Las fenil alcohol amidas demuestran efectos diferentes al antiepiléptico mediante pruebas conductuales

Camacho-Sánchez MI,[1] Chamorro Cevallos G,[2] Salazar Jacobo M[2]

RESUMEN

Introducción: *La 3-hidroxi, 3-etil, 3-fenil propionamida (HEPP) y 4-hidroxi, 4-etil, 4-fenil butiramida (HEPB) inhiben cuadros convulsivos inducidos por 4- aminopiridina (4-AP), bicuculina (BIC) y pentilentetrazol (PTZ). Estudios previos han demostrado que algunos antiepilépticos actúan sobre sistema nervioso central (SNC) produciendo efectos farmacológicos diferentes, por ejemplo la difenilhidantoína puede emplearse en desórdenes de la conducta y arritmias cardiacas, las benzodiacepinas (BZ) actúan como ansiolíticos e hipnosedativos. En este trabajo se explora la eficacia antiepiléptica vía oral de HEPP y HEPB, así como algún otro tipo de efecto sobre SNC.* ***Material y métodos:*** *Se estudiaron seis grupos de ratones machos CF-1, cada grupo tratado con: 1) solución salina 0.9% (testigo), 2) diacepam 0.75 mg/kg, 3) HEPP 63 mg/kg, 4) HEPP 144 mg/kg, 5) HEPB 63 mg/kg, y 6) HEPB 148 mg/kg, respectivamente, se hicieron pruebas conductuales de coordinación motora, actividad exploratoria, locomotora y temperatura corporal. Al mismo tiempo se diseñó un estudio para evaluar la eficacia antiepiléptica vía oral de HEPP y HEPB, donde las crisis epilépticas fueron inducidas por administración intraperitoneal de 85 mg/kg de PTZ.* ***Resultados:*** *Los datos obtenidos demuestran que HEPP y HEPB además del efecto anticonvulsionante también producen sedación, modificación de la conducta exploratoria, actividad antipsicótica, ansiolítica, hipotermia y potenciación de la hipnosis inducida por pentobarbital. HEPP y HEPB presentan efectividad anticonvulsionante vía oral; las DE_{50} calculadas para HEPP y HEPB fueron 130.4 mg/kg y 153.5 mg/kg, respectivamente.* ***Conclusiones:*** *HEPP y HEPB presentan acción antiepiléptica vía oral y otros efectos en SNC de ratón, lo cual es una ventaja que justificaría su síntesis y empleo aun y cuando existan en el mercado ansiolíticos o sedantes eficaces como BZ o diacepam.*

Palabras clave: *ratones, efectividad anticonvulsionante, prueba neuroconductuales*

Rev Mex Neuroci 2004; 5(5): 435-440

Phenyl alcohol amides show different effects on antiepileptic patients using conductual tests

ABSTRACT

Introduction: *The 3-hydroxy, 3-etil, 3-fenil propionamide (HEPP) y 4-hydroxy, 4-ethyl, 4-phenyl butyramide (HEPB) inhibit seizures induced by agents such as 4-amino-pyridine (4-AP), bicuculine (BIC) and penty-lentetrazol (PTZ). Previous studies have shown that anti-epileptic drugs produce different pharmacologic effects on the Central Nervous System (CNS). Difenilhidantoin can be used to treat behaviour disorders and arrhythmia; benzodiazepines (BZ) can act as anxiolytic and hypnosedative. This work explores the efficiency of HEPP and HEPB and also other effects on CNS when administered orally.* ***Material and methods:*** *Six different male CF-1 mice groups were treated with: 1) saline solution 0.9% (control) , 2) diazepam 0.75 mg/kg, 3) HEPP 63 mg/kg, 4) HEPP 144 mg/kg, 5) HEPB 63 mg/kg, 6) HEPB 148 mg/kg respectively in order to perform conductual tests including motor coordination, exploratory activity, locomotive activity and body temperature. Also a study was performed to assess the anti-epileptic efficiency of HEPP and HEPB through oral administration on individual subject to epileptic crisis induced by intraperitoneal administration of 85 mg/kg PTZ.* ***Results:*** *HEPP y HEPB had an anti-convulsive effect on epileptic-induced mice. In addition these two drugs produce drowsiness, modifies the exploratory, anti-psychotic and anxiolitic conducts, hypothermia, and also produce potentiation of the induced hypnosis by pentobarbital. Both, HEPP and HEPB, are effective anticonvulsives when taken orally; the estimated DE_{50} for each on them was 130.4 mg/kg and 153.5 mg/kg, respectively.* ***Conclusions:*** *HEPP y HEPB have anti-epileptic action in addition to other effects on the CNS, when administered orally. This could represent on advantage for the treatment of epilepsy, despite the existence of sedative and anxiolytics like BZ and diazepam.*

