

INTERACCIÓ DE LA GUANETIDINA AMB LA SINAPSI ADRENÈRGICA

ALBERT BADIA I SANCHO

La guanetidina, des dels primers treballs de PAGE I DUSTAN (1958), ha estat emprada àmpliament en el tractament de la hipertensió. Tot i que és més coneguda com a blocant pre-sinàptic de la transmissió adrenèrgica, la seva marcada depleció dels dipòsits de noradrenalina ha estat objecte d'estudi en nombrosos treballs.

Mentre MAXWELL i collab. (1959, 1960 a i b) n'estudiaven l'espectre d'actuació farmacològica, SHEPPARD i ZIMMERMAN (1959) demostren que la guanetidina feia disminuir el contingut en catecolamines del cor i de la melsa de rates tractades amb aquesta droga; tanmateix no observaren cap modificació del contingut aminèrgic al cervell i a la medulla de les càpsules suprarenals. Diversos autors confirmaren posteriorment aquests resultats, en diferents òrgans i espècies animals (CASS i SPRINGS, 1961; BUTTERFIELD i RICHARDSON, 1961; SANAN i VOGT, 1962).

Bé que al cervell hom ha pogut determinar que, a causa de la seva natura bàsica, la guanetidina no aconsegueix d'arribar al teixit i per tant no hi actua, això no s'esdevé així a la medulla de les càpsules suprarenals, puix que ha pogut ésser detectada la seva presència en aquest òrgan malgrat la seva no actuació (KUNTZMAN i collab., 1962).

D'altra part, és interessant de conèixer de quina manera la guanetidina depleciona el teixit. És cosa sabuda que, en l'animal sencer, l'administració de guanetidina produeix un marcat efecte pressor, com si fos un simpaticomimètic indirecte, puix que l'esmentat efecte desapareix en l'animal reserpinitzat (GILLIS i NASH, 1961); aquest efecte pressor va seguit d'una forta depleció en catecolamines del teixit, juntament amb una marcada resposta hipotensora. Hom ha aconseguit d'evidenciar que la primera fase coincideix amb un alliberament de la noradrenalina (NASH i collab., 1964), i que la segona es produeix quan són alliberats els metabòlits desaminats de l'amina de què es tracta (KOPIN i GORDON, 1963). A més, hom ha vist que la guanetidina té els mateixos requere-

riments cinètics per a ésser recaptada per la terminació nerviosa que la noradrenalina (MITCHELL i OATES, 1970), i que la seva distribució subcellular, a nivell de grànuls, és semblant a la que té el neurotransmissor adrenèrgic (MAÎTRE i STAEHLIN, 1970), bé que el reemplaçament no tingui lloc d'una manera estequiomètrica. També ha estat demostrat que l'estimulació nerviosa és capaç d'alliberar la guanetidina emmagatzemada (BOUILLIN, 1966); i tot això ens mena a pensar que la guanetidina pot actuar com si fos un «fals transmissor adrenèrgic»; tanmateix, manca d'efecte directe a nivell del receptor per a poder-la considerar així. Finalment, hom ha vist que tractaments molt prolongats amb guanetidina són capaços de produir una marcada degeneració a les terminacions nervioses adrenèrgiques perifèriques, tot menant a una autèntica simpatectomia química de la mateixa manera que ho fa la 6-OH-dopamina (BURNSTOCK i collab., 1971; ERÄNKO i ERÄNKO, 1971).

Un altre aspecte interessant de l'actuació de la guanetidina damunt la transmissió adrenèrgica, i que cal considerar, és la seva doble actuació a nivell de l'alliberament de la noradrenalina. D'una banda és capaç de promocionar-la com si fos un adrenèrgic indirecte, tant «in vivo» com «in vitro» (KADZIELAWA, 1962; BHAGAT i SHIDEMAN, 1962), i, d'una altra, impedeix que l'estimulació nerviosa sigui capaç d'alliberar el neurotransmissor adrenèrgic (HERTING i collab., 1962); aquest blocatge de la transmissió simpàtica per la guanetidina s'ha vist que no corre d'una manera paral·lela a la depleció de la noradrenalina de l'òrgan de què es tracta (CASS i SPRINGS, 1961). El mecanisme pel qual se suposa que la guanetidina bloca l'alliberament del neurotransmissor sembla que és la marcada estabilització de la membrana neuronal sense causar la seva despolarització (HAUESLER i collab., 1969).

Hem de dir finalment que hom ha vist que la guanetidina és capaç d'inhibir la recaptació neuronal de la noradrenalina (HERTING i collab., 1962; IVERSEN, 1965), la qual cosa podria explicar, en part, que aquest fàrmac sigui capaç de potenciar la resposta dels adrenèrgics directes.

