

## FIXATION DE LA *dl* PARAHYDROXYEPHEDRINE <sup>3</sup>H PAR LE COEUR ISOLÉ PERFUSÉ DE RAT

C. JACQUOT, J. BRALET,\* Y. COHEN et G. VALETTE

I.N.S.E.R.M. et Faculté de Pharmacie de Paris, France

(Received 4 March 1971; accepted July 1971)

**Abstract**—The uptake of *p*-hydroxyephedrine at concentration in the range of 0.001–10  $\mu\text{g}/\text{ml}$  by the isolated rat heart was investigated. *p*-Hydroxyephedrine uptake decreases considerably when the concentration of amine increases in the perfused medium. The *p*-hydroxyephedrine release by heart may be explained by the presence of two compartments, the half times of which are respectively 0.7 min and 7.5 min. The *p*-hydroxyephedrine uptake is prevented by norepinephrine, desipramine, normetanephrine (concentration for uptake no. 1 and 2, Iversen) cocaine, dinitrophenol, sympathomimetic amines, reserpine or 6-hydroxydopamine. This result suggests two different processes for *p*-hydroxyephedrine uptake such as for norepinephrine uptake. When high concentrations of *p*-hydroxyephedrine were perfused in the rat's heart, the uptake was not prevented at concentrations used of metaraminol or by 6-hydroxydopamine. In the case of high concentrations, the mechanism of amine's accumulation is not different from that of ephedrine, which consists in a diffusion-concentration process.

LES RÉSULTATS de nos précédents travaux sur la fixation de l'éphédrine par le coeur isolé perfusé nous ont permis de montrer que cette amine est captée par les tissus suivant un mécanisme différent de celui qui a été décrit par Iversen<sup>1</sup> pour la noradrénaline. Le taux d'éphédrine accumulé dans le myocarde est directement proportionnel à la concentration de l'amine dans le liquide de perfusion et il n'est pas modifié par les substances qui inhibent la captation de la noradrénaline exogène.<sup>2</sup>

Des expériences réalisées *in vivo* nous ont montré que l'éphédrine se transforme dans les tissus du rat<sup>3–5</sup> en parahydroxyéphédrine. Cette amine phénolique est excrétée dans les urines plus lentement que son précurseur. Cette différence dans les périodes biologiques peut être le fait d'un mécanisme de fixation particulier à l'amine monophénolique. Dans cette hypothèse, nous avons étudié sur le coeur isolé perfusé la fixation de la parahydroxyéphédrine seule et en présence de substances capables de diminuer sa captation par cet organe.

### MÉTHODES

#### *Perfusion des coeurs*

La technique de perfusion des coeurs a été décrite en détail dans nos précédents articles.<sup>2,6</sup> Dans le présent travail, la perfusion des myocards a été réalisée à débit constant (6 ml/min) au moyen du liquide physiologique de MacIlvain.<sup>7</sup> La température est maintenue constante (38°).

#### *Fixation de la parahydroxyéphédrine <sup>3</sup>H*

La parahydroxyéphédrine utilisée est de la *dl* parahydroxyéphédrine<sup>3–5</sup> <sup>3</sup>H (40 c/mM, C. E. N. Saclay). Le produit radioactif a été dilué, à dose traceuse, dans

\* Present address: Faculté de Médecine et de Pharmacie, Lab. de Physiologie pharmaceutique, Dijon. 21.

l'amine non radioactive (HOECHST). Les concentrations employées sont de 1100 et 10000 ng/ml. La durée de la perfusion est limitée à 20 min.

#### *Elimination de la parahydroxyéphédrine $^3H$*

Les coeurs préalablement perfusés pendant 20 min avec le liquide physiologique contenant la parahydroxyéphédrine à la concentration de 0,1  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , sont "lavés" pendant un temps équivalent avec une solution dépourvue d'amine. Le liquide de perfusion est fractionné au cours du temps et sa radioactivité est déterminée ainsi que celle contenue dans le cœur à la fin de l'expérience.

