

4-etil-4-fenil-butirolactona, nuevo anticonvulsionante

FERNANDO VEGA-DIAZ* y FERNANDO VEGA-RASGADO

Departamento de Bioquímica
Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, IPN.
Prol. de Carpio y Plan de Ayala
Apartado Postal 42-186
11340 México, D.F.

VEGA-DIAZ, F. y F. VEGA-RASGADO, 1991. 4-etil-4-fenil-butirolactona, nuevo anticonvulsionante. *An. Esc. nac. Cienc. biol., Méx.* **34**: 23-36.

RESUMEN: La gama-butirolactona y el ácido gama-hidroxi-butírico son sustancias depresoras del sistema nervioso central que producen sueño y anestesia e incrementan los niveles de dopamina cerebral, mientras que la gama-hidroxi-gama-etil-gama-fenil-butiramida y la 5-etil-5-fenil-pirrolidinona poseen propiedades anticonvulsionantes. Con estas consideraciones se hizo la síntesis de la 4-etil-4-fenil-butirolactona, como una combinación estructural de las sustancias mencionadas, se estudió su efecto sobre las convulsiones y mortalidad inducidas por el metrazol, la tiosemicarbazida y la estircnina en ratones, así como la duración de su efecto protector y la DL₅₀. Los resultados indican que esta droga presenta propiedades anticonvulsionantes contra el metrazol y la tiosemicarbazida y la duración de su efecto en dosis-dependiente. Su DL₅₀ es de 1062 mg/kg de peso.

INTRODUCCIÓN

El conocimiento de la función del ácido gama aminobutírico (GABA) en la regulación de la excitabilidad neuronal, como un neurotransmisor inhibitor del sistema nervioso central de organismos vertebrados, ha sido fundamental en la comprensión del mecanismo de las convulsiones epilépticas y en el diseño racional de drogas anticonvulsionantes para el tratamiento potencial de la epilepsia.

Killam y Bain,¹⁵ en 1957, hicieron la observación sobre la relación existente entre la disminución de los niveles del GABA en el cerebro y la aparición de convulsiones, surgiendo la idea de obtener drogas anticonvulsionantes al aumentar los niveles encefálicos del GABA. Desafortunadamente el GABA es una molécula polar y en consecuencia no atraviesa la barrera hematoencefálica si se administra exógenamente, por lo que, para res-

* Becario de la DEDICT-COFAA del IPN y apoyado por el Consejo del Sistema Nacional de Educación Tecnológica: COSNET.

tarle polaridad, se ciclizó obteniéndose la 2-pirrolidinona, pero aún así se requerían muy altas concentraciones de GABA cíclico.¹²

Roberts y Frankel,²³ entre otros, establecieron las rutas metabólicas de la biosíntesis y degradación del GABA,^{6,1} de modo que este conocimiento permite aumentar los niveles cerebrales del GABA, si se impide su degradación mediante drogas capaces de inhibir a la transaminasa del GABA (T-GABA), que es la enzima que cataliza su degradación, transformándolo en semialdehído succínico,⁶ el cual se oxida a succinato con la deshidrogenasa correspondiente dependiente de NAD,¹ o bien podría reducirse a gama hidroxibutírico (AGHB).¹⁰

Este enfoque, de inhibir a la T-GABA para aumentar los niveles de este aminoácido en el cerebro y evitar las convulsiones, ha sido de gran interés en el diseño de nuevos fármacos anticonvulsivos, entre los cuales se encuentra la 5-etil-5-fenil-pirrolidinona (EPP), desarrollado por Carvajal y sintetizado por Alcántara en 1963,^{8,2} y como puede verse en la figura 1, su estructura corresponde a la del GABA cíclico, con sustituyentes etilo y fenilo en la posición 5 de la molécula, los cuales le confieren características lipofílicas, tal como fue concebida. Sin embargo, recientemente se ha determinado que su estructura real corresponde a la gama-hidroxi-gama-fenil-caproamida (HFC),¹⁴ o bien, hidroxietil-fenil-butiramida (HEPB).

Independientemente de su estructura, estos compuestos presentan propiedades anticonvulsivas muy considerables, particularmente el HEPB, contra agentes químicos y electrochoque,⁸ incluyendo a la bicuculina que bloquea el receptor del GABA.⁹ Sorpresivamente, no se ha podido demostrar que estos compuestos inhiban *in vivo* a la T-GABA y tampoco que aumenten los niveles del GABA.

Por otra parte, antes que se descubriera el GABA, Rubin y Giarman en 1947, consignaron que la gama butirrolactona (GBL) producía un efecto depresor del sistema nervioso central,²⁸ lo cual fue confirmado por Benda⁵ en 1960 en varias especies de animales. Un efecto semejante al de la GBL se reportó para el ácido gama-hidroxi-butírico (AGHB),¹⁸ que es la misma GBL, pero abierta (Fig. 1) y a la vez es un análogo estructural del GABA. Varios autores han reportado que en humanos la GBL y el AGHB originan sueño y anestesia.^{13,18,19}

El interés por estas sustancias se hizo mayor al encontrarse que el AGHB era un constituyente normal en el cerebro de varias especies de animales, incluyendo al hombre^{7,25} y que su administración protegía de las convulsiones inducidas por electrochoque,³ estricnina e isoniacida^{3,18} aunque hay autores que opinan lo contrario y consideran que su efecto es excitatorio.^{4,31} La similitud del efecto depresor de la GBL y el AGHB se atribuye a que la GBL se transforma *in vivo* en AGHB^{24,25} pero también se ha encontrado interconversión entre AGHB y GABA.^{19,21,26}

Aunque no se ha podido establecer con certeza el mecanismo del efecto depresor de la GBL o del AGHB, Gessa y col.¹¹ en 1968, encontraron que ambas sustancias producen un aumento selectivo en los niveles de dopamina en cerebro de ratones, rata y conejo y Rizzoli y col.²² afirman que la duración del sueño inducido por el AGHB está relacionada con los niveles cerebrales de dopamina. Roth y Suhr²⁷ han propuesto un mecanismo mediante el cual el AGHB aumenta la dopamina.