El nostre treball s'ha centrat a estudiar diferents aspectes de l'actuació farmacològica de la guanetidina sobre la sinapsi adrenèrgica del conducte deferent de rata.

MATERIAL I MÈTODE. — Hem utilitzat rates mascles de 300 g. aproximadament. Un cop sacrificats els animals, en foren extrets els dos conductes deferents, i aquests foren suspesos en solució Krebs-Hukovic (HUKOVIC, 1961) en un bany d'òrgans a la temperatura de 30° C, i al cap de 45 minuts hom procedí a estimular el preparat segons la pauta de cada apartat. Per a l'avaluació dels resultats foren traçades

corbes dosi-resposta enfrontant els log. de les dosis amb el % de les respostes respecte a l'efecte màxim, i l'afinitat (pD_2) i l'activitat intrínseca (E_{mx}) foren calculades a cada preparat (VAN ROSSUM, 1963). La determinació analítica del contingut en noradrenalina fou verificada utilitzant el mètode fluorimètric de CHANG (1964), modificat per LAVERTY i TAYLOR (1968).

RESULTATS. — a) *Reactivitat del conducte deferent de rata a les amines adrenèrgiques en animals pretractats amb guanetidina.*

Tal com ja hem dit, la guanetidina és capaç de deplecionar la NA en diferents òrgans perifèrics; d'altra banda, és prou conegut el fet que la tiramina exerceix el seu efecte simpaticomimètic alliberant la NA endògena (BURN i RAND, 1958), pel qual motiu la resposta d'aquella serà condicionada pel contingut en noradrenalina de l'òrgan objecte d'estudi. A més, des dels primers treballs de MAXWELL i collab. (1960, b) sabem que la guanetidina potencia la resposta dels diversos adrenèrgics directes. Per això ens vam proposar d'estudiar en primer lloc i d'una manera sistemàtica la reactivitat del conducte deferent aïllat de rata a la tiramina, la noradrenalina i l'adrenalina en animals pretractats amb guanetidina, amb la finalitat de relacionar després aquests resultats amb els obtinguts en l'estudi de l'acció depletiva d'aquest fàrmac en aquell òrgan.

Foren utilitzats lots de 6 rates cadascun, les quals foren injectades amb 10 ó 30 mg/kg⁻¹ de guanetidina per via intraperitoneal i foren sacrificades 2, 4, 8, 12 ó 24 hores després del tractament; un altre lot fou injectat només amb sèrum fisiològic i fou emprat com a control. Un cop sacrificats els animals i muntats en el bany els dos conductes deferents, foren cercades dues sèries de respostes en el mateix preparat: una per a la tiramina i una altra per a la noradrenalina o l'adrenalina.

A la fig. 1 apareixen les corbes dosi-resposta obtingudes per a la tiramina amb el tractament de 10 mg/kg⁻¹; hi podem observar la disminució de la sensibilitat del preparat a mesura que augmenta el temps de pretractament, la qual cosa es manifesta amb un aplanament de la corba dosi-resposta. Això mateix pogué ésser observat amb el tractament de 30 mg/kg⁻¹ (fig. 2), però d'una manera més accentuada. Hom pot apreciar també que la resposta a la tiramina no fou inhibida totalment en cap dels dos tractaments.

Quan confrontem els log. dels efectes màxims obtinguts per la tiramina amb els diferents temps de pretractament, observem que hi ha una clara correlació inversa per a cadascun dels tractaments, i obtenim un $t_{1/2}$ de desaparició de l'efecte màxim de 7,05 h. per al tractament de 10 mg/kg⁻¹, temps que disminueix a 2,1 h. amb el tractament de 30 mg/kg⁻¹ (fig. 3).

Respecte a la noradrenalina i l'adrenalina, podem observar (taula I) que amb el tractament de 10 mg/kg⁻¹ de guanetidina gairebé no es modificaren les afinitats (pD₂) dels dos adrenèrgics directes; només a les 8 h. i a les 12 h. augmentà la sensibilitat del preparat a la NA, 3,5 vegades. Per contra, amb el tractament de 30 mg/kg⁻¹ (taula II), en tots els temps, s'incrementà d'una manera notable la sensibilitat a la noradrenalina i a l'adrenalina, sense que hi hagués cap mena de correlació entre increment de sensibilitat i temps de pretractament.

