УДК: 615.038
DOI: 10.37489/2587-7836-2024-4-22-28
EDN: PSTLMB

АНАЛИТИЧЕСКАЯ СТАТЬЯ
ANALYTICAL ARTICLE

CC BY 4.0

2-[3-(2-хлорэтил)-3-нитрозоуреидо]-1,3-пропандиол (хлонизол): содержание в крови у крыс после внутривенного введения и химическая устойчивость

Александров В. А.[1], Точильников Г. В.[1], Шатик С. В.[2], Стуков А. Н.[1], Беляева О. А.[1], Башкатова Е. В.[1], Дранишников В. Г.[1], Семиглазова Т. Ю.[1]

[1] ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Российская Федерация

[2] ФГБУ «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий имени академика А.М. Гранова» Минздрава России, Санкт Петербург, Российская Федерация

Аннотация

Актуальность. Отечественное противоопухолевое соединение 2-[3-(2-хлорэтил)-3-нитрозоуреидо]-1,3-пропандиол (хлонизол) обладает высокой противоопухолевой активностью на широком спектре экспериментальных опухолей.

Цель . Изучить содержание хлонизола в крови у крыс в разные сроки после внутривенного введения и его химическую устойчивость в 0,9 % растворе натрия хлорида, моче и сыворотке крови..

Методы. Концентрацию хлонизола в различных средах определяли методом ВЭЖХ. В опытах *in vivo* на 10 крысах самцах с массой тела 180–200 г. концентрацию хлонизола определяли в крови у крыс через 2, 30, 60, 90 и 120 мин после его внутривенного введения в дозе 40 мг/кг. В опытах *in vitro* 0,1 % раствор хлонизола инкубировали при 37 °С в трёх средах: 0,9 % растворе натрия хлорида, сыворотке крови и моче. Через разные промежутки времени отбирали аликвоты и анализировали на содержание хлонизола. Устойчивость хлонизола оценивалась по отношению его концентрации до и после инкубации, выраженному в процентах.

Результаты. При внутривенном введении хлонизола в дозе 40 мг/кг крысам его полное исчезновение из крови наблюдалось в течение 2 часов. Время полувыведения составило 27 минут. Из трёх сред, изученных в опытах *in vitro*, хлонизол был наиболее устойчив в 0,9 % растворе натрия хлорида (89 % содержания от исходного уровня после 10 часов инкубации при 37 °С). Менее устойчив, но достаточно долго — в моче (60 % от исходного после 1 часа инкубации и 37 % после 2 часов). Наименьшая устойчивость хлонизола была в сыворотке крови (снижение концентрации до 11 % через 1 час и до 0 после 2 часов инкубации).

Заключение. Полученные результаты позволяют сделать предположения о возможных путях применения хлонизола. Высокая устойчивость хлонизола в 0,9 % растворе натрия хлорида позволит осуществлять его длительные капельные внутривенные инфузии, а также перфузионную интраартериальную химиотерапию. Сохранение концентрации хлонизола в моче на уровне 60 % от исходной в течение 1 часа позволит использовать внутрипузырные инстилляции хлонизола при поверхностном раке мочевого пузыря.

Ключевые слова: 2-[3-(2-хлорэтил)-3-нитрозоуреидо]-1,3-пропандиол; ВЭЖХ; содержание в сыворотке крови; устойчивость в различных средах

Для цитирования:
Александров В. А., Точильников Г. В., Шатик С. В., Стуков А. Н., Беляева О. А., Башкатова Е. В., Дранишников В. Г., Семиглазова Т. Ю. 2-[3-(2-хлорэтил)-3-нитрозоуреидо]-1,3-пропандиол (хлонизол): содержание в крови у крыс после внутривенного введения и химическая устойчивость. *Фармакокинетика и фармакодинамика.* 2024;(4):22–28. https://doi.org/10.37489/2587-7836-2024-4-22-28. EDN: PSTLMB
Поступила: 06.11.2024. **В доработанном виде:** 07.12.2024. **Принята к печати:** 18.12.2024. **Опубликована:** 30.12.2024.

