

Revisión

Historia y uso de los oxitócicos

C. E. C. den Hertog*, A. N. J. A. de Groot, P. W. J. van Dongen

*Departamento de Obstetricia y Ginecología, Hospital de la Universidad de Nijmegen, St. Radboud, Apartado de Correos 9101, 6500 HB,
Nijmegen, Holanda*

Aceptado: 21 febrero 2000

Resumen

El fármaco oxitócico más conocido que puede utilizarse actualmente para la inducción del trabajo del parto o después del parto es la oxitocina. En 1954, el bioquímico americano Vincent du Vigneaud fue el primero que describió un octapéptido amídico con actividad hormonal de oxitocina. Un año más tarde pudo sintetizar este octapéptido amídico. El mismo año recibió el premio Nobel por su trabajo en el campo de la bioquímica. En este artículo reproducimos esta brillante publicación [con autorización de los editores de la revista *J Am Chem Soc* (Figura 1)]. Con ligeros cambios en la estructura, du Vigneaud fue capaz de sintetizar no sólo oxitocina sino también vasopresina. En nuestro artículo, sin embargo, nos centraremos sólo en la oxitocina, ya que esta hormona sintética ha alcanzado gran importancia en obstetricia. Se usa para la prevención de la hemorragia postparto, así como para la inducción del parto. © 2001 Elsevier Science Ireland LTD. Reservados todos los derechos.

Palabras clave: Cáncer; Laparoscopia; Peritoneo; Diseminación; Cirugía; Experimentos con animales.

Introducción

En el siglo veinte sigue existiendo la mortalidad materna. La introducción de los antibióticos y de las medidas higiénicas, así como el aumento del conocimiento de las causas de la muerte materna han hecho posible que se reduzca la mortalidad materna.

Una de las razones de la muerte materna es la hemorragia postparto (HPP), definida por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como una pérdida de sangre superior a 500 ml.

El origen de la HPP puede deberse al menos a tres procesos:

- separación de la placenta
- actividad uterina después de la separación de la placenta

- cascada de la coagulación y fibrinólisis después de la separación placentaria.

Entre las pacientes con riesgo de HPP están las mujeres con eclampsia, hemorragias preparto, pérdida de sangre intraparto y aquellas que tuvieron una primera fase del parto larga y/o un parto instrumental difícil. Si la HPP no se trata, puede producir shock y muerte de la madre (especialmente en mujeres con anemia grave). El grupo de trabajo técnico de la OMS [11] sugirió que debe evitarse la HPP mediante tratamiento activo en la tercera fase del parto. Usando un fármaco oxitócico se ha conseguido un descenso medio del 40% de la incidencia de HPP, lo que ha demostrado la eficacia de este tratamiento [2]. Con el fin de encontrar el mejor tratamiento, se han realizado varios estudios aleatorios. A lo largo de estos estudios se ha demostrado que la medida preventiva de administrar 10 UI

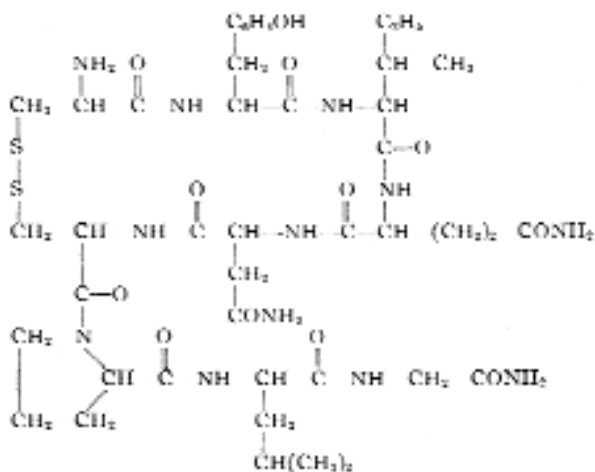
Cinco de octubre de 1953

Cartas al Director

SÍNTESIS DE UN OCTAPÉPTIDO AMÍDICO CON LA ACTIVIDAD HORMONAL DE OXITOCINA

Señor:

