

Margaretenstr. 7/2
1040 Vienna, Austria



Tel.: +43 (1) 5861223
Fax: +43 (1) 5868994

УКРАЇНСЬКИЙ ІНСТИТУТ ПОДОЛАННЯ ПИСТРЯКА
nowicky@ukrin.com, <http://www.ukrin.com>

NSC 631570 (УКРАЇН)

**ЕФЕКТИВНІСТЬ,
БЕЗПЕЧНІСТЬ,
ЯКІСТЬ**



Версія 4
Відень, 16.9.2011

ВСТУП: ПЕРШИЙ ПРЕПАРАТ, ЯКИЙ НИЩИТЬ ЛИШЕ РАКОВІ КЛІТИНИ, АЛЕ НЕ ЗДОРОВІ	4
Загальна інформація про лікування злоякісних пухлин.....	4
Ракові клітини можна знищувати, не пошкоджуючи при цьому здорові.....	5
Спорідненість NSC 631570 до ракових клітин	10
Імуномодуляторні властивості.....	11
Антиангіогенні властивості	13
I. ЕФЕКТИВНІСТЬ	15
Клінічне дослідження I фази	15
Дослідження по знаходженню оптимальної дози (фаза II).....	15
Клінічні дослідження III фази.....	16
Рак підшлункової залози	17
Рак товстої кишки	19
Карцинома простати.....	19
Рак молочної залози.....	19
Рак сечового міхура.....	21
Злоякісна меланома	21
Пухлини головного мозку.....	21
Злоякісні гінекологічні пухлини	21
КЛІНІЧНІ ВИПАДКИ	25
Рак молочної залози.....	25
Саркоми	25
Рак нирки	27
Рак яєчок	27
Рак стравоходу	27
Рак сечового міхура (уротеліальна карцинома).....	27
Нейробластома	27
Спадкові захворювання	27
<i>Туберозний склероз (хвороба Прінгла)</i>	27
<i>Генералізований лімфангіоматоз</i>	28
<i>Пігментна ксеродерма</i>	28
ПРОТИВІРУСНІ ВЛАСТИВОСТІ	30
ПРИГНІЧЕННЯ ПУХЛИННОГО АНГІОГЕНЕЗУ	30
ДОСЛІДЖЕННЯ IN VITRO	33
СЕЛЕКТИВНА ДІЯ NSC 631570	35
Індукція апоптозу в ракових клітинах.....	37
Пригнічення полімеризації тубуліну	38
Активация мітохондріальних каспаз.....	39
Дія на цикліни та циклін-залежні кінази	40
Дія на експресію білків hENT1 та dCK	40
Вплив на синтез нуклеїнових кислот і білків.....	41
Дія на білки, задіяні в ремоделюванні позаклітинного матриксу	41
Взаємодія з білками теплового шоку.....	42
Вплив на електрокінетичний потенціал.....	42
Дослідження in vivo	43
Дія на меланому B-16 у мишей.....	44
Дія на цистеїнові протеази	44
МОДУЛЯЦІЯ ІМУННОЇ СИСТЕМИ	45
Клінічна імунологія.....	45

Вплив на дендритні клітини	46
Дослідження <i>in vitro</i> та <i>in vivo</i>	46
РАДІОПРОТЕКТИВНА ДІЯ	48
МІКРОХВИЛІ	49
ТОКСИКОЛОГІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ	50
НОРМАЛІЗАЦІЯ МЕТАБОЛІЗМУ	51
Кістковий обмін та остеопороз	51
ДІЯ НА РІЗНІ ФЕРМЕНТИ	52
ВЗАЄМОДІЯ З ІНШИМИ ПРЕПАРАТАМИ	53
Неопіатні анальгетики	53
Опіатні анальгетики	53
Стрептозотоцин	53
Порфіринові похідні	53
Антиконвульсанти	54
ВЗАЄМОДІЯ З ІНШИМИ МЕТОДАМИ ЛІКУВАННЯ	54
Локальна гіпертермія	54
Ендоваскулярна лазерна та фотодинамічна терапія	54
Озон	55
Інші методи	55
II. БЕЗПЕЧНІСТЬ	56
Гостра інтравенозна токсичність на щурах	56
Гостра інтравенозна токсичність на мишах	56
Гостра інтрамускулярна токсичність на щурах	56
Гостра пероральна токсичність на щурах	57
Дослідження місцевої переносимості	57
Мікроядерне дослідження на мишах	58
Дослід на зворотні мутації з <i>Salmonella typhimurium</i>	58
Печінкова токсичність	58
Інші токсикологічні дослідження	59
ФАРМАКОКІНЕТИКА	60
БІОФІЗИЧНІ ВЛАСТИВОСТІ	60
III. ЯКІСТЬ	61
Чистотіл великий – витяг з Європейської Фармакопеї 6.0	61
Тіотэф – витяг з Фармакопеї США, 24-те видання	63
Стабільність	64
БІБЛІОГРАФІЯ	65

ВСТУП: ПЕРШИЙ ПРЕПАРАТ, ЯКИЙ НИЩИТЬ ЛИШЕ РАКОВІ КЛІТИНИ, АЛЕ НЕ ЗДОРОВІ

Загальна інформація про лікування злоякісних пухлин

Операції, хіміотерапія та променева терапія є трьома найважливішими методами лікування раку. Проте кожен з цих методів має свої обмеження і супроводжується суттєвими побічними явищами. Хірургічна операція є найстарішим з цих методів і там, де вона можлива, і надалі часто залишається методом першого вибору. Нажаль, операції, які би приносили вилікування, можливі лише в небагатьох випадках. Переважно в організмі залишаються пухлинні клітини, що приводить до рецидивів і метастазування. Тоді настає черга додаткового лікування.

Як опромінення, так і хіміотерапія не мають вибіркової або селективної дії проти ракових клітин. Більше того, вони карциногенні (самі викликають утворення пухлин) і мутагенні (викликають хромосомні зміни і як наслідок – порушують спадковість).

При променевої терапії ріст злоякісної пухлини намагаються зупинити дією радіоактивних променів. Опромінення пов'язане з різноманітними ранніми та пізніми реакціями (небажаними ефектами).

Історія хіміотерапії почалася тоді, коли під час Першої Світової війни лікарі помітили, що вперше тоді застосований як хімічна зброя гірчичний газ зупиняв ріст пухлин. Пізніше був створений мехлоретамін, який у 1942 році був вперше застосований як цитостатичний препарат у медицині. Цитостатики порушують процеси обміну речовин, пов'язані з ростом або поділом клітин. Тому вони пошкоджують насамперед ті тканини, які швидко діляться, наприклад, епітеліальні клітини (серед іншого, клітини коренів волосся, слизовий епітелій ротової порожнини та травного тракту) і кістковий мозок. Оскільки пухлинні клітини мають підвищену швидкість поділу і обмежені репаративні можливості, їхня чутливість до цитостатиків вища, ніж у здорових клітин. Ця різниця і робить можливим лікування цими часто високотоксичними ліками. Оскільки токсична дія вражає також і здорові клітини, виникає ціла низка небажаних побічних явищ. Особливо страждають слизова травного тракту і кровотворна тканина кісткового мозку. Майже всі цитостатики тою чи іншою мірою викликають випадіння волосся, нудоту, блювоту та зменшення еритроцитів і/або лейкоцитів у крові. Крім того, окремі групи препаратів мають інші, притаманні їм побічні дії.

З метою зменшення побічних явищ хіміотерапії зараз застосовують складні супутні лікування, наприклад, стероїдні препарати, ліки, які пригнічують нудоту і блювоту та ін. Незважаючи на це, частину циклів лікування доводиться проводити з меншою дозою, з перервами або припиняти взагалі.

Зрозуміло, що проблему серйозних небажаних ефектів при застосуванні хіміотерапії не вирішити звичайними способами. Цього можна досягти тільки такими препаратами, які вбивають лише злоякісні клітини, але не шкодять здоровим. Іншими словами, діють селективно тільки проти ракових клітин.

Були випробувані всі варіанти, щоб знайти найважливішу різницю між нормальними і злоякісними клітинами, проте ані нуклеїнові кислоти, ані білки не дали задовільних розв'язків цієї проблеми. Зараз відомо, що внаслідок генетичних змін (мутацій) ракова клітина починає ділитися за своїм власним ритмом – по суті, неконтрольовано. Ракова

клітина залишає своє звичне місце і мандрує на нове, де починає своє нове життя як дочірня пухлина – так виникають метастази.

Зі створенням нового покоління протиракових ліків, так званих «прицільних» препаратів, було започатковано спробу розв'язати проблеми онкології іншими методами. Робиться спроба прицільно атакувати той чи інший фермент або рецептор препаратами, спеціально створеними для лікування визначеного виду раку. Наскільки незадовільними є сьогоднішні результати такого методу, показують численні публікації в ЗМІ, наприклад, стаття в авторитетному німецькому журналі «Шпігель» від 15 травня 2010 року (<http://www.spiegel.de/spiegel/print/d-70501026.html>). Щодня у світі від наслідків онкологічних захворювань вмирають близько 20000 людей.

Тому зрозуміло, що найбільшим бажанням усіх науковців та онкологів було створення препарату, який би нищив лише ракові клітини, а здорові лишав неушкодженими. Іншими словами, препарату з селективною дією тільки проти злоякісних клітин і не проти здорових. Усі зусилля науковців цілого світу на цьому терені не мали успіху, що викликало глибокий песимізм серед учених – запанувало тверде переконання, що розв'язати цю проблему неможливо, бо різниця між здоровою та раковою клітиною надто незначна.

Ракові клітини можна знищувати, не пошкоджуючи при цьому здорові

На 13-ому Міжнародному Конгресі з хіміотерапії у Відні в серпні – вересні 1983 року був представлений новий препарат – похідне тіофосфорної кислоти та алкалоїдів чистотілу (NSC 631570, торгівельна назва УКРАЇН; 1). Створення цього препарату стало першим дуже важливим кроком на шляху до розв'язання означеної проблеми.

Дослідження *in vitro* виявили різне споживання кисню нормальними клітинами печінки та асцитними клітинами пухлини Ерліха після інкубації з препаратом УКРАЇН. Після початкового зростання, споживання кисню раковими клітинами падало до нуля, тоді як споживання кисню нормальними клітинами нормалізувалося і вони лишалися неушкодженими (38). Це дослідження надало перші свідчення того, що УКРАЇН, на відміну від його вихідних речовин - тіофосфорної кислоти (на той час широко вживаний протипухлинний препарат, цитостатик) та алкалоїдів чистотілу - справді токсичний лише проти ракових клітин, але не проти нормальних.

Друга вказівка на селективну дію препарату УКРАЇН була отримана при клінічному застосуванні, коли УКРАЇН не викликав якихось помітних побічних явищ (21). Більше того, він поліпшував загальний стан пацієнтів та їх імунологічний статус, пошкоджений попередньо проведеною хіміотерапією (22).

Третю вказівку на селективність було отримано в дослідженні Університету Маямі (США), базуючись на якому було вираховано величину терапевтичного індексу для препарату УКРАЇН – 1250 (26). Це незвично висока величина для протиракового препарату. Терапевтичний індекс – це відношення токсичної дози до терапевтичної, він відображає надійність лікарського препарату. Терапевтичний індекс звичайних цитостатичних препаратів, до яких відноситься і тіофосфорна кислота (тіотеф), лежить у межах 1,4 – 1,8 і тому їх передозування може мати фатальні наслідки. Завдяки дуже високому терапевтичному індексу - 1250 при застосуванні УКРАЇНу нема жодної небезпеки передозування.

Винайдення УКРАЇНу було епохальним відкриттям. Цей препарат показав, що вищезгадану проблему створення препарату з селективною протираковою дією можна вирішити, і змінив наші уявлення про здорові і злоякісні клітини.

Презентація на конгресі викликала в наукових колах як скепсис, так і велике зацікавлення. Ціла низка іменитих наукових інституцій, таких як Національний Інститут Раку (США), Європейська Організація з Дослідження та Лікування Раку, Університети Маямі та Рочестеру (США), Університет Тюбінген (Німеччина) почали досліджувати УКРАЇН, щоб краще з'ясувати його властивості та терапевтичний протипухлинний потенціал. На відміну від стандартних цитостатиків, які у тестовій моделі Національного Інституту Раку викликали загибель лише деяких ракових клітинних ліній, як наприклад тіотеф, який був токсичний тільки до ліній MLI-019 (рак легень) та UOK-57LN (рак нирки), а для решти 50 була нетоксична, УКРАЇН викликав загибель усіх 60 застосованих ракових клітинних ліній (190), які представляють вісім важливих злоякісних пухлин людини, включно з лініями, які були резистентними до найсильнішого з на той час відомих цитостатиків – цис-платини.

Це викликало ще більше зацікавлення в науковій спільноті. Провідні учені світу досліджували УКРАЇН, кожна наукова група доступними їй методами. Завдяки цьому розмаїттю експериментів вдалося розшифрувати тонкі механізми дії препарату УКРАЇН на різних рівнях у злоякісних та нормальних клітинах: спочатку на клітинному рівні у досліджах зі споживанням кисню (дія на мітохондрії; 38), тоді на рівні хромосом (дія на ДНК і РНК; 58, 63), клітинних органел і молекул (43, 62). Ці дослідження принесли вкрай цікаві результати і не лише багато разів підтвердили селективну дію препарату УКРАЇН, але й повністю усунули всі сумніви стосовно того, що він нищить тільки ракові клітини, але не завдає найменшої шкоди здоровим. Це означає, що УКРАЇН може розрізняти здорові та ракові клітини – цієї властивості, нажаль, не мають інші створені до цього часу протипухлинні препарати. Наукове зацікавлення УКРАЇНом зростає і дослідження з цим препаратом продовжуються (261-266).

Учені Віденського Аграрного Університету порівняли гальмівну дію NSC 631570 на проліферацію злоякісних і нормальних клітин. Для 50%-ного пригнічення проліферації нормальних ендотеліальних клітин концентрація NSC 631570 повинна була бути в 10 разів вища, ніж для такого ж пригнічення розмноження клітинної лінії остеосаркоми людини. Лазерна сканерна мікроскопія виявила виражене захоплення препарату УКРАЇН злоякісними клітинами, тоді як захоплення нормальними клітинами за тих самих експериментальних умов було значно нижчим (36).

В експериментах на клітинах еритролейкемії K-562, проведених у Меморіальному Університеті Ст. Джона (Ньюфаундленд, Канада), було виявлено, що УКРАЇН викликає бімодальну загибель ракових клітин. При нижчих концентраціях NSC 631570, ракові клітини гинуть внаслідок апоптозу. При вищих концентраціях пригнічується утворення мікротрубочок і настає поліплоїдія (62).

1998 року група вчених під керівництвом Енн Панцер довела селективну дію препарату УКРАЇН на молекулярному рівні. В експериментах на людських клітинах раку шийки матки HeLa, плоскоклітинної карциноми WNC05 і нормальній лінії легенів коня вчені Університету Преторії (Південна Африка) виявили, що NSC 631570 є вибірково токсичним до злоякісних клітин і викликає в них метафазний блок, який характеризується неправильним розподілом хромосом, а його наслідком є утворення

мікроядерцець і апоптоз (тобто загибель клітин). При цьому нормальна клітинна лінія не ушкоджувалася (139).

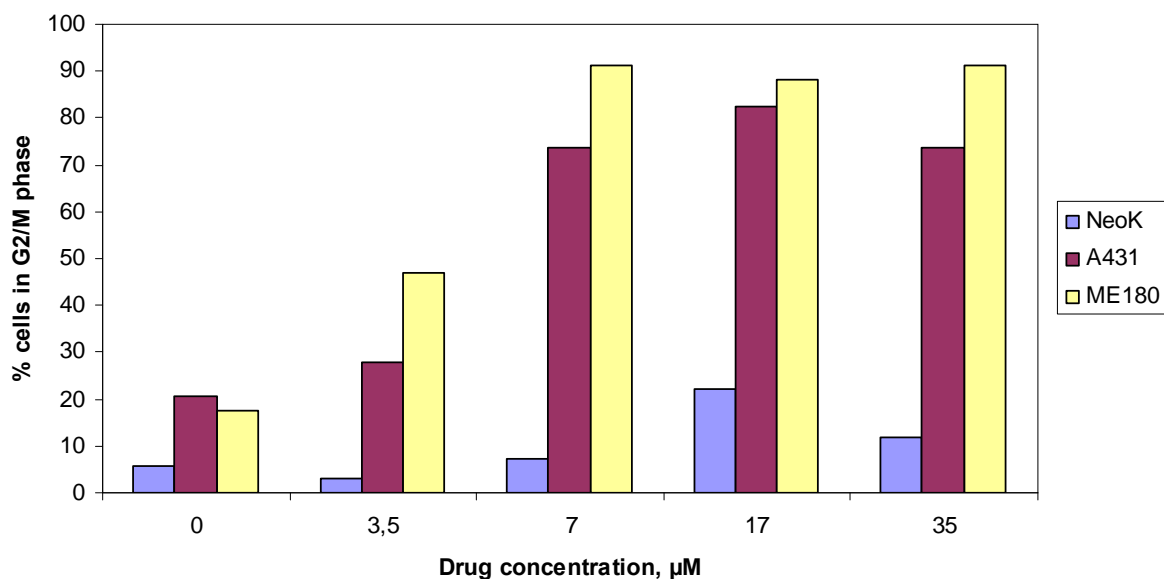
У 2000 році, оцінюючи клітинну проліферацію по включенню BrdU в клітинних культурах раку підшлункової залози AsPC1, VxPC3, MiaPaCa2 та THP-1 Jurkat, а фази клітинного циклу — забарвленням за Гімзою, вчені Ульмського Університету (Німеччина) виявили, що УКРАЇН у дозі 10 мкг/мл викликає через 24 год інкубації виражене нагромадження клітин у фазі G2/M. Цікаво, що частота апоптозу в інкубованих аналогічно периферичних мононуклеарах не відрізнялась між інкубованими і контрольними клітинами. Крім того, стимульовані мітогенами лімфоцити проявили підвищену бластогенну реакцію. Автори продемонстрували, що УКРАЇН блокував клітини раку підшлункової залози в профазі, гальмуючи при цьому полімеризацію тубуліну (181). І ця робота теж підтвердила, що УКРАЇН не ушкоджує нормальні клітини.

Так само в 2000 році вчені з Рочестерського Університету (США) у дослідях на лінії раку простати LNCaP, а також лініях епідермоїдної карциноми A431 і ME180 вивчали вплив препарату УКРАЇН на експресію циклінів і циклін-залежних кіназ. Автори виявили, що УКРАЇН викликає нагромадження ракових клітин у фазі G2/M. На нормальні клітини цей ефект не поширювався. Дослідники також спостерігали підвищену регуляцію CDK-інгібітора p27 у ракових клітинах, що привело до нагромадження ракових, але не нормальних клітин у фазі G2/M (147, 149).

У своїй подальшій роботі під назвою „Ukrain™, a semisynthetic Chelidonium majus alkaloid derivative, acts by inhibition of tubulin polymerization in normal and malignant cell lines“ (Cancer Letters 160 (2000) 149-157) учені з Південної Африки відкрили, що УКРАЇН пригнічує полімеризацію тубуліну (185). В якості нормальних клітин вони використали людські фібробласти.

Нормальні фібробласти людини пізніше використали в своїх експериментах науковці Університету Ебергарда-Карла (Тюбінген, ФРН; 184) та Національного Інституту Ракових досліджень (Мехіко, Мексика; 255). Обидві дослідницькі групи не змогли встановити якоїсь токсичної дії препарату УКРАЇН на ці нормальні клітинні лінії. Крім того, в своїй статті А. Пенцер та співавтори зазначили: «Як УКРАЇН, так і хелідонін мали слабку активність у цій системі» (185).

2002 року вчені з Ебергард-Карлс-Університету (Тюбінген, ФРН) вивчали дію препарату УКРАЇН на виживання клітин, зміни клітинного циклу та індукцію апоптозу в поєднанні з іонізуючою радіацією (IP) в дозі 1-10 Гр та без неї. УКРАЇН модулював радіаційну токсичність на людські злоякісні клітинні лінії і захищав нормальні від іонізуючої радіації. Досліди були проведені на наступних клітинних лініях з експоненціальним ростом: MDA-MB-231 (рак молочної залози), PA-TU-8902 (рак підшлункової залози), CCL-221 (рак товстої кишки), U-138MG (гліобластома), а також на нормальних фібробластах шкіри і легенів людини HSF1, HSF2 і CCD32-LU. Без опромінення NSC 631570 виявляв час- і дозозалежну цитотоксичну дію, більш виражену стосовно злоякісних клітин. Проточна цитометрія виявила, що NSC 631570 модулював радіаційну токсичність проти ракових клітинних ліній людини і захищав нормальні клітини від опромінення. Поєднання УКРАЇНу з іонізуючою радіацією посилювало токсичність стосовно пухлинних ліній CCL-221 і U-138MG з їх нагромадженням у фазі G2/M, але не стосовно ліній MDA-MB-231 і PA-TU-8902. Радіопротективна дія була виявлена стосовно нормальних фібробластів шкіри та легенів людини. Автори вважають корисним застосування NSC 631570 в поєднанні з радіохіміотерапією (184).

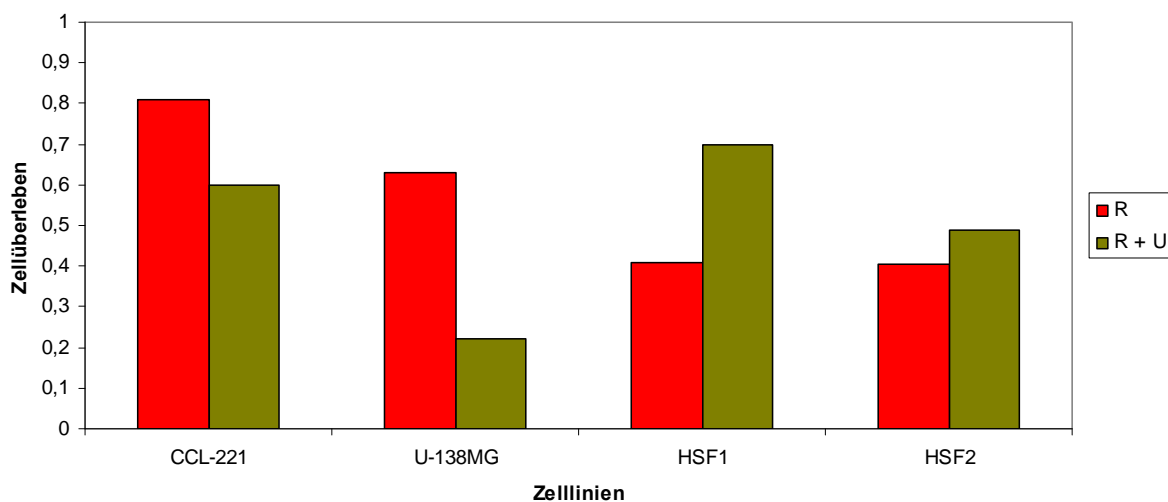


Мал. 1. Дія препарату NSC 631570 в різних концентраціях на популяцію G2/M-клітин. Клітини інкубували протягом 24 годин з NSC631570 у вказаних концентраціях (0 – контроль; 3,5; 7; 17; 35 мкмоль), після чого аналізували на вміст ДНК проточною цитометрією. Дані репрезентуєть процент клітин NeoK (нормальні кератиноцити), A431 і ME180 (епідермоїдні карциноми) у фазі G2/M. З Roublevskaia et al, 2000 (147).

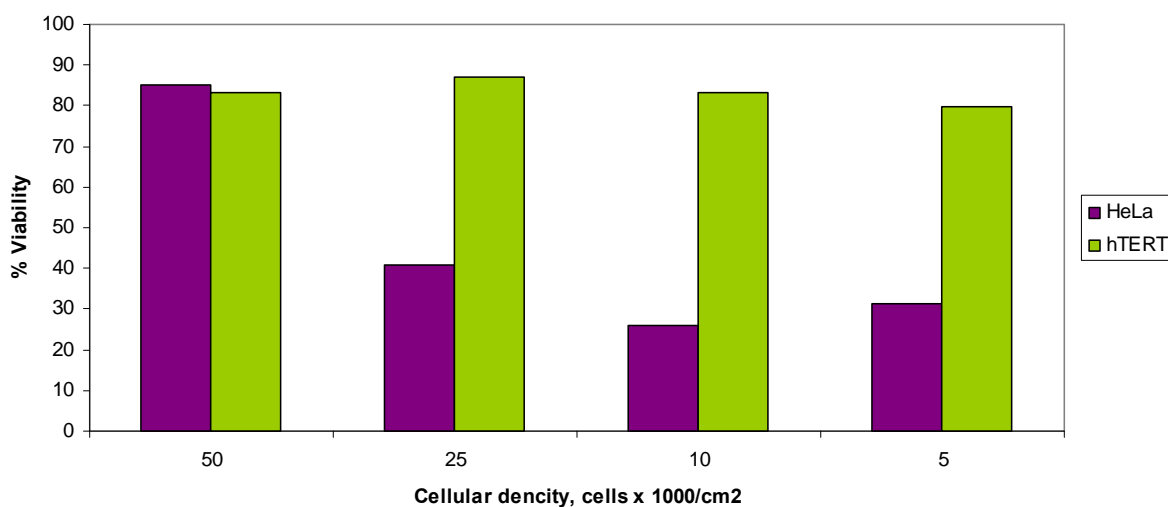
У дослідях на моделі лімфоми Jurkat у 2005 році було показано, що NSC 631570 є потужним індуктором апоптозу. Поглиблені дослідження виявили, що УКРАЇН викликає деполаризацію мітохондріальних мембран з наступною активацією каспаз (246).

У 2006 році вчені Національного інституту ракових досліджень (Мехіко, Мексика) виявили, що NSC 631570 викликає апоптоз у низці ракових клітинних ліній (рак шийки матки HeLa, HeKB, HeKS32, HeVcl3, HeNFR і HeKK, рак товстої кишки людини SW480, рак нирки людини HEK293, остеосаркома людини MG-63) активацією внутрішнього каскаду апоптозу. Цікаво, що нетрансформовані фібробласти hTERT були нечутливі до цього препарату (255).

Нещодавно цитотоксична дія NSC 631570 оцінювалася на двох первинних лініях раку підшлункової залози людини (ПРПЗ), фібробластах, отриманих з протокових аденокарцином підшлункової залози та на іморталізованій епітеліальній протоковій клітинній лінії підшлункової залози (ІПЛПЗ). Цитотоксичність оцінювали кітом CellTiter 96. Зміни захоплення NSC 631570 в інкубаційному середовищі визначалися по флуоресценції в ультрафіолетовому світлі. Цитотоксична дія NSC 631570 була достовірно сильніша стосовно ПРПЗ порівняно з фібробластами та ІПЛПЗ (20% проти 80% живих клітин). Поза тим, було виявлено, що ПРПЗ споживають більше препарату, ніж фібробласти та ІПЛПЗ. Ці дані продемонстрували вибірковий ефект препарату УКРАЇН на первинні клітини раку підшлункової залози, який може бути за рахунок різних транспортних систем або активнішого метаболізму препарату в клітинах панкреатичної протокової аденокарциноми (265).



Мал. 2. Вживання опромінених клітин з інкубацією з NSC 631570 та без неї. R – опромінення, 2 Гр; R + U – опромінення, 2 Гр та інкубація з NSC 631570. Клітинні культури: CCL-221 – колоректальний рак, U-138MG - гліобластома, HSF1 та HSF2 – нормальні фібробласти. За Cordes et al, 2002 (184).



Мал. 3. Дія NSC 631570 на злоякісну клітинну лінію (HeLa) та на лінію нормальних фібробластів (hTERT), виражена як процент живих клітин після 48 год інкубації з NSC631570, 40 мкг/мл. З Mendoza et al, 2006 (255).

Як ми бачимо, до сьогодні вивчено вже багато аспектів дії препарату NSC 631570 на різні елементи ракової та здорової клітини. Тим не менше цілком можливо, що ці ефекти є лише наслідками якогось ще невідомого процесу, який NSC 631570 викликає в ракових клітинах, але не в здорових. Так як в експерименті він нищив майже всі ракові клітини, на відміну від звичайних цитостатиків, які були токсичні лише до якоїсь групи

ракових клітинних ліній, то це дає підстави думати, що при переродженні здорової клітини в ракову виникає якийсь один елемент, на який і впливає NSC 631570.

Якщо би вдалося розшифрувати цей феномен, то це могло б надати нам дуже важливі вказівки про найважливішу різницю між нормальними і злоякісними клітинами, а також відкрило б перспективи для створення нових препаратів не лише для лікування, але й для профілактики онкологічних захворювань.

Ці дослідження з селективною дією препарату NSC 631570 переконливо продемонстрували, що можна знищувати ракові клітини без будь-якої шкоди для здорових. Це є найбільш цінним науковим відкриттям в усій історії створення протиракових ліків.

Спорідненість NSC 631570 до ракових клітин

Як відомо, усі живі клітини мають мембранний потенціал у діапазоні від -60 до -100 мВ. Негативна величина мембранного потенціалу вказує на те, що внутрішня поверхня клітинної мембрани заряджена більш негативно, ніж зовнішня поверхня.

Ще 1938 року Пауль Гергардт Зеґер висловив припущення, що розпад або деактивація ферментів дихального ланцюга в мітохондріях може відігравати важливу роль у виникненні раку.

У 1948 році Г. Р. Мілдер та його колеги продемонстрували, що ракові клітини заряджені більш негативно, ніж нормальні.

При виробництві NSC 631570 алкалоїди чистотілу отримують позитивний заряд. Це пояснює виражену афінність NSC 631570 до злоякісних клітин.

Уже в ранній роботі учених Віденського Аграрного Університету було виявлено, що клітини остеосаркоми людини захоплюють NSC 631570 набагато сильніше, ніж нормальні клітини ендотелію (36).

Це селективне нагромадження NSC 631570 у ракових клітинах підтверджується також завдяки його унікальній автофлюоресценції в ультрафіолетовому світлі (5).

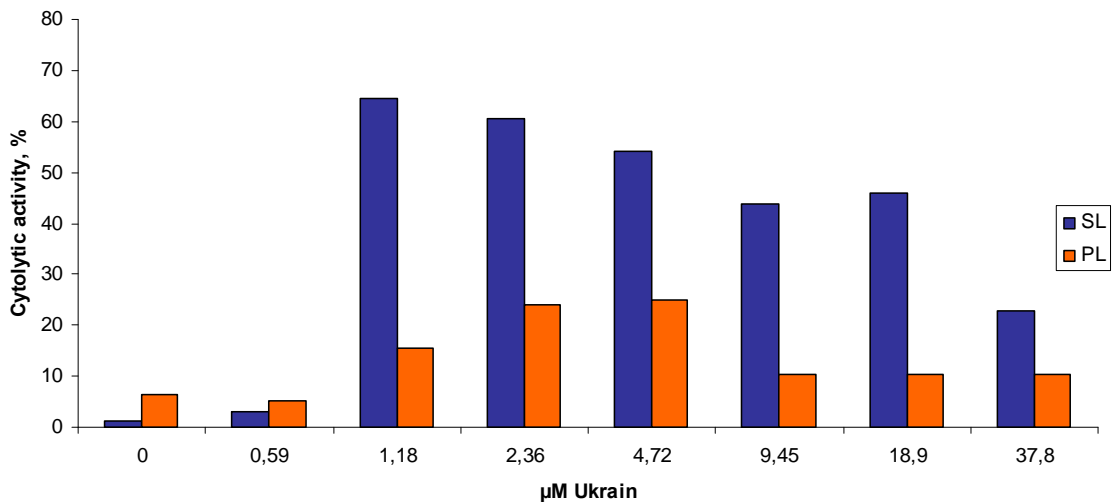
При вивченні впливу NSC 631570 на електрокінетичний потенціал (ЕКП) злоякісних та нормальних клітин було встановлено, що ЕКП клітин карциноми Ерліха зменшувався після інкубації з NSC 631570 значно помітніше, ніж ЕКП нормальних клітин тимуса (221).

В експериментах з первинними клітинними культурами раку підшлункової залози шляхом флюоресценції в ультрафіолеті визначалося модулювання захоплення NSC 631570 поживним середовищем. Результати показали, що карциномні клітини захоплювали набагато більше препарату, ніж фібробласти та нормальні клітини епітелію (265).

