

Aus dem Max Planck-Institut für Kulturpflanzenzüchtung, Hamburg-Volksdorf  
(Direktor: Prof. Dr. rer. nat. R. v. SENGBUSCH)

## Die Entwicklung von Lösungsmitteln für die Chemolyse von Harnsteinen \*

Von I. SÜCKER

Mit 5 Textabbildungen

### I. Einleitung

#### 1. Problemstellung

Das Ziel der Untersuchungen über die Auflösung von Harnsteinen war es, beim Menschen anwendbare „Lösungsmittel“ zu entwickeln für solche Stoffe, die als Konkremente im Harnsystem vorkommen: Erdalkalisalze der Oxalsäure und der Phosphorsäure, Harnsäure und ihre Salze (Urate) sowie die Aminosäure Cystin. An die Lösungsmittel, die in der menschlichen Niere auf die Harnkonkremente einwirken sollen, müssen folgende Anforderungen gestellt werden:

- a) Optimaler Lösungseffekt eines möglichst geringen Volumens an Flüssigkeit,
- b) hohe Auflösungsgeschwindigkeit,
- c) physiologische Verträglichkeit ( $p_H$ -Wert, osmotischer Druck; geringe Reizwirkung und Toxizität).

#### 2. Chemolyse — Litholyse

Die Auflösung eines festen Stoffes in einer Flüssigkeit kann auf verschiedenen physikalisch-chemischen Tatsachen beruhen:

a) Bei der Herstellung einer wäßrigen Zucker- oder Kochsalzlösung zerfallen die makroskopisch sichtbaren Teilchen in Moleküle bzw. Ionen und sind weitgehend homogen verteilt im Lösungsmittel. Wird das Wasser verdampft, so bleibt der Ausgangsstoff zurück. Auch bei der Behandlung von Fetten mit Benzin oder Äther entstehen molekular-disperse Lösungen. Da die gelöste Substanz chemisch nicht verändert wird, handelt es sich hierbei um physikalische Vorgänge.

b) Das wesentliche Merkmal einer chemischen Auflösung oder „Chemolyse“ ist die Bildung eines neuen Stoffes, dessen Partikel in dem Medium (z. B. Wasser) leicht löslich sind.

$\alpha$ ) Das in Wasser schwer lösliche Tricalciumphosphat kann durch chemische Reaktion mit den Wasserstoffionen einer Säure in die leichter löslichen Salze Calciumhydrogen- oder Calciumdihydrogenphosphat

überführt und aufgelöst werden. Dieser Vorgang wird durch Erhöhung der Wasserstoffionenkonzentration begünstigt.

$\beta$ ) Bei der Behandlung von Tricalciumphosphat mit organischen Säuren, beispielsweise Citronensäure, ist dem  $p_H$ -abhängigen Prozeß der Umwandlung des tertiären in sekundäres und primäres Phosphat die Bildung von wasserlöslichen Calcium-Citronensäure-Komplexen überlagert. Die in der Komplexometrie (SCHWARZENBACH<sup>12</sup>) verwendeten Aminopolycarbonsäuren, besonders Äthylendiamintetraessigsäure, bilden mit Erdalkalitionen wasserlösliche Chelatkomplexe mit hohen Stabilitätskonstanten (MARTELL u. CALVIN<sup>7</sup>). Wäßrige Lösungen dieser Komplexbildner eignen sich daher in besonderer Weise für eine Chemolyse. Da das in Harnsteinen am häufigsten vorkommende Mineral Calciumoxalat (Whewellit, Weddellit) innerhalb des physiologischen  $p_H$ -Bereiches nur durch Komplexbildung in Lösung gebracht werden kann, wurde dieses als Testsubstanz für die Entwicklung von Nierensteinlösungsmitteln eingesetzt.

Als Litholyse bezeichnet man die Auflösung eines Harnsteins ohne Berücksichtigung des Reaktionsmechanismus.

#### 3. Nomenklaturfragen

Die „Nierensteinlösungsmittel“ werden von uns auch als „Lösungsmittel“ oder „Lösungsmittel“ bezeichnet. Es handelt sich hierbei nicht um die in der Chemie übliche Bezeichnung Lösungsmittel [z. B. Benzin, Äther oder auch Wasser (I, 2a)], sondern um ein „Mittel zur Auflösung“ von Harnsteinen. „Spülmittel“ sind generell alle Flüssigkeiten, die für eine Nierenbeckendauerspülung eingesetzt werden.

Die Äthylendiamintetraessigsäure und ihre Salze werden in der Literatur unter verschiedenen Namen angeführt:

*Säure.* ADTE, EDTA, Titriplex II, sequestrine, versenic acid, calsol.

*Salze.* Titriplex III, Komplexon III, versene, Trilon B.

\* Herrn Prof. Dr. rer. nat. R. v. SENGBUSCH zum 65. Geburtstag gewidmet.

In allen Fällen handelt es sich in chemischer Hinsicht um den Säurerest der Äthylendiamintetraessigsäure, der mit Calcium- oder Magnesiumionen wasserlösliche Komplexe bildet. Die in diesen Verbindungen enthaltenen Kationen (Wasserstoff, Natrium, Kalium) sind von sekundärer Bedeutung.

Zum besseren Verständnis der chemischen Vorgänge bei der Chemolyse wird folgende Nomenklatur eingeführt: Die Abkürzung ADTE bezeichnet speziell das Anion der Säure; die Kurzformel für die vierbasige Äthylendiamintetraessigsäure lautet dann  $H_4ADTE$ . Das Dinatriumsalz heißt  $Na_2H_2ADTE$  und das Trinatriumsalz entsprechend  $Na_3HADTE$ . In Abschnitt III, 3 wird die Verbindung  $Li_{3,4}ADTE$  erwähnt, ein Trilithiumsalz mit einem Überschuß von 0,4 Mol Lithiumhydroxid pro Mol Säure.

#### 4. Literaturhinweis

Über die bisher publizierten Arbeiten zum Thema der chemischen Auflösung von Harnsteinen berichten BOSHAMER<sup>2</sup>, BROSIG, KLOSTERHALFEN u. KAUFMANN<sup>3</sup>, RUTISHAUSER, HEUSSER u. Mitarb.<sup>12</sup> und v. SENGBUSCH, SÜCKER u. TIMMERMANN<sup>14</sup>. In dieser Zeitschrift ist 1962 der Bericht über ein Symposium „Die Möglichkeiten der Nierensteinauflösung; klinische und experimentelle Probleme“ publiziert worden (LANDECKER<sup>7</sup>; SÜCKER<sup>15</sup>; TIMMERMANN<sup>17</sup>), auf den gelegentlich Bezug genommen wird.

## II. Experimenteller Teil

### 1. Konzentrationsangaben

Für den Vergleich der chemischen Wirksamkeit von Salzlösungen der ADTE ist es erforderlich, die Konzentrationen nicht nur in Prozenten, sondern auch in Mol/l bzw. mMol/l anzugeben. Auf Grund der unterschiedlichen Molekulargewichte enthält beispielsweise eine 3%ige Lösung des Trilithiumsalzes der ADTE mehr komplexbildende Anionen als eine 3%ige Lösung des Trinatriumsalzes; die molaren Konzentrationen betragen 80 mMol/l und 73 mMol/l.

