

MODIFICACIONS EN LA RESPOSTA ALS BARBITÚRICS. PAPER DE L'EDAT I EL SEXE

MARGARITA ARBOIX ARZO, JOAN-RAMON LAPORTE ROSELLÓ

INTRODUCCIÓ. — Fa molts anys hom ha reconegut la major sensibilitat dels animals nadons a l'acció de nombrosos fàrmacs. Nombrosos estudis han demostrat que el nadó no posseix o amb prou feines posseeix molts dels sistemes enzimàtics microsomals responsables de la metabolització dels fàrmacs. Així per exemple, JONDORF i cols. (1958) estudiaren la durada de l'acció i la capacitat de metabolització de l'hexobarbital (un barbitúric la durada de l'acció del qual depèn exclusivament de la seva metabolització) en el cobai i en el ratolí d'1, 7 i 21 dies i d'edat adulta, i observaren que la capacitat de metabolització, nulla en preparats microsomals *in vitro* en els animals d'un dia d'edat, augmentava amb l'edat. Aquest augment de la capacitat de metabolització de l'hexobarbital era paral·lel a la disminució de la durada de la dormició produïda per l'hexobarbital administrat a diferents dosis.

FOUTS i ADAMSON (1959), per exemple, demostren que en els microsomes de cobais i de conills d'un dia d'edat no es produeixen les següents reaccions de metabolització de xenobiòtics: N-desmetilació (monometil-4-aminoantipirina), O-desalquilació (fenacetina), oxidació de cadena lateral (hexobarbital), desaminació (amfetamina), hidroxilació aromàtica (acetanilida), sulfoxidació (clorpromazina) i nitrorreducció (àcid p-nitrobenzoic). Tanmateix, aquestes activitats eren observades en animals adults de les mateixes espècies.

Els primers estudis realitzats *in vivo* recolzaven aquestes conclusions. Així per exemple, quan VEST i STREIFF (1959) administraren acetanilida a nens nadons i a nens grans, i mesuraren els nivells plasmàtics de N-acetil-p-aminofenol i del seu glucuronat, varen observar que l'oxidació i la conjugació eren més lentes en els nadons.

La tràgica experiència amb el cloramfenicol en nens nadons (WEISS i cols., 1960) va fer témer encara més les conseqüències clíniques que aquesta incapacitat de metabolització podia tenir en el nadó.

Però durant molts anys hom ha pensat, sobre la base de dades parcials com les esmentades, que el desenvolupament dels sistemes micro-

somals de metabolització dels fàrmacs segueix un creixement lineal fins l'edat adulta. Hom deia, amb una certa raó però també fent una interpretació un xic mecànica, que el nen no és un adult en miniatura, i que per tant no se li poden administrar les mateixes dosis que a l'adult, malgrat que hom tingui en compte les diferències ponderals, o fins i tot les de superfície corporal. En aquest sentit, l'excel·lent obra de Farmacologia General de GOLDSTEIN i collab., (1969) diu, referint-se a aquests fenòmens: «Aquestes dades tenen algunes implicacions clíniques importants. Els nens són en general més sensibles als fàrmacs que els adults, i presenten efectes més prolongats, fins i tot quan hom ha pres en consideració el pes o la superfície corporal per a l'establiment d'una pauta de dosificació.» La segona edició del llibre, de l'any 1974, diu el mateix.

De fet la major sensibilitat que puguin presentar els pacients pediàtrics a alguns fàrmacs pot tenir causes diverses, que hom pot classificar en dos grans tipus: 1) *causes farmacocinètiques*, és a dir diferències en l'absorció, la distribució, el metabolisme i l'excreció del fàrmac; i 2) *causes farmacodinàmiques*, és a dir diferències en la sensibilitat del «receptor» farmacològic. És ben sabut per exemple que el sistema nerviós del nen petit o dels animals joves és més sensible a l'acció de molts fàrmacs.

