

KFK-66

**KERNFORSCHUNGSZENTRUM  
KARLSRUHE**

August/September 1961

KFK 66

Institut für Strahlenbiologie

Removal of Internally Deposited Radionuklides by

Triethylenetetraamine-hexaacetic Acid  
*[Eusander] [errit]*  
A. Catsch, D. Schindewolf-Jordan

Dekorporation von Radionukliden durch veresterte

Polyaminopolycarbonsäuren

A. Catsch



KERNREAKTOR

BAU- UND BETRIEBS-GESELLSCHAFT M. B. H.

KARLSRUHE

## Removal of Internally Deposited Radionuclides by Triethylenetetraamine-hexaacetic Acid

INCREASING the number of donor groups in chelating agents can give rise to the formation of more stable chelates<sup>1-3</sup> and, therefore, to a higher mobilization of internally deposited trivalent and other metal ions of higher valency. This has been demonstrated with ethylenediamine - NNN'N' - tetraacetic acid (EDTA) and diethylenetriamine-NNN'N'N''-pentaacetic acid (DTPA)<sup>4,5</sup>, that is, with chelating agents with 6 and 8 donor groups respectively. For this reason extension of this work to the 10-dentate triethylenetetraamine - NNN'N'N''N''' - hexaacetic acid (TTHA) seemed to be worth while.

Carrier-free cerium-144, yttrium-91 or strontium-85 was injected intravenously in rats 7-9 weeks old averaging 165 gm. in weight. The chelating agents (by courtesy of J. R. Geigy, S.A., Basle) were given immediately or at different time-intervals after the injection of the nuclide. As shown in Table 1, TTHA reduces the radiocerium content of the skeleton more effectively than DTPA, when given simultaneously or immediately after the administration of the nuclide. In the liver, however, under the same conditions, DTPA is more effective than TTHA. The comparative higher effectiveness of DTPA in mobilizing deposited radiocerium from the liver becomes still more pronounced if the chelating agent is administered after longer time intervals, whereas the superiority of TTHA over DTPA in the removal of radiocerium from the skeleton vanished. Analogous results have been obtained for radioyttrium (Table 2); but neither TTHA nor DTPA had any effect on the mobilization of radiostrontium.

The causes for the observed differences in the behaviour of these two chelating agents are not yet understood. It may be assumed tentatively that TTHA forms to some extent polynuclear colloidal chelates which may be metabolized differently from the smaller molecules of the 1 : 1-DTPA chelates. The greater effectiveness of TTHA as compared with DTPA in the removal from the skeleton—the critical organ for most radionuclides—of radiocerium and radioyttrium can be of therapeutical value in certain

**KERNREAKTOR**  
Bau- und Betriebs-Gesellschaft m. b. H.  
Verwaltung der Zentralbücherei

F 8. DEZ. 1961

Table 1. INFLUENCE OF DTPA AND TTHA ON THE DISTRIBUTION OF CERIUM-144. THE ANIMALS WERE KILLED 3-12 DAYS AFTER THE INTRA-PERITONEAL ADMINISTRATION OF THE CALCIUM CHELATES. THE DOSAGE, IF NOT OTHERWISE STATED, WAS 250  $\mu$ MOLES/RAT

Treatment	No. of animals	Per cent of control Mean and fiducial limits ( $P = 0.05$ )		
		Liver	Kidneys	Skeleton
100 DTPA } simult. (intravenous)	10	0.11 ( 0.08- 0.14)	14 ( 9.5- 21)	1.3 ( 0.9 - 1.8 )
" TTHA }	10	0.23 ( 0.17- 0.31)	14 ( 9.1- 21)	0.45 ( 0.33- 0.62)
DTPA } after 2 min.	28	1.00 ( 0.78- 1.30)	19 (16.0- 23)	10.00 ( 9.00-12.00)
TTHA }	27	1.50 ( 1.30- 1.70)	16 (14.0- 19)	5.20 ( 4.50- 6.10)
DTPA } after 24 hr.	22	21.00 (19.00-24.00)	54 (43.0- 68)	72.00 (64.00-80.00)
TTHA }	12	33.00 (27.00-40.00)	64 (53.0- 77)	68.00 (62.00-74.00)
DTPA } on 3rd day	13	23.00 (23.00-33.00)	86 (63.0-117)	72.00 (67.00-82.00)
TTHA }	13	55.00 (48.00-63.00)	86 (68.0-109)	75.00 (67.00-84.00)
DTPA } on 5th, 7th, 9th day	18	11.00 ( 8.40-14.00)	70 (53.0- 91)	61.00 (53.00-70.00)
TTHA }	18	29.00 (23.00-36.00)	74 (58.0- 95)	58.00 (52.00-65.00)

Table 2. INFLUENCE OF DTPA AND TTHA ON THE DISTRIBUTION OF YTTRIUM-91. THE ANIMALS WERE KILLED 3-6 DAYS AFTER THE INTRA-PERITONEAL ADMINISTRATION OF THE CALCIUM CHELATES. THE DOSAGE, IF NOT OTHERWISE STATED, WAS 250  $\mu$ MOLES/RAT

Treatment	No. of animals	Per cent of control Mean and fiducial limits ( $P = 0.05$ )		
		Liver	Kidneys	Skeleton
DTPA } after 2 min.	12	36 (26-51)	23 (18- 30)	5.7 ( 4.9- 6.6)
TTHA }	12	42 (28-62)	25 (18- 33)	3.9 ( 3.6- 4.3)
100 DTPA } after 24 hr. (intravenous)	8	57 (45-71)	89 (54-149)	81.0 (74.0-87.0)
" TTHA }	10	54 (44-65)	68 (43-107)	83.0 (77.0-89.0)
DTPA } on 3rd day	13	50 (39-66)	76 (46-126)	76.0 (70.0-83.0)
TTHA }	14	61 (47-79)	88 (54-144)	79.0 (74.0-85.0)

cases and justifies further investigations on other radionuclides, especially plutonium.