### 2. Schüttelversuche

Gleiche Mengen fein gepulverten Calciumoxalates [100 mg  $Ca(COO)_2 \cdot H_2O \cong 0,69$  mMol] werden mit steigenden Volumina der Testlösungen 1 Std lang bei Zimmertemperatur auf einer Schüttelmaschine behandelt. Es wird die für eine vollständige Auflösung des Salzes erforderliche Mindestmenge an Komplexbildnern bestimmt (verbrauchte Lösung, gemessen in Milliliter).

Die Mengen verschiedener Puffersubstanzen (Triäthanolamin, Trispuffer) werden variiert.

### 3. Tropfversuche

Um den Vorgang der Auflösung eines Konkrementes in vitro dem Verfahren einer Nierenbeckendauer-spülung möglichst ähnlich zu gestalten, wird eine Apparatur verwendet, deren Prinzip von ABESHOUSE u. WEINBERG<sup>1</sup> beschrieben und auch von NIEDIECK, v. SENGBUSCH u. TIMMERMANN<sup>9</sup> angewendet worden ist. Hierbei tropft die Testlösung kontinuierlich in einen Trichter, der in ein ca. 20 cm langes Glasrohr ausläuft. Das frische Lösungsmittel fließt am unteren Ende durch zwei seitliche Öffnungen, über denen Calciumoxalat-Tabletten bzw. natürliche Harnsteine angebracht sind, hinaus und gewährleistet dadurch eine optimale Umspülung. Der Trichter befindet sich in

einem als Überlaufgefäß gestalteten Glas. Dieses wird in ein Wasserbad mit automatischer Temperaturregelung (38°C) eingehängt.

### 4. Kryoskopische Messungen

Die in der klinischen Praxis anwendbaren Lösungsmittel werden jeweils vorher auf ihre osmotischen Eigenschaften hin untersucht und mit den Werten für die Körperflüssigkeiten (Blutserum, Urin) verglichen. Die Gefrierpunktserniedrigung wird mit Hilfe einer Apparatur nach BECKMAN (KOHLRAUSCH<sup>6</sup>) ermittelt. Da es sich sowohl bei den Lösungsmitteln als auch bei den biologischen Flüssigkeiten um wäßrige Lösungen handelt, gilt der Wert für die molare Gefrierpunktserniedrigung des Wassers  $E = 1,86^\circ C$  pro Mol.

Die Gefrierpunktserniedrigung einer 0,9%igen Kochsalzlösung betrug  $0,560^\circ C$ . Dies entspricht dem theoretischen Wert für das Blutserum, der zwischen  $0,54$  und  $0,58$  liegen soll und von RAVEN<sup>11</sup> mit  $0,56^\circ C$  angegeben wird.

### 5. Prüfung der Pufferkapazität

Das Komplexbildungsvermögen der ADTE ist stark  $pH$ -abhängig. Daher ist es erforderlich, die Änderung der Wasserstoffionenkonzentration durch Säurezusatz zu bestimmen. Je 20 ml des Lösungsmittels werden vorgelegt und mit 0,1 n Salzsäure titriert. Der  $pH$ -Wertes als Funktion des Säurezusatzes wird graphisch aufgetragen.

### 6. Ermittlung des Wirkungsgrades

Für die praktische Anwendung der chemischen Auflösung von Harnsteinen kann der Wirkungsgrad eines Lösungsmittels von Interesse sein. Das Lösungsvermögen bzw. der Wirkungsgrad wird definiert:

$$\text{„Wirkungsgrad“ } \eta = \frac{\text{theoretisch erforderliche Menge an Komplexbildner}}{\text{praktisch eingesetzte Menge an Komplexbildner}}$$

#### Beispiel

Es sollen 100 mg Calciumoxalat-Monohydrat, das sind 0,69 mMol, aufgelöst werden. Würde ein vollständiger Umsatz mit dem Anion der ADTE erfolgen, so verbraucht man entsprechend 0,69 mMol an ADTE bzw. an  $Na_2H_2ADTE$ . Von einer 2,5%igen (0,067 m) Lösung an  $Na_2H_2ADTE$  werden bei Zugabe von 3% Triäthanolamin 12,1 ml verbraucht; das entspricht 0,81 mMol ADTE. Wird der gleichen Lösung nur 1% des Puffers Triäthanolamin zugefügt, so verbraucht man 34,5 ml, das sind 2,31 mMol, d.h. mehr als das Dreifache der theoretisch erforderlichen Menge. Das Lösungsvermögen ist dann

$$\eta = \frac{0,69 \text{ mMol}}{2,31 \text{ mMol}} = \frac{30}{100} = 30\%$$

bei Zugabe von 3% Puffer beträgt der

$$\text{Wirkungsgrad } \eta = \frac{0,69}{0,81} = 85\%$$

## III. Auflösung von Calciumoxalat durch Komplexbildung

### 1. Reaktionsgleichung, Beständigkeitsbereich des Komplexes

Die Auflösung von Calciumoxalat mittels des Komplexbildners ADTE geht nach folgender Gleichung voran:



Die Bildung des wasserlöslichen Komplexes, d.h. die Verschiebung des Gleichgewichtes nach rechts, wird begünstigt

- durch die Erhöhung der ADTE-Konzentration,
- durch Neutralisation der frei werdenden H-Ionen.

Das Chelatbildungsvermögen der ADTE mit Calcium als Funktion des  $p_H$  zeigt Abb. 1. Daraus kann geschlossen werden, daß die Auflösungsversuche in

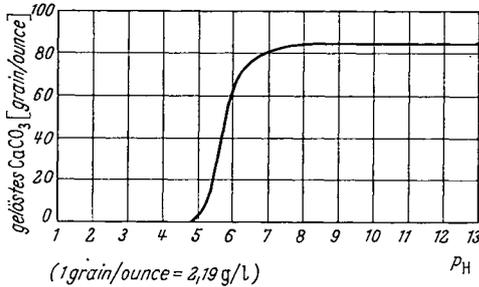


Abb. 1. Chelatbildungsvermögen der ADTE mit Calcium als Funktion des  $p_H$  (nach MARTELL u. CALVIN)

einem alkalischen Milieu durchgeführt werden müssen und daß auch während der chemischen Reaktion der  $p_H$ -Wert nicht unter 7,0 sinken sollte. Die Pufferung des Systems ist also von wesentlicher Bedeutung für den Auflösungsprozeß.

