt and p38/ERK MAPK signaling in human hepatocellular carcinoma. *Cell Death Dis*. 2019 Mar 15;10(4):255. <https://doi.org/10.1038/s41419-019-1492-6>
9. Maldonado EN, Patnaik J, Mullins MR, Lemasters JJ. Free tubulin modulates mitochondrial membrane potential in cancer cells. *Cancer Res*. 2010 Dec 15;70(24):10192–10201. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-10-2429>
10. Kurek J, Kwaśniewska-Sip P, Myszkowski K, Cofta G, Barczyński P, Murias M, et al. Antifungal, anticancer, and docking studies of colchicine complexes with monovalent metal cation salts. *Chem Biol Drug Des*. 2019 Sep;94(5):1930–1943. <https://doi.org/10.1111/cbdd.13583>
11. Ido Y, Muto N, Inada A, Kohroki J, Mano M, Odani T, et al. Induction of apoptosis by hinokitiol, a potent iron chelator, in teratocarcinoma F9 cells is mediated through the activation of caspase-3. *Cell Prolif*. 1999 Feb;32(1):63–73. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2184.1999.3210063.x>
12. Zhang G, He J, Ye X, Zhu J, Hu X, Shen M, et al. β -Thujaplicin induces autophagic cell death, apoptosis, and cell cycle arrest through ROS-mediated Akt and p38/ERK MAPK signaling in human hepatocellular carcinoma. *Cell Death Dis*. 2019 Mar 15;10(4):255. <https://doi.org/10.1038/s41419-019-1492-6>
13. Patent of the Russian Federation. RU 2741311 C1. Application No. 2020123736 dated 17.07.20 Minkin VI, Kit OI, Goncharova AS, Lukyanova EA, Sayapin YuA, Gusakov EA., et al. A drug with cytotoxic activity against cell culture of non-small cell lung cancer A 549. Available at: <https://patenton.ru/patent/RU2741311C1.pdf>, Accessed: 23.03.2022. (In Russ.).
14. Li L-H, Wu P, Lee J-Y, Li P-R, Hsieh W-Y, Ho C-C, et al. Hinokitiol induces DNA damage and autophagy followed by cell cycle arrest and senescence in gefitinib-resistant lung adenocarcinoma cells. *PLoS One*. 2014;9(8):e104203. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0104203>
15. Patent RU No. 2712916, publ. 03.02.2020, Byul. No. 4. Kolesnikov EN, Lukyanova EA, Vanzha LV, Maksimov AYU, Kit SO, Goncharova AS, et al. The method of anesthesia in Balb/c Nude mice during surgical interventions. Available at: <https://patenton.ru/patent/RU2712916C1.pdf>, Accessed: 23.03.2022. (In Russ.).
16. Treshchalina EM, Zhukova OS, Gerasimova GK, Andronova NV, Garin AM. Methodological guidelines for the study of antitumor activity of pharmacological substances. In: Guidelines for the experimental (preclinical) study of new pharmacological substances. Ed. by Khabrieva RU. Moscow: Medicine, 2005, 637–651 p. (In Russ.).
17. Chibunovsky VA. Interpretation of the results of clinical and biochemical laboratory studies. Almaty, 1998.
18. Zhang G, He J, Ye X, Zhu J, Hu X, Shen M, et al. β -Thujaplicin induces autophagic cell death, apoptosis, and cell cycle arrest through ROS-mediated Akt and p38/ERK MAPK signaling in human hepatocellular carcinoma. *Cell Death Dis*. 2019 Mar 15;10(4):255. <https://doi.org/10.1038/s41419-019-1492-6>
19. Lukyanova EA, Zaikina EV, Sayapin YuA, Gusakov EA, Filippova SYu, Zlatnik EYu, et al. Assessment of an antitumor effect of 2-(6,8-dimethyl-5-nitro-4-chloroquinoline-2-yl)-5,6,7-trichloro-1,3-tropolone in A-549 tumor cell subcutaneous xenografts. *Almanac of Clinical Medicine*. 2021;49(6):396–404. <https://doi.org/10.18786/2072-0505-2021-49-021>
20. Zaborovsky AV, Kokorev AV, Brodovskaya EP, Firstov SA, Minaeva OV, Kulikov OA, et al. Targeted delivery of doxorubicin using exogenous biocompatible nanovectors in experimental neoplasias. *Bulletin of the Mordovian University*. 2017;27(1):93–107. (In Russ.). <https://doi.org/10.15507/0236-2910.027.201701.093-107>
21. Ido Y, Muto N, Inada A, Kohroki J, Mano M, Odani T, et al. Induction of apoptosis by hinokitiol, a potent iron chelator, in teratocarcinoma F9 cells is mediated through the activation of caspase-3. *Cell Prolif*. 1999 Feb;32(1):63–73. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2184.1999.3210063.x>

cinoma F9 cells is mediated through the activation of caspase-3. *Cell Prolif.* 1999 Feb;32(1):63–73.