Debido a la importancia del GABA en el mecanismo de las convulsiones epilépticas y de la dopamina en el del sueño y en el Parkinson, existe interés por encontrar drogas capaces de modificar las concentraciones de estos neurotransmisores, no sólo para fines

FIGURA 1
ALGUNOS ANALOGOS ESTRUCTURALES DEL
ACIDO γ AMINO BUTIRICO

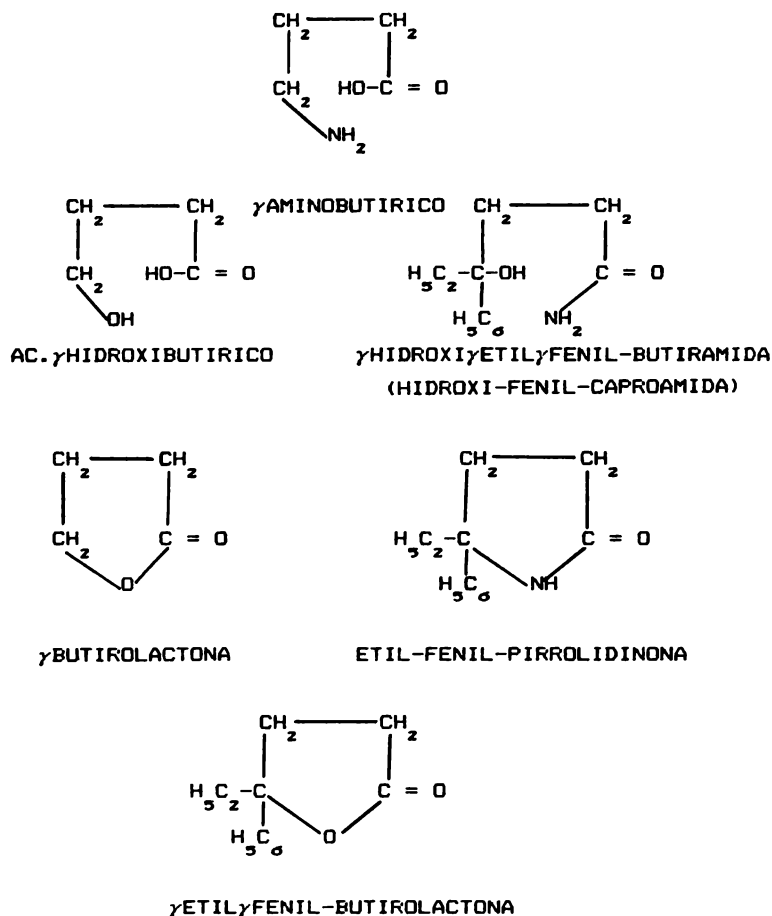


FIGURA 1. Algunos análogos estructurales del ácido γ aminobutírico.

terapéuticos, sino para tratar de establecer la función que desempeñan.

Conociendo las propiedades anticonvulsiantes de la 5-etil-5-fenil-pirrolidinona (EPP) y de la gama-etil-gama-hidroxi-gama-fenil-butiramida (HEPB) o HPC y el efecto depresor consistente en sueño y anestesia de la gama-butyrolactona (GBL) y el ácido gama-hidroxi-butírico (AGHB), nos pareció que sería útil sintetizar la 4-etil-4-fenil-butyrolactona (EFBL), para estudiar cuales serían sus propiedades: ¿Anticonvulsiante o hipnótico?

ya que su estructura corresponde al de la GBL con sustituyentes etilo y fenilo en posición 4, de manera similar al EPP y en el caso que se hidrolizara in vivo, daría el ácido gama-etil-gama-fenil-butírico, semejante al HEPB de Carvajal y col.

En este trabajo se presenta el estudio del efecto de la EFBL sobre la mortalidad convulsiva inducida por el metrazol, la tiosemicarbazida y la estricnina en ratones. Además, se examina la duración del efecto protector con diferentes dosis de la EFBL y la dosis letal en el 50% de los ratones.

MATERIALES Y MÉTODOS

- a) *Síntesis*. Se hizo la síntesis de la 4-etil-4-fenil-butirolactona de acuerdo con el método descrito por Alcántara.²
- b) *Animales*. Como animales de experimentación se emplearon ratones machos de la cepa CF-1 entre 20-25 gramos de peso y 1-2 meses de edad. La alimentación se suspendió 12 horas antes del experimento, excepto el agua.
- c) *Convulsionantes*. Los agentes químicos que se emplearon para inducir las convulsiones fueron el metrazol a una dosis de 90 mg/kg de peso; la tiosemicarbazida a 20 mg/kg de peso. Ambas sustancias disueltas en solución salina al 0.9%; la estricnina a una dosis de 2.0 mg/kg de peso, disuelta en HCL diluido.
- d) *Anticonvulsionantes*. Como drogas anticonvulsionantes se usaron la 4-etil-4-fenil-butirolactona (EFBL); la gama-butirolactona (GBL), ambas disueltas en aceite de cacahuate y la gama Hidroxi-gama-etil-gama-fenil-butiramida (HEPB), también conocida como hidroxi-etil-fenil-caproamida,¹⁴ disuelta en salina al 0.9%.

