

*3-p-nitrophenyl-5-phenyltetrazolium = INT; 3 ditetrazolium: chlorure de 2, 2'-di-p-nitrophenyl-5, 5'-diphenyl-3, 3'-(3, 3'-dimethoxy-4, 4'-diphenylène)-ditetrazolium = NBT; chlorure de 2, 2', 5, 5'-tetra-p-nitrophenyl-3, 3'-(3, 3'-dimethoxy-4, 4'-diphenylène)-ditetrazolium = TNBT; chlorure de 2, 2'-(p-diphenylene)-bis-(3, 5-diphenyl)-tetrazolium = NT.* Les résultats obtenus sont résumés dans le Tableau II.

Comme l'avaient signalé LAGNADO et SOURKES pour NT<sup>9</sup> tous les sels de tetrazolium que nous avons étudiés inhibent l'activité mono-amine oxydase. Cette inhibi-

tion est notée pour des concentrations de substrat et de tetrazolium comparables à celles utilisées lors de dosages de l'activité mono-amine oxydase par mesure de l'intensité de la réduction des sels de tetrazolium<sup>10</sup>. On peut donc se demander s'il n'existe pas là un facteur risquant de perturber ces dosages.

Si l'on examine l'aspect des courbes  $1/V_i = f(1/S)$  obtenues avec différentes concentrations d'inhibiteur, l'inhibition se révèle être du type non compétitif (Figure 2)<sup>11</sup>.

*Summary.* 5 tetrazolium salts used in electronic microscopy are non-competitive inhibitors of monoaminoxidasic activity of a sheep's brain mitochondrial suspension. This inhibition indicates that special caution must be taken in using these salts for detection of monoamine oxidase in optic or electronic microscopy.

C. LALLEMANT et C. BARON

*Laboratoire de Biochimie médicale de l'Ecole de Médecine, et Laboratoire de Chimie Biologique de la Faculté des Sciences de Dijon (France), le 21 octobre 1966.*

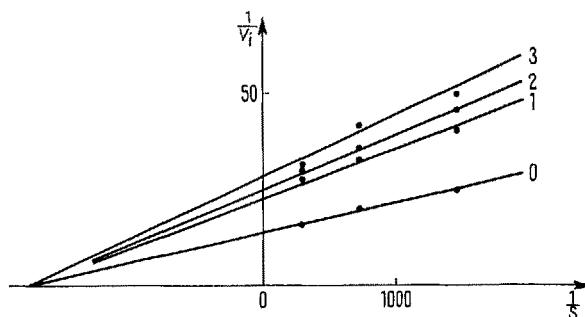


Fig. 2. Action du INT sur l'oxydation de la tyramine. 0, sans INT; 1, avec INT,  $24,2 \cdot 10^{-5} M$ ; 2, avec INT,  $48,4 \cdot 10^{-5} M$ ; 3, avec INT,  $96,8 \cdot 10^{-5} M$ . Vi, vitesse initiale en  $\mu\text{l } \text{O}_2/\text{min}/\text{mg}$  de protéine; S, concentration en tyramine en  $M/\text{l}$ .

<sup>9</sup> J. R. LAGNADO et T. L. SOURKES, Can. J. Biochem. Physiol. 34, 1095 (1956).

<sup>10</sup> H. WEISSBACH, B. REDFIELD, G. GLENNER et C. MITOMA, J. Histochem. Cytochem. 5, 601 (1957).

<sup>11</sup> Nous remercions le Professeur Agrégé J. DEDREUX pour l'aide et les conseils qu'il nous a apportés au cours de ce travail.

### Variations de salinité chez la Tanche (*Tinca tinca* L.): Effet de la vagotomie sur l'intensité respiratoire et la teneur en eau et cations ( $\text{Na}^+$ et $\text{K}^+$ ) du tissu hépatique

Au cours de précédents travaux<sup>1,2</sup>, nous avons mis en évidence un déséquilibre osmotique chez la Tanche et l'Anguille pendant les variations de salinité. Ces animaux subissaient en effet une imbibition du tissu hépatique entraînant une augmentation du  $Q_{\text{O}_2}$ . Afin de tenter d'apporter une explication à ce phénomène, nous nous sommes intéressés à la régulation hydrominérale. On sait que celle-ci s'effectue, chez les euryhalins, par l'intermédiaire de plusieurs hormones. Interviennent l'interrénal antérieur, les corpuscules de Stannius (FONTAINE<sup>3</sup>), et aussi l'hypophyse (MOTAIS et MAETZ<sup>4</sup>), responsable en particulier du principe antidiurétique. Cette hormone est également active chez la Tanche puisqu'il est possible de prolonger la survie de cet animal en eau salée par des injections d'ADH (Vasopressine) (PEQUIGNOT<sup>5</sup>). Cependant, cette espèce sténohaline subit en eau salée une violente agression physiologique. Cet effet de choc à la suite d'une variation brusque de salinité a déjà été signalé par SERFATY et LABAT<sup>6</sup> sur le Mugé, le Griset et la Carpe; les auteurs invoquent une intervention vagale pour expliquer en partie ce phénomène.

