

## ПРОТИВОБЛАСТОМНЫЕ СРЕДСТВА

### ПРОТИВООПУХОЛЕВОЕ И АНТИПРОЛИФЕРАТИВНОЕ ДЕЙСТВИЕ СТЕРОИДНОГО АНТИЭСТРОГЕНА ЦИТЭСТРОЛА АЦЕТАТА НА МОДЕЛЯХ ГОРМОНОЗАВИСИМЫХ ОПУХОЛЕЙ

З. С. Смирнова<sup>1</sup>, В. М. Ржевников<sup>2</sup>, В. Н. Толкачев<sup>1</sup>, Л. М. Борисова<sup>1</sup>, М. П. Киселева<sup>1</sup>, А. В. Семейкин<sup>1</sup>, Т. А. Федотчева<sup>3\*</sup>, К. Е. Широких<sup>3</sup>, В. В. Банин<sup>4</sup>, Н. Л. Шимановский<sup>3</sup>

Цитэстрола ацетат (ЦА), в структуре которого антиэстрогенный стероидный компонент ассоциирован с бис-β-хлорэтиламиновой группировкой, обладает выраженным цитостатическим действием в отношении гормонозависимых клеточных культур (CaOV, HeLa, MCF-7). В резистентных к доксорубину клетках MCF-7 ЦА усиливает цитотоксическое действие этопозида и доксорубина, а IC<sub>50</sub> для ЦА в этих клетках в 40 раз меньше, чем для тамоксифена (ТАМ). На модели перевиваемой аденокарциномы молочной железы мышей Ca-755 установлена терапевтическая доза для ЦА — 25 мг/кг при подкожном введении масляного раствора в течение 5 дней. На ДМБА-индуцированных опухолях молочной железы крыс частичные регрессии при подкожном введении ЦА в дозе 2 мг/кг в течение 30 дней через 4 недели после окончания лечения наблюдались у 75 % крыс, тогда как при введении ТАМ в дозе 0,8 мг/кг в течение 30 дней — у 43 % крыс. В качестве лекарственной формы ЦА наиболее активными оказались масляный раствор ЦА в желатиновых капсулах для приема внутрь и липосомальная эмульсия для внутривенного введения, так как для этих форм получены наиболее высокие показатели торможения роста аденокарциномы молочной железы мышей Ca-755 — 97 – 98 %.

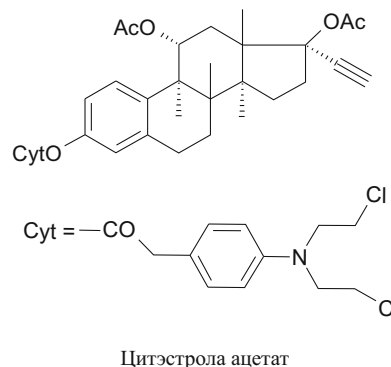
**Ключевые слова:** антиэстрогены; тамоксифен; MCF-7; HeLa; CaOV; ДМБА-индуцированные опухоли; доксорубин.

## ВВЕДЕНИЕ

Гормонотерапия является одним из важнейших методов лечения рака молочной железы (РМЖ) и других гормонозависимых опухолей у женщин, так как почти 60 % больных РМЖ (а среди пожилых — до 80 %) имеют гормонозависимые опухоли, т.е. опухоли, содержащие рецепторы эстрогенов (РЭ) и рецепторы прогестина (РП) [2]. Выбор метода лечения больных РМЖ зависит от стадии заболевания и от индивидуальной характеристики опухоли — степени злокачественности, рецепторного статуса, экспрессии HER2, пролиферативной активности по маркеру Ki-67 [4]. В основе всех методов гормонотерапии РМЖ лежит попытка воспрепятствовать стимулирующему воздействию эстрогенов на клетки опухоли. Поэтому для лечения РМЖ применяют антиэстроген тамоксифен, антагонисты ароматазы и агонисты/антагонисты гонадолиберина [2].

Для усиления противоопухолевого действия антиэстрогенов был создан принципиально новый класс цитотоксических стероидов на основе синтетических аналогов антиэстрогенов и цитотоксического фрагмента — хлорфенацила [3].

В результате структурно-функционального анализа из 19 новых цитотоксических эстрогенов (ЦЭ) четырех типов было отобрано соединение, обладающее антиэстрогенным и цитотоксическим действием: 11α-ацетат-3[п-ди(2-хлорэтил)аминофенилацетат] 17-ацетат этинилэстрадиола. Условное название — цитэстрола ацетат (ЦА).



