

BBA 75367

INHIBITION DES EFFETS DE L'OCYTOCINE SUR LA PEAU ET LA VESSIE DE LA GRENOUILLE PAR L' [2 -O-ETHYLTYROSINE]-OCYTOCINE

SERGE JARD, RABARY M. RAJERISON ET MADELEINE MONTEGUT

Laboratoire de Physiologie Cellulaire Collège de France, Place M. Berthelot, Paris 5ème (France)

(Recu le 18 juillet, 1969)

SUMMARY

Inhibition of oxytocin effects on frog skin and bladder by [2 -O-ethyltyrosin]-oxytocin

Hydrosmotic and natriferic activities of [O -ethyl-Tyr 2]-oxytocin in the frog (*Rana esculenta*) are studied. Hydrosmotic action is measured by the increase in water permeability of the isolated bladder and the natriferic action by the stimulation of active sodium transport by the isolated skin. The affinity of [O -ethyl-Tyr 2]-oxytocin for these two receptors is much lower than that of oxytocin, used as the reference standard: it is 28 times lower on the skin and 109 times lower on the bladder. The intrinsic hydrosmotic and natriferic activities of this analogue, as defined by the maximal response, are 35% and 18%, respectively, of that of oxytocin. [O -Ethyl-Tyr 2]-oxytocin partially inhibits hydrosmotic and natriferic responses of small doses of oxytocin but does not modify responses of the same magnitude evoked by 3',5'-AMP on the bladder and by 3',5'-AMP or norepinephrine on the skin. The inhibition can be reversed by increasing amounts of oxytocin. The responses of supramaximal doses of oxytocin are identical in the presence or in the absence of [O -ethyl-Tyr 2]-oxytocin. It is concluded that this analogue behaves like a competitive inhibitor of oxytocin on both the frog skin and bladder.

INTRODUCTION

Parmi les hormones peptidiques, les hormones neurohypophysaires représentent un exemple unique pour lequel un aussi grand nombre d'analogues de structure ont été synthétisés et étudiés du point de vue de leurs propriétés pharmacologiques sur les principaux de leurs organes effecteurs. Les résultats obtenus montrent que des modifications de la structure de la molécule hormonale peuvent affecter considérablement, et de façon variable d'un récepteur à l'autre, son activité biologique rapportée à l'unité de poids de peptide pur. Dans la très grande majorité des cas ces différences d'activité biologique peuvent être interprétées comme résultant d'une altération de l'affinité de l'hormone pour ses sites récepteurs sans modification de son activité intrinsèque. En effet, les effets maximaux obtenus avec de fortes doses de l'hormone naturelle ou de ses analogues sont le plus souvent d'intensités identiques¹⁻³. Toutefois, il a été montré, pour un petit nombre d'analogues, que l'activité du complexe hormone récepteur n'est pas indépendante de la structure du peptide fixé, puisque ces analogues produisent des effets maximaux d'intensité plus faible que celle des effets maximaux

de l'hormone naturelle et se comportent comme des inhibiteurs compétitifs des peptides les plus actifs. C'est ainsi qu'une série d'analogues de l'ocytocine tels que l'[acide β -mercaptoisovalérique¹]-ocytocine⁴, l'[O-méthyl-Tyr²]-, l'[O-éthyl-Tyr²]-, la [β -éthyl-Phe²]-ocytocine^{5,6}, par exemple, se comportent comme des inhibiteurs compétitifs de l'ocytocine sur plusieurs de ses organes effecteurs. De même⁷, l'ocytocine et plusieurs de ses analogues dépourvus d'activité biologique sur les cellules tubulaires du rein de la grenouille *Rana esculenta* inhibent l'augmentation de la réabsorption tubulaire d'eau libre et de sodium produite par l'injection à l'animal d'[Arg⁸]-ocytocine (arginine vasotocine), l'hormone antidiurétique naturelle chez cette espèce.

