

Kobaylarda Deriye Uygulanan Sodyum Benzoatın Sistemik Etkileri

Melahat Dirican*, Asuman H. Güler**, Zehra Genç***

ÖZET. Cilt yoluyla uygulanan sodyum benzoat (Na-B)'in olası sistemik toksik etkilerini incelemek amacıyla kobaylara (n=24) ciltleri lasere edilerek % 10'luk Na-B çözeltisi sürüldü. 21 günlük deney periyodunu takiben kobayların serumlarında glukoz, üre, sodyum (Na⁺), potasyum (K⁺), klorür (Cl⁻), total kalsiyum (Ca_T) ve inorganik fosfat (P_i) düzeyleri ölçüldü.

Na-B uygulanan grupta kreatinin ve K⁺ düzeyleri kontrol grubuna (n=24) göre anlamlı (sırasıyla p < 0.01 ve p < 0.05) olarak daha yüksek bulundu. Glukoz ve üreyle diğer parametrelerin korelasyonları da incelendi. Glukozla-P_i arasında kontrol ve Na-B grubunda anlamlı pozitif (sırasıyla p < 0.05 r = 0.445 ve p < 0.01 r = 0.590) korelasyon olduğu saptandı. Üreyle-kreatinin arasında kontrol grubunda anlamlı pozitif (p < 0.001 r = 0.680) bir ilişki bulundu. Oysa Na-B grubunda bu ilişki yine anlamlı (p < 0.05) fakat ters yönde (r = -0.450) idi. Sonuçta, Na-B'in cilt yoluyla emilip serum kreatinin ve K⁺ düzeylerinde artışa yol açarak sistemik toksik etkiler yaratabileceği kanısına varıldı.

Ahahtar Kelimeler .Sodyum benzoat .deriden emilimi.

The Systemic Effects of Sodium Benzoate Applied to Guinea Pigs' Skin

SUMMARY. To investigate the possible systemic toxic effects of sodium benzoate (Na-B) which was administered to skin, 10 % Na-B solution was applied to lacerated guinea pig (n=24) skins. Following the experimental period of 21 days; glucose, urea, creatinine, sodium (Na⁺), potassium (K⁺), chloride (Cl⁻), total calcium (Ca_T) and inorganic phosphate (P_i) were measured in these guinea pigs' sera.

In the Na-B applied group, creatinine and K⁺ levels were significantly (p < 0.01 and 0.05 respectively) higher than the control group. The correlations of these values with serum glucose and urea were investigated, also. Glucose and P_i were positively correlated to each other in the control and Na-B groups (p < 0.05 r = 0.445 and p < 0.01 r = 0.590 respectively). It was found out that there was a significant positive (p < 0.001 r = 0.680) relation between urea and creatinine in the control group. However, in the Na-B group, this relation was inversely significant (p < 0.05 r = -0.450). Finally, it is concluded that Na-B absorbed through the skin leads increases in serum K⁺ and creatinine levels and so might cause systemic toxic effects.

Key Words .Sodium benzoate .skin absorption.

Sodyum benzoat bir ksenobiyotik karboksilik asit olan benzoik asitin tuzudur. Benzoik asit veya onun sodyum, potasyum tuzları çeşitli gıdalara (margarin, zeytin-zeytin ezmesi, reçel, marmelat, bisküvi, sos, keçap vs.) antimikrobiyal olarak yaklaşık 1 gr/kg miktarlarda katılmaktadır¹. Diğer yandan Na-B 1979'dan beri bazı tip hiperamonyemilerin tedavisinde de yaygın olarak kullanılmaktadır^{2,3}. Akut

hiperamonyemide iv olarak veya oral yolla yüksek dozda verilen Na-B iştahsızlık, irritabilite, letarji ve komaya kadar varabilen toksik belirtilere neden olur⁴. Ayrıca tekrarlayan eritema multi-forme'de⁵ ve Melkersson-Rosenthal sendromunda da (yüzde şişme, diş etlerinde hipertrofi, diş eti biyopsisinde küçük damarların etrafında lenfosit ve plazma hücreleri infiltrasyonu bulguları vardır)⁶ Na-B sorumlu tutulmaktadır.