Nosaltres hem examinat la influència de l'edat sobre la durada de l'acció del pentobarbital (l'eliminació del qual depèn exclusivament de la metabolització (BUSH, 1963) en la rata, tot relacionant l'efecte del barbitúric amb la seva concentració plasmàtica. En efecte, l'examen del temps de dormició ens dona informació a la vegada sobre els factors farmacocinètics —en aquest cas la metabolització— i els factors farmacodinàmics. A la figura 1 esquematitzem aquests fets. Si la velocitat de caiguda de les concentracions plasmàtiques del pentobarbital és la mateixa en animals joves i adults, però la concentració eficaç de pentobarbital (és a dir la concentració mínima que produeix dormició) és diferent per cada edat, el temps de dormició serà diferent malgrat que els dos grups d'animals —joves i vells— tinguin la mateixa capacitat de metabolització (casos *a* i *c* de la figura 1). Si, en canvi, la concentració eficaç és la mateixa (és a dir els diferents animals tenen la mateixa sensibilitat), però el temps de vida mitjana és diferent, la durada dels efectes observats també serà diferent (casos *a* i *b*, o bé *c* i *d*).

Amb aquest objectiu, hem mesurat el temps de la dormició produïda pel pentobarbital en rates de diferents edats, i hem mesurat també la concentració plasmàtica del barbitúric en el moment de despertar.

MATERIAL I MÈTODES.— Hem utilitzat rates Sprague-Dawley de soca COBS d'ambdós sexes i de diferents pesos. Els animals han estat dividits segons l'edat i el sexe en 12 grups diferents, sis de cada sexe.

Els pesos de cada grup estan indicats a les columnes esquerres de les taules I i II. Cadascun dels grups esmentats era de 6 animals. Hem administrat a cada animal una injecció intraperitoneal de 30 mg/kg de pentobarbital sòdic. Hem mesurat el temps de dormició prenent com a començament i final la pèrdua i la recuperació respectivament del *righting reflex*, i en despertar hem sacrificat cada animal i n'hem recollit la sang. Hem centrifugat les mostres de sang obtingudes, n'hem separat el plasma, i hem mesurat les concentracions de pentobarbital en mostres de 0,5 ml. per una tècnica gas-cromatogràfica descrita en un altre treball (LAPORTE, 1974).

Aquesta tècnica suposa l'adició de 25 µg de barbital a cada mostra, com patró intern, l'acidificació amb 0,1 ml. de ClH 0,1N, l'extracció amb 8 ml de cloroform, evaporació a sec, i redissolució amb 50 µl

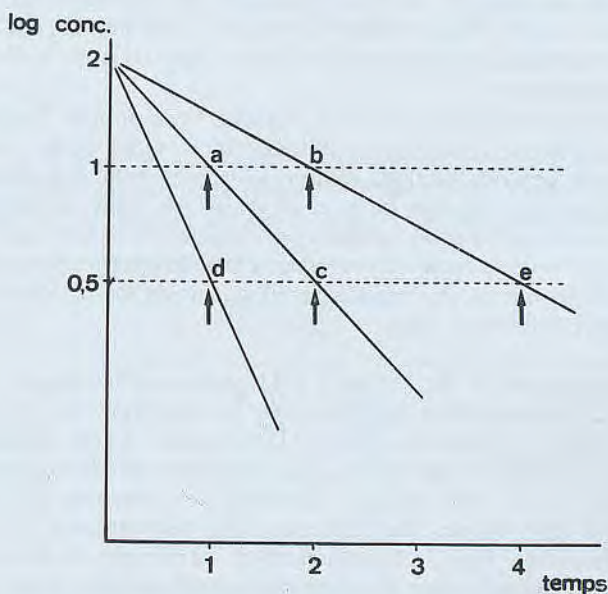


FIG. 1. — Diferent durada de l'efecte farmacològic segons les diferències entre els individus comparats siguin de tipus farmacocinètic o de tipus farmacodinàmic. *a* La concentració mínima eficaç és 1 i el temps de vida mitjana té també un valor 1 (tots dos paràmetres en unitats arbitràries). La durada de l'efecte, suposant una concentració inicial de 2 com en tots els casos, serà d'1 temps de vida mitjana. *b* La concentració mínima eficaç és 1, però el temps de vida mitjana és 2. La durada de l'efecte serà 2 vegades el temps de vida mitjana. *c* La concentració mínima eficaç és 0,5 (animal més sensible que els anteriors) i el temps de vida mitjana és 1. La durada de l'efecte és 2 vegades el temps de vida mitjana. *d* Si quan la concentració mínima eficaç és 0,5 volem obtenir una durada de l'efecte com al cas *a*, el temps de vida mitjana hauria d'ésser de 0,5. *e* Si la concentració mínima eficaç és 0,5 i el temps de vida mitjana és 2, la durada de l'efecte serà equivalent a 4 vegades el temps de vida mitjana.