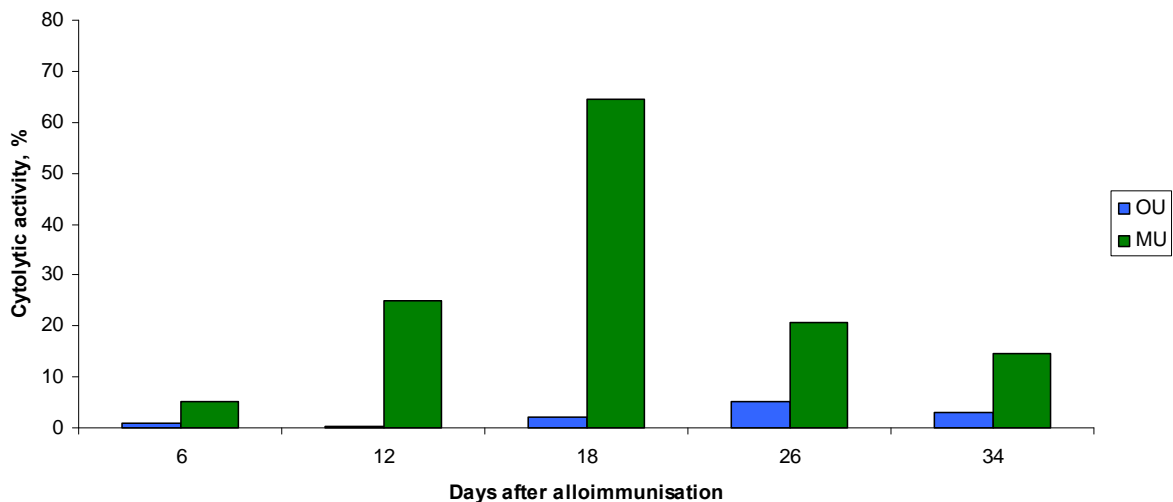
Вибіркове нагромадження NSC 631570 в ракових клітинах пояснює його сприятливий профіль безпеки і високий терапевтичний індекс – 1250.

Імуномодуляторні властивості

Доволі незвично як для протипухлинного препарату NSC 631570 має виражені імунномодуляторні властивості (24, 44). Першим вказав на цей цікавий факт професор Андреїс Лієпінш з Меморіального Університету Ст. Джона (Ст. Джон, Ньюфаундленд, Канада). У своєму дослідженні на мишах C57BL/6 він показав, що NSC 631570 є дієвим модифікатором біологічних реакцій (МБР). Після інкубації селезінкових лімфоцитів аллоімунізованих мишей з NSC 631570 їхня літична активність зросла в 48 разів (мал. 4). Це зростання було найсильнішим на 18-ий день після алоімунізації, після чого дещо зменшилося (мал. 5). Так само зросла літична активність інкубованих з інтерлейкіном-2 селезінкових клітин та лімфоцитів з перитонеального ексудату (17).



Мал. 4. Дія NSC631570 на цитотоксичну активність селезінкових (SL) та перитонеальних (PL) лімфоцитів аллоімунізованих мишей. З Liepins et al, 1992 (17).



Мал. 5. Дія 1,18 мкмоль NSC631570 на цитолітичну активність селезінкових клітин, зібраних у різний час після аллоімунізації. З Liepins et al, 1992 (17).

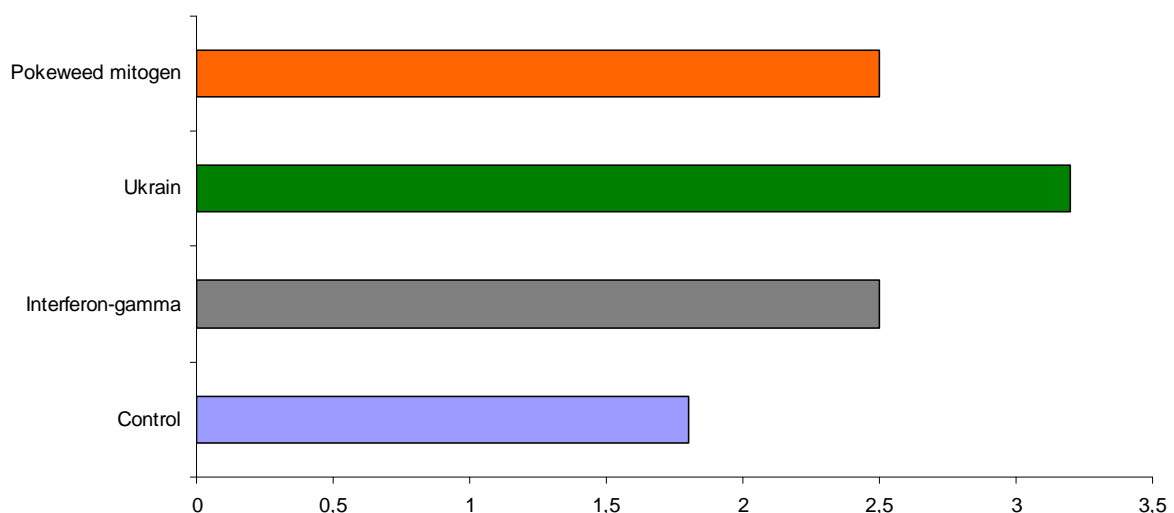
У досліджах на кількох імунних системах типу «ціль-ефектор» NSC 631570 достовірно посилював малігнотоксичну активність макрофагів, лімфоцитів та НК-клітин (47), а також стимулював *in vitro* дозрівання дендритних клітин (258). Оскільки такі параметри, як кількість В-лімфоцитів, рівні імуноглобулінів, комплементу та білків гострої фази суттєво не змінювалися, можна припустити, що NSC 631570 модулює переважно клітинну ланку імунітету.

Лімфоцити людини та морської свинки активувалися більш виражено, коли інкубувалися з NSC 631570, ніж з фітогемаглютиніном. У щурів NSC 631570 викликав значне зростання макрофагів з НК-активністю (49).

У досліджах на мишах CBA та щурах Wistar було виявлено, що NSC 631570 стимулює макрофаги. Як маркер цієї активності була використана хітотріозидаса, яка є частиною вродженого імунітету (168).

В експериментах на інтактних та тимус-ектомованих мишах NSC 631570 посилював ендокринну функцію тимуса. Після введення NSC 631570 спотерігалася посилена секреція речовин з тимозин-подібною активністю. Повторні введення NSC 631570 викликали подвоєння Т-клітин у крові, 4,5-разове зростання великих гранулоцитів, а також посилення НК-активності спленоцитів. Продукція інтерферону та антитіл після введення антигенів також зростала (180).

Вплив добре відомих імунних модуляторів інтерферону-гамма, NSC 631570 та лаконосного мітогену на селективне захоплення міченого технецієм-99m (^{99m}Tc) фактору некрозу пухлин (ФНП-альфа) вивчався на інтрамускулярно імплантованих мишачих ембріональних карциномах. Найвище абсолютне захоплення ^{99m}Tc -ФНП пухлинною тканиною було досягнуто при застосуванні NSC 631570 (мал. 6; 104).



Мал. 6. Абсолютне (% введеної дози/г) захоплення пухлиною (ФНП-альфа) в мишей BALB/c 1,5 год після введення. За Thakur et al, 1992 (104).

У досліджах на мишах BALB/c і F1 (BALB/c x C57BL/6J) було виявлено, що NSC 631570 пригнічує алергічну сенситизацію тварин до овальбуміну, що виражалося ослабленою IgE-реакцією та зменшенням продукції гістаміну. Інкубація овальбуміну з NSC 631570 викликала зменшення антигенності цього білка (84).

Імунномодуляторна дія NSC 631570 вивчалася у низці дослідів *in vivo*. Повторні підшкірні введення NSC 631570 мишам, інфікованих подвійною LD50-дозою *E. coli*, *S. aureus* або вірусом грипу достовірно збільшувало рівень виживання тварин (60, 87, 89).

Коли людські лімфоцити інкубували з ФГА та NSC 631570, у них спостерігали підвищену абсорбцію ³H-тимідину. Автори зазначили виражену синергічну дію NSC 631570 та ФГА (76).

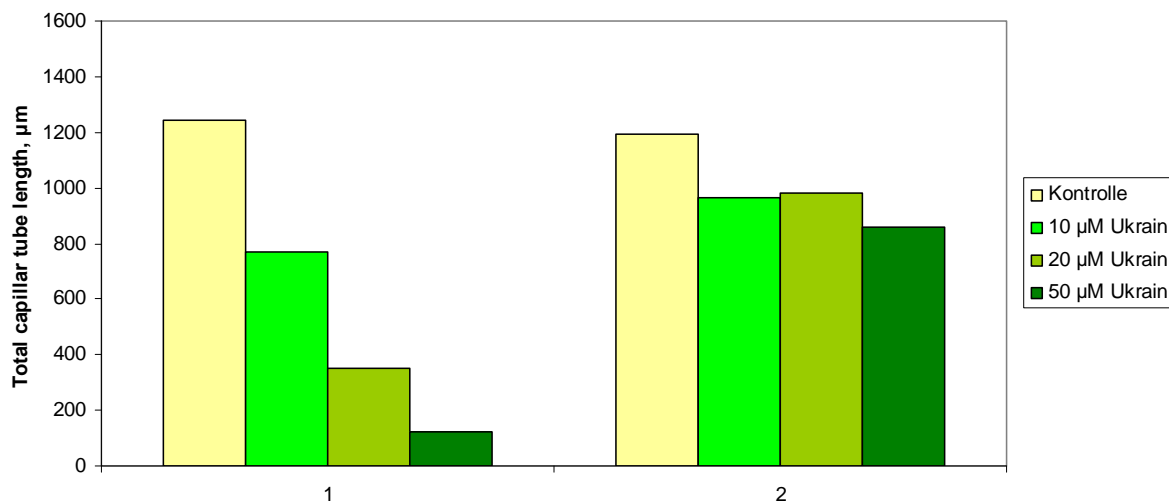
Методом клітинної проліферації вивчалася мітогенна дія ФГА та NSC 631570 на моноклеарні клітини периферичної крові людини (МКПК). Було виявлено, що навіть коротка попередня інкубація МКПК з NSC 631570 мала виражену синергічну дію на ФГА-мітогенез. Відповідно, показники клітинної стимуляції після комбінованої стимуляції були суттєво вищими, ніж після застосування самого ФГА (65).

У досліджах з мишачими (C57 Black/6) макрофагами та кролячим G-актином вивчалася дія NSC 631570 та сангвінаріну на фагосомно-лізосомне злиття мембран та актиновий цитоскелет. Найсильнішу стимуляторну дію на фагосомно-лізосомне злиття мав сангвінарін у дозі 10 мкмоль та NSC 631570 у дозі 5 мкмоль. У тій самій дозі NSC 631570 подвоював вміст фібрилярного актину в мишачих перитонеальних макрофагах. Крім того, NSC 631570 і сангвінарін індукували полімеризацію кролячого глобулярного актину. Ці ефекти були дозозалежні. Автори припускають, що сангвінарін і NSC 631570 можуть впливати на інтрацелюлярний мембранний транспорт (231).

Наведені вище публікації свідчать про те, що NSC 631570, завдяки своїм численним сприятливим імунним властивостям може бути характеризований як найкращий імуномодулятор.

Антиангіогенні властивості

Іншою дуже важливою властивістю УКРАЇНУ є його здатність пригнічувати утворення нових судин, які кровопостачають пухлину. Це явище називається ангіогенезом і є критично важливим фактором росту пухлин. Завдяки цим антиангіогенним властивостям, при введенні до операції NSC 631570 сприяє кращому відмежуванню пухлини від навколишніх тканин та її інкапсуляції. Це полегшує хірургічне видалення пухлин, що було клінічно підтверджено в дослідженнях при раку молочної залози (68-73, 114). У досліджах *in vitro* з ендотеліальними клітинами пупкової вени людини, презентованих на міжнародному конгресі в Ріо-де-Жанейро у 1998 році, NSC 631570 пригнічував дозозалежним чином проліферацію ендотеліальних клітин людини без цитотоксичної дії проти них. (136). Таке пригнічення судинного новоутворення попереджує також метастазування пухлин.



Мал. 7. Загальна довжина капілярних трубок після інкубації з NSC 631570 у вказаних концентраціях. 1 – ЕКПВЛ інкубували з NSC 631570 протягом 4 год. 2 – ЕКПВЛ попередньо інкубували з NSC 631570 протягом 4 год, після чого інкубували з NSC 631570 протягом 2 год у свіжому середовищі без NSC631570. ЕКПВЛ (HUVEC) - ендотеліальні клітини пупкової вени людини (human umbilical vein endothelial cells). За Koshelnick et al, 1998 (136).

I. ЕФЕКТИВНІСТЬ

УКРАЇН (NSC 631570) – це спеціальний рідкий екстракт з кореня чистотіла. Це комплекс, який виробляється з двох відомих зареєстрованих препаратів – алкалоїдів чистотілу та тіотефа (2, 9). Доказ його якості міститься в німецькій та австрійській фармакопеях. УКРАЇН – це перший і на сьогодні єдиний лікарський препарат токсичний для ракових, але не для здорових клітин. Це було доведено численними дослідженнями в іменитих університетах та дослідних інститутах, таких як Національний Інститут раку (Бетезда, Меріленд, США), Європейська організація для дослідження і лікування раку, Рочестерський Університет (США), Національний Інститут ракових досліджень (Мексика) та ін.

NSC 631570 є ефективним проти злоякісних пухлин і одночасно більш як у 300 разів менш токсичний від своїх вихідних речовин (12, 39, 41, 59, 111, 141, 179). У численних дослідженнях *in vitro*, *in vivo* та клінічною практикою доведено, що в малих дозах (5 мг) він має імунотоксичні властивості (5, 8, 10, 14), а в більших дозах проявляє малігнотоксичну дію (3, 6, 11). Його терапевтичний індекс становить 1250, що для протиракового препарату є незвично високою величиною і що пояснює його добру переносимість (терапевтичний індекс є показником надійності лікарського препарату, вираховується як відношення його токсичної дози до терапевтичної). Терапевтичний індекс звичайних цитостатиків лежить у межах від 1,4 до 1,8. Їх передозування може мати фатальні наслідки.

Клінічне дослідження I фази

Клінічне дослідження I фази було проведене амбулаторно на 19 здорових пробандах. Окрім загального клінічного стану оцінювались наступні параметри: загальний і біохімічний аналіз крові, електроліти, мікроелементи, імунологічні параметри, неоптерин. УКРАЇН (NSC 631570) вводили внутрішньом'язево або внутрішньовенно щодня, через день або що третій день у дозі від 5 до 50 мг протягом 7 – 40 днів. В одному спеціальному випадку препарат вводився у дозуванні 5 – 50 мг протягом 3 років у вигляді багатьох курсів лікування (загальна доза – 3500 мг). Протягом дослідження не було виявлено якихось суттєвих змін у клінічному статусі. При внутрішньом'язевому введенні пробанди часом відчували локальні болі в місці ін'єкції. Дехто повідомляв про сонливість, посилену спрагу та поліурію. У кількох випадках спостерігалися незначне підвищення температури тіла і пониження артеріального тиску. Автори прийшли до висновку, що NSC 631570 в разових дозах 5, 10, 20 і 50 мг добре переносився здоровими добровольцями, також і при тривалих курсах лікування.

Дослідження по знаходженню оптимальної дози (фаза II)

Щоб знайти оптимальне дозування для NSC 631570, було проведено клінічне дослідження на 70 онкологічних пацієнтах у пізніх стадіях захворювання. Визначалися наступні параметри: частота серцевих скорочень, артеріальний тиск, температура тіла, загальний та біохімічний аналіз крові, клінічна імунологія. Результат лікування

оцінювали за допомогою рентгенографії, ультразвукового дослідження та комп'ютерної томографії. NSC 631570 вводили внутрішньом'язево або внутрішньовенно щодня, через день, що третій, що четвертий або що п'ятий день. Разові дози були: 2,5, 5, 10, 15, 20 або 25 мг з поступовим підвищенням від 2,5 до 25 мг або постійно 5, 10, 15, 20 або 25 мг. Тривалість одного циклу лікування складала 10 – 90 днів. Перерва між циклами була від 7 днів до 3 місяців.

У всіх випадках лікування переносилося добре. У деяких пацієнтів стало можливим зменшити дозу анальгетиків. Якість життя поліпшилася у більшості випадків. У пацієнтів спостерігалися як суб'єктивні, так і об'єктивні симптоми, як от головний біль, запаморочення, спрага, потовиділення, посилене сечовипускання, гарячка з підвищенням температури на 1-2 °С, болі в ділянці головної пухлини та метастазів. Спостерігалася також підвищена температура в ділянці пухлини. Серед інших симптомів, які спостерігалися під час лікування, слід зазначити короточасне набухання пухлини, підвищену частоту серцевих скорочень і незначне зниження артеріального тиску. Інтенсивність цих супутніх явищ корелювала з реакцією пухлини на лікування. При досягненні повної ремісії ці супутні явища більше не спостерігалися (21, 45).

У здорових пробандів при застосуванні NSC 631570 такі супутні явища не спостерігаються. Це дає підстави припустити, що вони викликаються продуктами розпаду пухлини. Інтенсивність цих супутніх явищ можна зменшити детоксикаційними заходами.

За останніми даними, щоб досягнути найкращих результатів при лікуванні NSC 631570, слід застосовувати по черзі високі і низькі дози. Високі дози препарату знищують пухлини, низькі допомагають усунути продукти розпаду пухлини. Тому в перебігу терапії застосовують поперемінне дозування, наприклад, 5 мг – 1 день перерва -20 мг, або 5 мг – 1 день перерва – 30 мг, або 5 мг – 1 день перерва – 40 мг. NSC 631570 можна розводити 5%-ним розчином глюкози. При введенні 20 мг NSC 631570 слід безпосередньо перед ін'єкцією ввести високу дозу аскорбінової кислоти (2-4 г). Є повідомлення про регресії пухлин після 10-денного стаціонарного лікування пацієнтів щоденною внутрішньовенною дозою 20 мг. Завдяки своїм антиангіогенним властивостям NSC 631570 може викликати інкапсулювання пухлин, після чого масу пухлини можна зменшити хірургічно.

Терапевтична ефективність NSC 631570 була підтверджена багатьма клінічними дослідниками і є темою численних публікацій. Понад 40 оригінальних статей документують лікування більш як 750 пацієнтів, з яких 332 були проліковані NSC 631570 в рамках контрольованих клінічних досліджень. Усі автори описують ефективність і безпечність NSC 631570.

Клінічні дослідження III фази

NSC 631570 може викликати повну регресію первинної пухлини і метастазів. При лікуванні пухлин у пізніх стадіях NSC 631570 може поліпшити загальну якість життя і збільшити виживання. Це доводять дослідження робочої групи професора Беґера з Ульмського Університету (Німеччина) та професора Земскова з Національного медичного університету ім. акад. Богомольця (Київ) при раку підшлункової залози (154, 182, 185, 187, 230, 247), а також груп академіка Бондаря (Донецьк) і професора Сусака

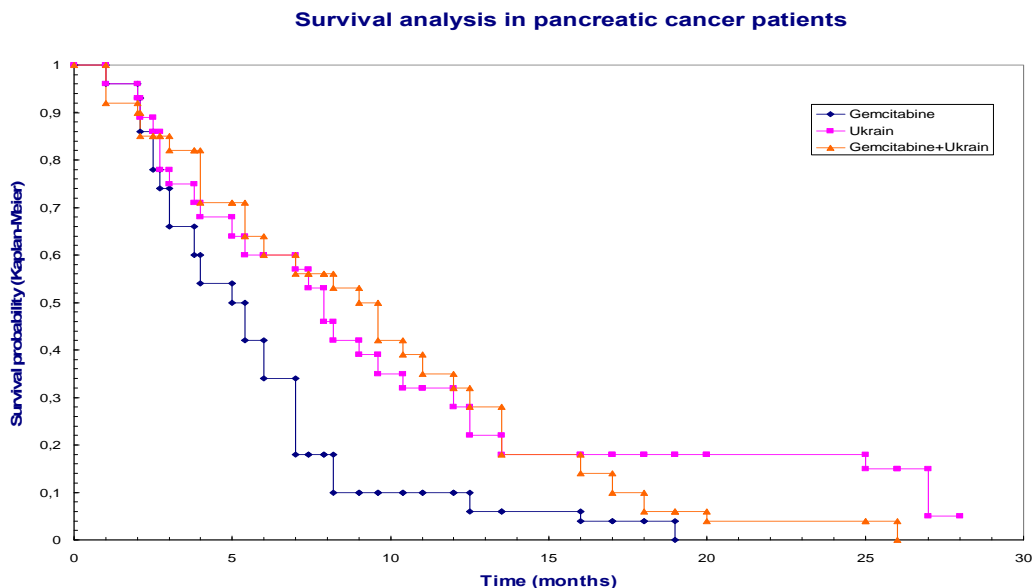
(Київ) при раку товстої і прямої кишки (55, 67, 112) і доктора Ашгофа (Німеччина) при раку простати та інших злоякісних пухлинах (144, 161, 188, 191, 201).

У відкритому дослідженні брали участь 203 онкологічних пацієнтів у пізніх стадіях хвороби, в яких усі стандартні методи лікування були вже вичерпані, а захворювання прогресувало або рецидивувало. Крім NSC 631570 у частини пацієнтів (37,4%) застосовували локальну глибоку гіпертермію. У 41 випадку (20,2%) була досягнута повна ремісія, у 122 (60,1%) – часткова ремісія. Особливо добрі результати були отримані при семіномі та раку простати з рівнями ремісії понад 75% (144, 161).

Рак підшлункової залози

У контрольованому рандомізованому дослідженні професора Бегера та колег в університетській клініці міста Ульму в Німеччині було показано, що при неоперабельному раку підшлункової залози в пізніх стадіях рівень виживання при застосуванні NSC 631570 в комбінації з гемцитабіном подвоїлося (182). Найдовше виживання в групі гемцитабіну було 19 місяців, у комбінованій групі NSC 631570+гемцитабін – 26 місяців, а в групі, яка отримувала тільки монотерапію NSC 631570 два пацієнти жили більше 28 місяців. NSC 631570 відносно добре переносився. Автори вважали за необхідне подальші дослідження з NSC 631570, беручи до уваги те, що якість життя пацієнтів також поліпшилася (186).

NSC 631570 при раку підшлункової залози: паліативне лікування



Gansauge, Beger et al: Langenbeck's Archives of Surgery, 2002

Після завершення дослідження спостереження продовжувалося. При цьому було встановлено, що NSC 631570 дуже добре переносився і всім пацієнтам міг вводитись

амбулаторно. Лікування NSC 631570 дало суттєве подовження часу виживання порівняно з монотерапією ґемцитабіном. Комбіноване лікування ґемцитабіном та NSC 631570 не мало переваг порівняно до монотерапії NSC 631570. Автори дослідження зробили наступний висновок: «На основі даного дослідження, при раку підшлункової залози в пізніх стадіях ми рекомендуємо NSC 631570» (187).

У 2007 році були оприлюднені результати наступного клінічного дослідження тої ж наукової групи. Цього разу була продемонстрована ефективність препарату NSC 631570 після оперативного лікування раку підшлункової залози. Пацієнтів лікували комбінацією NSC 631570 та ґемцитабіну. Середнє виживання становило 33,8 місяців, рівень 5-річного виживання – 23,3% (ці пацієнти живуть досі), що суттєво краще, ніж у попередніх клінічних дослідженнях без NSC 631570, у яких середнє виживання становило 20,1 місяців, а рівень 5-річного виживання – 21% (<http://content.nejm.org/cgi/content/abstract/350/12/1200>). Крім цього, NSC 631570 у терапевтичних дозах має лише мінімальну побічну дію, поліпшує якість життя пацієнтів і може застосовуватись амбулаторно, що вигідно відрізняє цей препарат від традиційних хіміотерапевтичних препаратів.

Ця публікація ще раз підтвердила ефективність та безпечність NSC 631570, оскільки продемонструвала значне подовження виживання порівняно з іншими клінічними дослідженнями (247).

Ад'ювантна терапія раку підшлункової залози: порівняння трьох клінічних досліджень

Автор	Neoptolemos	Kurosaki	Gansauge
Рік	2001	2004	2007
Кількість пацієнтів	238	16	30
Терапія	5-фторурацил / лейковорин	ґемцитабін	NSC 631570 / ґемцитабін
Безрецидивне виживання	н. д.	16,8 міс.	26 міс.
Середнє виживання	19,7 міс.	20,4 міс.	37,6 міс.

Також інші дослідники підтвердили дієвість комбінації NSC 631570 та ґемцитабіну при раку підшлункової залози (205, 208, 209), при цьому в одному дослідженні були досягнуті ремісії в 85,7% випадків (207). Найдовше виживання при паліативному лікуванні становило понад 6 років (185, 186).

Ґрунтовно були досліджені гістологічні зміни, які викликає NSC 631570 у підшлунковій залозі та навколишніх тканинах. Було встановлено, що NSC 631570 спричиняє фібротичну та склеротичну трансформацію пухлини. Спостерігалось також периваскулярне склерозування (206).

Рак товстої кишки

У контрольованому рандомізованому дослідженні при раку товстої кишки, проведеному в Національному Медичному Університеті ім. О. Богомольця (Київ) пацієнтів лікували NSC 631570 або 5-фторурацилом (5-ФУ) і променевою терапією. У групі, лікованій NSC 631570, рівень виживання після 21 місяця становив 78,6%, у групі, лікованій 5-ФУ та опроміненням – 33,3% (67, 108).

У рамках рандомізованого дослідження при ректальних карциномах в Регіональному протираковому центрі (Донецьк) пацієнти отримували або високодозовану променевою терапією і 5-ФУ до операції, або лікування NSC 631570: один курс до операції (10 мг що другий день до загальної дози 60 мг) і один курс після операції (загальна доза 40 мг). Протягом наступних 14 місяців рецидиви настали в 6 пацієнтів (25%) з групи 5-ФУ+орпромінення, але лише в 2 пацієнтів (8,3%) у групі NSC 631570. За наступні два роки рецидиви настали у 8 пацієнтів (33,3%) з групи 5-ФУ+опромінення і лише в 4 пацієнтів (16,7%) з групи NSC 631570 (112). Зараз, 12 років після публікації, 18 з 24 пацієнтів (75%) з групи NSC 631570 ще живуть.

Карцинома простати

Дієвість NSC 631570 була також підтверджена клінічно в контрольованому дослідженні при раку простати. У всіх пацієнтів, які були включені в дослідження, були вичерпані всі стандартні методи лікування і внаслідок прогресування пухлини або її рецидиву подальше лікування було безперспективним. Пацієнти отримували NSC 631570 і локальну гіпертермію. Були отримані наступні результати: повна ремісія в 54 пацієнтів (73%), часткова ремісія - в 16 пацієнтів (22%). Лише в 4 пацієнтів (5%) не вдалося вплинути на перебіг захворювання (201).

Загальна кількість пацієнтів	Повна ремісія	Часткова ремісія	Прогресування хвороби
74	54	16	4
100%	73%	22%	5%

Ефективність NSC 631570 при карциномі простати була підтверджена ще в одному клінічному дослідженні (155).

Рак молочної залози

У рамках контрольованого клінічного дослідження, виконаного науковцями Гродненського університету (Гродно, Білорусь), у пацієток з раком молочної залози після лікування NSC 631570 виявляли затвердіння пухлини, незначне збільшення

розміру пухлини (5-10%) і проліферацію сполучної тканини. Відношення Т4-лімфоцитів до Т8-лімфоцитів зросло приблизно на 30%. Після лікування NSC 631570 пухлини ставали щільнішими і дещо збільшеними, завдяки чому їх легше було виявити ультразвуковим або рентгенологічним дослідженням. Метастатичні лімфатичні вузли також ущільнювались і склерозувалися (фіброз). Пухлини і метастатичні лімфатичні вузли були чітко відмежовані від здорової тканини, що полегшувало їх усунення. Такі ускладнення як тривала лімфорейя (витікання лімфи з пошкоджених лімфатичних судин), некроз (відмирання) шкіри, нагноєння ран і запалення легень спостерігалися наполовину рідше у пацієнток, які лікувалися УКРАЇНОМ, порівняно з пацієнтками з контрольної групи. Грунтуючись на результатах цього дослідження, автори рекомендують застосування УКРАЇНУ у вищій дозі перед кожною операцією з видалення пухлини молочної залози (54, 68-70, 114). У ході дослідження оцінювали також інші параметри: тиреоїдні гормони, кортизол, прогестерон, естрадіол, пролактин (71), імунні показники – лімфоцити, імуноглобуліни, комплемент, фагоцитарна активність (72), морфологічні та цитохімічні зміни (73, 110), пул амінокислот та їх дериватів у плазмі (74, 109) та пухлинній тканині (75).

У низці робіт учені досліджували вплив NSC 631570 на різні параметри у пацієнток з раком молочної залози (157-160). Найкращі результати лікування були отримані при застосуванні вищих доз препарату. Майже кожна пацієнтка відзначала поліпшення загального стану, сну та апетиту. Під час операції пухлини, як і уражені лімфатичні вузли були склерозовані і добре відмежовані від навколишніх тканин. Це суттєво полегшувало хірургічне усунення пухлини (158). У самій пухлинній тканині знаходили підвищений рівень амінокислоти проліну, що вказує на посилену продукцію сполучної тканини, яка відмежовує пухлину (159). NSC 631570 також поліпшував амінокислотний баланс пацієнток (160).

У недавньому дослідженні *in vitro* на мишачих та людських клітинних культурах було підтверджено, що добрі результати, отримані при лікуванні пацієнток з раком молочної залози, не випадкові. Учені Університету Еморі (Атланта, Джорджія, США) та Університету Кеннесоу (Кеннесоу, Джорджія, США) зробили наступний висновок: «Протираковий препарат УКРАЇН проявляє свою цитотоксичну дію як на мишачих, так і на людських клітинних культурах раку молочної залози дозо- та часозалежним чином. Ще кілька тижнів після інкубації з УКРАЇНОМ проліферативна здатність цих клітин лишалася зниженою. Отримані нами дані вказують на те, що УКРАЇН може бути ефективним препаратом у лікуванні раку молочної залози завдяки своїм короткочасним та довготривалим гальмівним ефектам на виживання та проліферацію пухлинних клітин.»¹

Ця робота була підтримана RO1 CA-138993 та ґрантом Національної Наукової Фундації США № 0450303 (підґрант № 1-66-606-63). Національна Наукова Фундація (ННФ) є незалежною федеральною агенцією, створеною Конгресом США «для підтримки прогресу науки, підняття здоров'я на добробуту нації і зміцнення національної оборони...» Зі щорічним бюджетом близько 6,9 млрд. Доларів ННФ є джерелом фінансування для близько 20% усіх базових наукових досліджень, які проводяться в американських коледжах та університетах і підтримуються на федеральному рівні.

¹ E.N. Bozeman, H. Mohammadi, R. Shashidharamurthy, D. Daniels, P. Selvaraj. Analysis of the short-term and long-term *in vitro* cytotoxic effects of the anticancer drug Ukrain in breast cancer models. American Association for Cancer Research 102nd Annual Meeting, April 2-6, 2011, Orlando, Florida, abs. 5433.

Рак сечового міхура

NSC 631570 викликав повну ремісію у трьох пацієнтів з раком сечового міхура, яка тривала 6 місяців (113, 137).

Біохімічне дослідження виявило, що NSC 631570 має корисний вплив на амінокислотний обмін у таких пацієнтів (156).

Злоякісна меланома

У першій публікації про застосування NSC 631570 при злоякісній меланомі була описана повна ремісія в пацієнта з легeneвими метастазами (91).

Довготривала ремісія (понад 10 років без рецидиву) спостерігалася в пацієнта з вузловою формою злоякісної меланоми після лікування NSC 631570, при цьому на момент початку лікування відмічались печінкові метастази і меланін у сечі (92).

Дія NSC 631570 як монотерапії, а також у поєднанні з патоген-асоційованими молекулами (ПАМ) на клітинний цикл та індукцію апоптозу порівнювалися на двох меланомних клітинних культурах MM-4 та MM-4M2 з різними метастатичними властивостями стосовно швидкості поділу клітин, гематогенного метастазування, чутливості до апоптозу, викликаного фактором некрозу пухлин-альфа (ФНП- α). Індукція апоптозу і життєздатність клітин аналізували за допомогою пробки з трипановим синім; за морфологічними критеріями, гель-електрофорезом ДНК та проточною цитометрією. Розподіл пухлинних клітин за фазами клітинного циклу оцінювали проточною цитометрією. Інкубація з NSC 631570 викликала апоптоз в обох меланомних клітинних культурах дозо-залежним чином. Клітинна лінія з вищим метастатичним потенціалом була чутливішою до NSC 631570. У меланомній лінії з низьким метастатичним потенціалом комбіноване використання NSC 631570 і ПАМ більш ефективно викликало апоптоз (261).

Пухлини головного мозку

NSC 631570 успішно застосовується у лікуванні пухлин головного мозку (101, 102).

В огляді клінічних досліджень з NSC 631570, проведених до того часу, дослідники з університетів Ексетера та Плімута вважають, що цей препарат має непоганий потенціал як протираковий агент (238).