Benzoik asit vücutta glisinle birleştirilip hippürata çevrilir. Bu işlem başlıca karaciğer ve böbrek mitokondrisinde gerçekleşir⁷⁻⁹.

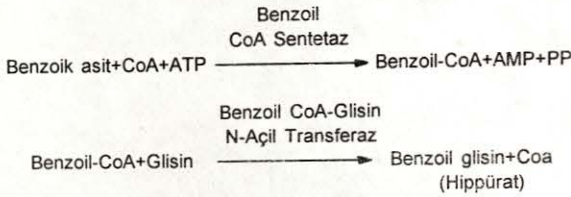
* Uzm. Dr.; U.Ü. Tıp Fak. Biyokimya ABD.

** Prof. Dr.; U.Ü. Tıp Fak. Biyokimya ABD.

*** Yrd. Doç. Dr.; U.Ü. Tıp Fak. Tıbbi Biyoloji ABD.

Geliş Tarihi: 05.07.1995

Kabul Tarihi: 29.11.1995



Oral veya iv yolla verilen Na-B'la ilgili farmakokinetik çalışmalar ve özellikle üre sentezi üzerine etkileri çeşitli araştırmalarda incelenmiştir.

Benzil benzoat solüsyon şeklinde gal tedavisinde¹⁰, benzoik asit ise merhem şeklinde (Whitfield merhemi) antifungal ve ayrıca antiseptik olarak kullanılmaktadır¹¹. Na-B ve benzoik asit deriden emilirler ve emilim yaşlı deriye göre genç deride daha fazladır¹². Ayrıca derinin hasara uğraması bazı bariyer fonksiyonlarını ortadan kaldıracağından cilt yoluyla Na-B emiliminde artmaya neden olur¹³.

Bu çalışmada, zedelenmiş cilt yoluya kobaylara uygulanan Na-B'in çeşitli biyokimyasal parametreler üzerine olan etkilerinin incelenmesi amaçlandı. İnsanlarda benzoat konjugasyonu çalışmaları için iyi bir model olduklarından dolayı kobaylar üzerinde çalışıldı¹⁴.

Gereç ve Yöntem

Çalışmada Uludağ Üniversitesi Deney Hayvanları Merkezi'nde yetiştirilen 48 adet kobay kullanıldı. Aynı şartlarda bırakılan kobayların sırt derisi 3.5x3 cm boyutlarında jilette traş edilerek lasere edildi. Kobayların 24 tanesi başka bir bölme konuldu ve lasere cilt bölgelerine her gün 12 saat arayla toplam 21 gün % 10'luk Na-B çözeltisinden sürüldü. Diğer 24 kobaya herhangi bir işlem uygulanmadı ve bu grup kontrol grubunu oluşturdu. 21 gün sonunda kobaylar dekapite edilerek kanları alındı ve serumları ayrılarak glukoz, üre, kreatinin, Na⁺, K⁺, Cl⁻, Ca_T ve P_i düzeyleri ölçüldü.

Serum glukozu "glukoz oksidaz" yöntemiyle (Biotrol, Cat. no. A02 466, Fransa), üre "üreaz+glutamat dehidrogenaz" yöntemiyle (Biotrol, Cat. no. A02374, Fransa), kreatinin "alkali pikrat" yöntemiyle (Coulter, Reagent no. 9966128, ABD), fosfor "amonyum fosfomolibdat" yöntemine göre (Biotrol, Cat. no. A02477, Fransa) Technicon RA-1000 otoanalizöründe (Technicon Instruments Corporation, NewYork, ABD) ölçüldü. Na⁺ ve K⁺ düzeyleri "Integrating Flame Photometer Model 227" cihazında (Evans Electroselenium Limited, İngiltere) saptandı. Total kalsiyum kompleksometri, Cl⁻ ise merkürimetri yöntemiyle ölçüldüler.

İstatistiksel analiz için Epistat istatistik paket programı kullanıldı. Veriler bu programın student-t testi ve Pearson korelasyon katsayısı hesaplanarak incelendi.

Bulgular

Tablo I'de kontrol grubu ve Na-B uygulanan grupta serum glukoz, üre ve kreatinin düzeyleri verilmiştir. Tablo II'de ise kobayların serum elektrolit değerleri görülmektedir.