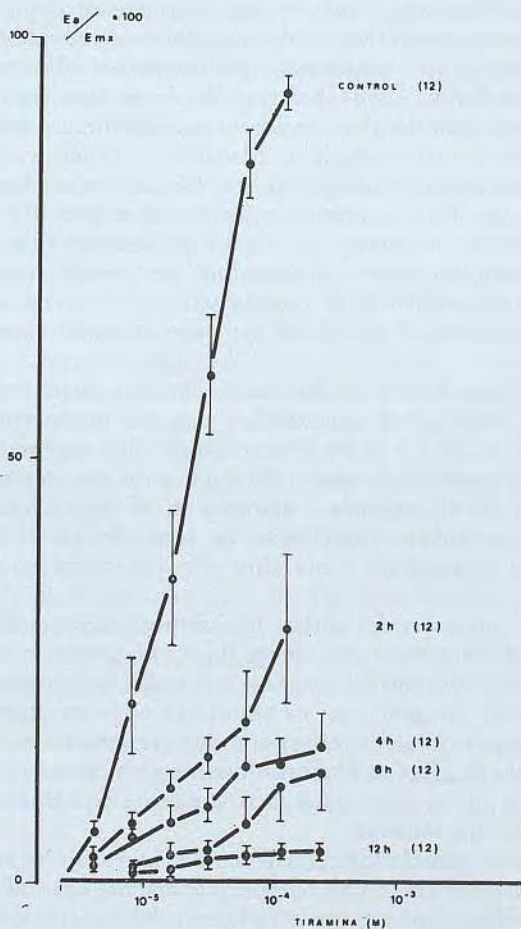


FIG. 1.—Corbes dosi-resposta de tiramina obtingudes en conducte deferent aïllat de rates tractades amb 10 mg./kg.⁻¹ de guanetidina (i.p.) 2, 4, 8, 12 ó 24 hores abans. Nombre d'experiments entre parèntesis.

b) *Acció de la guanetidina sobre el contingut en NA en el conducte deferent de rata.*

Quan estudiarem l'activitat de la guanetidina sobre el contingut en NA del conducte deferent de rata, emprarem els mateixos tractaments i temps esmentats a l'apartat anterior.

A la figura 4 podem observar que, amb tots dos tractaments, el contingut en NA anà davallant a mesura que augmentà el temps de pretractament.

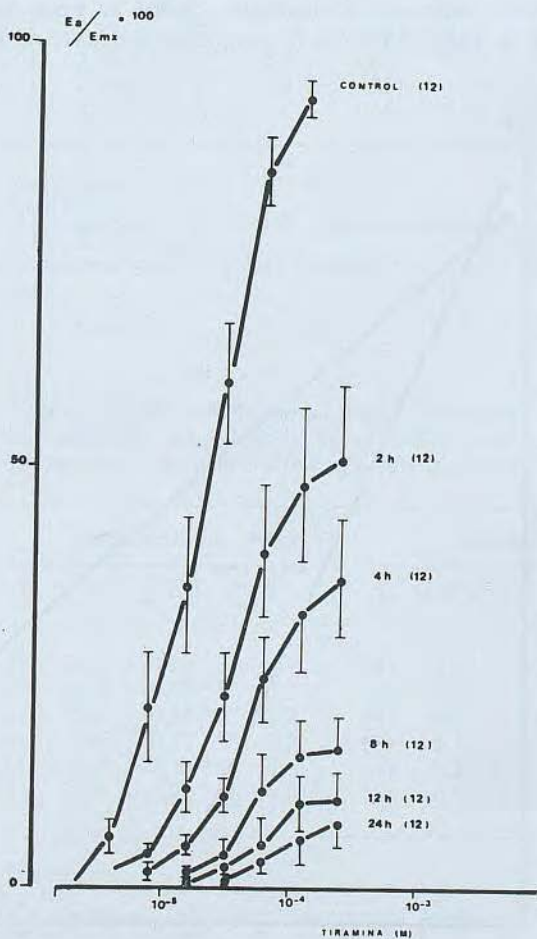


FIG. 2. — Corbes dosi-resposta de tiramina obtingudes en conducte deferent aïllat de rates tractades amb 30 mg./kg.-1 de guanetidina (i.p.) 2, 4, 8 ó 12 hores abans. Nombre d'experiments entre parèntesis.

En cap dels dos casos no s'arribà a una depleció total. Quan foren confrontats els temps de pretractament amb els log. dels % de contingut respecte al control (fig. 5), foren obtingudes dues correlacions inverses amb un t 1/2 de depleció per a 10 mg/kg⁻¹ de 15 h., i de 9,8 h. per al tractament de 30 mg/kg⁻¹.

c) *Activitat de la guanetidina «in vitro» sobre el conducte deferent aïlat de rata.*

Ja hem comentat que la guanetidina és capaç de promocionar l'alliberament del neurotransmissor adrenèrgic tot comportant-se com un simpaticomimètic indirecte. D'altra part, també ha estat demostrat que la guanetidina és capaç d'inhibir la recaptació neuronal de la noradrena-

