

according to the augmented number and volume of the regenerating liver mitochondria, as observed by Tsuboi et al.<sup>12</sup> and Costa et al.<sup>14</sup>.

**Riassunto.** Gli autori hanno studiato, mediante elettroforesi su agar, il comportamento delle proteine solubili delle frazioni cellulari isolate dal fegato di cavia in corso di rigenerazione.

A carico della frazione nucleare e di quella citoplasmatica è stato osservato un aumento percentuale dei componenti proteici più veloci, mentre nella frazione

mitocondriale sono aumentati i componenti meno dispersi. Nella frazione citoplasmatica si è notata la comparsa di un nuovo componente, con velocità intermedia tra le  $\beta$ - e le  $\gamma$ -globuline.

P. P. GAZZANIGA and F. R. SONNINO

*Istituto di Patologia Generale della Università di Roma (Italy), August 22, 1961.*

<sup>14</sup> A. Costa et al., Arch. De Vecchi 17, 493 (1951).

### Senkung der Körpertemperatur bei Mäusen durch Librium

Sämtliche bisher bekannten psychotropen Drogen senken die Körpertemperatur von Laboratoriumstieren, zum Beispiel Reserpin und Serotonin<sup>1</sup>, zum Teil auch LSD-25<sup>1</sup>, ferner Chlorpromazin<sup>1,2</sup> und andere Phentiazine<sup>3</sup>. Eine neuartige Droge, die sich in ihren Wirkungen von anderen Tranquillizern dadurch unterscheidet, dass sie die Aggressivität herabsetzt, ohne die allgemeine motorische Aktivität zu beeinträchtigen<sup>4</sup>, stellt «Librium» Roche (7-Chlor-2-methylamino-5-phenyl-3-H-1,4-benzodiazepin-4-oxyd-hydrochlorid) dar. Dieser Unterschied gegenüber der pharmakologischen und therapeutischen Wirkung anderer Tranquillizer erlaubt die Frage, ob auch unter Librium eine Senkung der Körpertemperatur eintritt.

Wir verwendeten männliche Mäuse von 20 g Durchschnittsgewicht. Die Körpertemperatur wurde mit dem

«Ellab»-Gerät (Elektrolaboratoriet Kopenhagen) gemessen; die Rektalfühler wurden etwa 2 cm tief eingeführt und während der Messperiode (2 h) durch Fixation am Schwanz belassen. Die Messung erfolgte in Intervallen von 5 min. Umgebungstemperatur: 22,5°C. Librium wurde intraperitoneal in verschiedenen Dosen verabreicht.

Einige Ergebnisse zeigt Figur 1; aus ihr wird ersichtlich, dass nach höheren Dosen ein (signifikanter) Abfall der Körpertemperatur um etwa 4°C eintritt. Nach niederen Dosen bleibt der Abfall der Körpertemperatur zum Teil

<sup>1</sup> J. SHERMAN und M. NICKERSON, Can. J. Biochem. Physiol. 36, 1243 (1958). – R. A. HOFFMAN, Amer. J. Physiol. 195, 755 (1958).

<sup>2</sup> A. W. ERIKSSON und O. WASZ-HÖCKERT, Ann. Med. exp. Fenn. 37, 50 (1959).

<sup>3</sup> K. LAGERSPETZ und R. TIRRI, Arch. Soc. Zool. Bot. Fenn. «Vanamo» 12, 185 (1958).

<sup>4</sup> L. O. RANDALL, Dis. nerv. Syst. (USA) 21, 7 (1960); J. Pharmacol. 129, 163 (1960).

