

Effect of Different Amino Acids (0.038 M) on Growth and Nicotinic Acid Production of *Mycobacterium tuberculosis hominis* in Proskauer Medium

| Compound added | Growth during 6 Weeks | | | | | | Nicotinic acid µg/ml | |
|---------------------------------------|-----------------------|----|----|----|----|----|----------------------|------------------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | Whole medium | Cell-free medium |
| No nitrogen | — | 1+ | 1+ | 1+ | 1+ | 1+ | 0.4 | 0.25 |
| L(–) Asparagine | — | 2+ | 3+ | 4+ | 6+ | 6+ | 4.4 | 4.30 |
| L(–) Aspartic acid | — | 2+ | 2+ | 3+ | 4+ | 4+ | 1.5 | 1.30 |
| L(–) Glutamic acid | — | 2+ | 2+ | 3+ | 4+ | 4+ | 2.5 | 2.20 |
| L(–) Ornithine hydrobromide | — | 2+ | 3+ | 4+ | 5+ | 5+ | 4.6 | 4.20 |
| L(–) Arginine hydrochloride | — | 2+ | 2+ | 3+ | 5+ | 5+ | 4.3 | 4.00 |
| L(–) Histidine | — | ± | ± | 1+ | 1+ | 1+ | 0.10 | 0.10 |
| L(–) Tryptophane | — | ± | ± | ± | 1+ | 1+ | 0.4 | 0.4 |

Degree of growth as judged by the richness of the surface pellicle: 1+ = +; 2+ = ++; 3+ = +++; 4+ = ++++; 5+ = +++++; 6+ = ++++++.

tophane or one of its metabolic products which is responsible for the tuberculostatic effect. The presence of tryptophane in excessive amounts will lead to the accumulation of the metabolic products kynurenine, kynurenic acid, quinolinic acid, and nicotinic acid. One of the last mentioned metabolites, besides tryptophane might possess this T. B. growth-inhibiting action. The presence of tryptophane (an essential amino acid) in excessive amounts might raise the resistance of the animal against the invading organism. However it must be noted that tryptophane itself proved to be tuberculostatic *in vitro*. *In vitro* experiments showed that neither nicotinic acid nor its amide (in comparatively big concentrations up to 10 mg %) had any inhibiting effect on the growth of the T. B. organism⁷.

Naturally, these preliminary findings should be repeated on a larger number of animals for further confirmation. The results are rather encouraging for the exploration of other tuberculostatic drugs containing these basic heterocyclic rings. This will be the theme of our future work in this field.

M. M. ABDEL KADER and O. ZAKI

Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Cairo University and Department of Bacteriology, Faculty of Veterinary Medicine, Cairo University (Egypt), July 12, 1958.

Résumé

L'étude d'un précurseur probable dans la production de l'acide nicotinique par le *Mycobacterium tuberculosis hominis*, révéla que les acides aminiques hétérocycliques, qui sont indispensables à plusieurs organismes, comme le tryptophan et l'histidine, sont bactériostatiques à l'organisme. Cet organisme se développait dans une solution synthétique de Proskauer & Beck (VORWALD's modification). Les acides aminiques tels que l'ornithine et l'arginine aidèrent à sa croissance et favorisèrent la production d'acide nicotinique, ressemblant sur ce point à l'asparagine.

Des études préliminaires faites sur des cobayes infectés par l'organisme tuberculeux confirmèrent l'effet bactériostatique du tryptophane *in vitro*. Du tryptophane fut administré, de façon sous-cutanée, à raison de 125 mg par jour pour 10 jours consécutifs, immédiatement après l'infection, à un groupe d'animaux. Un second groupe subit le même traitement, mais à deux semaines du jour de l'infection. Un troisième groupe fut infecté, mais laissé sans traitement. Tous ces animaux furent observés pendant 9 semaines. Après examen bactériologique, microscopique et macroscopique, l'effet bactériostatique du tryptophane *in vivo* put être démontré.

⁷ M. M. ABDEL KADER and O. ZAKI (1958), Unpublished data.

Zur Frage der Verteilung von Radiolutetium (¹⁷⁷Lu) im Organismus der Maus bei unterschiedlicher Applikationsart

Über das Verhalten von Radiolutetium im Körper ist bisher in der einschlägigen Literatur wenig berichtet worden, wenn man von einigen nur begrenzt zugänglichen Mitteilungen absieht. KYKER *et al.*¹ teilten Versuche über eine mögliche Selektivbestrahlung von Lymphknoten nach interstitieller Applikation von ¹⁷⁷Lu mit. Auch DURBIN *et al.*² erwähnen einige Ergebnisse mit Lutetium im Rahmen ihrer vergleichenden Untersuchungen über das Stoffwechselverhalten Seltener Erden.

Im folgenden sollen daher unsere bisherigen Befunde über Verteilung und Ausscheidung von ¹⁷⁷Lu bei Mäusen mitgeteilt werden.

