

II. Preparación de nuevas fenilamidas anticonvulsionantes

Sergio Enrique Meza-Toledo* y Guillermo Carvajal-Sandoval

Departamento de Bioquímica, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, IPN, México D.F., México

Recibido en su versión modificada: 20 de abril de 2006

Aceptado: 23 de junio de 2006

RESUMEN

En el presente trabajo se prepararon una serie nueva de fenilamidas anticonvulsionantes conteniendo los grupos trifluorometilo, flúor, bromo y cloro en el anillo aromático de los compuestos DL-2-hidroxi-2-etil-2-fenil acetamida (DL-HEPA), DL-3-hidroxi-3-etil-3-fenilpropionamida (DL-HEPP) y DL-4-hidroxi-4-etil-4-fenilbutiramida (DL-HEPB). Los compuestos preparados presentaron una actividad anticonvulsionante bastante significativa contra las convulsiones y la muerte provocadas por el metrazol en ratones. La incorporación de halógenos en el anillo aromático de DL-HEPA, DL-HEPP y DL-HEPB condujo a compuestos con una actividad anticonvulsionante similar a la del fenobarbital. Se presentan evidencias de que las fenilamidas preparadas podrían actuar como antagonistas de los receptores del GABA.

Palabras clave:

Anticonvulsionantes, fenilamidas, antagonistas del GABA

SUMMARY

In this manuscript we describe a novel series of anticonvulsants containing trifluoromethyl, fluorine, bromine and chlorine groups at the phenyl ring of compounds DL-2-hydroxy-2-ethyl-2-phenyl acetamide (DL-HEPA), DL-3-hydroxy-3-ethyl-3-phenyl propionamide (DL-HEPP) and DL-4-hydroxy-4-ethyl-4-phenyl butyramide (DL-HEPB). Synthesized compounds exhibited a significant anticonvulsant activity against seizures and death induced by metrazol in mice. Incorporation of halogens at the phenyl ring of DL-HEPA, DL-HEPP and DL-HEPB lead to compounds with an anticonvulsant activity similar that of phenobarbital. The latter constitutes evidence that prepared phenylamides could act as GABA receptor antagonists.

Keywords:

Anticonvulsants, phenylamides, GABA antagonists

Introducción

La epilepsia es una de las enfermedades neurológicas más comunes que afecta el 1 % de la población mundial.¹ A pesar de los antiepilépticos utilizados en clínica, un número significativo de pacientes, entre el 20 y el 30%, se muestra resistente a los antiepilépticos disponibles,² por lo que existe la clara necesidad de desarrollar nuevos medicamentos.

Cuando se produce un desequilibrio entre los dos principales neurotransmisores en el cerebro, el L-glutamato (neurotransmisor excitador) y el ácido gamma-amino butírico (conocido como GABA, que es un neurotransmisor inhibitorio), se originan las convulsiones. Por lo que la estrategia farmacológica en el tratamiento de la epilepsia consiste en utilizar fármacos que reduzcan la excitabilidad neuronal o que potencien los mecanismos inhibitorios mediados principalmente por GABA en el caso de los antiepilépticos de uso clínico como son las benzodiazepinas, el fenobarbital, la tiogabina y el vigabatrin.³

Sin embargo, la teoría del desbalance excitación-inhibición de la epileptogénesis ha sido cuestionada por el hallazgo de que el GABA no siempre inhibe la actividad neural. Si bien, en el cerebro adulto, el GABA induce usualmente

hiperpolarización neuronal, en el cerebro juvenil es despolarizante.^{1,4-8} Asimismo, el incremento de la neurotransmisión GABAérgica de las interneuronas de las regiones tálamo-corticales se ha asociado con las crisis de ausencias que ocurren tanto en personas como en animales.⁷⁻¹³

La serie homóloga de compuestos anticonvulsionantes se desarrolló en México.¹⁴ Los compuestos son el HEPA, el HEPP y el HEPB (Figura 1). Presentan un amplio perfil anticonvulsionante en el caso de convulsiones provocadas por drogas como: el metrazol, la bicuculina, la tiosemicarbazida, por electrochoque y en el caso del kindling.¹⁴⁻¹⁶ El amplio espectro de actividad anticonvulsionante que exhiben el DL-HEPA, el DL-HEPP y el DL-HEPB es similar al del fenobarbital y del valproato. Sus dosis efectivas medias son superiores a las del valproato y de la etosuccimida e inferiores a las de la difenilhidantoina y de las benzodiazepinas, teniendo en relación con éstos la ventaja de su amplitud de espectro antiepiléptico.