Dans ce travail nous décrivons un nouvel exemple d'interaction compétitive entre l'ocytocine et l'un de ses analogues: l'inhibition par l'[O-éthyl-Tyr²]-ocytocine de deux actions des hormones neurohypophysaires sur les cellules épithéliales de la vessie et de la peau de la grenouille: leur action hydrosmotique (augmentation de la perméabilité osmotique à l'eau) étudiée sur la vessie et leur action natrifrérique (stimulation du transport actif de sodium) étudiée sur la peau. Dans le but de juger de la spécificité de l'inhibition observée et de la localiser par rapport aux étapes connues du mécanisme d'action des hormones neurohypophysaires sur les cellules épithéliales, nous avons également recherché des interactions éventuelles: (1) entre l'[O-éthyl-Tyr²]-ocytocine et la noradrénaline qui produit sur la peau isolée de la grenouille des effets identiques à ceux de l'ocytocine bien que les récepteurs de ces deux hormones soient différents⁸, et (2) entre l'[O-éthyl-Tyr²]-ocytocine et l'adénosine 3',5'-monophosphate cyclique (3',5'-AMP), le médiateur supposé des effets des hormones neurohypophysaires sur la vessie (*cf.* réf. 9) et sur la peau⁸ des amphibiens. Enfin nous comparons les effets de l'[O-éthyl-Tyr²]-ocytocine à ceux d'un analogue de structure voisine, l'[O-méthyl-Tyr²]-ocytocine.

MÉTHODES

Matériel biologique

Les animaux utilisés sont des grenouilles *Rana esculenta* L. conservés sans nourriture dans de l'eau courante. Ils sont adaptés à la température du laboratoire 48 h au moins avant les expériences.

Techniques de mesure

Le flux net d'eau à travers la vessie est mesuré par la technique d'enregistrement continu décrite précédemment¹⁰. La face interne de la préparation est baignée par une solution de Ringer (Na⁺ 114.5 mM, K⁺ 5 mM, Ca²⁺ 1 mM, Cl⁻ 119 mM, HCO₃⁻ 2.5 mM (pH 8.1)) et la face externe par une solution de Ringer contenant 5.6 mM de NaCl. La différence de pression osmotique entre les deux faces est de 230 mosM. L'oxygénation est assurée par barbotage d'air.

Le flux net de Na⁺ est mesuré par la méthode du courant de court-circuit¹¹ sur la peau ventrale isolée baignée sur ses deux faces par une solution de Ringer. La technique de mesure employée est celle décrite par MOREL *et al.*¹² qui permet l'enregistrement continu du courant de court-circuit sur 6 fragments indépendants de la même préparation symétriques deux à deux par rapport à l'axe antéropostérieur de l'animal.

Après une période d'équilibration de 1-2 h, la réactivité de la peau ou de la vessie est recherchée par la mesure des effets de 2-3 doses différentes d'ocytocine ($2 \cdot 10^{-9}$ - $1 \cdot 10^{-8}$ M). Les préparations non réactives sont écartées. L'intensité de l'effet hydrosmotique est mesurée par l'augmentation du flux net d'eau (différence entre la valeur maximum du flux mesurée au cours de l'action hormonale et sa valeur mesurée dans les minutes qui précèdent l'addition de l'hormone au milieu d'incubation). Elle est exprimée en $\mu\text{l} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{cm}^{-2}$. L'intensité de l'effet natriférique, exprimée en $\mu\text{A} \cdot 0.8 \text{ cm}^{-2}$, est mesurée par la différence entre le courant maximum atteint au cours de l'action hormonale et la moyenne des valeurs d'équilibre du courant de court-circuit mesurées avant l'addition d'hormone et après sa soustraction du milieu d'incubation.

Les protocoles expérimentaux propres à chaque type d'expérience sont décrits avant l'exposé des résultats.

Produits utilisés

Les produits utilisés sont de l'*[O-ethyl-Tyr²]*-ocytocine et de l'*[O-methyl-Tyr²]*-ocytocine, de l'ocytocine de synthèse (Syntocinon Sandoz), du 3',5'-AMP (Schwartz Bioresearch), de la théophylline (Serlabo) et de la noradrénaline (Rhône Poulenc). Ils sont ajoutés au milieu de Ringer baignant la face interne des préparations dans de petits volumes de solutions préalablement neutralisées si nécessaire.

Les produits fréquemment utilisés pour le conditionnement en solution des peptides neurohypophysaires pouvant inhiber partiellement leur effet hydrosmotique sur la vessie (S. JARD, observations non publiées), la solution mère d'*[O-ethyl-Tyr²]*-ocytocine a été purifiée par filtration sur colonne de Biogel P2.

