

Л. Х. Файзуллина (к.х.н., доц., с.н.с.)¹, Ю. А. Халилова (к.х.н., с.н.с.)¹,
А. Д. Бадикова (д.х.н., проф., зав.каф.)², А. С. Рябова (к.б.н., н.с.)³,
Н. Ф. Галимзянова (к.б.н., зав.лаб.)³, З. А. Валиуллина (асс.)⁴,
А. В. Самородов (д.м.н., проф., зав. каф.)⁴

БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ α -ДИЕНОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ЦИРЕНА

¹ Уфимский институт химии РАН, лаборатория фармакофорных циклических систем
450054, г. Уфа, пр. Октября, 71; e-mail: sinvmet@anrb.ru

² Уфимский государственный нефтяной технический университет,
кафедра физической и органической химии
450064, г. Уфа, ул. Космонавтов, 1; e-mail: badikova_albina@mail.ru

³ Уфимский институт биологии РАН, лаборатория прикладной микробиологии
450054, г. Уфа, пр. Октября, 69; e-mail: alena.ryab2013@yandex.ru

⁴ Башкирский государственный медицинский университет,
кафедра фармакологии с курсом клинической фармакологии
450008, г. Уфа, ул. Ленина, 3; e-mail: AVSamorodov@gmail.com

L. Kh. Faizullina¹, Yu. A. Khalilova¹, A. D. Badikova², A. S. Ryabova³,
N. F. Galimzyanova³, Z. A. Valiullina⁴, A. V. Samorodov⁴

BIOLOGICAL ACTIVITY OF α -DIENE DERIVATIVES OF CYRENE

¹ Ufa Institute of Chemistry, Russian Academy of Sciences
71, Prospekt Oktyabrya Str., 450054, Ufa, Russia; e-mail: sinvmet@anrb.ru

² Ufa State Petroleum Technological University
1, Kosmonavtov Str., 450064, Ufa, Russia; e-mail: badikova_albina@mail.ru

³ Ufa Institute of Biology of the Russian Academy of Sciences
69, Prospekt Oktyabrya Str., 450054, Ufa, Russia; e-mail: sinvmet@anrb.ru

⁴ Bashkir State Medical University
3, Lenina Str., 450008, Ufa, Russia; e-mail: AVSamorodov@gmail.com

Большинство природных соединений, проявляющие широкий диапазон биологической активности, содержат в своей структуре сопряженную еноновую систему. Следуя в направлении поиска биологически активных соединений, обладающих диеноновой системой, нами на основе дигидролевоглукозенона (цирена) получены еноны с изолированными и сопряженными двойными связями. Изучены *in vitro* цитотоксическая, фунгицидная, бактерицидная, антикоагулянтная, антиагрегатная активности синтезированных производных цирена. Обнаружено, что 1,6-ангидро-3,4-дидезокси- α -D-глицеро-гекс-3-(E)-бут-2-енолидин)-пираноз-2-улоза, полученная в одну стадию в результате взаимодействия цирена и кротоналя, проявила цитотоксические, фунгицидные, бактериостатические и антиагрегационные свойства.

Most natural compounds exhibiting a wide range of biological activities contain a conjugated enone system in their structure. Following the search for biologically active compounds with a dienone system, we obtained enones with isolated and conjugated double bonds based on dihydrolevoglucosenone (cyrene). The cytotoxic, fungicidal, bactericidal, anticoagulant, and antiaggregant activities of the synthesized cyrene derivatives were studied *in vitro*. It was found that 1,6-anhydro-3,4-dideoxy- α -D-glycero-hex-3-(E)-but-2-enolidine)-pyranose-2-ulose, obtained in one step as a result of the reaction of cyrene and crotonal, exhibited cytotoxic, fungicidal, bacteriostatic and antiaggregation properties.

Дата поступления 27.03.23

Ключевые слова: антиагрегантная активность; антикоагуляционная активность; дигидролевоглюкозенон; левоглюкозенон; фунгицидная активность; цирен.

Работа выполнена по темам госзадания №122031400259-1, №122031100163-4 и №121112500379-2.