<https://doi.org/10.1046/j.1365-2184.1999.3210063.x>

22. Chen S-M, Wang B-Y, Lee C-H, Lee H-T, Li J-J, Hong G-C, et al. Hinokitiol up-regulates miR-494-3p to suppress BMI1 expression and inhibits self-renewal of breast cancer stem/progenitor cells. *Oncotarget.* 2017 Sep 29;8(44):76057–76068.

<https://doi.org/10.18632/oncotarget.18648>

23. Lee Y-S, Choi K-M, Kim W, Jeon Y-S, Lee Y-M, Hong J-T, et al. Hinokitiol inhibits cell growth through induction of S-phase arrest and apoptosis in human colon cancer cells and suppresses tumor growth in a mouse xenograft experiment. *J Nat Prod.* 2013 Dec 27;76(12):2195–2202. <https://doi.org/10.1021/np4005135>

24. Seo JS, Choi YH, Moon JW, Kim HS, Park S-H. Hinokitiol induces DNA demethylation via DNMT1 and UHRF1 inhibition in colon cancer cells. *BMC Cell Biol.* 2017 Feb 27;18(1):14. <https://doi.org/10.1186/s12860-017-0130-3>

Информация об авторах:

Лукбанова Екатерина Алексеевна ✉ – научный сотрудник ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3036-6199>, SPIN: 4078-4200, AuthorID: 837861

Дженкова Елена Алексеевна – д.б.н., доцент, ученый секретарь ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3561-098X>, SPIN: 6206-6222, AuthorID: 697354, ResearcherID: K-9622-2014, Scopus Author ID: 6507889745

Гончарова Анна Сергеевна – к.б.н., заведующая лабораторией ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0676-0871>, SPIN: 7512-2039, AuthorID: 553424

Максимов Алексей Юрьевич – д.м.н., профессор, заместитель генерального директора по перспективным научным разработкам, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1397-837X>, SPIN: 7322-5589, AuthorID: 710705, Scopus Author ID: 56579049500

Комарова Екатерина Федоровна – профессор РАН, д.б.н., ведущий научный сотрудник ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростова-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7553-6550>, SPIN: 1094-3139, AuthorID: 348709, ResearcherID: T-4520-2019

Минкин Владимир Исаакович – академик РАН, д.х.н., научный руководитель НИИ ФОХ Южного Федерального университета, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6096-503X>, SPIN: 1226-7767, AuthorID: 45587

Саяпин Юрий Анатольевич – к.х.н., руководитель лаборатории Южного научного центра РАН, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3180-1762>, SPIN: 4877-3959, AuthorID: 121929

Гусаков Евгений Александрович – научный сотрудник НИИ ФОХ Южного Федерального университета, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7593-1334>, SPIN: 1690-9488, AuthorID: 789745

Курбанова Луиза Зулгаидовна – младший научный сотрудник ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3436-1325>, SPIN: 9060-4853, AuthorID: 1020533

Киблицкая Александра Андреевна – научный сотрудник, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9337-5535>, SPIN: 2437-4102, AuthorID: 610872

Заикина Екатерина Владиславовна – младший научный сотрудник ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0088-2990>, SPIN: 4000-4369, AuthorID: 1045258

Миндарь Мария Вадимовна – младший научный сотрудник ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7934-9210>, SPIN: 5148-0830, AuthorID: 1032029

Волошин Марк Витальевич – врач-онколог ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2302-3542>, SPIN: 6122-4084, AuthorID: 969003

Шапошников Александр Васильевич – д.м.н., профессор, главный научный сотрудник торакоабдоминального отдела ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8857-9691>, SPIN: 8756-9438, AuthorID: 712823

Лысенко Ирина Борисовна – д.м.н., профессор, заведующая отделением онкогематологии, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6605-3573>, SPIN: 9510-3504, AuthorID: 794669

Николаева Надежда Владимировна – д.м.н., врач-онкогематолог ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6323-4862>, SPIN: 4295-5920, AuthorID: 733869.

Information about authors:

Ekaterina A. Lukbanova ✉ – researcher, National Medical Research Center of Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3036-6199>, SPIN: 4078-4200, AuthorID: 837861

Elena A. Dzhenkova – Dr. Sci. (Biol.), associate professor, scientific secretary National Medical Research Center of Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3561-098X>, SPIN: 6206-6222, AuthorID: 697354, ResearcherID: K-9622-2014, Scopus Author ID: 6507889745

Anna S. Goncharova – Cand. Sci. (Biol.), head of laboratory, National Medical Research Center of Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0676-0871>, SPIN: 7512-2039, AuthorID: 553424

Alexei Yu. Maksimov – Dr. Sci. (Med.), professor, deputy general director for advanced scientific research of the department of oncology of National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1397-837X>, SPIN: 7322-5589, AuthorID: 710705, Scopus Author ID: 56579049500

