

Universidad Nacional Autónoma de México

FACULTAD DE CIENCIAS



ESTUDIO DE Ipomoea stans, UNA PLANTA
CON POSIBLE ACTIVIDAD ANTICONVULSIVA

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
B I O L O G O
P R E S E N T A:

MARIA TERESA LOPEZ LAISECA



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

INDICE

INTRODUCCION	1
- Generalidades del Sistema Nervioso	
- Convulsiones y Sistema Nervioso	
- Anticonvulsivantes	
- Antecedentes	
- Clasificación	
- Descripción Específica	
OBJETIVO	17
MATERIALES Y METODOS	18
RESULTADOS	25
DISCUSION	41
CONCLUSIONES	45
AGRADECIMIENTOS	46
BIBLIOGRAFIA	47

INTRODUCCION

Es importante para todo ser vivo el "conocer" el medio que lo rodea, ya que de ello dependerá su sobrevivencia y la conducta que deberá presentar para lograrlo. Para lo anterior los animales han desarrollado un sistema que pueda captar la información del medio externo, procesarla, almacenarla y responder a ella. Esto se logra gracias al Sistema Nervioso, debido a que sus diferentes componentes satisfacen los requerimientos anteriores. Los órganos de los sentidos que forman parte del Sistema Nervioso Periférico sensibles a los cambios de energía del medio externo, y el Sistema Nervioso Central que se encargan de procesar y almacenar esta información e inducir las respuestas, son los constituyentes principales del Sistema Nervioso. (Sandoval, en preparación)

El Sistema Nervioso es único en la gran complejidad de reacciones de control que puede llevar a cabo. Puede recibir miles de señales de información, integrándolos todos para lograr la respuesta del organismo (Gayton, 1978).

En forma general el Sistema Nervioso ha sido dividido en Sistema Nervioso Central, formado por el cerebro y médula espinal y Sistema Nervioso Periférico formado por las estructuras más superficiales del cuerpo. El cerebro se relaciona directamente con el análisis y la integración de la información del mundo externo y con la producción de señales (Lara, R., Sandoval, M.E., 1981); la médula espinal es un centro de gran importancia para los actos reflejos del tronco y las extremidades, y constituye las principales vías de conducción por las cuales los impulsos de la periferia alcanzan los centros nerviosos superiores (Kimber, 1968).

La neurona es la célula funcional del Sistema Nervioso, la cual, además de presentar el mismo aparato bioquímico que las demás células, tiene la capacidad de llevar a cabo el procesamiento y -- transmisión de la información.

El cuerpo celular o soma neurona se encuentra rodeado por la membrana externa capaz de generar impulsos nerviosos. En el --- soma se localizan el núcleo que contiene las características genéticas en los ácidos nucleicos; las mitocondrias que actúan como la maquinaria para la obtención de energía de las sustancias nutritivas, el retículo endoplásmico y los ribosomas para la síntesis de - proteínas, además de los microtúbulos para las funciones de sosten, transporte y contracción.

Debido a las funciones especializadas que realiza, la neurona posee además características anatómicas propias de su función como:

Las Dendritas, prolongaciones del cuerpo celular que tienden a ramificar repetidamente y que puede llegar a formar un arbusculo alrededor de la célula. Las dendritas por lo general son las estructuras principales de recepción de información de la neurona.

El axón es un proceso celular que se extiende a partir del soma que puede ramificarse y constituye la vía por la cual la neurona envía señales a otras neuronas o a otras células del cuerpo.

El funcionamiento del cerebro depende del flujo de información a través de redes de neuronas. La información pasa de una -- neurona a otra por puntos de "contacto" especializados exclusivos de las células neuronales denominados sinapsis. Las sinapsis se establecen entre el axón de una célula y la dendrita de otra, entre ---

axón y axón, dendrita y dendrita o entre axón y cuerpo celular.

En sus extremos distales el axón se dilata para formar el denominado botón terminal, que se encuentra separado de la membrana de la célula receptora por el espacio intersináptico que puede ser de 20 a 200 Å de espesor; a la membrana de la célula receptora se le denomina postsináptica y presenta los mecanismos de decodificación de las señales.

En el botón terminal se encuentran mitocondrias, los organelos responsables de la obtención de energía y regulación de algunos iones y unos cuerpos rodeados por membranas llamadas vesículas sinápticas. También se puede observar en este nivel un engrosamiento de la membrana celular. La parte postsináptica de la sinapsis - también presenta especializaciones definidas como un engrosamiento de la membrana al nivel de "contacto" celular.

Las sinapsis pueden ser eléctricas o químicas de acuerdo a la forma en que se realice la transferencia de información.

Sinapsis Eléctrica.

En la sinapsis eléctrica la transferencia de información - se realiza generalmente por un impulso nervioso terminal presináptico, que se propaga directamente a la siguiente neurona, debido a la baja resistencia de la membrana.

Sinapsis Química.

En este tipo de sinapsis la transferencia de información - se lleva a cabo a través de la liberación de substancias específicas, denominadas neurotransmisores, que interactúan a través de receptores específicos con la membrana postsináptica y hacen posible la transmisión de un mensaje.

Los neurotransmisores pueden ser sintetizados en el soma de la neurona y posteriormente transportados a la terminal sináptica o sintetizados en la misma. Por otro lado los neurotransmisores se pueden encontrar solubles en el citoplasma o dentro de las vesículas sinápticas.

En estado de reposo, la membrana plasmática de la neurona - mantiene distintas las concentraciones de los iones de Na, K y Ca en relación al medio exterior, dando origen a un gradiente de concentraciones donde el Na es mayor fuera que adentro y el K es menor.

Las concentraciones de Na, K y Ca dentro son 10 mq/l, ---- 140 mq/l y 2×10^{-7} Molar respectivamente, mientras que fuera son --- 142 mq/l, 5 mq/l y 2×10^{-3} Molar (Gayton, 1977).

Este gradiente se mantiene por la permeabilidad selectiva - de la membrana a los diferentes iones y a la acción de la bomba Na-K.

El gradiente electroquímico del K da origen al potencial de reposo de la membrana, de -85 mV. (Gayton, 1977).

En la figura 1 se esquematiza la fisiología de la sinápsis.

Cuando un impulso nervioso llega a la terminal sináptica, - se encuentra el potencial de membrana en reposo (1) origina que ésta se haga permeable a los iones Na^+ , por apertura de los canales de -- sodio sensibles al voltaje cuya entrada produce una despolarización que llega a + 45 mV (2), que a su vez induce que los canales de Ca^{++} que se encuentran en la membrana y que son sensibles al voltaje, se abran permitiendo la entrada de estos iones a la terminal sináptica (3) aumentando así su concentración dentro de la terminal (4). Este aumento en la concentración de Ca^{++} induce que el transmisor, ya sea almacenado en las vesículas o en el citoplasma sea liberado al espacio

