

AKADEMIJA NAUKA I UMJETNOSTI BOSNE I HERCEGOVINE

RADOVI

KNJIGA XXXIV

ODJELJENJE MEDICINSKIH NAUKA

Knjiga 13.

Urednik

PAVEL ŠTERN,

redovni član Akademije nauka i umjetnosti
Bosne i Hercegovine



SARAJEVO

1967

PAVAO ŠTERN I RAJKO IGIĆ

**DJELOVANJE TRICIJANO-2-AMINO-1-PROPENA
I Na-FERICIJANIDA NA TRANSPLANTABILNE MALIGNNE
TUMORE ŽIVOTINJA*)**

(Primljeno na sjednici Odjeljenja medicinskih nauka 20. XI 1968. g.)

Hyden i Hertelius našli su da malono-di-nitril povećava količinu nukleoproteina u nervnim stanicama¹. Kasnije su Egyhazy i Hyden² korigirali to mišljenje i pokazali da nije malono-di-nitril ona supstanca koja tako djeluje, nego tricijano-2-amino-1-propen (TAP) jedno onečišćenje, koje dolazi u malono-di-nitrilu, a predstavlja njegov dimer. Davanzo i saradnici³ mogli su potvrditi nalaze Egyhazy i Hydena, a i neki naši pokusi govore u tom smislu⁴.

Iz tih razloga smatrali smo da bi bilo interesantno ispitati efekt TAP-a na rast malignih ćelija. Posve spekulativno promatrano, moglo se očekivati da bi TAP mogao ubrzati rast tumora zbog sinteze nukleinskih kiselina, ali je isto tako postojala mogućnost da se pokaže i suprotan efekt ovog spoja. Osim toga, smatrali smo interesantnim ispitati i druge supstance kemijski srodne TAP-u, polazeći od osnovne pretpostavke da bi se među njima možda moglo naći spojeva koji ubrzavaju ili inhibiraju rast malignih stanica.

Promatrajući sa posve fundamentalnog stanovišta, interesantne su i supstance koje su u stanju ubrzati rast tumora, jer mogu poslužiti kao model za ispitivanje antitumornog djelovanja drugih supstanci.

Nas je interesiralo, osim toga, i djelovanje TAP-a i njegovih srodnika u kombinaciji sa već poznatim citostaticima za koje znamo da utiču na rast tumora preko djelovanja nukleinskih kiselina. I tu se, naime, može očekivati i inhibitorno ili pojačano djelovanje citostatika, što bi moglo doprinijeti boljem razumijevanju farmakodinamike nekih citostatika. Mi smo se, uglavnom, služili ciklofosfamidom (C), jednim dobro poznatim sredstvom protiv malignih tumora⁵.

Za TAP je potrebno naglasiti da se već uspješno upotrebljava u humanoj terapiji kao sredstvo kod hipertiroidizma⁶. Prema tome, mogli bismo bez straha ovu supstancu, ukoliko bi eksperimenti pokazali upotrebu, ispitati na klinici. Kako smo već u početku rekli, ispitivali smo

*) Materijalna sredstva za ovaj rad dobivena su od Saveznog fonda SFRJ, a dijelom i od Akademije nauka i umjetnosti BiH.

i druge supstance slične TAP-u. Ta se srodnost odnosila samo na cijanske grupe. Iz tih razloga uzeli smo prvenstveno u razmatranje natrijum-nitro-fericijanid (NNP), jednu supstancu koja je također bogata CN-skupinama, ali koja se, isto kao i TAP, već upotrebljava u terapeutske svrhe kod ljudi⁷. Tako je, npr., NNP, prema Page⁸, najbolje hipotenzivno sredstvo, iako se, mora se priznati, vrlo malo upotrebljava. Međutim, razlozi su više ekonomski nego medicinski.

Osim TAP-a, ispitali smo i njegove srodnike:

- I. 3,4-dihidroksukumarin-4-amid cijansirćetna kiselina
- II. 3,4-dihidroesketin-4-amid cijansirćetna kiselina
- III. 3,4-dihidroesketin-4-/1'3'3'-trician-aminopropen*)

Osim toga, ispitali smo sam malono-di-nitril.

Od hemijskih srodnih spojeva NNP-a ispitali smo natrijum fericijanid i natrijum fericijanid, koji za razliku od NNP-a nemaju u molekuli nitro-skupinu, ali imaju cijano-skupine.

