

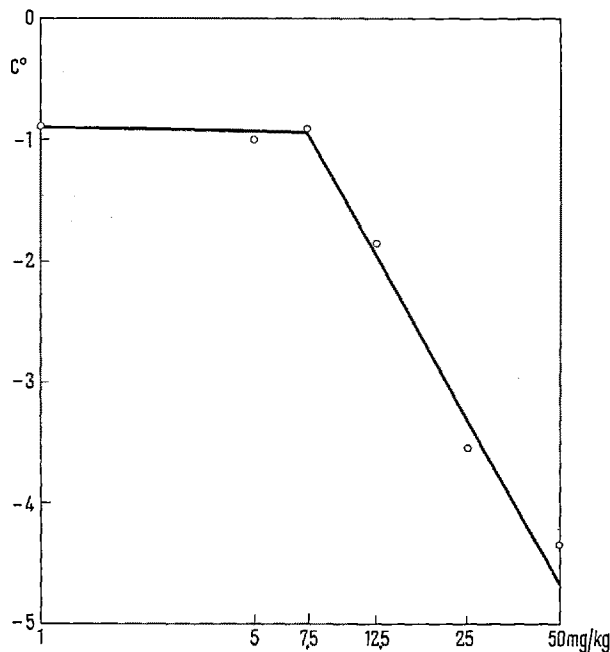


Fig. 2. Durchschnittliche Verminderung der Körpertemperatur gegenüber den Normalwerten (Ordinate) 90 min nach Applikation von Librium verschiedener Dosierung (Abszisse).

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 Reaktorzentrum 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).

measurement  $1.9 \pm 0.2 \mu\text{moles}$ , the variance ratio being statistically significant at the 5% level.

1  $\mu\text{mole}$  of phosphorus corresponds approximately to the removal of a 20 Å layer of enamel. The results suggest that the outer 50 Å of enamel is more heterogeneous than the underlying enamel. This may be due in part to the difficulty in controlling the removal of superficial organic matter by polishing.

**Résumé.** On a développé un ultramicrodosage du phosphore et a appliqué ceci à l'extrait du papier à filtrer qu'on a saturé du tampon critique à pH 3,5 et tenu sur la surface d'une dent dans la bouche.

C. P. WALLIS

Department of Biochemistry and School of Dental Surgery, University of Edinburgh (Scotland), August 24, 1961.

### Effets de l'acétylcholine et de la fréquence de stimulation sur le potentiel d'action et sur la contraction de l'oreillette gauche du rat

L'effet inotrope de l'acétylcholine (ACh) sur le myocarde dépend de la fréquence des contractions. Ainsi, l'oreillette gauche du cœur de rat, stimulée *in vitro* à la fréquence de 2,4/sec, est plus fortement inhibée par l'ACh qu'à la fréquence de 0,1/sec<sup>1</sup>; l'action de l'ACh sur les contractions de fréquence encore plus basse est faible ou nulle.

VAUGHAN WILLIAMS<sup>2</sup> a montré que le potentiel d'action des oreillettes du lapin est toujours modifié sous l'action de l'ACh, même après un arrêt de longue durée, alors que la force de la contraction de reprise est relativement grande. Il constate, dans un travail ultérieur<sup>3</sup>, l'existence d'une corrélation entre la force de contraction et la durée d'un post-potentiel.

Nous avons examiné les effets de l'ACh sur la force de contraction et sur le potentiel d'action intracellulaire de l'oreillette gauche isolée du rat, préparée selon une technique décrite précédemment<sup>4</sup>. La préparation a été stimulée électriquement à la fréquence de 2,2/sec. Les répercussions de divers temps d'arrêt sur la contraction de reprise et sur le potentiel d'action ont été étudiées sans et avec adjonction d'ACh (Figure).

