

GROSS⁷ studied the effect of daily s.c. injections of phenylacetic acid on the growth of the Walker transplantable tumour in rats and found that the substance exerted no significant inhibitory activity. However he showed that injections of ethyl phenylacetate resulted in considerable inhibition of tumour growth. In our own experiments, sodium phenylacetate was supplied in the drinking water to rats bearing subcutaneous transplants of the Rd/3 tumour. As shown in the Table, this treatment failed to inhibit tumour growth. Indeed the results suggest that the treatment caused some enhancement of tumour growth.

In order to secure further information on the effect of glutamine deprivation on the growth of rat tumours, we tested the therapeutic action of the sodium salt of *para*-aminosalicylic acid (PASA) which, according to KAWAMATA and HIRATANI⁸ is detoxified at least in part by conjugation with glutamine in the rat. When this compound was fed to Rd/3 tumour rats at the level of 6 mg/ml of drinking water, some evidence of tumour inhibition was obtained. Two of the tumours failed to grow and 1 tumour was markedly retarded (3.6 g at 14 days). One rat died on day 13 with a tumour of 35.4 g and the remaining 2 rats which were killed on day 14 had tumours of 37.5 and 36.6 g. In our experience with the Rd/3 tumour we have occasionally found one spontaneous regression per group of 6 transplant rats. Our results suggest that PASA may be capable of exerting some inhibitory action against Rd/3 sarcoma but it would be premature to relate this action to the

supposed ability of PASA to sequester glutamine in the rat.

In 1958 NEISH⁹ reported some studies on the formation of glutamine conjugates by normal subjects and cancer patients who took small oral doses of sodium phenylacetate. No marked differences could be found between the optical rotations of the phenylacetylglutamine conjugates excreted by the 2 groups but it was established that the ability of cancer patients to excrete phenylacetylglutamine was not impaired and that small doses of phenylacetic acid were well tolerated by all subjects. It may be of interest to note that one of the patients (patient M. Table⁹) experienced a feeling of well-being after he ingested sodium phenylacetate.

Apart from the fact that phenylacetic acid acts as a plant growth hormone, the compound has not received extensive pharmacological study. MIRSKY et al.¹⁰ found that a number of plant growth hormones including indole acetic acid (which, incidentally, forms a glutamine conjugate in the human¹¹) have insulinase-inhibitory and hypoglycemic activity in the rat. Effects of this kind may have to be looked for in future projects relating to the metabolism of phenylacetic acid in humans.

In conclusion, it may be noted that, in extensions of the studies of GROSS cited above, anti-tumour activity¹² has been claimed for esters of other plant growth regulators such as indole acetic acid and 2,5-dichlorophenoxyacetic acid in animal experiments and in humans. It would appear that there are reasonably good grounds for attempting to inhibit the growth of human cancers by the application of the relatively non-toxic compound phenylacetic acid and its esters.

Effect of sodium phenylacetate and sodium *para*-aminosalicylate on the growth of Rd/3 sarcoma in rats

Group	Mean body weight (g) on		During 14 days mean consumption per rat of			Mean tumour weight (g) ± S.D.
	Day 0	Day 14	Food (g)	Fluid (ml)	Compound in fluid (g)	
A	237	263	196	353	—	42.0 ± 8.4
B	216	236	173	384	1.213	49.1 ± 18.3
C	213	214	186	284	1.704	22.6 ± 17.7

Albino male rats (3 groups of 6) each received a s.c. transplant of 0.05 ml of Rd/3 tumour mince along the right flank on Day 0. All groups were fed Diet No. 86 (Oxoid Ltd., London) ad lib. Group A (controls) given 500 ml of fresh tap water daily. Group B given daily a fresh solution of 1.58 g of sodium phenylacetate in 500 ml of tap water starting on Day 1. Group C given daily a fresh solution of 3 g of sodium *para*-aminosalicylate in 500 ml of tap water starting on Day 1. Food and fluid consumption per group measured daily. Experiment terminated on Day 14.

Résumé. On a montré que l'acide phenylacétique peut être utile pour le traitement du cancer humain.