Злоякісні гінекологічні пухлини

Раніше було опубліковано повідомлення про успішно застосування NSC 631570 у лікуванні раку яйників (97). Також у дослідженні Національного Інституту раку (Бетезда, Меріленд, США) NSC 631570 виявився токсичним проти всіх клітинних ліній раку

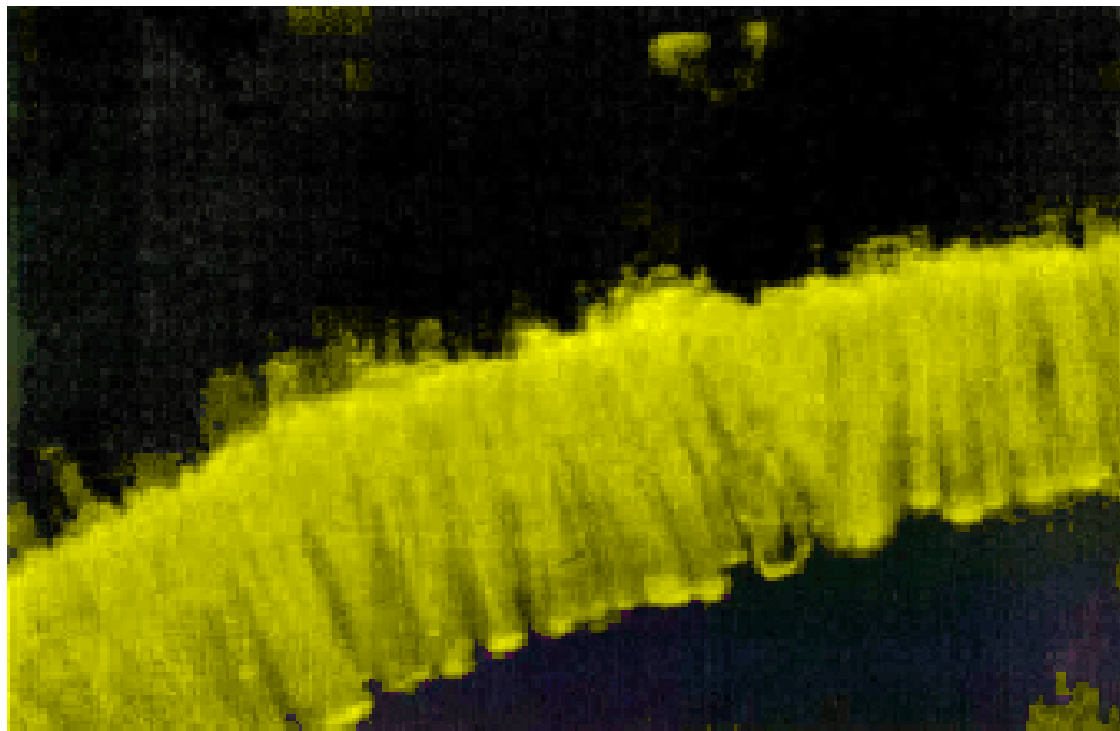
яйників, використаних у скринінгу (190). Інші автори повідомляли про добрі результати в лікуванні раку шийки матки (27, 96).

Вибіркове нагромадження NSC 631570 у пухлинній тканині, доведене автофлюоресценцією

Вибіркова дія NSC 631570 на ракові клітини підтверджується завдяки його автофлюоресценції в ультрафіолетовому світлі (4). Вперше ця властивість NSC 631570 була представлена 1983 року на 13-ому Міжнародному конгресі з хіміотерапії у Відні. У цій роботі було підтверджено, що NSC 631570 вибірково нагромаджується в ракових клітинах. Це селективне нагромадження корелює з ефективністю препарату. З виведенням УКРАЇНу з організму зменшується і інтенсивність флюоресценції (1).

На цьому конгресі вперше були представлені повідомлення про успішне застосування NSC 631570 в лікуванні онкологічних пацієнтів на пізніх стадіях, коли всі стандартні методи лікування були вичерпані. Незважаючи на поганий прогноз, NSC 631570 викликав повну ремісію в частини пацієнтів і деякі з них живуть досі.

УКРАЇН (NSC 631570): автофлюоресценція в ультрафіолетовому світлі



В ультрафіолетовому світлі УКРАЇН флюоресцує в жовто-зеленому спектральному діапазоні. Довжини хвиль збудження знаходяться в межах 220-490 нм, спектральна ширина флюоресценції – від 410 до 665 нм (4).



Плита для тонко-шарової хроматографії з краплями препарату УКРАЇН в ультрафіолеті. Зліва – розчин УКРАЇНу в дистильованій воді в концентрації 10 мг/мл. Серійні розчинення з фактором 10 (1 мг/мл, 0,1 мг/мл і т.д.)



Пацієнтка Н.Е., 82 роки. В анамнезі –множинні виразкові базаліоми в ділянці носа та лівої щоки протягом півтора року.



Та сама пацієнтка в ультрафіолетовому світлі 254 нм три хвилини після першого внутрішньом'язевого введення 5 мл УКРАїНу. Видно сильну флюоресценцію пухлин і навколишніх тканин. Після введення УКРАїНу за тиждень була видна тільки слабка флюоресценція, що супроводжувалося помітним регресом пухлин.

КЛІНІЧНІ ВИПАДКИ

Крім клінічних досліджень, NSC 631570 також застосовується багатьма лікарями в лікуванні різних пухлин, наприклад раку шийки матки (96), раку яйників (97), раку яєчок (98), карциноми стравоходу (99), уретральної карциноми (100) та нейробластоми (116). Такі повідомлення доповнюють картину клінічного застосування NSC 631570.

Рак молочної залози

Лікарі повідомляють про успішне лікування пацієнтки в IV стадії раку молочної залози. Після лікування NSC 631570 розмір пухлини зменшився і її хірургічне усунення полегшилося (162).

Є й інші повідомлення про успішне застосування NSC 631570 при раку молочної залози (94, 95), включно з випадком рецидивуючої карциноми з легeneвими метастазами (94).

Саркоми

Поряд з частими епітеліальними карциномами, більш рідкісні саркоми становлять серйозну проблему в онкології через їхню резистентність до лікування (93). Тим цікавішим є випадок ретроперитонеальної саркоми, успішно лікованої NSC 631570. На час публікації, тобто 4 роки після початку лікування NSC 631570, пацієнтка знаходилась у повній ремісії (163).

Саркома Юїнга – це пухлина зі сполучної тканини кісткового мозку. Це рідкісна хвороба з частотою 3 нових захворювання на мільйон населення. Саркома Юїнга може виникнути в будь-якому місці кісткового остову, але в більшості випадків уражаються гомілкові кістки, кістки тазу, лопатка або ребра. Найчастіше хвороба вражає дітей віком 10 - 15 років, проте захворюти можуть і молодші пацієнти.

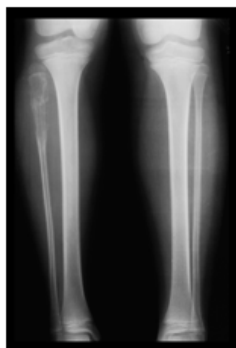
У 9-річної дівчинки з Польщі діагностували саркому Юїнга. Вона отримала хіміо- та радіотерапію, однак ріст пухлини зупинити не вдалося. Пацієнтку виписали додому з безперспективним прогнозом. Батьки привезли її доВідня, до відомої дитячої лікарні св. Анни, сподіваючись отримати там найкраще лікування. Лікарі провели нові обстеження і змушені були оголосити, що не можуть допомогти дівчинці. Був використаний повний репертуар лікування, але пухлина продовжувала рости. У цей час батьки дівчинки випадково почули про УКРАЇН і звернулися до д-ра Василя Новицького. 21 січня 1984 року було розпочато лікування препаратом УКРАЇН.

Після 6 місяців лікування УКРАЇНОМ дівчина знову пройшла обстеження в лікарні св. Анни. Лікарі з подивом констатували, що ріст пухлини не лише зупинився – вона зменшилася. Однак вони не проявили жодного зацікавлення препаратом УКРАЇН.

Лікування УКРАЇНОМ було продовжено. На вимогу д-ра Новицького, раз на півроку перебіг хвороби контролювався в лікарні св. Анни. Так д-р Новицький намагався звернути увагу лікарів на УКРАЇН (на жаль, без успіху).

Поступово пухлина зникла повністю і рентгенологічне обстеження 31 жовтня 1990 року виявило регенерацію втраченої кісткової тканини (28).

Саркома Юїнга, вперше діагностована 22 листопада 1983, гістологічно верифікована. Пухлина резистентна до хіміотерапії та променевої терапії. Лікування УКРАЇНОМ розпочато 21 січня 1984.



22.11.1983



18.1.1984



14.12.1984



31.10.1990

9-річна дівчина вперше відчула біль в ділянці нижче правого коліна в листопаді 1983 року.

У 10-річної дівчини саркома Юїнга була верифікована гістологічно. Дівчина отримала лікування в групі високого ризику в рамках клінічного дослідження EICESS 92. МРТ тазу виявив прогресію хвороби. Пухлина була резистентна до хіміотерапії та опромінення. Було почато лікування NSC 631570, 15 мг, у комбінації з аскорбіновою кислотою, 5 г на 250 мл 5%-ної глюкози, через день з локальною гіпертермією, загалом 10 сеансів. Контрольна МРТ виявила відсутність прогресування хвороби. Наступні курси терапії викликали регресію пухлини. На МРТ через 4 роки ознак рецидиву чи метастазування не виявилось (115). Ремісія триває досі.

Саркома Юїнга, вперше діагностована 18.3.1996. Пухлина була резистентною до хіміотерапії та опромінення. Лікування УКРАЇНОМ було почато 13.10.1997 (115).



1.9.1997



15.6.1999



1.2.2000



1.9.1997



1.2.2001



1.2.2001

Дослідження на клітинних культурах, проведені вченими університету Тюбінген (Німеччина) показали ефективність NSC 631570 при саркомі Юїнга. Ці дослідження, а також повідомлення про успішні клінічні застосування, такі як д-ра Ашгофа,

неодноразово подавалися до міністерства охорони здоров'я. У клініці д-ра Ашгофа «лікувалися онкологічні пацієнти, в яких вже були вичерпані всі можливі стандартні протоколи і настав рецидив та/або прогресування хвороби» (161). Навіть серед таких пацієнтів др. Ашгоф досяг високих рівнів ремісії за допомогою NSC 631570, для прикладу, при саркомі Юінга – 50%.

Рак нирки

NSC 631570 застосовувався в лікуванні раку нирки після того, як терапія вінбластином зазнала невдачі і пухлина поширила метастази. За допомогою NSC 631570 була досягнута повна ремісія, яка тривала 32 місяці на час публікації (164).

Рак яєчок

NSC 631570 був застосований у комбінованому лікуванні несеміномного раку і поліпшив імунні параметри пацієнта (98).

Рак стравоходу

Лікування NSC 631570 пацієнта з карциномою стравоходу викликало тривалу ремісію (99).

Рак сечового міхуря (уротеліальна карцинома)

Описано випадок успішного лікування уротеліальної карциноми NSC 631570. Автори повідомляють про тривалу ремісію і поліпшену якість життя пацієнта (100).

Нейробластома

Після того як хіміотерапія не змогла зупинити прогресування хвороби, пацієнт отримав курс лікування NSC 631570. Пухлина помітно зменшилася, метастази теж були чутливими до лікування. Крім того, поліпшилася якість життя пацієнта (116).

Спадкові захворювання

Туберозний склероз (хвороба Прінгла)

Як приклад застосування NSC 631570 при спадкових хворобах можна навести випадок дівчини з туберозним склерозом. Після успішного лікування пацієнтка стала дорослою жінкою і народила здорового хлопця (210).

Генералізований лімфангіоматоз

Ще одна публікація описує успішне лікування важкого спадкового захворювання (211). Трирічний Штефан Дан з діагнозом генералізований лімфангіоматоз був виписаний з лікарні, після того як усі методи лікування були вичерпані. Батькам повідомили, що їх син ніколи не буде говорити і ходити. Після двох років лікування NSC 631570 лікарем загальної практики, дитина змогла і говорити, і ходити. Не зважаючи на це, терапія була зупинена. Тоді пухлина почала рости і викликала компресію спинного мозку. Штефан – уже 8-річний хлопець – був прооперований. Незважаючи на хірургічне втручання, стан юного пацієнта постійно погіршувався, що зрештою привело до необхідності постійної штучної вентиляції легенів. Настала параплегія. У такому стані хлопець був виписаний додому для продовження догляду. Йому давали морфін 4 рази на день для зняття болю, він був постійно підключений до домашнього респіратору. Після всього, лікарі порадили його батькам знову повернутися до терапії NSC 631570. І хоча стан дитини вдалося поліпшити – Штефан дуже інтелігентний хлопець, може читати, писати, але ніколи не зможе ходити.

Пігментна ксеродерма

Пігментна ксеродерма (ПК) є генетичним порушенням репарації ДНК, при якому здатність відновлення пошкоджень, викликаних ультрафіолетовим випромінюванням, є недостатня. Наслідком є множинні базаліоми та інші злоякісні шкірні утвори вже в дитячому віці. Метастатична злоякісна меланома і плоскоклітинний рак є двома найчастішими причинами смерті хворих на ПК. ПК є дуже рідкісною хворобою. Її частота має регіональні коливання в межах 1:250000 (США) до 1:40000 (Японія). Близько 250 хворих живуть у США, близько 50 – в Німеччині, переважно діти. Тривалість життя є низькою, зазвичай пацієнти не доживають до десяти років. Пошкодження ДНК, викликані ультрафіолетом, можуть викликати мутації в окремих клітинах. Тому у пацієнтів з ПК ризик виникнення раку шкіри більш як у 2000 разів перевищує таку небезпеку в загальній популяції.

Повідомлення про успішне застосування NSC 631570 у пацієнта з ПК вказує на те, що цей препарат може бути дуже корисним і при цій вродженій хворобі (212).

УКРАЇН (NSC 631570) при пігментній ксеродермі.

Пацієнт С.С., 8-річний хлопець з виразковим ураженням шкіри носа. Діагноз пігментної ксеродерми був поставлений, коли йому було 10 місяців. До віку 3 років кількість шкірних уражень суттєво зростає. У травні 2002 була діагностована плоскоклітинна карцинома носа, T4NXMO, гістологічно верифікована. У період травень – червень 2002 було проведено 3 цикли хіміотерапії (циклофосфамід, вінкрисін, вінбластин), проте ріст пухлини зупинити не вдалося. Обстеження в квітні 2004 року виявило деформуючу злоякісну меланому носа з проростанням у хрящі перетинки, розміром 3х3 см. Лікування препаратом УКРАЇН було почато 20 травня 2004 року, 5 мг довенно двічі на тиждень, до загальної дози 85 мг. Місяць після останнього введення УКРАЇНу виявлено повну регресію пухлини. Дефект шкіри частково заміщений сполучною тканиною. Стан ксеродермних уражень поліпшився по всьому тілу.



Фото 1. Пацієнт С.С. до лікування препаратом УКРАЇН. Деформуюча інвазивна злоякісна меланома носа. Квітень 2004.



Фото 2. Аутофлюоресценція NSC-631570 в ділянці меланому в ультрафіолетовому світлі під час першого довенного введення. Травень 2004.



Фото 3. Пацієнт С.С. у грудні 2004. Повна регресія пухлини з заміщенням сполучною тканиною.

ПРОТИВІРУСНІ ВЛАСТИВОСТІ

Дослідники зі Санкт-Петербурга використали противірусні властивості NSC 631570 у своїх роботах з вірусним гепатитом С (ВГС). Вони виявили, що NSC 631570 в оптимальному дозуванні викликав елімінацію вірусів з крові у 40 з 56 (80%) пацієнтів (165).

У своїх дослідженнях ці вчені порівняли дію NSC 631570 у різних дозуваннях з рекомбінантним людським інтерфероном-альфа-2b (ІФН) у 75 пацієнтів з ВГС. Найкращі результати були отримані, коли NSC 631570 вводили в разовій дозі 1 мг (203).

Для оцінки дії NSC 631570 на вірус імунодефіциту людини (ВІЛ) були проведені пілотні дослідження (12). Автори зазначали поліпшення імунних параметрів після курсу терапії (103).

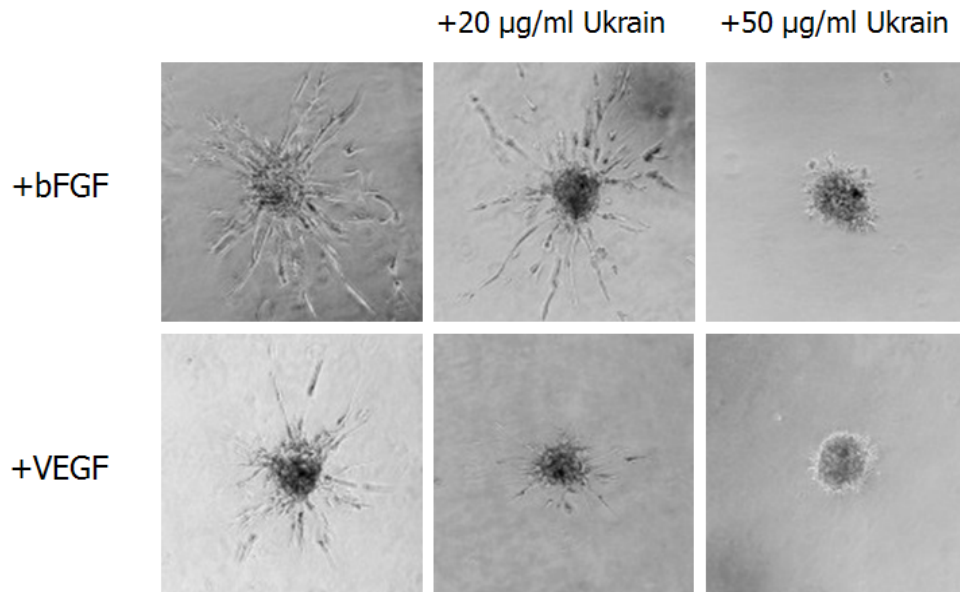
Противірусні властивості NSC 631570 були підтверджені в досліджах *in vivo* (42, 51, 52, 88, 90).

ПРИГНІЧЕННЯ ПУХЛИННОГО АНГІОГЕНЕЗУ

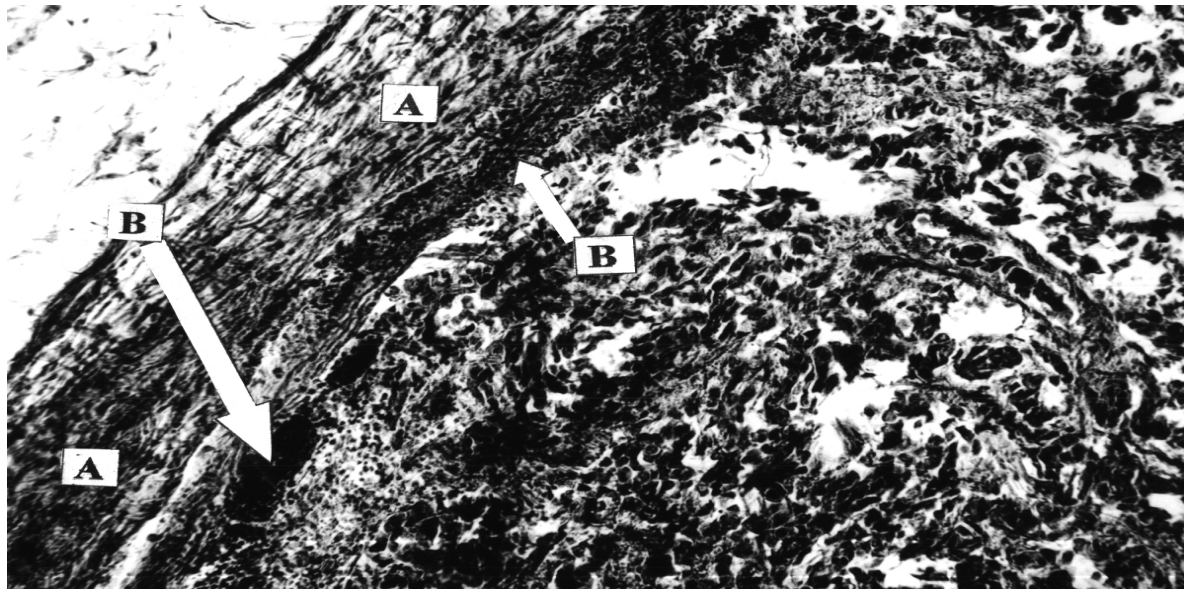
NSC 631570 пригнічує утворення нових судин, які кровопостачають пухлину. Завдяки цим антиангіогенним властивостям, при введенні до операції NSC 631570 сприяє кращому відмежуванню пухлини від навколишніх тканин та її інкапсуляції. Це полегшує хірургічне видалення пухлин, що було клінічно підтверджено в дослідженнях при раку молочної залози (68, 73, 114). Рекомендується зменшити масу наявної в організмі пухлинної маси за 7-10 днів після початку лікування NSC 631570.

У досліджах *in vitro*, NSC 631570 пригнічував дозозалежним чином проліферацію ендотеліальних клітин людини без цитотоксичної дії проти них. Пригнічення ангіогенезу спостерігали на моделі утворення капілярів. Ангіогенез є критично важливим фактором росту пухлин (136).

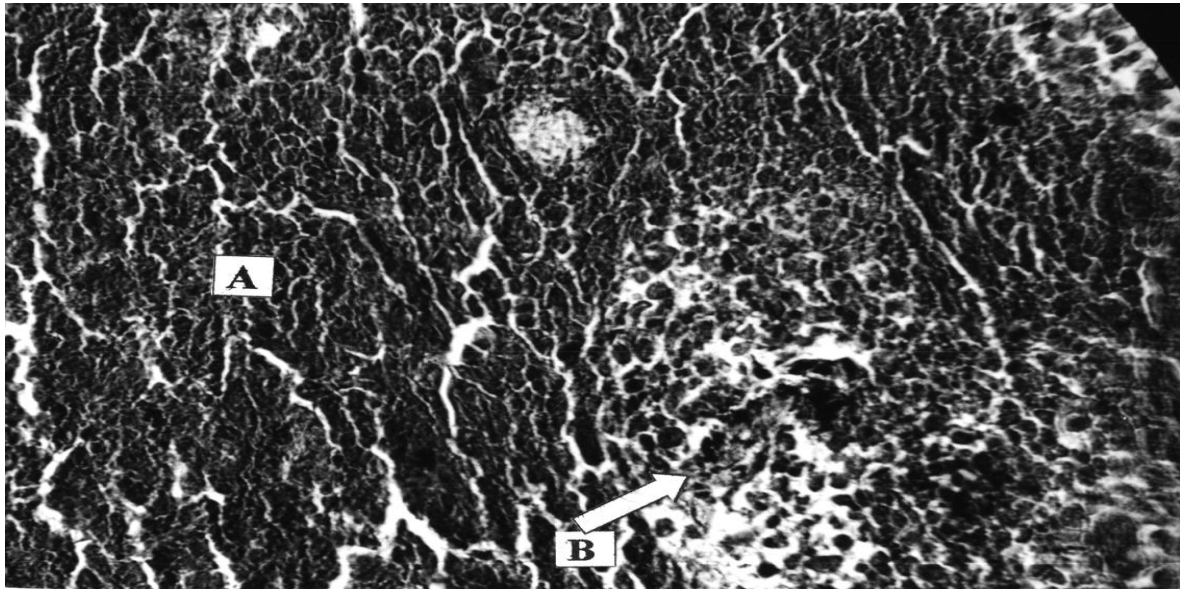
Пригнічення утворення капілярів на моделі ендотеліальних сфероїдів NSC 631570



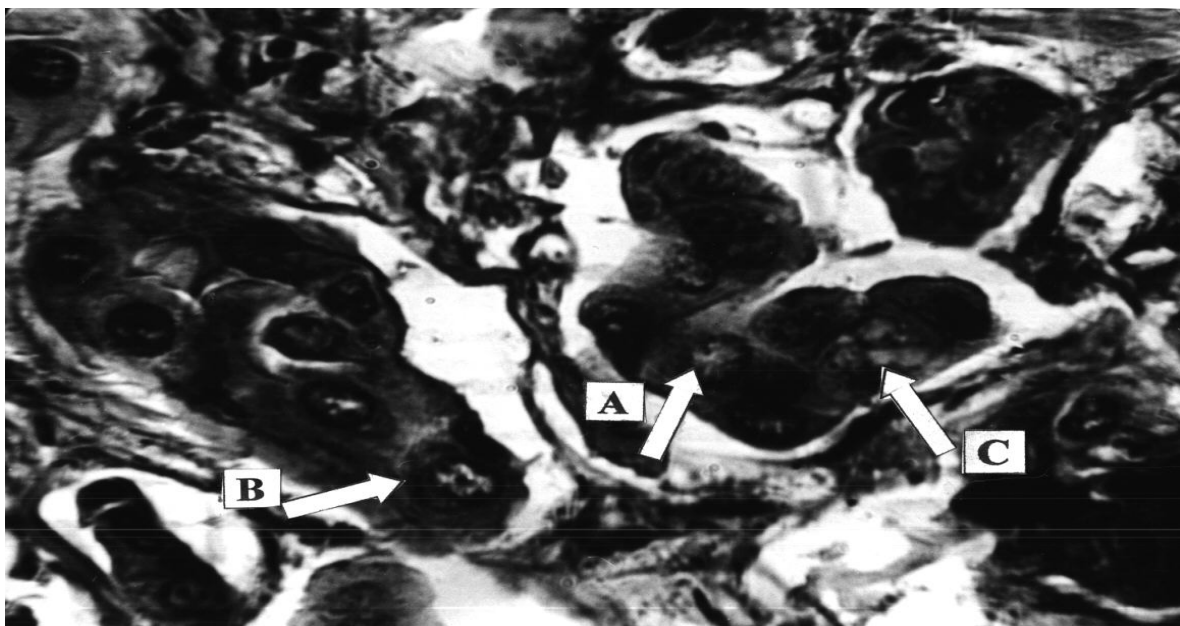
Аденокарцинома підшлункової залози. Передопераційне лікування препаратом УКРАЇН у загальній дозі 100 мг, протягом 10 днів до операції (панкреатодуоденектомія). Утворення капсули (А) навколо пухлини. Пухлинні клітини не інфільтрують капсулу. Масивна інфільтрація круглими клітинами (В) ділянки на межі пухлини і капсули. Гематоксилін еозин, x100.



Аденокарцинома підшлункової залози. Передопераційне лікування препаратом УКРАЇН у загальній дозі 100 мг, протягом 10 днів до операції. Некроз пухлинної тканини (А), пригнічення утворення нових судин (дефект капілярної стінки та ендотеліальної вистилки, В). Гематоксилін еозин, х200.



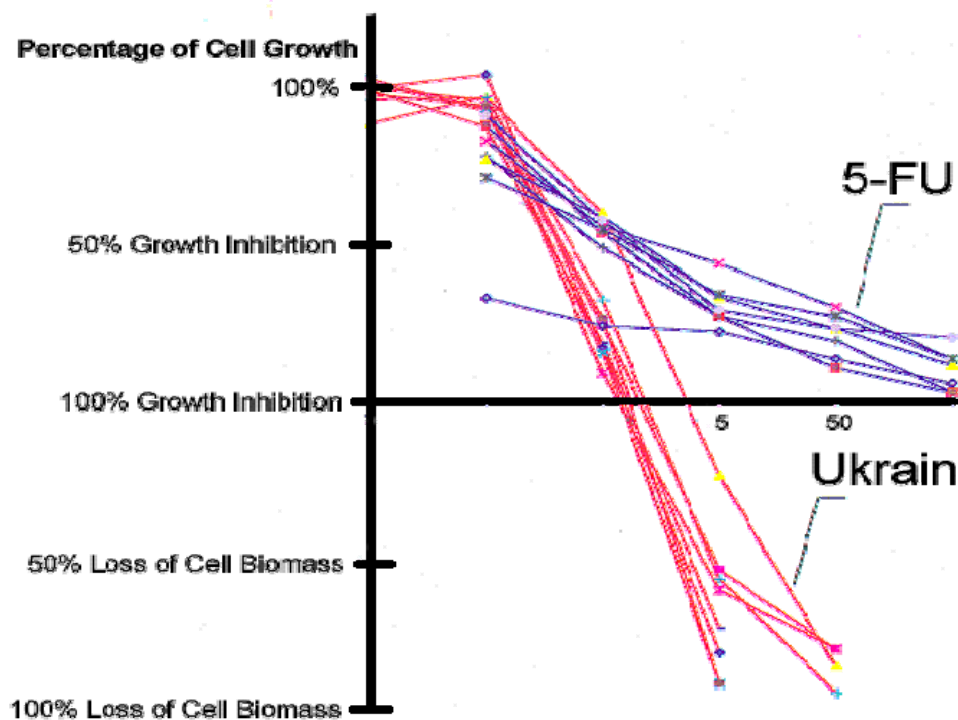
Аденокарцинома підшлункової залози. Передопераційне лікування препаратом УКРАЇН у загальній дозі 100 мг, протягом 10 днів до операції. Зміни в ядрах: дисперсія (А) та фрагментація (В) хроматину, гідропічна дегенерація цитоплазми (С). "залізний" гематоксилін – ван Гізон, х500.



ДОСЛІДЖЕННЯ *IN VITRO*

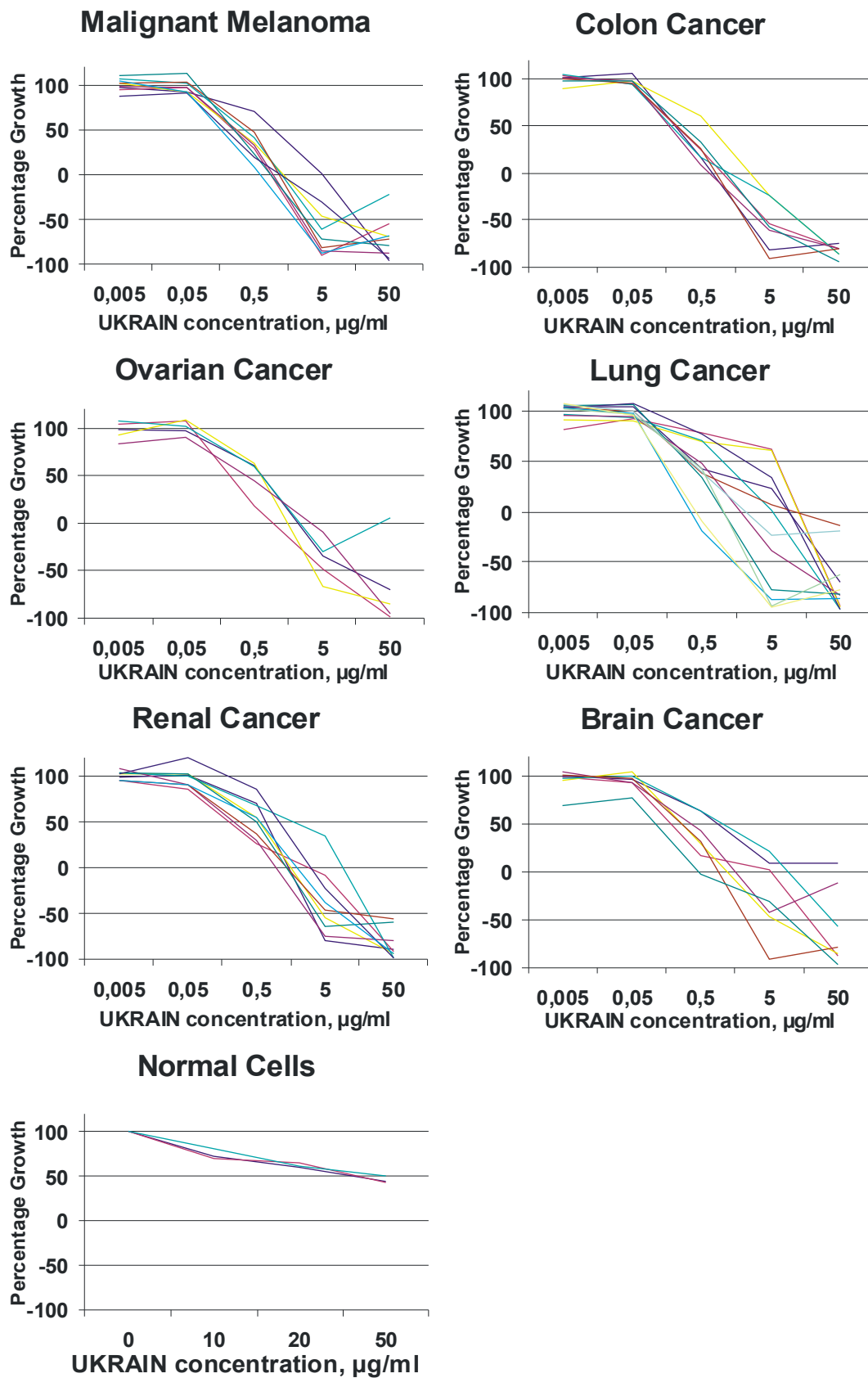
Клінічна ефективність NSC 631570 не є випадковою і не відноситься до «спонтанних ремісій». Це наслідок властивостей препарату, підтверджених численними дослідженнями *in vitro* and *in vivo*.

До сьогодні, NSC 631570 був протестований на більш як 100 клітинних ліній. Серед іншого, NSC 631570 був досліджений у Національному Інституті Раку (Бетезда, Меріленд, США) на 60 клітинних лініях, що представляють вісім найважливіших злоякісних пухлин людини: пухлини мозку, рак яйників, дрібноклітинний та недрібноклітинний рак легенів, рак товстої кишки, нирок, лейкемія та злоякісна меланома. NSC 631570 проявив токсичну дію проти всіх цих ліній (40, 190). Порівняно з 5-фторурацилом (5-ФУ) та гемцитабіном, двома стандартними цитостатиками в лікуванні пухлин травного тракту, NSC 631570 досягнув кращих результатів і не лише сповільнив ріст злоякісних клітин, але й зменшив їх масу.