Key words: *Mice, effective anticonvulsives, and behavioral test.*

Rev Mex Neuroci 2004; 5(5): 435-440

1. M. en C. Instituto de Ecología, Universidad del Mar. Ciudad Universitaria, Puerto Ángel, Oaxaca, México.
2. Dr. Laboratorio de Toxicología Preclínica, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, IPN.
3. M. en C. Laboratorio de Toxicología Preclínica, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, IPN.

Correspondencia: Minerva Isis Camacho Sánchez
Instituto de Ecología, Universidad del Mar. Ciudad Universitaria, Puerto Ángel, Oaxaca, México. C.P. 70902. Tel.: 95858 43157. Fax: 95858 43078. Correo electrónico: isis@angel.umar.mx

INTRODUCCIÓN

En 1964, Carvajal y cols.[1] sintetizaron un grupo de compuestos conocidos como fenil alcohol amidas, los estudios sobre la acción antiepiléptica de estos compuestos demostraron que el fármaco 4-hidroxi, 4-etil, 4-fenil butiramida (HEPB) es el agente más potente contra convulsiones inducidas experimentalmente; posteriormente se sintetizó y probó una serie homóloga del mismo obteniéndose los análogos 3-hidroxi, 3-etil, 3-fenil propionamida (HEPP) y 2-Hidroxi, 2-etil, 2-fenil acetamida (HEPA).[2] Por otro lado, se ha observado que algunos antiepilépticos actúan sobre SNC produciendo efectos farmacológicos diferentes al anticonvulsionante, tal es el caso de la difenilhidantoína que puede ser empleada en desórdenes de la conducta y arritmias cardiacas, o las benzodiacepinas que además actúan como ansiolíticos e hipnosedativos.

Los efectos producidos por una determinada droga pueden ser demostrados mediante pruebas conductuales: por ejemplo, la de cilindro tornante, donde daño neurológico y sedación es indicado por la inhabilidad de los animales para permanecer al menos un minuto sobre un rodillo; la actividad ansiolítica de benzodiacepinas y barbitúricos fue observada utilizando las pruebas de campo abierto, escalera y neofobia.[3-6] En cuanto a la acción antipsicótica se manifiesta por reducción de la actividad locomotora estimulada por sulfato de *d*-anfetamina.[7-8] Las benzodiacepinas y barbitúricos conducen a hipotermia, lo cual puede ser evaluado mediante un termómetro rectal.[6,9] Además de lo anterior se ha encontrado potenciación de la hipnosis inducida por pentobarbital al administrar sustancias con actividad antiepiléptica.[7] Por lo anterior, los objetivos de este trabajo fueron investigar diferentes efectos al anticonvulsionante de la HEPB y HEPP sobre el sistema nervioso central de ratón mediante algunas pruebas conductuales, así como evaluar la eficacia anticonvulsionante por vía oral.