W. J. P. NEISH

Department of Pharmacology and Therapeutics, University of Sheffield, Sheffield S10 2TN (England), 14 August 1970.

⁷ W. GROSS, Z. Krebsforsch. 61, 78 (1956). — W. GROSS, H. NETTER and H. D. OHLENBUSCH, Z. Krebsforsch. 62, 653 (1959).
⁸ J. KAWAMATA and T. HIRATANI, Med. J. Osaka Univ. 6, 417 (1955).
⁹ W. J. P. NEISH, Experientia 14, 247 (1958).
¹⁰ I. A. MIRSKY, D. DIENGOTT and G. PERISUTTI, Endocrinology 59, 715 (1956).
¹¹ J. B. JEPSON, Biochem. J. 69, 22P (1958).
¹² R. D. SCHULTZ and D. NORMAN, Nature, Lond. 198, 553 (1963); 199, 260 (1963). — C. A. APFFEL, A. TREGIER and F. HOMBURGER, J. natn. Canc. Inst. 25, 1111 (1960).

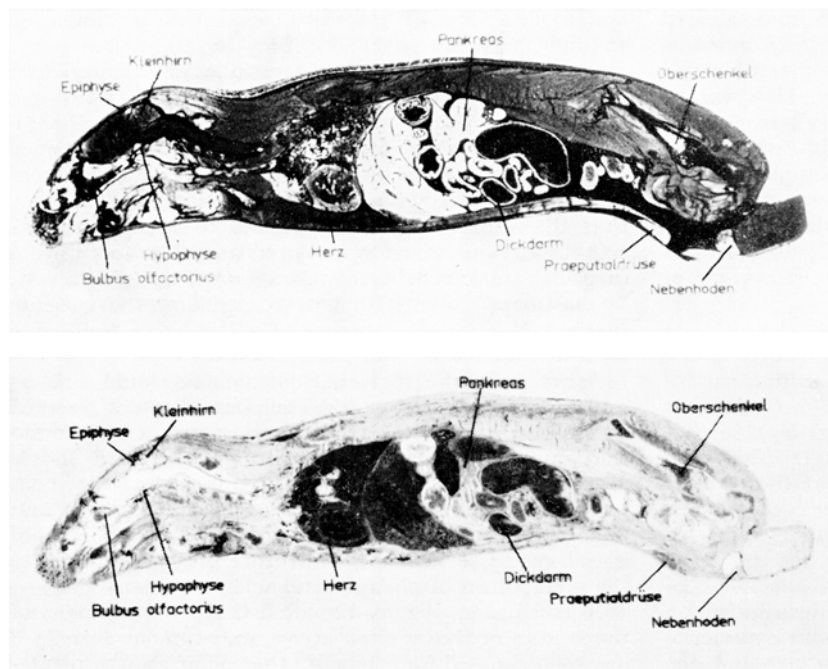
PRO EXPERIMENTIS

Eine Methode zur Trockenfixation grossflächiger Kryostatschnitte

Dünne Grossflächenschnitte von Organen und Ganztieren sind – bei entsprechender Vorbehandlung des Gewebes – durch Gefrierschneiden flüssig fixierten Materials^{1,2} und tiefgefrorenen Nativmaterials in der Regel einfach anzufertigen. So können flüssig fixierte Grossschnitte nach einem speziellen Verfahren beispielsweise feucht auf Papier aufgezogen und konserviert werden². Die Aufbewahrung von nativen Kryostatschnitten ist bei Raumtemperatur nur nach Trocknung möglich, wobei

die Haltbarkeit jedoch limitiert ist. Es wurde daher ein Verfahren entwickelt, Kryostatschnitte von Ganztieren durch Gefriertrocknen und Bedampfen mit Formaldehyd in eine bei Raumtemperatur haltbare Form zu über-

¹ J. GOUGH und J. E. WENTHWORTH, Jl R. microsc. Soc. 69, 231 (1949).
² W. HARTUNG, Zentbl. allg. Path. 100, 407 (1960).



a Sagittalschnitt (Medianebene) durch eine 220 g schwere, mit ^{14}C -markierter Substanz behandelte Ratte. a) Autoradiogramm, Negativ-Darstellung. b) Fixierter Kryostatschnitt.

führen. Dadurch wird die bei autoradiographischen Untersuchungen notwendige Zuordnung von Schwärzungen der Autoradiogramme zu den entsprechenden Gewebstrukturen, die oftmals nur durch einen visuellen Vergleich mit den Nativschnitten exakt möglich ist, wesentlich erleichtert (Figur).

