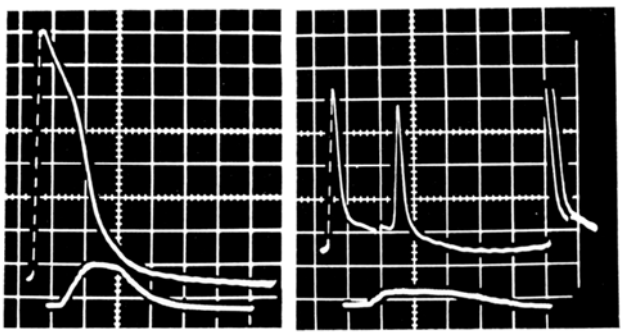
um 37% gegenüber den Kontrollen vermindert. Das Ruhepotential hatte abgenommen, das Umkehrpotential wurde kleiner. Die Anstiegssteilheit der Depolarisationsphase, die auch ein Mass für die Leitungsgeschwindigkeit ist, nahm ab. Messungen der Leitungsgeschwindigkeit mit extracellulären Saugelektroden ergaben ebenfalls eine deutliche Verzögerung. Alle Repolarisationsphasen, und damit die Refraktärperiode, wurden verkürzt. Diese Veränderungen sind mit $p < 0{,}001$ signifikant. Verkürzung der Refraktärperiode und verzögerte Leitungsgeschwindigkeit sind wesentliche Voraussetzungen für die Entstehung von Arrhythmien. Weitere Erhöhung der Digitoxigeninkonzentration auf 10^{-6} g/ml führte regelmässig zu Flimmern der Vorhofpräparate. Quantitativ auswertbare Messergebnisse waren nicht mehr zu erhalten. In der Abbildung sind typische Veränderungen von Mechanogramm, Ruhe- und Aktionspotential bei toxischer Digitoxigeninwirkung dargestellt.



A B

A. Aktionspotential und Kontraktionsamplitude eines Meerschweinchenvorhofs unter Kontrollbedingungen. B. Aktionspotentiale und Kontraktionsamplitude eines durch Digitoxigenin 10^{-6} g/ml geschädigten, arrhythmischen Meerschweinchenvorhofs.

Nach Untersuchungen von KLAUS, KUSCHINSKY und LÜLLMANN[5] haben therapeutische Digitoxigeninkonzentrationen am Meerschweinchenvorhof keine Wirkung auf den K-Umsatz. Die für das Herz therapeutisch wichtige, positiv inotrope Wirkung des Digitoxigenins ist nach den vorliegenden Befunden nicht mit Veränderungen des Erregungsablaufs an der Zellmembran korreliert. Erst im toxischen Konzentrationsbereich der herzwirksamen Glykoside, in dem die maximale positive inotrope Wirkung bereits überschritten ist, treten Veränderungen der Membranpermeabilität[5] und Hemmung des aktiven Kationentransports[6] auf. Damit verbunden sind Störungen des Erregungsablaufs, der Erregbarkeit und der Leitungsgeschwindigkeit.

Summary. 'Therapeutic' concentrations of digitoxigenin (10^{-7}–3×10^{-7} g/ml), producing positive inotropic effects, did not alter resting and action potentials of electrically driven guinea-pig auricles. However, 'toxic' concentrations of digitoxigenin (5×10^{-7}–10^{-6} g/ml), producing arrhythmias and contracture of the myocardium, had a marked influence upon resting and action potentials and conduction velocity.

H. REUTER

Pharmakologisches Institut der Universität Mainz (Deutschland), 19. August 1963.

[5] W. KLAUS, G. KUSCHINSKY und H. LÜLLMANN, Arch. exp. Path. Pharmak. *242*, 480 (1962).

[6] H. J. SCHATZMANN, Helv. physiol. pharmakol. Acta *11*, 346 (1953).

Removal of Infused Norepinephrine by the Cat's Spleen; Mechanism of its Inhibition by Phenoxybenzamine

BROWN et al.[1,2] observed that the amount of norepinephrine appearing in the venous blood of the cat's spleen following electrical stimulation of the splenic nerves increased after phenoxybenzamine. This finding was taken to indicate that phenoxybenzamine by reacting with adrenergic receptors prevents not only the response of the effector organ but also the enzymatic degradation of norepinephrine. This interpretation, however, has been challenged by several authors[3–5].