Procedimiento:

Etil-fenil-butirolactona. A grupos de 10 ratones cada uno se les administran por vía intraperitoneal dosis de 50-100-200 y 300 mg/kg de peso de la HEBL y 15 minutos después el metrazol. Los grupos control reciben salina al 0.9% en lugar de EFBL y 15 min. después el metrazol. El efecto anticonvulsivo se juzga comparando la mortalidad convulsiva entre el grupo control y el de prueba con EFBL.

Para probar el efecto anticonvulsivo de la EFBL con la tiosemicarbazida, se hicieron 3 grupos de 10 ratones cada uno a los cuales se les administraron dosis de 100-200 y 300 mg/kg de peso de la EFBL, y 20 minutos después la tiosemicarbazida. Los grupos control recibieron salina en lugar de la EFBL y tiosemicarbazida. El efecto anticonvulsivo se juzga igual que con el metrazol.

Para la prueba anticonvulsiva con estricnina, también se hicieron 3 grupos de 10 ratones cada uno y se les administraron dosis de 50-100 y 300 mg/kg de peso de EFBL, y después de 15 min. se les aplicó la estricnina. Los grupos control recibieron salina en lugar de EFBL y estricnina.

Butirolactona. Para probar el efecto anticonvulsivo de la butirolactona se procedió de la misma manera que con la EFBL; es decir, las mismas dosis y agentes convulsivos.

Hidroxi-etil-fenil-butiramida. En el caso de esta sustancia, solamente se probaron dosis de 100 y 120 mg/kg de peso de HEPB contra el metrazol y la tiosemicarbazida.

Duración del efecto anticonvulsivo. Estos experimentos consistieron en averiguar

por cuánto tiempo la sustancia EFBL puede mantener su efecto anticonvulsionante a determinada dosis que dé un 100% de protección inicial, y a diferentes intervalos de tiempo se administra el agente convulsionante hasta que se observe que ha dejado de proteger, continuándose con otra dosis mayor y repitiendo la operación. Cada dosis que se prueba requiere de varios grupos de 10 ratones cada uno y la protección inicial para cada dosis debe ser de 100%.

Para la duración del efecto protector de la EFBL con el metrazol a 90 mg/kg de peso se usaron dosis de 200-400-600 y 800 mg/kg de peso de EFBL y para la tiosemicarbazida a 20 mg/kg de peso, dosis de 400-600 y 800 mg/kg de peso de EFBL.

Dosis letal para el 50%. La dosis letal para el 50% de los ratones o DL_{50} se determinó para las 3 sustancias, EFBL, GBL y HEPB, y consiste en administrar dosis crecientes de estas drogas que produzcan entre 0 y 100% de mortalidad, y los datos se ordenan de acuerdo con el número de ratones muertos y vivos, sumándose el total de cada columna. La DL_{50} se obtiene graficando el por ciento de ratones muertos para cada una de las dosis empleadas y se interpola para el 50% de mortalidad.

RESULTADOS

Efecto anticonvulsionante

Como se observa claramente en la Fig. 2, la gama-butirolactona (GBL), a ninguna de las dosis empleadas fue capaz de proteger a los ratones de la mortalidad convulsiva indu-

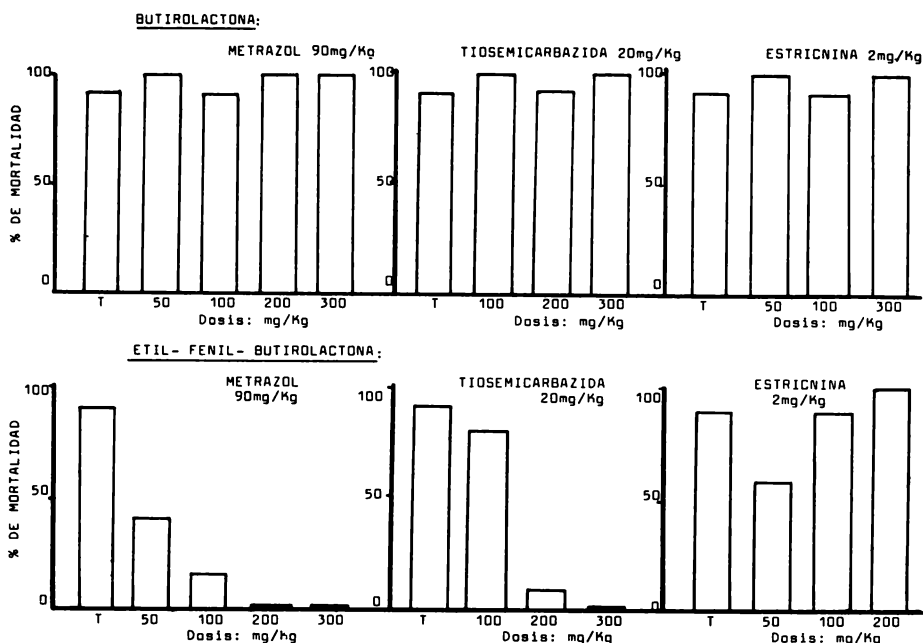


FIGURA 2. Efecto de diferentes dosis de butirolactona y etil-fenil-butirolactona, sobre la mortalidad inducida por el metrazol (90 mg/kg), tiosemicarbazida (20 mg/kg) y estriquina (2 mg/kg). Las drogas se administraron por vía intraperitoneal en todos los casos.

cida por el metrazol, la tiosemicarbazida y la estriquina; en cambio, la etil-fenil-butiro-lactona (EFBL), a partir de 50 mg/kg de peso, protegió de la mortalidad al 60% de los ratones tratados con metrazol y con 200 mg/kg de peso la protección fue total.