Потенциально присоединение алкилирующей группы к антигормону должно приводить к увеличению его противоопухолевого действия за счет антиэстрогенного компонента и прямого цитотоксического воздействия [6], по-

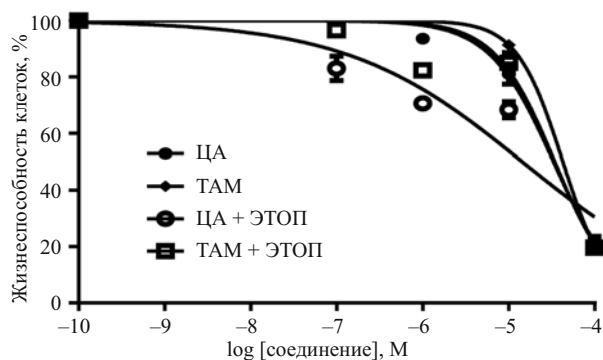
<sup>1</sup> ФГБУ Российский онкологический научный центр им. Н. Н. Блохина РАМН, 115478, Москва, Каширское шоссе, д. 24.

<sup>2</sup> Институт экспериментальной эндокринологии, Эндокринологический научный центр РАМН, 115478, Москва, ул. Москворечье, д. 1.

<sup>3</sup> РНИМУ им. Н. И. Пирогова Минздрава РФ, 117997, Москва, ул. Островитянова, д. 1.

<sup>4</sup> ГНУ Всероссийский институт лекарственных и ароматических растений, 117216, Москва, ул. Грина, д. 7, стр. 1

\* tfedotcheva@mail.ru.



**Рис. 1.** Цитотоксическое действие ЦА и ТАМ в комбинации с этопозидом в клетках МСF-7/R при инкубации в течение 2 сут.

Приведены средние значения 3 независимых экспериментов. Этопозид вносили в среду в фиксированной концентрации 0,1 мг/мл.

этому в данной работе исследовано цитостатическое действие ЦА в сравнении с тамоксифеном (ТАМ) на опухолевые клетки различных гормонозависимых клеточных линий и изучена его противоопухолевая активность *in vivo*.

## МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Цитотоксическую активность соединений *in vitro* оценивали с помощью МТТ (бромид 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-тетразолий)-теста в культуре эстрогенозависимых опухолевых клеток рака яичника человека CaOv, рака молочной железы МСF-7 и рака шейки матки HeLa [5]. Исходные растворы ТАМ (“Sigma”, США) и ЦА 0,01М в 96 % этаноле разбавляли средой инкубации до требуемых концентраций и вносили в среду инкубации. Этопозид (“Эбеве”, Австрия, раствор для инъекций, 20 мг/мл) и доксорубин (“Эбеве”, Австрия, порошок для инъекций) растворяли в среде инкубации до нужных концентраций. Статистическую значимость различий  $IC_{50}$  оценивали по *t*-критерию Стьюдента.

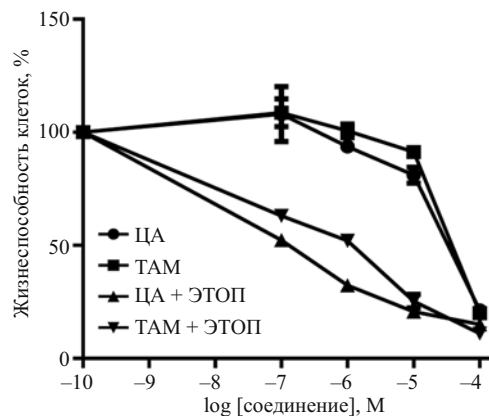
Влияние соединений на уровень транскрипции генов *Bax* и *BCL-2* оценивали методом полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией в режиме реального времени. Опухолевые клетки инкубировали с исследуемыми соединениями в финальной концентрации  $10^{-5}$  М в течение 2 – 10 сут, после чего с помощью комплекта реагентов для выделения РНК/ДНК из клинического ма-

**Таблица 1.** Антипролиферативное действие ЦА и ТАМ для различных культур опухолевых клеток при инкубации в течение 2 сут