RÉSULTATS

Actions hydrosmotique et natriférique propres de l'[O-ethyl-Tyr²]*-ocytocine et de l'*[O-methyl-Tyr²]*-ocytocine*

L'affinité et l'activité intrinsèque de l'*[O-ethyl-Tyr²]*-ocytocine et l'*[O-methyl-Tyr²]*-ocytocine ont été déduites de la détermination de la relation liant l'intensité de la réponse biologique à la concentration de peptide dans le milieu d'incubation. L'activité intrinsèque est mesurée par l'intensité de l'effet maximum obtenu pour les concentrations de peptide les plus élevées. L'affinité est mesurée par l'inverse de la concentration de peptide produisant un effet d'intensité égale à la moitié de l'intensité de l'effet maximum. Pour l'effet hydrosmotique sur la vessie, la relation dose-effet biologique est déterminée en mesurant sur la même préparation les effets de 5-6 concentrations différentes de peptide appliquées dans un ordre aléatoire et séparées par des périodes de rinçage jusqu'à retour au flux de base. Pour l'effet natriférique sur la peau les différentes concentrations de peptide sont appliquées en ordre croissant sans retour au flux de base entre chaque stimulation (réponses cumulées). Dans les deux cas l'ocytocine est utilisée comme peptide de référence.

Les résultats sont résumés dans le Tableau I. Ils montrent :

(1) Que l'*[O-ethyl-Tyr²]*-ocytocine et l'*[O-methyl-Tyr²]*-ocytocine ont une affinité faible pour les récepteurs de la peau et de la vessie (environ 100 fois plus faible que celle de l'ocytocine).

(2) Que, pour les deux récepteurs étudiés, l'*[O-ethyl-Tyr²]*-ocytocine a une

TABLEAU I

ACTIVITÉS HYDROSMOTIQUE ET NATRIFÉRIQUE DE L' $[O\text{-ETHYL-TYR}^2]$ - ET DE L' $[O\text{-METHYL-TYR}^2]$ -OCYTOCINE

L'affinité et l'activité intrinsèque de l' $[O\text{-ethyl-Tyr}^2]$ - et de l' $[O\text{-methyl-Tyr}^2]$ -ocytocine sont exprimées par rapport à celles de l'ocytocine prise comme peptide de référence. Les valeurs numériques sont des moyennes accompagnées de leur déviation standard. Le nombre d'expériences est indiqué entre parenthèses. Les valeurs moyennes des activités intrinsèques relatives de l' $[O\text{-ethyl-Tyr}^2]$ -ocytocine et de l' $[O\text{-methyl-Tyr}^2]$ -ocytocine sont comparées à 1. Les seuils de probabilité correspondants (P) sont indiqués dans le tableau.

Peptide	Activité hydrosmotique		Activité natriférique	
	Affinité	Activité intrinsèque	Affinité	Activité intrinsèque
$[O\text{-Ethyl-Tyr}^2]$ -ocytocine	0.0092 ± 0.0002 (9)	0.35 ± 0.07 (9)	0.036 ± 0.011 (7)	0.18 ± 0.03 (7)
$[O\text{-Methyl-Tyr}^2]$ -ocytocine	0.039 ± 0.06 (13)	0.90 ± 0.03 (13)	0.019^*	1.00^*

* Ces valeurs ont été calculées à partir des résultats de MOREL ET BASTIDE¹.

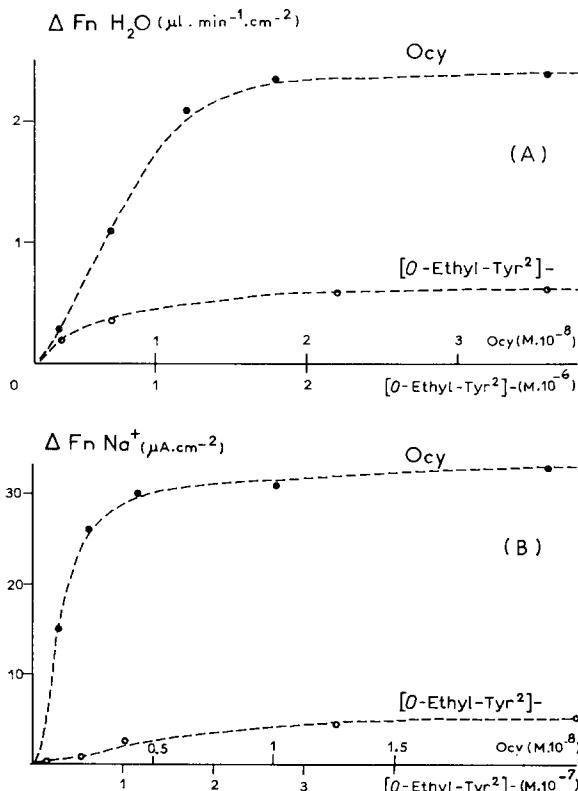


Fig. 1. Relations dose-effet biologique établies pour les actions hydrosmotique et natriférique de l' $[O\text{-ethyl-Tyr}^2]$ -ocytocine et de l'ocytocine (Ocy). La figure illustre les résultats de deux expériences caractéristiques. En ordonnées l'intensité de l'effet biologique (A: action hydrosmotique sur la vessie; B: action natriférique sur la peau). En abscisses la concentration de peptide dans le milieu d'incubation. La figure montre que l' $[O\text{-ethyl-Tyr}^2]$ -ocytocine produit des effets maximaux d'intensité plus faible que celle des effets maximaux de l'ocytocine.