Con la tiosemicarbazida la EFBL a 200 mg/kg de peso protegió al 90% de los ratones de la mortalidad y un 100% con 300 mg/kg de peso. Contrariamente, la EFBL no presentó ningún efecto anticonvulsionante con la estriquina, como se aprecia en las Figs. 2 y 2-a.

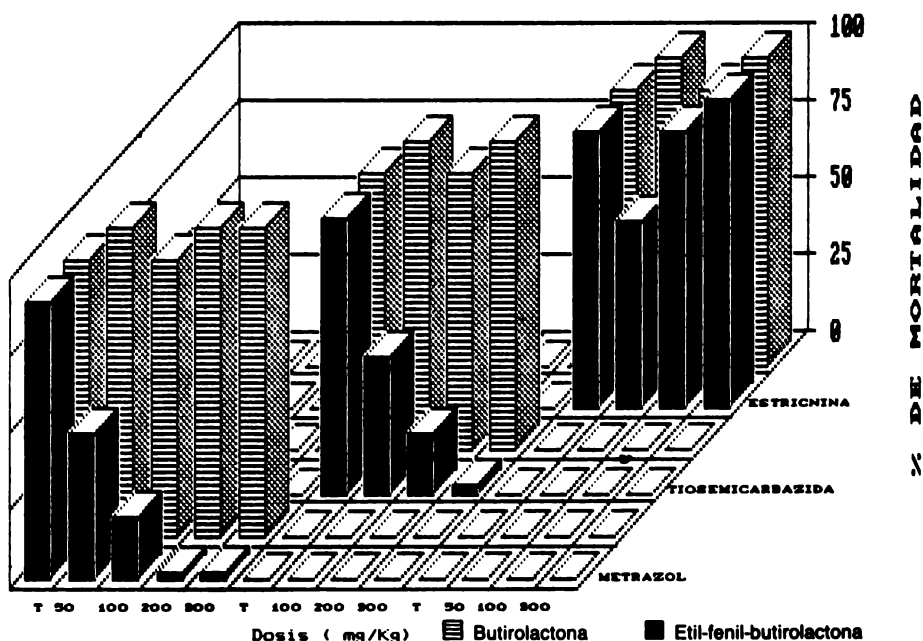


FIGURA 2-a. Efecto de diferentes dosis de butirolactona y etil-fenilbutirolactona sobre la mortalidad convulsiva inducida por el metrazol (90 mg/kg), tiosemicarbazida (20 mg/kg) y estriquina (2 mg/kg) en ratones. Las drogas se administraron por vía intraperitoneal en todos los casos.

En lo que respecta a la etil-fenil-Caproamida (HFC) o gama-Hidroxi-gama-etil-gama-fenil-butiramida (HEPB), dosis de 100 mg/kg de peso evitaron la mortalidad convulsiva inducida por el metrazol en el 100% de los animales, aunque un 50% tuvieron convulsiones, como se ve en la Fig. 3; sin embargo, a la misma dosis de EFBL, la mortalidad fue del 20% con 50% de convulsiones inducidas por el metrazol.

Cuando el agente convulsionante es la tiosemicarbazida, dosis de 120 mg/kg de peso de HFC protegieron de la mortalidad al 80% de los ratones y un 50% presentaron convulsiones, mientras que con 200 mg/kg de peso de EFBL, hubo una protección hacia la mortalidad del 90% y solamente el 25% tuvieron convulsiones.

Duración del efecto anticonvulsionante

La duración del efecto protector de la EFBL sobre la mortalidad convulsiva inducida por el metrazol es dosis dependiente; es decir, que a medida que se aumenta la dosis de

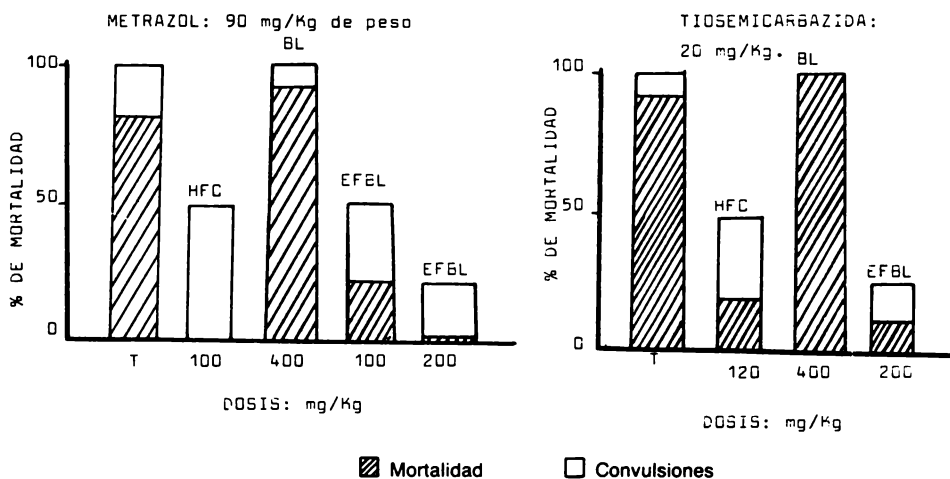


FIGURA 3. Efecto del γ -hidroxi- γ -fenil-caproamida (HFC) butirolactona (BL) y etil-fenil-butirolactona (EFBL), en las convulsiones y mortalidad inducidas por metrazol y tiosemicarbazida en ratones. Las drogas se administraron por vía intraperitoneal (ver texto).

EFBL desde 200 a 800 mg/kg de peso, la duración del efecto también se incrementa y, como se observa en la Fig. 4, 200 mg/kg de EFBL protegen durante 1.5 horas al 100% de los ratones si en este tiempo se les inyecta metrazol, pero si el metrazol se administra 2.5 horas después de la EFBL, el 90% de los ratones muere.