MATERIAL Y MÉTODOS

Determinación de efectos farmacológicos mediante diferentes pruebas conductuales

Se utilizaron seis grupos con ocho ratones machos de la cepa CF-1 a los cuales se les administró en forma aguda por vía oral las siguientes dosis:1) 0.75 mg/kg de diacepam, 2) 63 mg/kg, 3)144 mg/kg de HEPP, 4) 63 mg/kg, 5) 148 mg/kg de HEPB y 6) solución salina isotónica al grupo testigo, la cual también se utilizó como vehículo para la disolución de los fármacos. Después de la administración se sometieron a las siguientes pruebas conductuales:

1. Cilindro tornante. En esta prueba se empleó un equipo rotamex-v-EE de la marca Columbus Instruments International Corporation (CIIC). Después de 25, 30 y 35 minutos de la administración se registró el tiempo de permanencia de los ratones sobre un rodillo que mide 4 cm de diámetro y que gira a 12 r.p.m. Por último se hizo un promedio de las tres observaciones hechas.[2]
2. Prueba de apertura de extremidades posteriores. Se impregnaron las extremidades posteriores de los ratones con tinta negra y sosteniendo el animal 10 cm arriba de una mesa, se dejó caer sobre una hoja de papel a los 30 y 37 minutos seguidos a la administración. Se midió la distancia entre las huellas y se obtuvo un promedio de ambas observaciones.
3. Prueba de campo abierto. Para esta prueba se usó una caja de actividad automática de la marca CIIC; opto-vmx-minor y se siguió la técnica utilizada por Vázquez-Freire, et al.[7]
4. Prueba de la escalera. Pasados 30 minutos de la administración los ratones se colocaron en una escalera como la descrita por Simiand, et al. y se midió por cinco minutos el número de levantamientos, así como las gradas exploradas.[5]
5. Neofobia. Los ratones fueron privados de alimento por 16 horas y se sometieron a la siguiente prueba: treinta minutos posteriores a la inyección se colocaron en una jaula de policarbonato que contiene en su centro un recipiente con una cantidad de alimento previamente pesado. Se midió la cantidad de alimento ingerida por el animal en un lapso de 30 minutos.[10]
6. Hipermotilidad inducida por anfetamina. Quince minutos después de la administración de los fármacos se les inyectó a los animales 5 mg/kg i.p. de sulfato d-anfetamina, posteriormente se colocaron en una caja de actividad automática (CIIC, opto-vmx-minor). Se registró el número de movimientos por intervalos de 10 minutos durante media hora.[7,11]
7. Temperatura corporal. Se utilizó un termómetro digital (YSI Precisión, 4000A), se midió la temperatura rectal antes y durante 2 horas después de la administración por intervalos de 30 min.[7,12]
8. Hipnosis inducida por pentobarbital. Para la realización de esta prueba se empleó el método establecido por Vázquez-Freire.[7]

Estudio de la actividad anticonvulsionante parenteral oral

La producción de las convulsiones se realizó con una dosis de 85 mg/kg de PTZ en solución salina

isotónica. Antes de la obtención de las DE_{50} se estableció el tiempo de máximo efecto anticonvulsionante de la HEPP y HEPB utilizando una dosis fija de 150 mg/kg misma que fue administrada a 0, 15, 30, 45, 60 y 120 minutos antes del PTZ. Posteriormente se formaron lotes de 10 animales cada uno de los cuales se sometieron a un ayuno de 8 horas, pasado este tiempo se aplicaron las siguientes dosis: 80, 100, 125, 156 o 190 mg/kg de HEPP y 64, 80, 100, 125 o 156 mg/kg de HEPB y se indujeron las convulsiones con pentilentetrazol (PTZ). La supresión de las convulsiones y muerte fue considerado el punto final. La DE_{50} y los intervalos con 69% de confianza fueron calculados por el método Litchfield y Wilcoxon.