A. CATSCH

D. SCHINDEWOLF-JORDAN

Institut für Strahlenbiologie,  
Kernforschungszentrum,  
Karlsruhe 1.

- <sup>1</sup> Anderegg, G., Nägeli, P., Müller, F., and Schwarzenbach, G., *Helv. Chim. Acta*, **42**, 827 (1959).
- <sup>2</sup> Durham, E. J., and Rykiewicz, D. P., *J. Amer. Chem. Soc.*, **80**, 4812 (1958).
- <sup>3</sup> Harder, R., and Chaberek, S., *J. Inorg. Nucl. Chem.*, **11**, 197 (1959).
- <sup>4</sup> Heller, H. J., and Catsch, A., *Strahlentherapie*, **109**, 464 (1959).
- <sup>5</sup> Catsch, A., *Fed. Proc.*, Supp. 1961 (in the press), which includes further references.

# Dekorporation von Radionukliden durch veresterte Polyaminopolycarbonsäuren

A. CATSCH

Institut für Strahlenbiologie am Kernforschungszentrum, Karlsruhe, Deutschland

(Received 9 November 1960)

Von bestimmten Vorstellungen über den Wirkungsmechanismus von Chelatbildnern ausgehend, wurde der Einfluss der Ester bzw. Lactone der Hydroxyäthyläthylendiamintriessigsäure und der Bis(2-hydroxycyclohexyl)äthylendiamindiessigsäure auf das Verhalten von Radiocer und Radioyttrium im Organismus der Ratte untersucht. Während die Calciumchelate der Polyaminosäuren wirkungslos sind, bewirken die Ester, auch bei peroraler Verabfolgung, eine stärkere Reduktion des Gehalts der Leber an Radionukliden, wobei die erhöhte Ausscheidung bevorzugt mit den Faeces erfolgt. Die Effektivität der Ester ist in starkem Masse vom Zeitpunkt der Verabfolgung abhängig. Die sich aus den Befunden ergebenden Fragen werden diskutiert.

## REMOVAL OF INTERNALLY DEPOSITED RADIONUCLIDES BY THE USE OF ESTERIFIED POLYAMINOPOLYCARBONIC ACIDS

Based on certain assumptions concerning the mode of action of chelating agents, the effect of the ester resp. lactone of the hydroxyethylethylenediaminetriacetic acid and bis(2-hydroxycyclohexyl)ethylenediaminediacetic acid on the behaviour of radio-cerium and radio-yttrium in the organism of the rat was studied. Whereas the calcium chelates of the polyamino acids are ineffective, the esters, even given orally, induce a pronounced reduction of the radionuclide content of the liver. The radionuclides in this case are preferentially excreted with the faeces. The effectiveness of the esters depend largely on the time of the administration. The implications of the experimental findings are discussed.

## DECORPORATION DES RADIONUCLIDES PAR LES ESTERS DES ACIDES POLYAMINOPOLYCARBONIQUES

Partant de conceptions déterminées relatives au mécanisme d'action des agents chélateurs, on a étudié l'influence des esters respectivement des lactones de l'hydroxy-éthyle-éthylène-diamine-triacide acétique et de la bis(2-hydroxycyclohexyle)éthylène-diamine-diacide acétique sur la tenue du radiocérium et du radioyttrium dans l'organisme du rat. Tandis que les chélates de calcium des polyaminoacides sont inefficaces, les esters effectuent—même si l'on donne aux rats des doses perorales—une réduction plus prononcée de la teneur en radioéléments dans le foie, l'excrétion plus élevée se réalisant de préférence avec les fèces. L'efficacité de l'ester dépend largement du temps de l'administration. Les questions qui surgissent à partir des résultats sont discutées.

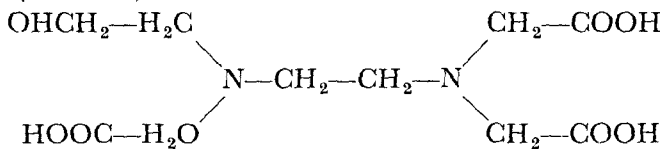
## УДАЛЕНИЕ РАДИОАКТИВНЫХ АТОМОВ ПРИ ПОМОЩИ ЭТЕРИФИЦИРОВАННЫХ ПОЛИАМИНОКАРБОНОВЫХ КИСЛОТ

На основе некоторых предположений относительно действия агентов, вызывающих образование хелатных комплексов, было исследовано влияние сложного эфира лактона гидроксипропилэтилендиаминтриуксусной кислоты и бис(2-гидроксициклогексил) этилендиаминдиуксусной кислоты на поведение радиоактивных цезия и иттрия в организме крысы. Тогда как хелаты кальция полиаминокислот неэффективны, эфиры, вводимые per os вызывают уменьшение содержания радиоактивных атомов в печени. В этом случае радиоактивные атомы выделяются в основном с испражнениями. Эффективность эфира в значительной степени зависит от времени его введения. Обсуждаются полученные экспериментальные данные.