d'acetona abans de la injecció al cromatògraf. Aquest ha estat un model F-30 de Perkin-Elmer, equipat amb un detector d'ionització de flama i una columna SE-30 al 5 % sobre Gas-Chrom Q de malla 100-120, de 2 metres de longitud per 0,04 de diàmetre intern. La temperatura de la columna ha estat de 250° C i la dels blocs d'injecció i de detecció de 300° C. El gas portador ha estat el nitrògen, a un flux de 35 ml/min.

Per a la segona part de l'estudi, hem analitzat la cinètica plasmàtica del pentobarbital en quatre grups de 20 animals cadascun: mascles d'uns 50 grams de pes, femelles d'uns 50 grams de pes, mascles d'uns 250 grams de pes i femelles d'uns 250 grams de pes. Cada grup ha estat format per 20 animals, subdividits en cinc grups de quatre animals cadascun, que han estat sacrificats i exsanguinitzats respectivament 15, 30, 45, 60 i 75 minuts després de l'administració intraperitoneal de 30 mg/kg de pentobarbital en el cas dels animals joves, i 15, 25, 40, 50 i 65 minuts després de l'administració del pentobarbital en el cas dels animals adults. Hem recollit la sang de cada animal per separat, i hi hem determinat la concentració de pentobarbital amb la tècnica descrita anteriorment.

Pel càlcul del temps de vida mitjana hem aplicat l'equació dels mínims quadrats a la mitjana dels logaritmes valors de la concentració plasmàtica de pentobarbital als diferents intervals esmentat després de la seva administració. Tal com hem fet en d'altres treballs, el temps de vida mitjana plasmàtica ha estat calculat per l'equació $t_{1/2} = 0,3010/b$, on b és el pendent de la recta de regressió. Hem acceptat uns nivells de significació de les rectes de caiguda semilogarítmica de les concentracions plasmàtiques inferior a 0,05.

RESULTATS. — A les taules I i II indiquem els pesos, temps de dormició i concentracions plasmàtiques en despertar dels sis grups de mascles (taula I) i femelles (taula II) estudiats. Entre els mascles els temps de dormició no presenten una correlació estadísticament significativa amb el pes dels animals. Tampoc no presenten cap correlació significativa amb el pes les concentracions plasmàtiques de pentobarbital en despertar. Però la concentració de barbitúric en despertar en el grup de mascles més joves és significativament inferior a la dels altres grups en el seu conjunt, que no difereixen entre ells. La situació en aquest cas seria similar a la que presentem a la figura 1 entre els casos a i d : malgrat que el temps de dormició de les rates més joves no difereix del de les altres rates, llur concentració plasmàtica de pentobarbital en despertar és molt inferior, aproximadament de la meitat. Aquest fet fa pensar en un menor temps de vida mitjana del pentobarbital en les rates més joves.

Entre les femelles la correlació entre pes i temps de dormició presenta una correlació estadística positiva i altament significativa ($r =$

TAULA I. — Temps de dormició i concentració plasmàtica de pentobarbital en despertar en rates mascle de diferents pesos després de l'administració de 30 mg/ kg de pentobarbital per via intraperitoneal

Pes (g)	Temps dormició (min.)	Conc. despertar (µg/ml)
57,50 ± 3,66	67,75 ± 6,13	4,85 ± 0,99
84,50 ± 2,85	70,00 ± 3,67	13,91 ± 1,47
115,92 ± 3,36	78,00 ± 5,32	11,26 ± 0,62
193,33 ± 3,38	51,67 ± 2,26	10,10 ± 0,91
222,00 ± 8,31	42,20 ± 2,18	13,39 ± 0,99
240,80 ± 10,84	63,50 ± 13,99	11,68 ± 1,24

TAULA II. — Temps de dormició i concentració plasmàtica de pentobarbital en despertar en rates femella de diferents pesos després de l'administració de 30 mg/kg de pentobarbital per via intraperitoneal