Tablo: I- Kontrol grubu (n=24) ve Na-benzoat uygulanan grubun (n=24) serum glukoz, üre ve kreatinin değerleri

Ölçülen Değerler	Kontrol Grubu $\bar{X} \pm SH, (SS) (EKD-EBD), \% D.K.$	Na-Benzoat Grubu $\bar{X} \pm SH, (SS) (EKD-EBD), \% D.K.$	Anlamlılık
Glukoz (% mg)	190.65 ± 14.76 (72.34) (129 - 434), 37.9	206.91 ± 22.05 (108.03) (96 - 468), 52.2	AD
Üre (% mg)	52.96 ± 4.56 (22.33) (23 - 113), 42.2	50.26 ± 3.17 (15.52) (23 - 90), 30.9	AD
Kreatinin (% mg)	0.74 ± 0.06 (0.29) (0.2 - 1.3), 39.2	2.01 ± 0.29 (1.43) (0.5 - 5.9), 71.1	<0.01

AD= Anlamlı Değil EKD= En Küçük Değer EBD= En Büyük Değer
% D.K.= % Değişim Katsayısı

Tablo: II- Grupların elektrolit ortalama değerleri ve birbiriyle kıyaslanması

Ölçülen Değerler	Kontrol Grubu $\bar{X} \pm SH, (SS) (EKD-EBD), \% D.K.$	Na-Benzoat Grubu $\bar{X} \pm SH, (SS) (EKD-EBD), \% D.K.$	Anlamlılık
Na ⁺ (mEq/L)	135.96 ± 0.98 (4.82) (126 - 143), 3.5	140.57 ± 2.05 (10.04) (121 - 151), 7.1	AD
K ⁺ (mEq/L)	6.09 ± 0.43 (2.10) (3.0 - 9.1), 34.5	8.18 ± 0.43 (2.10) (4.7 - 10.7), 25.7	<0.05
Cl ⁻ (mEq/L)	107.87 ± 2.91 (14.24) (82 - 131), 13.2	103.39 ± 0.92 (4.53) (80 - 110), 4.4	AD
Ca _T (% mg)	10.49 ± 0.18 (0.86) (7.0 - 11.6), 8.2	10.32 ± 0.25 (1.22) (7.0 - 12.0), 11.8	AD
P _i (% mg)	6.77 ± 0.51 (2.51) (2.9 - 8.7), 37.1	6.38 ± 0.38 (1.85) (3.8 - 9.9), 29.0	AD
Na ⁺ /K ⁺	25.09 ± 1.80 (8.80) (13.86 - 38.38), 35.0	18.59 ± 1.22 (5.97) (10.31 - 30.64), 32.1	<0.01

Serum glukoz ve üre değerlerinin diğer parametrelerle korelasyonları incelendi, elde edilen değerler Tablo III ve IV'te görülmektedir.

Tartışma

Sodyum benzoat çeşitli gıda maddelerine antimikrobiyal olarak katılmaktadır. Bu yolla vücuda alınan Na-B'a karşı çeşitli allerjik reaksiyonların ortaya çıkabileceği belirtilmektedir. Tekrarlayan eritema multiforme'de ve Melkersson-Rosenthal sendromunda Na-B allerjisi saptanmıştır^{5,6}.

Bunun dışında hiperamonyemi ve hiperglisinemi tedavisinde iv/oral yolla Na-B verilmesi hastalarda iştahsızlık, irritabilite, laterji ve komaya yol açabil-

Tablo: III- Kontrol ve Na-benzoat uygulanan grupların glukoz değerlerinin diğer parametrelerle korelasyonları