(a) *Sans ACh.* Un arrêt de 8 sec a fortement accéléré la phase initiale de la repolarisation. Une prolongation de l'arrêt a encore accentué cet effet, le maximum étant atteint à 30 sec environ. En revanche, la phase terminale de la repolarisation a été ralentie par l'arrêt: sa courbe, qui a présenté une concavité vers le haut lorsque la préparation était stimulée à la fréquence de 2,2/sec, est devenue convexe après un arrêt de 8 sec; cet effet a augmenté lors d'une prolongation de l'arrêt au-delà de 30 sec alors que la force de contraction qui s'était également accrue avait déjà atteint son maximum.

(b) *Avec acétylcholine à  $10^{-5}$  M.* L'ACh a diminué la force de contraction et raccourci la durée du potentiel d'action de l'oreillette stimulée à la fréquence de 2,2/sec. Cependant, après 1 min d'arrêt, la force ainsi que la durée de la contraction de reprise ont été identiques avec et sans ACh.

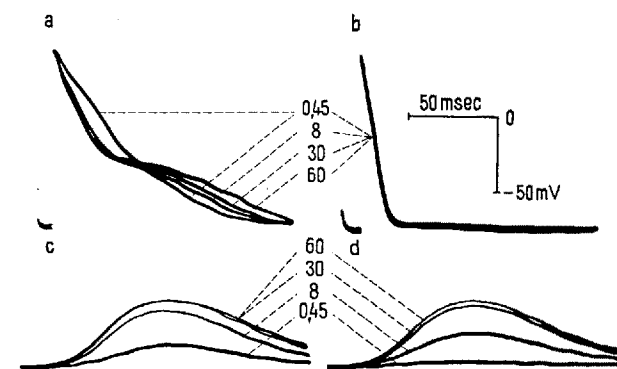
L'ACh n'a donc pas agi sur la contraction qui suit un arrêt suffisamment long bien qu'elle ait raccourci le potentiel d'action. Quelle qu'ait été la durée de l'arrêt – fût-elle même de 5 min – la repolarisation a été accélérée par l'ACh.

Ces expériences suggèrent que l'effet de l'ACh sur la force de contraction de l'oreillette du rat n'est pas lié aux modifications du potentiel d'action qu'elle provoque. En effet, la contraction qui suit un arrêt suffisamment long n'est pas inhibée par l'ACh  $10^{-5}$  M bien que le potentiel d'action subisse le raccourcissement caractéristique).

**Summary.** The force of contraction of the isolated left auricle of the rat could not be correlated to the duration of the intracellular action potential, if stimuli were spaced at intervals of 30 sec or more. With these long intervals, acetylcholine had no inotropic effect but still shortened the action potential.

F. BAUMANN

Institut de Physiologie de l'Université de Genève (Suisse), le 12 septembre 1961.



Effets des changements de l'intervalle entre les stimulations sur le potentiel d'action intracellulaire (enregistrements a et b) et sur la force de contraction (enregistrements c et d) de l'oreillette gauche du rat. (a), (c) sans acétylcholine, (b), (d) avec acétylcholine  $10^{-5}$  M. Les chiffres indiquent, en secondes, la durée de l'intervalle.

<sup>1</sup> F. BAUMANN, L. GIRARDIER et J. POSTERNAK, *Helv. physiol. Acta* 18, 509 (1960).

<sup>2</sup> E. M. VAUGHAN WILLIAMS, *J. Physiol.* 147, 325 (1959).

<sup>3</sup> E. M. VAUGHAN WILLIAMS, *J. Physiol.* 149, 78 (1959).

<sup>4</sup> Ce travail a bénéficié d'un subside de la Fondation EMIL BARELL.

### A Possible Role for Histamine in Larval Growth

There are some 25 known biological reactions where the enzyme decarboxylase is needed. Of these reactions, at least 9 are involved in the transformation of an immediate precursor into an active amine<sup>1</sup>. In this group there are

important biologically active diamines such as histamine and serotonin which are decarboxylase-dependent for their synthesis. The co-enzyme of decarboxylase is pyridoxine and the absence of this vitamin in the diet

<sup>1</sup> W. CLARK, *Circ. Res.* 9, 721 (1961).