Pes (g)	Temps dormició (min.)	Conc. despertar (µg/ml)
59,50 ± 2,70	79,50 ± 3,04	9,14 ± 0,74
81,08 ± 2,79	76,50 ± 10,09	15,31 ± 0,80
107,08 ± 1,87	135,33 ± 14,45	14,41 ± 0,79
149,17 ± 3,84	133,17 ± 18,75	13,17 ± 0,93
163,80 ± 6,68	127,17 ± 16,39	12,53 ± 1,48
176,60 ± 3,50	162,20 ± 12,90	10,50 ± 2,62

0,9406; $p < 0,001$) (fig. 2), és a dir com més pesen més dormen. Aquest fet podria indicar bé que les rates adultes son farmacodinàmicament més sensibles al barbitúric, o bé que el metabolitzen més lentament. La concentració plasmàtica de barbitúric en despertar presenta una evolució similar a la dels mascles: les rates del grup d'edat més jove serien més sensibles al barbitúric. Però en aquest cas les rates

joves dormen menys que el conjunt de les altres, fet que suggereix, de manera més palesa que entre els mascles, que les rates més joves metabolitzen el barbitúric amb més rapidesa. La situació en aquest cas seria similar a la que presentem a la figura 1 entre les possibilitats *d* i *b*: malgrat que entre les rates més joves la sensibilitat al barbitúric és més gran (és a dir la concentració eficaç mínima és inferior), el temps de vida mitjana del barbitúric seria molt inferior al temps de vida mitjana entre les rates adultes, les quals, per causa d'aquesta diferència farmacocinètica, dormirien més que les joves.

Aquests resultats ens han portat a realitzar la segona part d'aquest treball: una comprovació més clara de la suggerència òbvia derivada dels resultats expressats anteriorment. Per aquest motiu hem mesurat la cinètica plasmàtica del pentobarbital en grups de mascles i femelles dels pesos o edats extrems d'aquest estudi. A les taules III i IV expressem els resultats obtinguts. El temps de vida mitjana del pentobarbital en rates d'uns 50 grams de pes és de 17,11 minuts en els mascles i de 14,54 minuts en les femelles, mentre que entre els animals d'uns 250 grams és de 40,37 minuts en els mascles i de 50,60 minuts en les femelles. A més l'absorció del barbitúric és més lenta en els animals joves.

Tal com hom pot observar per comparació dels resultats expressats a les taules I i II, les femelles adultes semblen metabolitzar més len-

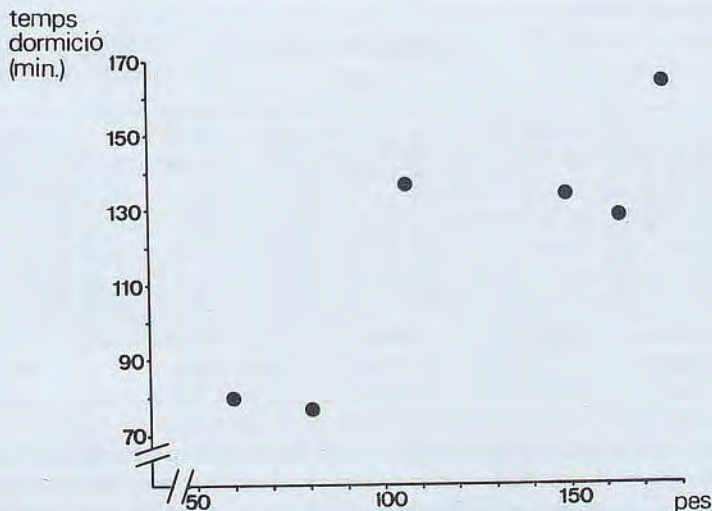


FIG. 2. — Relació entre el pes de les rates femelles i el temps de la dormició produïda per l'administració intraperitoneal de 30 mg./kg. de pentobarbital sòdic. Existeix una correlació positiva i directa entre el pes dels animals i el temps de dormició ($y = 16,79 + 0,8089x$; $r = 0,9406$; $p < 0,001$).

TAULA III. — Mitjanes \pm l'error estàndar de les concentracions plasmàtiques de pentobarbital (30 mg/kg i. p.) en rates d'uns 50 grams de pes. Els valors expressats són mitjanes de les concentracions trobades en quatre animals. Les línies verticals gruixudes indiquen el final de la fase d'absorció i el començament de la d'eliminació.

