

KERNFORSCHUNGSZENTRUM

KARLSRUHE

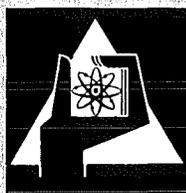
Januar 1971

KFK 1389

Institut für Strahlenbiologie

Metabolismus und Toxizität therapeutischer Chelatbildner
X. Mitteilung: Die Ausscheidung von endogenem Mangan

W. Nadolny



GESELLSCHAFT FÜR KERNFORSCHUNG M. B. H.
KARLSRUHE

Sonderdruck

141/1

1971

Strahlentherapie

Archiv für klinische
und experimentelle Radiologie

Metabolismus und Toxizität therapeutischer Chelatbildner

X. Mitteilung: Die Ausscheidung von endogenem Mangan

Wilfriede Nadolny

Aus dem Institut für Strahlenbiologie, Kernforschungszentrum Karlsruhe



URBAN & SCHWARZENBERG
MÜNCHEN - BERLIN - WIEN

Alle Rechte, auch die des Nachdrucks, der photomechanischen Wiedergabe und der Übersetzung, vorbehalten

© Urban & Schwarzenberg, München-Berlin-Wien 1971

Metabolismus und Toxizität therapeutischer Chelatbildner

X. Mitteilung: Die Ausscheidung von endogenem Mangan

Wilfriede Nadolny

Aus dem Institut für Strahlenbiologie, Kernforschungszentrum Karlsruhe

Zur Verifizierung der Hypothese, daß die toxischen Nebenwirkungen von Chelatbildnern auf ihrer Wechselwirkung mit essentiellen Spuremetallen beruhen [6], sind quantitative Untersuchungen erforderlich, die sich mit der Ausscheidung entsprechender Metalle in Abhängigkeit von Dosis und Art der Chelatbildner befassen. Frühere Mitteilungen [8, 12] untersuchten das Verhalten von Zink; die vorliegende Arbeit hat die Ausscheidung von Mangan zum Gegenstand. Es ist zwar bekannt, daß die Ca-Chelate von ÄDTA (Äthylendiamintetraacetat) und DTPA (Diäthylentriamin-pentaacetat) die Mn-Ausscheidung mit dem Urin erhöhen (Schrifttum bei [6]), doch haben die entsprechenden Arbeiten nur orientierenden und qualitativen Charakter. Außer ÄDTA und DTPA prüften wir einen weiteren Chelatbildner, und zwar CDTA (*trans*-Cyclohexan-1,2-diamintetraacetat). Der Grund hierfür war, daß CDTA die Verteilung von ^{54}Mn in etwa gleich starkem Maße wie DTPA beeinflusst [13] und außerdem, wie in der Diskussion ausgeführt wird, in komplex-chemischer Beziehung sich exzeptionell verhalten kann.

Material und Methodik

Als Versuchstiere dienten Rattenmännchen des Heiligenberg-Stamms (Körpergewicht 190 bis 230 g), die Leitungswasser und „altromin“-R-Pellets (mit einem Mn-Gehalt von $42 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) ad libitum erhielten. Die Chelate: 1. $\text{Na}_2[\text{Ca-ÄDTA}]$, 2. $\text{Na}_2[\text{Ca-CDTA}]$ und 3. $\text{Na}_3[\text{Ca-DTPA}]$ sowie äquimolare NaCl-Dosen im Falle der Kontrollgruppen wurden intraperitoneal, ^{54}Mn intravenös injiziert. In der Versuchsreihe 1 verwendeten wir spezielle Stoffwechselfäfige [20], in den Versuchen 2 und 3 die Käfige des Typs Restraint Racks, Modell „BR“ (Aerospace Industries, Garneville, N.Y.). Beide Käfige erlauben die quantitative Trennung von Urin und Fäzes ohne gegenseitige Kontamination.