Con 400 mg/kg de peso de EFBL la duración del efecto fue de 3.0 horas para el 100% de los ratones a los cuales se les aplica metrazol, pero transcurridas 6 y 9 horas después de la EFBL, la protección al poner metrazol se reduce en 40 y 20% respectivamente, Fig. 4. De la misma manera, con 800 mg/kg de peso de EFBL, el efecto anticonvulsivo se mantiene durante 6 horas para el 100% de los ratones. Como se puede ver, al duplicar la dosis de EFBL también se duplica el tiempo de protección.

Con la tiosemicarbazida la duración del efecto protector de la EFBL es menor, ya que con 400 mg/kg de peso de EFBL se logra un 100% de protección de la mortalidad convulsiva durante 15 minutos, pero si después de 1 hora se administra tiosemicarbazida, ya sólo hay un 60% del efecto anticonvulsivo de la EFBL. Con 800 mg/kg de peso de EFBL los ratones están protegidos de la mortalidad inducida por la tiosemicarbazida por 90 minutos y 3 horas después de la EFBL solamente queda un 20% de protección al aplicarse a los ratones la tiosemicarbazida. Fig. 4-a.

Dosis letal

La dosis letal para el 50% de los ratones para la GBL fue de 1463 mg/kg de peso y de 1062 mg/kg de peso para la EFBL. La gama-hidroxi-gama-fenil-gama-butiramida (HEPB) resultó ser la más tóxica, con una DI_{50} de 276 mg/kg de peso. En la Fig. 5 se muestran los datos obtenidos para la EFBL así como la gráfica correspondiente.

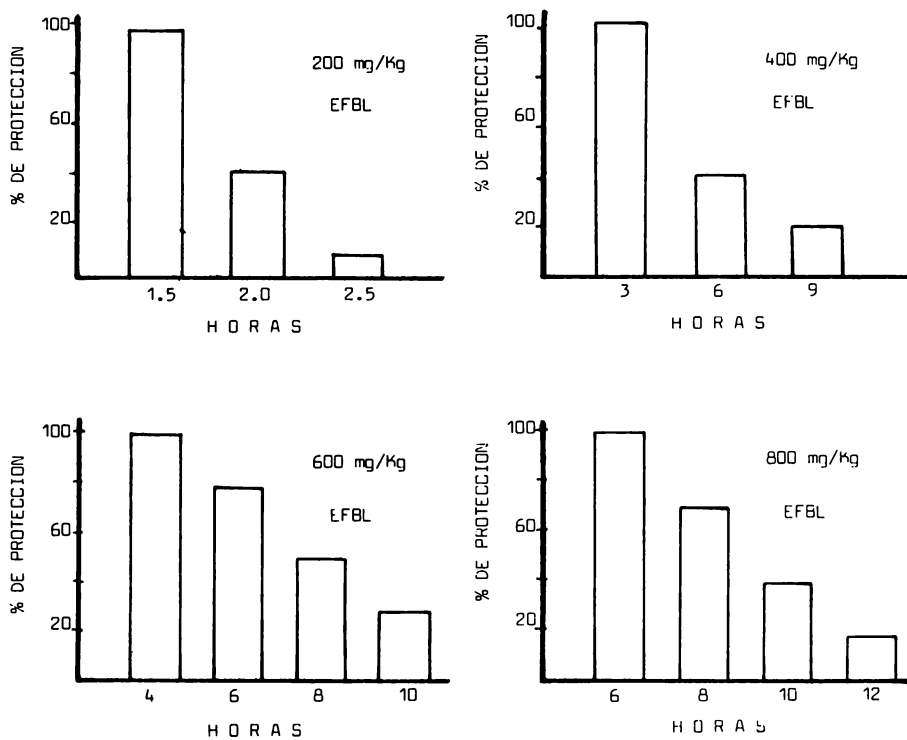


FIGURA 4. Duración del efecto protector de diferentes dosis de la etil-fenil-butyrolactona, sobre la mortalidad inducida por el metrazol a 90 mg/kg peso. Se administra la EFBL y a diferentes intervalos de tiempo se va poniendo el metrazol (IP).