Mi smo se u našem radu služili Ehrlichovim ascites karcinomom (EAK)⁹ i Yoshida-ascites sarkomom (YAS)¹⁰. Isto tako, upotrijebili smo mišju limfatičku leukemiju LY 1210¹¹ i Shay mieloičku leukemiju štakora¹², kao i limfatičnu leumeiju miša NK Ly¹³.

Ascites smo preferirali u odnosu na solidni tumor zato što smo na taj način uvijek mogli presaditi poznati broj malignih stanica. Osim toga, pokazalo se da ascites mnogo pravilnije raste nego solidni tumor i da je vrijeme uginjavanja životinja mnogo ravnomjernije nego kod solidnih tumora. Presađivanje svih tumora vršili smo uvijek pod maksimalno mogućim sterilnim uvjetima.

Životinje su narkotizirane eterom, instrumentima skinuta je koža abdomena i punktira se kroz mišićnu stijenku, izvuče se ascites, te izbroje stanice. Mišu i štakoru injicirano je oko 3—4 miliona supkutano, ukoliko nije drukčije označeno. Promatrana je brzina rasta tumora, tj. obujam abdomena i dan uginuća. Pokusi su vršeni uvijek na Wistar-štakorima oba spola, težina 120—150 g. Miševi (soj: Zavod za medicinska naučna istraživanja, Novi Sad) su bili također oba spola, težine 18—22 g. Štakori i miševi hranjeni su kolačićima »Kalinovica« uz vodu ad libitum. Životinje su držane ljeti i zimi pri sobnoj temperaturi od 18° C.

Limfatičku leukemiju 1210 miša ispitivali smo na DBA-sojevima (crni miševi). Sedmi dan nakon infekcije miš se žrtvuje, izvadi mu se slezena, razriba u tarioniku i doda se nešto fiziološke otopine. Sad se izbroje leukemičke stanice u komori za eritrocite. Iza toga se otopina sa malignim stanicama razrijedi do potrebne koncentracije i injicira i. p. mišu i promatra vrijeme uginuća. Kontrole uginjavaju 8—10. dan. Mi smo davali obično oko 1,200.000 stanica na čitavu životinju.

NK Ly predstavlja također limfatičku leukemiju; ovaj tumor dolazi u formi ascitesa kod miša. Za presađivanje uzima se 0,2 cc ascitesa i doda 3 cc fiziološke otopine. Od toga se daje 0,5 cc i. p. na čitavu

*) Supstance pod brojem I, II i III sintetizirala je doc. dr J. Grujić-Vasić.

životinju. Obično se mjeri i težina životinje. Kontrole uginjavaju oko 12. dana.

Shay-chloroleukemija (štakori). Cijeli solidni tumor se izvadi, malo isitni i zatim istrlja u tarioniku. Doda se cca 10 ml fiziološke otopine i filtrira kroz gazu. Od toga se injicira po 0,3 ml i. p. na mladim štakorima, starim dvije sedmice. Kontrole žive otprilike 10 dana.

Shay solidni tumor treba uvijek održavati na starim štakorima, pa se odande presađuje na mlade štakore i. p. prema potrebi. Solidni tumor na odraslim štakorima se prenosi tako da se isjecka tkivo i pomoću troakara transplantira u kožu leđa.

Po pravilu, ispitivane supstance su davane istovremeno kad i presađen tumor, a u nekim pokusima 24—48^h i 6 dana kasnije. U nekim eksperimentima supstance su miješane prije presađivanja sa ascitesom da bi se vidio eventualni direktni efekt supstance na maligne stanice. Maksimalna doza TAP-a i NNP-a uzeta je iz podataka iz literature^{6, 8}.

Ispitan je uticaj obiju ovih supstancu na broj leukocita u kroničnom davanju tokom 30 dana na štakorima. Istovremeno su praćeni potrošnja hrane, težina i ponašanje tih životinja. Na kraju četvrtog tjedna izvršena je sekcija i makroskopski su pregledani svi organi. Potrošnja hrane mjerena je metodom Farnera¹⁴.

REZULTATI

Pokusi sa TAP-om.

Kako se vidi iz priložene tabele I, kontrolni miševi sa Ehrlich-ascites tumorom žive prosječno 10—11 dana. Miševi tretirani sa TAP-om žive prosječno 13—14 dana. 5 mg/kg i 2,5 mg/kg ne zaštićuju životinju, ali ascites u momentu uginuća nije tako razvijen kao kod kontrola. Kod životinja sa 10 mg/kg TAP-a, dakle, doza koja produžava život, ascites je također smanjen.