Glukoz Değeri ile Kıyaslanan Parametreler	Kontrol Grubu	p	Na-Benzoat Grubu	p
	Lineer Regresyon Denklemi		Lineer Regresyon Denklemi	
Üre	$y = 55.80 - 0.015X$ $r = -0.048$	> 0.05	$y = 51.57 - 0.0063X$ $r = -0.044$	> 0.05
Kreatinin	$y = 0.567 + 0.0008X$ $r = 0.219$	> 0.05	$y = 1.61 + 0.0019X$ $r = 0.143$	> 0.05
Na ⁺	$y = 133.03 + 0.015X$ $r = 0.230$	> 0.05	$y = 137.49 + 0.014X$ $r = 0.159$	> 0.05
K ⁺	$y = 5.14 + 0.0049X$ $r = 0.170$	> 0.05	$y = 6.83 + 0.0065X$ $r = 0.335$	> 0.05
Cl ⁻	$y = 95.51 + 0.064X$ $r = 0.329$	> 0.05	$y = 103.86 - 0.002X$ $r = -0.053$	> 0.05
Ca _T	$y = 10.53 - 0.0002X$ $r = -0.018$	> 0.05	$y = 10.20 + 0.0005X$ $r = 0.052$	> 0.05
P _i	$y = 3.82 + 0.015X$ $r = 0.445$	< 0.05	$y = 4.27 + 0.0102X$ $r = 0.59$	< 0.01
Na ⁺ /K ⁺	$y = 23.95 + 0.0059X$ $r = 0.049$	> 0.05	$y = 20.68 - 0.0101X$ $r = -0.182$	> 0.05

p = Korelasyon katsayısının istatistiksel anlamlılık derecesi

Tablo: IV- Kontrol ve Na-benzoat uygulanan grupların serum üre değerlerinin diğer parametrelerle korelasyonu

Üre Değeri ile Kıyaslanan Parametreler	Kontrol Grubu	p	Na-Benzoat Grubu	p
	Lineer Regresyon Denklemi		Lineer Regresyon Denklemi	
Kreatinin	$y = 0.266 + 0.0088X$ $r = 0.680$	< 0.001	$y = 4.10 - 0.041X$ $r = -0.45$	< 0.05
Na ⁺	$y = 139.77 - 0.07X$ $r = -0.33$	> 0.05	$y = 125.52 + 0.29X$ $r = 0.462$	< 0.05
K ⁺	$y = 4.48 + 0.03X$ $r = 0.32$	> 0.05	$y = 10.50 - 0.046X$ $r = -0.34$	> 0.05
Cl ⁻	$y = 118.5 - 0.20X$ $r = -0.315$	> 0.05	$y = 94.82 + 0.17X$ $r = 0.584$	< 0.01
Ca _T	$y = 10.50 - 0.0001X$ $r = -0.004$	> 0.05	$y = 10.86 - 0.0107X$ $r = -0.136$	> 0.05
P _i	$y = 7.61 - 0.015X$ $r = -0.141$	> 0.05	$y = 5.11 + 0.025X$ $r = 0.211$	> 0.05
Na ⁺ /K ⁺	$y = 32.35 - 0.137X$ $r = -0.348$	< 0.05	$y = 10.12 + 0.168X$ $r = 0.437$	< 0.05

mektedir. Benzer klinik bulgular hiperamonyemide de görülmektedir ve dolayısıyla Na-B toksisite bulguları maskelenebilir. Çalışmamızda Na-B uygulanan kobayların aktivitelerinde azalma olduğu, halsiz ve daha zayıf oldukları gözlemlendi. Bu gözlem, cilt yoluya uyguladığımız Na-B'nin emilip sistemik toksik belirtilere neden olduğu yönünde değerlendirildi. Benzoat intoksikasyonunun klinik belirtilerinin bazıları, beyinde serotonin turnoverinin etkilenmesi sonucu olabilir. Serotonin turnoverindeki artışın mekanizması triptofanla benzoatın albumine bağlanmak için yarışmasıdır. Sonuçta kanda serbest triptofan seviyesi artar. Normalde total triptofanın % 15-25'i serbesttir. Serbest triptofanın kan-beyin bariyerini geçebildiği ve böylece triptofan hidroksilaz için substrat olduğu yönünde bulgular vardır. Triptofanı 5-hidroksi triptofan (5-HT)'a çeviren triptofan hidroksilaz normalde beyinde satüre değildir ve beyinde triptofan konsantrasyonunun artması 5-HT sentezi ve turnoverindeki artışla sonuçlanır⁴. 5-HT'in iştahı baskıladığı

bilinmektedir¹⁵. Bunlara ilaveten, benzoatın beyinde triptofan uptake'i üzerine direkt etkisi olduğu Bachmann ve arkadaşlarının ileri sürülmüştür¹⁶.