2-[3-(2-chloroethyl)-3-nitrosoureido]-1,3-propanediol (chlonisol): blood content in rats after intravenous administration and chemical resistance

Valery A. Alexandrov[1], Grigory V. Tochilnikov[1], Sergey V. Shatik[2], Alexander N. Stukov[1], Olesya A. Beljaeva[1], Elizaveta V. Bashkatova[1], Vladislav G. Dranishnikov[1], Tatiana Yu. Semiglazova[1]

[1] NMIC of Oncology named after N.N. Petrov MOH Russia, St. Petersburg, Russian Federation

[2] Russian Center of Radiology and Surgical Technologies named after Academician A.M. Granova MOH Russia, St. Petersburg, Russian Federation

Abstract

Background. The domestic antitumor compound 2-[3-(2-chloroethyl)-3-nitrosoureido]-1,3-propanediol (chlonisol) has high antitumor activity on a wide range of experimental tumors.

Goal. To study the content of chlonisol in the blood of rats at different times after intravenous administration and its chemical stability in 0.9 % sodium chloride solution, urine and blood serum.

Methods. The concentration of chlonisol in various media was determined by HPLC. *In vivo* studies on 10 male rats with a body weight of 180–200 g. the concentration of chlonisol in the blood of rats was determined 2, 30, 60, 90 and 120 minutes after its intravenous administration at a dose of 40 mg/kg. In *in vitro* experiments, a 0.1 % solution of chlonisol was incubated at 37 °C in three media: 0.9 % sodium chloride solution, blood serum and urine. Aliquots were selected at different intervals and analyzed for the content of chlonisol. The stability of chlonisol was evaluated in relation to its concentration before and after incubation, expressed as a percentage.

Results. When chlonisol was administered intravenously at a dose of 40 mg/kg to rats, its complete disappearance from the blood was observed within 2 hours. The half-life was 27 minutes. Of the three media studied *in vitro* experiments, chlonisol was the most stable in 0.9 % sodium chloride solution

(89 % of the initial level after 10 hours of incubation at 37 °C). Less stable, but for a long time — in urine (60 % of the initial after 1 hour of incubation and 37 % after 2 hours). The lowest resistance of chlonisol was in the blood serum (a decrease in concentration to 11 % after 1 hour and to 0 after 2 hours of incubation).

Conclusion. The results obtained allow us to make assumptions about possible ways of using chlonisol: The high stability of chlonisol in 0.9 % sodium chloride solution will allow its long-term drip intravenous infusions, as well as perfusion intraarterial chemotherapy. Maintaining the concentration of chlonisol in urine at 60 % of the initial level for 1 hour will allow the use of intravesical instillations of chlonisol in superficial bladder cancer.

Keywords: 2-[3-(2-chloroethyl)-3-nitrosoureido]-1,3-propanediol; HPLC; blood serum content; resistance in various environments

For citations:
Alexandrov VA, Tochilnikov GV, Shatik SV, Stukov AN, Beljaeva OA, Bashkatova EV, Dranishnikov VG, Semiglazova TYu. 2-[3-(2-chloroethyl)-3-nitrosoureido]-1,3-propanediol (chlonisol): blood content in rats after intravenous administration and chemical resistance. *Farmakokinetika i farmakodinamika = Pharmacokinetics and pharmacodynamics*. 2024;(4):22–28. (In Russ.). https://doi.org/10.37489/2587-7836-2024-4-22-28. EDN: PSTLMB
Received: 06.11.2024. **Revision received:** 07.12.2024. **Accepted:** 18.12.2024. **Published:** 30.12.2024.

Введение / Introduction

Отечественное противоопухолевое соединение 2-[3-(2-хлорэтил)-3-нитрозоуреидо]-1,3-пропандиол (хлонизол) относится к классу нитрозоалкилмочевин, являясь производным отдельной группы этого класса —алкилнитрозоуреидопропандиолов.

2-[3-(2-хлорэтил)-3-нитрозоуреидо]-1,3-пропандиол — кристаллический порошок жёлтого цвета, хорошо растворимый в воде, в 95 % спирте, а также растворим в хлороформе, ацетоне, этилацетате. Температура плавления 91–92 °C. Молекулярная масса 225.63018 Da. Структурная формула этого соединения приводится на рис. 1. Индивидуальность полученного соединения доказана методом ВЭЖХ, строение — ЯМР 1H и масс-спектрами. Соединение зарегистрировано в НИИ по БИХС под номером 10181391 от 19.02.1991 и защищено патентами РФ № 2068843 и № 2678846. Разработан технологический метод синтеза хлонизола, позволяющий получать конечный продукт высокой степени очистки (98–99 %) [1].