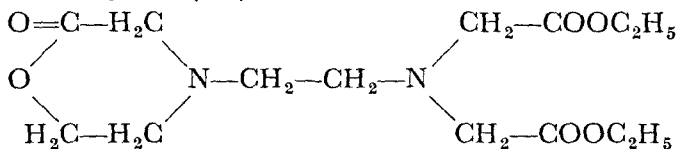
BESTIMMTE Polyaminopolycarbonsäuren wie die Äthylendiamintetraessigsäure (ÄDTA) und Diäthylentriaminpentaessigsäure (DTPA) werden neuerdings in stärkerem Masse verwendet, um die Ausscheidung inkorporierter radioaktiver oder stabiler Metallionen zu intensivieren. Die Polyaminosäuren liegen im Organismus praktisch zu fast 100% in Form ihrer Calciumchelate vor, die zumindest zweifach negativ geladene wasserlösliche Ionen darstellen. Dieser Umstand dürfte die Ursache für das nachgewiesene Unvermögen der Polyaminosäuren, Zellmembranen zu permeieren,<sup>(1)</sup> sowie auch für ihre geringe Wirksamkeit bei später Verabfolgung darstellen. Allerdings machen einige in neuerer Zeit erhobene Befunde die Annahme wahrscheinlich, dass eine zwar kleine, aber immer noch effektive Menge der DTPA sich im Zellinneren, zumindest in der Leber, anreichert (ausführliche Diskussion bei CATSCH<sup>(2)</sup>). Die Möglichkeit wäre damit nicht ausgeschlossen, dass eine Änderung des Permeabilitätsvermögens der Chelatbildner, beispielsweise durch Veresterung, zu einer über längere Zeit erhöhten Konzentration innerhalb der Zelle und damit auch zu einer Verbesserung ihrer Wirksamkeit führen könnte. Durch die Veresterung der COO<sup>-</sup>-Gruppen geht zwar der Chelatbildner seiner Donorgruppen verlustig, jedoch könnten diese durch Hydrolyse in der Zelle wieder freigesetzt und damit die angestrebte Erhöhung der Chelatbildnerkonzentration in der Zelle erreicht werden.

Die Chelatbildner, mit deren Einfluss auf das biologische Verhalten von Radiocer (Ce\*) und Radioyttrium (Y\*) sich vorliegende Untersuchungen befassen, sind:

(1) Die *N'*-(2-hydroxyäthyl)äthylendiamin-*NNN'*-triessigsäure (HÄDTA)

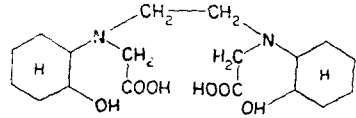


Der von uns verwendete Äthylester (ÄE) der HÄDTA

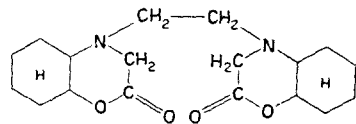


weist einen Lactonring, einen sog. inneren Ester auf; er ist bei pH 7 gut wasserlöslich und kann somit intravenös injiziert werden. Die HÄDTA selbst stellt nach unseren früheren Untersuchungen<sup>(3)</sup> bei später Verabfolgung einen nur sehr schwach wirksamen Chelatbildner dar.

(2) Das *Dilacton* (DOC-L)



der *NN'*-bis(2-hydroxycyclohexyl)äthylendiamin-*NN'*-diessigsäure (DOC).



Das CaNa<sub>2</sub>-Chalat der DOC wurde durch Hydrolyse der DOC-L bei pH 10 und 50°C erhalten.

Entsprechend der eingangs umrissenen Zielsetzung der Untersuchungen wurden alle Substanzen erst dann injiziert, wenn die Ablagerung des überwiegenden Teils der Radionuklide in den Organen bereits erfolgt war; bei intravenöser Inkorporation des Ce\* ist dies nach etwa 2–3 Stunden der Fall.<sup>(4)</sup>

Als Versuchstiere dienten junge Ratten des Heiligenberg-Inzuchtstammes, denen ca. 1 Mikrocurie trägerfreies Ce<sup>144</sup>-Pr<sup>144</sup> oder Y<sup>91</sup> als Chloride (pH 3) intravenös injiziert wurde. Bezüglich methodischer Einzelheiten verweisen wir auf unsere frühere Mitteilung.<sup>(3)</sup> Die in den Organen und Ausscheidungen festgestellte Aktivität wurde in

% der verabfolgten Gesamtaktivität ausgedrückt. Um die bei Versuchen dieser Art in der Regel ausgeprägte Varianzheterogenität auszuschalten, wurden die Versuchswerte bei der statistischen Analyse logarithmisch transformiert. Einzelne Versuchsgruppen waren mit Tieren von relativ unterschiedlichem Gewicht besetzt. Da eine deutliche Abhängigkeit des Verteilungsmusters des  $Ce^{141}$  vom Gewicht vorliegt, und zwar im Sinne einer Zunahme des Lebergehalts und Abnahme des Skelettgehalts mit wachsendem Gewicht,<sup>(4,5)</sup> wurde diesem Umstand bei der statistischen Analyse durch eine Kovarianzanalyse und entsprechende Korrekturen Rechnung getragen.