Temps (min.)		15	30	45	60	75
Mascles *	Conc. (\bar{x})	13,38	14,73	30,56	13,11	9,07
	\pm E.S.)	\pm 0,75	\pm 3,47	\pm 1,72	\pm 1,78	\pm 1,31
Femelles **	Conc. (\bar{x})	32,17	41,1	23,53	13,50	7,87
	\pm E.S.)	\pm 2,61	\pm 0,30	\pm 4,62	\pm 1,22	\pm 0,67

* $r = 0,9752$; $b = -0,0176$; $a = 2,2419$.

$t_{1/2} = 17,11$ minuts; ($p < 0,05$).

** $r = 0,9839$; $b = -0,0207$; $a = 2,2795$.

$t_{1/2} = 14,54$ minuts; ($p < 0,01$).

TAULA IV. — Mitjanes \pm l'error estàndar de les concentracions plasmàtiques de pentobarbital (30 mg/kg i. p.) en rates d'uns 250 grams de pes. Els valors expressats són mitjanes de les concentracions trobades en quatre animals.

Temps (min.)		15	25	40	50	65
Mascles *	Conc. (\bar{x})	28,75	24,30	18,46	15,69	12,24
	\pm E.S.)	\pm 1,76	\pm 1,47	\pm 0,69	\pm 0,99	\pm 2,02
Femelles **	Conc. (\bar{x})	58,04	33,99	32,16	27,77	26,59
	\pm E.S.)	\pm 2,85	\pm 1,55	\pm 1,68	\pm 1,53	\pm 0,53

* $r = 0,9998$; $b = -0,0075$; $a = 1,5695$.

$t_{1/2} = 40,37$ minuts; ($p < 0,001$).

** $r = 0,8687$; $b = -0,0059$; $a = 1,7661$.

$t_{1/2} = 50,60$ minuts; ($p < 0,05$).

tament el pentobarbital que els mascles adults. Aquesta diferència ha estat també comprovada en la segona part del treball: el temps de vida mitjana plasmàtica del pentobarbital és un 25,3 % superior entre les femelles adultes, comparades amb els mascles adults, fet molt significatiu si a més tenim en compte que entre els animals joves el temps de dormició de les femelles és un 15 % inferior al dels mascles.

DISCUSSIÓ. — Tal com ha demostrat BUSH (1963) de manera ben palesa, la durada de l'efecte dels oxibarbitúrics depèn de llur metabolització (excepte pel barbital, que és eliminat fonamentalment per excreció renal). En canvi, la durada de l'efecte dels tiobarbitúrics depèn fonamentalment de llur redistribució, sobre tot al teixit adipós (menys irrigat, i al qual el tiobarbitúric, altament liposoluble, arriba més tard que al cervell). Aquesta és la causa que la durada de la hipnosi produïda pels oxibarbitúrics totalment eliminats per metabolització, com l'hexobarbital o el pentobarbital, sigui utilitzada amb tanta freqüència per a la mesura aproximada de la capacitat de metabolització. Però aquest tipus de correlació només és possible quan hom té proves que la sensibilitat del «receptor», en aquest cas el sistema reticular ascendent, és igual per a tots els animals estudiats. Per aquest motiu hem mesurat les concentracions plasmàtiques de barbitúric en despertar en la primera fase de l'estudi.

Els resultats obtinguts suggereixen una major capacitat de metabolització per part de les rates de 50-60 grams, tant en mascles com en femelles. La segona part de l'estudi —les cinètiques plasmàtiques del pentobarbital— constitueix una contraprova de la primera. Vistos globalment, els resultats obtinguts suggereixen tres fets significatius.

En primer lloc, l'absorció del pentobarbital administrat per via intraperitoneal és més lenta en els animals joves. La solució de pentobarbital administrada té un $\text{pH} = 9,1$. És de suposar que el barbitúric injectat precipitarà en la cavitat peritoneal, i que la seva redissolució serà més difícil en els animals joves. És també suposable que l'absorció sigui més ràpida en els animals adults, com conseqüència d'una irrigació més rica.