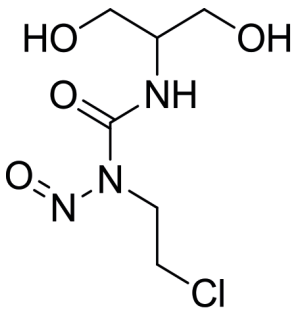

Рис. 1. Структурная формула 2-[3-(2-хлорэтил)-3-нитрозоуреидо]-1,3-пропандиол (хлонизол)
Fig. 1. The structural formula is 2-[3-(2-chloroethyl)-3-nitrosoureido]-1,3-propanediol (chlonisol)

2-[3-(2-хлорэтил)-3-нитрозоуреидо]-1,3-пропандиол (хлонизол) характеризуется высокой противоопухолевой активностью на широком спектре перевиваемых опухолей [2], а также при спонтанных HER2-положительных опухолях молочной железы у мышей FVB/N, трансгенных по онкогену HER2 [3]. Хлонизол проходит через гематоэнцефалический барьер и проявляет выраженный терапевтический эффект на моделях интракраниальных опухолей [4].

Цель исследования: изучить содержание хлонизола в крови у крыс в разные сроки после внутривенного введения и его химическую устойчивость в 0,9 % растворе натрия хлорида, моче и сыворотке крови.

Материалы и методы / Materials and methods

Исследование проводилось на 10 беспородных крысах самцах с массой тела 180–200 г. Все животные содержались при стандартных условиях (12 часов — свет, 12 часов — темнота, приточно-вытяжная вентиляция и температура 20–24 °C), получали стандартный комбинированный корм (ООО «Лабораторкорм», Россия) и питьевую воду *ad libitum*. Эксперименты на животных выполнялись с соблюдением принципов гуманности, изложенных в директиве 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского Союза от 22 сентября 2010 года по охране животных, используемых в научных целях и Хельсинкской декларации, а также под контролем этического комитета «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова», Минздрава России, Санкт-Петербург.

Под наркозом животным делали разрез кожи в области шеи и обнажали ярёмную вену, из которой шприцом брали 0,3 мл крови до и после введения хлонизола через различное время. В вену вводили свежеприготовленный раствор хлонизола в 0,9 % растворе натрия хлорида с концентрацией 10 мг/мл в дозе 40 мг/кг. Через 2, 30, 60, 90 и 120 мин повторяли заборы крови по 0,3 мл. Пробы оставляли в ледяной бане на 20 мин, центрифугировали при 1000 g в течение 5 мин, сыворотку отбирали и хранили при –20 °C.

Для ВЭЖХ анализа отбирали 50 мкл сыворотки, добавляли 100 мкл ацетонитрила для осаждения белков и центрифугировали. Супернатант отбирали и высушивали под вакуумом, после чего растворяли в 50 мкл 50 мМ раствора однозамещённого фосфата натрия с pH 2,5.