Цитотоксична дія NSC 631570 на ракові клітинні лінії M-HeLa і Hep-2/0-6-5 була більш виражена, ніж синтетичного препарату оліфен (61). NSC 631570 пригнічував ріст чотирьох клітинних ліній саркоми Юїнґа у прямій залежності від часу та дози. У цьому експерименті дія NSC 631570 була більш виражена, ніж дія тіотепи (243, обговорено в 244). У досліджах на клітинах карциноми Ерліха та лімфолейкемії P-388 дослідники виявили, що чутливість ракових клітин до NSC 631570 залежить значною мірою від фази клітинного циклу. Перший пік чутливості наставав наприкінці фази G1, другий – у фазі G2 (148). Вплив глюкози, сукцинату, величини рН та підвищеної температури на ефективність NSC 631570 стосовно ракових клітин був досліджений *in vitro*. Глюкоза знижувала цитотоксичну дію NSC 631570, у той час як сукцинат посилював. Найбільш вираженою дією була при рН 7,3-8,0. Температура до 41,5 °C не мала впливу на дію NSC 631570 (117).

Результати досліджень з препаратом УКРАЇН (NSC 631570) в Національному Інституті Раку (Бетезда, Меріленд, США): дія NSC 631570 на 60 клітинних культур раку людини



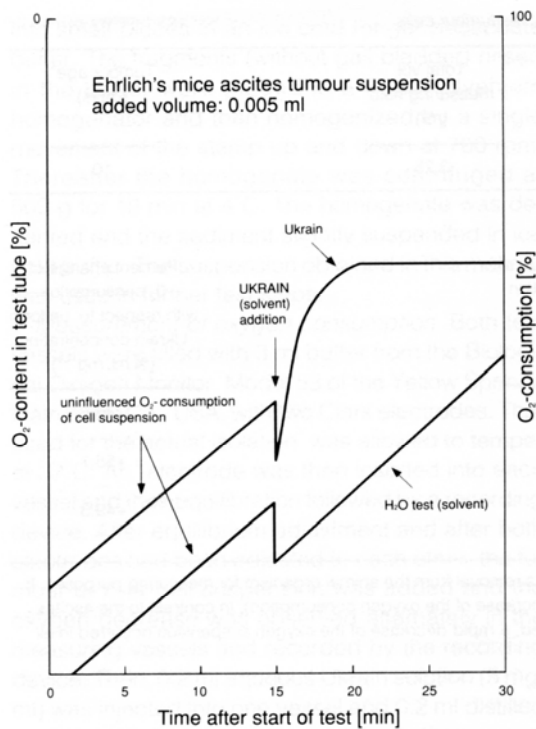
СЕЛЕКТИВНА ДІЯ NSC 631570

У порівняльних дослідженнях NSC 631570 був протестований на 18 злоякісних та 12 доброякісних клітинних лініях за однакових умов (36, 38, 63, 143, 147, 149, 181, 184, 190, 245, 255). Ці дослідження усунули всі сумніви стосовно вибіркової дії препарату УКРАЇН на ракові клітини. Численні експерименти підтвердили, що NSC 631570 є першим і поки що єдиним протираковим препаратом, токсичним тільки до ракових, але не до здорових клітин. Це пояснює його добру переносимість у клінічній практиці.

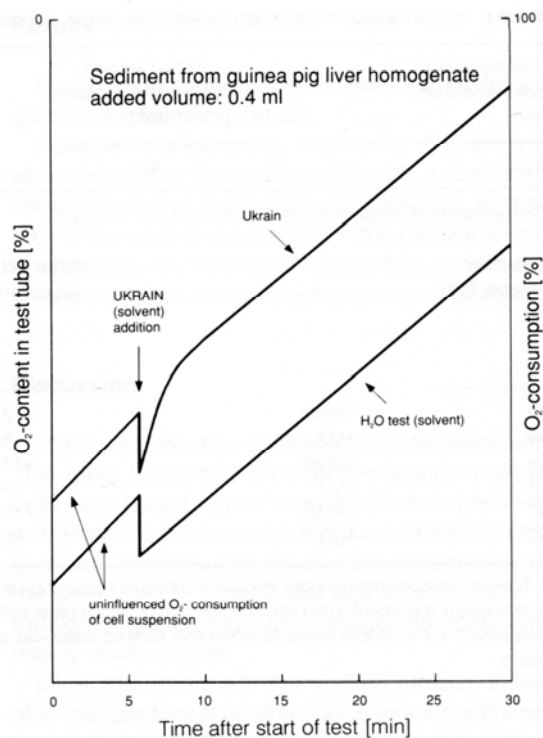
Перші вказівки на вибіркoву дію NSC 631570 на ракові клітини були отримані в ранньому дослідженні Державної установи для експериментально-фармакологічних та бальнеологічних досліджень (Відень, Австрія). Це дослідження виявило відмінності у споживанні кисню нормальними клітинами печінки та асцитними клітинами пухлини Ерліха після інкубації з NSC 631570 (38).

Приблизно у той самий час учені Віденського Аграрного Університету порівняли гальмівну дію NSC 631570 на проліферацію злоякісних і нормальних клітин. Для 50%-ного пригнічення проліферації нормальних ендотеліальних клітин концентрація NSC 631570 повинна була бути в 10 разів вища, ніж для такого ж пригнічення розмноження клітинної лінії остеосаркоми людини (36).

Різний вплив препарату УКРАЇН на споживання кисню здоровими та раковими клітинами

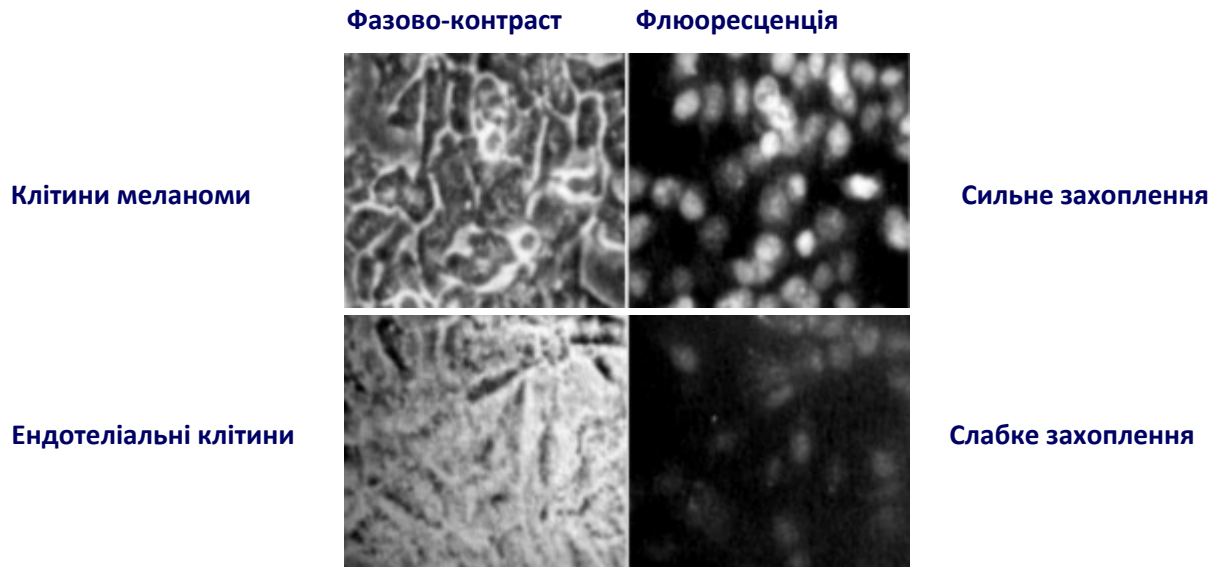


Вплив УКРАЇНу на споживання кисню злоякісними клітинами (суспензія мишачої асцитної пухлини Ерліха)



Вплив УКРАЇНу на споживання кисню нормальними клітинами (гомогенат печінки морської свинки)

Порівняння захоплення препарату УКРАЇН меланомними та нормальними клітинами (in vitro)



Hohenwarter O. et al. Selective inhibition of in vitro cell growth by the anti-tumour drug Ukrain, Drugs under Experimental Research, 1992 (36).

Селективна дія NSC 631570 на злоякісні клітини була підтверджена численними дослідженнями реномованих університетів і науково-дослідних установ.

В експериментах Європейської Організації з дослідження та лікування раку (ЕОПТС) пухлинні трансплантати людини імплантувалися голим мишам. Тоді пухлинні клітини інкубували з NSC 631570 в різних концентраціях. Були використані наступні трансплантати: рак товстої кишки CXF 1103/11, рак шлунка GXF 217/17, рак легенів LXFL 529/14, рак молочної залози MAXF 401/13, меланома MEXF 276/10 і рак яйників OVXF 899/9. NSC 631570 був активним проти OVXF 899/9 в концентрації 10 мкг/мл, а в концентрації 100 мкг/мл – проти всіх протестованих клітинних ліній з відношенням Т/К («тест до контролю») 1/135 в OVXF, 8/109 в CXF, 10/98 в GXF, 15/187 в LXFL, 34/133 в MAXF і 10/122 в MEXF (64, 189).

1998 року на 89-ому щорічному зібранні Американської Асоціації ракових досліджень у Новому Орлеані, США, дослідники з Університету Преторії, Південна Африка, представили свою першу роботу по селективній дії препарату УКРАЇН на різні ракові клітинні лінії. У своєму висновку автори відзначали, що „УКРАЇН є вибірково токсичним до злоякісних клітин і викликає в них метафазний блок, який характеризується неправильним розподілом хромосом, а його наслідком є утворення мікроядерців і апоптоз" (139). У 2000 році дослідники цієї групи виявили, що УКРАЇН пригнічує полімеризацію тубуліну. Одночасно вони заперечували вибірковість токсичної дії УКРАЇНу на злоякісні клітини (140).

Вчені з Ебергард-Карлс-Університету (Тюбінген, ФРН) вивчали дію препарату УКРАЇН на виживання клітин, зміни клітинного циклу та індукцію апоптозу в поєднанні з іонізуючою радіацією (IP) в дозі 1-10 Гр та без неї. УКРАЇН модулював радіаційну токсичність на людські злоякісні клітинні лінії і захищав нормальні від іонізуючої радіації. Досліди були проведені на наступних клітинних лініях з експоненціальним ростом: MDA-MB-231 (рак молочної залози), PA-TU-8902 (рак підшлункової залози), CCL-221 (рак товстої кишки), U-138MG (гліобластома) та фібробласти шкіри і легенів людини HSF1, HSF2 і CCD32-LU. Без IP NSC 631570 виявляв час- і додозалежну цитотоксичну дію, більш виражену стосовно злоякісних клітин. Проточна цитометрія виявила, що NSC 631570 модулював радіаційну токсичність проти ракових клітинних ліній людини і захищав нормальні клітини від опромінення.

Поєднання УКРАЇНу з іонізуючою радіацією посилювало токсичність стосовно пухлинних ліній CCL-221 і U-138MG з їх нагромадженням у фазі G2/M, але не стосовно ліній MDA-MB-231 і PA-TU-8902. Радіопротективна дія була виявлена на нормальних фібробластах шкіри та легенів людини. Автори вважають корисним застосування NSC 631570 в поєднанні з радіохіміотерапією (184).

Цитотоксична дія NSC 631570 оцінювалася на двох первинних лініях раку підшлункової залози людини (ПРПЗ), фібробластах, отриманих з протокових аденокарцином підшлункової залози та на іморталізованій епітеліальній протоковій клітинній лінії підшлункової залози (ІПЛПЗ). Цитотоксичність оцінювали кітом CellTiter 96. Цей метод базується на клітинному метаболізмі тетразолієвої сполуки ХТТ, який в присутності феназину метосульфату відновлюється живими клітинами до розчинної формазаєвої сполуки. Зміни захоплення NSC 631570 в інкубаційному середовищі визначалися по ультрафіолетовому випромінюванню за допомогою програми AlphaDigiDoc. Цитотоксична дія NSC 631570 була достовірно сильніша стосовно ПРПЗ порівняно з фібробластами та ІПЛПЗ (20% проти 80% живих клітин). Поза тим, було виявлено, що ПРПЗ споживають більше препарату, ніж фібробласти та ІПЛПЗ. Ці дані продемонстрували вибіркового ефекту препарату УКРАЇН на первинні клітини раку підшлункової залози, який може бути за рахунок різних транспортних систем або активнішого метаболізму препарату в клітинах панкреатичної протокової аденокарциноми (265).

Індукція апоптозу в ракових клітинах

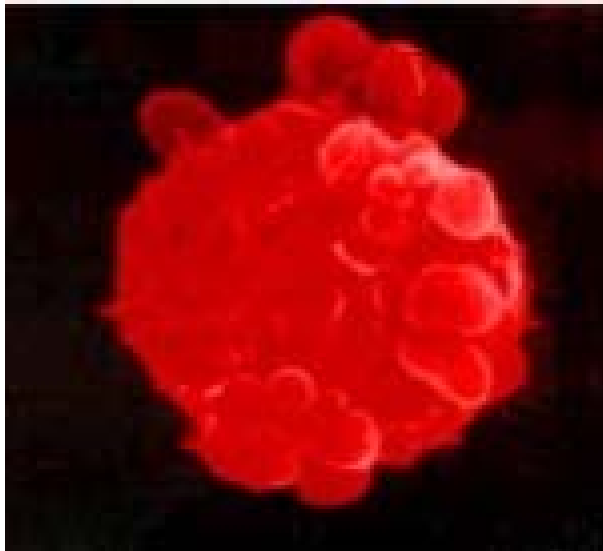
В експериментах на клітинах еритролейкемії K-562 було виявлено, що NSC 631570 викликає бімодальну загибель ракових клітин. При нижчих концентраціях NSC 631570, ракові клітини гинуть внаслідок апоптозу. При вищих концентраціях, пригнічується утворення мікротрубочок і настає поліплоїдія (56, 62).

У досліджах на лінії раку простати LNCaP, а також лініях епідермоїдної карциноми A431 і ME180, вчені з Рочестерського Університету (США), показали, що УКРАЇН викликає нагромадження ракових клітин у фазі G2M. На нормальні клітини цей ефект не поширювався. Дослідники також спостерігали підвищену регуляцію CDK-інгібітора p27 у ракових клітинах (149, 150).

В експериментах на людських клітинах раку шийки матки HeLa, плоскоклітинної карциноми WNC05, нормальній нирковій лінії Graham 293 і трансформованій нирковій лінії Vero зеленої африканської мавпи вчені Університету Преторії (Південна Африка) виявили, що „NSC 631570 є вибірково токсичним до злоякісних клітин і викликає в них метафазний блок, який характеризується неправильним розподілом хромосом, а його наслідком є утворення мікроядерців і апоптоз" (139).

Смертельна дія NSC 631570 проти ракових клітин – індукція апоптозу

Апоптоз



Оцінюючи клітинну проліферацію по включенню BrdU в клітинних культурах раку підшлункової залози AsPC1, VxPC3, MiaPaCa2, Jurkat and THP-1, а фази клітинного циклу — забарвленням за Гімзою, автори виявили, що УКРАЇН у дозі 10 мкг/мл викликає через 24 год виражене нагромадження інкубованих клітин у фазі G2/M. Частота апоптозу в інкубованих аналогічно периферичних мононуклеарах не відрізнялась між інкубованими і контрольними клітинами. Крім того, стимульовані мітогенами лімфоцити проявили підвищену бластогенну реакцію (181).

Індукція апоптозу NSC 631570 була також підтверджена у дослідях *in vitro* на яйникових клітинах китайських ховрашків. Дія NSC 631570 та етопозиду була синергічна в експерименті (167).

Пригнічення полімеризації тубуліну

У дослідях з коров'ячим тубуліном учені виявили, що NSC 631570 гальмує полімеризацію тубуліну (146).

Механізм дії УКРАЇНу на рак підшлункової залози вивчався на клітинних лініях AsPC1, VxPC3, Саран1, MiaPaCa2 і Ранс1. Автори спостерігали, що УКРАЇН викликав у клітинах раку підшлункової залози дозо-залежну зупинку клітинного циклу в фазі G2/M. Серійні

досліди показали, що дія на фази клітинного циклу, викликана препаратом УКРАЇН у концентрації 10 мкг/мл, стає незворотною після 8 годин інкубації. Досліди з полімеризацією мономерного тубуліну *in vitro* виявили, що УКРАЇН стабілізує тубулінові мономери і внаслідок цього пригнічує утворення мікротубулінових трубочок (143).

Активація мітохондріальних каспаз

Каспази, або цистеїн-аспартамові протеази складують родину ферментів, які відіграють важливу роль в апоптозі (програмованій загибелі клітин), а отже, і в лікуванні раку.

У дослідях на моделі лімфоми Jurkat було показано, що NSC 631570 є потужним індуктором апоптозу. Поглиблені дослідження виявили, що NSC 631570 викликає деполаризацію мітохондріальних мембран з наступною активацією каспаз (246).

Існує два типи апоптозних каспаз: ініціаторні (апикальні) та ефекторні (екзекутивні). Ініціаторні каспази CASP8 і CASP10 індують залежний від фактору смерті, або зовнішній каскад апоптозу, тоді як ефекторна каспаза CASP9 «вмикає» внутрішній, або мітохондріальний апоптоз. У дослідях Національного інституту ракових досліджень (Мехіко, Мексика) вчені виявили, що NSC 631570 викликає апоптоз у низці ракових клітинних ліній (рак шийки матки HeLa, HeKB, HeKS32, HeVcl3, HeNFR і HeIKK, рак товстої кишки людини SW480, рак нирки людини HEK293, остеосаркома людини MG-63) активацією внутрішнього каскаду апоптозу. Цікаво, що нетрансформовані фібробласти hTERT були нечутливі до препарату (255).

Щоб оцінити цитотоксичність NSC 631570 *in vitro*, дослідники Університету Еморі (Атланта, Джорджія, США) та Університету Кеннесоу (Кеннесоу, Джорджія, США) застосували клітини раку молочної залози мишей (4T07 і TUBO) та людини (SKBR-3). 4T07 і TUBO є високо карциногенними неметастичними пухлинними культурами клітин, отриманими зі спонтанних карцином мишей BALB/cfC3H і BALB-neuT, відповідно. Культурам TUBO і SKBR-3 конституційно притаманна експресія онкогену HER-2/neu, надмірна експресія якого знайдена у близько 30% пацієток з раком молочної залози. Після досягнення 90-95% конfluентності пухлинні клітини обробляли трипсином, після чого інкубували з препаратом УКРАЇН у різних концентраціях. Через 24, 48 і 72 год інкубації методом виключення трипанового синього визначали кількість клітин та їх виживання. Щоб виявити, чи пухлинні клітини зберегли здатність до необмеженого розмноження, проводили клоногенну пробу. Клітини висіювали у відповідних розведеннях для утворення колоній протягом 2-3 тижнів. Колонії фіксували і забарвлювали кристалічним фіолетовим, а потім підраховували мікроскопічно. Нарешті, щоб визначити, чи цитотоксична дія препарату УКРАЇН зумовлена індукцією апоптозу, проводили внутріклітинне забарвлення на активну каспазу-3. Автори спостерігали дозо- і часозалежне пригнічення росту пухлинних клітин. У концентрації 50 мкмоль/мл УКРАЇН викликав достовірне зниження виживання пухлинних клітин у порівнянні з контролем. Клоногенна проба виявила нездатність пухлинних клітин утворювати колонії та відновлювати свій проліферативний потенціал, тоді як контрольні клітини, які не інкубували з УКРАЇНом, утворювали численні колонії. Автори спостерігали також кількаразове зростання активності каспази-3 в клітинах, інкубованих з NSC 631570, порівняно з контролем, що підтверджує апоптоз як цитотоксичний

механізм дії. Ці дані вказують на те, що УКРАЇН може бути ефективним препаратом у лікуванні раку молочної залози завдяки своїм короточасним та довготривалим гальмівним ефектам на виживання та проліферацію пухлинних клітин.²

Дія на цикліни та циклін-залежні кінази

Цикліни – це сімейство білків, які контролюють проходження клітин через фази клітинного циклу, активуючи циклін-залежні кінази (ЦЗК). Циклін утворює комплекс з ЦЗК, що викликає активацію активного центру ЦЗК. При низьких концентраціях у клітині цикліни від'єднуються від ЦЗК (відбувається дисоціація), і їх ферментна активність зменшується. Це відбувається тому, що протеїновий ланцюг ЦЗК блокує її активний центр після дисоціації. Є кілька різних циклінів, які активні в різних фазах клітинного циклу і які викликають фосфорилляцію різних субстратів ЦЗКами. Підвищення концентрації цикліну А сприяє переходу клітини у фазу G2, у той час як циклін В необхідний для початку мітозу.

Дослідники Рочестерського Університету вивчали дію NSC 631570 на цикліни та ЦЗКи в епідермоїдних клітинних лініях ME180 та A431, а також у лінії раку простати LNCaP. Вони знайшли зміни в концентраціях мітотичного цикліну А і В1, а також ЦЗК1 і ЦЗК2. Крім того, в обох злоякісних лініях була виявлена підвищена експресія інгібітора ЦЗК - білка p27. Це може викликати нагромадження клітин у фазі G2/M (147, 149).

Дія на експресію білків hENT1 та dCK

Взаємодія між NSC 631570 та експресією молекулярних детермінант, залучених у метаболі гемцитабіну, таких як hENT1 and dCK, були оцінені у дослідженнях *in vitro* на клітинах протокової карциноми підшлункової залози (ПКПЗ). Були використані дві клітинні лінії PL45 and MiaPaCa-2 з колекції ATCC та дві первинні клітинні культури (ПКК), отримані від пацієнтів з ПКПЗ після хірургічної резекції – PPTCC78 та PPTCC109. Клітини інкубували з NSC 631570 48 год при рівнях концентрації IC50. Були проведені нормалізація кількісне визначення експресії контрольного гена гліцеральдегід-3-фосфат-дегідрогенази (ГАФДГ). NSC 631570 позитивно моделював експресію hENT1 мРНК у всіх клітинних лініях ПКПЗ, інкубованих при IC50 ($p < 0.001$). Статистичний аналіз виявив середнє підвищення в 2,8 рази ($p = 0,001$) порівняно з нелікованими контрольними клітинами. У клітинних лініях PL45 та MiaPaCa-2 NSC 631570 також позитивно впливав на експресію mRNA гена dCK (264).

Базуючись на попередніх клінічних даних комбінація NSC 631570 та гемцитабіну виглядає багатообіцяючою схемою лікування і результати цього дослідження надали експериментальну основу для її подальшого клінічного вивчення при ПКПЗ³.

² E.N. Bozeman, H. Mohammadi, R. Shashidharamurthy, D. Daniels, P. Selvaraj. Analysis of the short-term and long-term *in vitro* cytotoxic effects of the anticancer drug Ukrain in breast cancer models. American Association for Cancer Research 102nd Annual Meeting, April 2-6, 2011, Orlando, Florida, abs. 5433.

³ Funel et al. Molecular mechanisms underlying the synergistic interaction of the novel anticancer drug Ukrain with gemcitabine in preclinical models of pancreatic cancer. 44th Annual Pancreas Club Meeting, New Orleans, USA, 2010.

Вплив на синтез нуклеїнових кислот і білків

Вплив NSC 631570 на синтез ДНК та білків вивчався *in vitro* на клітинних лініях HeLa, Yoshida, мишачої лімфоми, мишачої мієломи, людської пухлини WiDr, EB, EsB, YAC-1 і P815. NSC 631570 у дозі 1-100 мкг/мл пригнічував синтез ДНК, РНК та білків у цих лініях залежно від застосованої дози. За тих самих експериментальних умов пригнічення синтезу в нормальних клітинах – мигдаликів людини та печінки морської свинки – було набагато менше виражено (58, 63).

Серед інших механізмів дії NSC 631570 вивчався його ефект на ендонуклеази печінки щурів та на топоізомерази (топоізомерази відіграють важливу роль у метаболізмі нуклеїнових кислот. У цих дослідах NSC 631570 пригнічував активність металозалежних ендонуклеаз, а також топоізомераз (166).

Дія на білки, задіяні в ремоделюванні позаклітинного матриксу

Італійська група дослідників з Міланського Університету застосувала реверсну полімеразну ланцюгову реакцію (РТ-ПЛР), Вестерн блот та СДС-зимографію, щоб оцінити вплив NSC 631570 на експресію генів і білків, задіяних у ремоделюванні позаклітинного матриксу. Вони відмічали достовірне дозозалежне зменшення проліферації гліобластомних клітин і тенденцію до пригнічення секретованого білка, багатого на цистеїн (СКББЦ). Це дослідження надало теоретичне підґрунтя для застосування NSC 631570 при гліобластомі. Автори прийшли до наступного висновку: NSC 631570 може бути корисним лікувальним засобом у лікуванні пухлин мозку (245). Це було підтверджено його клінічним застосуванням (див. «Пухлини мозку»).

У своїй подальшій роботі з гліобластомними клітинами італійські дослідники виявили, що NSC 631570 підвищує експресію кислого гліального фібрилярного білка (КГФБ). На експресію конексину 43 NSC 631570 не вплинув. Ці результати ще раз підтвердили потенціал NSC 631570 у лікуванні пухлин мозку (250).

Італійська група досліджувала також, чи NSC 631570 в стані модулювати *in vitro* експресію деяких білків, задіяних у пухлинній прогресії трьох клітинних ліній раку нирки світлоклітинного типу (СКРК). СКРК клітинні лінії CAKI-1, CAKI-2 та ACHN були інкубовані з трьома дозами NSC 631570 (5, 10 та 20 мкМ) або залишені нелікованими протягом 48 год. Білок СКББЦ визначався Вестерн блотом, активності ММП-2 і ММП-9 визначалися СДС-зимографією у скпернатанті клітинних культур, а розподіл клітин по різних фазах клітинного циклу обчислювалася за допомогою ФАСК (флюоресцентно активоване сортування клітин) аналізу⁴.

Дія NSC 631570 на модуляцію деяких ключових маркерів пухлинної прогресії карцинома підшлункової залози вивчалися на трьох клітинних лініях HPAF-II, PL45 і HPAC. Ці лінії інкубували з NSC 631570 (5, 10 і 20 мкМ) протягом 48 год або лишали для

⁴ Pettinari et al. Matrix metalloproteinases activity and SPARC expression are targeted by Ukrain administration in renal cell carcinoma. Presentation at the symposium 'Targeting Cancer Invasion and Metastasis', Miami, USA, 2010.

контролю. Рівні мРНК СКББЦ оцінювалися ПЛР у режимі реального часу. Активності ММП-2 і ММП-9 визначалися СДС-зимографією., рівень СКББЦ у клітинних лізатах і супернатантах – Вестерн блотом. Клітинний цикл аналізувався проточною цитометрією, а інвазія – у матрігельному тесті. NSC 631570 пригнічував регуляцію ММП-2 і ММП-9, що вказує на його здатність зменшувати інвазивність клітин карциноми підшлункової залози, підтверджену в матрігельному тесті. Зниження експресії СКББЦ у супернатантах свідчить про гальмування NSC 631570 ремоделювання позаклітинного матриксу в мікрооточенні пухлини. У той же час, підвищення клітинного рівня СКББЦ та його мРНК вказує на те, що NSC 631570 може впливати на проліферацію клітин шляхом пригнічення клітинного циклу з зупинкою клітин у фазі G2/M (266).

На клітинних лініях Saki-1, Saki-2 і ACHN досліджувалося, чи NSC 631570 модулює злоякісний фенотип яєноклітинного раку нирки (ЯКРН). Маркери епітеліально-мезенхімального переходу Е-кадгерин, β -катенін і віментин аналізували імунофлюоресцентним методом, так само як актин і тубулін. Матриксні металопротеїнази 2 і 9 (ММП-2 і ММП-9) визначали СДС-зимографією, внутріклітинний та секретований кислий протеїн, багатий цистеїном (КПБЦ) – вестерн блотом, а клітинний цикл – проточною цитометрією. NSC 631570 не викликав імунної реактивності кадгерину/ β -катеніну на міжклітинній границі, хоча викликав кортикальну експресію актину в лініях Saki-2 і ACHN, і не впливав на організацію віментину. Однак, у деяких клітинах ліній Saki-1 і ACHN перінуклеарна концентрація віментину відповідала його зменшенню. Активність ММП-2 і ММП-9 була достовірно понижена після 48 год інкубації з 20 мкмоль/л NSC 631570. На цей час NSC 631570 достовірно зменшував міграцію та інвазію і понижав рівні КПБЦ у клітинних супернатантах у всіх дозах у клітинах Saki-2, а в дозі 20 мкмоль/л - у клітинах ліній Saki-1 і ACHN. Одночасно КПБЦ зростав у всіх клітинах ЯКРН, вказуючи на те, що NSC 631570 може впливати на проліферацію через пригнічення клітинного циклу, як показав аналіз його параметрів, оскільки КПБЦ діє і як інгібітор клітинного циклу. Отримані результати говорять про те, що NSC 631570 може перемикає фенотип клітин ЯКРН, який відноситься до епітеліально-мезенхімального переходу, і впливає на два важливі аспекти, задіяні в прогресію раку нирки: пухлинну інвазію з ремоделюванням мікросередовища і клітинну проліферацію (267).

Взаємодія з білками теплового шоку

У досліджах з клітинами лімфоми людини вивчалася дія NSC 631570 на лінії U-937 та U-937/hsp70. Ці лінії відрізняються по експресії білка теплового шоку 70 (БТШ70). Лінія U-937/hsp70 виявилася більш резистентною до дії NSC 631570, що автори відносять за на рахунок захисної дії БТШ70 (200).

Вплив на електрокінетичний потенціал

На клітинах карциноми Ерліха досліджувався вплив NSC 631570 на електрокінетичний потенціал (ЕКП) злоякісних та нормальних клітин. ЕКП клітин карциноми зменшувався після інкубації з NSC 631570, тоді як зменшення ЕКП нормальних клітин було менш виражене (221).

Дослідження *in vivo*

Протиракова дія довенного введення NSC 631570 (4 мкг/день) була показана у дослідгах на мишах BALB/с з імплантованою швидко проліферуючою аденокарциномою D1 DMBA-3. Були застосовані три способи введення NSC 631570: довенно, доочеревинно та підшкірно. Найефективнішим виявилось довенне введення – пригнічення росту пухлини було при ньому найбільш вираженим. Автори також оцінювали роль імунних факторів у дії NSC 631570 та виявили, що цей препарат може відновлювати цитотоксичні властивості макрофагів (26, 43).

Пізніше ефективність довенного способу введення була підтверджена у дослідгах з мишами CBA. Автори цього дослідження теж підкреслили роль макрофагів у протипухлинній дії NSC 631570 (120).

В експерименті NSC 631570 пригнічував ріст первинної меланоми B-16 та її метастазів у мишей (107).

У дослідгах з мишами C57BL6 NSC 631570 пригнічував ріст і метастазування первинної імплантованої карциноми Льюїса порівняно з контрольною групою (219). Ця дія препарату була підтверджена в іншому дослідженні, де довенне введення було знову ж таки найбільш дієвим (254).

В експериментах на 18 мишах CBA суміш 0,1 мг NSC 631570 та 10000 карциномних клітин Krebs-2 вводилася дом'язево. У контрольній групі вводили лише ракові клітини. Через 11 днів у групі, де вводили NSC 631570, відмічалось суттєве пригнічення росту пухлини. Подібну дію спомтерігали також у мишей з імплантованою гепатомою (118).

У мишей з імплантованою гепатомою HA-1 введення NSC 631570 викликало поідвищення концентрації прокатепсину В в асцитній рідині, тоді як рівень катепсину В зменшувався. Крім того, зростав рівень макрофагальної р-гексозамінідізи. Це свідчить про притік макрофагів у перитонеальну рідину (119).

Протипухлинна дія NSC 631570 була підтверджена у дослідгах на щурах Wistar з імплантованою саркомою-45 (122).

Два різновиди карциноми Ерліха були імплантовані мишам інтраперитонеально або підшкірно. NSC 631570 вводився інтраперитонеально протягом 6-ти днів. Дія препарату на пухлини оцінювалася за показниками пригнічення росту пухлини (ППП), загальною кількістю пухлинних клітин в асцитній рідині, кількістю живих пухлинних клітин та середнім виживанням дослідних тварин. Розподіл ракових клітин за фазами клітинного циклу визначався проточною цитометрією з використанням міченого *S. aureus*. Інтраперитонеальне введення NSC 631570 мишам з асцитною формою карциноми Ерліха викликало помірне пригнічення росту пухлини, але супроводжувалося місцевим запаленням і зниженням виживання дослідних тварин. У мишей зі солідним варіантом карциноми Ерліха лікування NSC 631570 призвело до достовірного підвищення ППП та незначного збільшення виживання тварин. Лікування викликало відновлення кількості циркулюючих фагоцитів у периферичній крові в обох групах тварин. Автори прийшли до

висновку, що протипухлинна дія NSC 631570 опосередковується як його прямим про-апоптозним ефектом, так і взаємодією з імуннокомпетентними клітинами мишей (262).