Спектры ЯМР записаны на оборудовании ЦКП «Химия» УФИХ РАН. Авторы благодарят Национальный институт рака США за определение цитотоксической активности *in vitro* соединений.

Большинство природных соединений, проявляющих широкий диапазон биологической активности, содержат в своей структуре сопряженную еноновую систему (рис. 1). Например, пиперин – основной алкалоид черного перца обладает противомикробными, противовоспалительными, противовирусными действиями ¹, лактон (–)-A26771B, выделенный впервые из гриба *Penicillium turbatum*, проявляет умеренную биологическую активность против грамположительных бактерий, микоплазм и грибов ². Антибиотическими, цитотоксическими и противогрибковыми свойствами обладают лактоны: ризоксин-D ³, радикикол ⁴, роксатицин ⁵. Содержащий 6 сопря-

Key words: anticoagulant activity; antiplatelet activity; cyren; dihydrolevoglucosenone; enon; fungicidal activity; levoglucosenone.

The work was carried out on the topics of state assignment No.122031400259-1, No.122031100163-4 and No.121112500379-2.

NMR spectra were recorded on the equipment of the Shared Use Center «Khimiya» of the Ufa Institute of Chemistry of RAS. The authors thank the US National Cancer Institute for determining the *in vitro* cytotoxic activity of the compounds.

женных двойных связей ретиналь обеспечивает процессы свето- и цветовосприятия ⁶.

Следуя в направлении поиска биологически активных соединений, обладающих диеноновой системой, ранее нами на основе цирена был разработан способ получения двух енонов с изолированными и сопряженными двойными связями. Эти соединения, 1,6-ангидро-3,4-дидезокси- α -D-глицеро-гекс-3-(E)-бут-2-енолидин)-пираноз-2-улоза (**3**), и 1,6-ангидро-3,4-дидезокси- α -D-глицеро-гекс-3,3-диаллилпираноз-2-улоза (**4**) синтезированы в результате реакции цирена **1** с кротоналем и бромистым алилом соответственно ⁷ (схема 1).