activité intrinsèque très inférieure à celle de l'ocytocine (voir Fig. 1). Dans un groupe de 35 vessies normalement réactives à l'ocytocine l' $[O\text{-ethyl-Tyr}^2]$ -ocytocine n'a produit un effet hydrosmotique significatif que sur 9 d'entre elles. Seuls les résultats obtenus sur ces dernières ont été retenus pour l'établissement des moyennes figurant dans le Tableau I. Sur 14 peaux d'un groupe de 28 préparations réactives à l'ocytocine l' $[O\text{-ethyl-Tyr}^2]$ -ocytocine s'est montrée dépourvue d'activité natriférique.

(3) Que l'activité intrinsèque de l' $[O\text{-methyl-Tyr}^2]$ -ocytocine est au contraire très voisine de l'activité intrinsèque de l'ocytocine.

L' $[O\text{-ethyl-Tyr}^2]$ -ocytocine présente donc les caractères attendus d'un inhibiteur compétitif des effets de l'ocytocine sur la vessie et la peau de la grenouille.

Inhibition par l' $[O\text{-ethyl-Tyr}^2]$ -ocytocine des effets hydrosmotique et natriférique de l'ocytocine

Cette inhibition a été recherchée en comparant les effets de trois doses identiques d'ocytocine. La première est ajoutée seule au début de l'expérience, la seconde 10-15 min après l'addition d' $[O\text{-ethyl-Tyr}^2]$ -ocytocine et la troisième à nouveau seule en fin d'expérience. Les doses d'ocytocine sont choisies de manière à produire dans tous les cas un effet d'intensité voisine de la moitié de celle d'une dose maximale. L'inhibition a été recherchée pour plusieurs valeurs (comprises entre 10 et 135) du rapport des concentrations de l' $[O\text{-ethyl-Tyr}^2]$ -ocytocine et de l'ocytocine. L'intensité de l'inhibition est mesurée par la différence entre l'effet obtenu en présence de l'inhibiteur et la moyenne des effets de l'ocytocine ajoutée seule. Les résultats, résumés dans le Tableau II, montrent que l' $[O\text{-ethyl-Tyr}^2]$ -ocytocine inhibe partiellement les effets hydrosmotique et natriférique de l'ocytocine. Pour l'ensemble des expériences il n'apparaît pas de corrélation significative entre le pourcentage d'inhibition et le

TABLEAU II

INHIBITION PAR L' $[O\text{-ETHYL-TYR}^2]$ -OCYTOCINE DES EFFETS HYDROSMOTIQUE ET NATRIFÉRIQUE DE L'OCYTOCINE

L'intensité de l'effet hydrosmotique est exprimée en $\mu\text{l} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{cm}^{-2}$ et celle de l'effet natriférique en $\mu\text{A} \cdot 0.8 \text{ cm}^{-2}$. L'effet de l'ocytocine seule est la moyenne des effets des deux doses identiques d'hormone ajoutées seules l'une au début et l'autre à la fin de l'expérience. Les valeurs numériques sont des moyennes accompagnées de leur erreur standard. Le nombre d'expériences est indiqué entre parenthèses. La différence entre les effets de l'ocytocine mesurés en présence et en l'absence d' $[O\text{-ethyl-Tyr}^2]$ -ocytocine a été comparée à 0. Les valeurs de $P < 0.001$ montrent que l' $[O\text{-ethyl-Tyr}^2]$ -ocytocine inhibe significativement les effets hydrosmotique et natriférique de l'ocytocine.

$[O\text{-Ethyl-Tyr}^2]$ - (M)	$[O\text{-Ethyl-Tyr}^2]$ -/ ocytocine	Effet biologique					
		Moyenne	Valeurs extrêmes	$[O\text{-Ethyl-Tyr}^2]$ - Ocytocine (A)	Ocytocine + $[O\text{-ethyl-Tyr}^2]$ - (B)	$A - B$	
<i>Action hydrosmotique</i>							
$3.3 \cdot 10^{-7}$	38	10-135	0.09 ± 0.03	2.12 ± 0.18	0.82 ± 0.17	1.30 ± 0.31 (20)	$P < 0.001$
<i>Action natriférique</i>							
$1.3 \cdot 10^{-7}$	25	15-135	2.63 ± 0.39	7.64 ± 0.87	4.79 ± 1.03	2.85 ± 0.619 (28)	$P < 0.001$

rapport des concentrations de l'inhibiteur et du peptide actif: $r = 0.217$, $P > 0.1$ pour l'action hydrosmotique; $r = 0.186$, $P > 0.1$ pour l'action natriférique.