## 2. Dinatriumsalz der Äthylendiamintetraessigsäure (ADTE)

Eine 2,5%ige wäßrige Lösung des Dinatriumsalzes  $Na_2H_2ADTE$  wird mit steigenden Mengen an Triäthanolamin versetzt (0,5–3,0%). Die für die Auflösung von 100 mg Ca-oxalat erforderliche Menge an Lösungsmittel beträgt bei Zusatz von 0,5% Triäthanolamin mehr als 40 ml und vermindert sich auf 12,1 ml bei 3% Triäthanolamin (Abb. 2a)\*. Daraus läßt sich schließen, daß eine Erhöhung des Puffergehaltes zu einer wesentlichen Verbesserung des Lösungsvermögens bzw. des Wirkungsgrades führt (Abb. 2b). Aus Abb. 2 ist ferner zu ersehen, daß in gleichem Maße wie die Pufferkonzentration auch das  $p_H$  ansteigt. Die Erhöhung des Lösungsvermögens ist primär abhängig vom  $p_H$ -Wert und sekundär von der zur Einstellung des  $p_H$ -wertes angewendeten Puffermenge. Diese Beobachtung steht im Einklang mit der  $p_H$ -Abhängigkeit des Chelatbildungsvermögens (Abb. 1).

## 3. Lithiumsalz der ADTE

Äthylendiamintetraessigsäure wurde mit Lithiumhydroxid neutralisiert und auf einen  $p_H$ -Wert von 8,4 eingestellt. — Die Anwendung von Lithiumsalzen der ADTE wurde von NODDACK<sup>10</sup> angeregt wegen der Möglichkeit, gleichzeitig Harnsäurekonkremete in Lösung zu bringen. — Die erforderliche Menge an Lithiumhydroxid beträgt 3,4 Mol LiOH auf 1 Mol ADTE (vgl. I, 3).

Die Schüttelversuche zeigen, daß das Lösungsvermögen des Lithiumsalzes der ADTE dem des Dinatriumsalzes entspricht, allerdings ist der Verbrauch an Puffer geringer wegen des höheren  $p_H$ -wertes des Lithiumsalzes.

Wenn mit einer möglichst geringen Menge an Puffer ein hoher Wirkungsgrad erzielt werden soll, so genügen

\* Diese Lösung wurde unter der Laborbezeichnung P 8 klinisch angewendet (BROZINSKI, v. SENGBUSCH u. TIMMERMANN<sup>4</sup>).

beispielsweise 12,1 ml einer 3%igen Lösung des Lithiumsalzes (0,080 m ADTE) und 0,5% Triäthanolamin zur Auflösung von 100 mg Calciumoxalat. Dieses Gemisch wurde unter der Bezeichnung P 20 in der Klinik verwendet.

Von einer 5%igen Lösung des Lithiumsalzes (0,134 m ADTE), gepuffert mit 1% Triäthanolamin, werden zur Auflösung von 100 mg Calciumoxalat nur 8,3 ml verbraucht (Bezeichnung P 30).

Wäßrigen Lösungen des Lithiumsalzes der ADTE wurde im Verhältnis 1:10 und 1:2 saurer Harn ( $p_H$  5,58) zugesetzt. Die einzelnen Gemische wurden mit je 100 mg Calciumoxalat 1 Std lang bei Zimmertemperatur geschüttelt.

Die Ergebnisse zeigen, daß ein geringer Harnzusatz (ca. 10%) das Auflösungsvermögen nicht merklich

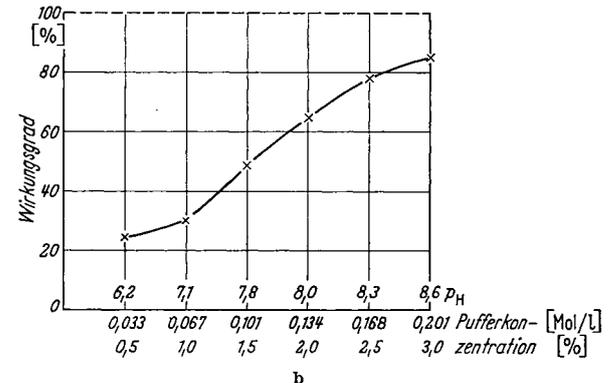
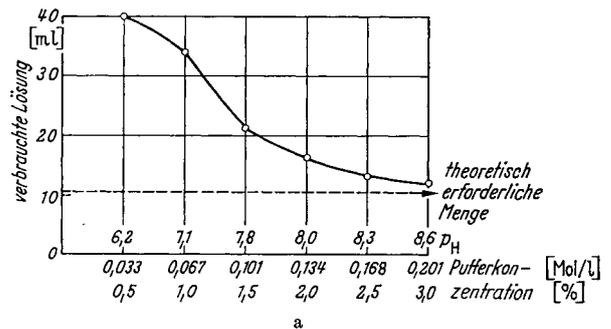


Abb. 2 a und b. Auflösung von Calciumoxalat mit dem Dinatriumsalz der ADTE. Vorlage: 100 mg Calciumoxalat-Monohydrat. Lösungsmittel: 2,5%ige wäßrige Lösung von  $Na_2H_2ADTE$ . Puffer: 0,5–3,0% Triäthanolamin. a Abhängigkeit des Verbrauchs an Lösungsmittel (ml) von der Pufferkonzentration bzw. dem  $p_H$ . b Abhängigkeit des Wirkungsgrades (%) von der Pufferkonzentration bzw. dem  $p_H$ .

beeinflusst, während 33% sauren Harns im Gemisch mit der Lithiumsalzlösung

- eine Ansäuerung der Ausgangslösung,
- eine verstärkte  $p_H$ -Änderung, also Ansäuerung während des Schüttelns und daher
- eine Minderung des Lösungsvermögens bewirken.

Das Lithiumsalz ( $Li_{3,4}ADTE$ ) und das Dinatriumsalz der ADTE ( $Na_2H_2ADTE$ ) wurden in folgenden Verhältnissen miteinander gemischt und als wäßrige Lösung auf 100 mg Calciumoxalat angewendet: 2 + 1; 2 + 2 und 2 + 3%. Die molare Konzentration an ADTE in den Lösungsgemischen nahm zu von 0,091 über 0,118 auf 0,145 Mol/l.

Auf Grund der theoretischen Erörterungen über die Gleichgewichtsreaktion der Komplexbildung (siehe III, 1) müßte eine Erhöhung der ADTE-Konzentration auch den Auflösungsprozess positiv beeinflussen. Bei

einer konstant gehaltenen Puffermenge sank der Wirkungsgrad aber von 47,5 auf 20,3% ab. Der deutlich meßbare Ansäuerungseffekt des Dinatriumsalzes ( $p_H$  4,8) wirkt offensichtlich der durch die steigende ADTE-Konzentration begünstigten Komplexbildung entgegen und verschiebt das Gleichgewicht nach links.