Benzoatın ve hippüratın glukoz ve üre sentezi üzerine etkileri çeşitli araştırmacılar tarafından incelenmiştir. Cyr ve arkadaşları siçan hepatositlerine Na-B eklenmesinin, laktattan glukoz ve amonyaktan üre sentezini azalttığını tespit etmişlerdir¹⁷. İnhibisyon, pirüvat karboksilaz ve N-asetil-L-glutamat bağımlı karbamil fosfat sentetaz üzerinedir. Benzoil CoA'nın birikimi sonucu serbest CoA ve asetil CoA'nın azalması inhibisyonun sorumlu gibi görünmektedir^{17,18}. Bir başka çalışmada, hippüratın bazal ve insülinle uyarılmış glukoz kullanımını ve bazal glukoneogenezini azalttığı saptanmıştır¹⁹. Çalışmamızda Na-B verilen kobay grubunun serum ortalama glukoz değeri kontrol grubuna göre hafifçe yüksek bulundu (sırasıyla 206.91 ± 108.03 ve 190.65 ± 72.34) ancak iki grup arasındaki fark istatistik olarak anlamlı değildi. Serum üre değeri bakımından da iki grup arasında istatistik olarak anlamlı bir fark bulunmadı, ancak Na-B grubunun serum üre değeri kontrol grubuna göre biraz düşüktü. Siçan böbrek proksimal tubulus hücresi kültürü kullanılarak yapılan çalışmada, benzoatın üre atılımını yaklaşık 2 kat arttırdığı, ayrıca hippüratın da benzer şekilde etki gösterdiği saptanmıştır²⁰. Na-B grubunda saptadığımız hafif üre düşüklüğünün nedeni artan üre itrahi nedeniyle olabilir.

Serum kreatinin değeri bakımından Na-B grubunda kontrol grubuna göre anlamlı (p < 0.01) bir artış saptandı. Yapılan incelemelerde literatürde bu konuda bilgiye rastlanmadı. Serum kreatinin değerindeki bu artış, benzoatın konjugasyonunda substrat olarak kullanılan glisin temini için kas proteinlerinin yakımının artması sonucu olabilir. Na-B'nin hepatik glisin düzeyini doza bağımlı olarak % 40 oranında, hepatik CoA düzeyini de % 14 oranında azalttığı saptanmıştır. Benzoatla glisin konjuge edilmesi işleminde glisin ve CoA kullanılabilirliği sınırlıdır ve sonuçta benzoat hepatik glisin kaybına yol açar²¹. Bir başka çalışmada glisin de novo sentezden ziyade vücuttaki havuzlardan sağlanarak konjugasyonda kullanıldığı belirtilmektedir²². Bu bulgular görüşümüzü desteklemektedir.

Serum Na⁺, Cl⁻, Ca_T ve P_i değerleri bakımından kontrol ve Na-B grubunun değerleri arasında herhangi bir fark gözlenmezken serum K⁺ değerinde Na-B grubunda anlamlı (p < 0.05) bir yükseklik saptandı. Ayrıca yine Na-B grubunun Na⁺/K⁺ oranı kontrole göre anlamlı (p < 0.01) olarak düşüktü. Na-B uygulanan kobay grubunda saptanan hiperpotasemiden sorumlu 2 mekanizma olabilir: 1- Hücre nekrozu. Kalbag ve Palekar'ın siçanlara oral