Препарат	$IC_{50}$ , М			
	CaOv	HeLa	МСF-7/WT	МСF-7/R
ЦА	$(5 \pm 1,4) \cdot 10^{-5}$	$(1,6 \pm 0,8) \cdot 10^{-5}$	$(2,6 \pm 1,1) \cdot 10^{-4}$	$(1,0 \pm 0,5) \cdot 10^{-7*}$
ТАМ	$3,4 \cdot 10^{-5}$	$(0,5 \pm 0,6) \cdot 10^{-5}$	$(2,2 \pm 1,2) \cdot 10^{-4}$	$(4 \pm 0,8) \cdot 10^{-6}$

**Примечание:** приведены средние значения трех независимых экспериментов ( $M \pm m$ ),  $n = 3$ .

\* Статистически достоверное отличие  $IC_{50}$  ЦА от  $IC_{50}$  ТАМ при  $p < 0,05$ .



**Рис. 2.** Цитотоксическое действие ЦА и ТАМ в комбинации с доксорубином (ДОКС) в клетках МСF-7/R при инкубации в течение 2 сут.

Приведены средние значения 3 независимых экспериментов. ДОКС вносили в среду в фиксированной концентрации  $5 \cdot 10^{-6}$  М.

териала “Рибо-преп вариант 100” (ФГУН Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия) согласно инструкции производителя выделялась мРНК. Затем с помощью комплекта реагентов “РЕВЕРТА-L” для проведения реакции обратной транскрипции (AmpliSens biotechnologies) согласно инструкции производителя выделяли кДНК, которую использовали для относительной количественной оценки уровня транскрипции мРНК исследуемых генов. ПЦР в режиме реального времени проводили с помощью набора реагентов для проведения ОТ-ПЦР в присутствии интеркалирующего красителя SYBR Green I (“Синтол”, Россия) и бесолевых праймеров (1 о. е./мл) (“Синтол”, Россия). Нормирование транскрипции осуществляли по гену “домашнего хозяйства” — глицеральдегидфосфат-дегидрогеназы (GAPDH). Для расчета уровня экспрессии мРНК использовали “дельта-дельта метод” [11].

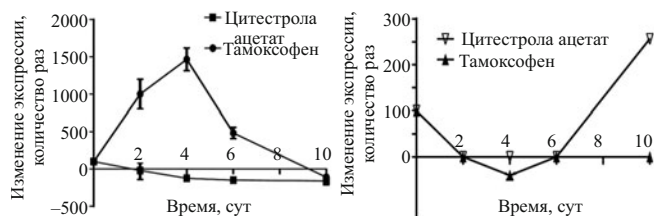
Противоопухолевую активность ЦА оценивали на перерываемых моделях опухолей мышей: аденокарциноме молочной железы Ca-755, меланоме В-16, эпидермоидной карциноме легкого Льюис (LLC), саркоме С-37 и ДМБА-индуцированных опухолях молочной железы крыс-самок породы Wistar [7, 8].

**Таблица 2.** Зависимость противоопухолевого действия ЦА от дозы у мышей с аденокарциномой молочной железы Ca-755 при подкожном введении в течение 5 дней

Доза, мг/кг	ТРО, %			УПЖ, %	Излечение, %	Гибель от токсичности <sup>1</sup>
	дни после курса лечения					
	1	7 – 8	12 – 14			
10	80*	95*	85*	26	12,5*	0/8
25	89*	99*	96*	48*	12,5*	0/8
35	95*	99*	97*	37*	12,5 %	2/8
50	94*	99,9*	–	–	–	6/8

\*  $p < 0,05$  по сравнению с контролем, критерий Фишера.

<sup>1</sup> В числителе число погибших мышей в группе, в знаменателе — общее число животных.



**Рис. 3.** Влияние ЦА и ТАМ на экспрессию мРНК белков *BCL-2* (а) и *Bax* (б) в клетках MCF-7 при инкубации в течение 10 сут. Примечание: контроль — 100 усл. ед. — экспрессия мРНК в отсутствие соединений; ТАМ и ЦА в концентрации  $10^{-5}$  М. Приведены средние значения 3 экспериментов.

ЦА вводили подкожно мышам с перевиваемыми опухолями в дозах от 10 до 50 мг/кг в течение 5 дней и крысам с ДМБА-индуцированными опухолями молочной железы в дозе 2 мг/кг в течение 30 дней. Препарат сравнения ТАМ вводили крысам и мышам подкожно в дозе 0,8 мг/кг в течение 30 дней. Контрольным группам животных вводили масляный раствор в эквивалентном количестве. Животные получены из вивария ФГБУ РОНЦ им. Н. Н. Блохина, условия содержания соответствовали международным стандартам со свободным доступом к воде и корму.