Дія на меланому B-16 у мишей

Вивчалася дія самого NSC 631570 або в комбінації з патоген-асоційованими молекулами (ПАМ) на ріст слабо та сильно метастазуючої меланому B-16 у мишей. Мишам з імплантованими пухлинами вводили NSC 631570 довенно, ПАМ – дом'язево 7 разів, що третій день, починаючи з другого дня після пересадки пухлинних клітин. Дія монотерапії та комбінованого лікування оцінювалася за за показниками пригнічення росту пухлин у дослідних тварин. Розподіл клітин за фазами клітинного циклу визначався проточною цитометрією. Експресію TAP1 та TAP2 оцінювали реверсною ПЛР. Метаболічну активність фагоцитів визначали тестом з НСТ, фагоцитоз – проточною цитометрією, а активність аргінази – колориметричним визначенням сечовини. Поєднане лікування та монотерапія NSC 631570 викликали достовірне пригнічення росту меланому в мишей. Монотерапія NSC 631570 була більш ефективною в мишей з сильно метастазуючою меланомою. Терапевтична ефективність NSC 631570 у поєднанні з ПАМ була більш виражена при слабо метастазуючій меланомі. Автори прийшли до висновку, що ефективність монотерапії та комбінованого лікування меланому B-16 у мишей залежить від біологічних властивостей пухлини та імунного статусу тварин (263).

Дія на цистеїнові протеази

У мишей з пересадженими лімфосаркомою LS та гепатомою HA-1 визначали концентрацію цистатину С, катепсину В та катепсину L після лікування циклофосфамідом та NSC 631570. Підвищена концентрація цистатину С була знайдена тільки в гепатомах, лікованих NSC 631570. Концентрації катепсину В та катепсину L були підвищені при лімфосаркомі LS. Ці результати вказують на апоптоз як механізм дії NSC 631570 у цих пухлинних моделях (169).

На таких самих моделях вивчали вплив NSC 631570 на катепсин D. Катепсин D є важливою лізосомальною протеазою, яка модулює апоптоз, індукований інтерфероном-гамма та ФНП-альфа. NSC 631570 у поєднанні з циклофосфамідом підвищував активність катепсину D у мишей з лімфосаркомою LS. Сам NSC 631570 не мав такої дії (170).

Цистатин С – це добре відомий позаклітинний інгібітор протеаз. Його застосовують як можливий маркер росту пухлин та ефективності протиракового лікування (204). Лікування мишей NSC 631570 підвищувало концентрацію цистатину С в пухлинній тканині в 4 рази (171).

У дослідях на самцях мишей CBA/C57Bl/6J рівень цистатину С після імплантації аденокарциноми Льюїса був удвічі меншим, ніж у контрольній групі. Поєднане лікування NSC 631570 і циклофосфамідом нормалізувало рівні цистатину (218).

Вплив NSC 631570 на цистатин А (стефін А) вивчався на експериментальних лімфосаркомі LS, гепатомі HA-1 на аденокарциномі Льюїса. Лікування NSC 631570 викликало зростання рівня стефіну А в печінці тварин з аденокарциномою Льюїса, але не в самій пухлині. В інших пухлинних моделях концентрація цистатину А не змінилась ні в печінці, ні в пухлинній тканині. При лімфосаркомі LS та гепатомі HA-1 концентрація цистатину А в сироватці зростала в перебігу лікування NSC 631570 (220).

Лікування мишей з імплантованою гепатомою HA-1 препаратом NSC 631570 викликало сповільнення росту пухлини і подовження виживання дослідних тварин. Кількість макрофагів зросла, а кількість пухлинних клітин в асцитній рідині зменшилася. NSC 631570 не впливав на активність катепсинів В та L (199).

МОДУЛЯЦІЯ ІМУННОЇ СИСТЕМИ

Доволі незвично як для протипухлинного препарату NSC 631570 має виражені імунномодуляторні властивості (24, 44). У досліджах на кількох імунних системах типу «ціль-ефектор» NSC 631570 достовірно посилював малігнотоксичну активність макрофагів (231), лімфоцитів та NK-клітин (47), а також стимулював *in vitro* дозрівання дендритних клітин (258). Оскільки такі параметри, як кількість В-лімфоцитів, рівні імуноглобулінів, комплементу та білків гострої фази суттєво не змінювалися, можна припустити, що NSC 631570 модулює клітинну ланку імунітету, в той час як гуморальна лишається відносно недоторканою.

Клінічна імунологія

Інкубація з NSC 631570 периферичних лімфоцитів із крові здорових донорів підвищувала кількість лімфоцитів з фенотипом Т-гелперів, зменшувала кількість лімфоцитів з генотипом Т-супресорів, а також підвищувала співвідношення Т-гелперів до Т-супресорів (7, 18).

NSC 631570 вводився 9-тьом пацієнтам у пізніх стадіях онкологічних захворювань (4 з раком печінки, 4 з раком у ділянці голови та шиї і одна з пухлиною молочної залози). У трьох випадках пухлини частково реагували на лікування, в одному випадку була мінімальна реакція, у трьох випадках була стабілізація хвороби і у двох випадках відповіді пухлини на лікування не спостерігалось. Після лікування кількість Т-гелперів (CD4), а також співвідношення CD4/CD8 зросло (13).

У восьми онкологічних пацієнтів порівнювали імунні параметри до та після лікування NSC 631570. Було виявлено, що NSC 631570 впливав головним чином на тимус-залежні клітини (Т-клітини). Після лікування достовірно зросла кількість розетко-утворюючих клітин. Показники гуморального імунітету суттєво не змінились (22).

У 9 чоловіків з раком легенів визначали субпопуляції лімфоцитів до та після лікування NSC 631570. Лікування викликало підвищення загальної кількості Т-клітин на

зменшення фракції Т-супресорів. Відношення гелпери/супресори нормалізувалося. Ознак активації НК-клітин, Т-гелперів та В-клітин не спостерігалось. Відновлення клітинного імунітету корелювало зі сприятливішим перебігом захворювання (25).

Дія NSC 631570 на функціональну активність моноцитів 20 пацієнтів з раком легенів або перитонітом вивчалася за допомогою проби з нітросинім-тетразолхлоридом (НСТ-проба). Автори повідомляють про позитивний вплив NSC 631570 на функціональну активність макрофагів, а також на антиоксидантні системи моноцитів та еритроцитів (46).

23 пацієнти з різними пухлинами були ліковані NSC 631570, їх імунні параметри оцінювалися до та після лікування. Автори спостерігали підвищення лімфоцитів та зниження швидкості осідання еритроцитів. Крім того, спостерігалися наступні зміни імунних показників: збільшення Т-лімфоцитів, Т-гелперів, цитотоксичності НК-клітин, фагоцитарної активності, нормалізація відношення Т-гелпери/Т-супресори, а також поява великих гранулярних лімфоцитів (48, 106).

NSC 631570 був ефективний у лікуванні рецидивних захворювань дихальних шляхів у дітей з Чорнобильського регіону (202).

Вплив на дендритні клітини

Дендритні клітини – це імунні клітини, які діють як посередники між вродженим та набутим (адаптивним) імунітетом. Їх головною функцією є обробка антигенного матеріалу та його презентація іншим клітинам імунної системи. Вони діють як антиген-презентуючі клітини і вважаються найпотужнішою популяцією клітин серед тих, які виконують цю функцію.

У досліджах з мононуклеарами з периферичної крові здорових пробандів вивчалася дія NSC 631570 на фенотипічні та функціональні властивості дендритних клітин. Найпомітнішу індукцію експресії поверхневих молекул CD86 і HLA-DR було досягнуто з найнижчою та найвищою концентрацією NSC 631570 – 0,6 мкг/мл та 10 мкг/мл.

Індекс проліферації інкубованих лімфоцитів був використаний як показник активності дендритних клітин. Після додавання NSC 631570 до інкубованих дендритних клітин цей індекс зріс відповідно з 22,6% до 32,3% при 0,6 мкг/мл та до 29,3% при 10 мкг/мл. Ці показники були подібними до величини індексу, отриманого при інкубації дендритних клітин з фітогемаглютиніном – 31,8%. Автори заключають, що дендритні клітини, інкубовані з NSC 631570, є потужними стимуляторами проліферації лімфоцитів. Вони також постулювали, що NSC 631570 може відігравати важливу роль в імунній терапії раку (268).

Дослідження *in vitro* та *in vivo*

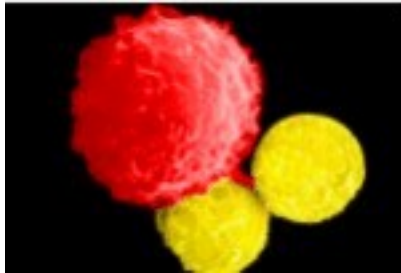
У досліджах на алоімунізованих мишах NSC 631570 посилював літичну активність селезінкових лімфоцитів до 48 разів. Літична активність селезінкових клітин та лімфоцитів

перитонеального ексудату, стимульованих ІL-2, також достовірно зростала після додавання NSC 631570 до інкубаційного середовища (17, 66).

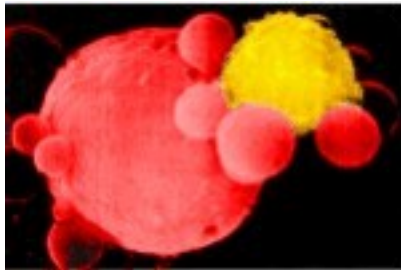
Лімфоцити людини та морської свинки активувалися більш виражено, коли інкубувалися з NSC 631570, ніж з фітогемаглютиніном. У щурів NSC 631570 викликав значне зростання макрофагів з НК-активністю. Подібний модуляторний ефект на макрофаги спостерігався також і клінічно (49).

У досліджах на мишах СВА та щурах Wistar було виявлено, що NSC 631570 стимулює макрофаги. Як маркер цієї активності була використана хітотріозидаза, яка є частиною вродженого імунітету (168).

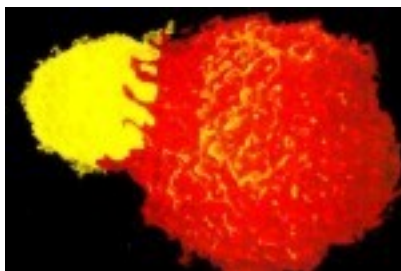
Імунологічні властивості препарату УКРАЇН (NSC 631570) NSC 631570 модулює природню систему захисту проти пухлин



Напад – УКРАЇН активує лімфоцити, які починають розпізнавати пухлинні клітини.



Перемога – активовані УКРАЇНОМ лімфоцити починають знищувати пухлинну клітину.



Поцілунок смерті – активований УКРАЇНОМ лімфоцит убиває ракову клітину.

Проф. др. Андрейс Ліпінш, Меморіальний Університет Ньюфаундленд, Медичний факультет, Ст. Джонс, Ньюфаундленд, Канада, С1В 3V6

В експериментах на інтактних та тимус-ектомованих мишах NSC 631570 посилював ендокринну функцію тимуса. Після введення NSC 631570 спотерігалася посилена секреція речовин з тимозин-подібною активністю. Повторні введення NSC 631570 викликали подвійне збільшення Т-клітин у крові, 4,5-разове зростання великих гранулоцитів, а також посилення НК-активності спленоцитів. Продукція інтерферону та антитіл після введення антигенів також зростала (180).

Вплив добре відомих імунних модуляторів інтерферону-гамма, NSC 631570 та лаконосного мітогену на селективне захоплення міченого технецієм-99m (^{99m}Tc) фактору некрозу пухлин (ФНП) вивчався на інтрамускулярно імплантованих мишачих ембріональних карциномах. Найвище абсолютне захоплення ^{99m}Tc -ФНП було досягнуто при застосуванні NSC 631570, далі – інтерферон-гамма та лаконосний мітоген (104).

У досліджах на мишах BALB/c і F1 (BALB/c x C57BL/6J) було виявлено, що NSC 631570 пригнічує алергічну сенситизацію тварин до овальбуміну, що виражалося ослабленою IgE-реакцією та зменшенням продукції гістаміну. Інкубація овальбуміну з NSC 631570 викликала зменшення антигенності цього білка (84).

Імунномодуляторна дія NSC 631570 вивчалася у різних досліджах на мишах. Повторні підшкірні введення NSC 631570 мишам, інфікованих подвійною LD50-дозою *E. coli*, *S. aureus* або вірусом грипу достовірно збільшувало рівень виживання тварин (60, 87, 89).

Коли людські лімфоцити інкубували з ФГА та NSC 631570, у них спостерігали підвищену абсорбцію ^3H -тимідину. Автори зазначили виражений синергічний ефект NSC 631570 та ФГА (76).

Методом клітинної проліферації вивчалася мітогенна дія ФГА та NSC 631570 на моноклеарні клітини периферичної крові людини (МКПК). Було виявлено, що коротка преінкубація МКПК з NSC 631570 мала виражену синергічну дію на ФГА-мітогенез. Відповідно, показники клітинної стимуляції після комбінованої стимуляції були суттєво вищими, ніж після застосування самого ФГА (65).

У досліджах з мишачими (C57 Black/6) макрофагами та кролячим G-актином вивчалася дія NSC 631570 та сангвінаріну на фагосомно-лізосомне злиття мембран та актиновий цитоскелет. Найсильнішу стимуляторну дію на фагосомно-лізосомне злиття мав сангвінарин у дозі 10 мкмоль та NSC 631570 у дозі 5 мкмоль. У тій самій дозі NSC 631570 подвоював вміст фібрилярного актину в мишачих перитонеальних макрофагах. Крім того, NSC 631570 і сангвінарин індукували полімеризацію кролячого глобулярного актину. Ці ефекти були дозозалежні. Автори припускають, що сангвінарин і NSC 631570 можуть впливати на інтрацелюлярний мембранний транспорт.

РАДІОПРОТЕКТИВНА ДІЯ

При клінічному застосуванні NSC 631570 спостерігалось, що пацієнти, які отримували цей препарат, краще переносять променеву терапію. Це стало підсавою для вивчення його радіопротективних властивостей.

У досліджах на мишах було продемонстровано, що радіопротекторна дія NSC 631570 суттєво перевищує таку ж його вихідних матеріалів (132).

Далі було продемонстровано, що NSC 631570 модулює клітинні компоненти кровотворної системи (стовбурові клітини, проліферуючі, дозріваючі та компетентні клітини), так що загальна радіоопірність зростає (77, 133, 249).

Радіопротективна дія NSC 631570 була підтверджена на інфекційних моделях у мишей, де його дія була більш виражена, ніж у відомого радіопротектора цистаміна (134).

Порівняно з іншими препаратами, NSC 631570 проявив сильний радіопротективний ефект, порівняний з лімфокініном (135).

Ці радіопротекторні властивості були підтверджені у подальших дослідженнях на щурах (172).

Зокрема, NSC 631570 захищав гормональну систему опромінених щурів (173).

Захисна дія NSC 631570 проти опромінення була також вивчена і підтверджена на моделях *in vitro*.

У досліджах на фібробластах шкіри HSF1 HSF2 та легенів CCD32-LU параметрами оцінки були вибрані цитотоксичність, індукція апоптозу, перебіг клітинного циклу, а також експресія TP53 і p21. Додатково були взяті наступні злоякісні клітинні лінії: MDA-MB-231 (рак молочної залози людини), PA-TU-8902 (рак підшлункової залози), CCL-221 (колоректальний рак) та U-138MG (гліобластома). Цитотоксичність NSC 631570 була час- та дозозалежною. Поєднання NSC 631570 та іонізуючої радіації (IP) посилювало токсичність до ліній CCL-221 і U-138MG, але не до ліній MDA-MB-231 та PA-TU-8902. Найбільш виражений радіопротективний ефект був виявлений стосовно нормальних фібробластів людини. Проточна цитометрія підтвердила диференційну та специфічну стосовно клітинних ліній цитотоксичність NSC 631570. Клітини ліній CCL-221 і U-138MG після 24 год інкубації з NSC 631570 нагромаджувалися у фазі G2, тоді як в інших злоякісних лініях та нормальних фібробластах змін у розподілі клітинного циклу виявлено не було. Вибіркова дія NSC 631570 по модуляції радіаційної токсичності стосовно ракових клітинних ліній людини та його захисна дія щодо нормальних фібробластів свідчить про те, що цей препарат може бути корисним для клінічної радіохіміотерапії (184).

У наступному дослідженні про роль білків фібронектину та ламініну в клітинних механізмах захисту від радіації дослідники Університету Тюбінгену застосовували NSC 631570 як референтну речовину (198).

МІКРОХВИЛІ

Мікрохвилі - це електромагнітні хвилі з довжиною хвилі від 1 мм до 1 м, що відповідає частотам від 300 ГГц до 300 МГц. Оскільки прилади, які працюють в мікрохвильовому діапазоні, набувають усе більшого терапевтичного застосування, зростає важливість вивчення їх медико-біологічних ефектів. Вивчалася дія NSC 631570 (7 мг/кг інтраперітонеально 10 днів) на біохімічні параметри самців щурів Wistar, опромінених мікрохвилями 53,57 МГц, потужністю 10 мВ/см², 20 мін щодня протягом 10 днів. Наприкінці

дослідження не спостерігалось достовірних змін у комбінованій групі порівняно з контролем. Автори прийшли до висновку, що NSC 631570 може бути застосований разом з мікрохвильовим лікуванням (242).

У досліджах на самцях щурів Wistar, опромінених мікрохвилями 53,37 МГц протягом 14 днів, було виявлено, що NSC 631570 нормалізував активність АЛТ і АСТ, а також сироваткові рівні альфа-фетопротеїну, порівняно з контрольною групою (233).

ТОКСИКОЛОГІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

На моделі індукованого гепатиту дослідники вивчали, чи NSC 631570 може захистити печінкові клітини від токсичної дії передозування ацетамінофену. Справді, NSC 631570 проявив захисну дію зі стимуляцією печінкових макрофагів (217).

У досліджах на щурах вивчалася дія алкалоїду хелідоніну (50 або 100 мг/кг інтраперітонеально) та NSC 631570 (7 або 14 мг/кг інтраперітонеально) на деякі біохімічні параметри після інтоксикації хлоридом міді або хлоридом свинцю. Обидві речовини нормалізували сироваткові величини бета-2-мікроглобуліну, креатиніну та сечовини. Дія хелідоніну була більш виражена (229, 234, 236). Лікування NSC 631570 нормалізувало також підвищені рівні АЛТ і альфа-фетопротеїну (193, 241).

У самців щурів Wistar з експериментальною гострою інтоксикацією етиленгліколем (3 або 3,5 г/кг інтраперітонеально), вивчалася дія NSC 631570 (7, 14 або 28 мг/кг інтраперітонеально) на біохімічні параметри крові. Порівняно з контрольною групою, 10-денне введення NSC 631570 викликало достовірне зменшення рівня сечовини та підвищення бета-2-мікроглобуліну в сироватці крові (235, 257). У дослідженні з нижчою дозою етиленгліколю (2,5 г/кг) спостерігався підвищений рівень бета-2-мікроглобуліну у сироватці (240).

При експериментальному гострому отруєнні алкоголями (метанол 4,5 г/кг інтраперітонеально, етанол 3 г/кг інтраперітонеально або етиленгліколь 3,5 г/кг інтраперітонеально) вивчалася дія NSC 631570 (28 мг/кг інтраперітонеально як разова доза або введення протягом 10 днів) на активність амінотрансфераз (АЛТ і АСТ) та рівень сироваткового альфа-фетопротеїну. Порівняно з контрольною групою, разове введення NSC 631570 викликало зменшення рівня АФП (за винятком етиленгліколевої групи). Сироватковий рівень АФП зростав після 10 днів введення NSC 631570. Змін в інших параметрах порівняно з контролем не спостерігалось (237, 248, 256, 257).

Щоб вивчити дію NSC 631570 на деякі біохімічні параметри при гострому отруєнні метанолом, щурів Wistar лікували NSC 631570 10 днів. Лікування ослабляло несприятливі наслідки метанолової інтоксикації, що виражалось нормалізацією підвищених рівнів бета-2-мікроглобуліну та сечовини в сироватці (192, 196, 227, 228).

НОРМАЛІЗАЦІЯ МЕТАБОЛІЗМУ

Кістковий обмін та остеопороз

У низці дослідів на тваринах вивчався вплив NSC 631570 на щільність кісток на мінеральний обмін.

У 6-місячному дослідженні на оваректомованих самках щурів було виявлено, що NSC 631570 пригнічував розвиток деяких індикаторів раннього остеопорозу (78). Показники аналізу крові та активності трансаміназ у групі, лікованій NSC 631570, не відрізнялися від таких у контрольній групі (79). Концентрації пролактину та прогестерону були підвищені, кортикостерону та альдостерону – понижені порівняно з контрольною групою (57, 80).

Лікування статевозрілих самок щурів NSC 631570 у високій дозі не мало негативного впливу на мінеральну щільність кісток. Спостерігалось незначне зменшення вмісту мінералів у кістках (128).

Після поперемінного 3-місячного лікування високими дозами NSC 631570 в оваректомованих самок щурів зменшилася мінеральна щільність кісток (129).

Дії NSC 631570 на кістковий обмін у щурів була присвячена оглядова стаття, в якій автор прийшов до висновку, що цей препарат має специфічний вплив на механізми, пов'язані з естрогеном та захисну дію від остеопорозу (174).

У досліді на щурах, стегнова кістка була використана для вивчення довготривалої дії NSC 631570 на різні параметри кісток. Було виявлено, що NSC 631570 не зменшує міцність та щільність кісткової тканини навіть у високій дозі (175, 176).

З різними дозами NSC 631570 вивчався його вплив на інтенсивність сигналу електронного парамагнітного резонансу (ЕПР) в інтактних та оваректомованих щурів. Інтенсивність сигналу прямо корелює з кількістю вільних радикалів у тканині. Найнижчою інтенсивність ЕПР-сигналу була в оваректомованих тварин при найвищій дозі NSC 631570, а найвищою – в інтактній групі з найнижчою дозою NSC 631570 (177).

В інтактних самок щурів вивчався вплив NSC 631570 на гормони, задіяні в кальцієвому обміні. У групі найвищої дози сироваткові концентрації кортикостерону і прогестерону знижувалися відповідно достовірно і недостовірно. У найнижче дозованій групі рівень партгормону в сироватці крові достовірно зростав. Рівні кальцитоніну достовірно не змінювалися в жодній групі (223).

Вплив NSC 631570 на ті самі гормони вивчався також на оваректомованих самках щурів. У групі з середнім дозуванням рівень кортикостерону в крові упав. Інших змін гормональних параметрів у всіх групах доз не спостерігалось (224).

У досліді на самках щурів Wistar, опромінених мікрохвилями 53,57 МГц протягом 14 днів, практично не спостерігалось впливу NSC 631570 на вміст води, органічну та неорганічну фазу мискової кістки порівняно з опроміненою контрольною групою (232).

Вплив NSC 631570 у різних дозуваннях і/або стронцію на інтертубулярний зубний дентин щців аналізувався в гістологічних зрізах, перпендикулярних до дентинових трубочок. Поверхні зубів і морфологію та шорсткість поперечних зрізів вивчали методом атомно-силової мікроскопії. Поверхні поперечних зрізів інтертубулярного дентину вивчали на шорсткість та за фрактальними параметрами. Були приготовані гістограми типових зразків усіх проаналізованих груп зубів. На поверхні дентинових зрізів були виявлені скрйозні відмінності між наноструктурами нормальних зубів та зубів тварин, лікованих NSC 631570 та стронцієм (260).

ДІЯ НА РІЗНІ ФЕРМЕНТИ

У досліджах на клітинах печінки було виявлено, що NSC 631570 пригнічує активність алкоголю дегідрогенази (178, 253).

Вивчався також ефект NSC 631570 на активність трипсину-подібних ферментів (183, 222).

Дія NSC 631570 на рівень вазоактивного інтестинального пептиду (ВІП) вивчався на діабетичних та інтактних мишах. NSC 631570 не впливав на рівень ВІП інтактних тварин. У діабетичних мишей 10-ти денне введення NSC 631570 викликало достовірне зростання рівня ВІП у групі з найнижчим дозуванням (194, 225).

У досліджах на печінці щурів учені виявили, що NSC 631570, поряд з хелідоніном, викликав найсильніше пригнічення моноаміноксидази, що вказує на його антидепресантні властивості (197, 252).

В розлозі огляді автори підсумували результати своїх досліджень по впливу NSC 631570 на обмін амінокислот. Вони відзначили, що NSC 631570 має різну дію на амінокислотний пул в організмі та злоякісній тканині (213).

У низці експериментів на щурах вивчався вплив NSC 631570 на різні печінкові ферменти. Зокрема, досліджувався вплив 7-ми денного введення NSC 631570 на пероксидацію ліпідів на антиоксидативну функцію щурячої печінки. При денній дозі NSC 631570 2 мг/кг рівень відновленого глутатіону зменшився на 25%, антиоксидативна функція печінки – на 49%. Активність глутатіон редуктази в постмітохондріальній фракції печінки зросла на 43% порівняно з контрольною групою. При дозі NSC 631570 2 мг/кг не спостерігалось активації пероксидації ліпідів, а активності каталази і пероксидази не відрізнялися від таких у контрольній групі. Автори припустили, що NSC 631570 викликає оксидативний стрес у пухлині, який зрештою приводить до апоптозу (214).

У досліджах на щурах вивчали дію NSC 631570 на печінкові ферменти, задіяні в метаболізмі ліків. Після 6-ти денного введення NSC 631570 в добовій дозі 2 мг/кг активність амінопірин-N-деметилази зросла на 35%, а активність глутатіон-S-трансферази – на 55%. Концентрації мікросомальних цюохромів P450 та b5, як і рівень етилморфін-N-деметилації не змінювалися (215).

ВЗАЄМОДІЯ З ІНШИМИ ПРЕПАРАТАМИ

Неопіатні анальгетики

Взаємодію NSC 631570 з амінофеназоном вивчали на мишах і щурах. Було виявлено, що NSC 631570 впливає на анальгетичний ефект амінофеназону різними способами. У больових тестах на відсмикування антиноцептивна дія амінофеназону посилювалася, тоді як у досліді з гарячою плитою його анальгетична дія ослаблювалася (20).

Анальгетична дія NSC 631570 у мишей посилювалася інгібіторами NO-синтази. Ці результати вказують на те, що ендогенний оксид азоту може моделювати анальгетичний ефект NSC 631570 (130).

Опіатні анальгетики

У досліді на мишах і щурах було виявлено, що NSC 631570 модифікує антиноцептивну дію опіатів. У мишей, наприклад, NSC 631570 потенціював анальгетичну дію морфіну у досліді з гарячою плитою та відсмикуванні хвоста, але зменшував цю дію у досліді з корчами (35).

Було виявлено, що 10-денне інтраперитонеальне введення NSC 631570 у високій дозі має анальгетичну дію в мишей. Поєднане введення NSC 631570 та морфіну реципрокно знижувало їхні антиноцептивні ефекти. Автори пропонують уникати поєданого вживання цих препаратів у клініці (85, 86).

Анальгетична дія NSC 631570 у мишей повністю усувалася налтрексоном, чистим опіоїдним антагоністом, який діє на всі опіоїдні рецептори як компетитивний антагоніст (131).

Стрептозотоцин

Стрептозотоцинова модель діабету була застосована в щурів щоб вивчити, яких змін зазнають функції печінки та нирок у цих тварин під впливом NSC 631570. 10-ти денне введення NSC 631570 стрептозотоциновим щурам не змінювало рівень креатиніну в сироватці, але підвищувало рівень сечовини. Автори прийшли до висновку, що NSC 631570 не слід поєднувати зі стрептозотоцином (195, 226, 239).

Порфіринові похідні

У досліді з саркомою та карциномою молочної залози мишей і раком товстої кишки та злоякісною меланомою людини NSC 631570 і порфіринові похідні мали синергічну дію проти злоякісних клітин (53, 83).

Антиконвульсанти

На мишах Albino вивчалася взаємодія NSC 631570 та різних антиконвульсантів, таких як діазепам, карбамазепін, дифенілгідантоїн, фенобарбітал і вальпроат. NSC 631570 потенціював захисну дію вальпроату, тоді як дія інших антиконвульсантів не змінювалася (34).

ВЗАЄМОДІЯ З ІНШИМИ МЕТОДАМИ ЛІКУВАННЯ

Локальна гіпертермія

При застосуванні гіпертермії організм тіло пацієнта нагрівають високими температурами (до 45 °С), щоб пошкодити і знищити ракові клітини або зробити їх чутливішими до променевої терапії та деяких протиракових препаратів. Локальна гіпертермія, при якій тепло застосовується до дуже малої ділянки, такої як пухлина, зараз є визнаним методом лікування в онкології, який базується на дуже простому принципі: якщо вдасться досягнути підвищення температури до 45 °С в злоякісній пухлині протягом години, ракові клітини будуть знищені. Первинні злоякісні пухлини мають погане кровопостачання, що робить їх більш чутливими до температурних змін. Застосування NSC 631570 успішно поєднують з локальною гіпертермією вже багато років (115, 144, 208).

У своєму виступі на 5-ому Віденському діалозі з інтегральної медицини др. Буркгард Ашгофф (Німеччина) розповів про свій досвід у комбінованому застосуванні NSC 631570 та локальної гіпертермії. Підсумовуючи, він виділив наступні тези: суттєвн поліпшення якості життя; мало побічних ефектів; NSC 631570 є безпечним препаратом і може бути застосований у дітей; покази до застосування такого лікування доволі широкі (142).

Ендоваскулярна лазерна та фотодинамічна терапія

Ендоваскулярна лазерна терапія (ЕЛТ) як галузь фотодинамічної терапії (ФДТ) - це відносно новий метод системного лазерного лікування та передачі енергії лю організму людини. З терапевтичною метою застосовують червоний, зелений, синій та інфрачервоний лазери. Фотонний пучок, випущений інтравенозно, поліпшує мікроциркуляцію, активує імунну систему та мітохондрії. Нещодавно NSC 631570 був використаний як фотосенсибілізатор⁵.

NSC 631570 вводився пацієнтам з ревматичними захворюваннями або вираженою схильністю до інфекцій. У лімфоцитах з обох лікованих груп та з контрольної групи визначали експресію IgG, проліферативний маркер Ki-67 та інші маркерні молекули. Достовірних змін у контрольній групі не спотерігалось, тоді як у групі, лікованій NSC 631570, експресія IgG та Ki-67 достовірно зросла. Подальше зростання експресій маркерних молекул

⁵ Вебер М, «Інтравенозна лазерна терапія – новий терапевтичний метод в імунології та онкології», доповідь на 2-ій Міжнародній конференції по створенню ліків та їх застосуванню, Дубай, ОАЕ, 2010, SL-341.

було досягнуто додатковим застосуванням ендovasкулярного лазера. Циркулюючі пухлинні клітини від онкологічних пацієнтів інкубували з NSC 631570. Пацієнтів лікували NSC 631570 самим або в поєднанні з ЕЛТ. Зменшення пухлинної маси було досягнуто в обох групах, але в комбінованій цей ефект був більш виражений (Андре Ф, «Лазерна терапія з препаратом УКРАЇН в онкології», доповідь на 2-ій Міжнародній конференції по створенню ліків та їх застосуванню, Дубай, ОАЕ, 2010, SL-274).

Озон

З емпіричного досвіду стало зрозуміло, що NSC 631570 не слід поєднувати з озонотерапією. Загалом, NSC 631570 слід вживати як монотерапію. Інші методи лікування можуть бути застосовані в перервах між циклами NSC 631570.

Інші методи

У пілотному дослідженні був випробуваний метод визначення оптимальної дози для лікування NSC 631570, а також інтерферону-альфа. Цей метод базується на визначенні в крові відношення SS/SH-груп (138).

II. БЕЗПЕЧНІСТЬ

У терапевтичній дозі NSC 631570 не має суттєвих побічних ефектів і не пошкоджує здорові клітини, а атакує лише ракові. Завдяки своєму дуже високому терапевтичному індексу 1250 – на відміну від стандартних цитостатиків з низьким ТІ в межах 1,4 – 1,8 – при проведенні лікування препаратом УКРАЇН нема небезпеки передозування (терапевтичним індексом називається відношення середньої токсичної дози до середньої ефективної, з «Курсу фармакології», І.В. Грига, 2004). При дом'язевому введенні NSC 631570 не викликає некрозів, що є ще одним свідченням його безпечності (37).

Австрійський Дослідний Центр Зайберсдорф (АДЦЗ) – провідна австрійська наукова установа в галузі біологічних наук. Зараз він є частиною Австрійського Технологічного Інституту (АТІ) – найбільшої позауніверситетської наукової установи Австрії. У Зайберсдорфській філії АТІ проводяться токсикологічні дослідження на рівні останніх досягнень науки згідно норм і вказівок «Належної лабораторної практики» (GLP). Наступні токсикологічні дослідження були проведені в АДЦЗ згідно GLP.

Гостра інтравенозна токсичність на щурах

Дослідження було проведено згідно Директиви Європейського Співтовариства № 92/69 та Директиві ОЕСР № 401. Дослідна речовина вводилася нерозведеною як повільна довенна ін'єкція самцям і самкам щурів Нім:OFA в дозах 33 мг/кг, 57 мг/кг, та 100 мг/кг (лише самкам) маси тіла (м.т.). Введення виклако безпосередню дію, яка, якщо не була летальною, скоро вела до майже повного виздоровлення. Найбільш імовірно причиною смерті дослідних тварин був зсув рН або іонного гомеостазу крові. Самці були більш чутливі, ніж самки. Базуючись на отриманих незультатах, LD50 (довенно) активної була обрахована як 43 мг/кг м.т. для самців і 76 мг/кг у самок (151, OEFZS-A-4483, жовтень 1998).