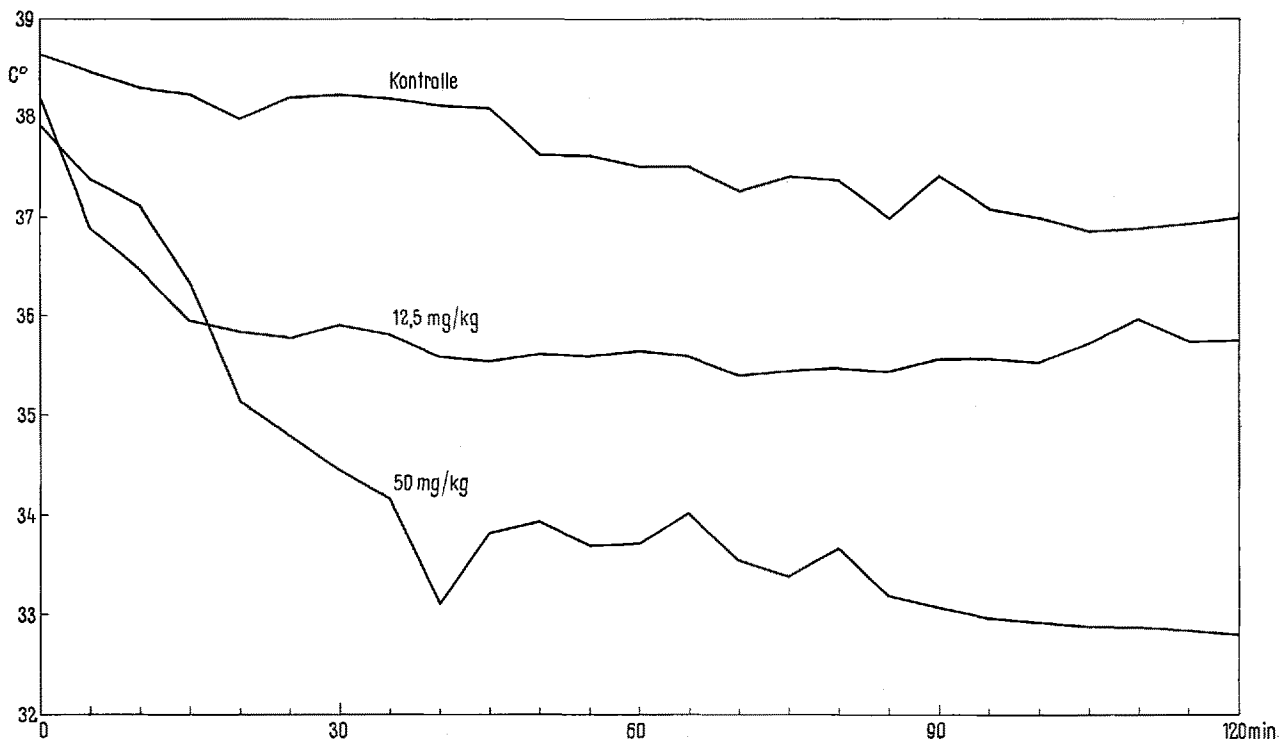


Fig. 1. Verlauf der Körpertemperatur von Mäusen unter Einfluss von Librium angegebener Dosierung (Durchschnittswerte von jeweils 6 Einzelversuchen) im Vergleich zu Kontrolltieren (Durchschnitt von 5 Einzelversuchen). Ordinate: Körpertemperatur in °C, Abszisse: Zeit in min.

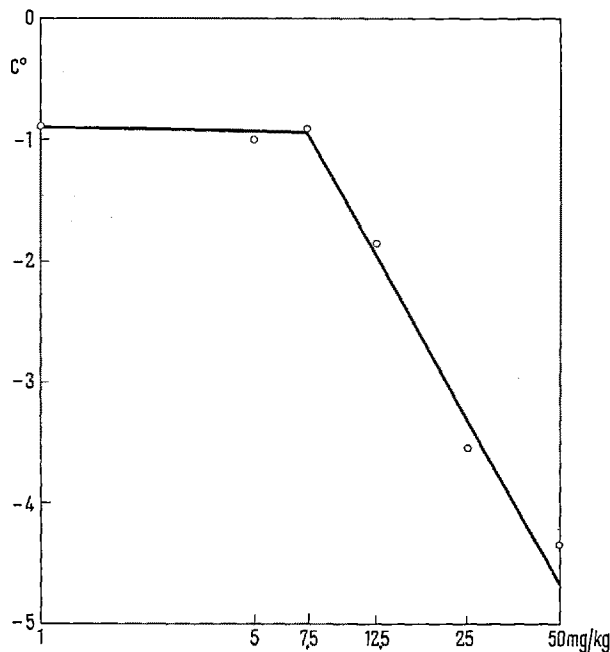


Fig. 2. Durchschnittliche Verminderung der Körpertemperatur gegenüber den Normalwerten (Ordinate) 90 min nach Applikation von Librium verschiedener Dosierung (Abszisse).

unter 1°C und ist dann insignifikant. Die gute Dosisproportionalität der Temperatursenkung zwischen 50 mg pro kg und 7,5 mg/kg geht aus Figur 2 hervor.