yolla Na-B vererek yaptıkları çalışmada karaciğer ve böbrek ağırlığında artma ve karaciğer hücrelerinde büyüme, vakuolüzyon ve nekroz saptamışlardır²³. 2-Na-K-ATPaz aracılıklı olarak hiperpotasemi gelişimi. Hippürat ve benzoatın ATP bağımlı K kanalları aracılığıyla etki ettikleri iddia edilmektedir¹⁹. Ayrıca benzoat, benzoil CoA birikimine sebep olarak ATP, serbest CoA ve asetil CoA kaybına yol açmaktadır²⁴. Na-K-ATPaz'ın sinir ve kas hücresi gibi hücrelerde sentezlenen ATP nin % 60-70'ini ve dinlenme durumunda üretilen ATP nin yaklaşık % 35'ini kullanabildiği hesaplanmıştır²⁵. ATP kaybı nedeniyle Na-K-ATPaz aktivitesinde azalma sonucu dolaylı olarak glukoz taşıyıcı protein (GTP) de etkilenebilir. Bilindiği gibi Na-K-ATPaz ve GTP birbiri ile ilişkili fonksiyon görürler²⁶. Çalışmamızda Na-B grubunda saptanan hafif glukoz yüksekliği de bu yönde düşündürülen bir bulgudur. Ayrıca Na-B uygulanan grupta ($r=0.335$) glukoz-K⁺ arasında istatistik olarak anlamlı bulunmayan ama kontrol grubuna ($r=0.170$) kıyasla daha yüksek bir korelasyon saptandı (Tablo: III). Na-B grubunda Na⁺/K⁺ daki azalma K⁺ düzeyindeki artış nedeniyledir, çünkü Na⁺ değerleri bakımından iki grup arasında anlamlı bir fark yoktu (Tablo: I).

Yaptığımız korelasyon çalışmalarında glukoz-P_i arasında kontrol ve Na-B grubunda anlamlı (sırasıyla $p<0.05$ $r=0.445$ ve $p<0.01$ $r=0.590$) bir ilişki olduğu saptandı. Diğer yandan üre-kreatinin arasında kontrol grubunda saptanan anlamlı ($p<0.001$ $r=0.680$) pozitif ilişkinin Na-B grubunda tersine döndüğü ($p<0.05$ $r=-0.450$) görüldü. Bu da Na-B'in kas yıkımına neden olduğu, böbrekler üzerine direkt etki etmediği şeklinde değerlendirildi.

Araştırmamızdan elde edilen sonuçlar ve gözlemlerimiz şu şekilde özetlenebilir:

- 1- Na-B cilt yoluyla da emilip sistemik toksik etkilere neden olabilir.
- 2- Yapılan literatür incelemesinde Na-B'in özellikle üre ve glukoz metabolizması üzerine olan etkilerinin araştırıldığı görüldü. Çalışmamızda Na-B'in bu parametreler üzerine olan anlamlı bir etkisi saptanmadı. Bunda uygulanan dozun etkisinin olabileceği düşünüldü.
- 3- Na-B eklenen gıdaların özellikle bebekler ve karaciğer ve/veya böbrek fonksiyon bozukluğu olan kişiler tarafından tüketilmemesi gerektiği görüşündeyiz.

Uzm. Dr. Melahat DIRICAN
Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi
Biyokimya ABD
Tel: (224) 442 82 00 / 21190
16059 Görükle / BURSA