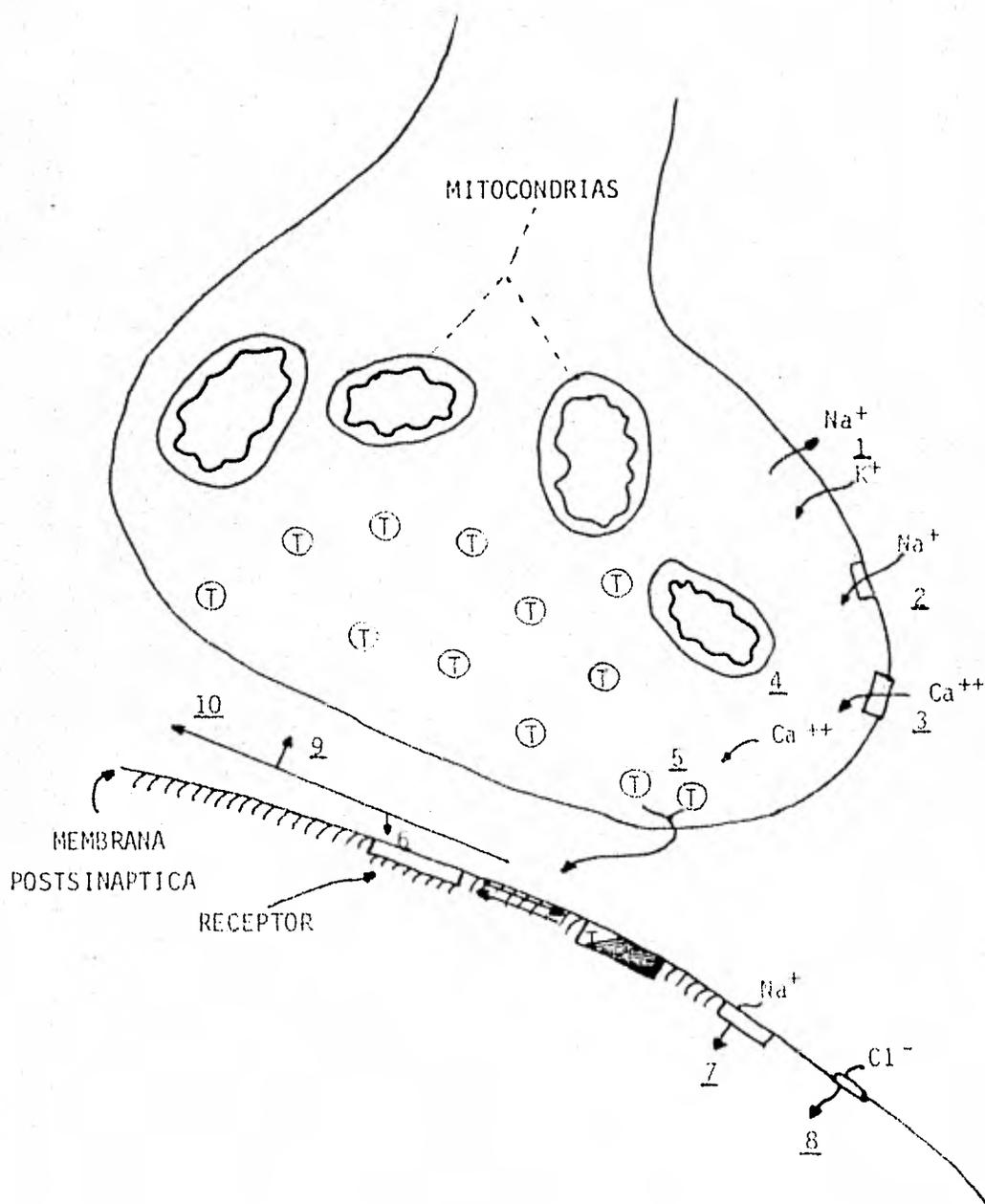


Fig. 1. Fisiología de la Sinapsis.

intersináptico (5), en donde es identificado por su receptor específico que se encuentra en la membrana postsináptica (6) y de acuerdo al tipo de efecto inducido por el neurotransmisor sobre el receptor, se realizarán una serie de modificaciones específicas en la membrana postsináptica. Cuando el neurotransmisor liberado es excitador, su interacción con el receptor postsináptico propicia la entrada de los iones Na^+ hacia la célula postsináptica produciendo una despolarización (7); mientras que si el neurotransmisor liberado es inhibidor, propicia la entrada de iones Cl^- a la célula postsináptica ocasionando una hiperpolarización de -73 mV (8) de la membrana, disminuyendo la probabilidad de liberación de neurotransmisor y por lo tanto inhibiendo el paso del impulso nervioso a la siguiente célula.

Existen diferentes mecanismos responsables de la remoción de transmisores del espacio sináptico. Una vez que han efectuado su acción pueden ser retomados por la terminal sináptica o por las células gliales (9); algunos neurotransmisores son degradados in situ por enzimas específicas (10) (Lara, R., Sandoval, M.E., 1981).

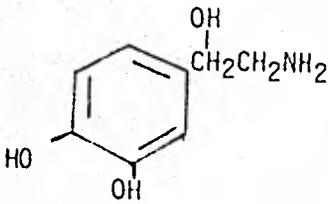
Algunos de los principales neurotransmisores identificados en el Sistema Nervioso de mamíferos son (Fig. 2);

a) Acido aspártico y glutámico, son excitadores en el Sistema Nervioso Central.

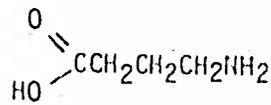
b) Catecolaminas que incluyen la noradrenalina, adrenalina, dopamina y serotonina que actúan como inhibidores.

c) Glicina, inhibidor en médula espinal.

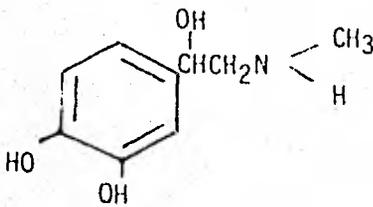
d) Acido gama amino butírico, que es inhibidor en el Sistema Nervioso Central.



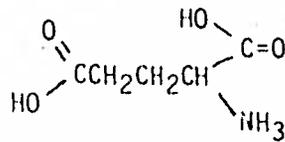
NORADRENALINA



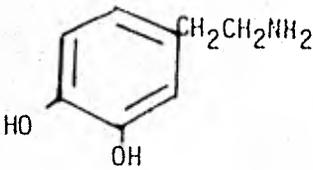
ACIDO γ -AMINO BUTIRICO (GABA)



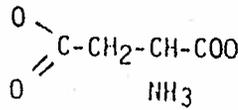
ADRENALINA



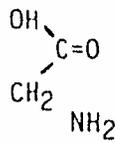
ACIDO GLUTAMICO



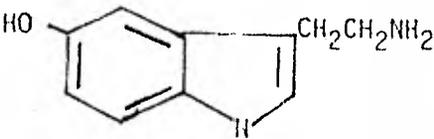
DOPAMINA



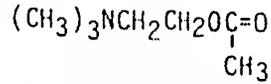
ACIDO ASPARTICO



GLICINA



SEROTONINA



ACETILCOLINA

(Lehniger, 1978).

Fig. 2 Principales Neurotransmisores del Sistema Nervioso

Sin embargo, el papel de los neurotransmisores puede variar de acuerdo a la zona de su localización, por ejemplo en el Sistema Nervioso Central la acetilcolina puede comportarse tanto como inhibidor como excitador.

CONVULSIONES Y SISTEMA NERVIOSO CENTRAL.

El desarrollo correcto de los procesos mentales complejos - como la percepción, el conocimiento etc. precisan necesariamente que la transmisión sináptica se lleve a cabo de un modo exacto y en perfecta sincronización. Esos procesos se ven alterados frecuentemente en las enfermedades mentales que pueden ser ocasionadas por diferentes causas como:

a) Información genética defectuosa, que puede afectar tanto la estructura anatómica como funcional; por ejemplo la fenilcetonuria, es una deficiencia que vuelve tóxico un componente de la dieta que normalmente es benéfico, si se carece de la enzima fenilamina hidrolasa, que se encarga de metabolizar la fenilamina en el cuerpo, se acumulará ésta en la sangre y tejidos, bloqueando el desarrollo y funcionamiento normal del cerebro.

b) Presencia de organismos patógenos que alteran parcial o totalmente el funcionamiento normal del cerebro como en el caso de la poliomielitis en donde son afectadas las motoneuronas.

c) Deficiencias en la irrigación sanguínea, ya que los requerimientos energéticos del cerebro están entre los más elevados del cuerpo. La arterioesclerosis que es un engrosamiento de las paredes de las venas, provoca trombosis, ocasionando una disminución del aporte sanguíneo al cerebro (Seymour, 1979).

Alteraciones en el funcionamiento de las sinápsis, como --- ocurre en la epilepsia que se caracteriza por la descarga simultánea y rítmica de un gran número de neuronas provocando crisis con pérdida de la conciencia, generalmente con movimientos corporales característicos o convulsiones y en ocasiones con hiperactividad autónoma o neurovegetativa (Goodman, L.S., Gilman, A., 1979).

Las crisis epilépticas en un paciente dado se clasifican fundándose en las manifestaciones clínicas de las crisis y en el patrón encefalográfico que presenta, así tenemos:

Crisis de ausencia o pequeño mal, que se caracteriza por inconsciencia breve y repentina, con actividad clónica simétrica que varía desde parpadeo hasta sacudidas en todo el cuerpo y en ocasiones sin actividad motora.

Convulsiones generalizadas tonicoclónicas o gran mal, en -- las cuales se presentan una sucesión de espasmos tónicos máximos de todos los músculos corporales seguido de estremecimientos clónicos sincrónicos y depresión duradera de todas las funciones centrales.

Crisis del lóbulo temporal o psicomotoras, en donde se presenta confusión de conducta, generalmente con trastornos de conciencia.

El micoclonia infantil y las clases de epilepsia que ocurren en los niños de corta edad, que se manifiesta con estremecimientos clónicos aislados.

A pesar de que se han realizado numerosas investigaciones para conocer el origen de las convulsiones en el hombre con el fin de poder llegar a controlarlas, aún no se conocen las causas que ---

llevan a este estado patológico. De este tipo de estudios se deriva el conocimiento actual de los mecanismos de acción de algunas sustancias convulsivantes.

Experimentalmente pueden inducirse crisis convulsivas en -- animales de laboratorio a través de diferentes tratamientos. Entre ellos se encuentran los choques eléctricos los choques insulínicos y la inducción a través de agentes químicos. La picrotoxina, la tise-micarbacida, el pentilentetrazol, la estriquina y el cobalto, están entre los agentes convulsivantes más frecuentemente utilizados en investigaciones.

Un agente químico puede inducir la aparición de crisis convulsivas a través de diferentes mecanismos de acción que interfieran con los procesos de transmisión sináptica. Esto puede ocurrir bajo las siguientes condiciones:

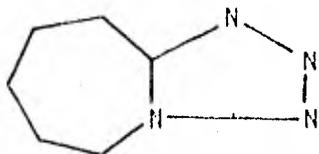
1° Falta de neurotransmisores inhibidores en las terminales sinápticas. Esto se puede dar cuando se disminuye la síntesis del - transmisor, se inhibe la liberación del transmisor de su terminal sináptica o hay degeneración del botón terminal.