Die Bestimmung des nicht radioaktiven Mn erfolgte mittels Atomabsorptionsspektrometrie (bezüglich Einzelheiten der Methodik siehe [15]), die Mn-Konzentrationen bis zu $0,1 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ zu erfassen

gestattet. Die in biologischen Proben mit Hilfe der Atomabsorptionsspektrometrie bestimmten Mn-Mengen wurden in einem orientierenden Versuch durch Neutronenaktivierungsanalyse¹ bestätigt. Eine Ausnahme stellt der Knochen dar, für den die Atomabsorptionsspektrometrie eine rund achtmal höhere Mn-Konzentration als die Neutronenaktivierung ergab; die in Tabelle 2 angeführten Werte für das Skelett sind entsprechend korrigiert.

Trägerfreies $^{54}\text{MnCl}_2$ wurde in einer Aktivität von $\sim 10 \mu\text{Ci}$ pro Tier injiziert und die Aktivität mit Hilfe eines γ -Spektrometers bestimmt.

Ergebnisse

In der ersten Versuchsreihe bestimmten wir den Mn-Gehalt im 24-Stunden-Urin nach einmaliger Injektion der Chelate in unterschiedlicher Dosierung. Während des Versuchs hatten die Tiere keinen Zugang zu Futter. Der Zusammenstellung in Tabelle 1 ist zu entnehmen, daß bereits die jeweils niedrigste Chelatdosis die Mn-Ausscheidung mit dem Urin eindeutig erhöht und daß bezüglich der Wirksamkeit $\text{ÄDTA} < \text{CDTA} < \text{DTPA}$ gilt. Die Auswertung der Daten mittels der Varianzanalyse ergab, daß im Falle von ÄDTA und CDTA die Dosisabhängigkeit der Mn-Ausscheidung im doppelt-logarithmischen Koordinatensystem linear ist und daß kein statistisch signifikanter quadratischer Term vorliegt. Demgegenüber ist der quadratische Term im Falle von DTPA, das heißt die Abflachung der Kurve im Bereich von $\geq 1 \text{ mmol} \cdot \text{kg}^{-1}$, mit $0,01 < P < 0,02$ signifikant. Die weitere Analyse der Dosis-Effekt-Kurven — im Falle von DTPA unter Ausschluß der Dosen $\geq 1 \text{ mmol} \cdot \text{kg}^{-1}$ — zeigte keine Abweichungen von der Parallelität ($P \gg 0,2$), so daß die Berechnung von dosisunabhängigen Werten der relativen Potenz ρ (definiert als das Verhältnis gleichwirksamer Dosen) und die Wiedergabe durch eine gemeinsame Dosis-

¹ Für die Bestimmungen danken wir Herrn Dr. Stärk (Institut für Radiochemie der TH München) und Herrn Dr. Vogt (Institut für Isotopentechnik, Kernforschungszentrum Karlsruhe).

Tabelle 1. Mn-Ausscheidung mit dem 24-Stunden-Urin (μg). In Klammern ist der logarithmische Mittelwert \pm Standardfehler angeführt. N = Zahl der Ratten.

Dosis $\text{mmol} \cdot \text{kg}^{-1}$	N	ÄDTA	N	CDTA	N	DTPA	N	NaCl*
0,0625			4	2,75 (0,44 \pm 0,029)	4	4,17 (0,62 \pm 0,026)		
0,125	6	2,63 (0,42 \pm 0,039)	4	5,25 (0,72 \pm 0,037)	5	6,31 (0,80 \pm 0,044)		
0,25	4	4,37 (0,64 \pm 0,032)	4	5,89 (0,77 \pm 0,052)	5	9,13 (0,96 \pm 0,021)		
0,5	6	3,72 (0,57 \pm 0,012)	4	8,32 (0,92 \pm 0,046)	4	12,30 (1,09 \pm 0,035)		
1	6	6,92 (0,84 \pm 0,028)	4	15,49 (1,19 \pm 0,039)	4	14,13 (1,15 \pm 0,051)	2	1,70
2	5	11,00 (1,04 \pm 0,015)	4	15,49 (1,19 \pm 0,017)	4	17,38 (1,24 \pm 0,005)	2	0,97
4	5	17,80 (1,25 \pm 0,013)	4	26,92 (1,43 \pm 0,017)	4	22,39 (1,35 \pm 0,019)	2	1,64
8	5	21,38 (1,33 \pm 0,028)	5	30,91 (1,49 \pm 0,036)	3	28,85 (1,46 \pm 0,012)	2	1,53

* Mittelwert: 1,46 μg .