RESULTADOS

En la tabla 1 se muestra que la capacidad de los ratones para permanecer por 60 segundos sobre un cilindro tornante disminuye significativamente en los lotes administrados con HEPP 144 y HEPB 63 y 148 mg/kg. Con la prueba de apertura de extremidades posteriores aumentó la distancia dejada entre las huellas en los lotes de HEPP 144 y HEPB 148 mg/kg. La actividad ansiolítica fue evaluada con la prueba de campo abierto en la cual hubo tendencia a aumentar el número de movimientos hechos en los lotes administrados con dosis bajas y reducción con las altas; el lote administrado con HEPB 148 mg/kg difiere significativamente del testigo con una $p < 0.01$. En cuanto a la prueba de la escalera el número de levantamientos fue reducido con la administración de HEPB 148 mg/kg con una $p > 0.001$; mientras que el número de gradas exploradas aumentó en el lote administrado con HEPP 144 mg/kg, el cual presenta diferencia estadística de $p < 0.01$ en relación con el testigo. En la prueba de neofobia se observó aumento significativo de la cantidad ingerida de alimento con la administración de HEPP 63 mg/kg. Por otro lado, cuando las fenil alcohol amidas fueron administradas 15 minutos antes que el sulfato *d*-anfetamina el número acumulativo de movimientos después de 30 minutos de la administración fue de 65.06% para el lote de HEPP 63 mg/kg y 2.96% para el de HEPB 148 mg/kg, los cuales difieren en forma estadística con una $p < 0.05$ y $p < 0.01$, respectivamente (Tabla 2). La prueba de temperatura corporal mostró efecto hipotérmico a los 30 y 60 minutos después de la inyección de HEPB 148 mg/kg. Por último, la tabla 3 muestra que en la hipnosis inducida por pentobarbital la latencia fue menor en los ratones tratados con dosis altas de HEPP y HEPB, en la duración del efecto se observa que HEPP 63 mg/kg difiere con una $p < 0.05$ y los tratados con HEPP 144 mg/kg y HEPB 63 y 148 mg/kg con una $p < 0.01$.

Tabla 1
Efecto de la HEPP y HEPB sobre la actividad y función motora en ratones

Tratamiento (mg/kg)	Permanencia sobre cilindro tornante (seg)	Apertura de extremidades posteriores (cm)
Testigo	47.6 ± 13.8	4.24 ± 0.29
Diacepam 0.75	33.4 ± 18.2	3.96 ± 0.61
HEPP 63	38.1 ± 16.0	4.68 ± 0.44*
HEPP 144	21.0 ± 9.2**	4.71 ± 0.55
HEPB 63	18.0 ± 6.3**	4.06 ± 0.58
HEPB 148	7.5 ± 4.6**	5.01 ± 0.78*

** Diferencia significativa respecto al lote testigo, prueba "t" Student, * p < 0.05, ** p < 0.01.*

Tabla 2
Efecto de la HEPP y HEPB sobre la actividad espontánea en presencia de *d*-anfetamina

Tratamiento (mg/kg)	Número promedio de movimientos	%
Testigo	3155.14 ± 1062.19	100.00
Diacepam 0.75	2887.67 ± 1088.80	91.52
HEPP 63	2052.67 ± 589.51*	65.06
HEPP 144	2531.29 ± 627.72	80.23
HEPB 63	3276.86 ± 949.41	103.86
HEPB 148	93.5 ± 69.95**	2.96

** Diferencia significativa respecto al lote testigo, prueba U de Man Whitney, * p < 0.05, ** p < 0.01.*

Tabla 3
Efecto de la HEPP y HEPB sobre la hipnosis inducida por pentobarbital en ratones

Tratamiento (mg/kg)	Tiempo de latencia (min)	Tiempo de efecto (min)
Testigo	13.9 ± 7.0	24.1 ± 18.0
Diacepam 0.75	8.3 ± 3.60	16.5 ± 6.8
HEPP 63	9.4 ± 4.25	49.3 ± 24.7*
HEPP 144	6.6 ± 4.63*	137.3 ± 37.0**
HEPB 63	9.6 ± 2.33	56.6 ± 16.1**
HEPB 148	5.4 ± 2.50**	160.9 ± 36.6**