2° Alteración de los mecanismos de acción de los transmisores o de su remoción del espacio intersináptico. Esto puede ocurrir cuando el neurotransmisor no alcance la membrana postsináptica, ya - sea por un incremento en su remoción del espacio sináptico o por un catabolismo aumentado.

3° Alteración de los receptores postsinápticos. Este fenómeno ocurriría por la alteración del sistema de decodificación de -- señales en la membrana postsináptica, por la presencia de antagonista del transmisor o por modificaciones en la naturaleza química del receptor.

Los convulsivantes más utilizados en este tipo de estudios son:

Pentilentetrazol.



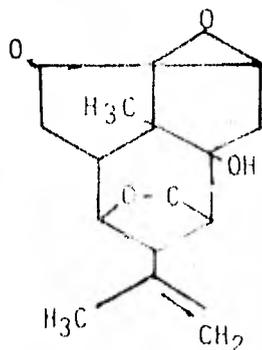
(Stecher, 1968).

Aumenta la excitabilidad neuronal en general y se ha reportado que disminuye la liberación de GABA en rebanadas de corteza cerebral en ratas (Johnston, G. A. R. y Mitchell, J. F., 1971).

Las convulsiones que se presentan con el pentilentetrazol, se caracterizan por movimientos clónicos asincrónicos generalizados, seguido de convulsiones tónicas que presentan movimientos de los miembros que consisten en flexión seguida por extensión (Goodman, L.S., Gilman, A., 1979).

Las dosis normalmente utilizadas son para animales de 10 Kg o menos son de 50 a 100 mg/Kg por vía intraperitoneal; en animales mayores de 10 Kg se usan de 50 a 200 mg/Kg, en forma oral o de 100 a -- 300 mg/Kg intraperitonealmente; y en animales grandes de 1 a 3 gr/Kg intraperitonealmente. (Stecher, 1968).

Picrotoxina.

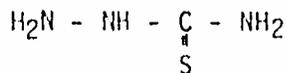


(Stecher, 1968).

Inhibe el receptor postsináptico específico del GABA en el -- Sistema Nervioso Central (Tapia, 1976).

Las convulsiones que provoca son tónico clónicas en las cuales la flexión tónica precede a la extensión clónica. Los movimientos convulsivos se acompañan de salivación, aumento de presión arterial y en ocasiones vómitos (Goodman, 1957). Las dosis utilizadas son, caballos y ganado vacuno 60 mg/Kg intraperitonealmente; perros 1.5 a --- 6 mg/Kg, intraperitonealmente, animales pequeños 1 a 5 mg/Kg intraperitonealmente (Stecher, 1968).

Tiosemicarbacida



(Goodman, L.S., Gilman A., 1957) .

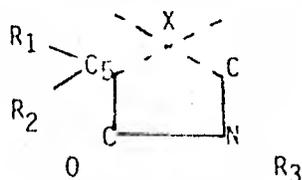
Actúa disminuyendo la síntesis de GABA a través de la inhibición de la enzima glutamato descarboxilasa responsable de su síntesis (Hebert, H.J. et al, 1976).

ANTICONVULSIVANTES.

Los anticonvulsivos actúan, de acuerdo a su estructura, impidiendo que se presenten las convulsiones. Esto puede llevarse a cabo a través de dos mecanismos: 1) a través de un proceso antagónico de la acción del convulsivante, y 2) a través de la reversión del efecto del convulsivante una vez establecida su acción.

Se han realizado innumerables investigaciones con el fin de encontrar los medicamentos que prevengan, controlen o eliminen las diferentes convulsiones que se presentan en el hombre. La mayor parte de los agentes antiepilépticos clínicamente útiles, guardan íntima relación estructural con el fenobarbital, antiguamente conocido como --- anticonvulsivante (Goodman, L.S., Gilman, A. 1979).

La estructura básica de este tipo de anticonvulsivantes es la siguiente:



Donde el constituyente en X varía de acuerdo a la clase química:

Barbitúricos	- CO - NH -
Dexoxibarbitúricos	- CH ₂ - NH -
Oxazolidinadionas	- O -
Hidantoínas	- NH -
Succimidas	- CH ₂ -
Acetilureas	- NH -

(Goodman, L.S., Gilman, A., 1979)

Entre los agentes anticonvulsivos más conocidos se encuentran: la 5-metil, 5-fenil 2 pirrolidona (MPP), y la 5 etil, 5-fenil 2-pirrolidona (EPP), (Carvajal, et al, 1964) los cuales fueron probados con varios convulsivantes observándose en el caso del electrochoque, una disminución del número de convulsiones de 50 a -- 80% a una dosis de 20 a 200 mg/Kg del producto; cuando se prueba con pentilentetrazol y tiosemicarbacida, se reduce el número de muertes 50 a 70%; taurina, la cual fué probada con 4-amino piridina, observándose un aumento en la latencia de aparición de la primera convulsión de un 8 a 10%, y reduciéndose el número de muertes de 10 a 30%, - -

(Arzate, 1981) y furocumarinas, donde se prueban con pentilentetrazol, estriquina y electrochoque, observándose únicamente en el caso del pentilentetrazol y el electrochoque una disminución en la intensidad de las convulsiones 30 y 60%, y aumentando la latencia de la aparición de la primera convulsión y del tiempo de muerte de un 55 a 80% y 50 a 200% respectivamente (Russinov, 1968).

Sin embargo poco se conoce del mecanismo de acción de estos anticonvulsivantes.

La flora mexicana, probablemente una de las más ricas en el mundo por su variedad, ha sido fructífera para el hombre, y éste aunque de una manera empírica, la ha utilizado como fuente de recursos para aliviar sus enfermedades y para otros servicios. En el pasado los hombres utilizaban todo tipo de hierbas asignándolas a cada una su valor terapéutico, imaginario algunas veces, otras improvisado y rara vez seguro.

Entre los valores terapéuticos de las plantas conocidas se encuentran propiedades anticonvulsivas. Sin embargo, hay pocos ejemplos del estudio formal de estas propiedades.

De las raíces de Heracleum sibiricum, y H. verticillatum (Umbelliferae) se extrajeron furocumarinas, denominadas esponodina, pimpinellina, isopimpinellina, bergapteno, isobergapteno y anglicina, las cuales se probaron en estados convulsivos inducidas por electrochoque, pentilentetrazol y estriquina. Las dosis de las furocumarinas se variaron de 50 a 200 mg/kg (Russinov, 1968).

Los resultados reportados (Russinov, 1968) indican que a estas dosis disminuyó la intensidad de las convulsiones inducidas por electrochoques y pentilentetrazol, observándose una relación entre la dosis y el poder anticonvulsivo. ya que a dosis bajas la intensidad de

las convulsiones disminuyó un 35% mientras que a dosis altas disminuyó hasta un 60%. Asimismo se reportó un incremento en el intervalo entre la aplicación del agente convulsivante y la muerte de los animales, -- cuando éstos se trataron con las furocumarinas.

La raíz de Ipomoea stans, se ha utilizado como purgante y - sudorífico (Jauregui, 1885) posteriormente en 1893, (Solís Rodríguez, 1932) aparece reportada como anticonvulsivo y en 1930 se probó en pacientes de los hospitales de la Castañeda y San Hipólito, de México, - D.F. En el Laboratorio Químico Central, de localización desconocida, el Dr. Secundino Sosa obtuvo un extracto de la raíz de I. stans y lo - administró a pacientes que presentaban epilepsia esencial, a diferentes concentraciones y por diferentes vías. Se observaron efectos secundarios inmediatos después del tratamiento como la elevación de la temperatura hasta 40°C, pérdida del apetito y náuseas, cuando la aplicación - era intraperitoneal o endovenosa, y en el caso de la aplicación intramuscular originaba unas placas duras dolorosas que desaparecían al ter - cer día de la aplicación del producto.

Los resultados reportados fueron, en el caso de la administración oral, una disminución de la frecuencia de las convulsiones y cuando la aplicación era intravenosa se reducía en un 90% el número de convulsiones (Hernández Ugalde, 1932) (Solís Rodríguez, 1932). Desgraciadamente, estos reportes no indican qué tipo de extracciones fueron aplicadas a la raíz de I. stans, qué tipo de compuestos se obtuvieron y en que dosis se administraron. Actualmente se puede adquirir en los mercados, asegurando sus vendedores que evita toda clase de ataques y enfermedades del Sistema Nervioso.

Su clasificación es la siguiente: (Hernández Ugalde, 1932).

Reino	Vegetal
División	Embryophyta Siphonogamia o Spermatophyta
Subdivisión	Angiospermae
Clase	Dicotyledoneae
Subclase	Metachalamideae
Orden	Tubiflorae
Familia	Convolvulaceae
Género	<u>Ipomoea</u>
Especie	<u>stans</u> (H.B.K., 1819)

Sinonimia (Anales del Instituto de Biología 1963-1964.

Convolvus stans H.B.K. Nov. Gen. Sp. 3: 96, 1819.