En segon lloc l'observació d'una major capacitat de metabolització per part dels animals joves sembla estar en contradicció amb els estudis citats a la introducció d'aquest treball. De fet, els primers estudis sobre les diferències en la resposta a un fàrmac motivades per l'edat es limitaven a comparar animals nadons amb adults, però no feien una comparació entre diferents edats de manera seqüencial. Un treball de KATO i collab. publicat l'any 1964 donà més llum sobre aquest tema. Aquests autors observaren que la capacitat de metabolització del meprobamat i del carisoprodol pels microsomes de rata era gairebé nul·la en l'animal nadó, augmentava fins assolir una capacitat màxima a l'edat

de 30 dies, i tornava a disminuir de manera gradual fins els 250 dies, edat en la que la capacitat de metabolització era aproximadament equivalent a la dels animals de 10 dies. L'activitat de la NADPH-oxidasa dels microsomes hepàtics seguia una evolució paral·lela a la capacitat de metabolització dels dos fàrmacs esmentats. Un fet similar ha estat observat per MORSELLI (1976) en l'espècie humana: el temps de vida mitjana del diazepam (un fàrmac totalment eliminat per hidroxilació i N-desmetilació) era de 75 hores en prematurs, de 31 hores en nadons a termini, de 10,7 hores en lactants, de 17,4 hores en nens de 2-8 anys, i de 24 hores en adults de 25-45 anys. La depuració seguia un curs invers al del temps de vida mitjana. No és doncs estrany que el temps de vida mitjana del pentobarbital sigui molt més curt en rates de 50-60 grams de pes (45-50 dies d'edat, al nostre estabulari equivalents al final de la lactància) que en rates adultes de 3 mesos d'edat.

Finalment, és interessant l'observació de diferències en l'efecte del pentobarbital segons els sexes. La comparació de les taules I i II revela que per a una mateixa edat les femelles madures dormen el doble de temps o més que els mascles madurs. A més, malgrat que el temps de vida mitjana del pentobarbital és inferior entre les femelles immadures comparades amb els mascles de la mateixa edat, aquesta relació s'inverteix en l'edat madura. STREICHER i GARBUS ja observaren l'any 1955 que la durada de l'anestèsia produïda per l'hexobarbital era unes tres vegades superior entre les femelles que entre els mascles, entre els quatre i els vint mesos d'edat. STRIPP i collab. (1973) han demostrat que l'administració crònica d'andrògens produeix un augment de la capacitat de metabolització, i la d'estrògens una disminució. L'administració d'esteroides catatòxics a rates mascle produïa un augment de l'activitat d'algunes vies metabòliques microsomals hepàtiques, i una disminució d'altres. Aquests autors suggereixen un doble mecanisme en l'efecte dels esteroides: per una banda un efecte inductor directe, i per l'altra una inhibició indirecta per disminució de la biosíntesi de la testosterona en gonades. En tot cas, la producció de testosterona en quantitats fisiològiques seria un estímul inductor, i la d'estrògens un estímul inhibitor. En un detallat estudi sobre la influència de la maduració sexual sobre el metabolisme dels fàrmacs en rates de 21 a 56 dies d'edat, EL DEFRAWY i collab. (1974a) conclouen que les diferències sexuals en rates madures serien conseqüència a la vegada d'un augment de la capacitat de metabolització als mascles i una disminució a les femelles. Aquests mateixos autors (EL DEFRAWY i collab., 1974b) observen que la N-desmetilació de l'etil·morfina i del 3-metil-4-metilaminobenzè és superior en mascles que en femelles, que l'activitat específica del citocrom P-450 microsomal també és superior als mascles, i que la relació entre els màxims a 455 nm i a 430 nm de l'espectre diferencial del complex efil-isocianur-citocrom P-450 és supe-

rior a les femelles. Als mascles la castració i el tractament amb estrògens donen lloc a una disminució de l'activitat de N-desmetilasa i del contingut en citocrom P-450, i a un augment de l'esmentada relació espectral. La testosterona restaura aquests paràmetres a valors equivalents als dels animals controls. En les femelles la castració no produeix efectes massa significatius, però l'administració de testosterona té un efecte similar a l'observat en mascles castrats o sotmesos a tractament previ amb estrògens.

Actualment tenim en curs de realització estudis que per una banda puguin completar el curs de l'evolució de diverses vies metabòliques en mascles i femelles, i estudis de metabolisme *in vitro* en preparats microsomals i de medicació del contingut en citocrom P-450, tant en la seva totalitat (OMURA i SATO, 1964a i 1964b) com en la forma disponible per a intervenir en el metabolisme dels fàrmacs (LAPORTE i FONTECILLA, 1976).