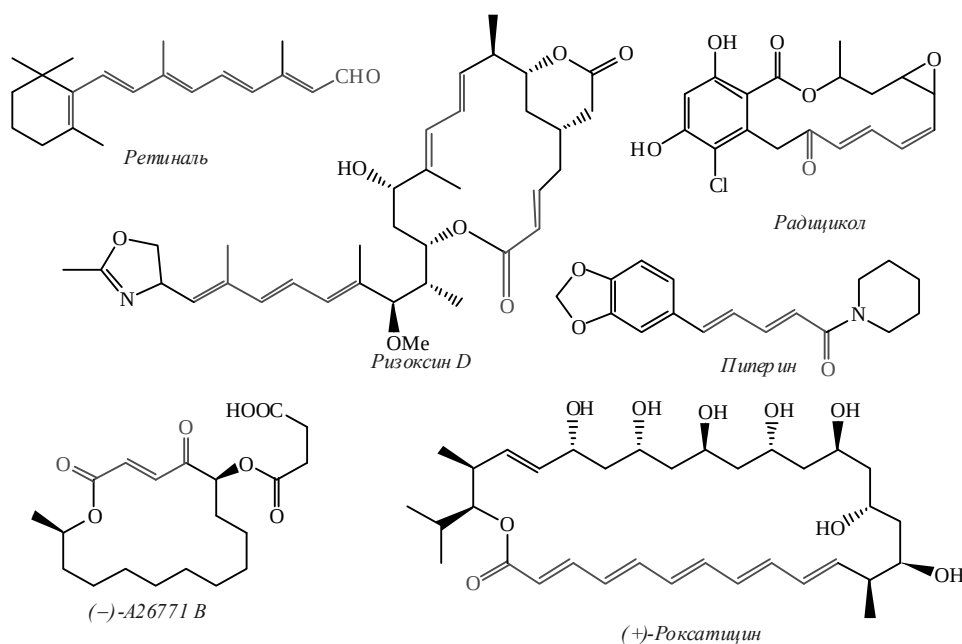


Рис. 1. Природные соединения с сопряженной еноновой структурой

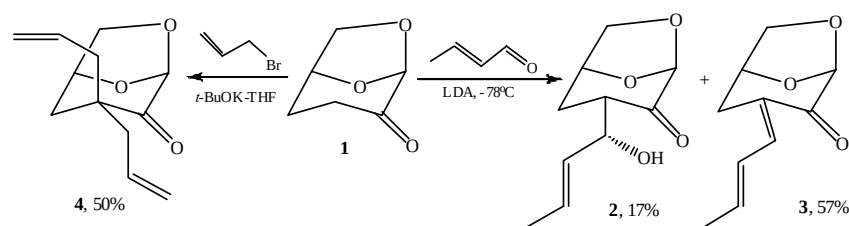


Схема 1

Полученные диеноны **3** и **4** протестированы *in vitro* на наличие цитотоксической, фунгицидной, бактерицидной, антикоагулянтной, антиагрегатной активностей.

Материалы и методы исследования

Цитотоксическая активность соединений **3** и **4**

Экспериментальное исследование цитотоксической активности против опухолевых клеток-мишеней *in vitro* соединений **3** и **4** проведено в Национальном институте рака (NCI) США в рамках соглашения между УФИХ РАН и NCI. Цитотоксическая активность против опухолевых клеток-мишеней указанных соединений изучена по отношению к клеткам 60 линий 9 различных опухолей человека (легкого, толстой кишки, центральной нервной системы, яичника, почки, простаты, головного мозга, лейкоза, меланомы) в соответствии с системой скрининга противоопухолевых

веществ, описанной в работах⁸⁻¹¹. При первичном тестировании клетки культивировали в присутствии испытуемых соединений в концентрации 100 мкМ в течение 48 ч. После этого колориметрическим методом оценивали рост клеток, обработанных испытуемыми веществами, по сравнению с необработанными контрольными клетками, окрашивая жизнеспособные клетки сульфородамино В. В соответствии с критерием, принятым в NCI, вещества считаются активными в случае, если они ингибируют рост опухолевых клеток до 32% от контроля или вызывают их гибель. Результаты тестирования соединений **3** и **4** в отношении 60 клеточных линий представлены в табл. 1.

Фунгистатическая и бактериостатическая активности соединений **3** и **4**

Оценку фунгицидной (по отношению к *Bipolaris sorokiniana*, *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani*) и противобактериальной (по

Таблица 1

Цитотоксическая активность соединений **3** и **4**

Линия клеток	Процент роста через 48 ч	
	3	4
Лейкемия		
CCRF-CEM	78.93*	94.55
HL-60(TB)	99.81	-
K-562	56.75	-
MOLT-4	90.38	-
RPMI-8226	95.40	108.51
SR	53.10	-
Немелкоклеточный рак легкого		
A549/ATCC	98.22	100.47
EKVX	102.87	96.98
HOP-62	96.86	92.95
HOP-92	96.45	109.72
NCI-H226	94.92	101.57
NCI-H23	93.91	102.38
NCI-H322M	93.72	97.59
NCI-H460	104.25	123.15
NCI-H522	95.56	93.08
Рак толстой кишки		
COLO 205	116.69	116.25
HCC-2998	114.02	109.94
HCT-116	82.27	10.45
HCT-15	80.81	97.49
HT29	107.84	96.50
KM-12	102.64	115.39
SW-620	69.07	123.86
Рак центральной нервной системы		
SF-268	104.87	111.04
SF-295	106.38	96.56
SF-539	101.54	92.01
SNB-19	95.63	93.71
SNB-75	106.42	119.45
U251	97.42	102.87
Рак простаты		
PC-3	96.45	97.35
DU-145	106.21	118.57

*За 100% принят рост контрольных клеток.

