

Discussion. The mode of action of pyrophosphate is not yet clear. At such low concentrations, the inhibition cannot be explained by a lowering of ionized calcium due to a complex; it is more likely to block crystal growth by adsorbing on to the crystallization nuclei and the growing surface. A similar action of condensed phosphates has been known for a long time for calcium carbonate^{5,6}, and is used currently in industry to prevent scaling of water containers. It has also been described recently for strontium sulphate^{7,8} and for calcium phosphate⁹, so that the action is not specific for one type of crystal.

We think that urinary pyrophosphate is one of the factors responsible in this fluid for the maintenance of the supersaturation with respect to calcium phosphate and calcium oxalate. It is likely to play a role in the mechanism of urolithiasis¹⁰, which is supported by the fact that the oral administration of orthophosphate, a therapy shown drastically to prevent stone formation in animals¹¹ and in humans^{12,13}, actually induces a significant rise in urinary pyrophosphate^{14,15}.

Zusammenfassung. Pyrophosphat in so kleinen Mengen wie $10^{-6} M$ erhöht wesentlich die minimale Konzentration von Calcium und Oxalat, welche zur Kristallbildung von Calciumoxalat nötig ist. Man kann daraus schliessen, dass das im Harn vorhandene Pyrophosphat durch seine kristallisationshemmende Eigenschaft zur Erklärung der urinären Übersättigung an Calcium und Oxalat beiträgt. Da es auch die Bildung von Calciumphosphat hemmt,

vermuten wir, dass ihm eine wichtige Rolle in der Pathophysiologie der Urolithiasis zukommt.

H. FLEISCH und S. BISAZ

Laboratorium für experimentelle Chirurgie, Schweizerisches Forschungsinstitut, Davos (Switzerland), January 28, 1964.

- ⁵ R. REITEMEYER and T. BÜHRER, J. physiol. Chem. **44**, 535 (1940).
- ⁶ T. BÜHRER and R. REITEMEYER, J. physiol. Chem. **44**, 552 (1940).
- ⁷ S. OTANI, Bull. chem. Soc. Japan **33**, 1543 and 1549 (1960).
- ⁸ M. MIURA, S. OTANI, M. KODAMA, and K. SHINAGAWA, J. physiol. Chem. **66**, 252 (1962).
- ⁹ H. FLEISCH and W. F. NEUMAN, Amer. J. Physiol. **200**, 1296 (1961).
- ¹⁰ H. FLEISCH, Schweiz. med. Wschr. **92**, 1197 (1962).
- ¹¹ C. W. VERMEULEN, E. S. LYON, W. B. GILL, and W. H. CHAPMAN, J. Urol. (Baltimore) **82**, 249 (1959).
- ¹² J. E. HOWARD, Canad. med. Ass. J. **86**, 1001 (1962).
- ¹³ J. E. HOWARD, W. C. THOMAS, T. MUKAI, R. A. JOHNSTON, and B. J. PASCOE, Trans. Ass. Amer. Physns. **75**, 301 (1962).
- ¹⁴ H. FLEISCH, S. BISAZ, and A. D. CARE, Lancet, submitted.
- ¹⁵ This work was supported by the Schweizerischer Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung, by the U.S. Public Health Service Grant AM 07266-01 of the National Institute of Arthritis and Metabolic Diseases, and by the Sandoz-Stiftung zur Förderung der medizinisch-biologischen Wissenschaften. We should like to thank Professor H. PFAENDLER, interpreter W.H.O., for correcting the manuscript.

Über den Einfluss von Alkylbenzolsulfonaten auf Froschlarven

Die aus der Beständigkeit von Tetrapropylenbenzolsulfonat in Abwässern herrührenden gesundheitlichen und wirtschaftlichen Gefahren haben bekanntlich dazu geführt, dass dieser bisher meistgebrauchte Waschrohstoff trotz seiner hervorragenden anwendungstechnischen Eigenschaften durch biologisch besser abbaubare geradkettige Alkylbenzolsulfonate ersetzt werden soll. Als typischer Vertreter dieser neuen Klasse von Detergentien kann Dodecylbenzolsulfonat gelten, das von Säugetieren bei oraler Verabreichung ebenso gut vertragen wird wie Tetrapropylenbenzolsulfonat – die mittleren akut tödlichen Dosen betragen 1260 bzw. 1220 mg/kg¹⁻³. Anders verhält es sich mit Fischen, deren zartes Kiemenepithel von den Alkylbenzolsulfonaten – insbesondere von denjenigen mit langer unverzweigter Alkylkette – schon in verhältnismässig niedrigen Konzentrationen zerstört wird^{4,5}. Dass die neuen Waschrohstoffe von Fischen noch schlechter vertragen werden als Tetrapropylenbenzolsulfonat ist eine Tatsache⁶. Ob sie unter Hinweis auf die bessere Abbaubarkeit als praktisch bedeutungslos abgetan werden darf, wird die Zukunft zeigen.