#### 4. Trinatriumsalz der ADTE

Die potentiometrische Titration von Äthylendiamintetraessigsäure mit Natronlauge liefert deutliche Wendepunkte bei den Molverhältnissen 1:1, 2:1, 3:1 und 4:1, also Lösungen, die dem Mono-, Di-, Tri- und Tetranatriumsalz der ADTE entsprechen. Da für die Komplexbildung nur ein alkalisches Milieu in Frage kommt, seien die beiden letzten Äquivalenzpunkte näher untersucht (Abb. 3). Es wurden 292 mg  $H_4ADTE$

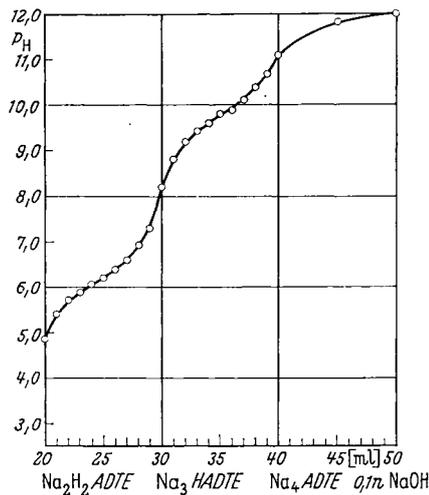


Abb. 3. Titration von Äthylendiamintetraessigsäure mit Natronlauge. Vorlage: 292 mg  $H_4ADTE$  ( $\approx 1$  mMol). Diagramm: Abhängigkeit des  $p_H$ -Wertes von der zugesetzten Menge an 0,1 n Natronlauge

vorgelegt, das entspricht 1 Millimol oder 4 Milliäquivalenten der vierbasigen Säure. Die Zugabe von 30 ml 0,1 n Natronlauge bedeutet eine Neutralisation von 3 Milliäquivalenten der Säure  $H_4ADTE$  unter Bildung des Anions  $H_3ADTE^{3-}$ . Das entsprechende Salz ist das Trinatriumsalz  $Na_3HADTE$ . Mit 40 ml 0,1 n Natronlauge wird die Säure vollständig neutralisiert (Tetranatriumsalz  $Na_4ADTE$ ). Für die klinische Anwendung der ADTE zur Auflösung von Calciumoxalat ist also das Trinatriumsalz wegen seines im physiologischen Bereich der Niere liegenden  $p_H$ -Wertes von 8,2 besonders geeignet.

Größere Mengen an Puffersubstanz (2–3%) erhöhen den  $p_H$ -Wert der Trinatriumsalzlösungen erheblich und liefern Wirkungsgrade von praktisch 100%. Die Menge an verbrauchtem Lösungsmittel für 100 mg Calciumoxalat läßt sich bis auf 5 ml reduzieren, das  $p_H$  sinkt von Ausgangswerten zwischen 8,5 und 9,0 nach der chemischen Umsetzung nicht wesentlich unter 8,0 ab und bleibt damit im Bereich der optimalen Stabilität des Calciumkomplexes der ADTE.

Aus physiologischen Gründen dürfen aber weder die ADTE-Konzentration, der Puffergehalt noch die  $p_H$ -Werte beliebig erhöht werden. Weitere physikalisch-chemische und auch physiologische Prüfungen sind erforderlich, um optimal wirksame Lösungsmittel zu finden.

In der klinischen Praxis wurden folgende Lösungsmittel, die Trinatriumsalz der ADTE enthalten, angewendet.

P 35: 2,5%  $Na_3HADTE$ , 0,5% Triäthanolamin;  $p_H$  8,6  
 P 40: 5 %  $Na_3HADTE$ , 1 % Triäthanolamin;  $p_H$  8,6  
 P 48: 5 %  $Na_3HADTE$ , 1 % Triäthanolamin;  $p_H$  8,0  
 P 50: 5,2%  $Na_3HADTE$ , 0,3% Trispuffer;  $p_H$  8,4  
 P 43: 7,5%  $Na_3HADTE$ , 1 % Triäthanolamin;  $p_H$  8,5

Die höchste Konzentration an ADTE ist in dem Lösungsmittel P 60 enthalten: 7,66%  $Na_3HADTE$  sowie je 0,5% Triäthanolamin und Trispuffer. Es ist auf ein  $p_H$  von 8,0 eingestellt. Zur Verbesserung der physiologischen Verträglichkeit sind diesem Lösungsmittel Antiphlogistica zugesetzt (KALLISTRATOS<sup>5</sup>).

#### IV. Physikalisch-chemische Prüfung der Lösungsmittel 1. Gefrierpunktniedrigung

Die Messung der gebräuchlichsten Nierensteinlösungsmittel ergab folgende Werte (Es handelt sich um Mittelwerte aus jeweils fünf Messungen mit einem mittleren Fehler von  $\pm 0,001^\circ C$ ):

Lösungsmittel (Laborbezeichnung)	ADTE-Konz. (Mol/l)	Puffer-Konz. (Mol/l)	Gefrierpunktniedrigung ( $^\circ C$ )
P 8	0,067	0,201	0,750
P 20	0,080	0,034	0,539
P 30	0,134	0,067	1,054
P 35	0,060	0,034	0,450
P 40	0,121	0,067	0,901
P 43	0,132	0,067	1,329
P 48	0,121	0,067	0,828
P 50	0,126	0,027	0,987

Die Gefrierpunktniedrigung der Lösungsmittel P 30, P 40, P 48 und P 50 beträgt 0,8–1,0 $^\circ C$ . Die osmotischen Werte liegen über denen des Bluteserums, die Lösungen sind also hypertonisch.

Weiterhin wurden 13 menschliche Urine gemessen, die Werte zwischen 1,664 und 2,258 $^\circ C$  ergaben. Der Mittelwert beträgt 1,933 $^\circ C$ . (Bei 10 Kaninchenurinen wurde eine wesentlich größere Streuung der Meßergebnisse gefunden, und zwar lag das Minimum bei 0,220 und das Maximum bei 2,488 $^\circ C$ .) Eine extrem niedrige Gefrierpunktniedrigung wurde bei einem menschlichen Urin gefunden, der per Nierenkatheter gewonnen worden ist, nämlich 1,10 $^\circ C$ . Gegenüber dem menschlichen Harn sind die Lösungsmittel also stark hypotonisch; ihr osmotischer Druck ist halb so groß wie der eines durchschnittlichen menschlichen Urins.

#### 2. Beständigkeit gegenüber Säurezusatz

Aus Abb. 4 ist zu ersehen, daß die einzelnen Lösungsmittel (P 30–P 50) im  $p_H$ -Bereich zwischen 8,5 und 7,0 unterschiedliche

$$\text{Pufferkapazitäten} = \frac{\text{verbrauchte Säuremenge}}{\text{pH-Änderung}}$$

besitzen. Wenn jeweils 20 ml des Lösungsmittels vorgelegt werden, beträgt der Verbrauch an 0,1 n Salzsäure für eine Änderung des  $p_H$ -Wertes von 8,0 auf 7,0:

P 30: 22 – 8 = 14 ml 0,1 n HCl  
 P 40: 14 – 6 = 8 ml 0,1 n HCl  
 P 48: 5,5 – 0 = 5,5 ml 0,1 n HCl  
 P 50: 8,5 – 2,5 = 6 ml 0,1 n HCl

Die Pufferkapazität der Lösungsmittel ist für die klinische Chemolyse immer dann von Bedeutung,

wenn der Nierenurin ein saures  $p_H$  besitzt und bei langsamer Infusion des Lösungsmittels in das Nierenbecken mit einem Verdünnungs- bzw. Ansäuerungseffekt zu rechnen ist.