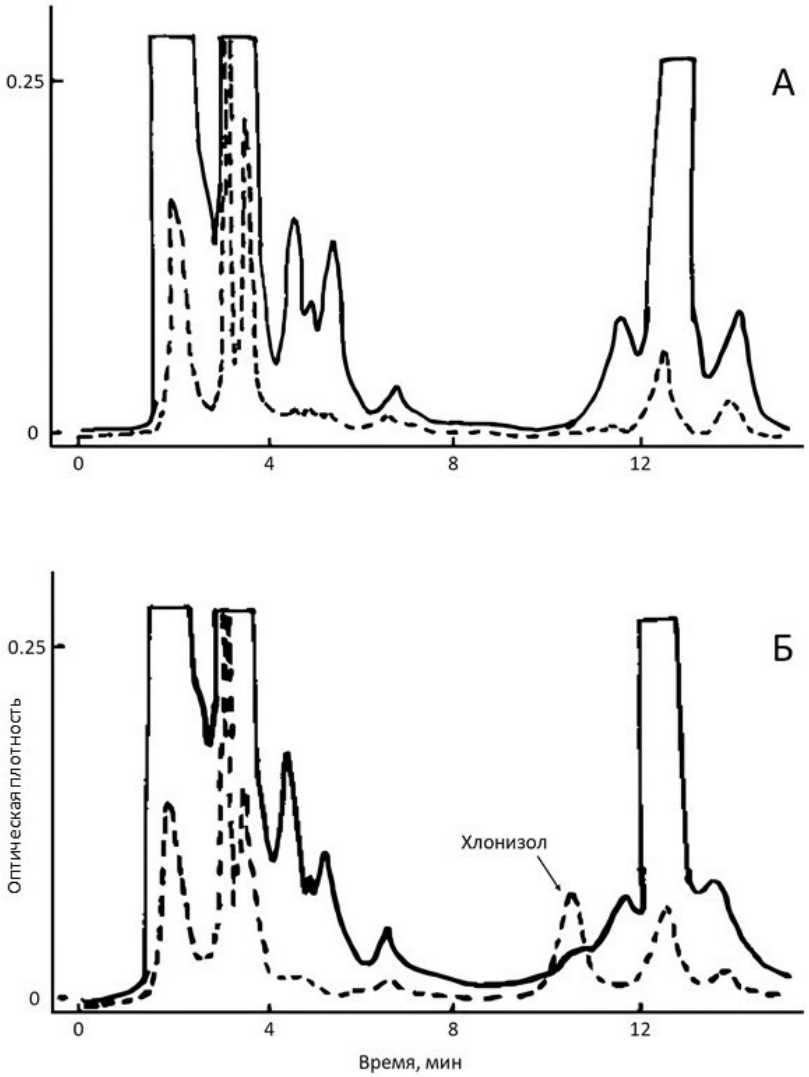

Рис. 2. Хроматограммы 25 мкл сыворотки крови крысы при двух параметрах оптической плотности (200 нм — сплошная линия и 240 нм — пунктирная линия) до введения 1 мкг хлонизола (А) и после введения препарата (Б)
Fig. 2. Chromatograms of 25 μl of rat blood serum at two optical density parameters (200 nm — solid line and 240 nm — dotted line) before administration of 1 μg of chlonisol (A) and after administration of the drug (B)

Количественное определение хлонизола в сыворотке с помощью ВЭЖХ проводили на хроматографической установке, включавшей насосы высокого давления и программатор градиента хроматографа «Цвет 3110», кран-дозатор Rheodyne 7125, хроматографическую колонку 1×50 мм с сорбентом Сепарон С-18, 5 мкм, многоволновой спектрофотометрический детектор хроматографа «Миллихром-1», регистратор-интегратор на базе ДВК 2 м. Хроматографию осуществляли в градиентном режиме. Буфер А: 50 мМ однозамещённого фосфата натрия с pH 2,5, подкисленный фосфорной кислотой. Буфер Б: смесь 100 мМ раствора однозамещённого фосфата натрия с pH 2,5 с ацетонитрилом (1:1), градиент от 5 до 50 % Б в А за 30 мин, скорость подачи 75 мкл/мин, объём пробы 25 мкл. Регистрацию проводили при двух длинах волн — 200 и 240 нм. О количестве хлонизола в пробе судили по высоте соответствующего пика при 240 нм.

Для изучение химической устойчивости хлонизола были приготовлены 0,1 % растворы этого соединения в следующих средах — 0,9 % растворе натрия хлорида, в сыворотке крови и моче. Эти пробы инкубировали при 37 °С. Через разные промежутки времени отбирали аликвоты и определяли содержание хлонизола в этих пробах. Устойчивость

хлонизола оценивалась по отношению его концентрации в данный момент времени по отношению к исходной концентрации, выраженному в процентах.