#### *Influence de différentes substances sur la captation de la parahydroxyéphédrine $^3H$ par le cœur isolé*

Dans ces expériences, les coeurs perfusés par le liquide physiologique sont divisés en deux groupes. Les coeurs du premier groupe sont perfusés par la solution de MacIlwain contenant la parahydroxyéphédrine  $^3H$  à la concentration de 0,1  $\mu\text{g}/\text{ml}$ . Dix substances capables de modifier la captation de l'amine monophénolique ont été ajoutées au liquide de perfusion des coeurs; la concentration de chacune d'elles sera précisée dans le paragraphe "résultats".

Les coeurs du second groupe sont perfusés par une solution de parahydroxyéphédrine  $^3H$  (10  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) en présence de métaraminol à deux concentrations (0,012 et 83,5  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) dans le liquide de perfusion.

Dans certaines expériences, nous avons traité des rats par la réserpine (5 mg/kg) ou par la 6-hydroxydopamine (20 mg/kg) avant de prélever le muscle cardiaque; dans ce cas ces deux drogues sont administrées par voie parentérale respectivement 48 et 5 hr avant le début de l'expérience de perfusion.

#### *Mesure de la radioactivité*

Les coeurs sont essuyés rapidement sur du papier filtre, pesés et broyés à l'Ultra-Turrax dans 10 ml d'acide perchlorique 0,4 N. L'homogénat est ensuite centrifugé. Un ml du liquide surnageant est additionné dans une fiole à 15 ml de liquide scintillant de composition suivante: PPO, 4 g; diméthyl-POPOP, 0,1 g; Triton  $\times$  100 (Packard) 500 ml; toluène, 1000 ml.

La radioactivité est mesurée par scintillation liquide au moyen d'un compteur Packard 33 80.

#### *Expression des résultats*

Une chromatographie des homogénats de cœur (Whatman 3, isobutanol, acide formique, eau, 15, 2, 2, 5) a montré que la radioactivité fixée dans le cœur est attribuable à la seule *p*-hydroxyéphédrine  $^3H$ . La radioactivité retrouvée est exprimée en microgrammes d'amine par gramme de tissu. Les valeurs, moyennes de cinq à dix expériences, sont affectées des erreurs à la moyenne, Sm.

## RESULTATS

### *(1) Fixation de la parahydroxyéphédrine $^3H$ par le cœur isolé perfusé*

La fixation de la parahydroxyéphédrine  $^3H$  par le cœur isolé a été étudiée en fonction du temps et de la concentration en amine du liquide de perfusion. Les

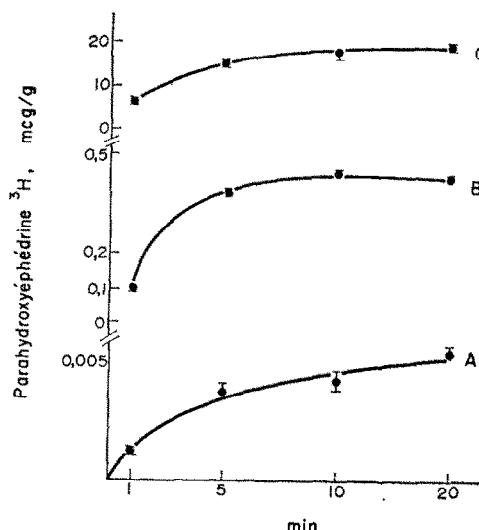


FIG. 1. Fixation de la parahydroxyéphédrine  $^3\text{H}$  par le cœur isolé perfusé pendant 20 min avec du liquide physiologique de McIlwain contenant l'amine à la concentration de 0,001  $\mu\text{g}/\text{ml}$  (A), de 0,1  $\mu\text{g}/\text{ml}$  (B) ou de 10  $\mu\text{g}/\text{ml}$  (C). Chaque point représente la moyenne de cinq expériences.

Résultats sont rassemblés dans la Fig. 1 pour une concentration en parahydroxyéphédrine de 1,100 et 10000 ng/ml. Les taux d'amine captés par le myocarde (en  $\mu\text{g}/\text{g}$ ) sont regroupés dans le Tableau 1.

Pour une concentration de 1 ng/ml de l'amine dans le liquide de perfusion, la fixation de celle-ci dans le cœur n'est pas maximale après 10 min de perfusion alors que pour des concentrations supérieures, l'accumulation de la parahydroxyéphédrine présente une saturation au bout de ce temps.