Ekaterina F. Komarova – professor of Russian Academy of Sciences, Dr. Sci. (Biol.), professor, senior research fellow at the National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7553-6550>, SPIN: 1094-3139, AuthorID: 348709, ResearcherID: T-4520-2019

Vladimir I. Minkin – academician of the Russian Academy of Sciences, Dr. Sci. (Chem.), scientific supervisor, Research Institute of Physical and Organic Chemistry of the Southern Federal University, Rostov-on-Don, Russian Federation. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6096-503X>, SPIN: 1226-7767, AuthorID: 45587

Lukbanova E. A.[✉], Dzhenkova E. A., Goncharova A. S., Maksimov A. Yu., Komarova E. F., Minkin V. I., Sayapin Yu. A., Gusakov E. A., Kurbanova L. Z., Kiblitckaya A. A., Zaikina E. V., Mindar M. V., Voloshin M. V., Shaposhnikov A. V., Lysenko I. B., Nikolaeva N. V. / Study of biological activity of 2-quinoline-2-yl-derivative 1,3-tropolone in experiment

Yury A. Sayapin – Cand. Sci. (Chem.), head of laboratory, Southern Scientific Center of the Russian Academy of Sciences, Rostov-on-Don, Russian Federation. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3180-1762>, SPIN: 4877-3959, AuthorID: 121929

Evgeny A. Gusakov – researcher, research institute of physical and organic chemistry, Southern Federal University, Rostov-on-Don, Russian Federation. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7593-1334>, SPIN: 1690-9488, AuthorID: 789745

Luiza Z. Kurbanova – junior researcher, National Medical Research Center of Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3436-1325>, SPIN: 9060-4853, AuthorID: 1020533

Alexandra A. Kiblitckaya – researcher, National Medical Research Center of Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9337-5535>, SPIN: 2437-4102, AuthorID: 610872

Ekaterina V. Zaikina – junior researcher, National Medical Research Center of Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0088-2990>, SPIN: 4000-4369, AuthorID: 1045258

Maria V. Mindar – junior researcher, National Medical Research Center of Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8734-9210>, SPIN: 5148-0830, AuthorID: 1032029

Mark V. Voloshin – oncologist, National Medical Research Center of Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2302-3542>, SPIN: 6122-4084, AuthorID: 969003

Alexander V. Shaposhnikov – Dr. Sci. (Med.), professor, chief researcher of the thoracoabdominal department, National Medical Research Center of Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8857-9691>, SPIN: 8756-9438, AuthorID: 712823

Irina B. Lysenko – Dr. Sci. (Med.), professor, head of the department of oncohematology, National Medical Research Center of Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6605-3573>, SPIN: 9510-3504, AuthorID: 794669

Nadezhda V. Nikolaeva – Dr. Sci. (Med.), oncohematologist, National Medical Research Center of Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6323-4862>, SPIN: 4295-5920, AuthorID: 733869

Вклад авторов:

Лукбанова Е. А. – оформление рукописи, проведение эксперимента;
Дженкова Е. А. – концепция и дизайн исследования, редактирование рукописи;
Гончарова А. С. – концепция и дизайн исследования;
Максимов А. Ю. – редактирование рукописи;
Комарова Е. Ф. – дизайн исследования, написание рукописи, проведение эксперимента;
Минкин В. И. – концепция и дизайн исследования;
Саяпин Ю. А. – синтез вещества, написание рукописи;
Гусаков Е. А. – синтез вещества, написание рукописи;
Курбанова Л. З. – редактирование рукописи;
Киблицкая А. А. – проведение эксперимента, статистический анализ данных;
Заикина Е. В. – проведение эксперимента, оформление рукописи;
Миндарь М. В. – оформление библиографии, редактирование рукописи;
Волошин М. В. – проведение гистологического анализа, написание рукописи;
Шапошников А. В. – концепция и дизайн рукописи
Лысенко И. Б. – редактирование рукописи;
Николаева Н. В. – дизайн исследования, редактирование рукописи.

Authors contribution:

Lukbanova E. A. – manuscript preparation, experiment;
Dzhenkova E. A. – concept and design of the study, manuscript editing;
Goncharova A. S. – study concept and design;
Maksimov A. Yu. – manuscript editing;
Komarova E. F. – study design, manuscript writing, experiment;
Minkin V. I. – study concept and design;
Sayapin Yu. A. – compound synthesis, manuscript writing;
Gusakov E. A. – compound synthesis, manuscript writing;
Kurbanova L. Z. – manuscript editing;
Kiblitckaya A. A. – experiment, statistical analysis;
Zaikina E. V. – experiment, manuscript preparation;
Mindar M. V. – reference list preparation, manuscript editing;
Voloshin M. V. – conducting histological analysis, writing the manuscript;
Shaposhnikov A. V. – manuscript concept and design;
Lysenko I. B. – manuscript editing;
Nikolaeva N. V. – study design, manuscript editing.