Линия клеток	Процент роста через 48 ч	
	3	4
Меланома		
LOX IMVI	49.31	94.18
MALME-3M	102.31	92.32
M14	85.39	113.93
MDA-MB-435	101.28	105.45
SK-MEL-2	100.29	103.46
SK-MEL-28	104.20	102.97
SK-MEL-5	98.47	98.76
UACC-257	90.85	100.36
UACC-62	89.51	95.31
Рак яичника		
IGROV1	97.70	102.98
OVCAR-3	99.10	122.10
OVCAR-4	100.89	105.12
OVCAR-5	102.94	93.76
OVCAR-8	99.74	107.79
NCI/ADR-RES	98.06	98.87
SK-OV-3	102.66	88.81
Рак почки		
786-0	101.97	99.30
A498	102.88	114.06
ACHN	102.80	107.85
CAKI-1	97.96	95.34
RXF 393	104.35	97.34
SN12C	100.18	96.71
TK-10	107.86	91.13
UO-31	88.24	86.51
Рак молочной железы		
MCF 7	67.08	96.85
MDA-MB-	105.28	96.61
HS578T	107.03	108.05
BT-549	126.97	105.32
T-47D	98.40	92.69
MDA-MB-468	103.32	92.46

Таблица 2

Фунгистатическая активность соединений 3 и 4
(диаметр зоны подавления развития грибов, мм, 7 суток инкубирования)

Вещество	<i>R. solani</i>	<i>B. sorokiniana</i>	<i>F. oxysporum</i>
Соединение 3	33.1 ± 5.0*	Нет влияния	Нет влияния
Соединение 4	17.0 ± 5.3	Нет влияния	Нет влияния
Контроль	Формирование хламидоспор	Спорообразование	Спорообразование

* – формирование депигментированного мицелия, хламидоспоры отсутствуют МИК=0.5%.

Таблица 3

Бактериостатическая активность соединений 3 и 4

Вещество	<i>P. mandelii</i>	<i>P. extremaustralis</i>	<i>B. atrophaeus</i>	<i>B. subtilis</i>
Соединение 3	14.0 ± 1.3*	16.0 ± 0.6	15.5 ± 1.2	17.5 ± 2.9
Соединение 4	Нет влияния	Нет влияния	Нет влияния	Нет влияния
Контроль	Нормальное развитие	Нормальное развитие	Нормальное развитие	Нормальное развитие

* – зона подавления роста, мм

отношению к *Bacillus subtilis*, *B. atrophaeus*, *Pseudomonas mandelii*, *P. extremaustralis*) активностям соединений 3 и 4 проводили методом диффузии в агар (1). Поверхность питательной среды (картофельно-глюкозный агар для микромицетов, мясопептонный агар для бактерий), засеивали суспензией тест-культур грибов или бактерий титром 10^4 КОЕ/мл. Затем в среде вырезали лунку диаметром 10 мм, в которую помещали 100 мкл испытываемых растворов. Активность оценивали по диаметру зоны подавления роста микроорганизмов, а также наблюдая за развитием тест-культур с использованием светового микроскопа LeicaDM 1000 при 10-тикратном увеличении. Повторность трехкратная. Время инкубации 7 сут при 28 °С. Контролем служило развитие микроорганизмов на питательной среде без внесения соединений. Результаты представлены в табл. 2 и 3.

Антиагрегантная и антикоагулянтная активности соединений 3 и 4

Ранее ¹² нами была обнаружены антиагрегантная и антикоагулянтная активности цирена 1 и некоторых производных левоглюкозенона. С целью выявления отдельных аспектов взаимосвязи структура–активность, в продолжение исследований была изучена антиагрегантная и антикоагулянтная активность соединений 3 и 4.

Эксперименты выполнены в соответствии с рекомендациями, содержащимися в ¹³.

Оценку антиагрегантной и антикоагулянтной активности проводили в условиях *in vitro* на крови 38 здоровых доноров-мужчин в возрасте 18–24 лет. Исследование одобрено этическим комитетом ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России (№1 от 20.02.2019). Информированное согла-

сие было получено у всех участников исследования до забора крови.

Влияние соединений на агрегацию тромбоцитов изучали по методу ¹⁴ на агрегометре «АТ-02» (НПФ «Медтех», Россия). Антиагрегантную активность исследуемых веществ и препаратов сравнения оценивали в конечной концентрации $2 \cdot 10^{-3}$ моль/л при инкубации в течение 5 мин. В качестве индукторов агрегации использовали адезиндифосфат (АДФ) в концентрации 20 мкг/мл и коллаген в концентрации 5 мг/мл («Технология-Стандарт», Россия). Изучали влияние соединений на максимальную амплитуду агрегации (МА), скорость агрегации и время достижения МА при агрегации тромбоцитов, индуцированной АДФ. В качестве препаратов сравнения использовали ацетилсалициловую кислоту (субстанция-порошок, Шандонг Ксинхуа Фармасьютикал Ко. ЛТД, Китай).