Результаты и обсуждение / Results and discussion

В предварительных опытах были отработаны оптимальные условия забора и подготовки проб для хроматографического анализа, длин волн регистрации. Сравнение хроматограмм показало, что после внутривенного введения хлонизола выявляется пик с временем удерживания 10,638 мин (длина волны 240 нм), который соответствует параметрам пика хлонизола (рис. 2). Эти результаты легли в основу количественных расчётов содержания хлонизола в сыворотке крови в различное время после внутривенного введения препарата крысам в опытах *in vivo*, а также при изучении химической устойчивости хлонизола в опытах *in vitro*. В опытах *in vivo* выявлено, что при внутривенном введении хлонизола крысам в дозе 40 мг/кг время полувыведения составило 27 минут, а полное исчезновение препарата из крови происходит в течение 2 часов (табл. 1), которое вероятно связано как с депонированием в другие органы и ткани, так и с химической деградацией.

Таблица 1

Результаты изучения содержания хлонизола в сыворотке крови крысы после внутривенного введения препарата в дозе 40 мг/кг

Table 1

The results of studying the content of chlonisol in rat blood serum after intravenous administration of the drug at a dose of 40 mg/kg

Время после введения хлонизола, мин / Time after administration of chlonisol, min	Концентрация хлонизола в сыворотке крови / The concentration of chlonisol in the blood serum	
	мкг/мл / mcg/ml	% от максимума / % of the maximum
До введения	0	0
2	36	100
30	16	44
60	11	30
90	5,3	15
120	0	0

В опытах *in vitro* по сравнительному изучению химической устойчивости выявлено, что хлонизол имеет значительную устойчивость в 0,9 % растворе натрия хлорида. Даже после 10 часов инкубации при 37 °С содержание хлонизола в пробе сохраняется на уровне 89 % (табл. 2). Достаточно высока устойчивость хлонизола была и в моче: 60 % через 1 час инкубации и 37 % — через 2 часа (табл. 3). Менее всего хлонизол устойчив в сыворотке крови: через 1 час его уровень снижается до 11 %, а через 2 часа — до 0 (табл. 4).

Таблица 2

Результаты изучения химической устойчивости хлонизола в 0,9 % растворе натрия хлорида

Table 2

The results of studying the chemical stability of chlonisol in 0.9 % sodium chloride solution

Время инкубации хлонизола при 37 °С, ч / The incubation time of chlonisol at 37 °C, hour	Концентрация хлонизола / Concentration of chlonisol	
	мкг/мл / mcg/ml	% от максимума / % of the maximum
0	1	100
5	0,95	95
10	0,89	89

Таблица 3

Результаты изучения химической устойчивости хлонизола в моче

Table 3

The results of studying the chemical stability of chlonisol in urine

Время инкубации хлонизола при 37 °С, ч / The incubation time of chlonisol at 37 °C, hour	Концентрация хлонизола / Concentration of chlonisol	
	мкг/мл / mcg/ml	% от максимума / % of the maximum
0	1	100
1	0,6	60
2	0,37	37
3	0,175	17,5
4	0,103	10,3
5	0,028	2,8

Таблица 4

Результаты изучения химической устойчивости хлонизола в сыворотке крови

Table 4

The results of studying the chemical stability of chlonisol in blood serum

Время инкубации хлонизола при 37 °С, ч / The incubation time of chlonisol at 37 °C, hour	Концентрация хлонизола / Concentration of chlonisol	
	мкг/мл / mcg/ml	% от максимума / % of the maximum
0	1	100
0,5	0,32	32
1	0,11	11
1,5	0,03	3
2	0	0

Заключение / Conclusion

При внутривенном введении хлонизола крысам в дозе 40 мг/кг его полное исчезновение из крови происходит в течение 2 часов. Из трёх изученных сред хлонизол наиболее устойчив в 0,9 % растворе натрия хлорида, менее — в моче и наименее — в сыворотке крови.

Полученные результаты позволяют сделать некоторые предположения о возможных путях применения хлонизола: 1) Высокая устойчивость хлонизола в 0,9 % растворе натрия хлорида позволит осуществлять его длительные капельные внутривенные инфузии, а также перфузионную интраартериальную химиотерапию. 2) Сохранение концентрации хлонизола в моче в течение 1 часа на уровне 60 % от исходного позволит использовать внутрипузырные инстилляции хлонизола при поверхностном раке мочевого пузыря.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Конфликт интересов
Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Участие авторов
Все авторы внесли существенный вклад в подготовку работы, прочли и одобрили финальную версию статьи перед публикацией

Финансирование
Статья опубликована по результатам исследований, финансируемых по Госзаданию Минздава Российской Федерации.