Methodik. Die Versuche werden mit 64 weissen Mäusen beiderlei Geschlechts eines institutseigenen Inzuchtstammes mit einem Gewicht von 13–18 g durchgeführt. Die Tiere erhielten 4 µC ¹⁷⁷Lutetium als Chlorid in 0,2 ml physiologischer NaCl-Lösung, pH 3,0, entweder intraperitoneal oder subkutan injiziert. Dies entspricht bei der spezifischen Aktivität des verwendeten Lutetiums einer Gewichts-dosis von ≈ 10⁻⁶ g.

Zu verschiedenen Zeiten nach der Injektion (zwischen 1 h und 30 Tagen) wurden die Versuchstiere getötet und folgende Organe bzw. Körperflüssigkeiten auf ihren Gehalt an Radioaktivität untersucht: Lungen, Leber, Milz, Pankreas, Nieren, Femur, Blut und – soweit gewinnbar – Blasen-harn. Die Organe wurden hierzu zerkleinert und gleichmässig auf Meßschälchen verteilt. Nach erfolgter Trocknung wurde die Aktivität mit Hilfe eines Szintillationszählers gemessen und nach einer Korrektur entsprechend der Zerfallrate auf die injizierte Dosis bezogen. Die Angaben erfolgen in % der injizierten Dosis pro 100 mg Gewebe (Frischgewicht). Ausserdem wurde die Ausscheidung in Harn und Kot bestimmt.

Ergebnisse:

1. Subkutane Applikation. Die Resorption erfolgte nur sehr geringgradig und langsam, nach 30 Tagen fanden sich noch etwa 77% an der Injektionsstelle wieder. Die Werte für die verschiedenen Organe sind in der Tabelle I wiedergegeben. Auffallend ist vor allem, dass im Gegensatz zu anderen Seltenern Erden (zum Beispiel Cer, Lanthan)³ die

¹ G. C. KYKER, W. M. CHRISTOPHERSON, H. F. BERG und M. BRUCER, *Cancer* 9, 489 (1956).

² P. W. DURBIN, M. H. WILLIAMS, M. GEE, R. H. NEWMAN und J. G. HAMILTON, *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 91, 78 (1956).

³ E. SPODE und F. GENSICKE, *Naturwiss.* 45, 117, 135 (1958).

Tabelle I

Spezifische Aktivität der Organe (% der injizierten Dosis/100 mg Gewebe) nach subkutaner Injektion von $^{177}\text{LuCl}_3$, Mittelwerte aus je vier Tieren

| Organ | .1 h | 3 h | 6 h | 24 h | 3 Tage | 7 Tage | 14 Tage | 30 Tage |
|--------------------|------|-------------|------|-------------|-------------|--------|-------------|-------------|
| Blut | 0,06 | 0,05 | 0,06 | 0,01 | 0,01 | 0,01 | 0,01 | ≈ 0 |
| Lungen | 0,03 | 0,04 | 0,03 | 0,02 | 0,01 | 0,01 | 0,01 | 0,03 |
| Leber | 0,03 | 0,06 | 0,07 | 0,06 | 0,09 | 0,19 | 0,13 | 0,08 |
| Milz | 0,03 | 0,04 | 0,02 | 0,01 | 0,03 | 0,02 | 0,04 | 0,11 |
| Pankreas | 0,03 | ≈ 0 | 0,01 | ≈ 0 | ≈ 0 | 0,01 | ≈ 0 | ≈ 0 |
| Nieren | 0,03 | 0,08 | 0,09 | 0,20 | 0,15 | 0,20 | 0,13 | 0,10 |
| Femur | 0,06 | 0,17 | 0,21 | 0,30 | 0,52 | 0,80 | 1,39 | 1,37 |

Speicherung in der Leber deutlich geringer ausgeprägt ist, während im Knochen wesentlich höhere Aktivitäten gefunden werden, auch die Nierenwerte liegen höher als bei den Seltenen Erden mit niedriger Massenzahl.

Die Ausscheidung innerhalb der ersten 24 h nach der Injektion betrug im Harn 0,71% und im Kot 0,25% der injizierten Dosis. Dies zeigt, dass zwar inkorporiertes Lutetium vorwiegend über die Nieren ausgeschieden wird, aber die Ausscheidung über den Intestinaltrakt auch nicht vernachlässigbar ist. Offenbar wird ein Teil der in der Leber gespeicherten Aktivität über die Galle eliminiert. Untersuchungen des Blasenharns zeigten, dass die Ausscheidung über die Nieren im wesentlichen innerhalb des ersten Tages nach der Inkorporation erfolgt.

Betrachtet man die Gesamtbilanz der inkorporierten Aktivität, so wurden innerhalb der ersten 6 h nach der Injektion etwa 100% im gesamten Organismus wiedergefunden, nach 24 h und 3 Tagen im Durchschnitt 98% und nach 30 Tagen immerhin noch 91% der injizierten Dosis. Der Aktivitätsverlust während der 3. und 4. Woche lässt sich vorwiegend durch Ausscheidung über die Galle ins Duodenum erklären.