Fimius Spreng Syst. Veg. 1: 613, 1825

Convolvus Sinuatus Sessé et Moc., Fl. Nov. Hisp.

(La Naturaleza 11 1:24. 1887.)

Descripción: Ipomoea stans, comunmente conocida como tumba-vaqueros, tlaxcapan, pegajosa, canibata, tolompatl, velicpahtli, raíz de Jalpa. Es una hierba ascendente, ramosa, que presenta un rizoma voluminoso que mide entre 40 y 80 cm de altura. Sus hojas son alternas cortamente pecioladas de forma ovado-lanceolada, con el borde ligeramente aserrado, su ápice es truncado y su base subcordada, miden de 3 a 5 cm de largo por 1 a 2 cm de ancho; son ásperas en ambas caras. Los pedúnculos son unifloros, pilosos de color blanco y miden de 4 a 5 cm de largo, presentan dos brácteas, papiráceas apicales. Sus sépalos son desiguales ovado-oblongos de 6 a 8 mm de largo. Su corola es infundibuliforme de 5 a 6 cm de largo, color púrpura. (H.B.K., 1819) (Anales 1963-1964).

La época en que florece es de julio a septiembre.

Se encuentra en toda la Mesa Central, en especial en el Estado de Hidalgo.

OBJETIVO:

Aislamiento e identificación de diversos productos de la raíz de I. stans y el estudio de la actividad biológica del extracto acuoso probado contra diversos agentes convulsivantes.

MATERIALES

Raíz de Ipomoea stans colectada en el kilómetro 100 de la --
carretera a Pachuca, Edo. de Hidalgo.

Los disolventes y placas de sílice utilizados en la extrac-
ción química se obtuvieron de Solvente y productos Químicos, México, -
D.F., y Merck, Darmstadt, Alemania Federal.

Los derivados silinizados se obtuvieron de Aldrich Chemical
Company, Inc.; Milwaukee, Wis 53233, U.S.A.

Los animales utilizados fueron ratones adultos de ambos ---
sexos, originarios de la cepa local del bioterio del Centro de Investi-
gación en Fisiología Celular de la U.N.A.M.

La picrotoxina y el pentilentetrazol, se obtuvieron de Sigma
San Louis Mo., U.S.A. y la tiosemicarbácida de Merk, Darmstadt, ---
Alemania Federal.

Tanto los convulsivantes como los extractos de la raíz de I.
stans se disolvieron en agua bidestilada a temperatura ambiente; la -
picrotoxina se disolvió en agua bidestilada en ebullición.

De acuerdo a los resultados obtenidos se usaron diferentes -
vías de administración de los convulsivantes y de los extractos de la
raíz de I. stans. Generalmente se utilizaron las vías intraperitoneal
y subcutánea.

MÉTODOS

Los espectros de Resonancia Magnética Nuclear (RMN) fueron
realizados por el Quím. Jorge Cernaes Pérez en espectrofotómetro Varian
FT-80, con cloroformo o acetona deuterada como disolvente y tetrametil

silano como referencia interna.

Los espectros de Infra Rojo (IR) fueron obtenidos por el Quím. René Villena Uribe en el espectrofotómetro de infra rojo Perkin -- Elmer Mod. 283B, utilizando como referencia aire.

Los espectros de Masas (M) fueron determinados por el Quím. Humberto Bojorquez y el Ing. Luis Velasco en un espectrofotómetro Perkin Elmer Mod. Hewlett Packar 5985-B.

En Cromatografía de placa fina se utilizó como revelador Sulfato Cérico al 1% en H₂SO₄ 2 V.

Los puntos de fusión fueron obtenidos en un aparato Fisher-Johns.

La cromatografía en fase vapor fué determinada por la Quím. - Lucía Márquez Alonso, utilizando una columna OV-101 de 6 pies por 1/8 - de diámetro, a una temperatura de 170°C con flujo de 30 ml/minuto, con - detector de ionización de flama.

La raíz de I. stans fué recolectada en el mes de Noviembre, - se dejo secar durante varios días, se molió, obteniéndose 3 Kg de polvo, el cual fué tratado en diferentes lotes.

Extracto Acuoso.

Se extrajo un Kg de polvo con agua en ebullición durante - - tres horas, dos veces; la infusión obtenida en un volumen de 15 lt se - liofilizó, obteniéndose una espuma de 150 gr a la que primero se le -- hizo una extracción con hexano, que produjo 2.8 gr de un aceite, el --- cual por cromatografía de placa hexano acetato de etilo, reveló varias manchas. La mancha principal se cromatografió en placa fina obteniéndose 7 mg de cristales de color blanco con pf = 164°C. los cuales fueron identificados como sitosterol.

El polvo que quedó después de extraer con hexano, se extrajo con cloroformo y al evaporar el disolvente, se obtuvieron 303 mg de -- unos cristales de color amarillo verdoso, los cuales se cromatografiaron en columna con sílice 60-270, eluyendo con acetato de etilo-hexano 70/30. Se aislaron 177 mg de producto puro con un $pf=150-152^{\circ}C$, por -- recristalización en acetona.

En el IR se obtuvieron los siguientes datos: una banda a -- $3,450\text{ cm}^{-1}$ de OH ácido, a $3,070$ y $2,750\text{ cm}^{-1}$ bandas de absorción de enlace C-H, en $1,652$ y 963 cm^{-1} doble enlace trans; en $1,600$ y $1,525\text{ cm}^{-1}$ aparecen dos bandas afiliadas de aromático trisustituidos entre 700 -- 750 cm^{-1} .

En el espectro de RMN se obtuvieron los siguientes datos: un singulete con un desplazamiento de $\delta = 3.71$ ppm, que integra para tres protones de metoxilo (OMe), un par de dobletes a $\delta = 6.97$ y 7.14 ppm -- de dos protones aromáticos con una constante $J=2.0\text{ Hz}$; una señal en --- $\delta = 6.88$ ppm que integra para un protón aromático una señal a $\delta = 3.75$ -- que desaparece con agua deuterada para un oxhidrilo (OH) fenólico.

En espectrometría de masas se observó un ión molecular $M^+ 194$ con un patrón de fragmentación m/c 179 ($M^+ -Me$), 163 ($M^+ - MeO$) con abundancia relativa de 96%, 123 ($M^+ - CH=CH-COOH$) 28 (CO) 17 (OH). Por los datos espectroscópicos y por comparación de muestra auténtica, se identificó como el ácido 3-hidroxi 4 metoxi cinámico (A), cuya estructura se muestra en la Tabla I.

El residuo que quedó después de la extracción con cloroformo, se trató con acetato de etilo y al evaporar el disolvente, se obtuvieron 399 mg de un producto medio cristalino el cual se purificó por cromatografía en placa fina de sílice. Después de recristalizar con acetona, se obtuvieron 199 mg de cristales de color amarillo en forma de ---

aguja con un $pf = 210^{\circ}C$.

En el IR presenta las siguientes propiedades de absorción a 3310 cm^{-1} correspondiente a oxhidrilo (OH), en $1,700\text{ cm}^{-1}$ de grupo carbonilo (C=O) entre $1,600$ y $1,500\text{ cm}^{-1}$ para doble ligadura conjugada con un aromático y absorción de aromáticos en $1,500$ y $1,440\text{ cm}^{-1}$.

En RMN mostró una señal a $\delta = 3.8$ ppm, para un grupo metoxilo (OMe) a $\delta = 6.25$ y 7.5 ppm $J = 10.5\text{ Hz}$ se encuentran dos señales acopladas de protones vinílicos y una señal a $\delta = 6.5$ ppm para un protón aromático.