Los resultados obtenidos con estos compuestos los hacen candidatos a antiepilépticos mayores.

En otros estudios realizados, el DL-HEPP disminuyó la descarga del foco epiléptico en la fase inicial del síndrome de abstinencia al GABA.¹⁷ Este síndrome era considerado

* Correspondencia y solicitud de sobretiros: Sergio Enrique Meza-Toledo. Departamento de Bioquímica, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, IPN. Apartado postal 256, 06400 México D.F. Correo electrónico: semeza@hotmail.com.

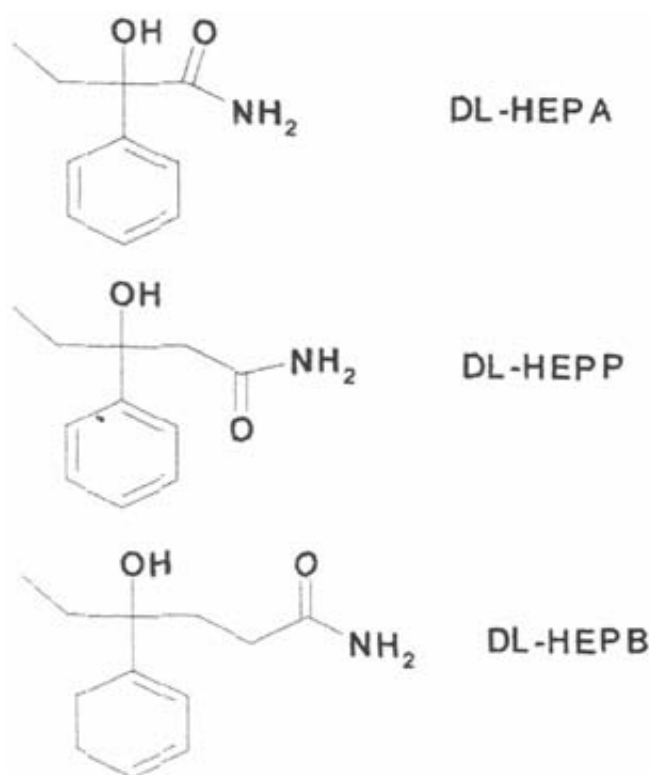


Figura 1. Serie homóloga anticonvulsiónante.

como un modelo de epilepsia intratable por su resistencia a la terapéutica con los antiepilépticos clásicos, incluso con el diazepam que se utiliza en el tratamiento del estatus epiléptico y con otros compuestos como el pentobarbital a dosis de anestésico.¹⁷ Adicionalmente, tanto el DL-HEPP como el DL-HEPB incrementan el aprendizaje y la memoria en diferentes modelos animales. Asimismo, el DL-HEPP protegió a una cepa de ratas que presentó un modelo de epilepsia congénita generalizada, tipo ausencias, denominado GAERS.¹⁷

En Francia, Marescaux y Vergnes estudiaron la neuroquímica de los receptores y de los neurotransmisores afectados en el modelo del GAERS. Encontraron que la inyección estereotáctica de R-baclofén en los núcleos talámicos, relevador y reticular, incrementó la duración de las descargas de espiga y de onda registradas.¹⁰ Así mismo la administración estereotáctica de un antagonista del receptor GABA_B como la sal del ácido fosfo-dietoximetil-amino-propilfosfínico, conocida como CGP35348, presentó un efecto antiepiléptico similar al que se obtiene con el DL-HEPP.^{10,17}