The results of the present study suggest that the main cause of the increase in splenic norepinephrine-output after phenoxybenzamine is not blockage of the receptive sites of smooth muscles but rather inhibition of norepinephrine uptake by storage sites.

The method used has been described in detail by THOENEN et al.[6]. Isolated cat spleens were perfused with a constant volume (7.5 ml/min) of McEwen's solution at 38°C saturated with 95% O_2 and 5% CO_2. Small amounts of norepinephrine (8 ng/ml), which under these conditions caused a distinct but moderate contraction of the spleen, were added to the perfusion fluid. The venous effluent was collected in chilled flasks in 5 min fractions; the norepinephrine concentration was determined by the blood pressure response of pithed rats and expressed in percent of the concentration infused. In preliminary experiments it was shown that the concentration of norepinephrine in the effluent did not change significantly over a period of 45 min, when neither cocaine nor phenoxybenzamine was added to the perfusion fluid.

In a first group of 7 experiments three successive collecting periods provided control values; 50 µg phenoxybenzamine were then injected into the arterial inflow. As shown in a representative example (Figure a), phenoxybenzamine led to an increase in the concentration of norepinephrine in the venous effluent. When cocaine (13 µg/ml), which inhibits the uptake of norepinephrine into storages sites[7], was added, a further increase in the norepinephrine concentration of the venous effluent occurred. This implies that the inhibition of norepinephrine removal by phenoxybenzamine was not maximal, although 50 µg of phenoxybenzamine had effected maximal blockage of

[1] G. L. BROWN and J. S. GILLESPIE, J. Physiol. *138*, 81 (1957).

[2] G. L. BROWN, *Adrenergic Mechanisms*. Ciba Foundation Symposium (J. A. Churchill, London 1960).

[3] W. D. M. PATON, *Adrenergic Mechanisms*. Ciba Foundation Symposium (J. A. Churchill, London 1960).

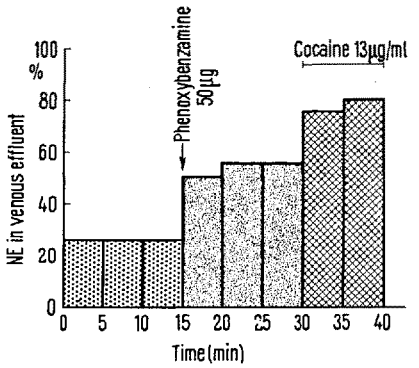
[4] R. F. FURCHGOTT, personal communication.

[5] B. BELLEAU, *Adrenergic Mechanisms*. Ciba Foundation Symposium (J. A. Churchill, London 1960).

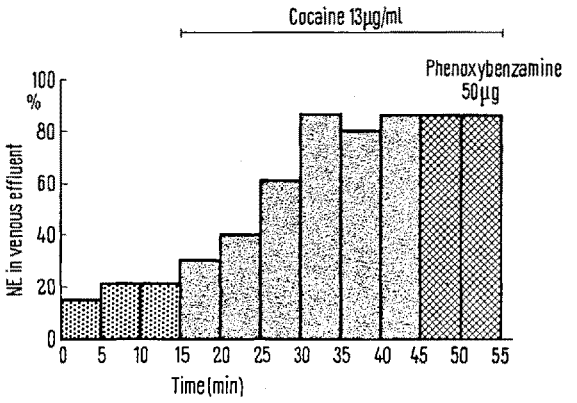
[6] H. THOENEN, A. HÜRLIMANN, and W. HAEFELY, Helv. physiol. pharmacol. Acta *21*, 17 (1963).

[7] H. THOENEN, A. HÜRLIMANN, and W. HAEFELY, J. Pharmacol., in press.

the receptive sites of the smooth muscles to exogenous (infused) and endogenous (released by sympathetic stimulation) norepinephrine. This had previously been demonstrated in other experiments where changes in volume and vascular resistance of the spleen were recorded.



a



b

The effect of phenoxybenzamine and cocaine on the removal of infused norepinephrine by the isolated perfused spleen of the cat. Norepinephrine concentration infused (8 ng/ml) = 100%.