Effekt-Kurve (Abb. 1) möglich sind. Die q -Werte für CDTA und DTPA betragen 2,56 bzw. 5,91, die Mutungsbereiche ($P = 0,05$) 2,00 bis 3,28 bzw. 4,42 bis 8,00. Der q -Wert von DTPA wird ab 1 $\text{mmol} \cdot \text{kg}^{-1}$ kleiner und wird mit dem von CDTA praktisch identisch (vgl. Tab. 1).

In der zweiten Versuchsreihe wurde DTPA an vier aufeinander folgenden Tagen verabfolgt. Die Dosierung, die 2 $\text{mmol} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ betrug, war bereits toxisch, da der Gewichtsverlust 37% (im Vergleich zu 15% bei den Kontrollen) ausmachte und 7 von 12 Tieren unter schweren Durchfällen ad exitum kamen.

Für die Untersuchungen wurden nur die Tiere herangezogen, die 24 Stunden nach der letzten Dosis noch am Leben waren. Abbildung 2 zeigt, daß die Mn-Ausscheidung im Laufe des Versuchs progredient abnimmt und am vierten Tag mit der bei Kontrolltieren praktisch identisch wird. Die im Vergleich zur ersten Versuchsreihe höhere Mn-Ausscheidung in der Kon-

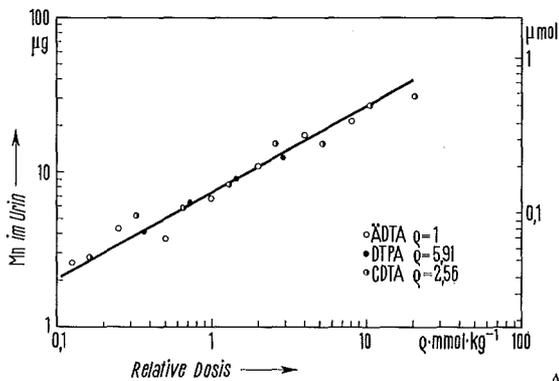


Abb. 1. Abhängigkeit der Mn-Ausscheidung von der Chelatdosis.

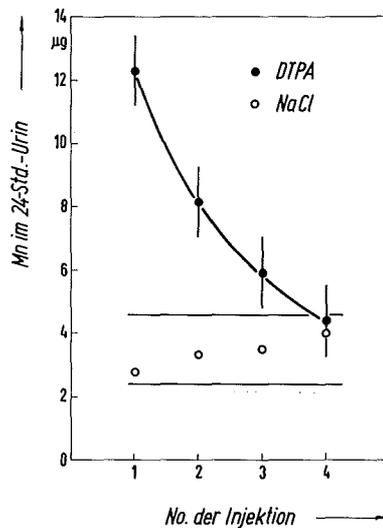


Abb. 2. Mn-Ausscheidung mit dem Urin bei wiederholter DTPA-Verabfolgung. Mittelwerte von je fünf bis sechs Ratten pro Gruppe \pm Standardfehler.

Tabelle 2. Mn-Gehalt der Organe [μg] nach vier DTPA-Dosen. Mittelwerte von je sechs Ratten \pm Standardfehler.

Organ	DTPA	NaCl
Skelett	4,62 \pm 0,13	6,54 \pm 0,21
Leber	6,69 \pm 0,36	15,30 \pm 1,09
Nieren	1,78 \pm 0,20	2,44 \pm 0,09
Dünndarm	1,66 \pm 0,26	8,17 \pm 0,52

trolle dürfte aller Wahrscheinlichkeit nach damit zusammenhängen, daß die Tiere freien Zugang zum Futter hatten. Der Mn-Gehalt in den von uns untersuchten Organen ist im Vergleich zu den Kontrollen eindeutig, wenn auch in unterschiedlichem Maße herabgesetzt (Tab. 2). Eine Bestimmung der fäkalen Mn-Ausscheidung wurde in den beiden ersten Versuchsreihen nicht durchgeführt, da sie wegen des hohen Mn-Gehalts des Futters nicht sinnvoll gewesen wäre. Um neben der Ausscheidung mit dem Urin auch die in den Intestinaltrakt zu erfassen, injizierten wir in der dritten Versuchsreihe trägerfreies ^{54}Mn und bestimmten dessen Ausscheidung nach einmaliger Verabfolgung von DTPA zu verschiedenen Zeitpunkten (Tab. 3).