Entre los compuestos que potencian la actividad epiléptica en el GAERS se encuentran: 1) algunos agonistas en el receptor GABA_A como el muscimol. 2) los inhibidores de la transaminasa del GABA como el gamma-vinil GABA. 3) los inhibidores de la proteína transportadora del GABA (GAT-1) como el ácido difenil nipecótico. De manera complementaria, los compuestos que presentan actividad antiepiléptica en el GAERS son: 1) los antagonistas del receptor GABA_B, 2) la etosuccinida, la trimetadiona y el clonazepam.^{10,11}

Aunque compuestos diferentes a los señalados arriba reducen la actividad de los ataques espontáneos de ausencia en el GAERS, Marescaux y Vergnes, sugirieron que el receptor GABA_B es el responsable de la génesis del síndrome.^{10,11}

La similitud estructural que presenta el DL-HEPP con los ligandos del receptor GABA_B, principalmente con el antagonista DL-2-hidroxisaclofén, hace pensar que el DL-HEPP y sus homólogos el DL-HEPA y el DL-HEPB podrían probablemente antagonizar las acciones del GABA en los receptores GABA_B.¹⁸ Los estudios para determinar la relación estructura-actividad realizados con una serie de compuestos derivados de R-baclofén y de DL-2-hidroxisaclofén indicaron que la posición de sustitución para de su anillo aromático era crítica para su actividad biológica. La presencia en ella de halógenos como el cloro incrementó la afinidad del receptor GABA_B hacia los ligandos.^{19,20} Considerando la similitud estructural entre el DL-2-hidroxisaclofén y el baclofén y los estudios de relación estructura-actividad, se prepararon una serie de análogos halogenados en la posición 4' del grupo fenilo del HEPA, del HEPP y del HEPB con la idea de aumentar la afinidad del receptor hacia los mismos e incrementar su actividad anticonvulsiónante. Asimismo, la presencia de un halógeno en la posición 4' del anillo aromático del DL-HEPP podría bloquear una de las posiciones en su transformación metabólica y conducir a productos con una actividad anticonvulsiónante más prolongada.²¹

Material y métodos

Síntesis de las DL-hidroxifenil amidas^{14,18,21,22}

La serie DL-hidroxifenil butiramidas (serie DL-HEPA) se preparó haciendo reaccionar una cetona con cianuro de trimetilsilil para formar las cianhidrinas correspondientes, las cuales mediante una hidrólisis parcial en medio ácido produjeron las amidas respectivas. La serie DL-hidroxifenil pentanamidas (serie DL-HEPP) se preparó mediante una condensación entre una cetona con bromoacetato de etilo para formar los hidroxiésteres correspondientes, los cuales al tratarse con amoníaco produjeron las amidas esperadas. La serie DL-hidroxifenil hexanamidas (serie DL-HEPB) se sintetizó mediante una condensación de Stobbe entre una cetona con el succinato de dietilo en presencia de hidruro de sodio. El tratamiento de los hemiésteres formados en medio ácido condujo a las lactonas esperadas, las cuales al tratarse con amoníaco produjeron las amidas respectivas.

Los compuestos sintetizados se caracterizaron mediante espectrofotometría infrarroja y resonancia magnética nuclear de hidrógeno y de carbono 13.

Actividad anticonvulsiónante^{14,22}

La evaluación de la actividad anticonvulsiónante se realizó en ratones albino macho, cepa CF-1 de 17 a 25 g de peso, utilizando metrazol como agente convulsiónante a una dosis de 100 mg/kg de peso tal como se publicó previamente. Los compuestos se administraron por vía intraperitoneal. Las