Comparison of the three control periods with the three periods following injection of phenoxybenzamine shows a rise in the concentration of norepinephrine in the venous effluent from $22.9 \pm 0.8\%$ to $51.9 \pm 3.2\%$ of the norepinephrine infused. This difference is highly significant ($p < 0.001$).

In a second series of 7 experiments 13 µg/ml cocaine were added to the perfusion fluid. As shown in Figure b this concentration of cocaine greatly inhibited the removal of norepinephrine. The maximal effect was attained after 3 to 4 collection periods. When phenoxybenzamine was then injected, no further increase occurred. The small difference between the amount of norepinephrine recovered in the last two fractions before ($83.6 \pm 3.0\%$) and after ($86.7 \pm 2.1\%$) injection of phenoxybenzamine is not significant ($p > 0.2$).

Cocaine in the dose used potentiates the effect of infused norepinephrine markedly. There is no evidence for blockage of the receptive sites of smooth muscles. If the inhibition of intrasplenic removal of norepinephrine by phenoxybenzamine were caused by blockage of the receptive sites of smooth muscles, an increase in the amount of norepinephrine appearing in the venous effluent should occur when phenoxybenzamine is added during cocaine infusion. This, however, is not the case.

Our results support the view that the inhibition of intrasplenic removal of infused norepinephrine by phenoxybenzamine as well as by cocaine is caused by blockage of its uptake into storage sites and that block of smooth muscle receptors by phenoxybenzamine is of at most minor importance.

Zusammenfassung. Die Aufnahme von infundiertem Noradrenalin durch die Milz wird durch Phenoxybenzamin gehemmt. Diese Hemmung beruht auf einer Blokkierung der Noradrenalinaufnahme in die Speicher und nicht auf einer Blockierung der adrenergischen Receptoren des Erfolgsorgans.

H. THOENEN, A. HÜRLIMANN, and W. HAEFELY

Abteilung für experimentelle Medizin, F. Hoffman-La Roche & Co. AG, Basel (Switzerland), July 17, 1963.

La morphine et le phénobarbital modifient-ils le taux de l'alcoolémie provoquée chez le cobaye?

Les cas de double intoxication ne sont pas rares. Or il est connu que la morphine et le phénobarbital augmentent la toxicité de l'éthanol et *vice versa*. Cette action semblerait s'expliquer soit par un ralentissement des oxydations d'ordre fermentatif, soit consécutive à la bradypnée.

L'intérêt de cette question est évident puisque la réponse devrait nous donner un des mécanismes de la potentialisation des effets dépressifs de la morphine et des barbituriques par l'alcool et touche en outre au problème de la détoxication.

Méthodologie. Administration *per os* de 5 cm³/kg d'éthanol à 60% au même moment où le cobaye reçoit 13,5 mg/kg s.c. de chlorhydrate de morphine ou 30 mg/kg *per os* de phénobarbital. Dosage de l'alcoolémie selon la technique spectrophotométrique de MONNIER[1] dont l'exactitude est de ± 4%. Le sang est prélevé par ponction intracardiaque de 0,4 cm³ (0,2 pour l'analyse et 0,2 pour le contrôle). Les ponctions se font sur le même animal à 30, 60 et 90 min (quantité totale de sang prélevé 1,2 cm³).

Résultats. La première précaution est de savoir si la morphine et le phénobarbital interfèrent sur le taux de l'alcool *in vitro*. Ces contrôles ont montré que ni l'alcaloïde ni le phénobarbital exercent un effet sur le résultat de ce dosage.

Nous donnons sous forme de graphique le résultat de nos expériences; la significativité est inscrite par le calcul des limites fiduciaires selon la formule

$$t_{0,05} = \bar{x} \pm 2{,}04 \sqrt{\frac{S\,\bar{x}^2 - \bar{x}\,(S\,x)}{N\,(n-1)}}.$$

Comme le point alcool-phénobarbital à 30 min se trouve en dehors des limites fiduciaires, nous avons voulu nous assurer de sa non significativité par le calcul de P selon

[1] D. MONNIER, W. RUEDI et M. FASEL, Travaux de Chimie alimentaire et d'Hygiène *48*, Fasc. 3 (1957).