Критериями оценки противоопухолевой активности изучаемых соединений служили полная или частичная регрессия (ПР, ЧР), торможение роста опухолей (ТРО, %), увеличение продолжительности жизни (УПЖ, %) опытных мышей по сравнению с контрольными, а также полное излечение животных (%) [4, 5]. Приведены средние значения 3 экспериментов на перевиваемых опухолях. Опытные группы при перевивке опухолей у мышей состояли из 8 мышей, а контрольная — 12 животных. В экспериментах на крысах с ДМБА-индуцированными опухолями молочной железы в опытных группах было по 11 крыс, в контрольной — 16 крыс. Статистическую значимость противоопухолевого эффекта по отношению к нелеченному контролю определяли по *t*-критерию Стьюдента. Различия между сравниваемыми группами считались статистически достоверными при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Данные об антипролиферативном действии ЦА (в виде  $IC_{50}$  — концентрации полумаксимального ингибирования) в отношении различных гормонозависимых культур опухолевых клеток в сравнении с ТАМ представлены в табл. 1.

**Таблица 3. Противоопухолевое действие ЦА (ТРО, %) у мышей и крыс с опухолями разного генеза**

Аденокарцинома молочной железы мыши Са-755	Меланома мыши В-16	Карцинома легкого мыши LLC	Саркома мыши С-37	ДМБА-индуцированный РМЖ крыс
99*	56*	87*	99*	88*

\* Достоверное отличие от контрольной группы животных при  $p < 0,05$ , критерий Фишера. ЦА вводили подкожно на перевиваемых опухолях в дозе 25 мг/кг в течение 5 дней, на ДМБА-индуцированном РМЖ — в дозе 2 мг/кг в течение 30 дней.

Представленные в табл. 1 данные показывают, что ЦА проявляет примерно одинаковое действие с ТАМ в отношении клеток рака яичников и шейки матки. Однако ЦА более цитотоксичен, чем ТАМ, в культуре клеток MCF-7/R, резистентных к доксорубину.

На культуре клеток MCF-7/R также показано, что ЦА усиливает действие цитостатиков этопозиды и доксорубина, причем в большей степени, чем ТАМ (рис. 1, 2).

В присутствии этопозиды  $IC_{50}$  ТАМ понизилась до  $3,2 \cdot 10^{-6}$  М, а для ЦА — до  $0,4 \cdot 10^{-7}$  М, то есть цитотоксический эффект ТАМ увеличился в 1,25 раза, а ЦА — в 2,5 раза ( $p < 0,05$ ). В присутствии ДОКС цитотоксическое действие обоих препаратов усилилось в большей степени:  $IC_{50}$  для ТАМ понизилась до  $7,8 \cdot 10^{-7}$  М, а для ЦА — до  $0,15 \cdot 10^{-7}$  М, то есть цитотоксический эффект ТАМ увеличился в 5 раз, а ЦА — в 6,6 раза ( $p < 0,05$ ).

С целью выявления механизмов цитотоксического действия ЦА проведен анализ его влияния на экспрессию мРНК белков *BCL-2* и *Bax*, участвующих в регуляции апоптоза. Данные представлены на рис. 3.

При 10 сут инкубации с клетками MCF-7 ЦА индуцирует апоптоз (снижение экспрессии *BCL-2* с первого дня инкубации, увеличение экспрессии *Bax* с 6 дня инкубации). Напротив, ТАМ не вызывал увеличения экспрессии апоптотического белка *Bax*, а экспрессия *BCL-2* в присутствии ТАМ даже увеличивалась. Данный факт может означать, что ЦА обладает цитотоксическим действием, вызывающим апоптоз опухолевых клеток, а ТАМ — цитостатическим действием, тормозящим клеточное деление.

### Противоопухолевая активность ЦА на моделях животных с перевиваемыми опухолями

Исследование противоопухолевой активности ЦА выявило широкий спектр опухолей, в отношении которых препарат эффективен. При изучении дозовой зависимости противоопухолевого действия ЦА у мышей с перевиваемой аденокарциномой молочной железы Са-755 показано, что эффективная доза составляет 25 мг/кг при подкожном введении в течение 5 дней. Это доза, которая проявляет наибольший противоопухолевый эффект и не вызывает гибели мышей с опухолью (табл. 2).