Гостра інтравенозна токсичність на мишах

Це дослідження було проведено згідно тих самих директив, що і попереднє. NSC 631570 вводили як повільну довенну ін'єкцію трьом групам по 5 самців і 5 самок мишей Нім:OF1, SPF у дозі 33 мг/кг, 74 мг/кг та 165 мг/кг м.т. Усі тварини в групі високої дози і два самці та три самки в групі середньої дози померли. Всі інші тварини вижили до 14-ої доби після введення. Всі виживші тварини були нормальними при огляді в кінці дослідження. Всі тварини були нормальними на розтині. Не було помітних статевих різниць у відповіді на дію дослідної речовини. Базуючись на отриманих результатах, LD50 (довенно) була визначена як 80 мг/кг м.т. для самців і 68 мг/кг маси тіла для самок (OEFZS-L-0400, травень 2000).

Гостра інтрамускулярна токсичність на щурах

Метою цього дослідження було виявити токсичні ефекти NSC 631570 після разового дом'язевого введення щурам. Дослідження було проведено згідно Директиви Європейського Співтовариства № 87/176 та Директиви ОЕСР № 401, наскільки вони

стосуються дом'язевого введення. Дослідна речовина вводилася нерозведеною як дом'язева ін'єкція п'ятьом самцям і п'ятьом самкам щурів Him:OFA у найвищій технічно можливій дозі для такого способу введення, а саме 150 мг активної речовини на кг м.т. Всі тварини вижили до запланованого терміну припинення дослідження. Приріст маси тіла не був порушений. У день введення спостерігали седативну дію та менш виражені локомоторні порушення. Місцеві зміни на місці ін'єкції (засохлі кірки) були в половини всіх тварин. У відповіді на введення дослідної речовини не спостерігалось статевої різниці. Авторизробили висновок, що дом'язеве введення NSC 631570 у найвищій технічно можливій дозі викликало деякі тимчасові явища незначної клінічної важливості, але в цілому добре переносилося і не становило небезпеки життю тварин. Базуючись на результатах цього дослідження, LD50 (дом'язево) NSC 631570 була визначена як вища від 150 мг/кг м.т. (151, OEFZS-L-0194, жовтень 1999).

Гостра пероральна токсичність на щурах

Дослідження мало на меті вивчити гострі токсичні ефекти NSC 631570 після разового перорального введення щурам і проводилося згідно директиви Європейського Співтовариства № 92/69 та Директиви ОЕСР № 401. Концентрований NSC 631570 вводився нерозведеним одноразово методом інтубації шлунка трьома групами по 5 самок і 1 групі з 5 самців щурів Him:OFA Sprague Dawley у дозах 450 мг/кг, 810 мг/кг та 1500 мг/кг м.т (самки) або 810 мг/кг м.т. (самці). Усі самки у групі з найвищою дозою померли спонтанно в день введення. Усі самки в обох інших групах, як і всі самці вижили до запланованого терміну припинення дослідження. В усіх тварин з груп середньої та високої дози спостерігалась більшість симптомів, які наставали в день введення дослідної речовини. Ці симптоми тривали максимум 3 дні після введення. Усі виживші тварини були нормальні наприкінці дослідження. Помітної різниці у реакції двох статей на введення NSC 631570 не спостерігалось.

Таким чином, дослідна речовина викликала негайні ефекти, які, якщо не були летальними, приводили незабаром до повного виздоровлення. LD50 (перорально, самки) була вирахована як 1110 мг/кг м.т. (151, OEFZS-L-0195, жовтень 1999).

Дослідження місцевої переносимості

NSC 631570 вводили як повільну довенну, інтраартеріальну, паравенозну або дом'язеву ін'єкцію двом самкам і двом самцям кроликів на спосіб введення, щоб вивчити його місцеву переносимість. Фізіологічний розчин вводився в інше вухо або м'яз кожної тварини як контроль. NSC 631570 добре переносився при довенному та інтраартеріальному введенні. Паравенозне введення викликало легке місцеве подразнення, а дом'язева ін'єкція викликала слабе до помірного місцевого запалення. У відповіді на введення дослідної речовини не спостерігалось різниці між двома статями (OEFZS-A-4204, жовтень 1997).

Мікроядерне дослідження на мишах

Це дослідження було проведено для виявлення можливого утворення мікроядер, викликаного NSC 631570 внаслідок пошкодження хромосом або мітотичного апарату в тестовій системі *in vivo*. NSC 631570 розводили фізіологічним розчином і вводили разово в дозах 1,25, 2,50 і 5,00 мл/кг м.т. доведено трьом групам по 5 самців і самок мишей Crl:NMRI BR кожна. Додатково, одна група високої дози (самець і самка) була залучена для заміщення можливих незаплановано померлих тварин у групі високої дози. Дві групи негативного контролю (фізрозчин) та одна група позитивного контролю (тіотепа) також були включені в дослідження. Підготовка клітин кісткового мозку та відповідні дослідження були проведені згідно директивою ОЕСР № 474.

Усі тварини вижили до запланованого терміну припинення дослідження. Тіотепа (група позитивного контролю) викликала цитотоксичність та утворення мікроядер у поліхроматичних еритроцитах. NSC 631570 не викликав цитотоксичності. Усі дані були в діапазоні даних історичного негативного контролю. Не спостерігалось помітної різниці в мікроядерних нормохромних еритроцитах (МНЕ) між дослідними групами тварин обох статей і відповідною групами негативного контролю, ані 24, ані 38 годин після введення. Також не спостерігалось статистично достовірної різниці в кількості мікроядерних поліхроматичних еритроцитів (МПЕ) між усіма групами обох статей. Частка МПЕ на момент забору була в межах даних з історичних груп негативного контролю. Різниці у відповіді на дослідну речовину між статями не спостерігалось. Автори зробили висновок, що NSC 631570 не викликає токсичності стосовно кісткового мозку в дозах до 5 мг/кг м.т. і не викликає утворення мікроядер в поліхроматичних еритроцитах у мишей обох статей при застосованих дозах (OEFZS-L-0225, листопад 1999).

Подібні результати були одержані і в дослідженні з концентрованим NSC 631570 (OEFZS-L-0224, листопад 1999).

Дослід на зворотні мутації з *Salmonella typhimurium*

NSC 631570 досліджувався на прояви можливої мутагенної активності у досліді Еймса на зворотні мутації *S. typhimurium* згідно Директиви №471 ОЕСР та Директиви № 92/69, частина В14 Європейського Співтовариства. Дослідна речовина була протестована в широкому діапазоні концентрацій відповідно до методу прямого включення з використанням зовнішньої метаболічної системи S9-mix і без неї. В якості тестової системи були використані бактеріальні штами *S. typhimurium* TA97a, TA98, TA100 і TA1535. Негативні та позитивні контрольні групи були включені також. Проводилося незалежне повторення експерименту. NSC 631570 не проявив мутагенності до застосованих штамів *S. typhimurium*. Згідно з отриманими в дослідженні даними, NSC 631570 не є мутагенний в тесті Еймса зі штамми TA97a, TA98, TA100, TA102 та TA1535 (OEFZS-L-0003, січень 1999).

Печінкова токсичність

Оскільки вихідні матеріали для виробництва NSC 631570 – алкалоїди читотілу та тіотепа – токсичні до клітин печінки, було проведено дослідження для оцінки можливої

гепатотоксичності цього препарату. Дослідження, проведене на щурах обох статей, виявило, що NSC 631570 нетоксичний до печінки щурів (Müller 2004, оригінальний звіт).

Інші токсикологічні дослідження

У Східній Європі було проведено ще цілу низку токсикологічних досліджень (15, 16, 105, 123, 127). Перші з них були проведені на мишах Albino Swiss та щурах Wistar. NSC 631570 вводився інтраперитонеально в разовій добовій дозі 0,025, 0,05 та 0,1 від LD50 (тобто 4,75, 9,5, 19 мг/кг у мишей та 7, 14 та 28 мг/кг у щурів) протягом 3 місяців. Лікування не мало впливу на масу органів, за винятком селезінки в щурів, маса якої була втричі більша, ніж у контрольній групі (29). Визначення катехоламінів у мозковій тканині після 3-місячного введення NSC 631570 виявило зменшення концентрації допаміну і в мишей, і в щурів у середній та високій дозових групах. Концентрації норадреналіну, 5-гідрокситриптаміну та 5-гідроксиіндолацетату не змінилися (29).

Разове введення NSC 631570 не мало впливу на рівень пролактину в сироватці крові щурів. З іншого боку, після 3-місячного введення NSC 631570 рівень пролактину підвищився в усіх дослідних групах порівняно з контрольною (32).

Щодо показників аналізу крові, введення NSC 631570 мало подібні ефекти в групах середньої та високої дози: підвищення лейкоцитів та зниження тромбоцитів. Спостерігалися і зміни в диференційному аналізі лейкоцитів, а саме підвищення лімфоцитів і зменшення паличкоядерних нейтрофілів. У рівні еритроцитів достовірних змін порівняно з контрольною групою не спостерігалось (33).

У мишей відмічалось підвищення активності трансаміназ АЛТ і АСТ в групах середньої та високої доз. Легке зниження загального білка спостерігалось у самців мишей у групах доз 9,5 та 19 мг/кг, а в самок – тільки в групі 19 мг/кг. Разове введення NSC 631570 не впливало на вказані параметри (31).

У дослідях на клітинах ховрахів було виявлено, що NSC 631570 не проявив мутагенних чи генотоксичних властивостей і не викликав морфологічної трансформації клітин (19).

У дослідях на мишах та морських свинках було показано, що NSC 631570 не викликає анафілактичної сенсibiliзації (23).

У дослідях на щурах було підтверджено, що NSC 631570 не проявляє ембріотоксичної та тератогенної дії. У ховрахів ембріотоксичний ефект був виявлений тільки при дуже високій дозі 28 мг/кг м.т. (30).

У серії експериментів по підгострій токсичності вивчалася дія NSC 631570 при 6-тижневому введенні кроликам. Щоденне введення в трьох різних дозах не викликало змін органної морфології та маси тіла тварин. В аналізі крові не змінилися кількості еритроцитів та лейкоцитів. У групі високої дози зросли відносні кількості лімфоцитів, моноцитів та еозинофілів. Біохімічні параметри не змінилися, за винятком підвищення сечовини та сечової кислоти (124).

Стосовно статевих гормонів, то у деяких групах підвищився рівень естрадіолу, як і тестостерон в групі самців з найнижчим дозуванням. У самок спостерігалось підвищення прогестерону лише в групі найвищої дози (125).

NSC 631570 викликав підвищення рівнів тиреоїдних гормонів у самців. У самок підвищився рівень трийодтироніну, тоді як рівень тироксину не змінився (126).

У дослідженні на самцях щурів Wistar дослідники виявили, що 6-денне введення NSC 631570 в обох дозах 1 мг/кг і 2 мг/кг не викликало достовірних змін у наступних параметрах: альбумін, мукополісахариди, амінотрансферазна активність і тимолова проба. Не було виявлено змін порівняно з контрольною групою і в морфології печінкової тканини. Достовірно знизилася концентрація середніх молекул (216).

У щурів Wistar з імплантованою карциномою Герена введення NSC 631570 знижувало кількість тілових груп у пухлинних гомогенатах (121).

ФАРМАКОКІНЕТИКА

Пілотні тести з фармакокінетики NSC 631570 дало перші вказівки на те, які методи слід застосувати в пізніших дослідженнях (105, 127).

Щоб визначити фармакокінетичні параметри NSC 631570 при доведеному введенні, спочатку був розроблений метод визначення його концентрації в плазмі крові на основі високоефективної рідинної хроматографії (152). Це дозволило провести спочатку фармакокінетичне дослідження на щурах. Було виявлено, що NSC 631570 найбільше накопичувався в пухлинній тканині і в печінці. Накопичення в мозку та м'язах було найменшим (153).

БІОФІЗИЧНІ ВЛАСТИВОСТІ

Досліди фізичними методами (спектрометрія, мікроскопія в поляризованому світлі) виявили, що NSC 631570 резистентний до ультрафіолетового світла середньої інтенсивності. Піки абсорбції при 210 та 230 нм можуть бути використані для детекції NSC 631570 в плазмі крові (50, 81).

У досліджах на гомогенаті щурячої печінки визначалося споживання кисню методом полярографії. Додавання NSC 631570 викликало складні окисно-відновні реакції в субстраті, які залежали від окислення, викликаного НАДФ (82).

III. ЯКІСТЬ

Докази якості NSC 631570 описані в Австрійській Фапмакопеї VIII, Європейській Фармакопеї та в Німецькій Фармакопеї (6-те видання).

Чистотіл великий – витяг з Європейської Фармакопеї 6.0

6.0/1861

Чистотіл великий

Chelidonii herba

ВИЗНАЧЕННЯ

Сухі цілі або зрізані надземні частини *Chelidonium majus* L., зібрані під час цвітіння.

Вміст: щонайменше 0,6% усіх алкалоїдів, виражених як **хелідонін** ($C_{20}H_{19}NO_5$; M_r 353.4) (суха речовина).

ОЗНАКИ

Макроскопічні та мікроскопічні ознаки, описані як ідентифікаційні досліді А і Б.

ІДЕНТИФІКАЦІЯ

А. Стебла круглі, ребристі жовтуваті до зеленисто-коричневі, дещо опушені, приблизно 3-7 мм у діаметрі, порожнисті і переважно сплющені. Листки тонкі, неправильно пір'ясті, молоді листки овальні до видовжених з грубо зубчатими краями, кінцеві часто тричасткові. Адаксіальна поверхня синювато-зелена і неопушена, абаксіальна поверхня блідіша і опушена, особливо на жилках. Квіти мають 2 глибоко ввігнуто-випуклі чашолистки, які легко відриваються, і 4 жовті, широко овальні пласкі пелюстки довжиною 8-10 мм. Тичинки численні, жовті; коротка маточка виходить з верхньої зав'язі. Іноді є довгі, капсульні незрілі плоди.

Б. Розтерти в порошок (355). Порошок темно сірувато-зелений до коричневато-зеленого. Обстежити мікроскопом, використавши розчин *хлорал гідрату R*. Порошок має наступні діагностичні властивості: численні фрагменти листків при поверхневому огляді, епідермальні клітини з хвиливистими стінками; аномоцитні отвори (*2.8.3*) є тільки на абаксіальній поверхні; покривні волоски довгі, нерозгалужені з тонкими стінками і переважно фрагментовані; судинна тканина листків і стебел з групами волокон, ямчастими і спіралью потовщеними жилками і супровідними молочковими трубочками з жовтувато-коричневим вмістом; зустрічаються фрагменти віночка з тонкостінними, частково пипкуватими клітинами, які містять численні біло-жовті краплі олії; сферичні пилкові зерна приблизно 30-40 мкм в діаметрі з 3-ома порами і тонко підточеною екзиною.

В. Тонкошарова хроматографія (2.2.27)

Дослідний розчин. До 0,4 г порошкового препарату (710) додати 50 мл розведеної оцтової кислоти R. Суміш кип'ятити на водяній бані 30 хв під зрошувальним конденсатором. Охолодити і профільтрувати. До фільтрату додати концентрований аміак R, поки не настане сильна лужна реакція. Струсити з 30 метиленового хлориду R. Осушити органічний шар над безводним сульфатом натрію R, профільтрувати та випарувати у вакуумі до отримання сухої речовини. Залишок розчинити в 1,0 мл метанолу R.

Референтний розчин. Розчинити 2 мг папаверину гідрохлориду R і 2 мг метилового червоного R у 10 мл алкоголю R.

Плита: силькагельна плита для ТШХ R.

Мобільна фаза: безводна мурашина кислота R, вода R, пропанол R (1:9:90 V/V/V).

Введення: 10 мкл смугами.

Експозиція: на доріжці 10 см.

Сушіння: на повітрі.

Детекція: розпилити розчин йодовісмутату калію R і висушити плиту на повітрі; розпилити розчин нітриту натрію R і дати плиті висохнути на повітрі; оглянути при денному світлі.

Результати: див. Нижче послідовність зон у хроматограмах, отриманих з референтним та дослідним розчинами. Поза тим, на хроматограмі, отриманій з дослідним розчином можуть бути інші слабші зони.

Верхівка плити	
Метиловий червоний: червона зона	Коричнева зона
Папаверин: сірувато-коричнева зона	Коричнева зона
	Сірувато-коричнева зона
	Коричнева зона
	Коричнева зона
Референтний розчин	Дослідний розчин

ДОСЛІДИ:

Сторонні речовини (2.8.2): максимально 10%.

Втрати при сушінні (2.2.32): максимально 10%, визначено на 1000 г порошкового препарату (355) при сушінні в пічці при 100-105 °С протягом 2 год.

Загальний попіл (2.4.16): максимально 13,0%.

МЕТОД

Дослідний розчин. До 0,750 г порошкового препарату (710) додати 200 мл розведеної оцтової кислоти R і гріти на водяній бані 30 хв, часто струшуючи. Охолодити і розвести до 250 мл розведеною оцтовою кислотою R. Профільтрувати. Вилити перші 20 мл фільтрату. До 30 мл фільтрату додати 6 мл розчину концентрованого аміаку R і 100 мл метиленового хлориду R. Змішувати 30 хв. Відділити органічний прошарок, помістити 50 мл у колбу з круглим дном ємністю 100 мл і випарувувати до сухості у вакуумі при температурі, яка не перевищує 40 °С. Залишок розчинити в 2-3 мл алкоголю R, повільно нагріваючи. Перенести розчин у мірну колбу на 25 мл, сполоскавши колбу з круглим дном розведеною сірчаною кислотою R і довести до 25 мл тим самим розчинником. До 5,0 мл розчину додати 5,0 мл розчину 10 г/л натрієвої солі хромotropної кислоти R у сірчаній кислоті R у мірній колбі на 25 мл, заткнути колбу і обережно розмішати. Розвести до 25,0 мл сірчаною кислотою R і заткнути колбу.

Компенсаційний розчин. Одночасно і таким же чином помістити в мірну колбу на 25 мл 5 мл розведеної сірчаної кислоти R і 5,0 мл розчину 10 г/л натрієвої солі хромotropної кислоти R у сірчаній кислоті R, заткнути колбу і обережно розмішати. Розвести до 25,0 мл сірчаною кислотою R і заткнути колбу.

Помістити обидва розчини на водяну баню на 10 хв. Охолодити до приблизно 20 °С і в разі необхідності довести до 25,0 мл сірчаною кислотою R. Визначити абсорбцію (2.2.25) дослідного розчину при 570 нм.

Обрахувати процентний вміст суми алкалоїдів, вираженої як хелідонін, з рівняння:

$$\frac{A \times 2.23}{m}$$

взявши при цьому специфічну абсорбцію хелідоніну як 933.

A = абсорбція при 570 нм,

m = маса досліджуваної речовини, в грамах

Тіотеф – витяг з Фармакопеї США, 24-те видання

Тіотеф

$C_6H_{12}N_3PS$ 189.22

Азиридин, 1,1',1''-фосфінотіолідинтрис-,
Трис(1-азиридиніл)фосфін сульфід [52-24-4]

Тіотеф містить не менше як 97,0% і не більше як 102,0% $C_6H_{12}N_3PS$, при обрахунку на безводній основі.

Увага – слід поводитися дуже обережно, щоб попередити вдихання частинок тіотефу або його контакт зі шкірою.

Пакування і зберігання – пакувати в щільно закриті та захищені від світла ємності, зберігати в холодильнику.

Референтні стандарти Фармакопеї США (11) – тіотефу Фармакопея США RS.

Ідентифікація, інфрачервона абсорбція (197S) – Розчин: 3 в 400. Середовище: дисульфід вуглецю.

Температурний діапазон плавлення (741): - між 52° і 37°.

Вода, за методом I (921): не більше ніж 2,0%.

Метод -

Мобільна фаза – приготувати відповідну профільтовану і дегазовану суміш води та ацетонітрилу (9:1). При потребі поравити (див. *Придатність системи* в розділі *Хроматографія* (621))

Стандартний препарат – Розчинити точно зважену кількість тіотефу Фармакопея США RS в *Мобільній фазі*, щоб отримати розчин з заданою концентрацією приблизно 1,5 мг/мл.

Дослідний препарат – Перенести приблизно 75 мг тіотефу, точно зваживши, у мірну колбу на 50 мл, розчинити в *Мобільній фазі*, довести *Мобільною фазою* до вказаного об'єму і розмішати.

Роздільний розчин – Перенести приблизно 10 мг тіотефу Фармакопея США Rs у пляшечку на 4 мл, додати 2 мл метанолу і розмішати. Додати 50 мкл 0,1% фосфорної кислоти. Пляшечку закрити кришкою і гріти 50 секунд при 65°. Охолодити розчин, додати 1 мл метанолу і розмішати.

Хроматографічна система (див. *Хроматографія* (621)) – Рідинний хроматограф обладнаний детектором на 215 нм та колонкою 4 мм x 15 см, яка наповнена L1. Швидкість потоку приблизно 0,8 мл/хв. Провести хроматографію *Роздільного розчину* і записати пікові реакції як визначено в *Процедурі*: відносні часи затримки складають приблизно 1,25 для метокситіотефу і 1,0 для тіотефу, а роздільність *R* між цими піками є не менша як 3,0. Провести хроматографію *Стандартного препарату* і записати реакції як визначено в *Процедурі*: хвостовий фактор для піку тіотефу не перевищує 1,8, ефективність колонки є не менша як 2600 теоретичних тарілок і відносне стандартне відхилення для повторних ін'єкцій не перевищує 2,0%.

Процедура: окремо ввести рівні об'єми (приблизно 10 мкл) *Стандартного препарату* і *Дослідного препарату* в хроматограф, записати хроматограми і виміряти відповіді великих піків. Вирахувати кількість $C_6H_{12}N_3PS$ в мг у порції тіотефу за формулою:

$$50C(r_u/r_s),$$

де C – концентрація тіотефу Фармакопея США RS у Дослідному препараті в мг/мл, а r_u і r_s – реакційні піки тіотефу, отримані відповідно з Дослідного препарату і Стандартного препарату.

Під час виробництва препарату УКРАЇН тіотеф вимивається, так що в кінцевому продукті тіотефу немає. Це доведено різними методами, в тому числі найчутливішим – газовою хроматографією.

Стабільність

Стабільність препарату «УКРАЇН розчин для ін'єкцій» вивчалася в дослідженні стабільності в реальному часі з 3 серіями, які зберігалися 60 місяців при 25 °C і 60% відносної вологості, а також 6 місяців при 40 °C і 75% відносної вологості (дослідження стабільності за прискорених умов). Дослідження було проведено згідно директив Належної лабораторної практики (OECD GLP). Наприкінці дослідження всі параметри були в референтних межах, що довело стабільність кінцевого продукту⁶.

⁶ Stability Study of Ukrain Ampoules Stored under Controlled Conditions. Final Study Report. March 2003. SGS Lab Simon S.A. Healthcare and Bioscience Services 796.529

БІБЛІОГРАФІЯ

- (1) Nowicky JW. New Immuno-stimulating anti-cancer preparation "Ukrain". 13th International Congress of Chemotherapy, Vienna, 28th August to 2nd September, 57, 1983, PS 12 5 33/A-6, part 288/
- (2) Nowicky JW. *Cancer Treatment Using Anticancer Preparation Alkaloid Derivative Ukrain*. IV Mediterranean Congress of Chemotherapy, 19-25 October 1984, Rhodes, Greece, Chemioterapia, Supplement to n. 2, Volume 4, 1169, April 1985.
- (3) Nowicky J, Greif M, Hamler F, Hiesmayr W, Staub W. *Biological Activity of Ukrain in Vitro and in Vivo*. V Mediterranean Congress of Chemotherapy. 26 October-1 November 1986 Cairo, Egypt, Chemioterapia, Supplement to n. 2, Volume 6, 683, June 1987.
- (4) Nowicky JW, Greif M, Hamler F, Hiesmayr W, Staub W. *Macroscopic UV-Marking through Affinity*. Journal of Tumor Marker Oncology, Volume 3, Number 4, 463, 1988.
- (5) Nowicky J, Hiesmayr W, Nowicky W. *Sensitisation for Specific Lysis in Target-Effector-System with Derivatives of Chelidonium majus Alkaloids - Ukrain*. Extracted from the Proceedings of the 16th International Congress of Chemotherapy; 852. 1, June 1989, Israel.
- (6) Nowicky JW. *Biological and physiological effects of Ukrain*. Journal of Cancer Research and Clinical Oncology, Supplement Vol. 116, A3. 112. 46, 1990.
- (7) Slesak B, Nowicky JW, Harlozinska A. *In vitro effect of thiophosphoric acid derivatives from Chelidonium majus L. on normal lymphocyte subpopulations*. Journal of Cancer Research and Clinical Oncology, Supplement Vol. 116, A3. 112. 50, 1990.
- (8) Liepins A. *Enhancement of cell mediated lysis of tumor cells by Chelidonium majus L. Alkaloids (Ukrain)*. Journal of Cancer Research and Clinical Oncology, Supplement Vol. 116, A3. 118. 10, 1990.
- (9) Nowicky JW, Liepins A, Zbroja-Sontag W, Staniszewski A, Danilos J. Evaluation of clinical studies of Ukrain in cancer patients. Art:Bar.206, Zona:Barcel-fos, 29-Nov-90,09:37:310.
- (10) Nowicky JW, Staniszewski A, Zbroja-Sontag W, Slesak B, Nowicky W, Hiesmayr W. *Evaluation of Thiophosphoric acid alkaloid derivatives from Chelidonium Majus L. ("Ukrain") as an immunostimulant in patients with Various Carcinomas*. Drugs Exptl. Clin. Res., XVII(2) 139, 1991.
- (11) Nowicky JW, Liepins A, Slesak B, Staniszewski A, Harlozinska-Szmyrka A, Zbroja-Sontag W, Danilos J. *Evaluation of clinical studies of Ukrain in cancer patients*. Journal of Chemotherapy, Supplement n. 4, 522, 1991.
- (12) Liepins A, Nowicky JW. *Ukrain is Selectively Cytostatic and/or Cytotoxic to Human Tumor and HIV-Infected Cells but not to Human Normal Cells*. Recent Advances in Chemotherapy, Anticancer Section, Proceedings of the 17th International Congress of Chemotherapy, Berlin, 2660, 1991.

- (13) Vatanasapt V, Wongpratoom W, Mairiang P, Mairiang E, Chaiyakam C, Buddhisawasd V, Pairojku C, Nowicky JW. *Preliminary report on clinical experience in the use of Ukrain*. Thai Cancer Journal, Volume 17 No. 1-2, 20, 1991.
- (14) Nowicky JW, Liepins A, Staniszewski A, Slezak B, Nowicky W, Hiesmayr W. *The malignotoxic and immune modulating property of the alkaloid derivative Ukrain*. Journal of Cancer Research and Clinical Oncology, Suppl. Vol. 118, V1. 09. 05, 1992.
- (15) Kleinrok Z, Jagiello-Wojtowicz E, Matuszek B, Chodkowska A. *Basic Central Pharmacological Properties of Thiophosphoric acid alkaloid derivatives from Chelidonium Majus L*. Pol. J. Pharmacol. Pharm., Vol. 44, 227, 1992.
- (16) Remiszewska M, Wutkiewicz M, Jastrzebski Z, Czyzewska-Szafran H, Danysz A. *Pharmacological Effects of Ukrain in Rats and Rabbits*. Acta Poloniae Pharmaceutica-Drug Research, Vol. 49 no. 4, 43, 1992.
- (17) Liepins A, Nowicky JW. *Activation of Spleen Cell Lytic Activity by the Alkaloid Thiophosphoric Acid Derivative: Ukrain*. International Journal of Immunopharmacology, 14, 8, 1437-1442, 1992.
- (18) Slesak B, Nowicky JW, Harlozinska A. *In Vitro Effects of Chelidonium Majus L. Alkaloid Thiophosphoric Acid Conjugates (Ukrain) on the Phenotype of Normal Human Lymphocytes*. Drugs Exptl. Clin. Res., XVIII, 17, 1992.
- (19) Chlopkiewicz B, Marczevska J, Ejchart A, Anuszewska E, Kozirowska J. *Evaluation of Mutagenic; Genotoxic and Transforming Properties of Ukrain*. Drugs Exptl. Clin. Res., XVIII, 31, 1992.
- (20) Kleinrok Z, Jagiello-Wojtowicz E, Nowicky JW, Chodkowska A, Feldo M. *Interaction between Ukrain and Aminophenazone in Analgesic Test in Rodents*. Drugs Exptl. Clin. Res., XVIII, 97, 1992.
- (21) Musianowycz J, Judmajer F, Manfreda D, Spängler P, Albrecht H, Hoffmann J, Meijer D. *Clinical Studies of Ukrain in Terminal Cancer Patients (Phase II)*. Drugs Exptl. Clin. Res., XVIII, 45, 1992.
- (22) Danilos J, Zbroja-Sontag W, Baran E, Kurylcio L, Kondratowicz L, Jusiak L. *Preliminary studies on the effect of Ukrain (Tris {2-{{5BS-(5BA,6B, 12BA)}-5B,6,7,12B,13,14-hexahydro-13-methyl[1,3] benzodioxolo [5,6-C]-1-3-dioxolo[4,5,-i] phenanthridinium-6-ol]-ethaneaminyl} phosphinesulfide·6HCl) on the immunological response in patients with malignant tumours*. Drugs Exptl. Clin. Res., XVIII, 55, 1992.
- (23) Wyczolkowska J, Czuwaj M, Maslinski C. *The immunomodulating preparation Ukrain does not induce anaphylactic sensitization in mice and guinea pigs*. Drugs Exptl. Clin. Res., XVIII, 35, 1992.
- (24) Nowicky JW, Manolakis G, Meijer D, Vatanasapt V, Brzosko WJ. *Ukrain both as an anticancer and immunoregulatory agent*. Drugs Exptl. Clin. Res., XVIII, 51, 1992.
- (25) Staniszewski A, Slesak B, Kolodziej J, Harlozinska-Szmyrka A, Nowicky JW. *Lymphocyte subsets in patients with lung cancer treated with thiophosphoric acid alkaloid derivatives from Chelidonium majus L. (Ukrain)*. Drugs Exptl. Clin. Res., XVIII, 63, 1992.

- (26) Sotomayor E, Rao K, Lopez DM, Liepins A. *Enhancement of macrophage tumouricidal activity by the alkaloid derivative Ukrain. In vitro and in vivo studies.* Drugs Exptl. Clin. Res., XVIII, 5, 1992.
- (27) Pengsaa P, Wongpratoom W, Vatanasapt V, Udomthavornsuk B, Mairieng E, Tangvorapongchai V, Pesi M, Krusan S, Boonvisoot V, Nowicky JW. *The effects of thiophosphoric acid (Ukrain) on cervical cancer, stage IB bulky.* Drugs Exptl. Clin. Res., XVIII, 69, 1992.
- (28) Lohninger A, Hamler F. *Chelidonium majus L. (Ukrain) in the treatment of cancer patients.* Drugs Exptl. Clin. Res., XVIII, 73, 1992.
- (29) Kleinrok Z, Jagiello-Wojtowicz E, Nowicky JW, Chodkowska A, Feldo M, Matuszek B. *Some pharmacological properties of prolonged administration of Ukrain in rodents.* Drugs Exptl. Clin. Res., XVIII, 93, 1992.
- (30) Juszkievicz T, Minta M, Wlodarczyk B, Biernacki B. *Teratological evaluation of Ukrain in hamsters and rats.* Drugs Exptl. Clin. Res., XVIII, 23, 1992.
- (31) Jagiello-Wojtowicz E, Kleinrok Z, Surmaczynska B, Baran E, Feldo M, Nowicky JW. *Effect of single and three months treatment with Ukrain on amino-transferases (ALT and AST) and on the serum protein level in rodents.* Drugs Exptl. Clin. Res., XVIII, 85, 1992.
- (32) Jagiello-Wojtowicz E, Kleinrok Z, Nowicky JW, Matuszek B, Baran E, Surmaczynska B. *Effect of single and prolonged administration of Ukrain on prolactin concentration in rats.* Drugs Exptl. Clin. Res., XVIII, 89, 1992.
- (33) Jagiello-Wojtowicz E., Kleinrok Z., Matuszek B., Surmaczynska B., Baran E., Nowicky W., Nowicky J.W. *Effect of three months treatment with Ukrain on peripheral blood morphology in rodents.* Drugs Exptl. Clin. Res., XVIII, 79, 1992.
- (34) Jagiello-Wojtowicz E., Kleinrok Z., Feldo M., Chodkowska A., Nowicky J.W. *Effect of Ukrain on the efficacy of anti-epileptic drugs against maximal electroshock-induced seizures in mice.* Drugs Exptl. Clin. Res., XVIII, 107, 1992.
- (35) Jagiello-Wojtowicz E., Kleinrok Z., Chodkowska A., Feldo M., Nowicky J.W. *Modification of antinociceptive action of morphine by Ukrain in rodents.* Drugs Exptl. Clin. Res., XVIII, 101, 1992.
- (36) Hohenwarter O., Strutzenberger K., Katinger H., Liepins A., Nowicky J.W. *Selective inhibition of in vitro cell growth by the anti-tumour drug Ukrain.* Drugs Exptl. Clin. Res., XVIII, 1, 1992.
- (37) Danysz A., Kokoschinegg M., Hamler F. *Clinical studies of Ukrain in healthy volunteers (phase I).* Drugs Exptl. Clin. Res., XVIII, 39, 1992.
- (38) Brüller W. *Studies concerning the effect of Ukrain in vivo and in vitro.* Drugs Exptl. Clin. Res., XVIII, 13, 1992.
- (39) Nowicky J.W. *Biological Properties of Ukrain in Experimental and Clinical Investigations.* International Medical Reviews, Avalanche Ltd. St. Petersburg, Russia, 1, 1, 5, 1993.
- (40) Nowicky J.W., Nowicky W., Liepins A. *Cytostatic and cytotoxic effects of Ukrain on malignant cells.* VIII Mediterranean Congress of Chemotherapy, 24-29 May 1992, Athens, Greece, Journal of Chemotherapy, Supplement n. 1, Volume 5, 797, 1993.