Определение антикоагулянтной активности проводили клоттинговыми тестами на турбидиметрическом гемокоагулометре Solar CGL 2110 (ЗАО «СОЛАР», Беларусь), конечная концентрация исследуемых веществ и препарата сравнения составила $5 \cdot 10^{-4}$ г/мл. Изучали показатели активированного парциального тромбопластинового времени (АПТВ), протромбинового времени (ПВ) и концентрации фибриногена по A. Clauss. В качестве препарата сравнения использовали гепарин натрия (гепарин натрия, 5000 МЕ/мл раствор для инъекций, ампулы 1 мл, ОАО «Синтез», РФ).

Статистический анализ проводили с помощью пакета программ Statistica 10,0 (StatSoft Inc, США). Проверку на нормальность распределения выполняли с помощью критерия Шапиро-Уилка. Для описания вариационных рядов рассчитывали медиану, 25 и 75 % или минимум и максимум зна-

Антиагрегантная и антикоагулянтная активности соединений **3** и **4**

№	Шифр	Максимальная амплитуда, % к контролю	Скорость агрегации, % к контролю	Удлинение АПТВ, % к контролю
1	1	-4.7 (3.2–6.7)*. #	+2.7 (2.1–3.3) ^{##}	+3.4 (3.2–4.6) [†]
2	3	-11.2 (8.9–13.7)*. ††	-15.4 (13.9–17.2)*. †. #	+ 8.3 (7.4–10.6)*
3	4	-9.7 (7.5–10.5)*. ††	-4.7 (4.2–5.6) ^{††. #}	+ 4.9 (3.5–6.7) [†]
4	Ацетилсалициловая кислота	-13.7 (10.8–16.4)*	-10.5 (7.6–12.3)*	-
5	Гепарин натрия	-	-	+20.3 (19.7–21.4)*

Примечание: * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.001$ – в сравнении с контролем; # $p \leq 0.05$, ## $p \leq 0.001$ – в сравнении с ацетилсалициловой кислотой. † $p > 0.05$ – в сравнении с контролем; соединения *vs* гепарин натрия при $p \leq 0.05$. $n=6$. Влияние соединений и препаратов сравнения на показатели агрегации тромбоцитов и АПТВ, Me (0.25–0.75).

чений. Проводили однофакторный дисперсионный анализ (если совокупность данных подчинялась законам нормального распределения и дисперсии всех выборок были равны; F -критерий), или тест Краскела-Уоллиса (если совокупность данных не подчинялась законам нормального распределения; H -критерий). Критический уровень значимости p для статистических критериев принимали равным 0.05.

Результаты и их обсуждение

Приведенные в табл. 1 данные демонстрируют, что диенон **3** проявил умеренные цитотоксические свойства. Так, это соединение подавляло рост клеток К-562 (лейкемии) на 43%, SR (лейкемии) на 47%, SW-620 (толстой кишки) на 31% LOX IMVI (меланомы) на 51% и MCF7 (груды) на 33%, в то время как диаллил **4** усиливал пролиферацию клеток NCI-H460 (немелкоклеточного рака легкого) на 23%, SW-620 (толстой кишки) на 24%, OVCAR-3 (яичника) на 22%. Следует отметить, что среди производных левоглокозенона впервые выявлено соединение-лидер – диенон **3**, подавляющий рост раковых клеток более чем на 50%.

Из табл. 2 и 3 следует, что диаллил **4** проявил лишь фунгистатическое действие по отношению к *R. solani*, тогда как соединение **3** проявляло фунгицидное действие в отношении этого вида грибов и, кроме того, оказывало противобактериальное действие, выраженное в подавлении роста грамположи-

тельных (*Bacillus subtilis*, *Bacillus atrophaeus*) и грамотрицательных (*Pseudomonas mandelii*, *Pseudomonas extremaustralis*) бактерий. Диаллил **4** не оказывал влияние на рост перечисленных бактерий.