Der Zusammenstellung in Tabelle 1 ist zu entnehmen, dass die Verabfolgung von  $CaNa_2$ -HÄDTA nach 24 Stunden zu einer nur geringfügigen und statistisch nicht gesicherten Reduktion des  $Ce^{141}$ -Gehalts der Leber führt, während die Verabreichung einer äquimolaren Menge von ÄE eine deutliche und reproduzierbare Abnahme ergibt (Versuch Nr. 1–4). Bei den bezüglich der ÄE-Dosis (100  $\mu M$ ) und Zeitpunkt der Verabfolgung (24 Std.) vergleichbaren Versuchsgruppen (Tabelle 1 und 2) errechnet sich für den  $Ce^{141}$ -Gehalt der Leber ein (unter Berücksichtigung der unterschiedlichen Standardfehler und Zahl der Freiheitsgruppen) gewichteter Mutungsbereich ( $P = 0,05$ ) von 73 bis 79% des Kontrollwerts. Die entsprechenden Werte für Nieren und Skelett betragen 88–101 bzw. 97–107%, die Effektivität des ÄE scheint sich somit auf die Leber zu beschränken. Die Ausscheidung des  $Ce^{141}$  mit dem Urin, vor allem aber mit den Faeces ist, wie Abb. 1 zu entnehmen, im Laufe der zwei der Verabfolgung von ÄE folgenden Tage gegenüber der Kontrolle deutlich erhöht; insgesamt wurden rund 7% der  $Ce^{141}$ -Dosis mehr als in der Kontrollgruppe zur Ausscheidung gebracht, eine Menge, die mit den der Tabelle 1 zu entnehmenden Differenzen der Leberwerte in befriedigender Übereinstimmung steht.

Die Verweilzeit des nach Verabreichung von ÄE in der Leber noch verbleibenden  $Ce^{141}$  ist gegenüber der Kontrolle unverändert (Versuch Nr. 7 in Tabelle 1) und kann durch

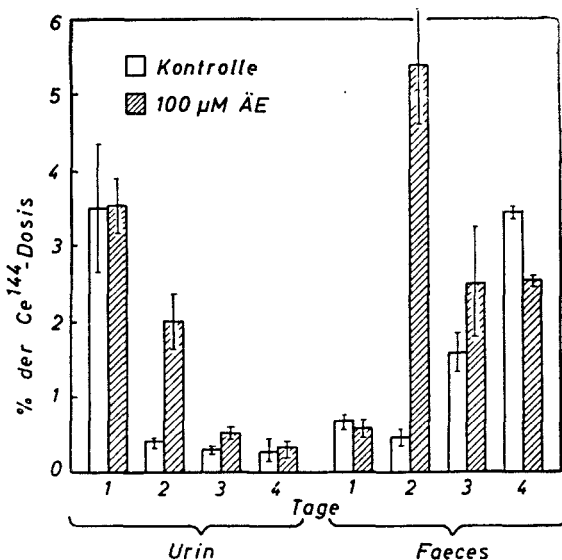


Abb. 1. Einfluss von ÄE, nach 24 Std. i.v. verabfolgt, auf die Ausscheidung von  $Ce^{141}$ . Je 6  $\sigma$  (232–407g). Einfache Standardfehler.

eine einfache Exponentialfunktion mit einer HWZ von etwa 10 Tagen wiedergegeben werden. Die Effektivität des ÄE zeigt eine deutliche Abhängigkeit von der Dosis (Versuch Nr. 8 der Tabelle 1), jedoch ist auch bei der kleinsten untersuchten Dosis von 25  $\mu M$  ein noch gesicherter Effekt nachzuweisen. Weit stärker fällt demgegenüber die Abhängigkeit der Effektivität vom Zeitpunkt der Verabfolgung ins Gewicht: Bei Verabreichung nach 124 Stunden (Versuch Nr. 10, 11 der Tabelle 1) ist der ÄE praktisch wirkungslos, bei Verabreichung nach 96 Stunden (Versuch Nr. 9, 11 der Tabelle 1) die Reduktion des  $Ce^{141}$ -Gehalts in der Leber mit  $t_{(19)} = 2,31$  ( $P = 0,05-0,02$ ) zwar noch gesichert, jedoch eindeutig schwächer als bei frühzeitigerer Applikation, insbesondere nach 6 Stunden. Im Gegensatz hierzu ist die Effektivität der nicht veresterten, allerdings im Vergleich zu HÄDTA auch wesentlich wirksameren Diäthylentriamin- $NNN'N'N'$ -pentaessigsäure (DTPA) weitgehend unabhängig vom Zeitpunkt der Verabreichung (Versuch Nr. 9 der Tabelle 1). Die Wirksamkeit des ÄE bleibt auch bei intraperitonealer Verabreichung (Versuch Nr. 4 der Tabelle 1) in vollem Umfang erhalten, so dass eine stärker ins Gewicht fallende Verseifung des

TABELLE 1.  $Ce^{144}$ -Gehalt der Organe (in % der Dosis); in Klammern ist der durch den Standardfehler gegebene Bereich angeführt. Die Verabfolgung der Chelatbildner erfolgte, wenn nicht anders angegeben, intravenös.  $N$  = Zahl der Tiere;  $g$  = mittleres Gewicht