Über den Mechanismus der psychotropen Wirkung des Librium ist noch wenig bekannt. Auch hinsichtlich seiner Temperaturwirkung werden erst weitere Untersuchungen klären können, ob sie auf einer Hemmung der thermogenen Funktion der Skelettmuskulatur (über einen Einfluss auf den Hypothalamus) oder auf peripherer Vasodilatation oder eventuell auf beiden Mechanismen beruht<sup>5</sup>.

**Summary.** Librium Roche decreases the body temperature of mice in proportion to the dose given.

A. LOCKER und ELFRIEDE KOFFER

Österreichische Studiengesellschaft für Atomenergie (Institut für Biologie und Landwirtschaft des Reaktorzentrums Seibersdorf-Wien) und Physiologisches Institut der Universität Wien (Österreich), 23. August 1961.

<sup>5</sup> Librium-Reinsubstanz wurde uns von der Fa. Hoffmann-La Roche, Wien, zur Verfügung gestellt.

### Ultramicro Determination of Phosphate Solubility of Surface Enamel

A method has been described recently for measuring the solubility of the enamel surface in the mouth by recording the time taken for an indicator to change colour in the presence of a small amount of hydrochloric acid<sup>1</sup>. It appeared useful to investigate the rate of solution of enamel at a pH closer to that which can be recorded in the mouth and using a more precise estimation. A sensitive method of phosphate determination was developed on the basis of the work of BOLTZ and LUECK<sup>2</sup> and RHODES<sup>3</sup>, using reduction of phosphomolybdate in the aqueous phase and extraction of the blue colour produced.

Increased sensitivity was achieved primarily by reduction of the final volume measured, although the solvent causes some enhancement of the absorption. A drift in the spectrophotometer reading (as noted earlier<sup>3</sup>) was found to be due to water droplets, and could be eliminated by cooling the solution below room temperature and centrifuging.

Using this method the phosphate dissolved in 1 min from the enamel surface of dental patients by 2 µl of *M* citrate buffer pH 3.5 has been measured. The buffer was applied on filter paper discs, covered on the exposed side with thin polythene sheet to prevent evaporation. A certain proportion of the buffer remained on the tooth when the disc was removed, and it was necessary to add a dye in order to estimate the loss.

**Procedure.** The tooth was polished with a fine abrasive, washed with water and dried. A 3 mm disc of Whatman no. 4 paper covered with a similar disc of 0.04 mm polythene sheet was saturated with 2 µl *M* citrate buffer pH 3.5 containing 2% Orange G; the disc was applied to the tooth for 1 min and then placed in 3 ml of water

in a stoppered tube. After transportation to the laboratory the dye concentration was determined by measuring the optical density at 480 mµ. 1 ml of a freshly mixed reagent containing 0.8% ammonium molybdate, 4N sulphuric acid and 0.02% hydrazine sulphate was added and mixed thoroughly. The tube (with a loosely fitting stopper) was placed in a boiling water bath for 15 min and then cooled in ice. The solution was extracted with 1 ml of cooled 4-methyl-2-pentanone and centrifuged briefly at 1000 g. The upper layer was transferred to a 20 × 3 mm cell and the optical density was measured at 780 mµ. A standard solution was included with each run. The entire chemical procedure apart from the final measurement was carried out in a single tube.

Using the chemical procedure only, a standard deviation of ± 0.13 µmoles was obtained with a series of known solutions containing 1–9 µmoles of phosphorus. For repeated determinations of 5 µmoles the standard deviation was ± 0.36.

The blank value rose slowly with the age of the reagent, but initially, for discs extracted without contact with a tooth was equivalent to 0.3 µmoles of phosphorus. The mean amount of phosphorus removed, for all teeth examined in the mouth by this method, and its standard deviation, were  $2.3 \pm 0.55$  µmoles.

In a series of five central incisors examined in the mouth, the procedure was repeated on the same area, omitting the polishing. The mean value for the first measurement was  $2.4 \pm 0.6$  µmoles and for the second

<sup>1</sup> T. M. MARTHALER and R. ZILIO, *Helv. odont. Acta* 4, 27 (1960).

<sup>2</sup> D. F. BOLTZ and C. H. LUECK, in *Colorimetric Determination of Non-metals* (Ed. by D. F. BOLTZ, Interscience Publishers Inc., New York 1958), p. 29.

<sup>3</sup> D. N. RHODES, *Nature (Lond.)* 176, 215 (1955).