Diskussion

Was die Ausscheidung von ^{54}Mn betrifft, so beträgt das Verhältnis Fäzes:Urin ab achtem Tag ~ 250 (vgl. Tab. 3), während der ersten 24 Stunden nach ^{54}Mn -Injektion dagegen nur ~ 50 [13]. Geht man von dem letzteren Wert und von der Annahme aus, daß das durch die Nieren und das in den Darm (vornehmlich mit der Galle [3] ausgeschiedene Mn die gleiche spezifische Aktivität aufweisen, würden — da der 24-Stunden-Urin rund $1,5 \mu\text{g}$ Mn enthält (Tab. 1) — etwa $75 \mu\text{g}$ in den Darm ausgeschieden und, um dem steady state zu genügen, annähernd die gleiche Menge enteral resorbiert werden.

DTPA in einer Dosis von $2 \text{ mmol} \cdot \text{kg}^{-1}$ erhöht die ^{54}Mn -Ausscheidung mit dem Urin um einen Faktor von ~ 600 (Tab. 3), die des nichtradioaktiven Mn dagegen nur auf das 12fache (Tab. 1). Dies bedeutet, daß DTPA Mn aus einer Fraktion des Mn-Pools mobilisiert, deren spezifische Aktivität etwa 50mal höher ist als in derjenigen Fraktion, aus der normalerweise Mn ausgeschieden wird. Folgende Überlegungen zeigen, daß diese Annahme durchaus sinnvoll ist: Der Mn-Gehalt des Blutplasmas einer 200 g schweren Ratte beträgt, wenn man die

Tabelle 3. ^{54}Mn -Gehalt in 24-Stunden-Ausscheidungen (Prozent der ^{54}Mn -Dosis). In Klammern ist der logarithmische Mittelwert \pm Standardfehler angeführt. Je sechs Ratten pro Gruppe.

Versuchsgruppe	Tag der Injektion	Fäzes	Urin
NaCl	2.	11,44 (1,0583 \pm 0,0176)	0,0215 (-1,6680 \pm 0,0935)
	8.	2,78 (0,4433 \pm 0,0273)	0,00938 (-2,0280 \pm 0,0527)
	16.	1,06 (0,0250 \pm 0,0187)	0,00514 (-2,2966 \pm 0,0790)
	32.	0,307 (-0,5133 \pm 0,0261)	0,00121 (-2,9180 \pm 0,0309)
	64.	0,142 (-0,8483 \pm 0,0195)	unterhalb der Nachweisgrenze
	DTPA	2.	11,27 (1,0520 \pm 0,0349)
8.		2,25 (0,3516 \pm 0,0495)	5,69 (0,7550 \pm 0,0173)
16.		0,981 (-0,0083 \pm 0,0493)	2,59 (0,4133 \pm 0,0182)
32.		0,288 (-0,5400 \pm 0,0503)	0,929 (-0,0320 \pm 0,0205)
64.		0,103 (-0,9860 \pm 0,0349)	0,315 (-0,5020 \pm 0,0237)