Ciklofosfamid 2,5 mg/kg potpuno zaštićuje životinje od rasta EAT. One su proživjele i 4 tjedna, i dalje ih nismo promatrali. U kombinaciji sa TAP-om 10 mg/kg i ciklofosfamidom 2,5 mg/kg zaštitni efekt se nije povećao, pa su životinje uginjavale već 14. dan. Ako se doza ciklofosfamida smanji na 1 mg, a TAP daje 10 mg ili 2,5 mg, život Ehrlich ascites carcinoma miševa skraćuje se čak na 7 dana. Iz toga se može zaključiti da kombinacija TAP-a sa ciklofosfamidom čak pogoršava terapijski efekt ciklofosfamida. Potpuno isti efekt smo dobili i sa mielobromolom (M), jednim drugim citostatikom¹⁵. Sam M u dozi od 75 mg/kg potpuno zaštićuje životinje od uginuća, tj. životinje žive dulje od 4 tjedna. U kombinaciji M sa TAP-om 10 mg/kg životinje također žive samo 7 dana.

Poznato je da je SKF-525-A jedna supstanca koja jako protira razgradnju nekih farmaka¹⁶. Iz tih razloga mi smo pokušali ispitati da li će SKF-525-A potencirati djelovanje TAP-a. Sam SKF-525-A u dozi od 50 mg/kg produžio je život EAT-miševima svega za 1 dan. Isto je tako i u kombinaciji sa TAP-om 10 mg/kg.

Tabela 1

TAP Doza mg/kg	Broj živo- tinja	Citostabik	Dan uginuća	Primjedba
	60		10—11	
10	86		13—14	ascitesa manje nego kod kontrola
5	12		10	"
2,5	12		10	"
	24	C 2,5	živi više od 28 dana	
10	24	C 2,5	14	
	24	C 1,0	10—11	
10	24	C 1,0	7—8	
	10	M 75	živi više od 28 dana	
10	10	M 75	7	
	15	SKF 525-A	11	
10	15	SKF 525-A	12	
10	12		10—11	TAP dan 24 ^h po- slje transplantaci- je tumora
10	12		10—11	TAP dan 48 ^h po- slje transplantaci- je tumora

Ako se TAP injicira 24^h ili 48^h iza presađivanja tumora, zaštitnog efekta nema.

Srodnike TAP-a spomenute u uzorku pod brojem I, II i III ispitivali smo također na Ehrlich ascites carcinomu i Yoshida sarkomu u dozi od 2,5 i 5 mg/kg i. m. Te su supstance bile bez ikakvog efekta. Ove supstance su netopive u vodi, pa smo ih dali u oleum olivae i. m.

Od drugih spojeva slične konstitucije, kako smo rekli, ispitivali smo NNP (tabela II). Ova supstanca sama u dozi od 2,5 mg/kg produžuje život EAT-miševa do 18—19 dana, ako se daje s. c., dok kontrole žive 10—11 dana; 1 mg/kg NNP produžuje život za circa 6 dana, a 0,5 mg je bez efekta. Interesantno je da intravenozno davanje NNP-a u dozi od 2,5 mg produžuje život svega za 4 dana. Vjerovatno je ta doza dana i. v. pretoksična. Dok 1 mg i. v. produžuje život za 6 dana kao i kod s. c. davanja, 0,75 mg i. v. i 0,5 mg i. v. su bez efekta. Kombinacija NNP-a 2,5 mg i TAP-a je uopće bez efekta. Očito se vidi da je kombinacija ovih dvaju spojeva toksičnija nego oni sami zasebno.

Tabela II

NNP Doza mg/kg	Broj životinja	Citostatika	Dan uginuća	Primjedba
	48		10—11	
2,5	30		18—19	
1	30		16	
0,75	30		11	
0,50	30		11	
2,50	10		14	i. v.
1,0	10		16	i. v.
0,75	20		11	i. v.
0,50	20		11	i. v.
2,5 + TAP 10	12		6	
2,5 + TAP 5	12		5	
2,5 + TAP 2,5	12		11	
2,5	20	C 2,5	svi živi	
2,5	20	C 1,0	16	
2,5	12		16	24h nakon trans- plantacije
2,5	12		14	48h nakon trans- plantacije
2,5	12		11	6 dana nakon transplantacije
2,5 Kalium- ferocija- nid	12		10	
2,5 Kalium- ferocija- nid	12		10	

Kombinacija najdjelotvornije doze NNP-a sa nedjelotvornom dozom ciklofosfamida 1 mg ne potencira djelovanje NNP-a. Ako se NNP daje 24 ili 48 sati prije presađivanja tumora, efekt zaštite je očevidan. Ako se NNP aplicira šesti dan iza presađivanja, zaštitni efekt se gubi.