Si l'on établit un rapport (T/M) entre la concentration de l'amine dans le cœur en  $\mu\text{g}/\text{g}$  et celle de l'amine dans le liquide de perfusion ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ ), on peut remarquer que les valeurs obtenues diminuent lorsque la concentration du liquide extra-cellulaire augmente. En effet après 20 min de perfusion, le rapport T/M est de 5,7 pour une perfusion de parahydroxyéphédrine à la concentration de 1 ng/ml alors qu'il est respectivement de 4,3 et 2,0 pour des liquides contenant l'amine phénolique à la concentration de 100 et 10000 ng/ml.

TABLEAU 1. FIXATION DE LA *p*-HYDROXYEPHEDRINE  $^3\text{H}$  DANS LE COEUR ISOLE EN FONCTION DU TEMPS ET DE LA CONCENTRATION DU LIQUIDE DE PERFUSION

<i>p</i> -OH-éphédrine perfusée $\mu\text{g}/\text{ml}$	<i>p</i> -OH-éphédrine fixée dans le cœur $\mu\text{g}/\text{ml}$			
	1 min	5 min	10 min	20 min
$10^{-3}$	$1,2 \cdot 10^{-3} \pm 1,10^{-4}$	$4,0 \cdot 10^{-3} \pm 3,10^{-4}$	$4,5 \cdot 10^{-3} \pm 4,10^{-4}$	$5,7 \cdot 10^{-3} \pm 2,10^{-4}$
$10^{-1}$	$0,098 \pm 0,07$	$0,376 \pm 0,21$	$0,457 \pm 0,05$	$0,432 \pm 0,10$
10	$6,60 \pm 0,06$	$15,60 \pm 0,70$	$17,60 \pm 1,20$	$20,40 \pm 0,31$

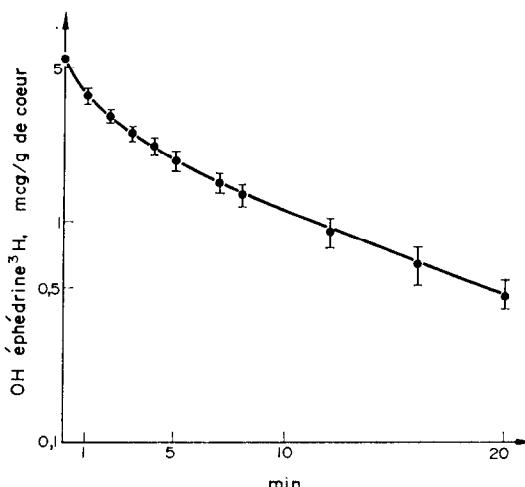


FIG. 2. Elimination de la parahydroxyéphédrine  $^3\text{H}$  fixée par le cœur isolé perfusé. Les coeurs ont été perfusés pendant 20 min avec du liquide physiologique contenant l'amine à la concentration de 0,1  $\mu\text{g}/\text{ml}$  puis perfusés pendant le même temps par la solution de McIlwain privée d'amine. Chaque point représente la moyenne de cinq expériences.

### (2) *Elimination de la parahydroxyéphédrine $^3\text{H}$ fixée par le cœur isolé*

L'élimination de la parahydroxyéphédrine  $^3\text{H}$  hors du cœur a été étudiée en fonction du temps. La Fig. 2 illustre le phénomène de désaturation d'aspect bi-exponentiel dans lequel on peut remarquer une phase rapide de défixation de l'amine dont la période  $T_1^{1/2}$  est égale à 0,7 min; une deuxième phase plus lente de période  $T_2^{1/2}$  égale à 7,5 min. Cette courbe admet l'équation suivante:

$$y = 2,6e^{-0,87t} + 2,8e^{-0,09t}$$

pour laquelle  $t$  est le temps exprimé en minutes;  $y$  est la concentration de la parahydroxyéphédrine en  $\mu\text{g}/\text{g}$ ;  $e$  est la base des logarithmes népériens.

Après 1 min de perfusion par le liquide physiologique privé d'amine, on retrouve dans le cœur 61 % de la quantité de parahydroxyéphédrine initialement fixée; après 5 min, il reste dans le myocarde 35 % d'amine; à la fin du temps d'expérience le cœur contient encore 9 % de la quantité d'amine fixée par la première perfusion.