ADDITIONAL INFORMATION

Conflict of interests
The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Authors' participation
All authors made a significant contribution to the preparation of the work, read and approved the final version of the article before publication.

Funding
The article was published based on the results of research funded by the State Assignment of the Ministry of Health of the Russian Federation.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ / ABOUT THE AUTHORS

Александров Валерий Анатольевич — д. м. н., профессор, в. н. с. научной лаборатории химиопрофилактики рака и онкофармакологии ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Российская Федерация
Автор, ответственный за переписку
e-mail: alexandrov.valeri@yandex.ru
ORCID ID: https://orcid.org/0000-0002-0019-2685

Valery A. Alexandrov — Dr. Sci. (Med.), Professor, Leading Researcher, Scientific Laboratory of Cancer Chemoprevention and Oncopharmacology, N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology MOH Russia, St. Petersburg, Russian Federation
Corresponding autor
e-mail: alexandrov.valeri@yandex.ru
ORCID ID: https://orcid.org/0000-0002-0019-2685

Точильников Григорий Викторович — к. м. н., зав. научной лаборатории химиопрофилактики рака и онкофармакологии ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Российская Федерация
ORCID ID: https://orcid.org/0000-0003-4232-8170
РИНЦ SPIN-код: 4366-6930

Grigory V. Tochilnikov — PhD, Cand. Sci. (Med.), Head of the Scientific Laboratory of Cancer Chemoprevention and Oncopharmacology, N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology MOH Russia, St. Petersburg, Russian Federation
ORCID ID: https://orcid.org/0000-0003-4232-8170
RSCI SPIN code: 4366-6930

Шатик Сергей Васильевич — к. б. н., в. н. с. лаборатории радиофармацевтических технологий, зав. отделением циклотронных радиофармпрепаратов ФГБУ «РНЦРХТ им. ак. А.М. Гранова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Российская Федерация
ORCID ID: https://orcid.org/0000-0002-1718-9335

Sergey V. Shatik — PhD, Cand. Sci. (Biology), Leading Researcher Laboratory of Radiopharmaceutical Technologies, Head of the Department of Cyclotron radiopharmaceuticals, Russian Center of Radiology and Surgical Technologies named after Academician A.M. Granova MOH Russia, St. Petersburg, Russian Federation
ORCID ID: https://orcid.org/0000-0002-1718-9335

Стуков Александр Николаевич — д. м. н., с. н. с. научного отдела инновационных методов терапевтической онкологии и реабилитации ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Российская Федерация
ORCID ID: https://orcid.org/0000-0002-1741-6630
РИНЦ SPIN-код: 4652-8674

Alexander N. Stukov — Dr. Sci. (Med.), Senior Research Scientist, Department of Innovative methods of Therapeutic Oncology and Rehabilitation, N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology MOH Russia, St. Petersburg, Russian Federation
ORCID ID: https://orcid.org/0000-0002-1741-6630
RSCI SPIN code: 4652-8674

Беляева Олеся Александровна — к. б. н., с. н. с. научной лаборатории химиопрофилактики рака и онкофармакологии ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Российская Федерация
ORCID ID: https://orcid.org/0009-0004-2201-5796

Olesya A. Beljaeva — PhD, Cand. Sci. (Biology), Senior Research Scientist, Scientific Laboratory of Cancer Chemoprevention and Oncopharmacology, N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology MOH Russia, St. Petersburg, Russian Federation
ORCID ID: https://orcid.org/0009-0004-2201-5796

Башкатова Елизавета Владимировна — м. н. с. научной лаборатории химиопрофилактики рака и онкофармакологии ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Российская Федерация
ORCID ID: https://orcid.org/0009-0009-4728-6556
РИНЦ SPIN-код: 6152-7587

Elizaveta V. Bashkatova — Junior Research Scientist, Scientific Laboratory of Cancer Chemoprevention and Oncopharmacology, N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology MOH Russia, St. Petersburg, Russian Federation
ORCID ID: https://orcid.org/0009-0009-4728-6556
RSCI SPIN code: 6152-7587