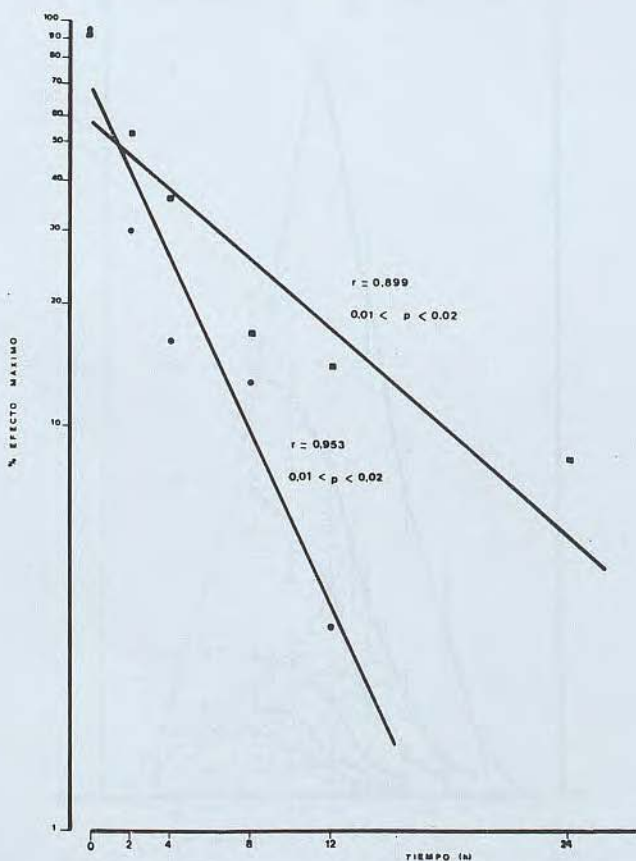


FIG. 3.— Correlació entre l'efecte màxim de la tiramina i el temps de tractament amb guanetidina. Quadrats (10 mg./kg.-1); cercles (30 mg./kg.-1).

TAULA I.— *Activitat de la noradrenalina i de l'adrenalina a nivell del conducte deferent aïllat de rata després de la injecció intraperitoneal de la dosi de 10 mg./kg⁻¹ de guanetidina a diversos temps.*

Temps (hores)	Noradrenalina			Adrenalina		
	n	pD ₂ ± E.S.	Δ	n	pD ₂ ± E.S.	Δ
Control	(6)	5,41 ± 0,10	—	(6)	5,83 ± 0,13	—
2	(6)	5,73 ± 0,23	—	(6)	6,11 ± 0,12	—
4	(6)	5,75 ± 0,12	—	(6)	6,00 ± 0,18	—
8	(6)	5,96 ± 0,19 *	3,5	(6)	5,99 ± 0,16	—
12	(6)	5,96 ± 0,13 *	3,5	(6)	6,09 ± 0,10	—
24	(6)	5,60 ± 0,15	—	(6)	5,99 ± 0,23	—

n = Nombre d'experiments.

pD₂ = -log CE₅₀ (M).

Δ = antilog. (pD₂ tractament - pD₂ control) = increment sensibilitat.

E. S. = Error estàndard de la mitjana.

Diferències respecte al control (Test «t» de Student):

* 0,01 < p < 0,05.

TAULA II.— *Activitat de la noradrenalina i de l'adrenalina a nivell del conducte deferent aïllat de rata després de la injecció intraperitoneal de 30 mg./kg⁻¹ de guanetidina a diversos temps.*

Temps (hores)	Noradrenalina			Adrenalina		
	n	pD ₂ ± E.S.	Δ	n	pD ₂ ± E.S.	Δ
Control	(6)	5,31 ± 0,10	—	(6)	5,83 ± 0,13	—
2	(6)	6,15 ± 0,09 ***	5,5	(6)	6,65 ± 0,14 ***	6,6
4	(6)	6,46 ± 0,11 ***	11,2	(6)	6,67 ± 0,06 ***	6,9
8	(6)	5,96 ± 0,17 **	3,2	(6)	6,51 ± 0,07 ***	4,8
12	(6)	6,07 ± 0,16 ***	4,6	(6)	6,29 ± 0,14 **	2,9
24	(6)	6,09 ± 0,20 ***	4,8	(6)	6,40 ± 0,12 ***	3,7

n = Nombre d'experiments.

pD₂ = -log CE₅₀ (M).

Δ = antilog. (pD₂ tractament - pD₂ control) = increment sensibilitat.