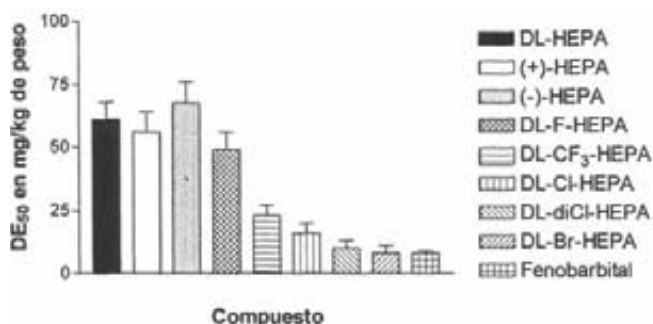


Figura 2. Actividad anticonvulsionante del DL-HEPA y de sus análogos halogenados.

dosis efectivas 50 se determinaron utilizando el análisis probit.²³

Estudios de liberación de [³H]-GABA²⁴

Se estudió la liberación de [³H]-GABA utilizando un método previamente publicado.²³ Se prepararon rebanadas de sustancia nigra (250 μ m x 250 μ m) a partir de ratas Wistar macho (160 a 240 g) que se incubaron en [³H]-GABA (45 nM durante 20 min a 35°C). Luego se lavaron con fluido cerebroespinal artificial (FCA) conteniendo tiogabina (10 μ M), ácido aminoacético (50 μ M) y β -alanina (100 μ M) para prevenir la reincorporación y el metabolismo del GABA. Entonces, se perfundieron alícuotas de 150 μ l de la suspensión de rebanadas (0.4 ml.min⁻¹, a 35°C, Brandel 2000) durante 36 minutos antes de colectar muestras consecutivas cada 4 minutos. Las rebanadas se estimularon eléctricamente (40 mA, 4 Hz durante 3.5 min) a los 48 minutos (S1) y de nuevo a los 88 minutos (S2) después del inicio de la perfusión. Los ligandos se adicionaron a la solución de perfusión 30 minutos antes de S2. Se determinó el porcentaje de [³H]-GABA liberado con respecto al [³H]-GABA que contenía la rebanada al momento de la estimulación.

En otro experimento realizado, las rebanadas de sustancia nigra conteniendo [³H]-GABA se estimularon durante 2 minutos con FCA conteniendo 15 mmol/l de KCl, 48 minutos después del inicio de la perfusión. Los ligandos se adicionaron a la solución de perfusión 30 minutos antes de la

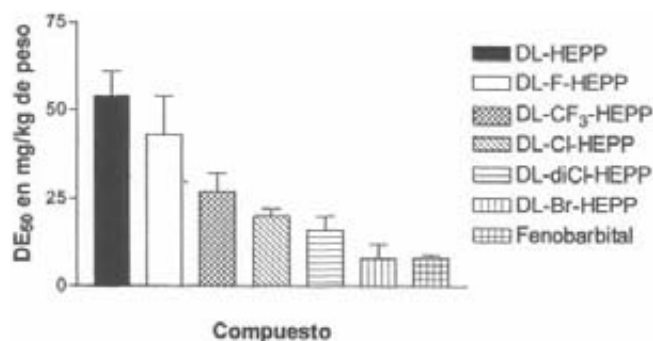


Figura 3. Actividad anticonvulsionante del DL-HEPP y de sus análogos halogenados.

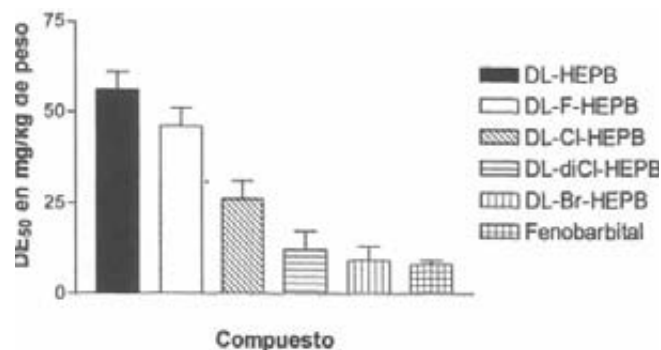


Figura 4. Actividad anticonvulsionante del DL-HEPB y de sus análogos halogenados.

estimulación con KCl. Se determinó el porcentaje de [³H]-GABA liberado con respecto al [³H]-GABA que contenía la rebanada al momento de la estimulación.