### 3. Bestimmung einer mittleren Auflösungsgeschwindigkeit

Verschiedene im Schüttelversuch getestete, wirksame Kombinationen von Salzen der ADTE und Triäthanolamin bzw. Trisoxymethylaminomethan (Trispuffer) wurden in der Tropfapparatur (siehe II, 3)

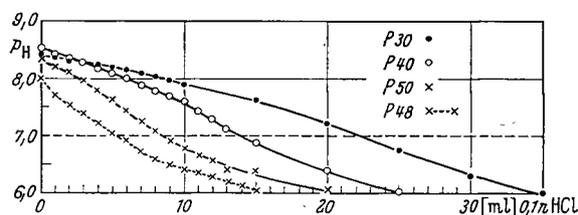


Abb. 4. Titration der Lösungsmittel mit Salzsäure. Vorlage: 20 ml Lösungsmittel P 30, P 40, P 48 und P 50. Diagramm: Abhängigkeit des  $p_H$ -Wertes von der zugesetzten Menge an 0,1 n Salzsäure. (Bestimmung der „Pufferkapazität“  $\frac{\text{ml } 0,1 \text{ n HCl}}{\Delta p_H}$  im  $p_H$ -Bereich zwischen 8,0 und 7,0)

untersucht. Als Testobjekte wurden Tabletten aus Calciumoxalat und Calciumsulfat (50:50) bzw. aus reinem Calciumhydrogenphosphat eingesetzt. Das Gewicht der einzelnen Proben schwankte zwischen 650 und 670 bzw. 350 und 400 mg. Es wurde die für eine totale Auflösung erforderliche Zeit in Stunden gemessen und daraus eine mittlere Auflösungsgeschwindigkeit (mg/Std) berechnet. In Tab. 1 wird gezeigt, daß die Auflösungsgeschwindigkeit sowohl der Calciumoxalat- als auch der Calciumhydrogenphosphat-Tabletten von der molaren Konzentration der ADTE abhängig ist. Aus den Meßwerten und der bereits

Einfluß ausüben auf die im Tropfversuch gemessene Auflösungsgeschwindigkeit von Calciumoxalat und Calciumphosphat, solange das Milieu alkalisch bleibt.

Die beiden lithiumhaltigen Lösungsmittel P 20 und P 30 lösten Calciumoxalattabletten mit einer der ADTE-Konzentration entsprechenden Geschwindigkeit. Dadurch wurde bestätigt, daß die Komplexbildung primär unabhängig ist vom Kation der ADTE-Salzlösung. Das Lithiumsalz zeigt aber in bezug auf Phosphat und Urat (Harnsäure) bedeutsame Sekundärreaktionen:

a) Der Auflösungseffekt von P 20 und P 30 im Tropfversuch mit Calciumhydrogenphosphat ist sehr gering. Das Lösungsmittel P 30 mit seiner besonders hohen Lithiumionenkonzentration bewirkte keine meßbare Verkleinerung der Phosphattabletten; die Versuche mußten erfolglos abgebrochen werden.

b) Harnsäure dagegen wird von Lithiumsalzlösungen aufgelöst (siehe IV, 4d).

Tropfversuche mit Tabletten aus Tricalciumphosphat  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  zeigten nur eine geringe Erhöhung der Auflösungsgeschwindigkeit mit zunehmender Konzentration. Es wurden die beiden Lösungen mit 0,121 m ADTE (P 40) und 0,182 m ADTE (P 43) miteinander verglichen; sie lieferten mittlere Auflösungsgeschwindigkeiten von 8,0 und 8,9 mg/Std. — Die Auflösung von tertiärem Calciumphosphat im sauren Medium ( $p_H$  5) mit einer 10%igen Lösung von Ammoniumcitrat ergab dagegen einen Mittelwert von ca. 13 mg/Std.

### 4. Anwendung der Lösungsmittel auf natürliche Harnsteine

#### a) Allgemeine Betrachtungen

Bei den Tropfversuchen mit Tabletten definierter chemischer Zusammensetzung und gleicher Größe konnten die physikalischen Bedingungen des Auf-

Tabelle 1. Abhängigkeit der mittleren Auflösungsgeschwindigkeit von der ADTE-Konzentration (Tablettenversuche)

Mit steigender ADTE-Konzentration (Mol/l) nimmt die Auflösungsgeschwindigkeit sowohl bei Oxalat- als auch bei Phosphattabletten angenähert linear zu

Bezeichnung des Lösungsmittels	P 40 1:3 verd.	P 8	—	P 20	P 40	P 30	P 43	—	—
Konzentration [%]	1,25 $\text{Na}_3\text{H}$ ADTE	2,5 $\text{Na}_2\text{H}_2$ ADTE	3 $\text{Na}_3\text{H}$ ADTE	3 $\text{Li}_{3,4}$ ADTE	5 $\text{Na}_3\text{H}$ ADTE	5 $\text{Li}_{3,4}$ ADTE	7,5 $\text{Na}_3\text{H}$ ADTE	8,5 $\text{Na}_3\text{H}$ ADTE	30 $\text{Na}_3\text{H}$ ADTE
an ADTE $\left[\frac{\text{Mol}}{\text{l}}\right]$	0,030	0,067	0,073	0,080	0,121	0,134	0,182	0,206	0,730
Konzentration an Puffer [%]	0,25	3	1,5 Trisp.	0,5	1	1	1	3 Trisp.	5
Triäthanolamin $\left[\frac{\text{Mol}}{\text{l}}\right]$	0,0168	0,201	0,124	0,0335	0,0670	0,0670	0,0670	0,248	0,335
Auflösungsgeschwindigkeit (mg/Std) der Tabletten aus									
a) 50% Oxalat + 50% Sulfat	13,25	18,1	—	23,6	35,6	39,9	48,8	—	117
b) Calciumhydrogenphosphat	5,0	16,0	18,6	11,5	22,6	0	41,2	47,2	85,3

früher publizierten graphischen Darstellung der Tabellenwerte (SÜCKER<sup>15</sup>) ist zu ersehen, daß die Auflösungsgeschwindigkeit bis zu einer Konzentration von ca. 0,20 Mol/l ADTE angenähert linear zunimmt.

Die beiden Lösungsmittel, in denen Trispuffer enthalten ist, unterscheiden sich nicht wesentlich von den mit Triäthanolamin gepufferten. Die Auflösungsgeschwindigkeiten lassen sich gut in die durch die ADTE-Konzentration bestimmte Reihenfolge einordnen. Daraus folgt, daß sowohl die Substanz als auch die Konzentration des Puffers praktisch keinen

Einfluß auf den Lösungsvorgang bei der Testung der verschiedenen Lösungsmittel hinreichend konstant gehalten werden. Eine Prüfung der Lösungsmittel mit natürlichen Harnsteinen führt keineswegs zu so eindeutigen Ergebnissen wie sie die Tab. 1 zeigt.