E. S. = Error estàndard de la mitjana.

Diferències respecte al control (Test «t» de Student):

** 0,001 < p < 0,01.

*** p < 0,001.

lina. Per tot això, ens proposarem d'estudiar en el conducte deferent de rata, d'una part, l'activitat «per se» de la guanetidina i, d'una altra, la influència sobre les respostes de la tiramina, la noradrenalina i l'adrenalina, puix que ja sabem que els diferents inhibidors de la recaptació potencien les respostes als adrenèrgics directes i inhibeixen la dels adrenèrgics indirectes.

A la taula III podem veure l'activitat «per se» de la guanetidina sobre el conducte deferent de rata; s'hi observa que amb cap de les concentracions emprades no manifestà gairebé cap resposta, diferentment d'allò que s'esdevé en altres òrgans.

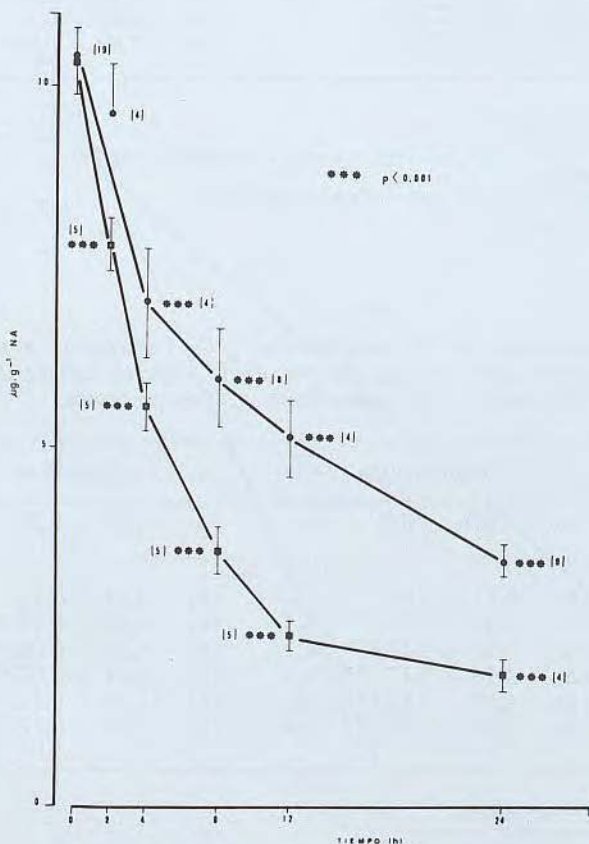


FIG. 4.—Caiguda de concentracions de NA respecte a temps en el conducte deferent de rates tractades amb 10 mg./kg.⁻¹ (cercles) ó 30 mg./kg.⁻¹ (quadrats) de guanetidina, 2, 4, 8, 12 ó 24 hores abans del sacrifici.

Quan fou estudiada l'activitat de la guanetidina sobre la resposta a la tiramina en el conducte deferent de rata (fig. 6), hom pogué veure que amb les dues concentracions utilitzades (10^{-6} i 10^{-5} M), incubades 5 minuts abans, hi ha una clara disminució de l'activitat del preparat.

Per contra, la noradrenalina i l'adrenalina augmentaren llur sensibilitat (taula IV) 4,5 i 2,6 vegades amb la concentració de 10^{-6} M de guanetidina, i 34,7 i 12,3 amb la de 10^{-5} M, respectivament. Bé que no apareix plasmat a la taula, no fou observat cap increment en l'efecte màxim.

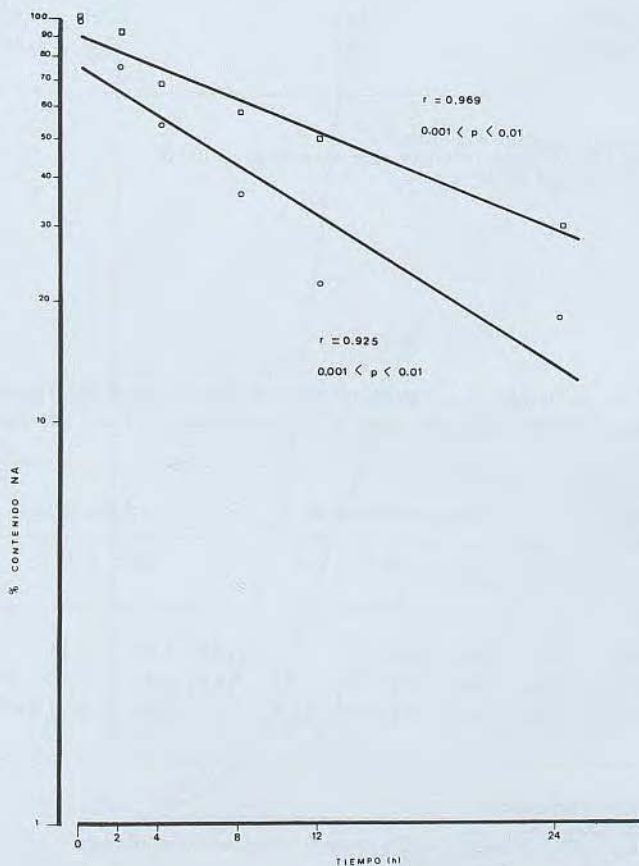


FIG. 5. — Correlació entre contingut en NA en conducte deferent de rata i temps de tractament amb guanetidina. Quadrats (10 mg./kg.⁻¹); cercles (30 mg./kg.⁻¹).