En este laboratorio hemos obtenido preparaciones muy purificadas de oxitocina, la principal hormona inductora de contracciones uterinas y de secreción de leche de la pituitaria posterior, que después de hidrólisis dio equivalentes de leucina, isoleucina, tirosina, prolina, ácido glutámico, ácido aspártico, glicina y cistina, y tres equivalentes de amoniaco^{1,2,3,4}. El principio activo parecía ser un polipéptido de peso molecular aproximadamente 1000^{5,6}. Los estudios de degradación indicaron la presencia de algún tipo de disulfuro cíclico^{6,7}. En posteriores estudios de degradación^{5,8,9,10}, junto con la consideración de que había residuos de glutamina y asparagina, en vez de sus isómeros, se sugirió a la siguiente estructura¹⁰ para oxitocina, teniendo los aminoácidos la configuración L.



A partir del trabajo de Sealock y Du Vigneaud¹¹ se supo que la oxitocina podría reducirse y reoxidarse sin que se produjera una

- (1) A. H. Livermore and V. du Vigneaud, *ibid.*, 182, 359 (1950).
- (2) J. G. Pierce and V. du Vigneaud, *ibid.*, 182, 359 (1950).
- (3) J. G. Pierce, S. Gordon and V. du Vigneaud, *ibid.*, 199, 929 (1952).
- (4) J. G. Pierce, S. Gordon and V. du Vigneaud, *ibid.*, 199, 929 (1952).
- (5) C. Ressler, S. Trippett and V. du Vigneaud, *ibid.*, in press.
- (6) J. M. Mueller, J. G. Pierce and V. du Vigneaud, *ibid.*, in press.
- (7) R. A. Turner, J. G. Pierce and V. du Vigneaud, *ibid.*, 193, 359 (1951).
- (8) H. Davoll, R. A. Turner, J. G. Pierce and V. du Vigneaud, *ibid.*, 198, 363 (1951).
- (9) J. M. Mueller, J. G. Pierce and V. du Vigneaud, *ibid.*, in press.
- (10) V. du Vigneaud, C. Resaler and S. Trippett, *ibid.*, in press.
- (11) R. R. Scalock and V. du Vigneaud, *J. Pharmacol. and Exp. Therap.*, 54, 433 (1935).

inactivación apreciable y que el tratamiento del material reducido con cloruro de bencilo producía pérdida de actividad. Si la oxitocina pudiera regenerarse desde la oxitocina benzilada y si la estructura propuesta fuera correcta, se conseguiría la síntesis total de la hormona a partir de la preparación del derivado nonapéptido, N-carbobenzoxi-S-benzil-L-cisteinil-L-tirosinil-L-isoleucil-L-glutaminil-L-asparaginil-S-benzil-L-cisteinil-L-prolil-L-leucilglicina amida (I).

Se investigó después la preparación de S,S'-dibenziloxitocina a partir de la hormona natural y su posible reconversión a oxitocina. La oxitocina, con sodio en amoniaco líquido, seguido de cloruro de bencilo, ha dado el derivado bencilo deseado, a partir del cual la hormona puede regenerarse por desbenzilación por el método sodio-amoniaco líquido¹² seguido de oxidación con aire.

La síntesis se consiguió acoplado N-carbobenzoxi-S-benzil-L-cisteinil-L-tirosina (II) con el heptapéptido amídico L-isoleucil-L-glutaminil-L-asparaginil-S-benzil-L-cisteinil-L-prolil-L-leucilglicina amida (V), preparado a partir de tosil-L-isoleucil-L-glutaminil-L-asparagina (IV), y del tetrapéptido amídico, S-benzil-L-cisteinil-L-prolil-L-leucilglicina amida (III).