Оба тестируемых соединения показали влияние различной степени выраженности на плазменный компонент системы гемостаза, проявляющееся изменением показателя внутреннего пути свертывания крови – АПТВ. Данные соединения в указанной концентрации не влияли на показатель концентрации фибриногена и ПВ. Установлено, что соединения **3** и **4** снижали максимальную амплитуду агрегации на уровне ацетилсалициловой кислоты, что превосходит показатели антиагрегационной активности соединения **1** (табл. 4). Следует отметить, что соединение **3** эффективнее ацетилсалициловой кислоты на 53.1% а соединение **4** в 3.7 раза сокращает скорость агрегации тромбоцитов, что свидетельствует о их потенциально высокой антиагрегантной активности. Соединение **1** влияния на значение скорости агрегации тромбоцитов не оказало.

Таким образом, 1,6-ангидро-3,4-дидезокси- α -D-глицеро-гекс-3-(*E*)-бут-2-енолидин)-пираноз-2-улоза **3**, полученная в одну стадию в результате взаимодействия цирена и кротоналя, проявила цитотоксические, фунгицидные, бактериостатические и антиагрегационные свойства, перспективные для дальнейшего изучения взаимосвязи структура-активность в этом ряду соединений.

Литература

1. Ia-U. Haq, Imran M., Nadeem M., Tufail T., Gondal T.A., Mubarak M.S. Piperine: A review of its biological effects // *Phytotherapy Res.*– 2021.– V.35, №2.– Pp.553-1124.
2. Michel K. H., Chaney M. O., Jones N. D., Hoehn M. M., Nagarajan R. Epipolythiopiperazinedione antibiotics from *Penicillium turbatum* // *J. Antibiotics.*– 1974.– V.27.– Pp.57-64.
3. Karier P., Ungeheuer F., Ahlers A., Anderl F., Wille C., Furstner A. Metathesis at an implausible site: A formal total synthesis of Rhizoxin D // *Angew. Chem. Int. Ed.*– 2019.– V.58.– Pp.248-253.
4. Roe S.M., Prodromou Ch., O'Brien R., Ladbury J.E., Piper P.W., Pearl L. Structural basis for inhibition of the Hsp90 molecular chaperone by the antitumor antibiotics Radicicol and Geldanamycin // *J. Med. Chem.*–1999.– V.42, №2.– Pp.260-266.
5. Evans D. A., Connell B. T. Synthesis of the antifungal macrolide antibiotic (+)-roxaticin // *J. Am. Chem. Soc.*– 2003.– V.125, №36.– Pp.10899-10905.
6. Torborg Ch. L., Feller M. B. Spontaneous patterned retinal activity and the refinement of retinal projections // *Progress in Neurobiology.*– 2005.– V.76, №4.– Pp.213-235.
7. Файзуллина Л.Х., Халилова Ю.А., Бадикова А.Д., Салихов Ш.М., Валеев Ф.А. Особенности присоединения кротоналя и бромистого аллила к цирену / / Баш. хим. ж. – 2021.– Т.28, №4.– С.28-30.
8. Alley M.C., Scudiero D.A., Monks P.A., Hursey M.L., Czerwinski M.J., Fine D.L., Abbott B.J., Mayo J.G., Shoemaker R.H., Boyd M.R. Feasibility of drug screening with panels of human tumor cell lines using a microculture tetrazolium assay // *Cancer Res.*– 1988.– V.48.– Pp.589-601.
9. Grever M.R., Schepartz S.A., Chabner B.A. The National Cancer Institute: Cancer drug discovery and development program // *Seminars in Oncology.*– 1992.– V.19.– Pp.622-638.
10. Boyd M.R., Paull K.D. Some practical considerations and applications of the National Cancer Institute *in vitro* anticancer drug discovery screen // *Drug Dev. Res.*– 1995.– V.34.– Pp.91-109.
11. Shoemaker R.H. The NCI60 human tumour cell line anticancer drug screen // *Nature Rev.*– 2006.– V.6.– Pp.813-823.
12. Faizullina L.Kh., Khalilova Yu.A., Valeev F.A., Pavlov V.N., Samorodov A.V. Preparation of the adduct of levoglucosenone and resorcinol and its *in vitro* antiplatelet and anticoagulant activity // *Chemistry of heterocyclic compounds.*– 2021.– V.57, №9.– Pp.966-969.
13. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч.1.– М.: Гриф и К, 2012.– 944 с.
14. Born G. V. R. Quantitative Investigations into the Aggregation of Blood Platelets // *J. Physiol.*– 1962.– V.162.– Pp.67-68.