- (41) Nowicky J.W. *Ukrain Antineoplastic Immunostimulant*. E09/029, NSC-631570, NSC-B238865, UKSR-222, W122, *Drugs of the Future*, Prous Science Publishers, Copyright Prous Science, 18 (11), 1015, November 1993.
- (42) Kamyshentsev M.V., Voltchek I.V., Btailovskaya I.V., Leschev A.L., Lavinsky Y.C. and Nowicky J. W. *Testing Ukrain as an Anti-Influenza Remedy*. *Recent Advances in Chemotherapy*, American Society for Microbiology, Proceedings of the 18th International Congress of Chemotherapy, Stockholm, Sweden, June 27-July 2, 645, 1993.
- (43) Liepins A., Sotomayor E. M., Lopez D. M. and J.W. Nowicky. *Biological Response-Modifying Properties of the Alkaloid Derivative Ukrain (NSC 631570)*. *Recent Advances in Chemotherapy*, American Society for Microbiology, Proceedings of the 18th International Congress of Chemotherapy, Stockholm, Sweden, June 27-July 2, 783, 1993.
- (44) Nowicky J. W., Manolakis G., Meijer D., Vatanasapt V., Brzosko W.J. and Lohninger A. *Immunological and Tumoricidal Properties of Ukrain*. *Recent Advances in Chemotherapy*, American Society for Microbiology, Proceedings of the 18th International Congress of Chemotherapy, Stockholm, Sweden, June 27-July 2, 793, 1993.
- (45) Lohninger A., Musianowyc J., Judmaier F., Manfreda D., Spängler P., Albrecht H., Hoffmann J. and Mejer D. *Results of Phase II Clinical Studies with Ukrain*. *Recent Advances in Chemotherapy*, American Society for Microbiology, Proceedings of the 18th International Congress of Chemotherapy, Stockholm, Sweden, June 27-July 2, 794, 1993.
- (46) Voltchek I.V., Nowicky J.W., Zolotukhin N.N., Kamyshentsev M.V., Miroshnichenko A.G., Leschev A.L. and Belskikh A.N. *Some Immunohematological Effects of Ukrain*. *Recent Advances in Chemotherapy*, American Society for Microbiology, Proceedings of the 18th International Congress of Chemotherapy, Stockholm, Sweden, June 27-July 2, 798, 1993.
- (47) Nowicky Jaroslaw W., Markowska Janina and Brzosko Witold J. *Ukrain and Natural Killer Cells*. *Recent Advances in Chemotherapy*, American Society for Microbiology, Proceedings of the 18th International Congress of Chemotherapy, Stockholm, Sweden, June 27-July 2, 863, 1993.
- (48) Zemskov V.S., Yaremchuk O.Ya., Susak Ya.M., Deneka E.R., Kravchenko O.V. and Kamenets L.Ya. *Experience of the Application of Ukrain in Oncological Practice in Ukraine*. *Recent Advances in Chemotherapy*, American Society for Microbiology, Proceedings of the 18th International Congress of Chemotherapy, Stockholm, Sweden, June 27-July 2, 870, 1993.
- (49) Nowicky J.W., Cisak E., Liepins A., Susak Ja.M., Semschow W. *Stimulation of phagocytic activity in vitro, in vivo and in the clinic by Ukrain*. 11th Future Trends in Chemotherapy, Interdisciplinary World Congress on Antimicrobial and Anticancer Drugs, 24-27 April 1994, Palexpo Geneva (Switzerland), Abstracts: abs. 68, April 1994.

- (50) Kurik M.V., Susak Y.M., Kravchenko O.V. *Some biophysical properties of Ukrain*. 11th Future Trends in Chemotherapy, Interdisciplinary World Congress on Antimicrobial and Anticancer Drugs, 24-27 April 1994, Palexpo Geneva (Switzerland), Abstracts: abs. 79, April 1994.
- (51) Lisnyak O.I., Lozjuk R. M. *Biological activity of some thiophosphamide derivatives of alkaloids with respect to influenza virus*. 11th Future Trends in Chemotherapy, Interdisciplinary World Congress on Antimicrobial and Anticancer Drugs, 24-27 April 1994, Palexpo Geneva (Switzerland), Abstracts: abs. 96, April 1994.
- (52) Lozjuk R.M., Lisnyak O.I., Lozjuk L.V. *Theoretical grounds and experimental confirmation of antiviral effect of the preparation Ukrain*. 11th Future Trends in Chemotherapy, Interdisciplinary World Congress on Antimicrobial and Anticancer Drugs, 24-27 April 1994, Palexpo Geneva (Switzerland), Abstracts: abs. 95, April 1994.
- (53) Brzosko W.J., Graczyk A., Konarski J., Nowicky J.W. *Synergic influence of Ukrain and protoporphyrine amino conjugates on human malignant cell lines*. 11th Future Trends in Chemotherapy, Interdisciplinary World Congress on Antimicrobial and Anticancer Drugs, 24-27 April 1994, Palexpo Geneva (Switzerland), Abstracts: abs. 110, April 1994.
- (54) Brzosko W.J., Uglianica K., Fomin K., Nowicky J.W. *Influence of Ukrain on breast cancers*. 11th Future Trends in Chemotherapy, Interdisciplinary World Congress on Antimicrobial and Anticancer Drugs, 24-27 April 1994, Palexpo Geneva (Switzerland), Abstracts: abs. 109, April 1994.
- (55) Zemskov V.S., Susak Ya.M., Zemskov S.V. *Ukrain monotherapy for treatment of colorectal cancer*. 11th Future Trends in Chemotherapy, Interdisciplinary World Congress on Antimicrobial and Anticancer Drugs, 24-27 April 1994, Palexpo Geneva (Switzerland), Abstracts: abs. 78, April 1994.
- (56) Liepins A., Nowicky J.W. *Selective induction of programmed cell death (apoptosis) in malignant cells by the alkaloid derivative Ukrain (NSC-613570)*. 11th Future Trends in Chemotherapy, Interdisciplinary World Congress on Antimicrobial and Anticancer Drugs, 24-27 April 1994, Palexpo Geneva (Switzerland), Abstracts: abs. 93, April 1994.
- (57) Jagiello-Wojtowicz E., Kleinrok Z., Nowicky J., Hodkowska A., Feldo M., Matuszek B., Jablonska M., Gorzelak M. *Effect of six month treatment with Ukrain on early osteoporosis induced by ovariectomy in rats*. 11th Future Trends in Chemotherapy, Interdisciplinary World Congress on Antimicrobial and Anticancer Drugs, 24-27 April 1994, Palexpo Geneva (Switzerland), Abstracts: abs. 49, April 1994.
- (58) Nowicky J.W., Wladyslawa Nowicky, Hiesmayr W., Potopalsky A. *Alterations of DNA; RNA and protein synthesis in malignant cells under the influence of Ukrain*. XVI International Cancer Congress 1994, 30 October - 5 November 1994, New Delhi, India, abs. PSB 15 -17, 319.
- (59) Voltchek I. *Ukrain - Drug of the Future in the Cancer Treatment?* Terra Medica, Nr. 1, 1995, 24 - 25 (in Russian).

- (60) Ciebiada I., Korczak E., Denys A., Nowicky J. W. *Effect of Ukrain preparation on immune response in mice affected by influenza virus*. Journal of Chemotherapy, Vol. 7 (Suppl.), n. 4, 1995 101-104.
- (61) Voltchek I., Kamyshtentsev M., Lavinsky Y., Nowicky J., Medvedev Y., Litvinchuk L. *Comparative Study of the Cytostatic Effects of Oliphen and Ukrain*. Journal of Chemotherapy, Vol. 8 - n. 2, 1996, 144-146.
- (62) Liepins A., Nowicky J.W., Bustamante J.O., Lam E. *Induction of Bimodal Programmed Cell Death in Malignant Cells by the Derivative Ukrain (NSC-631570)*. Drugs Exptl. Clin. Res., Vol. XXII (Suppl.), 1996, 1 - 7.
- (63) Nowicky JW, Hiesmayr W, Nowicky W, Liepins A. *Influence of Ukrain on DNA, RNA and Protein Synthesis in Malignant Cells*. Drugs Exptl. Clin. Res., XXII (Suppl.), 1996, 9-19.
- (64) Nowicky J.W., Hiesmayr W., *Influence of Ukrain on Human Xenografts in vitro*. Drugs Exptl. Clin. Res., Vol. XXII (Suppl.), 1996, 21 - 25.
- (65) Jin Y.M., Nowicky J.W., Liepins A. *Mitogenic Properties of Ukrain (NSC-631570) on Human Peripheral Blood Monocytes: Clinical Implications*. Drugs Exptl. Clin. Res., Vol. XXII (Suppl.), 1996, 27 - 30.
- (66) Liepins A., Nowicky J.W. *Modulation of Immune Effector Cell Cytolytic Activity and Tumour Growth Inhibition in vivo by Ukrain (NSC-631570)*. Drugs Exptl. Clin. Res., Vol. XXII (Suppl.), 1996, 31 - 42.
- (67) Susak Y.M., Zemskov V.S., Yaremchuk O.Y., Kravchenko O.B., Yatsyk I.M., Korsh O.B. *Comparison of Chemotherapy and X-ray Therapy with Ukrain Monotherapy for Colorectal Cancer*. Drugs Exptl. Clin. Res., Vol. XXII (Suppl.), 1996, 43 - 50.
- (68) Uglanica K.N., Fomin K.A., Nefyodov L.I., Nowicky J.W., Brzosko W.J., Jankowski A. *Influence of Ukrain on Patients with Surgically Treated Breast Cancer (Introductory Remarks)*. Drugs Exptl. Clin. Res., Vol. XXII (Suppl.), 1996, 51 - 54.
- (69) Brzosko W.J, Uglanica K.N., Fomin K.A., Nowicky J.W. *Influence of Ukrain on Breast Cancer*. Drugs Exptl. Clin. Res., Vol. XXII (Suppl.), 1996, 55 - 62.
- (70) Uglanica K.N., Fomin K.A., Nefyodov L.I., Nowicky J.W., Brzosko W.J., Jankowski A. *Influence of Ukrain on Patients with Surgically Treated Breast Cancer. Part I. Clinical and Laboratory Parameters*. Drugs Exptl. Clin. Res., Vol. XXII (Suppl.), 1996, 63 - 66.
- (71) Uglanica K.N., Fomin K.A., Nefyodov L.I., Vilkiewich T.W., Nowicky J.W., Brzosko W.J., Jankowski A. *Influence of Ukrain on Patients with Surgically Treated Breast Cancer. Part II. Hormonal Profile*. Drugs Exptl. Clin. Res., Vol. XXII (Suppl.), 1996, 67 - 70.
- (72) Uglanica K.N., Fomin K.A., Nefyodov L.I., Djurd T.I., Nowicky J.W., Brzosko W.J., Jankowski A. *Influence of Ukrain on Patients with Surgically Treated Breast Cancer. Part III. The Immune System*. Drugs Exptl. Clin. Res., Vol. XXII (Suppl.), 1996, 71 -74.
- (73) Uglanica K.N., Maciuk J.R., Fomin K.A., Nefyodov L.I., Kravchuk R.I., Vinogradova L. M., Nowicky J.W., Brzosko W.J. *Influence of Ukrain on Patients with Surgically Treated Breast Cancer. Part IV. Electromicroscopic and Cytochemical Evaluation*. Drugs Exptl. Clin. Res., Vol. XXII (Suppl.), 1996, 75 - 82.

- (74) Nefyodov L.I., Uglanica K.N., Smirnov V.Y., Doroshenko Y.M., Fomin K.A., Nowicky J.W., Brzosko W.J. *Amino Acids and Their Derivatives in Blood Plasma of Patients with Breast Cancer Treated with Ukrain. Part V.* Drugs Exptl. Clin. Res., Vol. XXII (Suppl.), 1996, 83 - 86.
- (75) Nefyodov L.I., Uglanica K.N., Smirnov V.Y., Doroshenko Y.M., Fomin K.A., Nowicky J.W., Brzosko W.J. *Amino Acids and Their Derivatives in Tumour Tissue from Patients with Breast Cancer Treated with Ukrain. Part VI.* Drugs Exptl. Clin. Res., Vol. XXII (Suppl.), 1996, 87 - 90.
- (76) Nowicky J.W., Hiesmayr W., Liepins A. *Influence of Ukrain on Immunological Blood Parameters in vitro and in vivo.* Drugs Exptl. Clin. Res., Vol. XXII (Suppl.), 1996, 91 - 94.
- (77) Boyko V.N., Voltchek I.V., Petrov A.S., Bubnov V.P. *Action of Ukrain, a Cytostatic and Immunomodulating Drug, on Effects of Irradiation.* Drugs Exptl. Clin. Res., Vol. XXII (Suppl.), 1996, 95 - 100.
- (78) Jagiello-Wojtowicz E., Kleinrok Z., Nowicky J.W., Jablonski M., Gorzelak M., Chodkowska A., Feldo M., Matuszek B. *Effect of Six-Month Treatment with Ukrain on Early Osteoporosis Induced by Ovariectomy in Rats. Part I: Preliminary Studies of Bone Parameters.* Drugs Exptl. Clin. Res., Vol. XXII (Suppl.), 1996, 101- 104.
- (79) Jagiello-Wojtowicz E., Kleinrok Z., Nowicky J.W., Chodkowska A., Feldo M., Surmaczynska B., Gorzelak M., Jablonski M. *Effect of Six-Month Treatment with Ukrain on Early Osteoporosis Induced by Ovariectomy in Rats. Part II: Preliminary Studies of Peripheral Blood Parameters.* Drugs Exptl. Clin. Res., Vol. XXII (Suppl.), 1996, 105-108.
- (80) Jagiello-Wojtowicz E., Kleinrok Z., Nowicky J.W., Baran E. *Effect of Six-Month Treatment with Ukrain on Early Osteoporosis Induced by Ovariectomy in Rats. Part III: Preliminary Studies of Some Hormone Levels.* Drugs Exptl. Clin. Res., XXII (Suppl.), 1996, 109-113.
- (81) Susak Y.M., Kurik M.V., Kravchenko O.V., Zemskov S.V. *Certain Biophysical Properties of Ukrain.* Drugs Exptl. Clin. Res., Vol. XXII (Suppl.), 1996, 113 - 116.
- (82) Zhalilo LI, Susak YM, Zemskov SV, Susak IA. *Influence of Ukrain on the Redox Processes of Hepatocytes.* Drugs Exptl. Clin. Res., Vol. XXII (Suppl.), 1996, 117-120.
- (83) Brzosko W.J., Graczyk A., Konarski J., Nowicky J.W. *Synergic Influence of Ukrain and protoporphyrin Amino Acids Conjugates on Human Malignant Cell Lines.* Drugs Exptl. Clin. Res., Vol. XXII (Suppl.), 1996, 121 - 122.
- (84) Wyczółkowska J., Michon T., Nowicky J.W. *Inhibitory Effect of Thiophosphoric Acid Alkaloid Derivatives from Chelidonium majus L. (Ukrain) on Ovalbumin Antigenicity and Antiovalbumin IgE Antibody Response in Mice.* Drugs Exptl. Clin. Res., Vol. XXII (Suppl.), 1996, 123 - 128.
- (85) Jagiello-Wojtowicz E., Kleinrok Z., Chodkowska A., Nowicky J.W., Piper H., Kubiowski T. *Antinociceptive Effect of Ten Day Administration of Ukrain in Mice and Interaction of the Treatment with Morphine.* Drugs Exptl. Clin. Res., Vol. XXII (Suppl.), 1996, 129 - 132.

- (86) Jagiello-Wojtowicz E., Kleinrok Z., Nowicky J.W., Chodkowska A., Kubiowski T, Piper H. *Interaction Between Ukrain and Morphine in Their Ten-Day Treatment in Mice in the Writhing Syndrome Test*. *Drugs Exptl. Clin. Res.*, Vol. XXII (Suppl.), 1996, 133 - 134.
- (87) Ciebiada I, Korczak E., Nowicky JW, Denys A. *Does the Ukrain Preparation Protect Mice Against Lethal Doses of Bacteria?* *Drugs Exptl Clin Res*, XXII (Suppl), 1996, 135-140.
- (88) Lozjuk R.M., Lisnyak O.I., Lozjuk L.V. *Theoretical Grounds and Experimental Confirmation of the Antiviral Effect of the Preparation Ukrain*. *Drugs Exptl. Clin. Res.*, Vol. XXII (Suppl.), 1996, 141 - 146.
- (89) Ciebiada I., Korczak E., Nowicky J.W., Denys A. *Estimation of Direct Influence of Ukrain Preparation on Influenza Viruses and the Bacteria E. coli and S. aureus*. *Drugs Exptl. Clin. Res.*, Vol. XXII (Suppl.), 1996, 147 - 152.
- (90) Lisnyak OI, Lozjuk RM. *Biological Activity of Some Thiophosphamide Derivatives of Alkaloids with Respect to Influenza Virus*. *Drugs Exptl. Clin. Res.*, XXII (Suppl.), 1996, 153-156.
- (91) Stabuc B., Benedicic D. *Ukrain with Chemotherapy in Malignant Melanoma (Case Report)*. *Drugs Exptl. Clin. Res.*, Vol. XXII (Suppl.), 1996, 159-162.
- (92) Hamler F., Hiesmayr W., Korsh O.B., Melnyk A. *Ukrain Monotherapy in Malignant Melanoma (Case Report)*. *Drugs Exptl. Clin. Res.*, Vol. XXII (Suppl.), 1996, 163 - 166.
- (93) Kotsay B., Lisnyak O., Myndiuk O., Romanyshyn J., Fabri O. *Ukrain Treatment of Rhabdomyosarcoma (Case Report)*. *Drugs Exptl. Clin. Res.*, Vol. XXII (Suppl.), 1996, 167 - 170.
- (94) Kadan P., Korsh OB, Melnyk A. *Ukrain Therapy of Recurrent Breast Cancer with Lung Metastases (Case Report)*. *Drugs Exptl. Clin. Res.*, Vol. XXII (Suppl.), 1996, 171-174.
- (95) Nowicky J.W., Schramm E., Godysh Y. *Biophysical Effects of Ukrain Therapy in a Patient with Breast Cancer (Case Report)*. *Drugs Exptl Clin Res.*, Vol XXII (Suppl), 1996, 175-182.
- (96) Kroiss T., Melnyk A., Korsh O.B. *Ukrain Treatment in Carcinoma of the Cervix (Case Report)*. *Drugs Exptl. Clin. Res.*, Vol. XXII (Suppl.), 1996, 183 - 186.
- (97) Lohninger A, Korsh OB, Melnyk A. *Combined Therapy with Ukrain and Chemotherapy in Ovarian Cancer (Case Report)*. *Drugs Exptl. Clin. Res.*, Vol. XXII (Suppl.), 1996, 187 - 190.
- (98) Sakalo V.S., Korsh O.B., Melnyk A. *Ukrain Treatment in a Patient with Non-Seminomatous Germ-Cell Tumour of Testis (Case Report)*. *Drugs Exptl. Clin. Res.*, Vol. XXII (Suppl.), 1996, 191 - 194.
- (99) Vyas J.J., Jain V.K. *Ukrain Treatment in Carcinoma of the Oesophagus (Case Report)*. *Drugs Exptl. Clin. Res.*, Vol. XXII (Suppl.), 1996, 195 - 198.
- (100) Kadan P., Korsh O.B., Hiesmayr W. *Ukrain in the Treatment of Urethral Recurrent Carcinoma (Case Report)*. *Drugs Exptl. Clin. Res.*, Vol. XXII (Suppl.), 1996, 199 - 202.

- (101) Steinacker J., Kroiss T., Korsh O.B., Melnyk A. *Ukrain Treatment in a Frontal Anaplastic Grade III Astrocytoma (Case Report)*. Drugs Exptl. Clin. Res., Vol. XXII (Suppl.), 1996, 203-206.
- (102) Steinacker J., Korsh O.B., Melnyk A. *Ukrain Therapy of a Recurrent Astrocytoma of the Optic Nerve (Case Report)*. Drugs Exptl. Clin. Res., Vol. XXII (Suppl.), 1996, 207 - 210.
- (103) Voltchek I.V., Liepins A., Nowicky J.W., Brzosko W.J. *Potential Therapeutic Efficacy of Ukrain (NSC 631570) in AIDS Patients with Caposi's Sarcoma*. Drugs Exptl. Clin. Res., Vol. XXII (Suppl.), 1996, 211 - 214.
- (104) Thakur M.L., De Fulvio J., Tong. J., John E., McDevitt M.R. and Damjanov I. *Evaluation of biological response modifiers in the enhancement of tumor uptake of technetium-99m labeled macromolecules*. Journal of Immunological Methods, 152 (1992), 209 – 216.
- (105) Jagiello-Wojtowicz E., Kleinrok Z., Chodkowska A., Misztal G., Jagiello G. *Preliminary pharmacokinetic studies of Ukrain in rats*.
- (106) Zemskov V.S., Yaremchuk O.Y., Susak Y.M., Deneka E.R., Kravchenko O.V., Yatsyk I.M. *The first experience in the using of the Ukrain preparation in the treatment of oncological patients in Ukraine*. Likarska Sprava, 1-2, (1024), 1996, 158 – 161.
- (107) Zemskov S.V., Susak Y.M., Todor I.N., Khasanova L.T., Mosienko V.S. *Antimetastatic effect of Ukrain and its influence on the oxygen and energy metabolism of mice with melanoma B-16*. Experimental Oncology, Vol. 18 (1996), 4, 405 – 408.
- (108) Zemskov V.S., Yaremchuk O.Y., Susak Y.M., Kravchenko O.V., Yatsyk I.M., Voltchek I.V. *Ukrain – noviy effektivniy preparat dla lecheniya raka tolstoy i pryamoy kishki*. In: Actualniye Voprosy Oncologii, St. Petersburg, 1996, 175 – 177 (in Russian).
- (109) Nefyodov L.I., Uglanica K.N., Smirnov V.Y., Doroshenko Y.M., Fomin K.A., Nowicky J.W., Brzosko W.J. *Swobodnie aminokisloty i ich proisvodnie v plasme krovi i opuholevoy tkani bolnih rakom molochnoy zhelezi na fone lecheniya novym protivopuholevim preparatom Ukrain*. In: Actualniye Voprosy Oncologii, St. Petersburg, 1996, 212 – 214 (in Russian).
- (110) Uglanica K.N., Fomin K.A., Nefyodov L.I., Nowicky J.W., Brzosko W.J. *Electronmicroscopicheskiy i morphohistohimicheskiy analis vosdeystvia Ukrain na opuholevuyu tkan molochnoy zhelezy*. In: Actualniye Voprosy Oncologii, St. Petersburg, 1996, 175 – 177 (in Russian).
- (111) Jagiello-Wojtowicz E., Kleinrok Z., Urbanska E.M. *Ukrain (NSC-631570) in experimental and clinical studies: A review*. Drugs Exptl. Clin. Res., XXIV (5/6), 1998, 213 - 219.
- (112) Bondar G.V., Borota A.V., Yakovets Y.I., Zolotukhin S.E. *Comparative evaluation of the complex treatment of rectal cancer patients (chemotherapy and X-ray therapy, Ukrain monotherapy)*. Drugs Exptl. Clin. Res., XXIV (5/6), 1998, 221-226.
- (113) Uglianitsa K.N., Nechiporenko N.A., Nefyodov L.I., Brzosko W.J. *Ukrain therapy of stage T1N0M0 bladder cancer patients*. Drugs Exptl. Clin. Res., XXIV (5/6), 1998, 227-230.

- (114) Uglianitsa K.N., Nefyodov L.I., Brzosko W. *Evaluation of the efficacy of Ukrain in the treatment of breast cancer: Clinical and laboratory studies*. Drugs Exptl. Clin. Res., XXIV (5/6), 1998, 231-239.
- (115) Aschhoff B. *Ukrain and hyperthermia treatment in a patient with Ewing's sarcoma (case report)*. Drugs Exptl. Clin. Res., XXIV (5/6), 1998, 241-242.
- (116) Aschhoff B. *Ukrain treatment in a patient with stage IV neuroblastoma. A case report*. Drugs Exptl. Clin. Res., XXIV (5/6), 1998, 243-245.
- (117) Todor I.N., Kazmin S.D., Susak Ya.M., Ztmskov S.V. *The influence of glucose, succinate, pH of the medium and higher temperature on the cytotoxic activity of the preparation Ukrain*. Drugs Exptl. Clin. Res., XXIV (5/6), 1998, 247-252.
- (118) Korolenko T.A., Svechnikova I.G., Filjushina E.E., Kaledin V.I., Vakulin G.M., Usynin I.F., Tsyrendordjiev D.D. *Macrophage stimulation and antitumor effect of Ukrain*. Drugs Exptl. Clin. Res., XXIV (5/6), 1998, 253-260.
- (119) Svechnikova I.G., Korolenko T.A., Stashko J.F., Kaledin V.I., Nikolin V.P., Nowicky J.W. *The influence of Ukrain on the growth of HA-1 tumor in mice: The role of cysteine proteinases as markers of tumor malignancy*. Drugs Exptl. Clin. Res., XXIV (5/6), 1998, 261-269.
- (120) Korolenko T.A., Kaledin V.I., Svechnikova I.G., Li X.V., Stashko J.F., Ilnitskaya S.I., Nikolin V.P. *Study of the antitumor effect of ukrain: The role of macrophage secretion of α -1-proteinase inhibitor*. Drugs Exptl. Clin. Res., XXIV (5/6), 1998, 271-276.
- (121) Kulik G.I. *Comparative in vitro study of the effects of the new antitumor drug Ukrain and several cytostatic agents on the thiol groups in the tissue of Guerin carcinoma and its resistance to cisplatin variant*. Drugs Exptl. Clin. Res., XXIV (5/6), 1998, 277-280.
- (122) Deneka E.R. *Morphometric and kinetic analysis of the growth of experimental sarcoma-45 in the presence of Ukrain*. Drugs Exptl. Clin. Res., XXIV (5/6), 1998, 281-285.
- (123) Kulik GI, Deneka ER, Todor IN, Karmozina LG. *Study of acute toxicity of Ukrain in rats after intravenous injection*. Drugs Exptl. Clin. Res., XXIV (5/6), 1998, 287-293.
- (124) Jagiello-Wojtowicz E., Kleinrok Z., Feldo M., Chodkowska A., Szponar J., Urbanska E.M. *Six-week treatment with Ukrain in rabbits. Part 1: Morphological parameters*. Drugs Exptl. Clin. Res., XXIV (5/6), 1998, 295-299.
- (125) Jagiello-Wojtowicz E., Kleinrok Z., Feldo M., Chodkowska A., Szklarczyk V., Urbanska E.M. *Six-week treatment with Ukrain in rabbits. Part II: Serum levels of gonadal hormones*. Drugs Exptl. Clin. Res., XXIV (5/6), 1998, 301-304.
- (126) Jagiello-Wojtowicz E., Kleinrok Z., Feldo M., Chodkowska A., Szklarczyk V., Urbanska E.M. *Six-week treatment with Ukrain in rabbits. Part III: Serum levels of thyroid hormones*. Drugs Exptl. Clin. Res., XXIV (5/6), 1998, 305-308.
- (127) Jagiello-Wojtowicz E, Kleinrok Z, Chodkowska A, Misztal G., Jagiello G. *Preliminary pharmacokinetic studies of Ukrain in rats*. Drugs Exptl. Clin. Res., XXIV (5/6), 1998, 309-311.

- (128) Gorzelak M., Jablonski M., Patyra M., Jagiello-Wojtowicz E. Effect of intermittent three month treatment with different doses of Ukrain on subregional femoral bone mineral density of sexually mature female rats. *Drugs Exptl Clin Res*, XXIV (5/6), 1998, 313-316.
- (129) Jablonski M., Gorzelak M., Patyra M., Jagiello-Wojtowicz E. Effect of intermittent three-month treatment with different doses of Ukrain on subregional bone mineral density of the femur of ovariectomized rats. *Drugs Exptl. Clin. Res.*, XXIV (5/6), 1998, 317-320.
- (130) Jagiello-Wojtowicz E, Kleinrok Z, Chodkowska A, Szkodziak A, Siembida E, Gustaw K, Urbanska E. *Modification of antinociceptive action of Ukrain by endogenous nitric oxide in the writhing syndrome test in mice*. *Drugs Exptl. Clin. Res.*, XXIV (5/6), 1998, 321-325.
- (131) Jagiello-Wojtowicz E., Kleinrok Z., Gustaw K. Interaction between Ukrain and Naltrexone in the writhing syndrome test in mice. *Drugs Exptl. Clin. Res.*, XXIV (5/6), 1998, 327-330.
- (132) Boyko V.N., Zholus R.B. *A comparative evaluation of the influence of the complex drug Ukrain and its components on the effects of radiation*. *Drugs Exptl. Clin. Res.*, XXIV (5/6), 1998, 331-333.
- (133) Boyko V.N., Belskiy S.N. *The influence of the novel drug Ukrain on hemo-and immunopoiesis at the time of its maximum radioprotective effect*. *Drugs Exptl. Clin. Res.*, XXIV (5/6), 1998, 335-337.
- (134) Boyko V.N., Levshina Ye.V. *A study of the influence of a novel drug Ukrain on in vivo effects of low-dose ionizing radiation*. *Drugs Exptl. Clin. Res.*, XXIV (5/6), 1998, 339-341.
- (135) Boyko V.N., Zholus R.B., Legeza V.I. A study of the influence of different types of radioprotectors on the survival of mice treated with ionizing radiation over a wide dose range. *Drugs Exptl. Clin. Res.*, XXIV (5/6), 1998, 343-347.
- (136) Koshelnick Y., Moskvina E., Binder B.R., Nowicky J.W. *Ukrain (NSC-631570) inhibits angiogenic differentiation of human endothelial cells in vitro*. 17th International Cancer Congress, Rio de Janeiro, August 24-28, 1998, Monduzzi Editore, 91-95.
- (137) Uglyanitsa K.N., Nefyodov L.I., Nowicky J.W., Brzosko W.J. *The effect of Ukrain on cancer of the urinary bladder*. 17th International Cancer Congress, Rio de Janeiro, August 24-28, 1998, Monduzzi Editore, 1065-1068.
- (138) Voltchek I., Sologub T., Gontcharova L., Pokrovskaya L., Belozyorova L., Lamanova E. Choice of Ukrain and interferon-alpha doses for the cancer patients therapy.
- (139) Panzer A, Seegers JC. *Ukrain, a semisynthetic alkaloid of Chelidonium majus, is selectively toxic to malignant cells by causing a methapase block which results in apoptosis*. *Proceedings of the American Association for Cancer Research*, vol. 39, March 1998, New Orleans, LA, USA.
- (140) Panzer A., Joubert AM, Bianchi PC, Seegers JC. *The antimetabolic effects of Ukrain™, a Chelidonium majus alkaloid derivative, are reversible in vitro*. *Cancer Letters* 150 (2000), 85-92.