Es wurden bisher insgesamt über 130 Harnsteine nach der Methode der kontinuierlichen Betropfung in vitro aufgelöst. Während die Unterschiede im Lösungsvermögen der einzelnen Spülmittel nicht so stark in Erscheinung treten wie bei den Tablettenversuchen, läßt eine Betrachtung der Auflösungszeiten

und -geschwindigkeiten auf eine Beziehung schließen zwischen der Steingröße bzw. dem Gewicht und der Auflösungsgeschwindigkeit.

In Abb. 5 sind die mit dem Lösungsstoff P 40 erzielten Auflösungsgeschwindigkeiten bei Oxalat- und Phosphatharnsteinen in Abhängigkeit vom Steingewicht aufgetragen. Die mathematisch-statistische Auswertung der Meßergebnisse zeigte eine hochsignifikante Korrelation zwischen Gewicht und Auflösungsgeschwindigkeit, und zwar sowohl bei den Oxalat- als

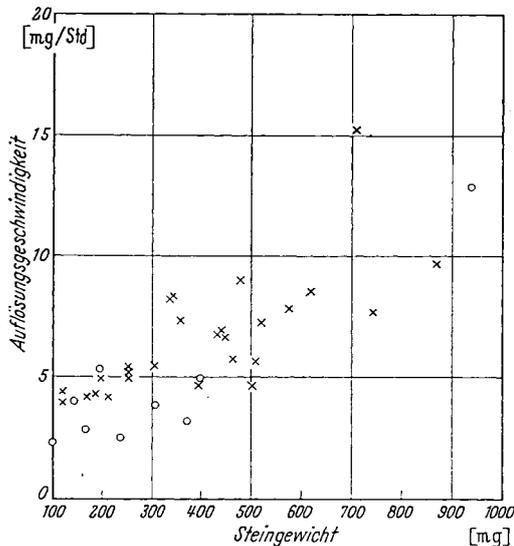


Abb. 5. Auflösung von natürlichen Harnsteinen im Tropfversuch (Anwendung des Lösungsstoffes P 40 auf Oxalat- und Phosphatsteine). Es besteht eine signifikante Korrelation zwischen Steingewicht und Auflösungsgeschwindigkeit

auch den Phosphatkonkrementen. Das bedeutet praktisch, daß größere Steine auch mit einer höheren Geschwindigkeit aufgelöst werden. Es wurde gefunden, daß die höchsten Auflösungsgeschwindigkeiten (10 bis 26 mg/Std) bei Steinen mit einem Gewicht von über 400 mg vorkommen.

Auf die beachtliche Abnahme der in mg/Std gemessenen Auflösungsgeschwindigkeit während der Auflösung eines einzelnen Konkrementes und die Problematik der Definition der „mittleren Auflösungsgeschwindigkeit“ wurde bereits früher hingewiesen (SÜCKER<sup>15</sup>).

Sowohl die statistische Interpretation der Abb. 5 als auch die Beobachtungen am einzelnen Harnstein deuten darauf hin, daß ein weitgehend von der Oberfläche abhängiger Diffusionsvorgang die Auflösungsgeschwindigkeit maßgeblich beeinflusst. Da die reaktionsfähige Oberfläche eines natürlichen Harnsteins bei in vitro-Versuchen nur sehr schwer und bei Chemolyse in vivo gar nicht bestimmt werden kann, liegt hierin einer der Unsicherheitsfaktoren für eine Schätzung der Dauer eines Auflösungsprozesses.

#### b) Calciumoxalat (Whewellit, Weddellit)

Harnkonkremente aus Calciumoxalat mit einem Gewicht zwischen 100 und 400 mg wurden innerhalb von 30–80 Std aufgelöst, die Auflösungsgeschwindigkeiten schwanken zwischen 1,5 und 5 mg/Std. Es kommt gerade bei Oxalatsteinen darauf an, daß durch gute Pufferung ein alkalisches Milieu aufrechterhalten bleibt. Auf Calciumoxalatsteine können alle Lösungsstoffe von P 20–P 60 angewendet werden.

#### c) Tertiäres Phosphat (Apatit, Struvit)

Die Tropfversuche mit natürlichen Steinen aus tertiärem Phosphat (ohne Berücksichtigung der Unterschiede zwischen Calciumapatit und Magnesiumammoniumphosphat —Struvit) ergaben beispielsweise bei Anwendung von P 40 stark streuende Werte, die hauptsächlich zwischen 4 und 10 mg/Std lagen (Abb. 5). Die Auflösungsgeschwindigkeit der Phosphatsteine liegt allgemein höher als die der Oxalatsteine. Dies konnte durch Vergleichsmessungen mit anderen Lösungsstoffen bestätigt werden.

Auf Harnsteine aus tertiärem Phosphat lassen sich die Lösungsstoffe P 40–P 60 anwenden; P 20 und P 30 zeigten in den Tropfversuchen keinen wesentlichen Lösungseffekt (siehe auch Tab. 1: Auflösungsgeschwindigkeit von Tabletten aus Calciumhydrogenphosphat bei Behandlung mit P 20 und P 30).

#### d) Harnsäure

Natürliche Konkreme aus Harnsäure wurden im Tropfversuch mit Lösungsmitteln aus ADTE und Lithiumhydroxid unter Zusatz von Triäthanolamin bzw. ohne Pufferzusatz behandelt. Es resultierten Auflösungsgeschwindigkeiten von 5–9 mg/Std bei Steingrößen zwischen 120 und 300 mg. Alle Testlösungen, die als komplexbildende Substanz Natriumsalze der ADTE enthalten, zeigten sich wenig wirksam in bezug auf Harnsäurekonkremente. Der Auflösungseffekt des Puffers (Triäthanolamin, Trisoxymethylaminomethan) ist wegen der aus klinischen Gründen angewendeten geringen Konzentration in den Lösungsstoffen P 35 bis P 60 sehr gering im Vergleich zu der guten Auflösungswirkung der Lithiumionen in P 20 und P 30.

#### e) Cystin

In unseren analytisch-statistischen Untersuchungen (SÜCKER<sup>16</sup>) erscheinen Cystinsteine mit einer Häufigkeit von ca. 3%. Es sind Arbeiten begonnen worden zur Auflösung dieser schwerlöslichen Aminosäure, die von den ADTE-haltigen Lösungsstoffen nicht angegriffen wird. Allein das alkalische Milieu könnte eine Auflösung des Cystins durch Bildung eines leichter löslichen Alkalisalzes bewirken. Die Tropfversuche mit stark alkalischen Lösungen, deren pH-Werte oberhalb 9 und damit außerhalb des physiologischen Bereiches liegen, zeigen, daß eine Erhöhung des pH-Wertes um geringe Beträge die Auflösungsgeschwindigkeit wesentlich steigert.