Nr.	Chelatbildner	$\mu M$ /Tier	Injektion	Zeitpunkt (in Std.) der Injektion	Sektion	$N$	$g$	Leber	Nieren	Skelett
1	HÄDTA ÄE	100 100	30 30	72 72	5 ♂ 5 ♂ 5 ♂	164 172 168	41,9 (40,1-43,7) 38,4 (36,8-40,0) 22,0 (18,7-25,8)	1,49 (1,43-1,54) 1,54 (1,47-1,62) 1,57 (1,51-1,63)	34,7 (33,0-36,5) 32,1 (31,0-33,1) 38,8 (36,4-42,2)	
2	HÄDTA ÄE	100 100	24 24	96 96 96	6 ♂ 6 ♂ 6 ♂	191 179 194	38,2 (37,2-39,2) 37,0 (35,9-38,1) 28,9 (27,8-30,2)	1,59 (1,39-1,82) 1,54 (1,48-1,60) 1,38 (1,30-1,48)	27,5 (26,2-29,2) 27,9 (27,7-28,2) 28,2 (26,8-29,7)	
3*	HÄDTA ÄE	100 100	26 26	48 48 48	6 6 6	177 171 179	31,4 (30,8-32,0) 31,0 (30,5-31,6) 23,4 (22,9-23,8)	1,13 (1,10-1,17) 0,96 (0,93-0,98) 0,96 (0,91-1,00)	31,9 (31,0-33,0) 31,3 (30,2-32,4) 32,6 (31,5-33,7)	
4	ÄE ÄE i.p.	100 100	24 24	48 48 48	5 ♂ 5 ♂ 5 ♂	205 211 202	40,7 (40,3-41,2) 32,4 (31,3-33,5) 30,6 (30,4-30,8)	1,63 (1,55-1,71) 1,63 (1,53-1,73) 1,62 (1,51-1,75)	26,0 (24,8-27,1) 26,2 (25,0-27,4) 26,0 (25,5-26,4)	
5†	ÄE p.o.	100	24	96 96	6 ♂ 6 ♂	177 163	33,2 (32,4-34,0) 26,3 (25,5-27,1)	1,60 (1,51-1,69) 1,90 (1,79-2,01)	31,7 (30,5-33,0) 35,0 (33,4-36,6)	
6†	ÄE p.o. DTPA p.o.	200 200	24 24	96 96 96	5 ♂ 5 ♂ 4 ♂	122 134 140	28,5 (27,3-29,8) 22,7 (21,8-23,6) 21,0 (20,1-21,9)	1,92 (1,80-2,05) 1,99 (1,86-2,12) 1,70 (1,58-1,82)	37,2 (36,0-38,2) 38,7 (37,6-39,9) 28,7 (27,9-29,6)	
7	ÄE ÄE ÄE ÄE	100 100 100 100	24 24 24 24	48 48 192 192 768 768	5 ♀ 5 ♀ 5 ♀ 5 ♀ 5 ♀	137 132 135 136 133 130	49,0 (47,8-50,1) 35,8 (34,5-37,1) 33,1 (31,0-35,3) 25,2 (23,8-26,6) 4,98 (3,76-6,58) 3,78 (3,02-4,72)	1,31 (1,19-1,45) 1,16 (1,03-1,31) 0,75 (0,61-0,92) 0,54 (0,49-0,60) 0,37 (0,29-0,46) 0,38 (0,31-0,45)	25,6 (24,4-26,9) 23,6 (21,4-26,1) 24,7 (23,2-26,3) 25,7 (24,7-26,7) 24,9 (24,4-25,4) 26,2 (25,4-26,9)	
8	ÄE ÄE ÄE ÄE	200 100 50 25	24 24 24 24	48 48 48 48	5 ♂ 5 ♂ 5 ♂ 5 ♂	169 171 164 173 176	44,2 (43,3-46,2) 31,8 (30,4-33,4) 35,7 (34,0-37,6) 34,4 (33,1-35,6) 38,6 (36,8-40,5)	2,08 (2,02-2,15) 1,84 (1,77-1,91) 1,91 (1,66-2,18) 1,96 (1,86-2,06) 1,98 (1,89-2,07)	34,1 (33,0-35,2) 35,6 (33,9-37,3) 32,7 (32,0-33,5) 35,5 (32,9-38,3) 33,6 (31,4-35,9)	
9	ÄE DTPA	100 100	96 96	144 144	6 ♂ 6 ♂ 6 ♂	200 212 212	32,0 (30,0-34,1) 29,0 (27,8-30,2) 14,2 (13,0-15,4)	1,61 (1,48-1,75) 1,98 (1,89-2,07) 1,07 (0,98-1,16)	31,5 (30,7-32,3) 33,6 (31,4-35,9) 25,2 (24,5-26,0)	
10	ÄE HÄDTA	100 100	124 124	192 192 192	8 ♀ 8 ♀ 8 ♀	167 171 170	30,6 (29,0-32,2) 33,8 (32,8-34,8) 31,7 (30,8-32,6)	0,69 (0,63-0,76) 0,63 (0,58-0,68) 0,69 (0,62-0,76)	27,2 (26,1-28,4) 25,9 (24,9-26,9) 27,2 (26,1-28,4)	
11	ÄE ÄE ÄE ÄE	100 100 100 100	6 24 96	168 168 168 168	6 ♀ 6 ♀ 6 ♀ 6 ♀	158 181 161 162	43,2 (41,9-44,5) 25,3 (23,6-27,2) 34,1 (33,1-35,2) 39,6 (38,4-40,7)	0,60 (0,59-0,61) 0,59 (0,54-0,63) 0,63 (0,59-0,67) 0,54 (0,51-0,57)	22,8 (21,4-24,1) 23,0 (22,4-23,5) 24,4 (23,9-25,0) 23,6 (22,5-24,8)	

\* Da in diesem Versuch ♂ und ♀ verwendet wurden und eine Geschlechtsabhängigkeit des Verteilungsmusters vorliegt, erfolgte bei der Berechnung der Mittelwerte eine entsprechende Korrektur mit Hilfe der Kovarianzanalyse.  
† Die p.o.-Applikation erfolgte mit Hilfe einer Schlundsonde. Die Tiere erhielten 12 Stunden vorher kein Futter.