В дозе 25 мг/кг при введении в течение 5 дней ЦА проявляет высокий противоопухолевый эффект на различных моделях у мышей: в отношении аденокарциномы молочной железы Са-755 (ТРО = 99 %, УПЖ = 73 %, излечение в 12 % случаев), меланомы В-16 (ТРО = 56 %, УПЖ = 52 %), саркомы 37 (ТРО = 99 %), карциномы легкого LLC (ТРО = 87 %). В отношении ДМБА-индуцированных гормонозависимых опухолей молочной железы крыс и в дозе 2 мг/кг ЦА вызывал частичные регрессии (> 50 %) опухолей в 45 % случаев после подкожного введения в течение 30 дней и в 75 % случаев через 4 недели после окончания лечения (табл. 3).

Противоопухолевая активность ЦА в сравнении с ТАМ на ДМБА-индуцированных опухолях молочной железы крыс приведена в табл. 4.

Установлено, что ЦА обладает более сильным отсроченным противоопухолевым действием, чем ТАМ ( $p < 0,5$ ). Так, ЦА через 4 недели после окончания лече-

Таблица 4. Противоопухолевое действие ЦА в дозе 2 мг/кг в течение 30 дней при подкожном введении в сравнении с ТАМ в дозе 0,8 мг/кг в течение 30 дней при подкожном введении на ДМБА-индуцированной опухоли молочной железы у крыс

Группа	Число опухолей	Эффект сразу после лечения, % случаев			Число опухолей	Эффект через 4 недели после лечения, % случаев		
		частичная регрессия	стабилизация	рост		частичная регрессия	стабилизация	рост
Контроль	16	13	6	81	15	14	0	96
ЦА	11	45	18	36	8	75*	13	13
ТАМ	7	43	14	43	5	20	0	80

\*  $p < 0,5$  по сравнению с ТАМ, критерий Фишера.

ния вызывал ЧР у 75 % крыс и стабилизацию роста опухоли — у 13 % животных. В то же время у ТАМ выявлен только быстрый эффект, равный действию ЦА: ЧР наблюдались у 43 % крыс и стабилизация роста опухоли — у 14 % животных.

На следующем этапе исследования была изучена зависимость противоопухолевого действия ЦА от пути введения с целью выбора оптимальной лекарственной формы. Наиболее высокие показатели ТРО — 97–98 % — получены для масляного раствора в желатиновых капсулах для приема внутрь и липосомальной эмульсии для внутривенного введения (табл. 5).

Действие антиэстрогенов на клетки-мишени реализуется через рецепторы РЭ [1]. Ранее показано, что *in vivo* ЦА обладает дозозависимым антиэстрогенным эффектом [5]. Выраженный антиэстрогенный эффект (27 % торможения стимулирующего действия эстрогена на матку неполовозрелых мышей-самок) препарат проявлял в дозе 150 мкг/мышь [5]. Эти данные послужили основанием для исследования ЦА как потенциального противоопухолевого средства.

Исследование цитотоксической активности ЦА на клеточных культурах показало, что соединение более активно по сравнению с ТАМ или имеет близкое значение  $IC_{50}$ . При комбинированном применении с цитостатиками этопозидом и доксорубицином суммарный цитотоксический эффект ЦА превосходит суммарный цитотоксический эффект ТАМ с этими же препаратами ( $p < 0,05$ ).

Полученные данные позволяют сделать вывод о том, что механизм цитотоксической активности ЦА в отношении эстроген-чувствительной линии клеток РМЖ чело-

века MCF-7, вероятно, включает в себя взаимодействие с рецепторами эстрадиола и прооксидантное действие бис-β-хлорэтиламинной группы на опухолевые клетки. Ранее было продемонстрировано отсутствие цитотоксического действия ЦА в отношении не чувствительной к эстрогенам культуры фибробластов кожи крыс, что указывает на участие антиэстрогенного механизма в реализации цитотоксического действия ЦА [9].

Противоопухолевая активность ЦА на моделях с перививаемыми опухолями аденокарциномы молочной железы Ca-755, меланомы В-16, саркомы 37, карциномы легкого LLC и в отношении ДМБА-индуцированных гормонозависимых опухолей молочной железы крыс составила от 56 до 99 % по критерию ТРО.