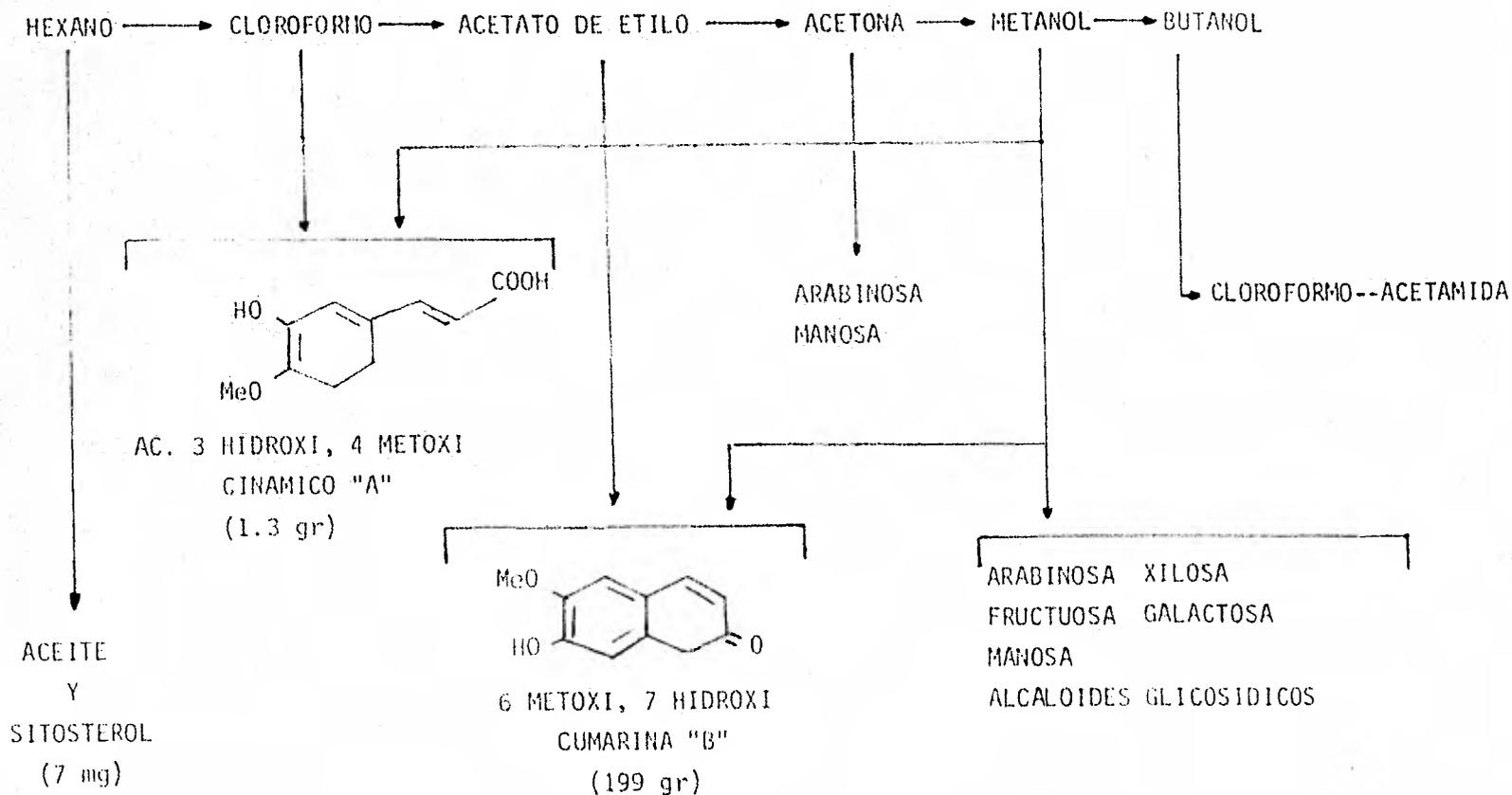
En M mostró un M^+ 192, con una abundancia relativa del 100% para el ión molecular; m/c 177 ($M^+ - CH_3$); 164 ($M^+ - CO$). Con los datos obtenidos esta substancia se identifica como 7 hidroxí, 6 metoxi cumarina (B) cuya estructura se muestra en la Tabla I

Se hizo extracción continua con acetona del residuo que quedó de la extracción con acetato de etilo, se obtuvo un producto que pesa 2.5 gr; éste mostró varias manchas en cromatografía de placa, muy polares, las cuales al eluir con el sistema cloroformo-metanol-hidróxido de amonio, 4-4-1 en placa de sílice que se utiliza para identificar azúcares, mostró prueba positiva con arabinosa y manosa por comparación con muestras puras de estos azúcares.

Al residuo que queda de la extracción con acetona, se le extrajo continuamente con metanol y se obtuvieron 5.2 gr de un producto con aspecto de jarabe, el cual presentó cinco manchas en cromatografía placa de sílice, eluyendo con butanol-acético-agua, 5-1-4. La franja correspondiente al R_f 1.5 dió prueba positiva para alcaloides, al revelar con el reactivo de Dragendorff. Se hidrolizaron dos gramos del producto obtenido con HCl 3 N en frío y se reflujo durante 24 horas. - se extrajo con cloroformo, obteniéndose 2 mg de compuesto 7 hidroxí, 6

TABLA I

COMPUESTOS OBTENIDOS DEL EXTRACTO ACUOSO DE *Ipomoea stans* TRATADO CON DIFERENTES DISOLVENTES.



metoxi cumarina la fase acuosa se neutralizó con NaHCO_3 y se extrajo con acetato de etilo, al evaporar se obtuvieron 1.2 gr de el ácido 3 hidroxí 4 metoxi cinámico. Los azúcares obtenidos se silanizaron por cromatografía en fase de vapor y se identificaron los siguientes azúcares nombrados en el orden de sus tiempos de retención, comparándolos con las muestras puras de estos azúcares silanizados: arabinosa, xilosa, fructuosa, galactosa y manosa.

Finalmente el residuo que quedó después de las extracciones con los diferentes disolventes, se le trató con butanol, este se eliminó al vacío obtenido 430 mg de un producto con aspecto de jarabe: el cual se extrajo con cloroformo; al eliminar el disolvente, se obtuvieron unos -- cristales de color blanco con Pf de 82°C , después de cristalizar con etanol. Presentó un peso molecular de 59 y fué identificado por medio de sus constantes físicas, como acetamida.

Los convulsivantes utilizados fueron picrotoxina, tiosemicarbáida y pentilentetrazol, ya que su actividad en el Sistema Nervioso es conocida. Actualmente se conoce que todos estos convulsivantes actúan a través de la alteración del sistema del GABA. La picrotoxina es un antagonista del receptor postsináptico del GABA, (Tapia, 1976) la tiosemicarbáida inhibe la síntesis del GABA *in vivo* (Tapia, 1976) y se ha reportado que el pentilentetrazol inhibe la liberación de GABA en rebanadas de corteza cerebral. (Johnston, y Mitchell, 1971).

Conociendo las diferentes causas que provocan las convulsiones en los modelos escogidos y considerando que el mecanismo de acción de un anticonvulsivo puede ser a través de la prevención de la acción del convulsivante, es decir, evitando que el convulsivante realice su acción o actuando como antagonista del convulsivante de manera que una vez ya realizada la acción del convulsivante tenga la capacidad de revertir ésta - se seleccionaron las siguientes paradigmas para estudiar las propiedades anticonvulsivas de los extractos obtenidos de la raíz de *S. stans*.

Para estudiar un probable efecto protector contra las convulsiones de los extractos de I. stans, éstos se administraron a diferentes tiempos antes de la aplicación del convulsivante en estudio, para dar tiempo a que el extracto alcance el Sistema Nervioso. Estos tiempos se seleccionaron de acuerdo a la latencia de aparición de la primera -- convulsión para cada agente convulsivante.

Para investigar una acción anticonvulsivante a través de un mecanismo antagónico de los agentes convulsivantes, los extractos de I. stans se administraron después de la aplicación del convulsivante de acuerdo a la latencia de la primera convulsión en cada caso.

Las dosis de los convulsivantes se seleccionaron tomando en cuenta que las convulsiones inducidas no fueran tan drásticas como para ocasionar la muerte de los animales durante las mismas y que la latencia en que se presentara la primera convulsión fuera constante.

Las dosis de los extractos se escogieron de acuerdo a los --- efectos secundarios observados en los ratones.

Los parámetros observados durante los experimentos fueron los siguientes:

a) Convulsiones.- Número de animales inyectados que presentan convulsiones, características del convulsivante utilizado.

b) Tiempo de Latencia.- Intervalo entre el momento de inyección del convulsivante y la presencia de la primera convulsión (minutos).

c) Número de Convulsiones.- Promedio del número total de convulsiones presentadas por ratón.

d) Muertos.- Número de ratones muertos durante las convulsiones.

RESULTADOS

1 Efecto de la administración del liofilizado total de la raíz de Ipomoea stans.

El liofilizado total de la raíz se administró intraperitonealmente a dosis de 20, 50, 100 y 200 mg/kg, a las cuales no produjo ningún cambio en los animales experimentales durante dos horas de observación; sin embargo, la dosis de 500 mg/Kg indujo espasmos abdominales y un incremento en la sensibilidad al tacto, a los veinte minutos de su administración; éstas reacciones desaparecieron una hora y media después.

Picrotoxina.

La aplicación de picrotoxina se llevó a cabo intraperitonealmente, ocasionando convulsiones tónico-clónicas en todos los ratones -- que la recibieron (Tablas II, III, IV y V); las convulsiones se presentaron con una latencia de 15' y 22' a dosis de 6 a 4 mg/Kg respectivamente.

El poder anticonvulsivante del liofilizado de la raíz de I. stans, se probó contra convulsiones producidas por picrotoxina de acuerdo con los siguientes paradigmas:

a) Administración del liofilizado antes de la inyección de picrotoxina. Se probaron inyecciones de liofilizado con una dosis de 200 mg/kg, 10, 30 y 60 minutos previos a la administración del convulsivante. Como muestra la tabla II el liofilizado no protegió de las convulsiones en ninguno de los tiempos estudiados ya que tanto el número de convulsiones, como la latencia de la primera convulsión, fueron semejantes a las observadas en los ratones inyectados solamente con picrotoxina. Sin embargo, debe notarse que el número de ratones muertos durante las convulsiones disminuyó en todos los grupos tratados con el liofilizado crudo.