für den Menschen gültigen Daten [7] zugrunde legt, maximal $0,1 \mu\text{g}$. Die Mn-Ausscheidung mit dem Urin beträgt unter dem Einfluß von DTPA ein Vielfaches davon (Tab. 1, Abb. 1), und die in Tabelle 2 angeführten Daten zeigen, daß eine negative Mn-Bilanz vorliegt, das heißt, daß der erhöhte Mn-Gehalt des Urins nicht nur auf einer „Umschaltung“ der Ausscheidungswege (erniedrigte fäkale Ausscheidung) beruhen kann, sondern auch auf einer Mn-Verarmung der Organe. Das Mn der Gewebe hat jedoch, wie ein Vergleich der Konzentration von Mn [10] und ^{54}Mn [13] ergibt, eine wesentlich höhere spezifische Aktivität als das Mn im extrazellulären Kompartiment. Die niedrige spezifische Aktivität des spontan ausgeschiedenen Mn zeigt, daß das aus dem intrazellulären Kompartiment stammende ^{54}Mn in starkem Maße durch das enteral resorbierte Mn verdünnt wird.

Bei mehrmaliger DTPA-Verabfolgung beträgt die Differenz zwischen dem Mn-Gehalt der Organe der DTPA- und der Kontrollgruppe rund $18 \mu\text{g}$ (Tab. 2). Zusätzlich zu den von den Kontrolltieren im Verlauf von vier Tagen ausgeschiedenen $14 \mu\text{g}$ Mn werden rund $17 \mu\text{g}$ im Urin der DTPA-Gruppe gefunden (Abb. 2). Der letztere Wert steht zwar in guter Übereinstimmung mit der Organdifferenz von $18 \mu\text{g}$, doch muß die durch DTPA mobilisierte Mn-Menge in Wirklichkeit größer sein, da wir den Mn-Gehalt der Muskulatur, des Dickdarms und anderer Gewebe nicht untersuchten. Folglich müßten die als spontan ausgeschieden angesehenen $14 \mu\text{g}$ auch durch DTPA mobilisiertes Mn enthalten. Da das normalerweise ausgeschiedene Mn, wie oben ausgeführt wurde, zum weitaus größeren Teil aus dem enteral resorbierten Mn stammt, würde daraus folgen, daß unter dem Einfluß von DTPA weniger Mn aus dem Darm resorbiert wird. Tatsächlich nehmen die Tiere während des Versuchs kaum Nahrung zu sich, und der Darmtrakt ist praktisch ohne Inhalt.

Die Tatsache, daß die Mn-Ausscheidung mit dem Urin bei wiederholter Verabfolgung von DTPA progredient abnimmt, weist darauf hin, daß die durch Chelatbildner mobilisierbare Fraktion des Mn-Pools beschränkt ist. In die gleiche Richtung weist auch die Abflachung der Dosis-Effekt-Kurve des Chelatbildners mit der höchsten Effektivität, DTPA (Tab. 1).

Die für die biologische Wirksamkeit eines Chelatbildners maßgebliche sogenannte effektive Stabilitätskonstante (siehe hierzu [6]) des Mn(II)-DTPA ist 24mal größer als die von Mn(II)-ÄDTA; die relative Potenz ρ von DTPA jedoch beträgt nur 5,9. Auch bei der Mobilisierung von Zn war ρ eindeutig kleiner als das Verhältnis der effektiven Stabilitätskonstanten [8]. Auf die möglichen Ursachen für diese recht großen Unterschiede zwischen der theoretisch zu erwartenden und der tatsächlich beobachteten Effektivität soll zu einem späteren Zeitpunkt eingegangen und hier nur kurz erwähnt werden, daß die zur Diskussion stehende Diskrepanz ein Hindernis dafür ist, daß die Mobilisierung der Metallionen nicht ausschließlich über die Chelierung im extrazellulären Raum und die damit verbundene Störung des Gleichgewichts verläuft, sondern auch im intrazellulären Raum, in den eine kleine Fraktion des Chelatbildners gelangt, und/oder daß die Geschwindigkeit, mit der das Mn aus dem intrazellulären in den extrazellulären Raum gelangt, groß ist im Vergleich zu der Ausscheidungsgeschwindigkeit des Chelatbildners.