TAULA III. — *Activitat de la guanetidina «in vitro» sobre el conducte deferent aïllat de rata.*

Concentració Guanetidina (molar)	n	E _{mx}	E.S
10 ⁻⁵	(6)	2 ± 0,54	
3,3·10 ⁻⁵	(6)	1,7 ± 0,53	
10 ⁻⁴	(6)	1,8 ± 0,39	
3,3·10 ⁻⁴	(6)	2,4 ± 0,42	
10 ⁻³	(6)	1,6 ± 0,60	

n = Nombre de respostes avaluades.

E_{mx} = % de l'efecte màxim obtingut amb noradrenalina 10⁻⁴ M.

E. S. = Error estàndard de la mitjana.

TAULA IV. — *Activitat de la guanetidina «in vitro» sobre les respostes del conducte deferent aïllat de rata a la noradrenalina i a l'adrenalina.*

Concentració Guanetidina (molar)	Noradrenalina			Adrenalina		
	n	pD ₂ ± E.S.	Δ	n	pD ₂ ± E.S.	Δ
Control	(10)	5,36 ± 0,07	—	(8)	5,90 ± 0,11	—
10 ⁻⁶	(9)	5,99 ± 0,13 ***	4,3	(6)	6,35 ± 0,09 *	2,6
10 ⁻⁵	(6)	6,90 ± 0,18 ***	34,7	(6)	6,99 ± 0,11 ***	12,3

n = Nombre d'experiments.

pD₂ = -log CE₅₀ (M).

Δ = antilog. (pD₂ tractament - pD₂ control) = increment sensibilitat.

E. S. = Error estàndard de la mitjana.

Diferències respecte al control (Test «t» de Student):

* 0,01 < p < 0,05.

*** p < 0,001.

d) *Estudi de la supersensibilitat induïda per la guanetidina.*

És conegut el fet que, en el condeute deferent de rata, els diversos inhibidors de la recaptació, a més de desplaçar les corbes dosi-resposta de la NA cap a l'esquerra (augmentant així la sensibilitat del preparat), incrementen l'efecte màxim (BARNETT i collab., 1968); el primer efecte és atribuït a una acció a nivell pre-sinàptic, mentre que el segon ha estat relacionat amb la presència d'algun mecanisme postsinàptic supersensibilitzador. D'altra part, hem comentat ja a l'apartat anterior

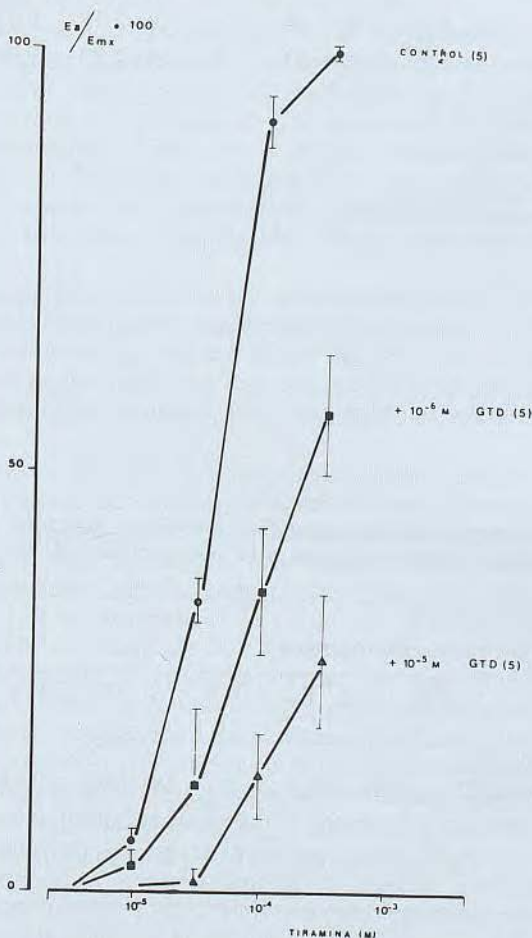


FIG. 6.— Corbes dosi-resposta de tiramina obtingudes en condeute deferent aïllat de rata prèvia incubació amb guanetidina. Cercles (control); quadrats (10⁻⁶ M) i triangles (10⁻⁵ M).