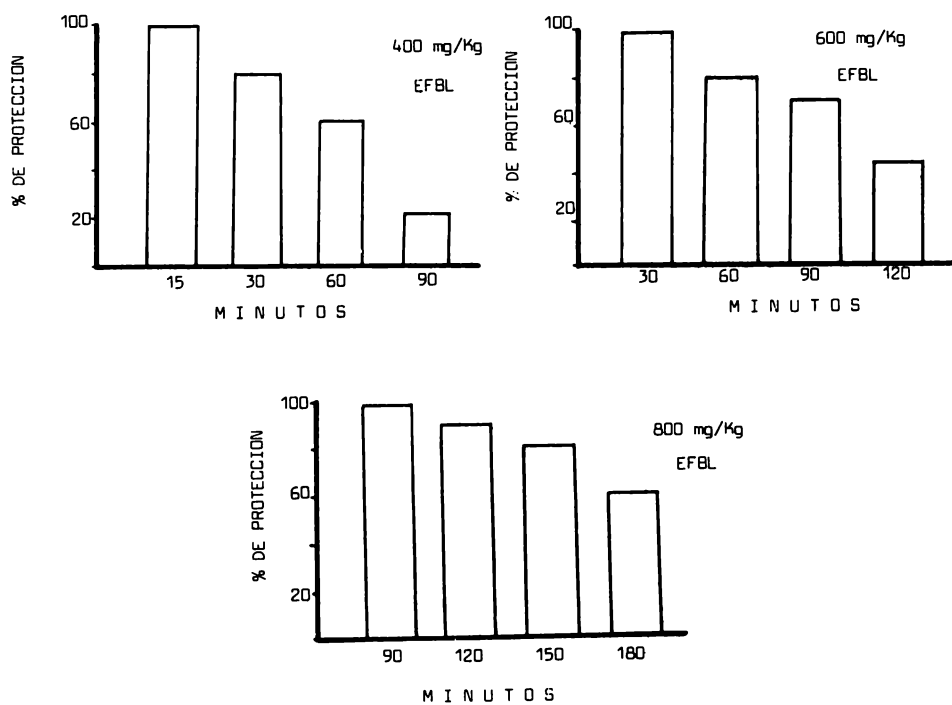


FIGURA 4-a. Duración del efecto protector de diferentes dosis de la etil-fenil-butirolactona, sobre la mortalidad inducida por la tiosemicarbazida a 20 mg/kg peso. Después de administrada la EFBL se va poniendo la TS a diferentes intervalos de tiempo.

DETERMINACION DE LA DL_{50} EN RATONES PARA
LA ETIL FENIL BUTIROLACTONA

DOSIS mg/Kg	VIVOS	MUERTOS	ACUMULATIVOS		TOTAL	MUERTOS (%)
			VIVOS	MUERTOS		
600	10	0	28	0	28	0
800	8	2	18	2	20	10
1000	6	4	10	6	16	37.5
1200	4	6	4	12	16	75
1400	0	10	0	22	22	100

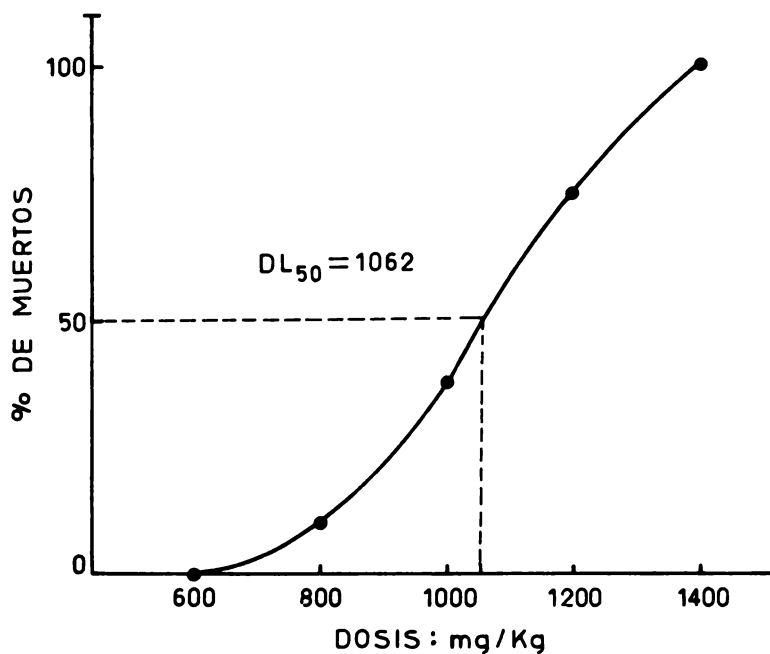


FIGURA 5. Determinación de la DL_{50} en ratones para la etil-fenil-butirolactona.

DISCUSIÓN

Nuestro interés en el estudio de las propiedades neurofarmacológicas de la gama-etil-gama-fenil-butirolactona se inició en 1973, en que Vega y col. comunicamos el efecto anti-convulsionante de esta sustancia. Sin embargo, sería presuntuoso de nuestra parte decir que pretendíamos obtener una droga definitivamente anticonvulsionante, por lo difícil que esto resulta, aún considerando todos los factores que deben tomarse en cuenta para el diseño racional de una sustancia específica.

Como ya se mencionó, solamente queríamos conocer qué propiedades neurofarmacológicas podría presentar la gama-butirolactona al introducir en su estructura los radicales etilo y fenilo en la posición gama, para darnos la gama-etil-gama-fenil-butirolactona, tomando en cuenta que esta nueva estructura es un congénere de la 5-etil-5-fenil-pirrolidinona, que a la vez corresponde al GABA cíclico con sustituyentes etilo y fenilo.

De acuerdo con los resultados obtenidos, las propiedades anticonvulsionantes de la gama-etil-gama-fenil-butirolactona derivan de la influencia que ejercen los radicales etilo y fenilo en la conformación de la gama-butirolactona; pues como se pudo constatar, esta sustancia no es capaz de antagonizar la mortalidad convulsiva inducida por el metrazol o la tiosemicarbazida. De la misma manera se puede deducir que el efecto anticonvulsionante, tanto de la 5-etil-5-fenil-pirrolidinona, como de la gama-hidroxi-gama-etil-gama-fenil-butiramida, se deben a los radicales etilo y fenilo, ya que ni la 2-pirrolidinona, ni la butiramida, presentan estas propiedades anticonvulsionantes.

Realmente, en todas las drogas anticonvulsionantes que se usan en el tratamiento clínico de la epilepsia, como el fenobarbital (5-etil-5-fenil-barbitúrico), las hidantoínas (difenilhidantoínas), succinimidas (metil-etil-succinimidas) etc. se nota la presencia de radicales hidrofóbicos del tipo de los metilos, etilos fenilos, como sustituyentes en las estructuras respectivas y sin los cuales no tendrían actividad farmacológica, de modo que existe una relación entre la estructura y la actividad que debe ser considerada al diseñar una droga.