Resultados

Para los compuestos preparados, los resultados obtenidos en su caracterización fueron compatibles con sus estructuras propuestas.

Para la serie DL-HEPA, la ausencia de estereoselectividad en la actividad anticonvulsionante de los enantiómeros del DL-HEPA, el (+)-HEPA y el (-)-HEPA, sugiere que la resolución de los racematos no es necesaria para estudios posteriores.²² Las dosis efectivas medias obtenidas para el DL-Cl-HEPA, el DL-diCl-HEPA y el DL-Br-HEPA fueron muy similares a la dosis efectiva media del fenobarbital (Figura 2).

Para las series DL-HEPP y DL-HEPB se aprecia que la incorporación de los grupos trifluorometilo, cloro, dicloro y bromo en el anillo fenilo incrementó en forma significativa la actividad anticonvulsionante, siendo las dosis efectivas medias de éstos últimos similar a la del fenobarbital (Figuras 3 y 4).

El GABA a una concentración de 10 μ M inhibió en un 50% la liberación de GABA tritiado incitada eléctricamente y con KCl con respecto al FCA (control) (Figuras 5 y 6). Por otro lado, el DL-HEPP a una concentración de 100 μ M revirtió el efecto inhibitorio que tiene el GABA sobre su propia liberación.

Discusión

Para las series DL-HEPA, DL-HEPP y DL-HEPB, la incorporación de halógenos en su anillo aromático elevó en forma significativa su actividad anticonvulsionante, lo que indica que el anillo fenilo es importante en el reconocimiento del receptor hacia los compuestos preparados.

Con anterioridad, se sugirió que el DL-HEPA, el DL-HEPP y el DL-HEPB son antagonistas del GABA.¹⁸ En otros estudios realizados, el DL-HEPB, produjo una disminución en la duración de las postdescargas producidas por la estimulación del hipocampo en gatos y, en algunos de ellos, bloqueó su propagación hacia la sustancia nigra y la amígdala.²⁵ La sustancia nigra es una región del cerebro que está relacio-

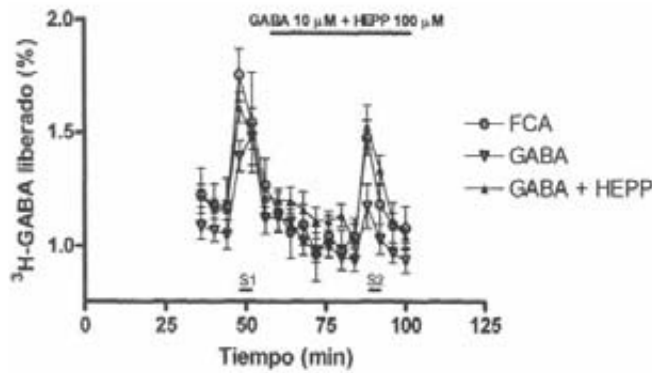


Figura 5. El DL-HEPP revierte la inhibición de la liberación de [3 H]-GABA producida por el GABA en rebanadas de sustancia nigra estimuladas con KCl. Inicialmente, se perfundieron las rebanadas de sustancia nigra conteniendo [3 H]-GABA con fluido cerebroespinal artificial (FCA). Durante el periodo indicado por la barra horizontal S1, el tejido se estimuló con KCl 15 mM durante 2 minutos. Se colectaron fracciones de perfusión cada 4 minutos. El tejido se estimuló con FCA (control, $n = 11$), con GABA (10 μ M, $n = 6$) o con GABA (10 μ M) más DL-HEPP (100 μ M, $n = 11$). Los compuestos se adicionaron durante el periodo indicado por la barra.