Se condensó etil-L-glucinato con carbobenzoxi-L-prolina por el procedimiento anhídrido mezclado con isovaleril¹³ para dar etil-carbobenzoxi-L-prolil-L-leucilglicinato, m.p. 148-149°, [α]_D²⁵ -79,8° (c 2,5 etanol) (Calculado para C₂₃H₃₃O₆N₂: C, 61,7; H, 7,43; N, 9,39. Se encontró: C, 61,8; H, 7,65; N, 9,24). Este último se redujo catalíticamente y después se acopló con biscarbobenzoxi-L-cisteinil biscloruro. El producto saponificado se redujo y se benziló en amoniaco líquido para dar S-benzil-L-cisteinil-L-prolil-L-leucilglicina, que se esterificó al correspondiente benzil éster hidrocioruro, m.p. 193-194° dec (Calculado para C₃₀H₄₁O₅N₂·S·Cl: N, 9,26 S, 5,30. Se encontró: N, 9,17, S, 5,36). El tratamiento del bencil éster con amoniaco metanólico dio el tetrapéptido amida III.

Se acopló 1-tosilpirrolid-5-1-2-carboxil cloruro, formado a partir de ácido tosil-L-glutámico y pentacloruro de fósforo, con L-asparagina y el resultante N-(1'-tosilpirrolid-5'-1-2'-carboxil)-L-asparagina, m.p. 150-151° (Calculado para C₁₆H₁₉O₇N₂S: C, 48,4; H, 4,82; N, 10,6. Se encontró: C, 47,9; H, 5,04; N, 10,4) fue tratado con amoniaco acuoso. Después de la eliminación del grupo tosil del tosil-L-glutaminil-L-asparagina, m.p. 197-198° (Calculado para C₁₆H₂₂O₇N₂S: C, 46,4; H, 5,35; N, 13,5; N amida, 6,7. Se encontró: C, 46,3; H, 5,55; N, 13,2, N amida, 6,6) mediante sodio en amoniaco líquido¹⁴, el dipéptido, m.p. 210-211° dec., [α]_D²¹ +17,1° (c 1,5, agua) (Calculado para C₉H₁₆O₅N₄: C, 41,5; H, 6,20; N, 21,5. Se encontró: C, 41,2; H, 6,60; N, 21,3) se acopló con tosil-L-isoleucil cloruro para dar tosil-L-isoleucil-L-glutaminil-L-asparagina (IV), m.p. 225-226° [α]_D²² -28,9° (c 1,76, 0,5 N KHCO₃) (Calculado para C₂₂H₃₃O₈N₅S: C, 50,1; H, 6,30; N, 13,3, equiv. peso 527. Se encontró: C, 49,4; H, 6,55; N, 13,2, equiv. peso, 526). Este nuevo procedimiento de péptidos glutaminílicos ha permitido también hacer una síntesis excelente de glutamina.

III se condensó con IV por el método del pirofosfito¹⁵ para dar tosil-L-isoleucil-L-glutaminil-L-asparaginil-S-benzil-L-cisteinil-L-prolil-L-leucilglicina amida, m.p. 235-236° dec. (Calculado para C₄₆H₆₆O₁₁N₁₀S₂: C, 54,8; H, 6,74; N, 14,2. Se encontró: C, 54,4; H, 6,85; N, 13,8). El último fue tratado con sodio en amoniaco líquido seguido de cloruro de bencilo para dar V, que fue condensado similarmente con el dipéptido protegido II^{16,17} para dar el derivado nonapéptido deseado (I). Fueron tratados 360 mg del último en varios grupos con sodio en amoniaco líquido seguido de aireación en solución acuosa diluida a pH 6,5. El producto combinado se ensayó por el método del "depressor del pollo"^{18,19} y poseía un total de aproximadamente 29.000 unidades de actividad. El material fue

- (12) R. H. Sifferd and V. du Vigneaud, *J. Biol. Chem.*, 108, 753 (1935).
- (13) J. R. Vaughan, Jr., and R. L. Osato, *This Journal*, 73, 5553 (1951).
- (14) V. du Vigneaud and O. K. Behrens, *J. Biol. Chem.*, 117, 27 (1937).

Figura 1. Síntesis de un octapéptido amídico con la actividad hormonal de oxitocina. Reproducido con permiso [9].

sometido a distribución contracorriente en alcohol *s*-butil y ácido acético. La actividad se encontró concentrada en un máximo ($k=0,34$).