- (141) Nowicky W., Koshelnick Y., Binder B.R. *Ukrain – ein nicht toxisches hochwirksames Anti-Krebs-Arzneimittel*. In: Ganzheitliche Krebstherapie. 5. Wiener Dialog über Ganzheitsmedizin, Facultas-Universitätsverlag, 2000, 205-208 (in German).
- (142) Aschhoff B. *Erfahrungsbericht über Behandlungen mit einem Alkaloidderivat aus Chelidonium majus (Ukrain)*. In: Ganzheitliche Krebstherapie. 5. Wiener Dialog über Ganzheitsmedizin, Facultas-Universitätsverlag, 2000, 209-214 (in German).
- (143) Ramadani M., Gansauge S., Braumüller H., Schlosser S., Beger H.G., Gansauge F. *Selective induction of apoptosis in pancreatic cancer cell lines by NSC-631570*. In: Chirurgisches Forum 2000 für experimentelle und klinische Forschung. 117. Kongreß der Deutschen Gesellschaft für Chirurgie, Berlin, 02.05.-06.05.2000, 79-83 (in German).
- (144) Aschhoff B. *Kombinationstherapie mit dem Alkaloidderivat aus Chelidonium majus plus regionaler Tiefenhyperthermie*. *medizin 2000 plus*, 4/2000, 74-76 (in German).
- (145) Panzer A, Joubert AM, Eloff JN, Albrecht CF, Erasmus E, Seegers JC. *Chemical analyses of ukrain, a semi-synthetic chelidonium majus alkaloid derivative, fail to confirm its trimeric structure*. *Cancer Lett.* 2000 Nov 28;160(2):237-41.
- (146) Panzer A, Hamel E, Joubert AM, Bianchi PC, Seegers JC. *UkrainTM, a semisynthetic chelidonium majus alkaloid derivative, acts by inhibition of tubulin polymerization in normal and malignant cell lines*. *Cancer Lett.*, 2000 Nov 28;160(2):149-57.
- (147) Roublevskaia IN, Polevoda BV, Ludlow JW, Haake AR. *Induced G2/M arrest and apoptosis in human epidermoid carcinoma cell lines by semisynthetic drug Ukrain*. *Anticancer Res.* 2000 Sep-Oct;20(5A):3163-7.
- (148) Kazmin SD, Todor IN. *The effect of antitumor drug Ukrain on malignant proliferating cells being at different stages of cell cycle*. *Intl J Med Biol Environ* 28(1), 57-64 (2000).
- (149) Roublevskaia I.N., Haake A.R., Ludlow J.W., Polevoda B.V. *Induced apoptosis in human prostate cancer cell line LNCaP by Ukrain*. *Drugs Exptl. Clin. Res.*, XXVI (5/6), 2000, 141-147.
- (150) Roublevskaia I.N., Haake A.R., Polevoda B.V. *BCL-2 overexpression protects human keratinocyte cells from Ukrain induced apoptosis but not from G2/M arrest* *Drugs Exptl. Clin. Res.*, XXVI (5/6), 2000, 149-155.
- (151) Hruby R. *Ukrain: Acute toxicity after intravenous, intramuscular and oral administration in rats*. *Drugs Exptl. Clin. Res.*, XXVI (5/6), 2000, 157-161.
- (152) Doroshenko Y.M., Hodysh Y.Y., Uglyanitsa K.N., Nefyodov L.I. *A method for determination of Ukrain in blood plasma for monitoring and pharmacokinetic study*. *Drugs Exptl. Clin. Res.*, XXVI (5/6), 2000, 163-170.
- (153) Doroshenko Y.M., Karavay A.V., Hodysh Y.Y., Uglyanitsa K.N., Nowicky W.M., Nefyodov L.I. *The dynamics of concentration of the main fluorescent component of Ukrain in the tissues and blood plasma of rats with W-256 tumor after a single intravenous injection*. *Drugs Exptl. Clin. Res.*, XXVI (5/6), 2000, 171-177.
- (154) Zemskov V.S., Procopchuk O.L., Susak Y.M., Zemskov S.V., Hodysh Y.Y., Zemskova M.V. *Ukrain (NSC 631570) in the treatment of pancreas cancer*. *Drugs Exptl. Clin. Res.*, XXVI (5/6), 2000, 179-190.

- (155) Uglyanitsa K.N., Nechiporenko N.A., Nefyodov L.I., Doroshenko Y.M., Brzosko W., Nowicky W. *Results of Ukrain monotherapy of prostate cancer*. Drugs Exptl. Clin. Res., XXVI (5/6), 2000, 191-193.
- (156) Nefyodov L.I., Uglyanitsa K.N., Nechiporenko N.A., Smirnov V.Y., Brzosko W., Karavay N.L. *New biochemical mechanisms of the anticancer effect of Ukrain in the treatment of cancer of the urinary bladder*. Drugs Exptl. Clin. Res., XXVI (5/6), 2000, 195-199.
- (157) Uglyanitsa K.N., Nefyodov L.I., Doroshenko Y.M., Brzosko W.J. *Comparison of the efficacy of different doses of Ukrain in the combined treatment of breast cancer*. Drugs Exptl. Clin. Res., XXVI (5/6), 2000, 201-221.
- (158) Uglyanitsa K.N., Nefyodov L.I., Brzosko V. *Comparative evaluation of the efficiency of various Ukrain doses in the combined treatment of breast cancer Report 1 Clinical aspects of Ukrain application*. Drugs Exptl. Clin. Res., XXVI (5/6), 2000, 223-230.
- (159) Nefyodov L.I., Uglyanitsa K.N., Smirnov V.Y., Karavay A.V., Brzosko W. *Comparative evaluation of blood plasma and tumor tissue amino acid pool in radiation or neoadjuvant preoperative therapies of breast cancer with the antitumor drug Ukrain*. Drugs Exptl. Clin. Res., XXVI (5/6), 2000, 231-237.
- (160) Uglyanitsa K.N., Nefyodov L.I., Karayedova L.M., Nowicky J.W., Brzosko W. *Clinical aspects of cancer treatment and new biochemical mechanisms of the drug Ukrain*. Drugs Exptl. Clin. Res., XXVI (5/6), 2000, 239-247.
- (161) Aschhoff B. *Retrospective study of Ukrain treatment in 203 patients with advanced-stage tumors*. Drugs Exptl. Clin. Res., XXVI(2000), 249-252.
- (162) Zemskov S.V., Prokopchuk O.L., Susak Y.M. *Ukrain treatment in a patient with breast carcinoma. Case report*. Drugs Exptl. Clin. Res., XXVI (5/6), 2000, 253-254.
- (163) Prokopchuk O.L., Zemskov S.V., Susak Y.M. *Ukrain treatment of a patient with retroperitoneal synovial sarcoma. Case report*. Drugs Exptl. Clin. Res., XXVI (5/6), 2000, 255-256.
- (164) Prokopchuk O.L., Zemskov S.V., Susak Y.M. *Ukrain treatment in a patient with metastatic renal cell carcinoma extending to the vena cava inferior. Case report*. Drugs Exptl. Clin. Res., XXVI (5/6), 2000, 257-259.
- (165) Voltchek I., Sologub T., Nowicky J.W., Grigoryeva T., Belozorova L., Belopolskaya M., Semenyako N., Lamanova E. *Preliminary results of individual therapy of chronic hepatitis C by Ukrain and interferon- α* . Drugs Exptl. Clin. Res., XXVI (5/6), 2000, 261-266.
- (166) Votrin I.I., Voltchek I.V., Kurochkin S.N. Kolobkov S.L. *Effects of Ukrain on the activities of DNA-nicking enzymes*. Drugs Exptl. Clin. Res., XXVI (5/6), 2000, 267-273.
- (167) Kurochkin S.N., Kolobkov S.L., Votrin I.I., Voltchek I.V. *Induction of apoptosis in cultured Chinese hamster ovary cells by Ukrain and its synergistic action with etoposide*. Drugs Exptl. Clin. Res., XXVI (5/6), 2000, 275-278.
- (168) Korolenko T.A., Djanayeva S.J., Falameyeva O.V., Wevers R.A., Filjushina E.E., Buzueva I.I., Kaledin V.I., Sandula J., Nowicky J. *Chitotriosidase as a new marker of macrophage stimulation in a tumor model treated with cyclophosphamide and Ukrain*. Drugs Exptl. Clin. Res., XXVI (5/6), 2000, 279-283.

- (169) Korolenko T.A., Poteryaeva O.N., Djanayeva S.J., Svechnikova I.G., Kaledin V.I., Timofeyeva O.A., Filipenko M.L., Nowicky J. *Cystatin C in LS lymphosarcoma and HA-1 hepatoma treated with Ukrain and cyclophosphamide and involvement of apoptosis*. *Drugs Exptl. Clin. Res.*, XXVI (5/6), 2000, 285-292.
- (170) Djanayeva S.J., Korolenko T.A., Svechnikova I.G., Falameyeva O.V., Korolenko E., Kaledin V.I., Nowicky J. *Influence of Ukrain and cyclophosphamide administration on HA-1 murine hepatoma and LS lymphoma on aspartic proteinase cathepsin D*. *Drugs Exptl. Clin. Res.*, XXVI (5/6), 2000, 293-299.
- (171) Poteryaeva O.N., Falameyeva O.V., Korolenko T.A., Kaledin V.I., Djanayeva S.J., Nowicky J.W., Sandula J. *Cysteine proteinase inhibitor level in tumor and normal tissues in control and cured mice*. *Drugs Exptl. Clin. Res.*, XXVI (5/6), 2000, 301-306.
- (172) Luksa-Lichtenthaler G.L., Ladutko E.I., Nowicky J.W. *Influence of Ukrain on the nuclear thyroid hormone receptors after short-term γ -irradiation*. *Drugs Exptl. Clin. Res.*, XXVI (5/6), 2000, 307-310.
- (173) Luksa-Lichtenthaler G.L., Ladutko E.I., Nowicky J.W. *Radiomodification effects of Ukrain, a cytostatic and immunomodulating drug, on intracellular glucocorticoid reception during short-term γ -irradiation*. *Drugs Exptl. Clin. Res.*, XXVI (5/6), 2000, 311-315.
- (174) Jablonski M. *Ukrain (NSC 631570) influences on bone status: A review*. *Drugs Exptl. Clin. Res.*, XXVI (5/6), 2000, 317-320.
- (175) Jablonski M., Gorzelak M., Patyra M., Jagiello-Wojtowicz E. *Intermittent three-month treatment with Ukrain in intact and ovariectomized rats. Part I: Effect on selected biomechanical parameters of the femur*. *Drugs Exptl. Clin. Res.*, XXVI (5/6), 2000, 321-325.
- (176) Jablonski M., Gorzelak M., Patyra M., Jagiello Wojtowicz E. *Intermittent three-month treatment with Ukrain in intact and ovariectomized rats. Part II: Effect on bone mineral density of the femur*. *Drugs Exptl. Clin. Res.*, XXVI (5/6), 2000, 327-331.
- (177) Jablonski M., Korczak W., Gorzelak M., Jagiello-Wojtowicz E. *Intermittent three-month treatment with Ukrain in intact and ovariectomized rats. Part III: Effect on the native electron paramagnetic resonance signal intensity of the femur*. *Drugs Exptl. Clin. Res.*, XXVI (5/6), 2000, 333-336.
- (178) Jagiello-Wojtowicz E., Dudka J., Dawidek-Pietryka K. *Effect of Ukrain on human liver alcohol dehydrogenase activity in vitro*. *Drugs Exptl. Clin. Res.*, XXVI (5/6), 2000, 337-339.
- (179) Uglyanitsa K.N., Nefyodov L.I., Doroshenko Y.M., Nowicky J.W., Volchek I.V., Brzosko W.J., Hodysh Y.J. *Ukrain: A novel antitumor drug*. *Drugs Exptl. Clin. Res.*, XXVI (5/6), 2000, 341-356.
- (180) Grinevich Yu.A., Bendyug G.D., Khranovska N.M., Martinenko S.V., Kadkalenko G.G., Novicky J.W. *Investigation of immunotropic activity of Ukrain in experiments*. *Imunolohiya ta Alerholohiya*, 1, 2001, 22-26 (in Ukrainian).
- (181) Gansauge F, Ramadani M, Gansauge S, Pressmar J, Muehling B, Strecker K, Cammerer G, Leder G, Beger HG. *Pancreatic Cancer and chemotherapy*. *New*

- developments from bench to bedside. Progress in Pancreatology and GI-Tract Surgery. Gastrointestinal Surgery Today – the Ulm Surgical School. September 2001.*
- (182) Gansauge F, Ramadani M, Pressmar J, Gansauge S, Muehling B, Stecker B, Cammerer G, Leder G, Beger HG. *NSC-631570 (Ukrain) in the palliative treatment of pancreatic cancer. Results of a phase II trial.* Langenbeck's Archives of Surgery (2002), 386:570-574
- (183) Andrievski OM, Smalukh NV, Nowicky WM, Krivitski AK. *Vyvchennia vplyvu preparatu "Ukrain" na proyav actyvnosti trypsynopodibnymy proteasami in vitro.* Odeskyi Medychnyi Journal, 1 (69), 2002:6-9
- (184) Cordes N, Plasswilm L, Bamber M, Rodemann HP. *Ukrain[®], an alkaloid thiophosphoric acid derivative of Chelidonium majus L. protects human fibroblasts but not human tumour cells in vitro against ionizing radiation.* Int J Radiat Biol 2002, vol. 78, No. 1, 17-27.
- (185) Zemskov V, Prokopchuk O, Susak Y, Zemskov S, Tkachenko O, Hodysh Y, Nowicky W. *Efficacy of Ukrain in the treatment of pancreatic cancer.* Langenbeck's Archives of Surgery (2002) 387:84-89.
- (186) Gansauge F., Ramadani M., Beger H.G. *Ukrain beim fortgeschrittenen Pankreaskarzinom.* Ars Medici 2002, 22, 1056-1062.
- (187) Gansauge F. *Ukrain in Pancreatic cancer: Study Final Report.* University Ulm, 2002.
- (188) Aschhoff B. *Using UKRAIN in cancer patients: a clinical experience* (in print).
- (189) European Organization for Research and Treatment of Cancer. New Drug Development Office. *Ukrain (E90/029, W122, UKSR-222, NSC B238865): Screening results – human tumor xenografts in vitro.*
- (190) National Cancer Institute, National Institute of Health: Developmental Therapeutics Program. *NSC 631570: results of the Human Cell Line Screen.* Available at www.dtp.nci.nih.gov.
- (191) Aschhoff B. *Tumor-Arten.* www.villamedica.de.
- (192) Izdebska M, Jagiello Wojtowicz E. *Protective effects of thiophosphoric acid alkaloid from Chelidonium majus L. in rats intoxicated by methanol.* Pol J Eur, 2003, submitted.
- (193) Jagiello-Wojtowicz E, Maciejewska-Kozak H, Chodkowska A, Radej R. *The influence of chelidonine and Ukrain on the β 2-microglobulin concentration in the serum of lead-poisoned rats.* Herba Polonica, 2003, submitted.
- (194) Wielosz-Tokarzewska E, Jagiello-Wojtowicz E. *The effect of Ukrain on the serum VIP level in diabetic mice.* International Journal of Immunotherapy, XIX (2-4), 2003, 189-191.
- (195) Jagiello-Wojtowicz E, Kleinrok A, Jurek D. *Effects of Ukrain in acute intoxication with streptozotocin in rats.* International Journal of Immunotherapy, XIX (2-4), 2003, 193-196.
- (196) Jagiello-Wojtowicz E, Izdebska M, Piatkowska-Chmiel I. *The effect of Ukrain on selected biochemical parameters in the serum of methanol intoxicated rats.* International Journal of Immunotherapy, XIX (2-4), 2003, 197-200.

- (197) Yagodina OV, Nikolskaya EB, Faddejewa MD. *Inhibition of liver mitochondrial monoamine oxidase activity by alkaloids isolated from Chelidonium Majus and Macleaya and by derivative drugs "Ukrain" and "Sanguirythrine"*. Tsitologija. 2003;45(10):1032-7. [Article in Russian].
- (198) Cordes N, Blaese MA, Plasswilm L, Rodemann HP, Van Beuningen D. *Fibronectin and laminin increase resistance to ionizing radiation and the cytotoxic drug Ukrain in human tumour and normal cells in vitro*. Int J Radiat Biol. 2003 Sep;79(9):709-720.
- (199) Poteriaeva ON, Korolenko TA, Svechnikova IG, Zhanaeva Sa, Falameeva OV, Kaledin VI, Nowicky W. [Cysteine proteinases and their inhibitors in the development of mouse HA-1 hepatoma and antineoplastic therapy]. Biomed Khim 2004 Mar-Apr;50(2):172-9. Russian.
- (200) Zhanaeva SY, Korolenko TA, Shilov AG, Halikova TA, Guthova IV, Margulis BA, Yarygina ES. *Effect of Ukrain on human lymphoma cell growth with different expressions of heat shock protein 70 (hsp70)*. Int J Immunother 2003, XIX(2-4): 33-39.
- (201) Aschhoff B. *Ukrain in the treatment of prostate cancer patients*. Int J Immunother 2003, XIX(2-4): 41-45.
- (202) Zahriychuk O. *Ukrain, a thiophosphoric acid derivative of alkaloids of Chelidonium majus L., is effective in the treatment of recurrent bronchopulmonary pathology in children from areas contaminated after the Chernobyl accident*. Int J Immunother 2003, XIX(2-4): 47-53.
- (203) Sologub TV, Voltchek IV, Kivisepp NA, Grigoryeva T. *Efficacy and safety of the drug Ukrain in chronic hepatitis C patients*. Int J Immunother 2003, XIX(2-4): 55-59.
- (204) Usova TA, Poteryaeva ON, Pospelova TI, Korolenko TA. *Serum cystatin C in patients with hemoblastosis*. Int J Immunother 2003, XIX(2-4): 61-65.
- (205) Gansauge F. *Treatment of pancreatic cancer patients with Ukrain: four case reports*. Int J Immunother 2003, XIX(2-4): 67-71.
- (206) Susak Y. *Ukrain stimulates fibrotic and sclerotic transformations of pancreatic cancer tissue: comparative description of six cases*. Int J Immunother 2003, XIX(2-4): 73-80.
- (207) Aschhoff B. *Retrospective study of Ukrain treatment in 28 patients with unresectable pancreatic cancer*. Int J Immunother 2003, XIX(2-4): 81-85.
- (208) Kleef R. *Ukrain (NSC 631570) in combination with locoregional hyperthermia in the treatment of pancreatic cancer with liver metastases: a case report*. Int J Immunother 2003, XIX(2-4): 87-90.
- (209) Kroiss T. *Ukrain in the therapy of advanced metastatic pancreatic cancer: a case report*. Int J Immunother 2003, XIX(2-4): 91-94.
- (210) Nowicki G, Zahriychuk O. *Ukrain treatment of astrocytomas in girl with tuberous sclerosis: a case report*. Int J Immunother 2003, XIX(2-4): 95-97.
- (211) Langer A, Zahriychuk O, Hodysh Y. *Treatment of generalized lymphangiomatosis with Ukrain: a case report*. Int J Immunother 2003, XIX(2-4): 99-103.

- (212) Aschhoff B. *Clinical improvement of a patient with xeroderma pigmentosum after treatment with Ukrain*. Int J Immunother 2003, XIX(2-4): a case report. Int J Immunother 2003, XIX(2-4): 105-108.
- (213) Nefyodov LI, Doroshenko YM, Smirnov VY, Uglyanitsa KN, Nowicky W. *Metabolic control and treatment of malignant growth: tumor development, patterns of amino acid imbalance and Ukrain*. Int J Immunother 2003, XIX(2-4): 109-114.
- (214) Melnichenko N, Sundikovich E, Makarchikov A, Zverinsky I. *Antioxidative status and lipid peroxidation in rats after administration of Ukrain*. Int J Immunother 2003, XIX(2-4): 115-119.
- (215) Zverinsky I, Maximchuk Y, Melnichenko N, Zaloga I. *Effect of Ukrain on hepatic drug-metabolizing enzymes in rats: pilot studies*. Int J Immunother 2003, XIX(2-4): 121-124.
- (216) Egorov A., Belanovskaya E, Rudyak T, Melnichenko N, Zverinsky I. *Assessment of the functional state and morphological structure of the liver of rats after administration of the drug Ukrain*. Int J Immunother 2003, XIX(2-4): 125-128.
- (217) Levina O, Goncharova I, Filatova T, Nadeev A, Nowicky W, Sukhenko T, Kolesnikova O, Korolenko T. *Protective effect of Ukrain against acute acetaminophen-induced hepatitis in rats*. Int J Immunother 2003, XIX(2-4): 129-134.
- (218) Usova TA, Poteryaeva ON, Falameyeva OV, Zhanaeva SY, Levina OA, Yarygina ES, Korolenko TA, Nowicky W. *Serum cystatin C in murine tumors treated by combinations of cyclophosphamide with Ukrain or glucans*. Int J Immunother 2003, XIX(2-4): 135-140.
- (219) Zhanaeva SJ, Falameyeva OV, Filatova TG, Goncharova IA, Sukhenko TG, Kolesnikova OP, Kaledin VI, Korolenko TA, Nowicky WM. *Effect of different biological response modifiers on growth and metastazing of murine Lewis adenocarcinoma*. Int J Immunother 2003, XIX(2-4): 141-150.
- (220) Korolenko TA, Falameyeva OV, Poteryaeva OM, Zhanaeva SY, Levina OA, Nowicky W. *Cysteine protease inhibitor stefin A in murine tumors during treatment by Ukrain and/or cyclophosphamide*. Int J Immunother 2003, XIX(2-4): 151-157.
- (221) Todor I. *The effect of the antineoplastic drug Ukrain on the electrokinetic potential of malignant and normal cells*. Int J Immunother 2003, XIX(2-4): 159-167.
- (222) Andrievsky A, Smalyukh N, Krivitsky A, Zahriychuk O. *In vitro effects of Ukrain on the activity of trypsin-like proteases*. Int J Immunother 2003, XIX(2-4): 169-175.
- (223) Jablonski M. *Selected calciotropic hormones in serum of sexually mature female rats treated with Ukrain*. Int J Immunother 2003, XIX(2-4): 177-182.
- (224) Jablonski M. *Serum levels of corticosterone, progesterone, parathyroid hormone and calcitonin in ovariectomized rats after 3-month treatment with Ukrain*. Int J Immunother 2003, XIX(2-4): 183-188.
- (225) Wielosz-Tokarewska E, Jagiello-Wojtowicz E. *The effect of Ukrain on the serum vasoactive intestinal polypeptide level in diabetic mice*. Int J Immunother 2003, XIX(2-4): 189-191.
- (226) Jagiello-Wojtowicz E, Kleinrok A, Jurek D. *Effects of Ukrain in acute intoxication with streptozotocin in rats*. Int J Immunother 2003, XIX(2-4): 193-196.

- (227) Jagiello-Wojtowicz E, Izdebska M, Piatkowska-Chmiel I. *Effect of Ukrain on selected biochemical parameters in the serum of methanol-intoxicated rats*. Int J Immunother 2003, XIX(2-4): 197-200.
- (228) Jagiello-Wojtowicz E., Izdebska M.: Effect of CNS-631570 (Ukrain) on selected biochemical parameters indicating liver dysfunction in acute methanol intoxication of rats. Pol. J. Environ., 2004 w druku
- (229) Jagiello-Wojtowicz E., Piatkowska-Chmiel I.: Effects of chelidonine on some biochemical parameters in the serum of rats subacutely intoxicated by copper. Herba Polonica, 2004, Vol. 50, No 3/4, 2004
- (230) Zemskov S.V. Efficacy of adjuvant treatment with combination of Ukrain (NSC-631570) and Gemcitabin in cases of pancreas cancer. Ukrainian Chemotherapeutic Journal 2005, #1-2
- (231) Mozhenok T.P., Belyaeva T.N., Leontieva E.A., Faddejewa M.D. Modulation of vesicular membrane fusion and of actin cytoskeleton in mouse macrophages inducing by alkaloid sanguinarine and a derivative drug Ukrain. Cytology 2005, #10. Institute of Cytology, RAS, St. Petersburg, Russia.
- (232) Tomaszewski M., Olchowik M. Influence of Ukrain on some parameters in pelvis bone tissue of rats exposed to subacute microwave radiation. Krajowe Sympozjum Studenckich Kół Naukowych Akademii Medycznych, Lublin, 15 stycznia 2005.
- (233) Olchowik M., Tomaszewski M. Effect of Ukrain on biochemical parameters of rats subjected to subacute microwave radiation (mW). Krajowe Sympozjum Studenckich Kół Naukowych Akademii Medycznych, Lublin, 15 stycznia 2005.
- (234) Piątkowska-Chmiel I. Porównanie działania chelidoniny i leku Ukrain w ostrych zatruciach miedzią i cyną u szczurów. Krajowe Sympozjum Studenckich Kół Naukowych Akademii Medycznych, Lublin, 15 stycznia 2005.
- (235) Izdebska M., Jagiełło-Wójtowicz E. Protective effects of NSC-631570 in rats acutely intoxicated by ethylene glycol. VII Sympozjum „Postępy Toksykologii Klinicznej i Sądowej”, Kraków, 2-4 June 2005, Przegl. Lek., 2005, t. 62, 6, s. 638.
- (236) Piątkowska-Chmiel I., Jagiełło-Wójtowicz E. Comparison of actions of Chelidonine and Ukrain in acute copper chloride intoxication in rats. VII Sympozjum „Postępy Toksykologii Klinicznej i Sądowej”, Kraków, 2-4 czerwca 2005, Przegl. Lek., 2005, t. 62, 6, s. 638.
- (237) Izdebska M., Jagiełło-Wójtowicz E. Effect of single or 10-day treatment with Ukrain on some biochemical parameters in the serum of rats acutely intoxicated with alcohols. 42nd Congress of Toxicology, EUROTOX, Kraków, 11-14 September 2005, Vol. 158, Suppl. 1, s. 56-57.
- (238) Ernst E, Schmidt K: Ukrain – a new cancer cure? A systematic review of randomised clinical trials. BMC Cancer. 2005; 5: 69. doi: 10.1186/1471-5-69.
- (239) Kleinrok A, Jagiełło-Wójtowicz E. Effects of Ukrain on some biochemical parameters In mice pretreated with streptozotocin. IV Lwowsko-Lubelska Konferencja Biochemii Eksperymentalnej i Klinicznej, Lublin, 11-13 maja 2006.
- (240) Izdebska M, Jagiełło-Wójtowicz E. Effect of thiophosphoric acid alkaloid derivatives from Chelidonium majus L. on some biochemical parameters in the serum of rats

acutely intoxicated by ethylene glycol. 5th International Symposium on Chromatography of Natural Products (ISCNP). The Application of Chromatographic Methods in Phytochemical & Biomedical analysis, Lublin -Kazimierz Dolny, June 19-22, 2006, P-58, s. 110.

- (241) Jagiełło-Wójtowicz E, Piątkowska-Chmiel I. Protective effects of chelidonine and Ukrain in rats acutely intoxicated with tin chloride. 5th ISCNP. The Application of Chromatographic Methods in Phytochemical & Biomedical analysis, Lublin - Kazimierz Dolny, June 19-22, 2006, P-60, s. 112.
- (242) Jagiełło-Wójtowicz E., Chodkowska A. Estimation of biochemical parameters in blood serum of rats subjected to 10-day treatment with alkaloid thiophosphoric acid derivative of *Chelidonium majus* L. (Ukrain) with simultaneous exposition to ionizing radiation. 5th ISCNP. The Application of Chromatographic Methods in Phytochemical & Biomedical analysis, Lublin - Kazimierz Dolny, June 19-22, 2006, P-61, s. 113.
- (243) Lanvers-Kaminsky C, Nolting DM, Köster J, Schröder A, Sandkötter J, Boos J (2006): In-vitro toxicity of Ukrain against human Ewing tumor cell lines. *Anticancer Drugs* 17(9): 1025-1030
- (244) Ernst E. Why there will never be an alternative cancer cure. *Anti-Cancer Drugs* 2006, 17: 1023-1024
- (245) Gagliano N, Moscheni C, Torri C, Magnani I, Bertelli AAE, Nowicky W and Gioia M (2006): Effect of Ukrain on matrix metalloproteinase-2 and Secreted Protein Acidic and Rich in Cysteine (SPARC) expression in human glioblastoma cells. *Anti-Cancer Drugs* 17:189-194.
- (246) Habermehl D, Kammerer B, Handrick R, Eldh T, Gruber C, Cordes N, Daniel PT, Plasswilm L, Bamberg M, Belka C, Jendrossek V: Proapoptotic activity of Ukrain is based on *Chelidonium majus* L. alkaloids and mediated via a mitochondrial death pathway. *BMC Cancer* 2006; 6:14, <http://www.biomedcentral.com/1471-2407/6/14>.
- (247) Gansauge F, Ramadani M, Schwarz M, Beger HG, Lotspeich E, Poch B: The Clinical Efficacy of Adjuvant Systemic Chemotherapy with Gemcitabine and NSC-631570 in Advanced Pancreatic Cancer. *Hepato-Gastroenterology* 2007; 54:917-920
- (248) Jagiełło-Wójtowicz E., Izdebska M.: Effect of thiophosphoric acid alkaloids derivative from *Chelidonium majus* (L.) on antioxidant status in alcohol -intoxicated rats. *J. Ethnopharmacol.*, 2007.
- (249) Jagiełło-Wójtowicz E., Chodkowska A., Jabłoński M., Olchowik G. Serum RANKL in rats treated with Ukrain and simultaneous exposition to ionizing radiation. *J. Ethnopharmacol.*, 2007.
- (250) Gagliano N, Moscheni C, Torri C, Donetti E, Magnani I, Costa F, Nowicky W and Gioia M (2007): Ukrain modulates glial fibrillary acidic protein, but not connexin 43 expression, and induces apoptosis in human cultured glioblastoma cells. *Anti-Cancer Drugs* 2007, 18: 669-676.
- (251) Rebscher H: Off-label use in oncology. Quackery or progress? *MMW Fortschr Med.* 2002 Oct 10; 144(41): 25-6. In German.

- (252) Kuznetsova LP, Sochilina EE, Faddeeva MD, Iagodina OV: Effect of some isoquinoline alkaloids on enzymatic activity of acetylcholinesterase and monoamine oxidase. *Ukr Biokhim Zh.* 2005 Mar-Apr; 77(2): 147-53. In Russian.
- (253) Dudka J, Burdan F, Szumilo J, Tokarska E, Korobowicz A, Klepacz R, Gieroba R, Madej B, Korobowicz E: Effect of selected alcohol dehydrogenase inhibitors on human hepatic lactate dehydrogenase activity – an in vitro study. *J Appl Toxicol.* 2005 Nov-Dec; 25 (6): 549-53.
- (254) Grinevich Y, Shalimov S, Bendyuh G, Zahriychuk O, Hodysh Y: Effect of Ukrain on the growth and metastasizing of Lewis carcinoma in C57BL/6 mice. *Drugs Exp Clin Res.* 2005; 31(2): 59-70.
- (255) Mendoza J., Zamora R., Gallardo J., Ceballos G., Aldana A., Espinosa M., Maldonado V., Melendez-Zajgla: NF-kappaB Does Not Influence the Induction of Apoptosis by Ukrain. *Cancer Biology & Therapy* 5:7, July 2006: 788-793.
- (256) Izdebska M, Jagiello-Wojtowicz E. Evaluation of antioxidative activity of Ukrain in alcohol-intoxicated rats. *Ann Universitatis Mariae Curie-Sklodowska, Vol. XX No. 2,* 22.
- (257) Izdebska M, Piatkowska-Chmiel I, Jagiello-Wojtowicz E. Effect of Ukrain on selected biochemical parameters indicating kidney functioning of rats pretreated with ethanol. *Farm Przegl Nauk,* 2008, 11-12: 42-44.
- (258) Shvets Yu, Yemskov S, Skachkova O, Rivis O, Khranovska N. Anticancer drug „ukrain“ stimulates dendritic cells maturation in vitro. *Immunology & Allergology* 4:2008, 24-27.
- (259) Wolanska E, Bachanek T, Jarmolinska K, Jagiello-Wojtowicz E, Radzki S. Influence of Ukrain and strontium on the rat tooth intertubular dentine. I. XRF microprobe study. *Bull Vets Inst Pulawy* 52, 655-657, 2008.
- (260) Wolanska E, Bachanek T, Jarmolinska K, Jagiello-Wojtowicz E, Radzki S. Influence of Ukrain and strontium on the rat tooth intertubular dentine. II. Atomic force microscopy study. *Bull Vets Inst Pulawy* 52, 659-665, 2008.
- (261) Skivka L, Trompak O, Kudryavets Y, Bezdenezhnykh N, Susak Y. The effect of NSC-631570 (Ukrain) alone and in combination with pathogen-associated molecules on cell cycle distribution and apoptosis induction of mouse melanoma cells with different biological properties. *Experimental Oncology,* 2010, 32, 2:92-96.
- (262) Susak YM, Skivka LM, Rudik MP, Pozur VV, Liubunya AV. Comparative investigation of the effect of Ukrain on growth of ascite and solid forms of Ehrlich's carcinoma. *Experimental Oncology,* 2010, 32, 2:107-110.
- (263) Skivka L, Susak Y, Trompak O, Kudryavets Y, Bezdenezhnykh N, Semesiuk N, Lykhova O. The effect of monotherapy and combined therapy with NSC-631570 (Ukrain) on growth of low- and high-metastasizing B16 melanoma in mice. *J Oncol Pharm Pract.,* 2010, Sep 3.
- (264) Funel N, Giovannetti E, Nowicky W, Pollina LE, Del Chiaro M, Nowicky B, Mosca F, Peters GJ, Campani D, Boggi U. Molecular mechanisms underlying the synergistic interaction of the novel anticancer drug Ukrain with gemcitabine in preclinical models of pancreatic cancer. *Proceedings of the 34th National Congress of the*

Italian Association for the Study of the Pancreas (AISP) 2010, Journal of Pancreas, 2010.

- (265) Funel N, Giovannetti E, Nowicky W, Pollina LE, Del Chiaro M, Peters GJ, Nowicky B, Mosca F, Boggi U, Campani D. Different uptake of Ukrain can explain the selective effect against pancreatic adenocarcinoma cell cultures in vitro. Proceedings of the 34th National Congress of the Italian Association for the Study of the Pancreas (AISP) 2010, Journal of Pancreas, 2010.
- (266) Funel N, Costa F, Pettinari L, Taddeo A, Sala A, Chiriva-Internati M, Cobos E, Colombo G, Milzani A, Campani D, Dalle-Donne I, Gagliano N. Ukrain Affects Pancreas Cancer Cell Phenotype in vitro by Targeting MMP-9 and Intra-/Extracellular SPARC Expression. *Pancreatology* 2010;10:545–552, Published online: October 23, 2010.
- (267) Gagliano N, Pettinari L, Aureli M, Martinelli C, Colombo E, Costa F, Carminati R, Volpari T, Colombo G, Milzani A, Dalle-Donne I, Gioia M. Malignant phenotype of renal cell carcinoma cells is switched by Ukrain administration in vitro. *Anticancer Drugs*. 2011 Sep;22(8):749-62.