nada con la propagación de las descargas epileptiformes donde el GABA parece tener una participación importante.²⁶ En las terminales presinápticas de la sustancia nigra, encontramos receptores GABA_A y GABA_B que podrían participar en el control de la liberación de GABA.^{27,28} En general, en los mecanismos que modulan la liberación de neurotransmisores hacia el espacio sináptico participan autorreceptores o heterorreceptores. En el primer caso, cuando la concentración de GABA se incrementa en la sinapsis, ésta activa su autorreceptor localizado en la neurona presináptica el cual, a su vez, si es de tipo B, al activarse inhibe la entrada de iones calcio a la terminal lo que reduce la liberación vesicular de GABA. Este mecanismo de retroinhibición permite, en algunas regiones del cerebro regular, las concentraciones sinápticas de GABA.²⁹

La activación de los receptores GABA_B presinápticos se ha relacionado con una inhibición de la liberación de GABA, L-glutamato, serotonina, somatostatina, sustancia P y catecolaminas.²⁹ Si en este sistema se bloquea la señal de activación del receptor presináptico del GABA, se esperaría que la liberación de GABA no se inhibiera ya que el GABA no activaría a su receptor. Esto parece ser una de las acciones que realiza el DL-HEPP. A fin de estudiar lo anterior, se estimularon rebanadas de sustancia nigra de rata ya sea eléctricamente o químicamente (KCl). Como puede apreciarse en las figuras 5 y 6, el DL-HEPP revirtió el efecto inhibitorio del GABA sobre su propia liberación, lo que sugiere que el DL-HEPP podría estar antagonizando las acciones del GABA en sus receptores presinápticos B, A o ambos. El origen de este antagonismo no se ha elucidado claramente y podría asociarse a una acción directa del DL-HEPP en el sitio de unión del GABA en los receptores A o B, o bien el DL-HEPP podría estar actuando como un modulador alostérico negativo de la unión del GABA a sus receptores.

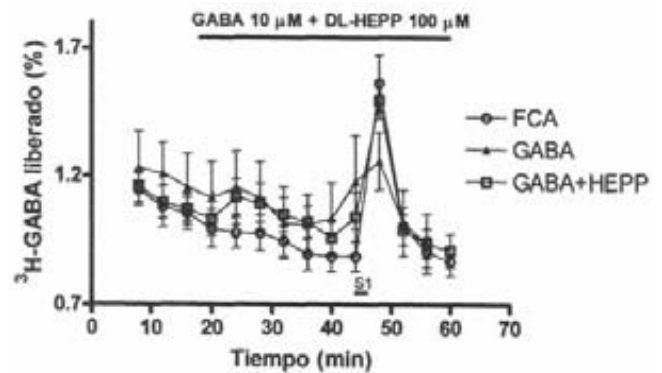


Figura 6. El DL-HEPP revierte la inhibición de la liberación de [3 H]-GABA producida por el GABA en rebanadas de sustancia nigra estimuladas eléctricamente. Las rebanadas de sustancia nigra conteniendo [3 H]-GABA se perfundieron inicialmente con fluido cerebroespinal artificial (FCA). Durante los periodos indicados por las barras horizontales S1 y S2, el tejido se estimuló (4Hz, 40 mA durante 3.5 min). Se colectaron fracciones de perfusión cada 4 minutos. El primer periodo de estimulación se realizó durante la perfusión de las rebanadas con FCA. El segundo periodo de estimulación fue en presencia de FCA (control, $n = 9$) o de los compuestos GABA (10 μ M, $n = 7$) o GABA (10 μ M) más DL-HEPP (100 μ M, $n = 9$), los cuales se adicionaron durante el periodo indicado por la barra.