El material del tubo máximo no fue distinguible en potencia de una de nuestras mejores preparaciones de oxitocina natural, cuando éstas se ensayaron repetidamente una frente a otra. El material aislado tuvo una actividad ligeramente más baja.

El material sintético poseía la actividad oxitócica esperada del útero de rata aislado. Además, el producto sintético fue completamente eficaz para estimular el parto en seres humanos²⁰. El material sintético igualmente poseía actividad secretora de leche en seres humanos; aproximadamente una γ del material sintético natural administrada por vía intravenosa a pacientes producía la secreción de leche en 20-30 segundos²⁰.

El material sintético poseía la rotación específica $[\alpha]^{21,50} - 26,1 \pm 1,0^\circ$ (c 0,53, agua) comparada con $[\alpha]^{22D} - 26,2^\circ \pm 1,0^\circ$ (c 0,53, agua) para la oxitocina natural. Formaba un derivado flavianato activo⁴ idéntico en el punto de fusión y forma cristalina (agujas finas sedosas) con el obtenido de la oxitocina natural. La composición de aminoácidos del material sintético después de la hidrólisis determinada con la columna de almidón²¹, expresada en proporciones molares, fue: leucina 1,0, isoleucina 1,0, tirosina 0,83, prolina 0,92, ácido glutámico 0,91, ácido aspártico 0,93, glicina 0,98, cistina 0,87 y amoniaco 3,04. Los coeficientes de distribución en *s*-butil-alcohol-ácido acético y *s*-butil-alcohol-amoniaco y las movilidades electroforéticas en papel (pH 4,6 y pH 10,7) fueron similares para el material sintético y la oxitocina natural. No se encuentran diferencias en los modelos infrarrojos.

Si el producto sintético verdaderamente corresponde a la oxitocina, que es lo que parece por lo que hemos podido confirmar, esto constituiría la primera síntesis de una hormona polipeptídica. Debe investigarse qué efecto pueden tener sobre las propiedades químicas y físicas y biológicas ligeros cambios en la estructura de un compuesto de dicha complejidad.

Vincent du Vigneaud²²
Charlotte Ressler
John M. Swann²³
Carleton W. Roberts
Panayotis G. Katsoyanis²⁴
Samuel Gordon²⁵

Departamento de Bioquímica
Facultad de Medicina de la Universidad de Cornell
Nueva York, NY

Recibido el 13 de julio de 1953

(15) G. W. Anderson, J. Blodinger and A. D. Welcher, *This Journal*, 74, 5309 (1952).

(16) C. R. Harington and R. V. Pitt Rivers, *Biochem. J.*, 38, 417 (1944).

(17) C. W. Roberts and V. du Vigneaud, *J. Biol. Chem.*, in press.

(18) J. M. Coon, *Arch. intern. pharmacodynamie*, 62, 79 (1939).

(19) *The pharmacopeia of the United States of America*, fourteenth revision, 1950.

(20) The milk-ejecting and uterine-contracting activities in the human were tested through the kindness of Professor R. Gordon Douglas, Dr. Kenneth G. Nickerson and Professor Roy W. Bonsnes of our Department of Obstetrics and Gynecology.

(21) S. Moore and W. H. Stein, *J. Biol. Chem.*, 173, 53 (1949).

(22) Expresamos nuestro agradecimiento a la división de Laboratorios Lederle, Compañía Cyanamid Americana, por la beca de investigación que ha ayudado considerablemente a realizar este estudio. Asimismo, expresamos nuestro agradecimiento a Parke, Davis & Company, Armour & Company y a Eli Lilly & Company por poner a nuestra disposición el material de la pituitaria posterior que fue usado como comienzo para preparar la oxitocina purificada.

(23) Beca Fullbright en Smith Mundt, con autorización del Laboratorio de Investigación Textil de la Lana, CSIRO, Australia

(24) Miembro de la Fundación de Becas Estatales de Grecia

(25) Miembro del Servicio de Investigación de la Salud Pública.

de oxitocina es la más satisfactoria [3]; actualmente, se utiliza como estándar de la OMS. La oxitocina es una hormona principal de la hipófisis posterior que produce contracción uterina y secreción de leche y se forma en el hipotálamo (núcleo paraventricular).