Den verschiedenen Berichten über die Wirkung von Detergentien auf Fische und wirbellose Wassertiere soll im folgenden ein solcher über den Einfluss der beiden genannten Alkylbenzolsulfonate auf Froschlarven zur Seite gestellt werden. Tetrapropylenbenzolsulfonat (TBS) und Dodecylbenzolsulfonat (DBS) wurden in Form der Produkte Marlon TP 42 und Marlon BW 2043 der Chemischen

Werke Hüls verwendet. Die nachstehenden Konzentrationsangaben beziehen sich stets auf den Gehalt an waschaktiver Substanz (WAS).

Als Versuchstiere dienten mehr als 1500 Kaulquappen (Larven von *Rana temporaria*) aus einem Laichballen, die zu je 50 in zylindrischen Glasgefässen in 1 l Wasser mit 130 bis 140 cm² Oberfläche gehalten und mit dem handelsüblichen Trockenfutter «TetraMin» ernährt wurden. Das Wasser stammte aus einem kleinen, aus der Trinkwasserleitung gespeisten Fischteich; die Wassertemperatur betrug 22 bis 23°C. Zu Beginn des eigentlichen, 24 h dauernden Versuchs wurden die Tiere in andere gleichartige Gefässe eingebracht, die jeweils 1 l einer Lösung von TBS bzw. DBS in Teichwasser enthielten. Je 100 Larven wurden ein und derselben Konzentration ausgesetzt. Die elektrische Messung der Wasserstoffionenkonzentrationen ergab pH-Werte von 7,24 bis 7,81 in den Detergenzlösungen und ein pH von 7,93 im Teichwasser.

- ¹ G. BORNHANN und A. LOESER, Fette, Seifen, Anstrichmittel **63**, 938 (1961).
- ² G. BORNHANN und A. LOESER, Z. Lebensmittel-Untersuch. **118**, 51 (1962).
- ³ G. BORNHANN, A. LOESER und M. STANIŠIĆ, Fette, Seifen, Anstrichmittel **65**, 818 (1963).
- ⁴ E. HIRSCH, Fette, Seifen, Anstrichmittel **65**, 814 (1963).
- ⁵ O. J. SCHMID und H. MANN, Arch. Fischereiwiss. **13**, 41 (1962).
- ⁶ R. KRÜGER, Vortrag, gehalten anlässlich der Tagung der Deutschen Gesellschaft für Fettwissenschaft. Karlsruhe (22. Oktober 1963).

Es zeigte sich, dass Konzentrationen von >30 mg TBS bzw. >15 mg DBS pro Liter für Froschlarven absolut tödlich sind, während Konzentrationen von <12 mg TBS bzw. <3 mg DBS pro Liter bei einer Einwirkungsdauer von 24 h allgemein vertragen werden. Die relative Verträglichkeit im Bereich zwischen diesen Extremen wird am besten durch die *Concentratio letalis media* (CL_{50}) definiert⁷. Diese für 50% der Versuchstiere tödliche Konzentration kann aus den tatsächlichen Ergebnissen z.B. nach Behrens und Kärber errechnet werden. Dabei ergaben sich folgende Werte (mit Vertrauensgrenzen):

TBS	CL_{50} (24 h)	21,6	(21,4 bis 21,8) mg/l
DBS	CL_{50} (24 h)	7,6	(7,5 bis 7,8) mg/l

Die ein Jahr zuvor für DBS in gleicher Weise bestimmte mittlere tödliche Konzentration hatte 7,5 (7,4 bis 7,6) mg pro Liter betragen; die Ergebnisse sind also genau reproduzierbar.

Zur Klärung der naheliegenden Frage, ob Beziehungen zwischen der Schädlichkeit der beiden Alkylbenzolsulfonate für Froschlarven und ihren oberflächenaktiven Eigenschaften bestehen, wurde die Oberflächenspannung wässriger Lösungen von TBS und DBS mit der Platinringmethode⁸ gemessen. In den im Zusammenhang mit der Verträglichkeit für Froschlarven interessierenden Konzentrationen zwischen 5 bis 25 mg WAS pro Liter Wasser fanden sich jedoch keine wesentlichen Unterschiede in der Oberflächenaktivität der beiden Detergentien.

Während die Unverträglichkeit der Alkylbenzolsulfonate für Froschlarven also nicht allein auf ihre grenzflächenaktiven Eigenschaften zurückgeführt werden kann, scheinen letztere für die hämolytische Wirkung

dieser Detergentien von Bedeutung zu sein⁵. Versuche mit Erythrocyten von Ratten ergaben, dass TBS und DBS in verhältnismässig hohen Konzentrationen hämolytisch wirken, ohne sich in dieser Hinsicht wesentlich zu unterscheiden. Die beiden Alkylbenzolsulfonate waren der als Suspensionsflüssigkeit dienenden physiologischen Kochsalzlösung in steigenden Konzentrationen zugesetzt; die Hämolysen begann bei 40 mg/l und war bei 90 bis 100 mg/l vollständig⁹.