### (3) *Influence des inhibiteurs du transport de la noradrénaline sur la fixation de la parahydroxyéphédrine $^3\text{H}$ par le cœur isolé*

(a) *Parahydroxyéphédrine  $^3\text{H}$  perfusée à 100 ng/ml.* Le taux cardiaque de la parahydroxyéphédrine  $^3\text{H}$  est de 0,455  $\mu\text{g}/\text{g}$ ; cette captation est diminuée en présence de noradrénaline (0,298  $\mu\text{g}/\text{g}$ ), soit une diminution de 35 %. Les inhibiteurs du transport de la noradrénaline perfusée à faible concentration dans le cœur (captation no. 1 d'Iversen) comme la désipramine, le *l*-métaraminol, la cocaine ou la guanéthidine diminuent la captation de la parahydroxyéphédrine de 20 à 40 %. De même l'amphétamine ou l'éphédrine se montrent capables d'inhiber partiellement l'accumulation de l'amine monophénolique: on ne retrouve dans le cœur, après ces deux traitements, que 0,315 et 0,341  $\mu\text{g}/\text{g}$ , soit une diminution de 25 % en présence d'éphédrine et de 30 % en présence d'amphétamine (Tableau 2).

TABLEAU 2. INFLUENCE DES INHIBITEURS DE LA FIXATION DE LA NORADRENALINE SUR LA CAPTATION CARDIAQUE DE LA PARAHYDROXYEPHEDRINE  $^3\text{H}$  PERFUSE A LA CONCENTRATION DE 0,1  $\mu\text{g/ml}$  DANS LE LIQUIDE DE PERFUSION

Substances	Dose dans perfusion ( $\mu\text{g/ml}$ )	<i>p</i> -OH-éphédrine ( $\mu\text{g/g}$ )	Inhibition (%)
Témoin (OH-éphédrine)	0,1	0,455 $\pm$ 0,005	—
Normétadrénaline	44	0,145 $\pm$ 0,006	68
Normétadrénaline	0,78	0,265 $\pm$ 0,013	41
Réserpine	—	0,264 $\pm$ 0,023	41
6-Hydroxydopamine	—	0,270 $\pm$ 0,015	40
Dinitrophénol	18,4	0,283 $\pm$ 0,013	39
Noradrénaline	0,1	0,298 $\pm$ 0,011	35
Métaraminol	0,012	0,299 $\pm$ 0,010	35
Amphétamine	0,1	0,315 $\pm$ 0,020	30
Ouabaïne	3,65	0,329 $\pm$ 0,013	27
Cocaïne	10	0,340 $\pm$ 0,020	25
Ephédrine	0,1	0,341 $\pm$ 0,018	25
Désipramine	0,27	0,342 $\pm$ 0,019	25
Guanéthidine	10	0,358 $\pm$ 0,014	22

Nombre d'essais n = 10.

La normétadrénaline perfusée à forte concentration dans le liquide contenant la parahydroxyéphédrine inhibe la fixation de la parahydroxyéphédrine à raison de 68 % alors que si le dérivé *O*-méthylé de la noradrénaline est perfusé à dose plus faible (dose suffisante pour la captation no. 2 d'Iversen), il affecte la captation de la parahydroxyéphédrine d'une manière moindre (41 %).

Le traitement des animaux par la réserpine ou par la 6-hydroxydopamine altère la capacité du cœur de fixer la parahydroxyéphédrine; cette diminution de la captation de l'amine est identique à celle que l'on mesure en présence du dinitrophénol (40 % environ); elle est plus forte que celle qui est obtenue en présence d'ouabaïne (27 %).

(b) *Parahydroxyéphédrine  $^3\text{H}$  perfusée à 10  $\mu\text{g/ml}$ .* L'addition de *L*-métaraminol à deux concentrations différentes ne modifie pas l'accumulation cardiaque de la parahydroxyéphédrine  $^3\text{H}$ . Les différences observées entre les coeurs témoins (17,6  $\mu\text{g/g}$ ) et ceux qui sont traités en plus par le métaraminol (15,7  $\mu\text{g/g}$  dans les deux cas) ne sont pas statistiquement significatives (Tableau 3).