ÄE in der Bauchhöhle ausgeschlossen werden kann. Auch bei peroraler Verabfolgung (Versuch Nr. 5, 6 der Tabelle 1) wird der Ce\*-Gehalt der Leber auf rund 80% des Kontrollwerts gesenkt; es liegt somit ein nur unwesentlicher Effektivitätsverlust im Vergleich zu der intravenösen Applikation vor. Demgegenüber ist die peroral verabreichte DTPA in Übereinstimmung mit früheren Untersuchungen<sup>(4)</sup> erheblich weniger wirksam als bei intravenöser oder intraperitonealer Injektion (Versuch Nr. 9 der Tabelle 1 und Nr. 12, 14 der Tabelle 2).

Im Hinblick auf den evtl. unterschiedlichen Wirkungsmechanismus des ÄE einerseits und des  $\text{CaNa}_3$ -Chelats der DTPA andererseits prüfen wir, ob beide Substanzen sich bezüglich ihrer Effektivitäten additiv verhalten (Tabelle 2): ÄE wurde nach 23 Stunden, DTPA in Versuch Nr. 12 vorher, in Versuch Nr. 14 nachträglich injiziert. Der Versuchsstruktur nach handelt es sich um sog.  $2 \times 2$ -Faktor-Versuche; ergibt die Varianzanalyse eine nicht signifikante Wechselwirkung beider Faktoren, so bedeutet dies, dass eine volle Additivität der Einzelwirkungen vorliegt. Dies ist bei vorheriger Verabfolgung des ÄE der Fall, nicht aber, wenn zuerst DTPA injiziert wird; hierbei wird anstelle eines bei Annahme voller Additivität zu erwartenden Ce\*-Gehalts der Leber von 3,3% ein Wert von nur 5%, wie auch bei alleiniger Verabfolgung von DTPA, beobachtet. Eine vorherige Verabreichung der an sich unwirksamen Äthylendiamin-*NNN'*-tetraessigsäure (ÄDTA) dagegen beeinflusst die Effektivität des ÄE nicht (Versuch Nr. 13). Da der Ce\*-Gehalt der Nieren und des Skeletts auch in diesen Versuchen durch ÄE unbeeinflusst blieb, wurde auf eine Anführung dieser Daten in Tabelle 2 verzichtet.

Die wesentlicheren der in den vorangehenden Abschnitten angeführten Versuchsergebnisse konnten auch für Y\* bestätigt werden (Tabelle 3): Vorausgesetzt, dass ÄE frühzeitig verabreicht wird, ist er wirksamer als HÄDTA, aber unwirksamer als DTPA. Die Wirkung ist wiederum auf die Leber beschränkt und bleibt bei intraperitonealer Verabfolgung erhalten.

Es sei hier kurz, ohne auf die möglichen Ursachen einzugehen, auf einen Nebenbefund hingewiesen, und zwar die unseres Wissens bisher noch nicht beschriebene Geschlechtsabhängigkeit des Verteilungsmusters der seltenen Erden. In Versuch Nr. 3 (Tabelle 1) zeigte der Ce\*-Gehalt der Leber bei ♂♂ niedrigere Werte als bei ♀♀, während der Gehalt in den Nieren und im Skelett erhöht ist. Die ♂♂ zeigten auch in den Y\*-Versuchen Nr. 2 und 3 (Tabelle 3) höhere Werte in den Nieren und niedrigere in der Leber. Die Unterschiede waren in allen Fällen statistisch signifikant.

Die Versuchsergebnisse mit DOC sind in Tabelle 4 zusammengestellt. Auch in diesem Fall führt das Dilacton zu einer stärkeren Reduktion des Ce\*-Gehalts der Leber als das entsprechende  $\text{CaNa}_2$ -Chelat. Im Gegensatz zu den bei der HÄDTA und ÄE vorliegenden Verhältnissen erfahren das DOC-L und auch das DOC bei Verabreichung nach 4 Tagen (Versuch Nr. 16, 17) keine stärkeren Effektivitätsverluste. Hervorzuheben ist die hohe Lebereffektivität der DOC-L bei frühzeitiger Verabfolgung, d.h. 2 min nach Injektion von Ce\* (Versuch Nr. 15). Der Lebergehalt ist auf rund 10% des Kontrollwerts gesenkt. Andere von uns untersuchte Chelatbildner, in Form der Ca-Chelate verabreicht, die eine ähnlich starke Lebereffektivität aufweisen, reduzieren den Ce\*-Gehalt des Skeletts auf etwa 30–50%.<sup>(2,6)</sup> Dass dies im Falle der DOC-L nicht der Fall ist, spricht wiederum zugunsten unserer Annahme, dass die Chelierung des Ce\* nicht bzw. in nur untergeordnetem Masse im extrazellulären Raum stattfindet.