** Diferencia significativa respecto al lote testigo, prueba "t" Student, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$.*

Estudio de la actividad anticonvulsionante parenteral oral

El tiempo de máximo efecto anticonvulsionante para la HEPP fue de 30 minutos y para la HEPB de 15 minutos (Figuras 1 y 2). Se obtuvieron las DE_{50} a estos tiempos, las cuales resultaron de 130 .4 mg/kg para la HEPP y 153.5 mg/kg para la HEPB, cuyos intervalos de confianza fueron de 111.25-152.89 y 114.48-205.95, respectivamente.

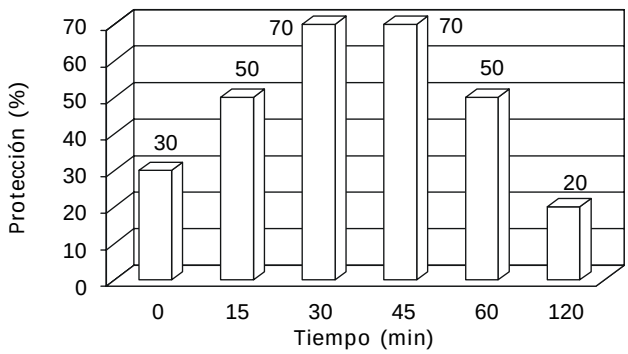

Figura 1. Tiempo de máximo efecto anticonvulsionante de la HEPP (150 mg/kg p.o.) medido como el porcentaje de ratones protegidos contra convulsiones inducidas por 85 mg/kg i.p. de PTZ.

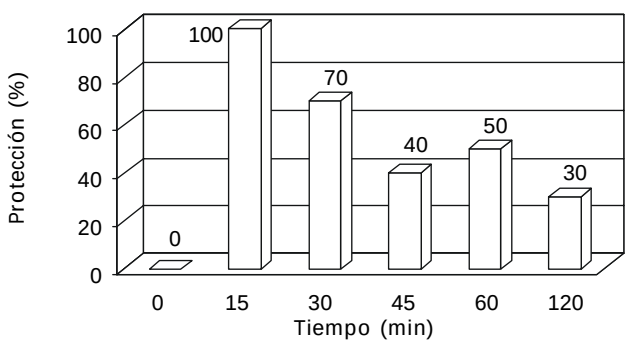

Figura 2. Tiempo de máximo efecto anticonvulsionante de la HEPB (150 mg/kg p.o.) medido como el porcentaje de ratones protegidos contra convulsiones inducidas por 85 mg/kg i.p. de PTZ.

DISCUSIÓN

Los estudios de eficacia preclínica han demostrado que las fenil alcohol amidas son potentes anticonvulsionantes en crisis epilépticas inducidas por MES, BIC, PTZ y otros agentes químicos. Sin embargo, en este trabajo con las pruebas de apertura de extremidades posteriores y la de cilindro tornante se encontró que HEPP y HEPB producen sedación siendo el efecto más pronunciado con el HEPB, lo cual probablemente se debe al incremento del número de carbonos en la cadena principal de la estructura química del compuesto.[2] Es posible que la ataxia e incoordinación motora hayan sido producidas mediante una facilitación GABAérgicas y que dicha acción se origine en el cerebelo como sucede con las benzodiacepinas.[13] El efecto ansiolítico observado en la prueba de campo abierto y de la escalera, es producido mediante una facilitación GABAérgica.[5,10] La reducción del número de levantamientos y aumento del número de gradas exploradas, en la prueba de la escalera, se ha observado sólo con agentes agonistas al $GABA_A$ como las benzodiacepinas, por lo cual se apoya la idea de que el mecanismo de acción de las fenil alcohol amidas podría estar mediado por interacción con este tipo de receptor.[14,15] Además en el grupo tratado con dosis altas de HEPB hubo disminución del número de levantamientos y de las gradas exploradas, lo cual pudo ser debido al efecto sedativo y relajante muscular.[5,16]