TABLEAU 3. INFLUENCE DU METARAMINOL ET DE LA 6-HYDROXYDOPAMINE SUR LA FIXATION DE LA PARAHYDROXYEPHEDRINE  $^3\text{H}$  (10  $\mu\text{g/ml}$ ) DANS LE COEUR ISOLE PERFUSE

Substances	OH-éphédrine $^3\text{H}$ fixée dans le cœur ( $\mu\text{g/g}$ )
Témoin (OH-éphédrine)	17,60 $\pm$ 1,20
Métaraminol (0,012 $\mu\text{g/ml}$ )	15,70 $\pm$ 0,60
Métaraminol (83,5 $\mu\text{g/ml}$ )	15,7 $\pm$ 1,20
6-Hydroxydopamine	19,0 $\pm$ 0,90

Nombre d'essais n = 10.

Le traitement des animaux par la 6-hydroxydopamine n'apporte pas non plus de variations significatives dans la captation tissulaire de la parahydroxyéphédrine  $^3\text{H}$ .

La fixation de l'amine monophénolique, perfusée à forte concentration dans les coronaires, semble indépendante de la présence d'agents pharmacologiques qui, pour des concentrations plus faibles de la parahydroxyéphédrine dans le milieu physiologique, inhibent l'accumulation de cette dernière par le muscle cardiaque.

#### DISCUSSION

Nos résultats obtenus avec la parahydroxyéphédrine montrent que la cinétique de fixation de cette amine varie en fonction de sa concentration dans le liquide de perfusion; pour une concentration très faible de l'amine, la saturation du myocarde n'est pas atteinte dans nos conditions expérimentales, alors que pour des concentrations plus élevées, l'accumulation de la parahydroxyéphédrine est maximale dès un temps de dix minutes. De même, l'affinité du cœur pour l'amine phénolique diminue avec l'augmentation de la concentration de parahydroxyéphédrine perfusée.

Ces modalités de fixation de la parahydroxyéphédrine sont différentes de celles observées pour l'amphétamine,<sup>8</sup> la noréphédrine<sup>9</sup> ou pour l'éphédrine.<sup>2</sup> Dans le cas de l'éphédrine, cette substance s'accumule, dans le cœur isolé, suivant un processus rapidement saturable et selon un rapport constant avec sa concentration dans le milieu de perfusion.

De plus, l'élimination de la parahydroxyéphédrine hors du cœur s'effectue moins rapidement que celle qui est observée pour l'éphédrine<sup>2</sup> ou pour l'amphétamine.<sup>8</sup> Pour l'éphédrine, le compartiment labile représente 80% de la quantité totale de l'amine fixée dans le cœur; pour la parahydroxyéphédrine, ce même compartiment ne représente que 48%. Le deuxième compartiment, plus lent à s'éliminer, correspond à 20% pour l'éphédrine, alors qu'il est supérieur à 50% dans le cas de son métabolite phénolique. Il reste ainsi dans des conditions expérimentales semblables, sept fois plus de parahydroxyéphédrine que d'éphédrine dans le muscle cardiaque. Ce résultat indique qu'une fraction de l'amine phénolique accumulée dans le cœur isolé est retenue plus durablement dans des structures granulaires ou l'éphédrine n'a pas accès.<sup>10</sup>

La différence de structure chimique entre l'éphédrine et son métabolite (parahydroxyéphédrine) peut expliquer en partie ce résultat. En effet, les drogues qui ne possèdent pas d'hydroxyle phénolique (éphédrine, amphétamine) semblent s'accumuler dans les tissus selon un processus de fixation passive. Le taux d'amine accumulé serait fonction du pH de la solution physiologique qui règle, en fonction du  $\text{p}K$  de l'amine, le rapport de concentration de la forme non ionisée, à la concentration de la forme ionisée.<sup>11</sup>

Au contraire, les substances qui possèdent un hydroxyle phénolique comme la tyramine,<sup>12</sup> l'octopamine<sup>9</sup> ou le métaraminol<sup>13</sup> s'accumulent dans les tissus selon un processus analogue à celui de la noradrénaline. On peut concevoir que la parahydroxyéphédrine, qui présente en commun avec ces amines l'hydroxyle phénolique, ait la possibilité de se fixer dans le cœur isolé selon des modalités voisines.