En el caso de la gama-butirolactona, la molécula penetra la barrera hematoencefálica, puesto que se observa su efecto hipnótico a los 10-15 minutos después de su administración intraperitoneal, de tal suerte que los radicales etilo y fenilo en la EFBL, funcionarían como ligandos de algún sitio receptor relacionado con el GABA, permitiendo el flujo de los iones cloruro y en consecuencia, la hiperpolarización característica de la inhibición neuronal.

A este respecto, Klunk y col.^{16,17}, en 1982, comenzaron a publicar una serie de trabajos muy interesantes sobre la gama-butirolactona alquil sustituidas en las posiciones alfa, beta y gama de la molécula, principalmente las alfa metil-etil-butirolactona y las beta metil-etil-butirolactonas, de las cuales los derivados alfa son anticonvulsionantes y los betas convulsionantes. Estos autores también probaron el efecto de la gama-metil-gama-etil-butirolactona con muy poca actividad anticonvulsionante comparada con la alfa-gama-dietil-alfa-gama-dimetil-butirolactona y consideran que la posición gama es irrelevante con respecto a la beta; pero como se puede apreciar en nuestro trabajo, tan importante es la posición como el tipo de radical y la combinación de los radicales etilo y fenilo en posición gama, que también tienen efectos anticonvulsionantes, como es el caso de la gama-etil-gama-fenil-butirolactona en estudio. Cabe señalar que la gama-metil-gama-fenil-butirolactona, aunque tiene propiedades anticonvulsionantes, su potencia es menor que la de la gama-etil-gama-fenil-butirolactona, según reportamos en 1974.³⁰

Todavía hay varios aspectos que es necesario estudiar sobre la EFBL, los cuales se encuentran en desarrollo experimental, por ejemplo, si bloquea las convulsiones inducidas por la picrotoxina, la bicuculina y el electrochoque y como la gama-butirolactona aumenta los niveles de dopamina en el cerebro con inducción de sueño,^{22,27} se cubrirá este renglón de la investigación, sin olvidar, desde luego, si el producto hidrolítico de la EFBL conserva sus propiedades anticonvulsionantes y nuevas gama-butirolactonas.²⁰

En relación con la duración o decaimiento del efecto protector de la EFBL sobre las convulsiones inducidas por el metrazol y la tiosemicarbazida, se observó mayor tiempo con el metrazol que con la tiosemicarbazida, pero en ambos casos es dosis-dependiente y la diferencia en la duración podría deberse a que la tiosemicarbazida es un convulsionante mucho más potente que el metrazol en una relación de 5:1. Sin embargo, se obtiene información sobre la velocidad con que se metaboliza la EFBL y en consecuencia, permite conocer la frecuencia con que debe administrarse la EFBL para mantener su efecto anticonvulsionante y que sea compatible con su DI_{50}

La toxicidad de una droga es determinante en su futuro clínico y no debe basarse en una sola especie y extrapolarse al hombre, y mucho menos en experimentos con dosis agudas de corta duración, de tal manera que los datos obtenidos para la dosis letal en el 50% de los ratones deben considerarse muy superficiales, aunque se pueda establecer en esta especie que la gama-butirolactona es menos tóxica que la gama-etil-gama-fenil-butirolactona, siendo la hidroxietil-fenil-butiramida la de mayor toxicidad, juzgado solamente por la mortalidad convulsiva, desconociéndose los posibles efectos colaterales a largo plazo y que es necesario complementar para su empleo terapéutico en el tratamiento de algunas de las formas de la epilepsia.

SUMMARY

Gamma Butyrolactone and Gamma Hydroxybutyric acid are central nervous system depressant substances, they also produce sleep, anesthesia and increase of dopamine in brain, while gamma-hydroxy-gamma-ethyl-gamma-phenyl-butyramide and 5-ethyl-5-phenyl-pyrrolidinone possess anticonvulsant properties.

With these considerations we synthesize 4-ethyl-4-phenyl-butyrolactone, as a structural combination of the mentioned substances, and we study its effects against convulsions and mortality induced by metrazol, thiosemicarbazide and strichnine and also the duration of the protector effect were studied in mice. The results show that this drug presents anticonvulsant properties against metrazol and thiosemicarbazide and its protective effect duration time is dose-dependent, with a DI_{50} of 1062 mg/kg.

REFERENCIAS

1. ALBERS, R.W. and R.A. SALVADOR, 1958. Succinic semialdehyde oxidation by a soluble dehydrogenase from brain. *Science*, **128**: 359-361
2. ALCÁNTARA, R.G., 1963. Síntesis de derivados 5,5-disustituidos de la 2-pirrolidinona. Tesis profesional, Esc. Nal. Cien. Biol. IPN., México, D.F.
3. BAN, T.S.; M. SASA and K. SHIMAMOTO, 1967. The central action of gamma butyrolactone and gamma hydroxybutyrate. *Jap. J. pharmacol.*, **17**: 30-45