Por otro lado, la prueba de neofobia mostró actividad ansiolítica en los lotes administrados con bajas dosis de HEPP y HEPB tal vez por acción directa sobre el apetito o por atenuación de factores emocionales responsables de la inhibición de la alimentación.[17] Ambos fármacos produjeron reducción de la actividad locomotora estimulada por d-anfetamina, este efecto antipsicótico se puede producir por alguna interacción con los receptores de dopamina o por un efecto tranquilizante el cual puede ser una extensión del antipsicótico propiamente dicho.[7,18] Altas dosis de HEPB produjeron un efecto hipotérmico presumiblemente por interacción

con receptores de benzodiacepinas en el hipotálamo.[12,19,20] En la tabla 3 se observa potenciación del tiempo de sueño de manera significativa, el cual se puede llevar a cabo por interacción a nivel de los receptores, ya que tanto pentobarbital como las HEPP y HEPB actúan en el receptor $GABA_A$ o por disminución en la velocidad de remoción del pentobarbital en el cerebro.[21,22] En lo que se refiere al estudio de la actividad anticonvulsionante el tiempo de máximo efecto de la HEPP fue mayor que para la HEPB (Figuras 1 y 2), ya que los coeficientes de partición son 1.83 y 2.11, respectivamente; la HEPB es más liposoluble y por lo tanto, más rápidamente absorbida y distribuida, alcanzando así su sitio de acción en menor tiempo que la HEPP.[23] Las DE_{50} obtenidas por vía oral son más altas que las existentes por vía i.p., ya que la absorción es más lenta y hay por lo tanto menos biodisponibilidad, además puede afectar también el metabolismo o efecto del primer paso.[2]

CONCLUSIONES

La HEPP y HEPB presentan efectividad anticonvulsionante por vía oral siendo sus DE_{50} de 130.4 mg/kg y 153.5 mg/kg, respectivamente. Asimismo, se encontró que actúan sobre SNC produciendo efecto sedante, ansiolítico, modificación de la conducta exploratoria, actividad antipsicótica, hipotermia y potenciación de la hipnosis inducida por pentobarbital, lo anterior representa una ventaja que justificaría la síntesis y empleo de dichos fármacos aun y cuando existan en el mercado ansiolíticos o sedantes eficaces como las BZ y el diacepam.

AGRADECIMIENTOS

Al Instituto Nacional de Virología de la SSA por haber donado los animales empleados en la realización de este trabajo.