La noradrénaline, pour sa part, présente deux mécanismes de fixation dans le cœur isolé en fonction de sa concentration dans le liquide de perfusion.<sup>1</sup> Le premier fait pénétrer l'amine dans les nerfs (mécanisme neuronal), le second représente une captation de la catécholamine pour des sites extraneuronaux comme les cellules myocardiques.<sup>14-16</sup> Ces deux mécanismes semblent néanmoins être présents dès une

concentration faible de l'amine dans le liquide de perfusion.<sup>17</sup> Cependant, pour les différencier, il existe des substances qui diminuent préférentiellement l'un de ces deux processus;<sup>18</sup> ainsi la norméta nephrine, à faible concentration, ne modifie que la fixation extraneuronale de la noradrénaline, alors que les amines sympathomimétiques, comme le métaraminol, l'amphétamine, l'éphédrine ne diminuent que la captation neuronale de la noradrénaline.

Dans nos conditions expérimentales, la normétanéphrine, à la concentration qui diminue la captation extraneuronale de la catécholamine (0,78  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) se montre capable d'entraver la fixation de la parahydroxyéphédrine. Ce fait laisse penser que la parahydroxyéphédrine se fixe, comme l'isoprénaline<sup>19</sup> en partie dans des sites extra-neuronaux. Cependant, les inhibiteurs de la captation neuronale de la noradrénaline peuvent aussi entraver partiellement la fixation de la parahydroxyéphédrine; ceci est, par ailleurs, confirmé par le fait que la noradrénaline elle-même diminue également l'accumulation de l'amine dans le cœur. Enfin, les résultats obtenus sur des coeurs résépinés ou traités par la 6-hydroxydopamine indiquent que la parahydroxyéphédrine se localise dans les granules adrénergiques. En effet, la réserpine ne s'oppose pas à la pénétration de la noradrénaline dans les nerfs<sup>20,21</sup> mais empêche sa rétention par destruction de ses sites de stockage; de même, la 6-hydroxydopamine, agent sympathectomisant à action réversible<sup>22-26</sup> diminue la teneur des tissus en noradrénaline exogène<sup>10</sup> ou en parahydroxyéphédrine<sup>10</sup> sans modifier la répartition de l'éphédrine qui, elle, n'est pas localisée d'une manière spécifique dans les terminaisons nerveuses.<sup>10</sup>

L'augmentation de la concentration de la parahydroxyéphédrine dans le liquide de perfusion modifie les processus de fixation préalablement décrits. Ainsi le métaraminol n'inhibe plus, quelle que soit sa concentration dans le liquide de perfusion, la captation de la parahydroxyéphédrine par le muscle cardiaque. Les processus normaux de captation intra et extra-neuronale se trouvent masqués par la quantité élevée de parahydroxyéphédrine qui diffuse dans le cœur. L'amine phénolique s'accumulerait alors dans le myocarde selon un processus identique à celui de l'éphédrine<sup>11</sup> ou de l'amphétamine.<sup>8,11</sup> Cette hypothèse trouve une confirmation dans le fait que la 6-hydroxydopamine que ne modifie pas l'accumulation de l'éphédrine *in vivo*,<sup>10</sup> se montre là aussi incapable de diminuer la captation de la parahydroxyéphédrine par le cœur isolé lorsque cette dernière amine est perfusée à forte concentration dans le liquide de perfusion.

Il semble cependant que la présence d'un hydroxyle phénolique sur le noyau de l'éphédrine permette une fixation de l'amine selon un mécanisme analogue à celui décrit par Iversen<sup>1</sup> pour la noradrénaline exogène. L'analogie avec le médiateur n'est pas totale car il préexiste toujours à côté des mécanismes actifs, un processus de diffusion-concentration qui est révélé soit par l'emploi d'une molécule sympathomimétique dépourvue d'hydroxyle phénolique soit par l'augmentation de la concentration de l'amine dans le milieu extracellulaire.

**Remerciements**—Nos remerciements les plus sincères vont à Monsieur Pichat (C. E. N. Saclay) pour la synthèse de la *p*-OH-éphédrine  $^3\text{H}$ . Nous remercions également Mademoiselle B. Chezlemas pour l'excellence de sa collaboration technique.