Dans l'espoir d'atténuer l'effet de la salinité en supprimant cette action, nous avons réalisé la section des nerfs vagues et nous nous sommes proposé d'étudier l'effet de cette opération sur l'intensité respiratoire et la teneur en cations ( $\text{Na}^+$  et  $\text{K}^+$ ) des tissus de la Tanche.

*Matériel et méthodes.* Le nerf vague est sectionné en arrière du 5<sup>e</sup> arc branchial selon la technique décrite par LABAT et SERFATY<sup>7</sup>; le réseau vagal n'est pas détruit dans sa totalité; les nerfs branchiaux sont laissés intacts, tandis que les branches pharyngiennes, viscérales et latérales sont sectionnées. Les Tanches séjournent alors à basse température (10°C) pendant 10-15 jours, puis sont progressivement réadaptées à la température de l'eau courante (18-20°C) et enfin mises en expérience.

Comme dans notre précédent travail, l'adaptation à la salinité (ClNa 12%<sub>00</sub>) s'effectue en 4 jours dans des bacs contenant 10 l d'eau filtrée. Les mesures sont réalisées à l'appareil de Warburg pour le  $Q_{\text{O}_2}$  ( $\mu\text{l } \text{O}_2/\text{mg}$  poids sec/h) et au photomètre à flamme pour  $\text{Na}^+$  et  $\text{K}^+$  (mg/poids acquis sur 8 sujets).

*Résultats et discussion.* La vagotomie bilatérale ne produit pas chez la Tanche l'effet qu'on aurait pu attendre. Loin d'atténuer l'agression saline, la section des vagues semble au contraire la renforcer puisque le  $Q_{\text{O}_2}$  et les teneurs en  $\text{Na}^+$  sont bien plus élevés chez les Poissons

<sup>1</sup> J. PEQUIGNOT et A. SERFATY, Experientia 21, 227 (1965).

<sup>2</sup> J. PEQUIGNOT et A. SERFATY, Experientia 22, 121 (1966).

<sup>3</sup> M. FONTAINE, C. r. hebdo. Séanc. Acad. Sci., Paris 259, 875 (1964).

<sup>4</sup> R. MOTAIS et J. MAETZ, Gen. Comp. Endocrinol. 4, 210 (1964).

<sup>5</sup> J. PEQUIGNOT, Ann. de Limnologie (sous presse).

<sup>6</sup> A. SERFATY et R. LABAT, Comp. Biochem. Physiol. 3, 218 (1961).

<sup>7</sup> R. LABAT et A. SERFATY, Bull. Soc. Hist. nat. Toulouse 98, N° 1-2, 192 (1963).

$QO_2$  ( $\mu\text{l O}_2/\text{mg poids sec/h}$ ) et cations (mg/g poids frais) du tissu hépatique de Tanche vagotomisée ou non

	Témoin eau douce	Vagotomisé eau douce	Augmen- tation %	Témoin ClNa 120/oo	Vagotomisé ClNa 120/oo	Augmen- tation %	Différence par rapport à l'eau douce
$QO_2$	$2,21 \pm 0,20$	$2,46 \pm 0,18$	12	$3,21 \pm 0,23$	$3,85 \pm 0,50$	20	74
% eau	71	76	7	75	79	5	11
$Na^+$	$0,41 \pm 0,9$	$0,74 \pm 0,11$	80	$0,69 \pm 0,7$	$1,08 \pm 0,12$	56	163
$K^+$	$2,74 \pm 0,18$	$2,55 \pm 0,12$		$2,73 \pm 0,21$	$2,80 \pm 0,24$		

vagotomisés placés en eau salée que chez les sujets intacts (voir Tableau). Si l'on compare par ailleurs ces mêmes données chez les sujets demeurés en eau douce, on voit que la section des vagues entraîne par elle-même une augmentation de l'intensité respiratoire, et de la concentration en  $Na^+$  du tissu hépatique. Parallèlement, la teneur en eau subit une augmentation croissante alors que la quantité de potassium tissulaire est peu modifiée.