В отношении ДМБА-индуцированных гормонозависимых опухолей молочной железы крыс противоопухолевый эффект ЦА в дозе 2 мг/кг в течение 30 дней через 4 недели после окончания терапии, оцениваемый по частичной регрессии опухоли, на 55 % выше, чем у ТАМ ( $p < 0,5$ ). Также у 13 % животных, получавших ЦА, наблюдалась стабилизация роста опухоли, тогда как у животных, получавших ТАМ, через 4 недели применения случаев стабилизации роста опухоли не наблюдалось.

Наиболее выраженный противоопухолевый эффект ЦА наблюдался при его использовании в виде масляного раствора в желатиновых капсулах для применения внутрь и липосомальной эмульсии для внутривенного введения. В водно-спиртовых растворах ЦА менее эффективен, что связано, вероятно, со стероидной структурой соединения, обуславливающей меньшую раствори-

Таблица 5. Зависимость противоопухолевого действия ЦА от пути введения и лекарственной формы у мышей с аденокарциномой молочной железы Ca-755

Лекарственная форма	Путь введения	Доза, мг/кг	ТРО, %	УПЖ, %
Раствор в косточковом масле	подкожно	25	97	45
Суспензия в 1 % растворе крахмального клейстера	внутри	25	21	5
		50	38	0
		75	67*	0
10 % водно-спиртовая суспензия	внутримышечно	25	28	0
		40	57	22
		50	68*	0
Липосомальная эмульсия	внутривенно	15	98*	39
		20	98*	47

\* Достоверно при  $p < 0,05$  по отношению к ТРО, вызванному суспензией ЦА в 1 % растворе крахмального клейстера в дозе 25 мг/кг внутри (критерий Фишера).



мость в указанных растворах и, соответственно, меньшую всасываемость в тканях.

Анализ публикаций последних лет, посвященных стратегиям лечения РМЖ, свидетельствует о том, что проблемой адьювантной химиотерапии РМЖ цитостатиками, ввиду их действия на кроветворную систему, является возникновение вторичных злокачественных новообразований в этой системе, в частности — миелодиспластического синдрома и лейкозиев [10]. Другой актуальной задачей является поиск новой стратегии и новых комбинаций препаратов для больных с РМЖ с тройным негативным статусом (отсутствие РП, РЭ, Her-2) [12]. Сочетание как антиэстрогенных, так и цитотоксических и прооксидантных свойств в ЦА является уникальным и многообещающим при применении в схемах лечения РМЖ с подобным статусом и может позволить снизить дозу как антиэстрогенов, так и цитостатиков.

## ВЫВОДЫ

1. ЦА оказывает цитотоксическое действие на клетки рака яичников CaOv, шейки матки HeLa и клеток РМЖ человека MCF-7, в том числе резистентных к доксорубину с диапазоном  $IC_{50}$  от  $(2,6 \pm 1,1) \cdot 10^{-4}$  М до  $(1,0 \pm 0,5) \cdot 10^{-7}$  М.

2. В клетках MCF-7, резистентных к доксорубину, в присутствии этопозида (0,1 мг/мл) или доксорубина ( $5 \cdot 10^{-6}$  М) цитотоксическое действие ЦА увеличивается в большей степени, чем TAM ( $p < 0,05$ ).

3. ЦА в концентрации  $10^{-5}$  М при 10 сут инкубации с клетками MCF-7 увеличивает экспрессию апоптотического белка *Bax* в 256 раз ( $p < 0,05$ ), начиная с 6 дня инкубации.

4. ЦА в терапевтической дозе 25 мг/кг в течение 5 дней при подкожном введении проявляет высокий противоопухолевый эффект в отношении перевиваемых гормончувствительных опухолей мышей: Ca-755 (ТРО = 99 %, УПЖ = 73 %, излечение в 12 % случаев),

меланомы В-16 (ТРО = 56 %, УПЖ = 52 %), саркомы 37 (ТРО = 99 %), карциномы легкого LLC (ТРО = 87 %).