**Résumé**—La parahydroxyéphédrine s'accumule dans le cœur isolé perfusé selon une intensité qui diminue avec l'augmentation de la concentration de l'amine dans le liquide de perfusion.

La captation de l'amine phénolique (perfusée à faible concentration) est diminuée par la présence, dans le liquide perfusant de noradrénaline, d'amines sympathomimétiques, de réserpine ou de 6-hydroxydopamine. Il apparaît comme pour la noradrénaline exogène un double mécanisme de fixation pour la parahydroxyéphédrine, l'un neuronal, l'autre extraneuronal.

Pour des concentrations très élevées de l'amine, intervient de façon prédominante une fixation passive, de faible intensité, dont le mécanisme semble analogue à celui que nous avons précédemment décrit pour l'éphédrine.

### BIBLIOGRAPHIE

1. L. L. IVERSEN, *Uptake and Storage of Noradrenaline by Sympathetic Nerves*. Cambridge University Press, Cambridge (1967).
2. C. JACQUOT, J. BRALET, Y. COHEN et G. VALETTE, *Biochem. Pharmac.* **18**, 903 (1969).
3. J. AXELROD, *J. Pharmac.* **109**, 62 (1953).
4. Y. NAGASE, S. BABA et A. MATSUDA, *J. Pharmac. Soc. Jap.* **87**, 123 (1967).
5. J. BRALET, Y. COHEN et G. VALETTE, *Biochem. Pharmac.* **17**, 1294 (1968).
6. C. JACQUOT, J. BRALET, Y. COHEN et G. VALETTE, *C.r. Soc. Biol.* **163**, 1355 (1969).
7. M. McILWAIN, *Biochem. J.* **49**, 382 (1951).
8. H. THOENEN, A. HUERLIMANN et W. HAEFELY, *J. Pharm. Pharmac.* **20**, I (1967).
9. S. B. ROSS, A. L. RENYI et B. BRUNEFELTER, *J. Pharm. Pharmac.* **20**, 283 (1968).
10. C. JACQUOT, Métabolisme, fixation et libération de l'éphédrine et de la parahydroxyéphédrine dans les tissus du Rat. Application à l'étude de la tachyphylaxie. Thèse doctorat es Sciences, Paris E.M.U. Paris (1970).
11. C. JACQUOT, J. BRALET, Y. COHEN et G. VALETTE, *Biochem. Pharmac.* **18**, 2415 (1969).
12. S. B. ROSS et A. L. RENYI, *J. Pharm. Pharmac.* **18**, 756 (1966).
13. O. ALMAGREN et B. WALDECK, *J. Pharm. Pharmac.* **19**, 705 (1967).
14. L. O. FARNEBO et T. MALMFORS, *Eur. J. Pharmac.* **5**, 313 (1969).
15. D. E. CLARKE, C. J. JONES et P. A. LINLEY, *Br. J. Pharmac.* **37**, 1 (1969).
16. D. E. CLARKE et C. J. JONES, *Eur. J. Pharmac.* **7**, 121 (1969).
17. S. L. LIGHTMAN et L. L. IVERSEN, *Br. J. Pharmac.* **37**, 638 (1969).
18. A. S. V. BURGEN et L. L. IVERSEN, *Br. J. Pharmac.* **25**, 34 (1965).
19. B. A. CALLINGHAM et A. S. V. BURGEN, *J. Pharm. Pharmac.* **14**, 385 (1966).
20. I. J. KOPIN, G. HERTTING et E. K. GORDON, *J. Pharmac.* **138**, 34 (1962).
21. R. LINDMAR et E. MUSCHOLL, *Arch. exp. Path. Pharmak.* **247**, 469 (1964).
22. H. THOENEN et J. P. TRANZER, *Arch. exp. Path. Pharmak.* **271**, 61 (1968).
23. J. P. TRANZER et H. THOENEN, *Experientia* **24**, 155 (1968).
24. T. MALMFORS et C. SACHS, *Eur. J. Pharmac.* **3**, 89 (1968).
25. G. HAEUSLER, W. HAEFELY et H. THOENEN, *J. Pharmac.* **170**, 50 (1969).
26. F. E. BLOOM, S. ALGERI, A. GROPETTI, A. REVUELTA et E. COSTA, *Science* **166**, 1284 (1969).