Eine weitere Frage stellt sich in bezug auf CDTA, dessen Mn(II)-Chelat eine mit DTPA praktisch identische effektive Stabilitätskonstante besitzt, das aber trotzdem einen im Vergleich zu DTPA gesichert niedrigeren ρ -Wert aufweist. Zwei (sich gegenseitig nicht ausschließende) Gründe kommen hierfür in Betracht: Erstens bewirkt CDTA eine im Vergleich zu DTPA gesichert niedrigeren ρ -Wert von ^{54}Mn mit den Fäzes [13], was die Folge davon sein könnte, daß die cyclische Struktur des CDTA zu einer stärkeren Ausscheidung über die Leber führt als im Falle des aliphatischen DTPA. Zweitens ist CDTA ein Chelatbildner, der sogenannte robuste Chelate bilden kann, die durch träge ablaufende Austauschreaktionen charakterisiert sind [14, 16]. Daß dies eine entscheidende Rolle bei der geringeren Effektivität des CDTA spielen könnte, wird durch den Nachweis gestützt, daß bei *gleichzeitiger* Injektion mit ^{54}Mn CDTA erheblich wirksamer als DTPA ist [9, 13].

Ob und in welchem Ausmaß die negative Mn-Bilanz für die Pathogenese der Chelattoxizität relevant ist, kann allein auf Grund unserer Ergebnisse natürlich noch nicht entschieden

werden. Bereits jetzt möchten wir jedoch zwei Befunde unterstreichen, die – gemeinsam mit der im Vergleich zu Ca-DTPA geringeren Toxizität des Mn(II)-DTPA [11] – zugunsten einer gewissen Relevanz sprechen. Der Tabelle 2 ist zu entnehmen, daß bei wiederholter DTPA-Verabfolgung der Dünndarm in wesentlich stärkerem Maße als die anderen Organe an Mn verarmt. Während früher die Polyaminopolycarboxylsäuren als nahezu spezifische „Nephrotoxine“ angesehen wurden, machten es neuere Untersuchungen [1, 2, 17 bis 19] wahrscheinlich, daß der (früher übersehenen) histopathologischen und funktionellen Schädigung des Dünndarms im Rahmen der allgemeinen Chelattoxizität eine weitaus größere Bedeutung als der hydropischen Degeneration der Nierentubuli zukommt. Weiterhin wurde von *Catsch* [5] ausgeführt, daß die Toxizität der Chelatbildner auf ihrer Wechselwirkung mit Spurenmetallen beruht,

insofern auf Schwierigkeiten stößt, als die Toxizität von Ca-DTPA rund zweimal höher als die von Ca-ÄDTA ist [4], während auf Grund des Verhältnisses der entsprechenden effektiven Stabilitätskonstanten verschiedener Metallchelate eine wesentlich größere Toxizität von DTPA zu erwarten gewesen wäre. Bei der Mobilisierung von Zn ist $\varrho_{DTPA/\Delta DT A}$ mit einem Wert von ~ 20 kleiner als das Verhältnis der effektiven Stabilitätskonstanten, das 90 beträgt; ϱ ist aber immer noch zehnmal größer als das Verhältnis der toxischen Dosen. Für die Mn-Mobilisierung ermittelten wir $\varrho_{DTPA/\Delta DT A}$ zu 5,9; dies jedoch für einen Dosisbereich, der auch bei chronischer Verabfolgung nicht toxisch ist [4]. Bei toxischen Dosen ($\geq 1 \text{ mmol} \cdot \text{kg}^{-1}$) dagegen nimmt der ϱ -Wert offensichtlich ab und unterscheidet sich nicht mehr wesentlich von dem für die Toxizität gültigen ϱ -Wert.

Zusammenfassung

Metabolismus und Toxizität therapeutischer Chelatbildner

Es wurde der Einfluß der Ca-Chelate von ÄDTA, CDTA und DTPA im Dosisbereich von 0,0625 bis 8 mmol·kg auf die renale Ausscheidung von Mn bei Ratten untersucht. Die Mn-Ausscheidung wird stark erhöht, wobei die Effektivität in der Reihenfolge ÄDTA < CDTA < DTPA zunimmt, und der Mn-Gehalt der Organe, insbesondere des Darms, nimmt ab. Versuche mit ^{54}Mn zeigten, daß die spezifische Aktivität des durch die Chelate mobilisierten Mn höher ist als beim spontan ausgeschiedenen Mn. Die eventuelle Bedeutung der Befunde für die Pathogenese der Chelattoxizität wird diskutiert.