U jednoj seriji pokusa miješali smo količinu stanica koje presađujemo (u volumenu od 2 ml) sa TAP-om ili NNP-om, tako da je kon-

centracija u ascitesu bila 10^{-5} ili 10^{-6} . Takav ascites smo držali 15 min. u termostatu od 38° i onda presadili. U jednom i drugom slučaju transplantat se primio.

Kako se vidi iz priloženih tabela III i IV, niti NNP, niti TAP ne obaraju broj leukocita štakora ni nakon 4 tjedna davanja. Opazili smo samo da su životinje na koncu četvrtog tjedna bile iste težine, dok su kontrole u isto vrijeme porasle za 15–22 g, apetit im je oslabio; inače, u ponašanju grupa nismo zapazili ništa karakteristično. Kod sekcije nisu također nađene nikakove promjene na unutrašnjim organima.

Tabela III
TAP 10 mg/kg
Broj leukocita

	Normalne vrijednosti	Nakon 7 dana	Nakon 14 dana	Nakon mjesec dana
1.	12,300	12,000	13,100	11,800
2.	11,100	10,000	11,600	12,000
3.	9,900	10,200	10,400	11,000
4.	10,400	12,100	12,500	12,100
5.	10,900	11,700	11,300	11,800
6.	11,400	11,200	10,700	9,400

Tabela IV
NNP 2,5 mg/kg i. p.
Broj leukocita

	Normalne vrijednosti	Nakon 7 dana	Nakon 14 dana	Nakon mjesec dana
1.	11,850	8,600	9,550	10,650
2.	12,350	12,200	8,450	14,300
3.	13,950	10,300	9,200	8,300
4.	9,150	10,400	13,800	10,150
5.	8,050	9,000	7,750	11,700
6.	10,250	10,300	8,550	16,000

Iz tabele V se vidi da TAP ne zaštićuje životinje od rasta transplantata YAS. NNP je pokazao slabiji zaštitni efekt na YAS nego na EAC ako se uzme doza od 2,5 mg/kg, dok 1 mg nema više nikakvog efekta.

Kako se vidi iz tabele VI, TAP je potpuno bez efekta i u dozi od 5 i od 10 mg/kg na limfatičku leukemiju miša LY 1210. Međutim, posve je druga situacija kod NNP-a. Ova supstanca izrazito produžuje

u dozi od 2,50 mg/kg život DBA-miševa, dok oni normalno uginjavaju za 8 do 10 dana; od ove doze uginuli su tek za 25 dana.

Tabela V

Supstanca Doza mg/kg	Broj životinja	Dan uginuća	Primjedba
Kontrola	15	10—11	Yoshida sarkom
TAP 10	15	10—11	„
NNP 2,50	12	16—17	„
NNP 1,0	12	10	„
NNP	10	16—17	Dano 48 ^h prije presađivanja tumora

Tabela VI
Ly 1210

Supstanca	Doza mg/kg	Broj presađenih leukocita	Dan uginuća pokus. život.	Dan uginuća kontrola
TAP	5	1,200.000	10	10
TAP	10	1,200.000	10	10
NNP	1	1,200.000	12	10
NNP	2,5	1,200.000	25	10



Kod NK Ly-leukemije miša TAP također nema efekta. Od 1 mg, dapače, tumori pokusnih životinja brže rastu od kontrola. NNP u dozi od 1 mg izrazito produžuje život miša za 4 dana u odnosu na kontrole, dok je doza od 2,50 mg ove vrste tumora pretoksična, tako da ove pokusne životinje uginjavaju prije kontrola (tabela VII).

Tabela VII
NK Ly

Supstanca	Doza	Dan uginuća pokus. životinja	Dan uginuća kontrola	Primjedba
TAP	10	12	12	Pokusni imaju daleko više ascitesa od kontrola
NNP	1	16	12	
NNP	2,5	7	12	pretoksična doza

Tabela VIII
Shay Chloroleukemija

Supstanca	Doza	Dan uginuća pokus. životinja	Dan uginuća kontrola	Primjedba
TAP	10	14	13	Tumori kontro- la i pokus. ži- votinja otprilike jednako velike
NNP	1	14	14	"
NNP	2,5	14	14	"

Kako se vidi iz tabele VIII, na Shay-leukemiju štakora ni TAP, ni NNP nemaju nikakvog efekta.