References

1. Ia-U. Haq, Imran M., Nadeem M., Tufail T., Gondal T.A., Mubarak M.S. [Piperine: A review of its biological effects]. *Phytotherapy Res.*, 2021, vol.35, no.2, pp.553-1124.
2. Michel K. H., Chaney M. O., Jones N. D., Hoehn M. M., Nagarajan R. [Epipolythiopiperazinedione antibiotics from *penicillium turbatum*]. *J. Antibiotics*, 1974, vol.27, pp.57-64.
3. Karier P., Ungeheuer F., Ahlers A., Anderl F., Wille C., Furstner A. [Metathesis at an implausible site: A formal total synthesis of Rhizoxin D]. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2019, vol.58, pp.248-253.
4. Roe S.M., Prodromou Ch., O'Brien R., Ladbury J.E., Piper P.W., Pearl L. [Structural basis for inhibition of the Hsp90 molecular chaperone by the antitumor antibiotics Radicicol and Geldanamycin]. *J. Med. Chem.*, 1999, vol.42, no.2, pp.260-266.
5. Evans D. A., Connell B. T. [Synthesis of the antifungal macrolide antibiotic (+)-roxaticin]. *J. Am. Chem. Soc.*, 2003, vol.125, no.36, pp.10899-10905.
6. Torborg Ch. L., Feller M. B. [Spontaneous patterned retinal activity and the refinement of retinal projections]. *Progress in Neurobiology*, 2005, vol.76, no.4, pp.213-235.
7. Fayzullina L.Kh., Khalilova Yu.A., Badikova A.D., Salikhov Sh.M., Valeev F.A. *Osobennosti prisoyedineniya krotionalya i bromistogo allila k tsirenu* [Features of the addition of crotonal and allyl bromide to cyrene]. *Bashkirskii khimicheskii zhurnal* [Bashkir Chemical Journal], 2021, vol.28, no.4, pp.28-30.
8. Alley M.C., Scudiero D.A., Monks P.A., Hursey M.L., Czerwinski M.J., Fine D.L., Abbott B.J., Mayo J.G., Shoemaker R.H., Boyd M.R. [Feasibility of drug screening with panels of human tumor cell lines using a microculture tetrazolium assay]. *Cancer Res.*, 1988, vol.48, pp.589-601.
9. Grever M.R., Schepartz S.A., Chabner B.A. [The National Cancer Institute: Cancer drug discovery and development program]. *Seminars in Oncology*, 1992, vol.19, pp.622-638.
10. Boyd M.R., Paull K.D. [Some practical considerations and applications of the National Cancer Institute *in vitro* anticancer drug discovery screen]. *Drug Dev. Res.*, 1995, vol.34, pp.91-109.
11. Shoemaker R.H. [The NCI60 human tumour cell line anticancer drug screen]. *Nature Rev.*, 2006, vol.6, pp.813-823.
12. Faizullina L.Kh., Khalilova Yu.A., Valeev F.A., Pavlov V.N., Samorodov A.V. [Preparation of the adduct of levoglucosenone and resorcinol and its *in vitro* antiplatelet and anticoagulant activity]. *Chemistry of heterocyclic compounds*, 2021, vol.57, no.9, pp.966-969.
13. *Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennykh sredstv. Ch.1* [Guidelines for conducting preclinical studies of drugs. Part 1]. Moscow, Grif i K Publ., 2012, 944 p.
14. Born G. V. R. [Quantitative Investigations into the Aggregation of Blood Platelets]. *J. Physiol.*, 1962, vol.162, pp.67-68.