Entre los antagonistas del GABA que presentan actividad anticonvulsiónante encontramos al bilobalide, el cual es una lactona sesquiterpénica que se aisló de las hojas de Ginkgo biloba que, además de incrementar el aprendizaje y la memoria en animales, también antagoniza las acciones del GABA en los receptores recombinantes GABA_A constituidos por las subunidades $\alpha 1\beta 2\gamma 2L$ expresados en oocitos de *Xenopus*. Lo inusual de este compuesto es que es un antagonista del receptor GABA_A que carece de propiedades convulsiónantes y se comporta como un anticonvulsiónante.³⁰ La sal del ácido fosfo-butil-amino-propil-fosfínico y el clorhidrato del ácido (+)-5,5-dimetil-2-morfolinoacético son antagonistas del GABA en los receptores GABA_B y presentan actividad anticonvulsiónante en modelos experimentales de ausencia.^{12,31} Las amidas sintetizadas en el presente trabajo no están relacionadas estructuralmente con los antagonistas del GABA mencionados previamente. Por lo anterior, las fenilamidas preparadas podrían ser una herramienta importante en el entendimiento y en la comprensión de la participación del GABA en la epilepsia y, eventualmente, alguna de ellas podría convertirse en un nuevo medicamento antiepileptico de segunda generación.

Agradecimientos

Agradecemos el apoyo de la SIP-IPN y de la DEDICT-COFAA-IPN.

Referencias

1. Kohling R. GABA becomes exciting. *Science* 2002;298:1350-1351.
2. Dichter MA. Emerging insights into mechanisms of epilepsy: implications for new antiepileptic drug development. *Epilepsia* 1994;35:S51-S57.