Spécificité de l'inhibition

Un protocole expérimental analogue a été employé pour la recherche d'une inhibition éventuelle par l' $[O\text{-ethyl-Tyr}^2]$ -ocytocine des effets hydrosmotique et natriférique du 3',5'-AMP et de l'effet natriférique de la noradrénaline sur la peau. Le 3',5'-AMP produisant des effets inconstants et dans la majorité des cas de faible intensité son action a été potentialisée par la théophylline, un inhibiteur de sa conversion enzymatique en 5'-AMP inactif. Les résultats résumés dans le Tableau III montrent que l' $[O\text{-ethyl-Tyr}^2]$ -ocytocine à des concentrations produisant une inhibition des effets de l'ocytocine ne modifie pas de manière significative des effets de même nature produits par l'addition de noradrénaline ou de 3',5'-AMP et de théophylline.

Réversibilité de l'inhibition

Dans une série d'expériences l'effet inhibiteur de l' $[O\text{-ethyl-Tyr}^2]$ -ocytocine a été recherché en ajoutant le peptide au maximum de l'effet produit par une dose sous maximale d'ocytocine. La Fig. 2 illustre les résultats de deux expériences caractéris-

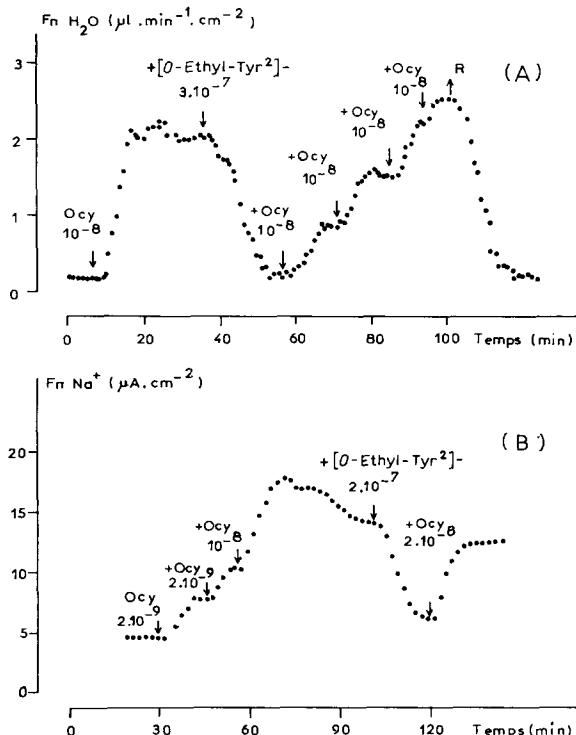


Fig. 2. Réversibilité de l'inhibition par l' $[O\text{-ethyl-Tyr}^2]$ -ocytocine des effets hydrosmotique et natriférique de l'ocytocine. La figure illustre les résultats des deux expériences caractéristiques. En ordonnées: le flux net d'eau à travers la vessie isolée (A) ou l'intensité du courant de court-circuit traversant la peau (B). En abscisses: le temps. La figure montre que l'addition d' $[O\text{-ethyl-Tyr}^2]$ -ocytocine au maximum de l'effet hydrosmotique ou natriférique d'une dose sous maximale d'ocytocine (Ocy) produit une inhibition marquée des effets de l'hormone. L'addition ultérieure de doses croissantes d'ocytocine permet de restaurer l'effet biologique initial.

TABLEAU III
INTERACTIONS ENTRE L' [*O*-ETHYL-TYR²]-OCYTOCINE ET LE 3',5'-AMP OU LA NORADRÉNAINE

Cf. Tableau II. Les valeurs de *P* indiquées dans la dernière colonne montrent que l' [*O*-ethyl-Tyr²]-ocytocine ne modifie pas de manière significative l'effet hydrosmotique du 3',5'-AMP et l'effet natrifrérique de la noradrénaline ou du 3',5'-AMP.