REFERENCIAS

1. *Carvajal G, Russek M, Tapia R, Massieu G. Anticonvulsive action of substances designed as inhibitors of γ-aminobutyric acid-α-ketoglutaric acid transaminase. Biochem. Pharmacol 1964; 13: 1059-69.*
2. *Meza-Toledo SE, Zenteno-García MT, Juarez-Carvajal E, Martínez de Muñoz D, Carvajal-Sandoval G. A new homologous series of anticonvulsants: phenyl alcohol amides. Synthesis and pharmacological evaluation. Arzn. Forsch/Drug Res 1990; 40: 1289-91.*
3. *Swindyard EA, Woodhead JH, Steve WH, Franklin MR. General principles. Experimental selection, cuantification and evaluation of anticonvulsants. In: Levy RH, Mattson RH, Meldrum BS (Eds.). Antiepileptic drugs. USA: De Raven Pres; 1995, p. 85-101.*
4. *Rao VSN, Santos FA, Paula WG, Silva RM, Campos AR. Effects of acute and repeated dose administration of caffeine and pentoxifyline on diazepam-induced mouse behavior in the hole-board test. Psychopharmacology 1999; 144: 61-6.*
5. *Simiand J, Keane PE, Morre M. The staircase test in mice: A simple and efficient procedure for primary screening on anxiolytic agents. Psychopharmacology 1984; 84: 48-53.*
6. *Onaivi ES, Maguirre PA, Tsai NF, Davies MF, Loew GH. Comparison of behavioral and central BDZ binding profile in three rat lines. Pharmacol Biochem Behav 1992; 43: 825-31.*
7. *Vázquez-Freire J, Lamela M, Calleja JM.* Laminaria ochroleuca*: a preliminary study of its effect on the central nervous system. Phytother Res 1994; 8: 422-5.*
8. *Borela LE, Paquette R, Herr F. The effects of some CNS depressants on the hypermotility and anorexia induced by amphetamine in rats . Can J Physiol Pharmacol 1969; 47: 841-7.*
9. *Smith SE. The pharmacological actions of 3,4-dihydroxyphenyl-α-methylalanine (α-methyldopa), an inhibitor of 5-hydroxytryptophan descarboxylase. Brit J Pharmacol 1960; 15: 319-27.*
10. *Crawley JN. Exploratory behavior models of anxiety in mice. Neuros Biobehav Rev 1985; 9: 37-44.*
11. *Czarnecki R, Librowski T, Zebala K, Kohlmünzer S. Pharmacological properties of a lyophilizate from* Galeopsis ladanum *on the central nervous system of rodents. Phytother Res 1993; 7: 9-12.*
12. *N'Gouemo P, Baldy-Moulinier M. Some pharmacological effects of an ethanolic extract of* Palisota ambigua *on the central nervous system in mice. Phytother Res 1994; 8: 426-9.*
13. *Lippa AS, Nash PA, Greenblatt EN. Pre-Clinical neuro-psychopharmacological testing procedures for anxiolytic drugs. In: Fielding S, Lal H. Anxiolytics. Futura Publishing Company; 1979, p. 41-82.*
14. *Pick CG, Peter Y, Joseph T, Gavish M, Weizman R. Effect of the neuroactive steroid α-THDOC on staircase test behavior in mice. Psychopharmacology 1996; 128: 61-6.*
15. *Chávez JL, Martínez DMD. Mecanismo de acción del anticonvulsionante DL-3-hidroxi-3-etil-3-fenil propionamida (HEPP). Arch. Neurocien (Méx) 1996; 1: 173-7.*
16. *Sterú L, Thierry B, Chermat R, Millet Simon P. Comparing benzodiazepines using the staircase test in mice. Psychopharmacology 1987; 92: 106-9.*
17. *Johnson DN. Effect of diazepam on food consumption in rats. Psychopharmacology 1978; 56:111-12.*
18. *Andrés-Trelles F. Fármacos usados en la esquizofrenia y otras psicosis: neurolépticos o antipsicóticos. En: Velásquez A, Lorenzo P, Serrano JS, Andrés-Trelles F. Farmacología. España: Interamericana. McGraw Hill; 1993. p. 296-7.*
19. *Jackson HC, Nutt DJ. Effects of benzodiazepine and β-carboline antagonists and partial agonists on loprazolam- and ZK 93423-induced hypothermia. Eur J Pharmacol 1991; 193: 179-84.*
20. *Jackson HC, Nutt DJ. Comparison of the effects of benzodiazepine and β-carboline inverse agonists on body temperature in mice. Eur J Pharmacol 1991; 205: 213-16.*
21. *Baamonde A, Andrés-Trelles F. Fármacos empleados en el tratamiento de la epilepsia. En: Velasco A, Lorenzo P, Serrano JS, Andrés-Trelles F. Farmacología. España: Interamericana McGraw Hill; 1993, p. 416- 32.*

22. *Chambers DM, Jefferson GC. Some observations on the mechanism of benzodiazepine-barbiturate interactions in the mouse. Br J Pharm 1977; 60: 393-9.*

23. *Hernández GZ, Lehmann FPA. Partition coefficients of three new anticonvulsants. J Pharmac Sci 1996; 1: 61-4.*