Дранишников Владислав Георгиевич — лаборант-исследователь научной лаборатории химиопрофилактики рака и онкофармакологии, аспирант, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Российская Федерация
ORCID ID: https://orcid.org/0009-0002-5121-0561
РИНЦ SPIN-код: 7496-6734

Vladislav G. Dranishnikov — Laboratory assistant Researcher at the Scientific Laboratory of Cancer Chemoprophylaxis and Oncopharmacology, postgraduate student, N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology MOH Russia, St. Petersburg, Russian Federation
ORCID ID: https://orcid.org/0009-0002-5121-0561
RSCI SPIN code: 7496-6734

Семиглазова Татьяна Юрьевна — д. м. н., профессор, в. н. с. научного отдела инновационных методов терапевтической онкологии и реабилитации, заведующая научным отделом инновационных методов терапевтической онкологии и реабилитацииФГБУ«НМИЦонкологииим.Н.Н.Петрова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Российская Федерация
ORCID ID: https://orcid.org/0000-0002-4305-6691
РИНЦ SPIN-код: 9773-3759

Tatiana Yu. Semiglazova — Dr. Sci. (Med.), professor, Leading researcher, Scientific Department of Innovative methods of Therapeutic oncology and Rehabilitation, Head of the Scientific Department of Innovative methods of Therapeutic oncology and Rehabilitation, N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology MOH Russia, St. Petersburg, Russian Federation
ORCID ID: https://orcid.org/0000-0002-4305-6691
RSCI SPIN code: 9773-3759

Список литературы / References

1. Стуков А.Н., Есиков К.А., Усманова Л.М. и др. Способ синтеза 2-[3-(2-хлорэтил)-3-нитрозоуреидо]-1,3-пропандиола, обладающего противоопухолевой активностью. Патент на изобретение RU 2678846 C1, 04.02.2019. Заявка № 2018140004 от 12.11.2018. [Stukov AN, Esikov KA, Usmanova LM, et al. Method of synthesis 2-[3-(2-chlorethyl)-3-nitrosoureido]-1,3-propane-diol owned with antitumor activity. RU 2678846 C1, 04.02.2019. Application No. 2018140004 12.11.2018. (In Russ.)].

2. Stukov AN, Esikov KA, Usmanova LM, et al. Synthesis and antitumor activity of 2-[3-(2-chloroethy)-3-nitrosoureido] -1,3-propanediol (chlonisol). *Pharmaceutical Chemistry Journal.* 2020;54(6):579-581. doi: 10.1007/s11094-020-02242-7.

3. Александров В.А., Стуков А.И., Змитриченко Ю.Г., Точильников Г.В. Противоопухолевое действие 2-[3-(2-хлорэтил)-3-нитрозоуреидо]-1,3-пропандиола (хлонизола) на рост спонтанных опухолей молочной железы у HER-2/neu трансгенных мышей. *Сибирский онкологический журнал*. 2023;22(3):76-82 [Alexandrov VA, Stukov AN, Zmitrichenko YuG, Tochilnikov GV. The antitumor effect of 2-[3-(2-chloroethyl)-3-nitrosoureido]-1,3-propanediol (chlonisol) on the growth of spontaneous mammary tumors in HER-2/neu transgenic mice. *Siberian journal of oncology.* 2023;22(3):76-82. (In Russ.)]. doi: 10.21294/1814-4861-2023-22-3-76-82.

4. Муразов Я.Г., Стуков А.Н., Змитриченко Ю.Г., Точильников Г.В. Влияние отечественного противоопухолевого соединения из класса нитрозоалкилмочевин хлонизола на общую выживаемость лабораторных грызунов с интракраниальными опухолями: метаанализ результатов доклинических исследований. *Лабораторные животные для научных исследований*. 2022;5(2):45-51. [Murazov YaG, Stukov AN, Zmitrichenko IuG, Tochilnikov GV. The effect of the domestic antitumor compound chlonisol from the class of nitrosoalkylureas on the overall survival of laboratory rodents with intracranial tumors: a meta-analysis of preclinical studies. *Laboratory Animals for Science*. 2022;5(2):45-51. (In Russ.)]. doi: 10.29296/2618723X-2022-02-05.