5. ЦА обладает более выраженным, чем у TAM, отсроченным противоопухолевым действием в отношении ДМБА-индуцированной опухоли молочной железы у крыс ( $p < 0,05$ ), оцениваемым по частичным регрессиям и стабилизации роста опухоли.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Е. Н. Карева, Н. Л. Шимановский, *Молек. мед.*, № 1, 10 – 18 (2011).
2. Н. Ф. Орел, *Руководство по химиотерапии опухолевых заболеваний*, Практическая Медицина, Москва (2013), сс. 182 – 196.
3. В. М. Ржезников, Л. Е. Голубовская, Е. Е. Маяцкая и др., *Хим.-фарм. журн.*, 42(3), 9 – 12 (2008); *Pharm. Chem. J.*, 42(3), 111 – 114 (2008).
4. В. Ф. Семиглазов, В. В. Семиглазов, Р. М. Палтуев и др., *Врач*, № 11, 1 – 4 (2012).
5. З. С. Смирнова, *Рос. биотер. ж.*, 1(2), 76 – 79 (2002).
6. З. С. Смирнова, В. Н. Толкачев, В. М. Ржезников, *Экспериментальная онкология на рубеже веков*, Москва (2003), сс. 303 – 318.
7. З. С. Смирнова, Г. К. Герасимова, А. М. Гарин, А. С. Соколова, *Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ*, Медицина, Москва (2005), сс. 652 – 668.
8. Е. М. Трещалина, О. С. Жукова, Г. К. Герасимова и др., *Методические рекомендации по доклиническому изучению противоопухолевой активности лекарственных веществ. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств*, Часть первая, Гриф и К, Москва (2012), сс. 642 – 656.
9. Т. А. Федотчева, Н. Л. Шимановский, А. И. Сендерович и др. *Хим.-фарм. журн.*, 41(7), 3 – 7 (2007); *Pharm. Chem. J.*, 41(7), 345 – 349 (2007).
10. C. Dong, L. Chen, *Mol. Clin. Oncol.*, 2(3), 331 – 336 (2014).
11. M. W. Pfaffl, *Nucleic Acids Res.*, 29(9), 2002 – 2007 (2001).
12. G. von Minckwitz, M. Martin, *Ann. Oncol.*, 6, 35 – 39 (2012).

Поступила 23.09.14

## ANTITUMOR AND ANTIPROLIFERATIVE ACTION OF THE STEROIDAL CYTOSTATIC ANTIESTROGEN CYTESTROL ACETATE ON HORMONE-DEPENDENT TUMOR MODELS

Z. S. Smirnova<sup>1</sup>, V. M. Rzheznikov<sup>2</sup>, V. N. Tolkachev<sup>1</sup>, L. M. Borisova<sup>1</sup>, M. P. Kiseleva<sup>1</sup>, A. V. Semeykin<sup>1</sup>, T. A. Fedotcheva<sup>3\*</sup>, K. E. Shirokih<sup>3</sup>, V. V. Banin<sup>4</sup>, and N. L. Shimanovskii<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Blokhin Oncological Research Center, Kashirskoe shosse 24, Moscow, 115478 Russia;

<sup>2</sup> Institute of Experimental Endocrinology, Endocrinology Research Center, ul. Moskvorech'e 1, Moscow, 115478 Russia;

<sup>3</sup> Pirogov State Medical University, ul. Ostrovityanova 1, Moscow, 117997 Russia;

<sup>4</sup> All-Russia Institute of Medicinal and Aromatic Plants, ul. Grina 7/1, Moscow, 117216 Russia;

\* e-mail: tfedotcheva@mail.ru

Cytestrole acetate (CA), in the structure of which the steroidal antiestrogen component is associated with bis-β-chloroethylamino group, exhibits a strong cytotoxic activity against hormone-dependent cancer cell lines (CaOV, HeLa, MCF-7). In doxorubicin-resistant MCF-7 cells, CA potentiates the cytotoxic effect of etoposide and doxorubicin, and the  $IC_{50}$  for CA in these cells is 40 times lower than that for tamoxifen (TAM). In transplantable mice breast adenocarcinoma Ca-755, the therapeutic CA dose is 25 mg/kg when administered subcutaneously in oil solution for 5 days. On the DMBA-induced mammary tumors in rats, CA injected subcutaneously led to partial regressions 4 weeks after treatment in 75% of test rats, whereas TAM produced this effect in 43% of rats. Among various drug forms of CA, the most active were oil solution of CA in gelatin capsules for oral use and liposomal emulsion for intravenous administration, since these forms exhibited the highest values of Ca-755 tumor growth inhibition index (TGI = 97 – 98%).

**Keywords:** antiestrogens; cytestrol acetate; tamoxifen; MCF-7; HeLa; CaOV; DMBA-induced tumors; doxorubicin index