TAULA V. — *Activitat de la metoxamina i el Ba⁺⁺ sobre el conducte deferent de rates tractades amb guanetidina (30 mg./kg.⁻¹) per via i.p. 4 hores abans del sacrifici.*

Tractament	Metoxamina		Ba ⁺⁺	
	n	pD ₂ ± E.S. E _{mx} ± E.S.	n	pD ₂ ± E.S. E _{mx} ± E.S.
Guanetidina				
Control	(6)	5,13 ± 0,07 94 ± 11	(4)	2,18 ± 0,07 164 ± 6
30 mg./kg. ⁻¹	(6)	5,30 ± 0,04 83 ± 5	(4)	2,20 ± 0,06 164 ± 6

n = Nombre d'experiments.
 pD₂ = -log CE₅₀ (M).
 E_{mx} = resposta maximal en mm.
 E. S. = Error estàndard de la mitjana.

TAULA VI. — *Activitat de la guanetidina «in vitro» sobre les respostes del conducte deferent de rata a la metoxamina i al Ba⁺⁺.*

Concentració Guanetidina (molar)	Metoxamina		Ba ⁺⁺	
	n	pD ₂ ± E.S. E _{mx} ± E.S.	n	pD ₂ ± E.S. E _{mx} ± E.S.
Control	(10)	5,27 ± 0,06 99,5 ± 7	(8)	1,98 ± 0,01 150 ± 2,5
10 ⁻⁶	(4)	5,41 ± 0,13 100 ± 15	(4)	2,01 ± 0,01 143 ± 6,5
10 ⁻⁵	(6)	5,16 ± 0,15 102 ± 11	(4)	2,00 ± 0,005 124 ± 5

n = Nombre d'experiments.
 pD₂ = -log CE₅₀ (M).
 E_{mx} = resposta maximal en mm.
 E. S. = Error estàndard de la mitjana.

que la guanetidina no incrementava l'efecte màxim de les corbes dosi-resposta obtingudes per a la NA, malgrat que les desplaçava cap a l'esquerra de la corba control; observacions aquestes que no concorden amb les conclusions elaborades per altres autors (GOKHALE i collb., 1967), pel qual motiu decidírem d'aclarir aquest fenomen en el conducte deferent aïllat de rata, procurant de veure si la guanetidina era capaç de potenciar la resposta de la metoxamina, agonista α -adrenèrgica la recaptació de la qual és pràcticament nul·la (TRENDELENBURG i collab., 1970), i la del ió Ba^{++} , l'acció del qual és purament de contraure el múscull llis per despolarització de la membrana.

Aquest aspecte fou estudiat tant en el conducte deferent de rates tractades amb guanetidina, com quan fou incubada ella mateixa.

En el primer cas empràrem el tractament de 30 mg/kg^{-1} al cap de 4 hores, perquè era el temps en què es produïa la màxima potenciació a la noradrenalina. A la taula V podem observar clarament que ni l'afinitat (pD_2) ni l'activitat intrínseca (E_{mx}) no apareixen modificades en les rates tractades amb guanetidina; també ens indica l'absència de mecanismes postsinàptics responsables de la potenciació dels adrenèrgics directes.

En el segon cas empràrem les concentracions de 10^{-6} i $10^{-5}M$ de guanetidina deixades incubar durant cinc minuts abans de l'estimulació; un conducte deferent fou utilitzat com a control, i l'altre com a tractat. A la taula VI podem observar que tampoc no hi hagué modificacions en els dos paràmetres estudiats, per a cap dels dos agonistes.

DISCUSSIÓ. — De tot això que hem exposat podem deduir que, tot i que la resposta del conducte deferent de rata a la tiramina apareix marcadament inhibida en les rates tractades amb guanetidina, aquesta inhibició no pot ésser atribuïda d'una manera total a la marcada depleció de NA produïda per la guanetidina, puix que, com podem observar, els t 1/2 de desaparició de l' E_{mx} a la tiramina i els t 1/2 de disminució en el contingut de NA apareixen clarament diferenciats per a ambdós tractaments. Hom podria pensar que això és degut a la presència de guanetidina en el teixit i que, igual com s'esdevé «in vitro», aquesta inhibeixi la resposta a la tiramina; però això no explicaria el fet que la resposta a la NA amb prou feines sigui modificada en el tractament amb 10 mg/kg^{-1} . Hom podria pensar, també, que la guanetidina actua amb una major preferència en el «pool» de NA sensible a la tiramina; tanmateix, aquest fet resta encara sense demostrar.