Bajo el mismo paradigma se procedió a variar la dosis del liofilizado administrado. Se probaron dosis de 20, 50 y 200 mg/kg; las mismas que fueron inyectadas 10' antes del tratamiento con la - picrotoxina. En la tabla III se puede observar que todos los animales que recibieron el liofilizado, presentan convulsiones y que la latencia de aparición de las convulsiones en los animales tratados con el liofilizado es semejante a la de los animales control.

Sin embargo el número de convulsiones presentadas, disminuyó conforme se aumentó la dosis de liofilizado. Los animales tratados con liofilizado presentan alrededor del 30% menos convulsiones que los animales control.

En la tabla IV se presentan los datos obtenidos cuando el liofilizado se probó en una dosis de 500 mg/kg contra una dosis menor de picrotoxina 4 mg/kg. El liofilizado se inyectó 15' ó 6 Hrs antes del convulsivante, se puede observar que la latencia incrementó alrededor del 20%, y que el número de convulsiones disminuye a medida que la aplicación del liofilizado se realiza en lapsos mayores en relación a la inyección del convulsivante.

b) Administración del liofilizado después de la aplicación de picrotoxina.

Se probaron inyecciones del liofilizado en dosis de 50 mg/Kg 5' y 15' antes del convulsivante cambiándose la vía de administración de intraperitoneal a subcutánea. Como se muestra en la tabla V no se observan cambios en ninguno de los parámetros estudiados.

Tiosemicarbácida.

La aplicación de Tiosemicarbácida se llevó a cabo intraperitonealmente ocasionando convulsiones en el 100% de los animales

que la recibieron con una latencia de 64' a una dosis de 15 mg/kg -- (Tabla VI, VII, VIII).

a) Administración de liofilizado antes de la inyección de tiosemicarbácida.

Se probó la administración subcutánea del liofilizado en dosis de 500 mg/kg 9' antes de la aplicación de 15 mg/kg de la tiosemicarbácida: como se muestra en la tabla VI, no se modifica ni el -- tiempo de latencia ni el número de convulsiones de los animales tratados con liofilizado en relación a los controles. Cuando se modificó la dosis de tiosemicarbácida a 11 mg/kg y se administró el liofilizado, subcutáneamente 6 Hrs. antes que el convulsivante, se observó que los parámetros de latencia y el número de convulsiones presentadas en los animales tratados con el liofilizado son similares a los de los animales que recibieron solamente el agente convulsivante (Tabla VII).

b) Administración del liofilizado después de la inyección de la tiosemicarbácida.

Se administraron 500 mg/kg del liofilizado subcutáneamente 5' y 40' después de la administración de 15 mg/kg de la tiosemicarbácida. Como se muestra en la tabla VIII no se observan efectos sobre la acción del convulsivante, ya que no se detectó ninguna variación -- en la latencia, número de convulsiones y muertes en relación a los -- animales control.

Pentilentetrazol.

El pentilentetrazol administrado subcutáneamente indujo convulsiones tonico-clónicas en el 90% de los animales control, con una latencia que variaba entre 9 y 13 minutos a una dosis de 75 mg/kg.

a) Administración del liofilizado antes de la inyección del pentilentetrazol.

Se probó la administración subcutánea del liofilizado en dosis de 20 mg/kg, 30' y 70' antes de la aplicación del pentilentetrazol. Como se muestra en la tabla IX, la latencia y el número de muertos no se modifica en los animales tratados con liofilizado, pero el número de convulsiones presentadas disminuyó el 32 y 57% cuando se administró el liofilizado 30' y 70' respectivamente antes que el convulsivante.

En la tabla X se muestran los resultados de la administración de liofilizado a dosis de 20, 50 y 200 mg/kg, 60' antes de la aplicación de 75 mg/kg pentilentetrazol.

En esta tabla se observa la variabilidad de la respuesta de los ratones a la administración de pentilentetrazol, ya que las latencias en tres diferentes grupos varían de 9 a 14 minutos y el número de convulsiones varía de 1.3 a 3.2 y los animales muertos durante las convulsiones van del 9 al 50%. Considerando esto es difícil la interpretación de los datos obtenidos en los animales tratados con el liofilizado, pero tomando en cuenta a sus respectivos controles, sólo la dosis de 20 mg/kg del liofilizado redujo a 25% el número de animales muertos durante las convulsiones.

Otros experimentos con el mismo paradigma se observan en la tabla XI donde la aplicación de 50 mg/kg del liofilizado, se hizo 120' antes de los 75 mg/kg de pentilentetrazol. Se puede observar que la latencia aumenta alrededor del 55% en los animales tratados con liofilizado, y que el número de convulsiones y de muertos tiende a ser menor que en los animales control. Sin embargo, es importante hacer notar que los ratones testigo presentaron un menor número de convulsiones y tiempos de latencia menores a los observados en los experimentos anteriores.

Extracto Butanólico

El extracto butanólico de la raíz de I. stans contiene acetamida, y se probó contra las convulsiones producidas por picrotoxina.

Como se observa en la tabla XII, a una dosis de 4 mg/kg de picrotoxina administrada intraperitonealmente, se indujeron convulsiones tonico-clónicas en el 90% de los ratones que las recibieron, con un promedio de 1.3 convulsiones por ratón y una sobrevivencia muy alta.

Extracto Butanólico.- La administración intraperitoneal del extracto butanólico, a dosis de 20 mg/kg produce espasmos estomacales del tipo antes mencionado para el liofilizado total de la raíz, en todos los ratones que lo recibieron.

a) Aplicación del extracto butanólico antes de la picrotoxina.

Se probó la inyección de 20 mg/Kg del extracto butanólico 30' y 60' antes de la picrotoxina en dosis de 4 mg/kg. Como se muestra en la tabla XII este tratamiento no modificó los parámetros estudiados.

b) Aplicación del extracto butanólico después de la aplicación de picrotoxina.

Se probó la aplicación del extracto butanólico 5' después de la aplicación de la picrotoxina como se muestra en la tabla XII, observándose que la latencia, el número de convulsiones y número de ratones muertos, no se modifica en los animales tratados con el extracto butanólico.

TABLA II

EFECTO DEL LIOFILIZADO CRUDO DE I. stans SOBRE LA ACTIVIDAD CONVULSIVANTE DE PICROTOXINA.

	PICROTOXINA (6 mg/kg; i.p.)	LIOFILIZADO DE <u>I. stans</u> (20 mg/kg; i.p.) ANTES DE LA ADMINISTRACION DEL CONVULSIVANTE (6 mg/kg; i.p.)		
		10'	30'	60'
CONVULSIONES	24/25	16/16	5/5	9/9
TIEMPO DE LATENCIA 1 CONVULSION (MINUTOS)	15.1 ± 0.7	16.7 ± 1.6	9.2 ± 0.7	18.1 ± 1.4
NUMERO DE CONVULSIONES	2.6 ± 0.28	2.1 ± 0.4	3.1 ± 0.0	3.7 ± 0.0
MUERTES	11	2	2	4

TABLA III

EFFECTO DEL LIOFILIZADO CRUDO DE I. stans SOBRE LA ACTIVIDAD CONVULSIVANTE DE PICROTOXINA.

LIOFILIZADO DE I. stans (i.p.), DIFERENTES DOSIS ADMINISTRADAS 10'
 ANTES DE LA APLICACION DEL CONVULSIVANTE (6 mg/kg; i.p.).

	CONTROL	20 mg/kg	CONTROL	50 mg/kg	CONTROL	200 mg/kg
CONVULSIONES	14/15	15/16	19/20	15/15	4/5	4/5
TIEMPO DE LATENCIA						
1 ^a CONVULSION (MINUTOS)	16.0 + 1.24	16.7 + 1.6	15.4 + 1.0	15 + 3.	13.5 + 2.	14.2 + 2.9
NUMERO DE CONVULSIONES	2.69 + 0.38	2.1 + 0.4	2.31 + 0.3	1.8 + 0.2	2.2 + 0	1.5 + 0.28
MUERTES	7	2	4	4	0	0

TABLA IV

EFFECTO DEL LIOFILIZADO CRUDO DE I. stans SOBRE LA ACTIVIDAD CONVULSIVANTE DE PICROTOXINA.

	PICROTOXINA (6 mg/kg; s.c.)	LIOFILIZADO DE <u>I. stans</u> (500 mg/kg) ADMINISTRADO ANTES DE LA APLICACION DEL CONVULSIVANTE (6 mg/kg; s.c.).	
		15'	6 Hrs
CONVULSIONES	10/10	4/5	4/5
TIEMPO DE LATENCIA			
1 ^o CONVULSION (MINUTOS)	22.6 ± 1.46	31.2 ± 4.7	27.5 ± 2.7
NUMERO DE CONVULSIONES	1.3 ± 0.13	1.0 ± 0.31	0.8 ± 0.19
MUERTES	0	0	0

TABLA V

EFEECTO DEL LIOFILIZADO CRUDO DE I. stans SOBRE LA ACTIVIDAD CONVULSIVANTE DE PICROTOXINA.