Summary

Metabolism and Toxicity of Therapeutic Chelat forming Agents

The renal excretion of Mn in rats as influenced by the Ca-chelates of EDTA, CDTA, and DTPA (0.0625 to 8 mmol·kg⁻¹) was studied. The excretion of Mn was found to be markedly enhanced, the effectiveness increasing in the order: EDTA < CDTA < DTPA. The Mn-content of the organs, in particular, of the intestines is lowered. Experiments with ^{54}Mn showed that the specific activity of Mn mobilized by the chelates is higher than that of spontaneously excreted Mn. The possible meaning of the results for the pathogenesis of chelate toxicity is discussed.

Résumé

Métabolisme et toxicité des agents chélateurs thérapeutiques

On a étudié chez le rat l'influence des chélates calciques de l'EDTA, du CDTA et du DTPA (0,0625 à 8 mmol·kg⁻¹) sur l'excrétion rénale de manganèse. Cette excrétion est fortement augmentée par les agents chélateurs, l'effectivité croissant dans l'ordre: EDTA < CDTA < DTPA, tandis que la teneur en Mn des organes, en particulier de l'intestin, est abaissée. Les expériences effectuées avec du ^{54}Mn ont montré une augmentation de la radioactivité

spécifique du manganèse mobilisé par les chélates par rapport à celle de l'élément éliminé naturellement. On discute la signification possible de ces résultats pour le mécanisme de la toxicité par les agents chélateurs.

Schrifttum

- [1] Ahrens, F. A., A. L. Aronson: *Toxicol. appl. Pharmacol.* 1970, in press.
- [2] Aronson, A. L., P. B. Hammond, A. C. Strafuss: *Toxicol. appl. Pharmacol.* 12 (1968), 337.
- [3] Bertinchamps, A. J., G. C. Cotzias: *Fed. Proc.* 17 (1958), 428.
- [4] Catsch, A.: *Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmac. exp. Path.* 246 (1946), 316.
- [5] Catsch, A.: *Naturwissenschaften* 55 (1968), 473.
- [6] Catsch, A.: *Dekorporierung radioaktiver und stabiler Metallionen.* K. Thieme, München 1968.
- [7] Cotzias, G. C., P. S. Papavasiliou: *Nature* 195 (1962), 823.
- [8] Dvořák, P.: *Strahlentherapie* 139 (1970), 611.
- [9] Eybl, V., J. Sykora, F. Merti: *Int. Arch. Gewerbepath. Gewerbehyg.* 25 (1969), 115.
- [10] Fore, H., R. A. Morton: *Biochem. J.* 51 (1952), 600.
- [11] Foreman, H., V. Nigrović: In: *Diagnosis and treatment of deposited radionuclides.* Excerpta Medica Foundation 1968, S. 419.
- [12] Havlíček, F.: *Strahlentherapie* 134 (1967), 296.
- [13] Kuhn, A.: *Strahlentherapie* 137 (1969), 101.
- [14] Margerum, D. W., T. J. Bydalek: *Inorg. Chem.* 2 (1963), 683.
- [15] Nadolny, W.: *Inaugural-Diss. Karlsruhe* 1970.
- [16] Schwarzenbach, G., R. Gut, G. Anderegg: *Helv. chim. Acta* 37 (1954), 937.
- [17] Weber, K. M.: *Z. ges. exp. Med.* 150 (1969), 354.
- [18] Weber, K. M.: *Virch. Arch. Abt. B* 5 (1970), 39.
- [19] Weber, K. M., F. Bohne, U. Rabe: *Eur. J. Pharm.* 11 (1970), 117.
- [20] Volf, V., Th. Mohr: *Z. Versuchstierk.* (im Druck).

Anschrift d. Verf.: Dr. rer. nat. Wilfriede Nadolny, Institut für Strahlenbiologie, Kernforschungszentrum Karlsruhe, 75 Karlsruhe 1, Postfach 3640.