Historia

Los uterotónicos se dividen en tres grupos farmacológicos diferentes:

1. alcaloides del cornezuelo de centeno
2. oxitocina
3. prostaglandinas

A lo largo de la historia, los primeros fármacos que se utilizaron por sus propiedades uterotónicas fueron los alcaloides del cornezuelo de centeno, en segundo lugar, la oxitocina y, por último, las prostaglandinas.

Alcaloides de secale

En 1582 [4] se describió por primera vez que las espigas de secale cornutum provocaban una reacción contráctil durante el parto. Sin embargo, el uso de secale cornutum se asociaba frecuentemente con muerte materna y fetal. Esto explica por qué la designación *pulvis ad partum* se cambió por la de *pulvis ad mortem*. Por esta razón se interrumpió su uso durante el parto en 1828: el uso de alcaloides durante el parto demostró que el intervalo entre la inducción y el parto se acortaba a sólo 4 horas, generalmente, con resultados desastrosos, como rotura uterina y muerte fetal [5]. En los años siguientes se describió un número considerable de alcaloides. En 1932, Dudley y Moir [6] pudieron aislar el específico uterino ergometrina, con propiedades menos vasoespásticas.

La metilergometrina y la ergometrina reducen la pérdida sanguínea postparto mediante una reacción uterina llamada tetánica. Pero los efectos secundarios de los alcaloides del cornezuelo de centeno limitan su uso. Además, los alcaloides son menos estables que la oxitocina.

El almacenamiento de comprimidos y ampollas de ergometrina produjo un descenso de sus componentes eficaces debido al calor, la luz y la humedad [7]. Por lo tanto, no son útiles si no se almacenan adecuadamente.

Oxitocina

En 1909, Sir Henry Dale descubrió la oxitocina [8]. Describió el efecto contráctil uterino de oxitocina y después de analizarlo llegó a la conclusión de que esta sustancia procedía de la glándula pituitaria posterior. En 1954, V. du Vigneaud fue el primero que demostró que la oxitocina era un polipéptido. A partir de la síntesis del derivado nonapéptido (que contenía dos residuos de cisteína) pudo sintetizar un octapéptido amídico (contenía cistina: un

residuo de dos cisteínas con puentes de S) con actividad hormonal de oxitocina [9].

Al mismo tiempo, muchos estudios demostraron que la oxitocina podía ayudar a optimizar el parto sin producir efectos secundarios desastrosos. El conocimiento de su estructura, origen y efectos dio lugar a proyectos de investigación con diferentes puntos de vista. En 1992 [10] se encontró que se producía un pico nocturno en las concentraciones plasmáticas de oxitocina relacionado con el pico nocturno de la actividad uterina al final de la gestación.

En 1988 se llegó a la conclusión de que la oxitocina, si se usaba correctamente, es importante en el control médico del parto en la obstetricia moderna [11]. Si la interrupción de la gestación es más beneficiosa para la madre o el feto que continuar la gestación, está indicada la inducción. Sin embargo, los riesgos de la inducción, es decir, sufrimiento fetal, disfunción e hiperestimulación uterina, no deben olvidarse. Por otra parte, si se utiliza adecuadamente la oxitocina, estos riesgos pueden reducirse.

Estos investigadores detallaron la importancia que tenía la indicación correcta y la administración cuidadosa de esta sustancia. La aplicación de oxitocina si existe un estado desfavorable del cérvix tiene más desventajas que ventajas. Es necesario preparar el cuello uterino si se va a utilizar oxitocina. Para evitar los efectos secundarios mientras se usa oxitocina, es importante también administrar la dosis correcta. Si la dosis de oxitocina se aumenta en intervalos mucho menores de 40 minutos, puede producir hiperestimulación y/o sufrimiento fetal. Siempre debe utilizarse con precaución: "las prisas no son buenas". En 1993, Orhue [12] demostró en un estudio aleatorio que un sistema de infusión de oxitocina con incrementos cada 30 minutos es más seguro que el sistema de incrementos cada 15 minutos. El régimen de incrementos a los 30 minutos produjo menos partos precipitados, menos hiperestimulación uterina, hemorragia postparto, desgarro perineal y puerperal. Randolph y Fuchs estudiaron otro método. Establecieron la hipótesis de que la inducción del parto es más similar al parto espontáneo si se administra la oxitocina en pulsos de 10 minutos en vez de en infusión continua [13].