*Departament de Farmacologia i Terapèutica.
Facultat de Medicina de la Universitat Autònoma de Barcelona
Barcelona, febrer de 1977*

BIBLIOGRAFIA

1. BUSH, M. T.: Sedatives and hypnotics, I. Absorption, fate and excretion. A. «Physiological pharmacology», dirigit per W. S. Root i F. G. Hofmann (pp. 185-218). Academic Press. Nova York, 1963.
2. EL DEFRAWY EL MASRY, S.; COHEN, G. M.; MANNERING, G. J.: Sex-dependent differences in drug metabolism in the rat. I. Temporal changes in the microsomal drug-metabolizing system of the liver during sexual maturation. *Drug Metab. Disposit.*, 2, 267-278, 1974a.
3. EL DEFRAWY EL MASRY, S.; MANNERING, G. J.: Sex-dependent differences in drug metabolism in the rat. II. Qualitative changes produced by castration and the administration of steroid hormones and phenobarbital. *Drug Metab. Disposit.*, 2, 279-284, 1974b.
4. FOUTS, J. R.; ADAMSON, R. H.: Drug metabolism in the newborn rabbit. *Science*, 129, 897-902, 1959.
5. GOLDSTEIN, A.; ARONOW, L.; KALMAN, S. M.: *Principles of Drug Action. The Basis of Pharmacology*, 1.^a ed. Harper & Row. Nova York, Evanston i Londres, 1968.
6. GOLDSTEIN, A.; ARONOW, L.; KALMAN, S. M.: *Principles of Drug Action. The Basis of Pharmacology*, 2.^a ed. John Wiley & Sons. Nova York, Londres, Sidney i Toronto, 1974.
7. JONDORF, W. R.; MAIKEL, R. P.; BRODIE, B. B.: Inability of newborn mice and guinea pigs to metabolize drugs. *Biochem. Pharmacol.*, 1, 358-361, 1958.
8. KATO, R.; VASSANELLI, P.; FRONTINO, G.; CHIESARA, E.: Variation in the activity of liver microsomal drug-metabolizing enzymes in rats in relation to the age. *Biochem. Pharmacol.*, 13, 1.037-1.051, 1964.
9. LAPORTE, J. R.: *Estudi farmacocinètic de la interacció pentobarbital-tetraclorur de carboni en el conill*. Tesis Doctoral. Departament de Farmacologia i Terapèutica de la Universitat Autònoma de Barcelona, 1974.
10. LAPORTE, J. R.; FONTECILLA, J. C.: Citocrom P-450: el seu paper en el metabolisme dels barbitúrics. Premi August Pi i Sunyer de la Societat Catalana de Biologia, 1976.
11. MORSELLI, P. L.: Problemas de terapèutica en la edad pediàtrica. *A Avances en Terapèutica-7*, dirigit per J. Laporte i J. A. Salvá (pp. 89-99). Salvat Editores. Barcelona, 1976.

12. OMURA, T.; SATO, R.: The carbon monoxide-binding pigment of liver microsomes. I. Evidence for its hemoprotein nature. *J. biol. Chem.*, 239, 2.370-2.378, 1964.
13. OMURA, T.; SATO, R.: The carbon monoxide-binding pigment of liver microsomes. II. Solubilization, purification, and properties. *J. biol. Chem.*, 239: 2.379-2.385, 1964.
14. STREICHER, E.; GARBUS, J.: The effect of age and sex on the duration of hexobarbital anesthesia in rats. *J. Gerontol.*, 10, 441-444, 1955
15. STRIPP, B.; MENARD, R. H.; ZAMPAGLIONE, N. G.; HAMRICK, M. E.; GILLETTE, J. R.: Effect of steroids on drug metabolism in male and female rats. *Drug Metab. Disposit.*, 1, 216-221, 1973.
16. VEST, M. F.; STREIFF, R. R.: Studies on glucuronide formation in newborn infants and older children. *J. Dis. Child.*, 98, 688-696, 1959.
17. WEISS, C. F.; GLAZKO, A. J.; WESTON, J. K.: Chloramphenicol in the newborn infant: a physiologic explanation of its toxicity when given in excessive dose. *New Engl. J. Med.*, 262, 787, 1960.