Die im Vergleich zu den entsprechenden Ca-Chelaten höhere Wirksamkeit des Esters bzw. Lactons scheint die Richtigkeit der eingangs dargelegten Überlegungen zu bestätigen. In die gleiche Richtung weist auch die bevorzugte Intensivierung der faecalen Ausscheidung nach Verabfolgung des ÄE; HÄDTA selbst führt zu einer erhöhten Ausscheidung nur mit dem Urin.<sup>(3)</sup> Die Tatsache, dass die Verweilzeit des Ce\* nach Verabreichung des ÄE gegenüber der Kontrolle unverändert bleibt, zeigt, dass der überwiegende Teil des in der Leber gebildeten

TABELLE 2. Ce<sup>144</sup>-Gehalt der Leber. Varianzanalyse der Ergebnisse. Dosen: 100  $\mu$ M  $\ddot{A}$ E i.v., 250  $\mu$ M DTPA bzw.  $\ddot{A}$ DTA i.p.

Nr.	Injektion nach Stunden			Tag der Sektion	N	g	% der Dosis	Art der Varianz	t	P
	5	23	47							
12	—	—	—	2	5 ♀	121	48,6	DTPA $\ddot{A}$ E Wechselwirkung	22,8 2,3 2,3	<0,001 0,05-0,02 0,05-0,02
	DTPA	—	—	2	5 ♀	122	5,04			
	—	$\ddot{A}$ E	—	2	5 ♀	122	32,2			
	DTPA	$\ddot{A}$ E	—	2	5 ♀	128	5,04			
13	—	—	—	2	5 ♂	195	44,0	$\ddot{A}$ DTA $\ddot{A}$ E Wechselwirkung	Subnormal 6,1 Subnormal	<0,001
	$\ddot{A}$ DTA	—	—	2	5 ♂	191	42,1			
	—	$\ddot{A}$ E	—	2	5 ♂	206	32,4			
	$\ddot{A}$ DTA	$\ddot{A}$ E	—	2	5 ♂	185	32,6			
14	—	—	—	3	5 ♂	168	39,1	DTPA $\ddot{A}$ E Wechselwirkung	10,3 4,7 Subnormal	<0,001 <0,001
	—	—	DTPA	3	5 ♂	156	19,3			
	—	$\ddot{A}$ E	—	3	5 ♂	167	28,4			
	—	$\ddot{A}$ E	DTPA	3	5 ♂	163	13,9			

TABELLE 3. Y<sup>91</sup>-Gehalt der Organe (in % der Dosis). Erklärungen s. Tabelle 1

Nr.	Chelatbildner	$\mu$ M/Tier	Zeitpunkt (in Std.) der		N	g	Leber	Nieren	Skelett
			Injektion	Sektion					
1	—	—	—	48	6 ♂	207	4,10 (3,68-4,57)	1,95 (1,76-2,16)	62,4 (60,5-64,2)
	H $\ddot{A}$ DTA	100	24	48	6 ♂	201	3,32 (3,07-3,59)	2,00 (1,86-2,16)	53,8 (52,5-55,2)
	$\ddot{A}$ E	100	24	48	6 ♂	190	2,70 (2,58-2,82)	2,47 (2,24-2,68)	58,5 (57,0-60,1)
2*	—	—	—	48	5	134	3,19 (3,00-3,39)	1,17 (1,01-1,34)	71,5 (69,7-73,1)
	H $\ddot{A}$ DTA	100	24	48	5	134	3,18 (2,98-3,38)	1,01 (0,88-1,16)	65,9 (64,4-67,4)
	$\ddot{A}$ E	100	24	48	5	141	2,17 (2,03-2,30)	1,10 (0,95-1,26)	69,4 (67,8-71,0)
	$\ddot{A}$ E i.p.	100	24	48	5	117	2,27 (2,13-2,41)	1,02 (0,88-1,17)	66,4 (64,9-68,2)
	DTPA	100	24	48	3	148	1,81 (1,69-1,94)	1,04 (0,93-1,16)	57,6 (56,0-59,2)
3*	—	—	—	144	7	154	1,39 (1,28-1,51)	0,85 (0,72-1,00)	67,2 (65,5-68,8)
	H $\ddot{A}$ DTA	100	72	144	7	151	1,02 (0,93-1,11)	0,77 (0,65-0,90)	64,7 (63,0-66,4)
	$\ddot{A}$ E	100	72	144	7	150	1,02 (0,92-1,12)	0,91 (0,77-1,07)	65,6 (64,0-67,4)
	DTPA	100	72	144	6	141	0,68 (0,62-0,74)	0,78 (0,66-0,92)	52,5 (51,0-54,0)
4	—	—	—	120	5 ♀	129	1,88 (1,67-2,12)	2,79 (2,17-3,51)	67,3 (66,6-68,0)
	H $\ddot{A}$ DTA	100	72	120	5 ♀	137	1,58 (1,47-1,69)	2,17 (1,81-2,60)	61,1 (59,1-64,5)
	$\ddot{A}$ E	100	72	120	5 ♀	135	1,43 (1,31-1,57)	2,23 (2,00-2,49)	66,4 (63,4-69,6)

\* Da in diesem Versuch ♂ und ♀ verwendet wurden und eine Geschlechtsabhängigkeit des Verteilungsmusters vorliegt, erfolgte bei der Berechnung der Mittelwerte eine entsprechende Korrektur mit Hilfe der Kovarianzanalyse.