### V. Besprechung der Versuchsergebnisse

#### 1. Schüttelversuche

Die Auflösung von pulverförmigem Calciumoxalat im Schüttelversuch geschieht unter optimalen Bedingungen, d.h. das sehr feinkörnige, oberflächenreiche Pulver wird von dem Auflösungsmittel gut umspült, das mit dem Calciumkomplex angereicherte Lösungsmittel von der Oberfläche des Körnchens sofort entfernt und durch frisches Reagens ersetzt.

Es lassen sich die Möglichkeiten einer Beeinflussung der Gleichgewichtslage (siehe III, 1) studieren: Aus den Meßergebnissen folgt — in Übereinstimmung mit den theoretischen Überlegungen —, daß eine maximale Auflösung von Calciumoxalat durch Erhöhung der ADTE-Konzentration oder des Puffers und des pH-Wertes erreicht werden kann.

Die Auflösung von 100 mg Calciumoxalat erfordert beispielsweise eine Lösungsmittelmenge von 5,7 ml, wenn

A. 7%  $\text{Na}_3\text{H ADTE}$  und 1,5% Trispuffer oder

B. 5%  $\text{Na}_3\text{H ADTE}$  und 3,0% Trispuffer eingesetzt werden.

Erst kinetische Messungen (Tropfversuche) zeigen, daß die Lösung A das Salz schneller auflöst als Lösung B und daher für eine Chemolyse geeigneter erscheint (vgl. I, 1 b).

Die Schüttelversuche erweisen, daß der  $\text{pH}$ -Wert des Lösungsmittels nach der Komplexbildung für das Auflösungsvermögen von entscheidender Bedeutung ist. Eine auf ein  $\text{pH}$  von 8,0 eingestellte Lösung muß also eine höhere Pufferkapazität besitzen als eine stärker alkalische, wenn während der Reaktion z. B. ein  $\text{pH}$  von 7,5 nicht unterschritten werden soll.

### 2. Tropfversuche *in vitro*

Mit Hilfe der Tropfmethode wurden Auflösungszeiten gemessen und „mittlere Auflösungsgeschwindigkeiten“ daraus errechnet.

Die Ergebnisse (Tab. 1) zeigen, daß die Auflösungsgeschwindigkeiten weitgehend proportional sind der Konzentration des Komplexbildners ADTE. Gegenüber der Chemolyse eines Konkrementes in ruhender Phase wird die Auflösungsgeschwindigkeit im Tropfversuch nahezu verdoppelt; eine weitere Steigerung der Tropfgeschwindigkeit beeinflußt die Auflösungsgeschwindigkeit nur geringfügig. Messungen der Temperaturabhängigkeit der Reaktionsgeschwindigkeit (20, 40 und 50°C) zeigten eine deutliche, aber nur geringe Beschleunigung des Lösungsprozesses bei höheren Temperaturen. Diese Tatsachen lassen darauf schließen, daß die Geschwindigkeit des Lösungsvorganges in erster Linie durch Diffusion bestimmt wird. Auch die in einer früheren Publikation (SÜCKER<sup>15</sup>) ausgesprochene Vermutung, daß die Auflösung der Harnsteine durch eine Exponentialfunktion angenähert beschrieben werden könne (Reaktion erster Ordnung), steht in Übereinstimmung mit den für Diffusionsvorgänge gültigen Gesetzen (ULICH<sup>18</sup>).

Eine Prüfung des unterschiedlichen Lösungsvermögens der einzelnen Lösungsmittel kann nur mit Tabletten durchgeführt werden, weil es hierbei auf reproduzierbare, definierte Oberflächen und eine vergleichbare mechanische Konsistenz des Präparates (Calciumoxalat, Calciumphosphat) ankommt. Die natürlichen Harnkonkremente unterscheiden sich sowohl hinsichtlich der chemischen Zusammensetzung als auch in bezug auf geometrische Form und mechanische Eigenschaften und sind daher für Vergleiche nur bedingt geeignet.

Die Tropfversuche bieten einerseits eine Möglichkeit, Auflösungsgeschwindigkeiten von Tabletten aus chemisch reinen Substanzen und von natürlichen Harnsteinen zu messen und die Wirksamkeit einzelner Lösungsmittel miteinander zu vergleichen; andererseits gestatten sie wegen des differenzierten Aufbaus der natürlichen Harnsteine nur grobe Abschätzungen über die Dauer von Lösungsvorgängen.

### 3. Vergleichende Betrachtung chemolytisch wirksamer Substanzen

Alle auf dem Komplexbildungsvermögen der ADTE basierenden Lösungsmittel haben den Vorzug, daß sie

1. Calciumoxalatsteine (Whewellit, Weddellit) auflösen können, was mit Hilfe der im sauren Milieu wirkenden Substanzen bisher nicht gelungen ist;

2. außerdem auf alle Phosphatkonkremente anwendbar sind: Calciumapatit, Whitlockit, Struvit Brushit, Newberyit und

3. durch Anwendung von Lithiumsalzen der ADTE auch Harnsäure und Urate auflösen und daher

4. für die Chemolyse von über 90% aller natürlichen Harnsteine mit Erfolg eingesetzt werden können.

Für die Chemolyse von Phosphatkonkrementen lassen sich auf Grund der bisher vorliegenden Erfahrungen auch in saurem Medium wirksame Lösungsmittel verwenden: Carbonsäuren und ihre Salze können die Bildung von leicht löslichen Phosphaten (sekundär und primär) und von im Sauren beständigen Kationenkomplexen begünstigen (siehe I, 2 $\alpha$  und  $\beta$ ) und dadurch Harnsteine auflösen. Vergleichende Untersuchungen an sauren „Chemolytica“, zu denen unter anderen auch Renacidin, Suby Solution G und die Staehlersche Lösung gehören (BROSIG, KLOSTERHALFEN u. KAUFMANN<sup>3</sup>), werden später publiziert werden.

### VI. Diskussion

Es wird berichtet über Arbeiten zur Auflösung von schwer löslichen, in natürlichen Harnsteinen vorkommenden chemischen Verbindungen (Testsubstanz Calciumoxalat) durch Komplexbildung mit wäßrigen Lösungen von Salzen der Äthylendiamintetraessigsäure (ADTE).

In „Schüttelversuchen“ werden die Möglichkeiten der Beeinflussung der Komplexbildungsreaktion ermittelt: Das Gleichgewicht kann zugunsten des wasserlöslichen Calciumkomplexes der ADTE verschoben werden durch Erhöhung der Konzentration an ADTE-Anionen und der Puffersubstanz bzw. des  $\text{pH}$ -Wertes.

Der „Wirkungsgrad“, d. h. das Verhältnis von theoretisch erforderlicher zu praktisch eingesetzter Menge an Komplexbildner kann bei gleichbleibender ADTE-Konzentration durch Pufferzusatz gesteigert werden.

Ein Vergleich zwischen wäßrigen Lösungen von Natrium- und Lithiumsalzen der ADTE zeigt, daß praktisch kein Kationeneffekt vorhanden ist, also ausschließlich das Anion der ADTE entsprechend der Reaktionsgleichung die Komplexbildung bewirkt.