Concentration (M)	Effet biologique		A - B
	En l'absence d' [<i>O</i> -ethyl-Tyr ²]- (effet propre) (A)	En présence d' [<i>O</i> -ethyl-Tyr ²]- (B)	
<i>Effet hydrosmotique</i>			
$3 \cdot 10^{-7}$	(1) $5 \cdot 7 \cdot 10^{-4}$ (2) $1 \cdot 10^{-3}$	1.14 ± 0.04	1.94 ± 0.33
<i>Effet natrifrérique</i>			
$1.8 \cdot 10^{-7}$	(1) $5 \cdot 10^{-4}$ (2) $5 \cdot 7 \cdot 10^{-4}$	2.13 ± 1.16	15.60 ± 2.52
$1.9 \cdot 10^{-7}$	—	1.64 ± 0.29	10.50 ± 1.50

TABLEAU IV

COMPARAISON DES EFFETS DE DOSES SUPRAMAXIMALES D'OCYTOCINE MESURÉS EN PRÉSENCE ET EN L'ABSENCE D' [*O*-ETHYL-TYR²]-OCYTOCINE

Les valeurs numériques sont des moyennes accompagnées de leur déviation standard. La moyenne des différences entre les effets maximaux mesurés en l'absence et en présence d'
[*O*-ethyl-Tyr²]-ocytocine (A - B) est comparée à 0. Les valeurs de *P* obtenues indiquent que l'
[*O*-ethyl-Tyr²]-ocytocine ne modifie pas les intensités des réponses hydrosmotiques et natrifréiques de doses supramaximales d'ocytocine.

Action hydrosmotique	Action natrifrérique		A - B
	[<i>O</i> -Ethyl-Tyr ²]- = 0 (A)	+ [<i>O</i> -Ethyl-Tyr ²]- (B)	
<i>2.51 ± 0.19 (9)</i>	2.64 ± 0.22	-0.13 ± 0.11 $0.2 < P < 0.3$	19.6 ± 3.8
			19.4 ± 4.2

tiques. L'addition d' $[O\text{-ethyl-Tyr}^2]$ -ocytocine au maximum de l'action hydrosmotique ou natriférique de l'ocytocine produit une inhibition marquée des effets de l'hormone. Dans la majorité des cas l'inhibition ainsi obtenue est supérieure à celle que produit la même dose d' $[O\text{-ethyl-Tyr}^2]$ -ocytocine ajoutée avant l'ocytocine. De plus, comme le montre la Fig. 2 l'addition ultérieure de doses croissantes d'ocytocine permet de restaurer complètement l'effet biologique initial de l'hormone. De tels résultats suggèrent l'existence d'une fixation réversible de l'ocytocine et de l' $[O\text{-ethyl-Tyr}^2]$ -ocytocine sur les mêmes sites récepteurs, chacun des deux peptides pouvant être déplacé par un excès de l'autre.

Comparaison des effets maximaux de l'ocytocine mesurés en présence et en l'absence d' $[O\text{-ethyl-Tyr}^2]$ -ocytocine

Dans le but de définir la nature compétitive ou non compétitive de l'inhibition, nous avons comparé les intensités des effets maximaux produits sur la même préparation par de fortes doses d'ocytocine ($2 \cdot 10^{-8}$ à $1 \cdot 10^{-7}$ M) ajoutées soit seules soit en présence d' $[O\text{-ethyl-Tyr}^2]$ -ocytocine en concentration suffisante pour produire une inhibition significative des effets d'une dose sous maximale d'hormone. Les résultats résumés dans le Tableau IV montrent que la présence d' $[O\text{-ethyl-Tyr}^2]$ -ocytocine ne modifie pas de manière significative l'intensité de l'effet maximum de l'ocytocine (effets natriférique et hydrosmotique).

DISCUSSION

Parmi l'ensemble des analogues des hormones neurohypophysaires dont les activités hydrosmotique et natriférique sur la peau et la vessie des Amphibiens ont été mesurées (*cf.* réfs. 1, 2, 13, 14), l' $[O\text{-ethyl-Tyr}^2]$ -ocytocine représente le seul exemple pour lequel une modification de structure de la molécule hormonale entraîne non seulement une variation de son affinité apparente mais également une diminution importante de son activité intrinsèque. L'absence d'interaction entre l' $[O\text{-ethyl-Tyr}^2]$ -ocytocine et le 3',5'-AMP ou la noradrénaline montre en effet que la faible intensité de la réponse maximale à cet analogue ne peut être interprétée comme le résultat d'une inhibition non spécifique de son action par un contaminant éventuel accompagnant la préparation utilisée.