Para evitar la hiperestimulación uterina con oxitocina, se estableció el uso de Unidades Montevideo (UM). En 1957, Álvarez y Caldeyro-Barcia [14] demostraron que la actividad uterina podría cuantificarse como un producto de la intensidad de la presión intrauterina en mm Hg y la frecuencia de contracciones uterinas en 10 minutos. Este cociente puede ayudar a establecer la dosis correcta de oxitocina, es decir, a una concentración de 150-180 MU como máximo.

Una desventaja de la oxitocina es su semivida corta. Se están llevando a cabo estudios con carbetocina, un análogo de oxitocina que tiene una acción prolongada similar a la de metilergometrina y carece de los efectos secundarios de ergometrina. Éste podría ser el fármaco alternativo adecuado para evitar la HPP en el próximo milenio, reduciendo posiblemente la mortalidad materna debida a HPP [15].

El conocimiento de la estructura de la oxitocina hizo posible encontrar la enzima oxitocinasa [16], que es responsable de la destrucción de oxitocina. Sólo se encontró oxitocina en suero de mujeres gestantes. En 1950, Werle et al. [17] encontraron actividad oxitocinasa sólo en mujeres con placenta. Como consecuencia, parece que esta enzima se produce en este órgano. En un futuro próximo será posible buscar más información sobre la actividad o la insuficiencia de la placenta, mediante la investigación de la oxitocinasa.

Otras posibilidades del uso de oxitocina se discutieron en 1994 [18]. Se sugirió que la oxitocina debe tener otras acciones distintas de las conocidas, que son promover el parto y la secreción de leche, porque no sólo es una hormona periférica: cuando se perfunde oxitocina en el cerebro del ratas hembras tratadas con estrógenos, la actividad sexual se estimula considerablemente. ¿Es posible que tenga una actividad psicofarmacológica?

Prostaglandinas

Otros fármacos oxitócicos son las prostaglandinas. Producen actividad tetánica miometrial fuerte. Sin embargo, su uso para la profilaxis de la HPP no puede establecerse todavía. Además, se ha demostrado que las prostaglandinas no pueden dar el estímulo primario para el pico de medianoche de la actividad uterina de mujeres.

Sin embargo, desempeñan algún papel en el manejo de la hemorragia postparto [19]. Además, 4 mg de prostaglandina (PGE₂) han demostrado ser un método eficaz y bien tolerado para madurar el cuello, con el fin de inducir el parto. En casos de muerte fetal intrauterina, la infusión intravenosa de prostaglandinas sirve para la terminación de la gestación. Los parámetros implicados son eficacia, vía de administración y propiedades farmacocinéticas. El oxitócico de elección para la prevención de la HPP es todavía 10 UI de oxitocina intramuscular, debido a los pocos efectos secundarios que tiene en comparación con la ergometrina [7,20].

Sugerencias para el próximo milenio en cuanto a la prevención de la HPP

En la obstetricia actual, está perfectamente establecido el uso de oxitocina. Sin embargo, parece que se han agotado todas las posibilidades de este fármaco. Por tanto, es necesario continuar la investigación sobre alternativas fáciles en el próximo siglo. Necesitamos un fármaco que sea barato, de forma que pueda usarse a gran escala en los países en desarrollo; al mismo tiempo debería ser fácil de administrar. La prostaglandina oral como prevención de la HPP, que se está investigando actualmente en un estu-

dio multinacional de la OMS sobre misoprostol (todavía sin publicar), puede ser una solución para el próximo milenio.