Kaynaklar

1. Resmi Gazete, 6 Mart 1988, Sayı: 19746, s. 22-23.
2. Colombo JP, Bachmann C, Pfister U, Gradwohl M: Mitochondrial urea cycle enzymes in rats treated with sodium benzoate. *Biochem Biophys Res Commun.* 151 (2): 872-877, 1988.
3. Tremblay GC, Qureshi IA: The biochemistry and toxicology of benzoic acid metabolism and its relationship to the elimination of waste nitrogen. *Pharmacol Ther.* 60(1): 63-90, 1993.
4. Batshaw ML, Hyman SL, Coyle JT, Robinson MB, Qureshi IA: Effect of sodium benzoate and sodium phenylacetate on brain serotonin turnover in the ornithine transcarbamylase-deficient sparsefur mouse. *Pediatr Res.* 23 (4): 368-374, 1988.
5. Lewis MA, Lamey PJ, Forsyth A, Gall J: Recurrent erythema multiforme: a possible role of foodstuffs. *Br Dent J.* 166 (10): 371-373, 1989.
6. Pachor ML, Urbani G, Cortina P, Lunardi C, Nicolis F: Is the Melkersson-Rosenthal syndrome related to the exposure to food additives? A case report. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 67 (4): 393-395, 1989.
7. WHO (1991): IPCS Environmental Health Criteria 119: Principles and methods for the assessment of nephrotoxicity associated with exposure to chemicals. Geneva, World Health Organization, pp: 84-85.
8. Gregus Z, Fekete T, Varga F, Klaassen CD: Effects of valproic acid on glycine conjugation of benzoic acid. *J Pharmacol Exp Ther.* 267 (3): 1068-1075, 1993.
9. Kasuya F, Igarashi K, Fukui M: Glycine conjugation of the substituted benzoic acids in vitro: structure-metabolism relationship study. *J Pharmacobiodyn.* 13 (7): 432-440, 1990.
10. Arndt KA (Çeviri: Akan T, Kürkçüoğlu N, Akkaya S, Kölemen S): Dermatolojik Tedavi El Kitabı. Taş Kitabevi, Ankara, 1985, s. 113.
11. Wilkinson DS: Topical therapy. In: *Textbook of Dermatology* (Eds: Rook A, Wilkinson DS, Ebling FJG). Blackwell Scientific Pub. Oxford, London, 1975, p. 2071.
12. Roskos KV, Maibach HI, Guy RH: The effect of aging on percutaneous absorption in man. *J Pharmacokinet Biopharm.* 17(6): 617-630, 1989.
13. Moon KC, Wester RC, Maibach HI: Diseased skin models in the hairless guinea pig: in vivo percutaneous absorption. *Dermatologica.* 180 (1): 8-12, 1990.
14. Ali A, Qureshi IA: Benzoyl-CoA ligase activity in the liver and kidney cortex of weanling guinea pigs treated with various inducers: relationship with hippurate synthesis and carnitine levels. *Dev Pharmacol Ther.* 18 (1-2): 55-64, 1992.
15. Blundell JE: Serotonin and appetite. *Neuropharmacology.* 23: 1537-1551, 1984.
16. Bachmann C, Luthi H, Gradwohl M, Colombo JP: Brain uptake of tryptophan in urease-injected hyperammonemic rats after treatment with benzoate or hippurate. *Biochem Med Metab Biol.* 36: 214-219, 1986.
17. Cyr DM, Egan SG, Brini CM, Tremblay GC: On the mechanism of inhibition of gluconeogenesis and ureagenesis by sodium benzoate. *Biochem Pharmacol.* 42(3): 645-654, 1991.
18. Griffith AD, Cyr DM, Egan SG, Tremblay GC: Inhibition of pyruvate carboxylase by sequestration of coenzyme A with sodium benzoate. *Arch Biochem Biophys.* 269 (1): 201-207, 1989.
19. Spustova V, Dzurik R: Effect of hippurate on glucose utilization in rat kidney cortex slices. *Renal Physiol Biochem.* 14(1-2): 42-47, 1991.

20. Dass PD, Bautista NS, Hardman SH, Lawson LR, Kurtz I: Benzoate modulates renal and extrarenal nitrogen flow: Metabolic mechanisms. *Life Sci.* 48(8): 723-731, 1991.
21. Gregus Z, Fekete T, Varga F, Klaassen CD: Availability of glycine and coenzyme A limits glycine conjugation in vivo. *Drug Metab Dispos Biol Fate Chem.* 20(2): 234-240, 1992.
22. Qureshi I, Rouleau T, Letarte J, Ouellet R: Significance of transported glycine in the conjugation of sodium benzoate in spf mutant mice with ornithine transcarbamylase deficiency. *Biochem Int.* 12(6): 839-846, 1986.
23. Kalbag SS, Palekar AG: Sodium benzoate inhibits fatty acid oxidation in rat liver: effect on ammonia levels. *Biochem Med Metab Biol.* 40(2): 133-142, 1988.
24. Ratnakumari L, Qureshi IA, Butterworth RF: Effect of sodium benzoate on cerebral and hepatic energy metabolites in spf mice with congenital hyperammonemia. *Biochem Pharmacol.* 45(1): 137-146, 1993.
25. Devlin TM: Biological membranes: structure and membrane transport. In: *Textbook of Biochemistry with Clinical Correlations.* Third Ed. (Ed: Devlin TM), Wiley-Liss Inc. Publication, New York, 1992, p. 227.
26. Guyton AC: Transport of ions and molecules through the cell membrane. In: *Textbook of Medical Physiology.* 8th ed. (Ed: Guyton AC). W.B. Saunders Co. Philadelphia, 1991, pp. 38-50.