DISKUSIJA

Iz naših rezultata proizlazi da i TAP i NNP zaštićuju životinje od rasta transplantiranog Ehrlich karcinoma, a NNP i od rasta Yoshida sarkoma. NNP se pokazao efikasniji, jer produžuje život miša sa EAK više nego TAP. Ipak nijedna od ovih supstanci nije u stanju potpuno zaštititi životinje kao C ili M. Isto tako, interesantni su rezultati sa eksperimentalnim leukemijama. Kako vidimo, NNP ima efekta kod obje limfatičke leukemije miša koje smo mi upotrijebili, dok je TAP bez efekta; dapače, u jednom slučaju ubrzava rast tumora. S obzirom na to da je određeni efekt postignut i kod leukemije djece, što će biti kasnije objavljeno, smatramo da ove rezultate treba osobito istaknuti.

Interesantno je da TAP u kombinaciji sa citostaticima koje mi upotrebljavamo ne poboljšava djelovanje nego čak pogoršava, pa se postavlja pitanje je li to posljedica sumiranja toksičnog djelovanja jedne i druge supstance, ili je to efekt na molekularnom nivou, tj. na nukleinske kiseline. Moglo bi se, naime, zamisliti da uslijed forsiranja sinteze nukleinskih kiselina dolazi do smanjenja djelovanja C, koji djeluje suprotno na sintezu tih kiselina¹⁷. Istovremeno davanje TAP-a i NNP-a zajedno pokazalo se kao toksičnije, nego davanje pojedinačnih supstanci samih, vjerovatno zbog sumiranja toksičnog efekta. Uklanjanje nitro-skupine iz NNP-a potpuno anulira zaštitni efekt, kako se vidi iz djelovanja kalijum fericijanida i kalijum ferocijanida. Iz toga se može povući zaključak da djelovanje NNP-a ne ide samo na račun cijanskih skupina. Istovremeno to dozvoljava zaključak da bi daljnje kemijske deriviranje NNP-a imale smisla i da bi ih trebalo ispitati i na druge tumore.

Mi nemamo za sada mogućnosti da rastumačimo mehanizam djelovanja ovih spojeva. Pošli smo od pretpostavke da TAP forsira sintezu nukleinskih kiselina. Međutim, metodom Neškovića¹⁸ to se nije

moglo verificirati niti za TAP, niti za NNP. O direktnom oštećenju malignih stanica isto se ne bi moglo govoriti, jer kad smo inkubirali ascites sa NNP-om ili TAP-om in vitro, transplantacija je primljena.

Možda, ali to je samo naša hipoteza, NNP i TAP zbog svojih cijanskih grupa smanjuju oksidativne procese u stanicama, razumljivo, bolesnim i zdravim i na taj način utiču na rast tumora. Ako ta komponenta dolazi do izražaja i zaustavlja rast tumora, vrlo je vjerovatno da se cijanske skupine u organizmu vrlo polako oslobađaju. Zato valjda nisu ove supstance ni izdaleka toliko toksične kao slobodni cijan (HCN, KCN itd.) sam. To bi, prema tome, isto tako bila neka vrsta transportne forme jedne antitumorozne supstance, kao što imamo slučaj kod ciklofosfamida¹⁹. Naglašavamo da je to samo pretpostavka za koju nemamo dokaza.

NNP se pokazao efektan u našim eksperimentima kod četiri različite vrste tumora: EAC, YAS, Ly1210 i NK Ly. Prema izvještaju prof. Kellnera²⁰, NNP nije do sada ispitivan¹⁸, barem to nije registrirano u djelu »Negativna evidencija«. U početku smo naglasili da se ovaj spoj već godinama upotrebljava u humanoj terapiji^{7, 8} kao dobro antihipertenzivno sredstvo. Iz svega toga mislimo da možemo zaključiti da bi se ovaj spoj mogao već sada ispitati u humanoj patologiji, što smo mi zajedno sa Kosorićem već i započeli.

ZAKLJUČAK

Ispitani su tricijano-2-amino-1-propen i natrijum-fericijanid na rast Ehrlich ascites carcinoma, Yoshida ascites sarkoma, mišju leukemiju Ly 1210, te mišju leukemiju NK Ly i Shay mieloičku chloroleukemiju štakora. Pokazalo se da TAP djelomično produžava život Ehrlich carcinoma. U kombinaciji sa ciklofosfamidom i mielobromolom djeluje obrnuto, tj. forsira rast tumora. NNP djeluje na Ehrlich ascites mnogo bolje od TAP-a. TAP nema efekta na Yoshida sarkom, dok je kod NNP-a naznačen. Ni TAP ni NNP nisu kod zdravih štakora obarali broj leukocita, ako se apliciraju kroz 28 dana. TAP je potpuno bez efekta na obje limfatičke leukemije kao i na chloroleukemiju. NNP produžava život jedne i druge limfatičke leukemije, ali nema efekta na mieloičku leukemiju.