Referencias

- [1] The prevention and management of Postpartum haemorrhage. Report of a technical working group. Geneva 3-6 July 1989. Document World Health Organization/Maternal and Child Health 90.7:Geneva: World Health Organization, 1989.
- [2] Prendiville WJ, Elbourne DR, Chalmers I. The effects to routine oxytocic administration in the management of the third stage of labour: an overview of the evidence from controlled trials. *Br J Obstet gynaecol* 1988;95:3-16.
- [3] Prendiville WJ. The prevention of post partum haemorrhage: optimising routine management of the third stage of labour. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1996;69:19-24.
- [4] Tulasne LR. Mémoire sur l'Ergot des Glumacées. *Ann Sci Nat Botanique* 1853;20:5-56.
- [5] Hosack D. Observations on ergot, No. 19. In: *Essays on various subjects of medical science*, new York 1824;2:295-301.
- [6] Dudley HW, Moir C. The substance responsible for the traditional clinical effect of ergot. *Br Med J* 1935;1:520-3.
- [7] de Groot ANJA, van Dongen PWJ, Vree TB, Hekster YA, van Roosmalen J. Ergot Alkaloids. Current status and review of clinical pharmacology and therapeutic use compared with other oxytocics in Obstetrics and Gynaecology. *Drugs* 1998;56:523-35.
- [8] Dale HH. The Action of Extracts of the Pituitary Body. *Biochem J* 1909;4:427-47.
- [9] du Vigneaud V, Ressler C, Swan JM, Roberts CW, Katsoyannis PG, Gordon S. The synthesis of an octapeptide amide with the hormonal activity of oxytocin. *J Am Chem Soc* 1954;75:4879-80.
- [10] Fuchs AR, Behrens O, Lin HCh. Correlation of nocturnal increase in plasma oxytocin with a decrease in plasma estadiol/progesterone ratio in late pregnancy. *Am J Obs Gynecol* 1992;1559-62.
- [11] Brindley BA, Sohal RJ. Induction and augmentation of labor review. *Ob Gyn Surv* 1988;43:730-40.
- [12] Orhue AAE. A randomized trial of 30-min and 15-min oxytocin infusion regimen for induction of labor at term in women of low parity. *Int J Gyn Obst* 1993;40:219-25.
- [13] Randolph GW, Fuchs AR. Pulsatile administration of oxytocin reduces the dose required for induction of labour. Abstract at the Society of Gynaecology Investigation Meeting 1986;S-4:112.
- [14] Caldeyro-Barcia R, Sica-Blanco Y, Poseiro JJ, Gonzalez-Pamizza V, Mendez-Bauer C, Fielits C, Alvarez H, Pose SV, Hendricks CH. A quantitative study of the action of synthetic oxytocin on the pregnant human uterus. *J. Pharmacol Exp Ther* 1957;121:18.
- [15] van Dongen PWJ, Verbruggen MM, de Groot ANJA, van Roosmalen J, Sporken MJ, Schulz M. Ascending dose tolerance study of intramuscular carbetocin administered after normal vaginal birth. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1998;77:181-7.
- [16] Bruyckere RH. Applications of Oxytocinate Determination in Obstetrics. Thesis, Nijmegen, The Netherlands, 1990.
- [17] Werle E, Semm K, Enzenbach R. Über die Oxytocinate des Schwangerenblutes und der Erythrozyten. *Arch Gynäk* 1950;177:211.
- [18] Herbert J. Oxytocin and sexual behavior. *Br Med J* 1994;309:891-2.
- [19] Rall TW. Drug affecting uterine motility. Oxytocin, prostaglandins, ergot alkaloids and other drugs; tocolytic agents. In: Goodman-Gilman A, Raal TW, Nier AS, Taylor P, editors, *The pharmaceutical basis of therapeutics*, 8th ed, New York: Goodman and Gilman's, 1990, pp. 933-53, Chapter 39.
- [20] Mac Donald SJ, Prendiville WJ, Blair E. Randomized control trial of oxytocin alone versus oxytocin and ergometrine in active management in third stage of labour. *Br Med J* 193;307:1167-71.