4. BASIL, B.; A.M.J.M. BLAIR and S.W. HOLMES, 1964. The action of sodium-4-hydroxybutyrate of spinal reflex. *Brit. J. Pharmacol.*, **22**: 318-328
5. BENDA, P. and R. PERLES, 1960. Etude experimentale de l' abaissement de la vigilance par la gamma butyrolactone. *C.R. Acad. Sci. (Paris)*, **251**: 1312-1313
6. BESSMAN, S.P.; J. ROSSEN and E.L. LAYNE, 1953. Gamma-amimobutyric acid-glutamic acid transamination in brain. *J. Biol. Chem.*, **201**: 385-391
7. BESSMAN, S.P. and W.N. FISHBEIN, 1963. Gamma-hydroxybutyrate, a normal brain metabolite. *Nature*, **200**: 1207-1208
8. CARVAJAL, G.; M. RUSSEK; R. TAPIA and G. MASSIEU, 1964. Anticonvulsive action of substances designed as inhibitors of gamma-aminobutyric acid-ketoglutaric acid transaminase. *Biochem. Pharmacol.*, **13**: 1059-1069
9. CURTIS, D.R.; A.W. DUGGAN; D. FELIX and G.A.R. JOHNSTON, 1970. Bicuculline and central GABA receptors. *Nature*, **228**: 676-677
10. FISHBEIN, W.N. and S.P. BESSMAN, 1964. Gamma-Hydroxybutyrate in mammalian brain. Reversible oxidation by lactic dehydrogenase., *J. Biol. Chem.*, **239** 357-361
11. GESSA, G.L.; CRABAI; F. VARGIU and P.F. SPANO, 1968. Selective increase of brain dopamine induced by gamma-aminobutyrate: A study of the mechanism of action. *J. Neurochem.*, **15**: 377-381
12. HAWKINS, J.E., and L.H. SARET., 1967. On the efficacy of asparagine, glutamine, Gamma-amino-butyric acid and 2-pyrrolidinone in preventing chemically induced seizures in mice. *Clin. Chem. Acta.*, **2**: 481-493
13. JENNE, E.K.; H.B. MURPHREE; L. GOLDSTEIN and C.C. PFEIFFER, 1962. Behavioral and EEG effects of Gamma-butyrolactone and Gamma-hydroxybutyric acid in man. *Pharmacologist*, **4**: 166
14. JOSEPH-NATHAN, P.; G. CARBAJAL; R. TAPIA and G. MASSIEU, 1978. Gamma-hydroxy, gamma-ethyl, gamma-phenil caproamide, an anticonvulsant molecule. *Rev. Latinoamer. Quím.*, **9**: 90-82
15. KILLAM, K.F. and J.A. BAIN, 1957. Convulsant hydrazides. I In vitro and in vivo inhibition of vitamin B₆ enzymes by convulsant hydrazides. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **119**: 255-262
16. KLUNK, W.E.; D.F. CIVEY and J.A. FERRENDELLI, 1982. Structure-Activity Relationships of Alkyl-Substitued Gamma-Butyrolactones and Succinimides. *Mol. Pharmacol.*, **22**, 444-450
17. KLUNK, W.E.; A.C. McKEON D.F. COVEY and J.A. FERRENDELLI, 1982. Alpha-Substitued Gamma-butyrolactones: New Class of Anticonvulsant Drugs. *Science*, **217**: 1040-1041
18. LABORIT, H.; J.M. JOUVANY; J. GERARD and F. FABIANI, 1960. Résumé d'une étude expérimentale et clinique sur un substrat métabolique a action centrale inhibitrice Le 4-hydroxybutyrate de Na. *Press Med.*, **68**: 1867-1869
19. MITOMA, C. and S.E. MEUBAUER, 1968. Gamma-hydroxybutyric acid and sleep. *Experientia*, **24**: 12-13
20. NARITOKU, D.K.; J.A. Levine; D.F. COVEY and J.A. FERRENDELLI, 1987. Effects of anticonvulsant Gamma Butyrolactone and Thiobutyrolactone on GABA-mediated chloride uptake. *Biochem. Pharmacol.*, **36**, 797-800
21. PIETRA, G.D.; C. ILLIANO; V. CAPRANO and R. RAVA, 1966. In vivo conversion of gamma-hydroxybutyrate into gamma-aminobutyrate. *Nature*, **210**: 733-734
22. RIZZOLI, A.A.; S. AGUSTI and L. GALZIGNA, 1969. Interaction between cerebral amines and 4-hydroxybutyrate in the induction of sleep. *J. Pharm. Pharmacol.*, **21**: 465-466
23. ROBERTS, E. and S. FRANKEL 1951. Glutamic decarboxylase in brain. *J. Biol. Chem.*, **188**: 789-795
24. ROTH, R.H. and N.J. GIARMAN, 1966. Gamma-Butyrolactone and gamma-hydroxybutyric acid. I. Distribution and metabolism. *Biochem. Pharmacol.*, **15**: 1333-1348
25. ROTH, R.H. and N.J. GIARMAN, 1970. Natural occurrence of gamma hydroxybutyrate in mammalian brain. *Biochem. Pharmacol.*, **19**: 1087-1093
26. ROTH, R.H., 1970. Formation and regional distribution of gamma-hydroxybutyric acid in mam-

- maliarum brain. *Biochem. Pharmac.*, **19**: 3013-3019
27. ROTH, R.H. and Y. SUHR, 1970. Mechanism of the Gamma-hydroxybutyrate induced increase in brain dopamine and its relation to sleep. *Biochem pharmac.* **19**: 3001-3012
 28. RUBIN, B.A. and N.J. GIARMAN, 1947. The therapy of experimental influenza in mice with antibiotic lactone and related compounds. *Yale J. Biol. Med.*, **19**: 1017-1022
 30. VEGA-DÍAZ, F.; C. WONG R. and E.G. RAMOS. De la 5-Etil-5-Fenil-Butirolactona sobre las convulsiones y muertes inducidas por agentes químicos en ratones. Resúmenes VI Cong. Nal. Cien. Farmc., México, D.F., p. 25. 1973.
 31. VEGA-DÍAZ, F.; C. WONG R. and S.E. RUIZ, 1974. Efecto anticonvulsivante de la 4-Metil-4-Fenil-Butirolactona. *Rev. Mex. Cienc. Farmac.*, **5**: 85-88
 32. WINTERS, W.D. and C.E. SPOONER, 1965. A neurophysiological comparison of gamma-hydroxybutyrate with pentobarbital in cats. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.*, **18**: 287-296