2. *Intraperitoneale Applikation.* Hier ist die Resorption ausgiebiger, was sich neben der höheren Blutaktivität auch in den Unterschieden der Aktivitätswerte für die extraperitonealen Organe wie Nieren, Knochen usw. zeigt. Die Ergebnisse finden sich in Tabelle II. Interessant scheint uns das Maximum der Aktivität im Knochen nach 7 Tagen, dem ein Absinken der Werte folgt. Es scheint demnach die Eliminierung der im Knochen gespeicherten Aktivität wohl schneller zu erfolgen, als dies bei den anderen Elementen der Gruppe der Seltenen Erden der Fall ist.

Die Ausscheidungswerte für die ersten 24 h lagen bei 4,20% (Harn) und 1,43% (Kot). Nach den gemessenen Aktivitäten des Blasenharns scheint die Ausscheidung hier mindestens 3 Tage anzudauern, während zu den späteren Zeitpunkten nur sehr niedrige Werte festgestellt werden konnten.

Entsprechend der höheren Ausscheidungsrate in Harn und Kot gegenüber den Verhältnissen bei subkutaner Injektion betrugen die Werte der im Organismus wiedergefundenen Aktivität wenige Stunden nach der Inkorporation nur 97 bis 98%, nach 24 h etwa 94% der injizierten Dosis. Im Laufe der Beobachtungszeit gingen diese Werte weiter zurück bis auf 86% (7 Tage) und 78% (30 Tage).

Die hohen Aktivitätswerte der Bauchorgane beruhen mit Sicherheit zum weitaus grössten Teil auf Aktivitätsmengen, die an den Organoberflächen adsorbiert sind. Dies trifft unseres Erachtens in erster Linie für Pankreas und Milz zu, spielt jedoch sicher auch bei der Leber eine Rolle. Ähnliche Verhältnisse fanden wir bei intraperitonealer Injektion von $^{91}\text{YCl}_3$, $^{144}\text{CeCl}_3$, $^{140}\text{LaCl}_3$, $^{166}\text{HoCl}_3$ und $\text{Cr}^{32}\text{PO}_4$ ^{3,4}.

Abschliessend lässt sich feststellen, dass sich bei $^{177}\text{LuCl}_3$ im Gegensatz zu den Chloriden von ^{140}La und ^{144}Ce ein Verteilungsmuster im Organismus der Maus findet, das durch eine höhere Knochen- und Nierenspeicherung, eine intensivere Ausscheidung sowie eine niedrigere Ablagerung des ^{177}Lu in der Leber gekennzeichnet ist. Die Untersuchungen werden fortgesetzt und sollen an anderer Stelle ausführlich beschrieben werden.

E. SPODE, F. GENSICKE und R. GLASER

Institut für Medizin und Biologie der Deutschen Akademie der Wissenschaften, Arbeitsbereich Angewandte Isotopenforschung, Berlin-Buch, 21. Mai 1958.

Summary

The authors describe the absorption, distribution, and excretion of $^{177}\text{LuCl}_3$ following subcutaneous and intraperitoneal injection of $4 \mu\text{C}$ ^{177}Lu in mice over a period of 30 days after injection. This isotope shows certain differences in its biological behaviour opposite to the light rare earths such as lanthanum, cerium etc.

⁴ E. SPODE, Z. Naturforschung 13b, 286 (1958); Strahlentherapie (im Druck). – E. SPODE, F. GENSICKE und R. GLASER, Strahlentherapie (im Druck).

Tabelle II

Spezifische Aktivität der Organe (% der injizierten Dosis/100 mg Gewebe) nach intraperitonealer Injektion von $^{177}\text{LuCl}_3$, Mittelwerte aus je vier Tieren

| Organ | 1 h | 3 h | 6 h | 24 h | 3 Tage | 7 Tage | 14 Tage | 30 Tage |
|--------------------|------|------|------|------|--------|--------|---------|-------------|
| Blut | 0,78 | 0,48 | 0,16 | 0,02 | 0,01 | 0,01 | 0,01 | ≈ 0 |
| Lungen | 0,54 | 0,49 | 0,20 | 0,25 | 0,28 | 0,23 | 0,12 | 0,08 |
| Leber | 4,42 | 4,10 | 3,40 | 3,01 | 4,82 | 4,59 | 3,71 | 2,53 |
| Milz | 3,69 | 2,88 | 1,47 | 3,91 | 3,65 | 5,28 | 3,83 | 4,00 |
| Pankreas | 4,44 | 4,90 | 3,62 | 4,38 | 3,08 | 5,61 | 4,82 | 2,61 |
| Nieren | 0,51 | 0,80 | 0,52 | 1,22 | 0,46 | 0,53 | 0,34 | 0,19 |
| Femur | 0,52 | 1,17 | 1,67 | 2,08 | 2,36 | 2,48 | 2,37 | 1,77 |