3. **Martínez-Muñoz D, Meza-Toledo SE.** Acciones bioquímicas de los compuestos antiepilépticos. En: *Farmacología Clínica*. Víctor Uriarte-Bonilla V, Trejo-Caso SS (Eds.) Trillas, 1a. Edición, México D.F., México, 2003, pp 799-806.
4. **Cohen I, Navarro V, Clemenceau S, Baulae M, Miles R.** On the origin of interictal activity in human temporal lobe epilepsy in vitro. *Science* 2002;298:1418-1421.
5. **Fukuda A.** Diuretic soothes seizures in newborns. *Nature Med* 2005;11:1153-1154.
6. **Dzhala VI, Talos DM, Sdrulla DA, Brumbaek AC, Mathews GC, Benke TA, et al.** NKCC1 transporter facilitates seizures in the developing brain. *Nature Med* 2005;11:1205-1213.
7. **Vergnes M, Marescaux C, Micheletti G, Depaulis A, Rumbaek L, Warker JM.** Enhancement of spike and wave discharges by GABA_A mimetic drugs in rats with spontaneous petit mal like seizures. *Neurosci Lett* 1984;44:91-94.
8. **Gloor P, Fariello RG.** Generalized epilepsy: some of its cellular mechanisms differ from those of focal epilepsy. *Trends Neurosci* 1988;11:63-68.
9. **Snead OC.** The ontogeny of GABAergic enhancement of the γ -hydroxybutyrate model of generalized absence seizures. *Epilepsia* 1990;31:363-368.
10. **Liu Z, Vergnes M, Depaulis A, Marescaux C.** Involvement of intrathalamic GABA_B neurotransmission in the control of absence seizures in the rat. *Neurosci* 1992;48:87-93.
11. **Marescaux C, Liu Z, Bemaseoni R, Vergnes M.** GABA_B receptors are involved in the occurrence of absence seizures in rats. *Pharmacol Commun* 1992;2:57-62.
12. **Hosford DA, Wang Y, Che-Liu C, Snead OC.** Characterization of the antiabsence effects of SCH50911, a GABA_B receptor antagonist, in the lethargic mouse, γ -hydroxybutyrate, and pentylenetetrazole models. *J Pharm Exp Ther* 1995;274:1399-1403.
13. **Guerrini R, Belmonte A, Genton P.** Antiepileptic drug-induced worsening of seizures in children. *Epilepsia* 1998;39:52-510.
14. **Meza-Toledo SE, Zenteno-García MT, Juárez-Carvajal E, Martínez-Muñoz D, Carvajal-Sandoval G.** A new Homologous series of anticonvulsants: phenyl alcohol amides. Synthesis and pharmacological evaluation. *Arzneim Forsch/Drug Res* 1990;40(II):1289-1291.
15. **Pérez-de la Mora M, Tapia R.** Anticonvulsant effect of 5-ethyl, 5-phenyl, 2-pyrrolidinone and its possible relationship to γ -aminobutyric acid-dependent inhibitory mechanisms. *Biochem Pharmacol* 1973;2635-2639.
16. **Solis H, Jurado JL, Fernández-Guardiola A.** La acción de la butiramida sobre el desarrollo del "Kindling" y el "Kindling amigdalino" ya establecido en el gato. En: *Neurobiología, Simposium Internacional*. Velasco-Suárez MM, Escobedo-Ríos F (Eds.) Progreso, México D.F., México, 1979, pp 83-94.
17. **Brailowsky S, Montiel T, Hernández E, Marescaux C, Vergnes M.** Effects of 3-hydroxy, 3-ethyl, 3-phenylpropionamide (HEPP) on rat models of generalized and focal epilepsy. *Epilepsy Res* 1992;11:167-172.
18. **Meza-Toledo SE, Juárez-Carvajal E, Carvajal-Sandoval G.** Synthesis of a new homologous series of p-chlorophenyl alcohol amides, their anticonvulsant activity and their testing as potential GABA_B receptor antagonists. *Arzneim Forsch/Drug Res* 1998;48:797-801.
19. **Hill DR, Bowery NG.** ³H-baclofen and ³H-GABA bind to bicuculline-insensitive GABA_B sites in rat brain. *Nature* 1981;290:149-152.
20. **Kerr DIB, Ong J.** GABA agonists and antagonists. *Med Res Rev* 1992;12:593-636.
21. **Carvajal-Sandoval G, Juárez-Carvajal E, Cruz-Peinado C, Meza-Toledo SE.** Synthesis and pharmacological evaluation of a new homologous series of (\pm)-p-fluoro-phenyl alcohol amide anticonvulsants. *Arzneim Forsch/Drug Res* 1998;48:349-352.
22. **Meza Toledo SE, Ortega-González C, Juárez-Carvajal E, Carvajal-Sandoval G.** Stereoselective anticonvulsant activity of the enantiomers of (\pm)-2-hydroxy-2-phenylbutyramide. *Arzneim Forsch/Drug Res* 1995;45:756-759.
23. **Litchfield JT, Wilcoxon F.** A simplified method of evaluating dose-effect experiments. *J Pharmacol Exp Ther* 1949;96:99-113.
24. **Meza Toledo SE, Bowery NG.** Baclofen inhibits electrically evoked GABA release from rat substantia nigra slices without evidence for autoreceptors. *Br J Pharmacol* 2000;131:46p.
25. **Tapia R, Drucker-Colín RR, Meza-Ruiz G, Durán L, Levi G.** Neurophysiological and neurochemical studies on the action of the anticonvulsant γ -hydroxy, γ -ethyl, γ -phenylbutyramide. *Epilepsia* 1979;20:135-145.
26. **Iadarola MJ, Gale K.** Substantia nigra: site of anticonvulsant activity mediated by gamma-aminobutyric acid. *Science* 1982;218:1237-1240.
27. **Arbilla S, Kamal L, Langer SZ.** Presynaptic GABA autoreceptors on GABAergic nerve endings of the rat substantia nigra. *Eur J Pharmacol* 1979;57:211-217.
28. **Floran B, Silva I, Nava C, Aceves J.** Presynaptic modulation of the release of GABA by GABA_A receptors in pars compacta and by GABA_B receptors in pars reticulata of the substantia nigra. *Eur J Pharmacol* 1988;150:277-286.
29. **Bowery NG.** GABA_B receptor pharmacology. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1993;33:109-147.
30. **Chebib M, Hanrahan JR, Mewett KN, Duke RK, Johnston GAR.** Ionotropic GABA receptors as therapeutic targets for memory and sleep disorders. *Ann Rep Med Chem* 2004;39:13-23.
31. **Froesti W, Mickel SJ, Von-Sprecher O, Diel PJ, Hall RG, Maier L, et al.** Phosphinic acid analogues of GABA. 2. Selective, orally active GABA_B antagonists. *J Med Chem* 1995;38:3313-3331.