Harnzusatz zu Lithiumsalzlösungen der ADTE läßt erkennen, daß das Auflösungsvermögen bei einem Mischungsverhältnis von Harn zu Lösungsmittel wie 1:2 gemindert wird, und zwar offensichtlich auf Grund der Erniedrigung des  $\text{pH}$ -Wertes durch den sauren Harn.

Gemischte Lösungen eines Lithiumsalzes ( $\text{pH}$  8,4) und des Dinatriumsalzes der ADTE ( $\text{pH}$  4,8) zeigen trotz einer Erhöhung der Gesamtkonzentration an ADTE eine deutlich sinkende Lösungswirkung, die mit dem Absinken des  $\text{pH}$ -Wertes symbar geht.

Auf Grund des Verlaufs der Titrationskurve der Äthylendiamintetraessigsäure mit Natriumhydroxid werden als klinisch anwendbare Lösungsmittel mit den Bezeichnungen P 40—P 60 wäßrige Lösungen des Trinatriumsalzes der ADTE hergestellt. Dadurch kann der Pufferzusatz niedrig gehalten werden (ca. 1%).

Die auf Grund dieser Vorversuche ermittelten günstigen Lösungsmittel, bei denen mit einer möglichst geringen Flüssigkeitsmenge und minimaler Puffer-

konzentration ein großer Auflösungseffekt beobachtet wird, werden mehreren physikalisch-chemischen, speziell kinetischen Prüfungen unterzogen. Die osmotischen Werte (Gefrierpunktserniedrigung) liegen allgemein über denen des Blutserums und unterhalb der Gefrierpunktserniedrigung des Harns. In einer graphischen Darstellung wird die Beständigkeit der Lösungsmittel gegenüber Säurezusatz gezeigt (Pufferkapazität).

Für vergleichende Messungen des Auflösungsvermögens bzw. einer mittleren Auflösungsgeschwindigkeit werden Tropfversuche mit Tabletten definierter chemischer Zusammensetzung, konstanter Oberfläche und konstanten Gewichtes durchgeführt. Es ist eine lineare Beziehung zwischen der Konzentration an ADTE und der mittleren Auflösungsgeschwindigkeit festzustellen. Solange das Lösungsmittel auch während der chemischen Reaktion alkalisch bleibt, spielt eine erhöhte Pufferkonzentration keine Rolle.

Eine Prüfung der einzelnen Lösungsmittel durch Behandlung natürlicher Harnsteine zeigt, daß eine signifikante Korrelation besteht zwischen Steingewicht und mittlerer Auflösungsgeschwindigkeit. Calciumoxalatsteine werden allgemein langsamer aufgelöst als Calciumphosphatsteine. Auf die Beeinflussung der Auflösungsgeschwindigkeit durch mineralogische Faktoren wird hingewiesen.

Für die Auflösung von Harnsäurekonkrementen lassen sich nur die beiden Lösungen P 20 und P 30 verwenden, die ein Lithiumsalz der ADTE enthalten und auf Grund der hohen Lithiumionen-Konzentration das Gleichgewicht zugunsten eines leicht löslichen Lithiumsalzes der Harnsäure verschieben.

Bei Cystinsteinen zeigen sämtliche Lösungsmittel erwartungsgemäß keinen nennenswerten Effekt; die kinetischen Untersuchungen lassen darauf schließen, daß die Auflösung von Cystin stark begünstigt wird durch eine Verschiebung des  $pH$ -Bereiches zum Alkalischen hin.

Gegenüber den nur auf Phosphatkonkremente anwendbaren sauren Substanzen besitzen die alkalischen

gepufferten wäßrigen Salzlösungen der ADTE den Vorzug, ca. 80–85% aller natürlichen Harnsteine nämlich die Calcium- und Magnesiumsalze der Oxalsäure, der Phosphorsäure und der Kohlensäure aufzulösen. Diese Konkreme sind auf Grund ihrer intensiven Röntgenschattdichte auch klinisch verhältnismäßig leicht zu diagnostizieren.

#### Zusammenfassung

Es wird berichtet über Arbeiten zur Auflösung von schwer löslichen, in Harnsteinen vorkommenden chemischen Verbindungen durch Komplexbildung mit wäßrigen Lösungen von Salzen der Äthylendiamintetraessigsäure. Die biochemischen und physikalischen Grundlagen werden ausführlich behandelt.

**Literatur.** <sup>1</sup> ABESHUSE, B. S., u. T. WEINBERG: J. Urol. (Baltimore) **65**, 316 (1951). — <sup>2</sup> BOSHAMER, K.: Morphologie und Genese der Harnsteine. Handbuch der Urologie, Bd. X. Berlin, Göttingen, Heidelberg: Springer 1961. — <sup>3</sup> BROSIG, W., H. KLOSTERHALFEN u. F. KAUFMANN: Z. Urol. **5**, 245 (1961). — <sup>4</sup> BROZINSKI, M., R. v. SENGBUSCH u. A. TIMMERMANN: Urol. int. (Basel) **10**, 307 (1960). — <sup>5</sup> KALLISTRATOS, G.: Urologe **2**, 236 (1963). — <sup>6</sup> KOHLRAUSCH, F.: Praktische Physik. Stuttgart: Teubener 1960. — <sup>7</sup> LANDECKER, H. M.: Urologe **1**, 205 (1962). — <sup>8</sup> MARTELL, A. E., u. u. CALVIN: Die Chemie der Metallchelate-Verbindungen. Weinheim/Bergstr.: Verlag Chemie 1958. — <sup>9</sup> NIEDIECK, B., R. v. SENGBUSCH u. A. TIMMERMANN: Urol. int. (Basel) **10**, 291 (1960). — <sup>10</sup> NODDACK, I.: Persönliche Mitteilung. — <sup>11</sup> RAUEN, H. M.: Biochemisches Taschenbuch. Berlin 1956. — <sup>12</sup> RUTISHAUSER, G., H. HEUSSER, O. GRÜTTER u. H. SCHWANDER: Schweiz. med. Wschr. **91**, 1362 (1961). — <sup>13</sup> SCHWARZENBACH, G.: Die komplexometrische Titration. Enke Stuttgart: 1960. — <sup>14</sup> SENGBUSCH, R. v., I. SÜCKER u. A. TIMMERMANN: Münch. med. Wschr. **104**, 797 (1962). — <sup>15</sup> SÜCKER, I.: Urologe **1**, 205 (1962). — <sup>16</sup> SÜCKER, I.: Ärztl. Labor 1963 (im Druck). — <sup>17</sup> TIMMERMANN, A.: Urologe **2**, 243 (1963). — <sup>18</sup> ULICH, H., u. W. JOST: Kurzes Lehrbuch der physikalischen Chemie. Darmstadt 1960.

*Anschrift:* Dr. I. SÜCKER,

Max Planck-Institut für Kulturpflanzenzüchtung  
Abteilung Experimentelle Urologie  
2 Hamburg-Volksdorf, Waldredder 4