La guanetidina en el tractament de 30 mg/kg^{-1} potencïa clarament les respostes de la NA i de l'ADR per un mecanisme que pot ésser atribuït a una inhibició de la recaptació neuronal de la NA, puix que les respostes a la metoxamina i al Ba^{++} , que actuen a nivell postsinàptic, no són potenciades.

Ens ha cridat l'atenció l'escassa resposta del conducte deferent aïllat de rata a la guanetidina, mentre que en d'altres òrgans s'ha demostrat que presenta una marcada acció de simpaticomimètic indirecte. D'altra part, a diferència de la cocaïna, a més de potenciar les respostes dels dos adrenèrgics directes, noradrenalina i adrenalina, inhibeix la resposta a la tiramina. Aquest efecte supersensibilitzador fou de natura postsinàptica segons ens demostra el fet que la guanetidina no fou capaç de potenciar les respostes de la metoxamina i del Ba⁺⁺.

BIBLIOGRAFIA

- BARNETT, A., GREENHOUSE, D. D., TABER, R. I.: *Brit. J. Pharmacol.*, 33, 171-176 (1968).
 BHAGAT, B., SHIDEMAN, F. E.: *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 140, 317-323 (1963).
 BOULLIN, D. J.: *J. Pharm. Pharmacol.*, 18, 709-712 (1966).
 BURN, J. H., RAND, M. J.: *J. Physiol. (Lond.)*, 144, 314-336 (1958).
 BURNSTOCK, G., EVANS, B., GANNON, B. J., HEATH, J., JAMES, V.: *Brit. J. Pharmacol.*, 43, 295-301 (1971).
 BUTTERFIELD, J. L., RICHARDSON, J. A.: *Proc. Soc. Exp. Biol. N. Y.*, 106, 259-262 (1961).
 CASS, R., SPRINGS, T. L. B.: *Brit. J. Pharmacol.*, 17, 442-450 (1961).
 CHANG, C. C.: *Int. J. Neuropharmacol.*, 3, 643-649 (1964).
 ERÄNKO, O., ERÄNKO, L.: *Prog. Brain Res.*, 34, 39-51 (1971).
 EVANS, B., IWAYAMA, T., BURNSTOCK, G.: *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 185, 60-69 (1973).
 GILLIS, C. N., NASH, C. W.: *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 134, 1 (1961).
 GOKHALES, S. D., GULATI, O. D., KELKAR, V. V.: *Brit. J. Pharmacol.*, 30, 445-462 (1967).
 HÄNESLER, G., HÄPELY, N., HÜRLIMANN, A.: *Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmak.*, 265, 260-277 (1969).
 HERTTING, G., AXELROD, J., PATRICK, R. W.: *Brit. J. Pharmacol.*, 18, 161-166 (1962).
 HUKOVIC, S.: *Brit. J. Pharmacol.*, 16, 188-194 (1961).
 IVERSEN, L. L.: *Adv. Drug. Res.*, 2, 1-46 (1965).
 KADZIELAWA, K.: *Brit. J. Pharmacol.*, 19, 74-84 (1962).
 KOPIN, I. J., GORDON, E. K.: *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 140, 207-216 (1963).
 KUNTZMAN, R., COSTA, E., GESSA, G. L., BRODIE, B. B.: *Life Sci.*, 3, 65-74 (1962).
 LAVERTY, R., TAYLOR, K. M.: *Analyt. Biochem.*, 22, 269-279 (1968).
 MAÏTRE, L., STAEHELIN, M.: *Biochem. Pharmacol.*, 20, 1.233-1.242 (1971).
 MAXWELL, R. A., MULL, R. P., PLUMMER, A. J.: *Experientia*, 15, 267 (1959).
 MAXWELL, R. A., PLUMMER, A. J., SCHNEIDER, F.: *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 128, 22-29 (1960) a.
 MAXWELL, R. A., PLUMMER, A. J., POVALSKI, H., SCHNEIDER, F.: *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 129, 24-30 (1960) b.
 MITCHELL, J. R., OATES, J. A.: *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 172, 100-107 (1970).
 NASH, C. N., COSTA, E., BRODIE, B. B.: *Life Sci.*, 3, 441-449 (1964).
 PAGE, I. H., DUSTAN, H. P.: *J. Amer. Med. Assoc.*, 170, 1.265-1.271 (1959).
 VAN ROSSUM, J. M.: *Arch. Int. Pharmacodyn.*, 143, 299-330 (1963).
 SANAN, S., VOGT, M.: *Brit. J. Pharmacol.*, 18, 109-127 (1962).
 SHEPPARD, H., ZIMMERMAN, J.: *Pharmacologist.*, 1, 69 (1959).
 TRENDLENBURG, H., MAXWELL, R. A., PLUCHINO, S.: *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 172, 91-99 (1970).