L'absence d'interaction entre l' $[O\text{-ethyl-Tyr}^2]$ -ocytocine et le 3',5'-AMP, le médiateur des actions hydrosmotique et natriférique des peptides neurohypophysaires sur la peau⁸ et la vessie⁹ des Amphibiens, montre également que l'inhibition des effets de l'ocytocine par l' $[O\text{-ethyl-Tyr}^2]$ -ocytocine est localisée à une étape précédant la production du médiateur et très vraisemblablement au niveau du récepteur hormonal lui-même. Cette inhibition pourrait résulter d'une fixation des deux peptides sur les mêmes sites récepteurs, la diminution de l'intensité de l'effet biologique traduisant la faible activité intrinsèque de l' $[O\text{-ethyl-Tyr}^2]$ -ocytocine. La reversibilité de l'inhibition suggère que la fixation sur le récepteur est elle-même de nature réversible. L'identité des réponses à des doses supramaximales d'ocytocine ajoutées soit seules soit en présence d' $[O\text{-ethyl-Tyr}^2]$ -ocytocine indique que l'inhibition observée est de type purement compétitif. La valeur moyenne des pourcentages d'inhibition mesurés est voisine de la valeur théorique que l'on peut calculer, dans l'hypothèse d'une interaction compétitive simple, à partir des affinités et activités intrinsèques de l' $[O\text{-ethyl-Tyr}^2]$ -

ocytocine et de l'ocytocine et des concentrations respectives des deux peptides dans le milieu d'incubation. Plusieurs observations indiquent cependant que les interactions entre l' $[O\text{-ethyl-Tyr}^2]$ -ocytocine et l'ocytocine sont de nature plus complexe. Ainsi, l'intensité de l'inhibition est plus importante lorsque l' $[O\text{-ethyl-Tyr}^2]$ -ocytocine est ajoutée au maximum de l'effet biologique produit par l'ocytocine que lorsqu'elle est mise au contact de la préparation avant l'addition du peptide actif. De même, pour l'ensemble des expériences effectuées, il n'apparaît pas de corrélation significative entre le pourcentage d'inhibition et le rapport des concentrations respectives de l'inhibiteur et du peptide actif dans le milieu d'incubation. Cette dernière observation est à rapprocher des résultats de KREJCI *et al.*^{6,15} obtenus avec l' $[O\text{-methyl-Tyr}^2]$ -ocytocine sur l'utérus isolé. Sur ce récepteur le rapport des concentrations d' $[O\text{-methyl-Tyr}^2]$ -ocytocine et d'ocytocine nécessaire pour produire une inhibition de 50% de la réponse à l'ocytocine varie de 12 à 125 pour les expériences effectuées sur l'utérus du rat et de 3 à 12 et parfois de 3 à 60 pour les expériences effectuées sur l'utérus de lapin.

Les résultats rapportés dans ce travail constituent le premier exemple d'une inhibition de type compétitif des effets de l'ocytocine sur la peau et la vessie des Amphibiens par l'un de ses analogues de structure. Ils montrent, que sur ces deux récepteurs également, les caractères de la molécule hormonale qui sont indispensables à la fixation sur le récepteur peuvent être dissociés de ceux qui confèrent son activité biologique au complexe formé. Cette dissociation peut être complète. En effet, sur plusieurs préparations l' $[O\text{-ethyl-Tyr}^2]$ -ocytocine s'est montrée complètement dépourvue d'activité biologique propre mais a produit une inhibition marquée des effets de l'ocytocine.

La comparaison des activités hydrosmotique et natriférique de l' $[O\text{-ethyl-Tyr}^2]$ -ocytocine et de l' $[O\text{-methyl-Tyr}^2]$ -ocytocine montre que ces deux analogues ont une affinité comparable pour les récepteurs de la peau et de la vessie, mais alors que l'activité intrinsèque de l' $[O\text{-ethyl-Tyr}^2]$ -ocytocine est considérablement diminuée sur les deux récepteurs étudiés, celle de l' $[O\text{-methyl-Tyr}^2]$ -ocytocine est égale à celle de l'ocytocine sur la peau et seulement légèrement diminuée sur la vessie (des résultats analogues ont été obtenus sur la vessie de *Bufo marinus*¹⁶. Ces observations sont à rapprocher des résultats de RUDINGER¹⁷ qui montrent que l' $[O\text{-ethyl-Tyr}^2]$ -ocytocine est un meilleur inhibiteur des actions utérotonique vasodepressive et natriurique¹⁸ de l'ocytocine que ne l'est l' $[O\text{-methyl-Tyr}^2]$ -ocytocine.

REMERCIEMENTS

Nous tenons à remercier le Docteur J. Rudinger et le Docteur K. Jost pour l'envoi d' $[O\text{-ethyl-Tyr}^2]$ - et d' $[O\text{-methyl-Tyr}^2]$ -ocytocine.