	PICROTOXINA (6 mg/kg; s.c.)	LIOFILIZADO DE <u>I. stans</u> (50 mg/kg; s.c.) ADMINISTRADO 60' ANTES O 5' Y 15' DESPUES DE LA APLICACION DEL CON- VULSIVANTE (4 mg/kg; s.c.)		
		60'	5'	15'
CONVULSIONES	45/47	5/5	14/4	10/10
TIEMPO DE LATENCIA				
1° CONVULSION (MINUTOS)	15.04 ± 0.6	16.6 ± 3.0	15.0 ± 0.5	17.9 ± 1.3
NUMERO DE CONVULSIONES	4.8 ± 0.4	3.8 ± 0.8	3.7 ± 0.3	4.0 ± 0.4
MUERTES	24	3	6	7

EFECTO DEL LIOFILIZADO CRUDO DE I. stans SOBRE LA ACTIVIDAD CONVULSIVANTE DE TIOSEMICARBACIDA

	TIOSEMICARBACIDA (15 mg/kg; s.c.)	LIOFILIZADO DE <u>I. stans</u> (500 mg/kg; s.c.) ADMINISTRADO ANTES DE LA APLICACION DEL CONVULSI- VANTE (15 mg/kg; s.c.)
CONVULSIONES	5/5	5/5
TIEMPO DE LATENCIA		
1 CONVULSION (MINUTOS)	64.5 ± 10.09	60.2 ± 2.1
NUMERO DE CONVULSIONES	1.6 ± 0.24	4.6 ± 0.5
MUERTES	3	4

TABLA VII

EFEECTO DEL LIOFILIZADO CRUDO DE I. stans SOBRE LA ACTIVIDAD CONVULSIVANTE DE TIOSEMICARBACIDA.

	TIOSEMICARBACIDA (11 mg/kg; i.p.)	LIOFILIZADO DE <u>I. stans</u> (500 mg/kg; s.c.) ADMINISTRADO ANTES DE LA APLICACION DEL CONVULSI- VANTE (11 mg/kg; i.p.).
		6 Hrs
CONVULSIONES	5/5	4/5
TIEMPO DE LATENCIA		
1ª CONVULSION (MINUTOS)	46.6 ± 1.0	52.2 ± 3.6
NUMERO DE CONVULSIONES	2.6 ± 0.6	2.8 ± 1.59
MUERTES	4	4

33

TABLA VIII

EFEECTO DEL LIOFILIZADO CRUDO DE I. stans SOBRE LA ACTIVIDAD CONVULSIVANTE DE TIOSEMICARBACIDA.

	TIOSEMICARBACIDA (15 mg/kg; i.p.)	LIOFILIZADO DE <u>I. stans</u> (500 mg/kg; s.c.) ADMINISTRADO DESPUES DE LA APLICACION DE CONVULSIVANTE (15 mg/kg; i.p.).	
			5'
			40'
CONVULSIONES	8/8	7/7	5/5
TIEMPO DE LATENCIA			
1ª CONVULSION (MINUTOS)	59.9 ± 3.17	61.7 ± 3.6	56.0 ± 2.6
NUMERO DE CONVULSIONES	3.0 ± 0.62	3.5 ± 0.75	3.4 ± 0.6
MUERTES	5	5	5

TABLA IX

EFEECTO DEL LIOFILIZADO CRUDO DE I. stans SOBRE LA ACTIVIDAD CONVULSIVANTE DE PENTILENTRETAZOL.

	PENTILENTETRAZOL (75 mg/kg; s.c.)	LIOFILIZADO DE <u>I. stans</u> (20 mg/kg; s.c.) ADMINISTRADO ANTES DE LA APLICACION DEL CONVULSI- VANTE (75 mg/kg; s.c.).	
			30' 70'
CONVULSIONES	23/24	7/10	5/5
TIEMPO DE LATENCIA			
1° CONVULSION (MINUTOS)	9.60 ± 1.13	10.7 ± 1.5	7.2 ± 2.0
NUMERO DE CONVULSIONES	3.26 ± 0.38	2.2 ± 0.5	1.4 ± 0.22
MUERTES	8	2	2

TABLA X

EFFECTO DEL LIOFILIZADO CRUDO DE I. stans SOBRE LA ACTIVIDAD CONVULSIVANTE DE PENTILENTETRAZOL.

LIOFILIZADO DE I. stans (s.c.), ADMINISTRADO A DIFERENTES DOSIS 60'

ANTES DE LA APLICACION DEL CONVULSIVANTE (75 mg/kg; s.c.)

	CONTROL	20 mg/kg	CONTROL	50 mg/kg	CONTROL	200 mg/kg
CONVULSIONES	10/10	12/12	25/25	23/25	11/14	12/13
TIEMPO DE LATENCIA						
1 ^a CONVULSION (MINUTOS)	9.0 ± 0.71	8.2 ± 1.	11.7 ± 0.7	13.9 ± 1.	12.8 ± 1.4	10.8 ± 1.86
NUMERO DE CONVULSIONES	3.2 ± 0.31	1.9 ± 0.3	1.8 ± 0.2	1.7 ± 0.2	1.3 ± 0.19	2.08 ± 0.26
MUERTES	5	3	6	6	1	2

TABLA XI

EFEECTO DEL LIOFILIZADO CRUDO DE I. stans SOBRE LA ACTIVIDAD CONVULSIVANTE DE PENTILENTETRAZOL.

	PENTILENTETRAZOL (75 mg/kg; s.c.)	LIOFILIZADO DE <u>I. stans</u> (50 mg/kg; s.c.) ADMINISTRADO ANTES DE LA APLICACION DEL CON- VULSIVANTE (75 mg/kg; s.c.)
		120'
CONVULSIONES	10/10	3/10
TIEMPO DE LATENCIA		
1ª CONVULSION (MINUTOS)	7.4 ± 0.52	11.5 ± 0.9
NUMERO DE CONVULSIONES	2.2 ± 0.25	1.6 ± 0.2
MUERTES	3	1

TABLA XII

EFEECTO DEL EXTRACTO BUTANOLICO DE I. stans SOBRE LA ACTIVIDAD CONVULSIVANTE DE PICROTOXINA.

PICROTOXINA (4 mg/kg; s.c.)	EXTRACTO BUTANOLICO (20 mg/kg; s.c.) ADMINISTRADO 30' y 60' ANTES O 5' DESPUES DE LA APLICACION DEL CONVULSIVANTE (4 mg/kg; s.c.).			
	30'	60'	5'	
CONVULSIONES	14/15	5/5	7/8	4/5
TIEMPO DE LATENCIA 1 CONVULSION (MINUTOS)	19.2 ± 1.5	17.6 ± 1.0	18.4 ± 1.3	18.0 ± 0.7
NUMERO DE CONVULSIONES	1.31 ± 0.3	2.4 ± 0.4	2.1 ± 0.3	2.2 ± 0.6
MUERTES	1	0	1	0

DISCUSION.

Los componentes obtenidos de la extracción de la raíz de I. stans fueron, sitosterol, ácido 3-hidroxi, 4 metoxi cinámico, alcaloides, acetamida y la 6 metoxi, 7 hidroxi cumarina. La presencia de 6 metoxi, 7 metoxi cumarina en estos extractos es importante si consideramos que tiene una estructura semejante a las furocumarinas (Roussinov, 1968), que han sido reportados con propiedades anticonvulsivantes.

En los primeros estudios (Jauregui, 1885-86) (Solís - Rodríguez 1932) sobre Ipomoea stans se observó que el compuesto activo utilizado actúa sobre cualquier tipo de epilepsia ya que fué probada en humanos con diferentes clases de esta enfermedad, pero debido a la inexactitud de los reportes no se puede identificar el producto con que trabajaron ni las dosis que utilizaron y la comparación de resultados sería inexacta.

En los resultados con picrotoxina y tiosemicarbácida, se observó que no existe ningún efecto protector de los compuestos del liofilizado de la raíz de I. stans. Esto sugiere que el mecanismo de acción del posible anticonvulsivante no involucre el receptor específico postsináptico de GABA ni la síntesis de este neurotransmisor, ya que no se observó ninguna variación en los tiempos de latencia y número de convulsiones producidas por los convulsivantes.

Cuando se llevó a cabo la administración de pentilentetrazol se observó un aumento en la latencia de aparición de la primera convulsión, y un número menor de convulsiones en algunos de los grupos de animales tratados con el liofilizado de la raíz de I. stans; debido a la variabilidad de los efectos del convulsivante en los animales control estos datos aparecen como poco concluyentes.

Es importante mencionar que en las investigaciones realizadas

anteriormente, los parámetros estudiados para conocer el poder anticonvulsivante de otros agentes han sido tanto la latencia de aparición de la primera convulsión así como el índice de mortalidad de los animales. Pocos reportes hacen referencia a una disminución del número de convulsiones inducidas cuando se trata a los animales con el agente anticonvulsivante.

Los datos en la literatura señalan como agentes anticonvulsivantes a los que llegan a aumentar de 10 a 80% la latencia de aparición de la primera convulsión, así como a los que incrementan el intervalo entre la administración del convulsivante y la muerte del animal en un rango de 100 a 200% (Roussinov, 1968) (Arzate, Valdés, 1981).