Methode. Die auf einer selbstklebenden Trägerfolie haftenden Nativschnitte ($50\text{--}80\text{ }\mu\text{m}$) werden nach Anfertigung der Autoradiogramme gefriergetrocknet (Gefriertrocknungsanlage Delta II, Fa. M. Christ, Osterode; $p < 10^{-3}\text{ Torr}$, Eiskondensatortemperatur -90°C), unter Vakuum auf Raumtemperatur gebracht und im Vakuumexsikkator über Paraformaldehyd ($5\text{--}10\text{ g}$) $4\text{--}5\text{ h}$ auf 60°C erwärmt. Zur Entfernung des bei der Fixation gebildeten Wassers werden die Schnitte anschliessend $1\text{--}2\text{ h}$ bei Raumtemperatur vakuumgetrocknet. Die freie Schnittfläche wird mit Tesafilm® verklebt; das Gesamtpräparat kann zusätzlich in eine Folie eingeschweisst werden.

Auf diese Weise ergeben sich fixierte Dauerpräparate, die zur Information und Dokumentation geeignet sind. Die natürlichen Farben sind durch eine geringe Ausbleichung nur wenig verändert. Weiterhin kann in den Grossflächenschnitten die Vorbestimmung optimaler Exponierzeiten und die Messung der relativen Radioaktivitätsverteilung mit dem Dünnschicht-Scanner schnell durchgeführt werden. Das Präparat darf hierbei nur mit einem möglichst dünnen Film überklebt sein. Nach Aus-

schneiden einzelner Organe bzw. umschriebener Gewebsabschnitte lässt sich ihre relative Aktivität auch mit einem 2π -Methandurchflusszähler messen. Bei diesem Verfahren entfällt die für die Densitometrie problematische Mittelwertbildung bei ungleicher Verteilung der Radioaktivität innerhalb eines Organs. Die quantitative Bestimmung der Aktivität eines Organs bzw. eines bestimmten Gewebsabschnitts kann nach automatischer Verbrennung der Proben (z.B. im Probenverbrennungssystem nach Wegner/Winkelmann, Typ BF 5010 der Fa. Berthold/Frieseke GmbH) im Flüssigkeitsszintillationszähler durchgeführt werden.

Summary. By exposure to formaldehyde vapor after freeze-drying large cryostat sections are brought into a stable form. These sections can be used for documentation and may be compared easily with autoradiograms made of the same slices. Furthermore, a method is shown of evaluating these sections with a thin-layer scanner and a 2π -flow counter, or by measuring quantitatively the radioactivity of single, excised organs or parts of tissues after automatic combustion by liquid scintillation counting.

H. MÖLLMANN, D. H. NIEMEYER,
K. WILP, H. ALFES und G. HENKE

Anatomisches Institut und Institut für
Pharmazeutische Chemie der Universität,
D-44 Münster (Deutschland), 27. November 1970.

Electrothermal Studies on Protein Powders. Electrical Conductivity of Gluten in Thermal Gradients

'Bound' water present in proteins is considered to be intimately connected with the character of their native state¹. Information on the energy levels of binding and differentiation between these levels might therefore aid studies on variation in the native state of protein powders. Classical differential thermal analysis of gluten and other protein powders indicates that water is released

over a relatively small temperature interval². ELEY et al.^{3,4} in their studies on dry protein powders have shown that a linear relationship exists between $\log \rho_{10}$ and T^{-1} over the range $30\text{--}160^{\circ}\text{C}$ for d.c. conductivities thus excluding the possibility of conductivity effects arising from second order transitions or abrupt changes in the surface contact of powder particles. A study of the changes