Diskutira se o značaju tih rezultata budući da su obadva spoja srodna s obzirom na cijanske grupe u svojoj molekuli. Jedna od njih — TAP forsira sintezu nukleinskih kiselina. Isto tako je značajno za dalja ispitivanja da se obje ove supstance već primjenjuju u humanoj terapiji, ali za druge indikacije.

Preliminarni klinički rezultati sa NNP pokazuju stanoviti terapijski efekt kod leukemija djece.

Laborantici Branki Bajagić zahvaljujemo za odličnu tehničku pomoć u izvođenju ovog rada.

**THE EFFECT OF TRICYANO-2-AMINO-1-PROPANE
AND Na-NITROFERRICYANIDE ON TRANSPLANTABLE
MALIGN CANCERS OF ANIMALS**

SUMMARY

The effect of tricyano-2-amino-1-propene and Na-nitroferri cyanide were studied on growing of Ehrlich ascites carcinoma, Yoshida ascites sarcoma, leukemia LY 1210 and NK Ly of mice, and Shay myeloid chloroleukemia of rats. TAP partly prolonged the life of Ehrlich carcinoma. This substance in combination with cyclophosphamide or melphalan had the opposite effect, i.e. it forced growing of the cancer. NNP had a better effect on Ehrlich ascites than TAP. TAP had no effect on Yoshida sarcoma, while NNP had. Neither TAP nor NNP diminished the number of leukocytes administered daily for 28 days. TAP was completely without effect on both kinds of lymphatic leukemias, and on chloroleukemia. NNP prolonged both lymphatic leukemias, but had no effect on myeloid leukemia.

It has been discussed about these findings, because both of these substances are chemically related (cyan groups). One of them (TAP) forced the synthesis of nucleic acids. It is also important that these two substances are being used in human therapy, but for the other purposes.

Preliminary clinical results with NNP showed a certain therapeutic effect in children suffering from leukemia.

LITERATURE

1. Hyden H., Hartelius H.: Acta psychiat. scand. Suppl. 48 (1948).
2. Egyhazi E., Hyden H.: Méd. et Hyg., 736, Genève (1961).
3. Davanzo J. P., Matthews R. J., Wingerson F., Barnes M. B.: Pharmacodyn 41, 299 (1963).
4. Potkonjak D., Stern P., Tomić S.: Med. Pharmacol. exp. 12, 32 (1965).
5. Brock N.: Arzneimittel-Forschung 8, 1 (1958).
6. Ingbar S. H.: J. clin. Endocrin. 21, 128 (1961).
7. Mercks Jahres-Berichte, str. 220 (1930).
8. Page I. H., Corcoran A. C., Dustan H. P., Koppányi Th.: Circulation 9, 188 (1955).
9. Loewenthal H., Jahn G.: Ztschr. Krebsforsch. 37, 439 (1932).
10. Yoshida T., Muta Y., Sasaki Z.: Proc. Impl. Acad. Tokyo 20, 611 (1944).
11. Law L. W., Dunn T. B., Boyle P. J., Miller H. J.: Nat. Cancer Inst. 10, 179 (1949).
12. Shay H., Gruenstein M., Marx H. E., Glazer L.: Cancer Research 11, 29 (1951).
13. Németh L., Gál F.: Arzneimittel-Forschung 12, 197 (1962).

14. Farner D.: Gerantologia 5, 35 (1961).
15. Cook L., Toner J., Fellows E.: J. Pharmacol. exper. Therapeut. *III*, 131 (1954).
16. Institóris L., Horváth I. P., Csányi E.: Ile Symp. int. Chi-miothérapie, Naples 1961; *III*, 250 (1963).
17. Bergel F.: iz Plattner P. A. »Chemotherapy of Cancer«, Elsevier, Amsterdam, London, New York, 1964, str. 21.
18. Nešković B.: Nature 206, 837 (1965).
19. Brock N., Hohorst H. J.: Arzneimittel-Forsch. 13, 1021 (1963).
20. Kellner B.: privatno saopštenje.