TABELLE 4. Ce<sup>144</sup>-Gehalt der Organe (in % der Dosis); Erklärungen s. Tabelle 1. Die Chelatbildner wurden in einer Dosis von 250  $\mu$ M/Tier intraperitoneal injiziert

Nr.	Chelatbildner	Zeitpunkt (in Std.) der		N	g	Leber	Nieren	Skelett
		Injektion	Sektion					
15	—	24	96	5 ♂	180	34,3 (32,1–35,8)	1,84 (1,64–2,05)	37,0 (35,2–38,8)
	DOC	24	96	5 ♂	179	29,7 (28,6–31,0)	1,89 (1,73–2,11)	36,2 (34,3–38,0)
	DOC-L	24	96	5 ♂	185	23,4 (22,4–24,6)	1,65 (1,48–1,85)	34,2 (32,6–35,9)
	DOC-L	2 min	96	5 ♂	181	3,39 (3,24–3,54)	1,06 (0,95–1,18)	36,7 (34,9–38,5)
16	—	96	192	5 ♀	159	29,8 (28,0–31,7)	0,74 (0,68–0,79)	24,5 (23,4–25,5)
	DOC	96	192	5 ♀	142	24,1 (22,6–25,7)	0,77 (0,71–0,82)	28,2 (27,0–29,5)
17	—	96	192	5 ♂	148	21,2 (19,7–22,8)	1,08 (1,02–1,14)	41,0 (39,6–42,4)
	DOC-L	96	192	5 ♂	140	14,7 (13,7–15,9)	1,12 (1,06–1,19)	44,7 (43,2–46,2)

Ce\*-Chelats ausgeschieden und nicht zurückgehalten wird. Die Effektivität der Ester scheint sich nur auf die Leber zu beschränken; dies darf nicht ohne weiteres dahingehend gedeutet werden, dass sie sich selektiv nur im Leberparenchym anreichern bzw. dass nur in den Leberzellen die Bedingungen für ihre ausreichende Verseifung gegeben sind. Die fehlende Wirksamkeit in anderen Organen wie der Niere könnte nämlich auch ohne weiteres dadurch bedingt sein, dass in diesem Fall die Chelatbildungskonstanten und/oder Konzentrationen nicht ausreichend gross sind, um sich gegenüber der Konkurrenz biologischer Reaktionspartner durchzusetzen.

Was die ausgeprägte Abhängigkeit der ÄE-Effektivität vom Zeitpunkt der Verabfolgung betrifft, so ist sie ein allgemein gültiges Phänomen und die Folgeerscheinung davon, dass Metallionen mit zunehmender Zeit in den Geweben in eine fester gebundene und damit für Chelatbildner weniger zugängliche Form überführt werden.<sup>(5,6)</sup> Die im Vergleich zum ÄE grössere Wirksamkeit der DTPA ist nicht überraschend, wenn man den für die Wirksamkeit relevanten<sup>(6)</sup> Quotienten der Chelatstabilitätskonstanten  $K_{CaZ}^{Ce} / K_{CaZ}^{Ca}$  berücksichtigt; er beträgt für die DTPA<sup>(7)</sup>  $10^{9,3}$ , für die HÄDTA<sup>(8)</sup> dagegen nur  $10^6$ .

Bei kombinierter Verabreichung von ÄE und DTPA war aufgrund obiger Überlegungen eine Additivität der Wirkungen

bei *vorheriger* Verabreichung des ÄE zu erwarten und konnte experimentell auch verifiziert werden. Bei *nachträglicher* Verabfolgung des ÄE sollte jedoch das relativ leicht mobilisierbare Ce\* bereits durch DTPA entfernt und der ÄE somit ineffektiv sein; auch dies bestätigte sich experimentell. Geht der Zuführung des ÄE die Verabfolgung eines schwächer wirksamen Chelatbildners wie der ÄDTA voraus, so kann die Effektivität des ÄE sich wieder voll manifestieren.

Da die DTPA in ihrer Wirksamkeit dem ÄE und DOC-L erheblich überlegen ist, ergeben sich aus unseren Ergebnissen zunächst noch keine unmittelbaren praktischen Folgerungen für die Frage der therapeutischen Verwendbarkeit. Der Nachweis der Effektivitätssteigerung von Polyaminopolycarbonsäuren durch Veresterung und der offenbar hohen Resorption der veresterten Chelatbildner aus dem Digestionstrakt dürfte jedoch insofern von grundsätzlicher Bedeutung sein, als er einen neuen Ansatzpunkt für die Bemühungen um eine Verbesserung der therapeutischen Effektivität von Chelatbildnern aufzeigt. Es ist beabsichtigt, die Untersuchungen mit Estern anderer Substanzen fortzusetzen.

*Anerkennung*—Für die Darstellung und Überlassung der Chelate sind wir der J. R. GEIGY AG, Basel, insbesondere HERRN DR. P. MOSER und HERRN H. W. SCHLÄPPER zu Dank verpflichtet. Für gewissenhafte technische Assistenz danken wir FRL. L. BRAUN und FRL. B. STORCK.

## LITERATUR

1. FOREMAN H., VIER M. und MAGEE M. *J. biol. Chem.* **203**, 1045 (1953).
2. CATSCH A. *Fed. Proc.* (1961) Im Druck.
3. CATSCH A. und LÊ D. KH. *Strahlentherapie* **104**, 494 (1957).
4. CATSCH A. LÊ D. KH. und MELCHINGER H. *Strahlentherapie* **106**, 606 (1958).
5. CATSCH A. *Strahlentherapie*, (1961) **114**, Nr. 4.
6. HELLER H. J. und CATSCH A. *Strahlentherapie* **109**, 464 (1959).
7. ANDEREGG G., NÄGELI P., MÜLLER F. und SCHWARZENBACH G. *Helv. chim. acta* **42**, 827 (1959).
8. SPEDDING F. H., POWELL J. E. und WHEELWRIGHT E. J. *J. Amer. chem. Soc.* **78**, 34 (1956).