RÉSUMÉ

Les activités hydrosmotique et natriférique de l' $[2-O\text{-ETHYLTYROSINE}]$ -ocytocine sont étudiées chez la grenouille (*Rana esculenta*). L'action hydrosmotique est mesurée par l'augmentation de la perméabilité osmotique à l'eau de la vessie isolée et l'action natriférique par la stimulation du transport actif de Na^+ par la peau isolée. L'affinité de l' $[O\text{-ethyl-Tyr}^2]$ -ocytocine pour ces deux récepteurs est plus faible que celle de

l'ocytocine utilisée comme peptide de référence: 109 fois plus faible sur la vessie et 28 fois plus faible sur la peau. Son activité intrinsèque mesurée par l'intensité de l'effet biologique maximum ne représente que 35 % de celle de l'ocytocine sur la vessie et seulement 18 % sur la peau. L' $[O$ -ethyl-Tyr²]-ocytocine inhibe partiellement les effets hydrosmotique et natrifrérique de doses sous maximales d'ocytocine mais ne modifie pas des effets de même nature et d'intensité comparable produits par le 3',5'-AMP sur la vessie et par le 3',5'-AMP ou la noradrénaline sur la peau. L'inhibition est réversible. Les effets de doses supramaximales d'ocytocine ajoutées en présence ou en l'absence d'inhibiteur sont d'intensités identiques. Il est conclu que l' $[O$ -ethyl-Tyr²]-ocytocine se comporte comme un inhibiteur compétitif de l'ocytocine sur la peau et sur la vessie de la grenouille.

BIBLIOGRAPHIE

- 1 F. MOREL ET F. BASTIDE, in J. RUDINGER, *Oxytocin Vasopressin and their Structural Analogues*, Pergamon Press, New-York, 1964, p. 47.
- 2 H. RASMUSSEN, I. L. SCHWARTZ, R. YOUNG ET J. MARCAURELE, *J. Gen. Physiol.*, 46 (1963) 1171.
- 3 B. BERDE ET R. A. BOISSONNAS, in B. BERDE, *Neurohypophysial Hormones and Similar Polypeptides, Handbuch der Experimentellen Pharmakologie*, Vol. 23, Springer-Verlag, Berlin, 1968, p. 802.
- 4 H. SCHULZ ET V. DU VIGNEAUD, *J. Med. Chem.*, 9 (1966) 5015.
- 5 A. L. ZHUZE, K. JOST, E. KASAFIREK ET J. RUDINGER, *Collection Czech. Chem. Commun.*, 29 (1964) 2648.
- 6 I. KREJCI, I. POLACEK ET J. RUDINGER, *Brit. J. Pharmacol.*, 30 (1967) 506.
- 7 S. JARD, *J. Physiol. Paris, Suppl.*, 58 (1966) Suppl., p. 1.
- 8 F. BASTIDE ET S. JARD, *Biochim. Biophys. Acta*, 150 (1968) 113.
- 9 J. ORLOFF ET J. S. HANDLER, *Am. J. Med.*, 36 (1964) 686.
- 10 J. BOURGUET ET S. JARD, *Biochim. Biophys. Acta*, 88 (1964) 442.
- 11 H. H. USSING ET K. ZERAHN, *Acta Physiol. Scand.*, 23 (1951) 10.
- 12 F. MOREL, M. ODIER ET C. LUCARAIN, *J. Physiol. Paris*, 53 (1961) 757.
- 13 I. L. SCHWARTZ ET L. M. LIVINGSTON, *Vitamins Hormones*, 22 (1964) 261.
- 14 F. MOREL ET S. JARD, in B. BERDE, *Neurohypophysial Hormones and Similar Polypeptides, Handbuch der Experimentellen Pharmakologie*, Vol. 23, Springer-Verlag, Berlin, 1968, p. 655.
- 15 I. KREJCI, I. POLACEK ET J. RUDINGER, in V. R. PICKLES AND FITZPATRICK, *Endogenous Substances Affecting the Myometrium, Mem. Soc. Endocrinol.*, Vol. 14, Cambridge University Press, London, 1966, p. 171.
- 16 P. EGGENA, I. L. SCHWARTZ ET R. WALTER, *J. Gen. Physiol.*, 52 (1968) 465.
- 17 J. RUDINGER, *Proc. 2nd Intern. Congr. Endocrinol.*, London, 1964, Excerpta Medica Foundation, Amsterdam, 1965, p. 1202.
- 18 J. H. CORT, J. RUDINGER, B. LICHARDUS ET I. HAGEMAN, *Am. J. Physiol.*, 210 (1966) 162.

Biochim. Biophys. Acta, 196 (1970) 85-94