La teneur en sodium augmente donc après vagotomie dans le tissu hépatique de la Tanche mais l'origine de ce cation n'est pas élucidée. Il ne semble pas provenir du milieu extérieur car des expériences réalisées dans l'eau distillée (résultats non publiés) paraissent indiquer un mouvement semblable. D'autre part, il ne provient pas non plus de la masse musculaire puisqu'il augmente aussi au niveau de ce tissu chez les Poissons vagotomisés (animal témoin: 0,27; sujet vagotomisé: 0,35). Il est possible que la vagotomie modifie l'excrétion de cet ion, sinon son absorption; des recherches dans ce sens sont envisagées (travaux en cours).

Selon MAETZ et MOREL<sup>8</sup>, le métabolisme du  $Na^+$  et celui de l'eau ne sont pas toujours liés; en conséquence, il y a lieu également de chercher à élucider si la section des vagues agit sur les deux mécanismes, ou seulement sur l'un d'entre eux, le second étant alors un effet secondaire. L'inhibition du nerf vague ne permet donc pas de prolonger la survie de l'espèce en eau salée; son excitation

au contraire serait peut-être un facteur la favorisant. Dans le problème de la régulation hydrominérale, outre les actions hormonales, l'effet du système nerveux parasympathique n'est pas à négliger.

*Conclusion.* Chez la Tanche, la section des nerfs vagues n'atténue pas le choc osmotique produit par les variations de salinité. La vagotomie provoque au contraire chez ces animaux une augmentation accrue de l'intensité respiratoire et de la teneur en eau et en sodium du tissu hépatique, aussi bien en eau douce qu'en eau salée.

*Summary.* Vagus nerve section was performed on a stenohaline species: the tench (*Tinca tinca* L.). The oxygen consumption and  $Na^+$  content increased in both tap water and after transfer to salt water. It is suggested that the vagus nerve plays a role in water and electrolyte flux in this fish.

J. PEQUIGNOT, A. SERFATY et R. LABAT

Laboratoire de Biologie Animale, Faculté des Sciences,  
Toulouse 31 (France), le 11 octobre 1966.

<sup>8</sup> J. MAETS et F. MOREL, Archs Anat. microsc. 54, N° 1, 515 (1965).

## Trifluoroacetyl as a Protecting Group for Amino Acid Hydrazides

The trifluoroacetyl group is widely employed in peptide chemistry, both for N-protection<sup>1</sup> and as an aid in the gas chromatography of various amino acids and peptides<sup>2</sup>. Previously, N-benzylloxycarbonyl, N-t-butylloxycarbonyl and N-trityl substituents have been utilized for the masking of the hydrazide function in peptides where chain extension by the azide method is contemplated at a later synthetic stage<sup>3</sup>. We now report an application of the trifluoroacetyl moiety in a similar fashion. The chief advantage of this technique over existing methods is the ability to use simultaneously a wider variety of blocking agents.

A suspension of L-alanine methyl ester hydrochloride (I)<sup>4,5</sup> in chloroform was neutralized with triethylamine and the resulting L-alanine methyl ester (II) solution was stirred with o-nitrophenylsulfenyl chloride<sup>6</sup> to yield

<sup>1</sup> E. SCHRÖDER and K. LÜBKE, *The Peptides* (Academic Press, New York 1965), vol. I, p. 6.

<sup>2</sup> B. WEINSTEIN, *Methods of Biochemical Analysis* (Interscience Publishers, New York 1966), vol. 14, pp. 232, 264, 275.

<sup>3</sup> E. SCHRÖDER and K. LÜBKE, *The Peptides* (Academic Press, New York 1965), vol. I, p. 64.

<sup>4</sup> All products prepared herein were homogeneous by thin-layer chromatography (support, Silica Gel G; developer, methanol or methanol-chloroform, 9:1; detectors, iodine, ninhydrin or UV-light); satisfactory analyses were obtained for the new compounds III, IV, V, and XI.

<sup>5</sup> H. ZAHN and H. SCHÜSSLER, Justus Liebigs Ann. Chem. 641, 176 (1961).

<sup>6</sup> L. ZERVAS, D. BOROVAS and E. GAZIS, J. Am. chem. Soc. 85, 3660 (1963).

<sup>7</sup> The o-nitrophenylsulfenyl, trifluoroacetyl and benzylloxycarbonyl prefixes are shortened to Nps, Tfa, and Z, respectively; 'IUPAC-IUB Commission on Biochemical Nomenclature. Abbreviated Designation of Amino Acid Derivatives and Peptides. Tentative Rules,' Biochemistry 5, 2485 (1966).