Otros reportes señalan que el índice de mortalidad de los animales que disminuye de 40 a 50% cuando se tratan con agentes anticonvulsivantes(Arzate, Valdés, 1981).

Sin embargo, pocos reportes señalan el número de convulsiones inducidas cuando los animales reciben un agente convulsivante (Carvajal, et al., 1964) y preferencialmente se observan características de las convulsiones como la intensidad de las mismas. Así Roussinov en -- 1968 reporta que las furocumarinas aisladas de la raíz de Heracleum sibiricum y H. verticillatum disminuyen la intensidad de las convulsiones inducidas por electrochoque y pentilentetrazol, de un 35 a un 60%.

Tomando en consideración lo anteriormente expuesto, aparecen como poco uniforme los criterios para considerar a agente con propiedades anticonvulsivantes.

Debido a lo anterior en este trabajo se seleccionó el mayor número de parámetros posibles para la observación de los animales sujetos a experimentación, como son: número de animales que presentaron convulsiones, latencia de la aparición de la primera convulsión, número de convulsiones presentadas por cada animal y muertes.

La aplicación de estos criterios lleva a la conclusión de que el liofilizado de la raíz de I. stans no presenta propiedades anticonvulsivantes cuando se prueban contra los efectos de picrotoxina y tiosemicarbácida. Sin embargo de los resultados obtenidos con pentilentetrazol no se puede concluir lo mismo. En algunos de los grupos de ratones que recibieron el liofilizado de la raíz de I. stans se observó modificación de los parámetros estudiados: 1) aumento en la latencia de aparición de la primera convulsión y 2) disminución del número de convulsiones presentadas. Estos resultados se observan cuando los parámetros de los animales tratados con el liofilizado se comparan directamente con su grupo control. Sin embargo, la variabilidad de los valores de estos parámetros en los diferentes grupos de ratones tratados únicamente con pentilentetrazol hacen que nuestros resultados sean ambiguos. Es importante hacer hincapié que el número de animales estudiados por grupo en esta investigación fué siempre mayor de 10, y que la protección del liofilizado de la raíz de I. stans se observó en 3 de 5 grupos en donde se obtuvo un total de 27 observaciones experimentales y 44 observaciones control. - Mientras que en los reportes de la literatura sobre las propiedades anticonvulsivantes de otros agentes como las furocumarinas (Russinov, 1968), (Carvajal, et al., 1964) se basan en observaciones de grupos muy pequeños de animales de entre 8 y 15.

Tomando esto en consideración es importante para probar los extractos de la raíz de I. stans, un modelo donde estas variaciones puedan, si no eliminarse totalmente, reducirse hasta poder predecir el tipo de convulsiones que presentarán todos los animales y la latencia de aparición de la primera convulsión siendo esta constante en todos los animales control.

Uno de los modelos por medio del cual lo anterior podría realizarse es el modelo de kindling (Ito, et al., 1981), y que consiste en la administración de dosis subconvulsivas administradas durante cierto --

tiempo dependiente de la dosis, provoca un daño cerebral tal, que al final del tratamiento, una dosis que inicialmente no ocasionó ningún tipo de convulsión en el animal, origina convulsiones tonicoclónicas, - semejándose a la epilepsia en humanos.

Los convulsivantes que pueden utilizarse en el modelo de - kindling son principalmente picrotoxina y pentilentetrazol.

Este modelo se estudia actualmente en el Laboratorio 105 - del Centro de Investigación en Fisiología Celular de la Universidad Nacional Autónoma de México.

CONCLUSIONES.

1° De la raíz de Ipomoea stans se extrajo sitosterol, ácido - 3 hidroxí, 4 metoxi cinámico, alcaloides acetarida, azúcares como arabinosa, manosa, xilosa fructuosa y galactosa, y la 6 metoxi, 7 hidroxí cumarina.

2° El liofilizado de la raíz de I. stans no tiene ningún efecto protector ni antagónico contra la picrotoxina y tiósemicarbacida, es decir convulsiones producidas por la inhibición del receptor específico de GABA ni de su síntesis.

5° El liofilizado de la raíz de Ipomoea stans probado contra pentilentetrazol, que actúa inhibiendo la liberación de GABA, ocasiona - en la mayoría de los casos un aumento en la latencia de aparición de la primera convulsión y disminución del número de convulsiones presentadas por ratón.

4° Es necesario para probar los los diferentes compuestos de la raíz de Ipomoea stans un modelo en el cual los parámetros a observar se mantengan constantes .

AGRADECIMIENTOS

Deseo agradecer a todas las personas que de una forma u otra intervinieron en la realización de esta tesis. Mi más profundo agradecimiento para los Dres. Ofelia Collera Zuñiga, Ma. Elena Sandoval - Bernal y Federico García Jiménez por la dirección de esta tesis en las diferentes etapas de su desarrollo.

A los Dres. Ma. Cristina Pérez Amador y Jesús Manuel León Cazares, a las Biol. Alma Rosa González Esquinca y Elena Arzate Valdés, por sus sugerencias para una mejor comprensión y mayor generalidad sobre este tema.

Igualmente la ayuda del Sr. Jesús Hernández en el manejo y producción de animales.

Deseo agradecer a todos mis maestros sus enseñanzas y consejos a - mis amigos los gratos momentos de convivencia y trabajo colectivo.

Agradezco a mis padres, Enrique y todos mis familiares, su paciencia cariño y comprensión durante todo este tiempo.

BIBLIOGRAFIA

- Anales del Instituto de Biología 1963-64. Tomo XXXIV. Números 1 y 2 pp. 102. México, D.F.
- Arzate, Valdés., 1981. Interacción Taurina-Calcio: Posible Mecanismo de la Acción Anticonvulsiva de la Taurina. Tesis Profesional, Facultad de Ciencias. UNAM. México, D.F.
- Carvajal, G., M. Russek, Tapia, R., Massieu, G., 1964. Anticonvulsive Action of Substances Designed as Inhibitors of γ -Aminobutyric Acid- α -Keto Glutonic Acid Transaminase. *Biochem. Pharmacol.*, 13: - 1059-1069.
- Goodman, L.S., Gilman, A., 1957. Bases Farmacológicas de la Terapéutica. Segunda Edición. Editorial UTEHA. Tomo 11. México, D.F.
- Goodman, L.S., Gilman, A., 1979. Bases Farmacológicas de la Terapéutica Quinta Edición. Editorial UTEHA. México, D.F.
- Gayton, L.A., 1978. Tratado de Fisiología Médica. Quinta Edición. Editorial Interamericana. México, D.F.
- Herbert, H., J., Waed, A., Pope, A., 1976. Basic Mechanisms of Epilepsy. Edited by Herbert H., Jasper. Arthur, A. Waed. Little Brow. U.S.A.
- Hernández Ugalde, J.A., 1932. Contribución al Estudio del Tumbavaquero (*Ipomoea stans*). Tesis Profesional. Facultad de Medicina. UNAM. México, D.F.
- Ito, T. Mori, M. Yoshida, K. Shinrizu, M., 1977. Effect of Anticonvulsants on Seizures Developing in the Course of Daily Administration to Rats. *J. Pharmacol.* 45:1165-1172.

- Jauregui, F., 1885-86. Estudio de algunos Purgantes Indígenas. La Naturaleza. Tomo VII.
- Johnston, G.A.R. and Mitchell, J.F., 1971. The Effect of Bicuculline, Metrazol, Picrotoxine and Strychnine on the Release of ³H GABA From Brain Slices. J. Neurochem. 18: 2441-2446.
- Kimber, C.D., Gray, C.E., 1968. Manual de Anatomía y Fisiología. Tercera Edición. La Prensa Médica Mexicana.
- Kuffler, W.S., Nichols, G.J., 1976. From Neuron to Brain. Sinaur Associates, Inc. Publishers. USA.
- Lara, R., Sandoval, M.E. 1981. The Neurociences; Experimental and Theoretical Approaches. Cognition and Brain Theory. 5 (2).
- Lehninger, A.C., 1978. Biochemistry. Second Edition. Worth Publishers, Inc. New York.
- Martínez, M., 1969. Las Plantas Medicinales de México. Edición Andrés Batos. Quinta Edición. México, D.F.
- Russinov, K.S., 1968. Effects of Furocaumarins on the Nervous System. Bulletin of Institute of Physiology. Vol. XI Bulgaria.
- Sandoval, M.E., Contreras, P., Trigeros, M. Audiovisual sobre Sistema Nervioso en Preparación.
- Seymour, S. Kely., 1979. Enfermedades Cerebrales. El Cerebro. Lecturas de Scientific American.
- Solís, Rodríguez., 1932. El Shock Producido por la Fracción Activa del Tumbavaquero (*Ipomoea stans*). Tesis Profesional. Facultad de Medicina. UNAM. México, D.F.

- Stecher, P.G., 1968. The Merck. Index and Encyclopedia of -
Chemical and Drugs. Merck and Co., Inc. Rahaway, N.J. USA.

- Tapia, R., 1976. Biochemical Pharmacology of GABA in CNS. -
Handbook of Psychopharmacol 4: 1-58.