Summary. The toxicity of two important detergents was studied in tadpoles. Dodecyl benzenesulphonate was found to be much more toxic than tetrapropylene benzenesulphonate; the median lethal concentrations are 7.6 and 21.6 mg/l respectively.

K. OPITZ und A. LOESER

Pharmakologisches Institut der Universität Münster (Westfalen, Deutschland), 8. Januar 1964.

⁷ Die Anwendung der Bezeichnung *Dosis letalis media* (DL_{50}) wäre hier irreführend, weil es sich um Konzentrationen und nicht um Dosen handelt.

⁸ HOPPE-SEYLER/THIERFELDER, *Handbuch der physiologisch- und pathologisch-chemischen Analyse*, 10. Aufl. (Berlin-Göttingen-Heidelberg 1955), Bd. II/2, p. 6.

⁹ Den Chemischen Werken Hüls AG sei für die Überlassung von Versuchsmengen der Produkte Marlon TP 42 und Marlon BW 2043 gedankt.

Die Wirkung von Adrenalin auf den ermüdeten Soleus der Katze

Es ist bekannt, dass Adrenalin ähnlich wie eine Reizung sympathischer Nerven die infolge Ermüdung verminderte Kontraktion von Skelettmuskeln zu steigern vermag^{1,2}. BROWN et al.³ konnten am Tibialis anterior der Katze und am isolierten Diaphragma der Ratte zeigen, dass bei der kontraktionsfördernden Wirkung von Adrenalin am ermüdeten Muskel neben der Wirkung auf die Endplatte auch ein direkter Angriff an der Muskelfaser eine Rolle spielt. Für eine direkte Wirkung des Amins auf die Muskelzelle sprechen ebenfalls die Befunde am nicht ermüdeten Tibialis anterior der Katze⁴ und am Rattendaphragma in calciumfreier Tyrodelösung⁵.

Beim Soleus der Katze nimmt im Gegensatz zum Verhalten des nicht ermüdeten Tibialis anterior die Spannungsentwicklung unter dem Einfluss von Adrenalin ab^{4,6}. Es sollte daher geprüft werden, ob auch der ermüdete Soleus auf Adrenalin mit einer Spannungsabnahme reagiert oder ob er im Zustand der Ermüdung wie andere Muskeln mit einer Steigerung der Spannungsentwicklung auf Adrenalin antwortet.

Die Versuche wurden an Nerv-Muskelpreparaten des Soleus *in situ* bei Katzen durchgeführt, die sich in Nembutalnarkose befanden. Die Reizung erfolgte indirekt und supramaximal, die Spannungsentwicklung wurde isometrisch mit einem Dehnungsmesstreifen registriert.

Durch eine lange Folge von Einzelreizen konnte keine

Abnahme der Zuckungsamplituden herbeigeführt werden, selbst wenn länger als 30 min gereizt wurde. Erst bei anhaltender Reizung mit Frequenzen von 20 Impulsen/sec und mehr nahm die Spannung, nachdem sie sich je nach Reizfrequenz 5 bis 20 sec lang auf einem maximalen Plateau gehalten hatte, allmählich ab und erreichte nach 1 bis 3 min ein neues Spannungsniveau. Dieses Ermüdungsniveau betrug 50 bis 70% der maximal nach Reizbeginn entwickelten Spannung. Eine weitere Reduktion der Spannung trat selbst nach längerer Reizung nicht ein. Wurde in diesem Stadium die kontinuierliche Reizung unterbrochen und statt dessen Einzelzuckungen ausgelöst, so kehrte die Spannungsamplitude schon nach 2 bis 5 Reizimpulsen wieder auf die ursprüngliche Höhe zurück. Es war infolgedessen nicht möglich, beim Soleus Veränderungen infolge Ermüdung und ihre Beeinflussung durch Adrenalin im Verlauf einer Einzelzuckung zu studieren. Adrenalin wurde daher während kontinuierlicher

¹ C. M. GRUBER, Amer. J. Physiol. 33, 335 (1914).

² L. A. ORBELI, Bull. Inst. sci. Ieshaft, Petrograd 6, 194 (1923).

³ G. L. BROWN, E. BULBRING, und B. D. BURNS, J. Physiol. 107, 115 (1948).

⁴ W. C. BOWMAN und E. ZAIMIS, J. Physiol. 144, 92 (1958).

⁵ W. RUMMEL und R. SCHULZ, Arch. exp. Path. Pharmac. 222, 533 (1954).

⁶ I. JURNA und W. RUMMEL, Pflügers Arch. ges. Physiol. 275, 137 (1962).