

29.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
ZARAGOZA

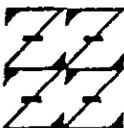
"Valoración de la actividad anticonvulsionante de
N-GABA-3-(R-fenil)-2-(E)-propenamidas"

T E S I S

QUE PARA	OBTENER EL	TÍTULO DE
QUÍMICO	FARMACÉUTICO	BIÓLOGO
P R E	S E N	T A
SUSANA	SANTIAGO	FLORES

DIRIGIDA POR . M. en C. LINO J. REYES TREJO
Dr. ANDRÉS NAVARRETE CASTRO.

U N A M
F E S
Z A R A G O Z A



16 HORAS DE
DE MUESTRA DE ESTUDIOS

MÉXICO, D.F.,

1998.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

265117



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES "ZARAGOZA"

JEFATURA DE LA CARRERA DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

ASUNTO: ASIGNACION DE SINODALES

ESTIMADOS MAESTROS:

La Dirección de la Facultad de Estudios Superiores "Zaragoza", ha nombrado a ustedes como Sinodales del Examen Profesional del (la) señor (ita):

SANTIAGO FLORES SUSANA

para obtener el Título de Químico Farmacéutico Biólogo.

Les agradeceré se sirvan revisar el trabajo escrito intitulado: "VALORACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTICONVULSIONANTE DE N-GABA-3 (B-EFENIL) 2 (E) PROPENAMIDAS".

Y asistir en la fecha que después se les hará saber al Examen de Recepción Profesional.

PRESIDENTE: DRA. AMADA LOPEZ GARCIA
VOCAL: DR. ANDRES NAVARRETE CASTRO
SECRETARIO: M. en C. LINO J. REYES THEJO
SUPLENTE: O.F.L. ESTELA VALENCIA PLATA
SUPLENTE: O.F.B. VICTOR HUGO BECERRA LOPEZ

ATENTAMENTE,
"POR MI HAZA HABERÁ EL ESPÍRITU"
México, D.F. a 17 de Abril de 1998.

M. en C. PATRICIA PARRA CURVALES
JEFE DE LA CARRERA

c.c.p. Departamento de Control de Egresados
c.c.p. Interesado

Este trabajo se realizó en el Laboratorio de Farmacología en la Facultad de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México, bajo el apoyo y la asesoría del M. en C. Lino Joel Reyes Trejo y del Dr. Andrés Navarrete Castro.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a la Facultad de Química y a la Universidad Nacional Autónoma Chapingo en especial al Laboratorio de Productos Naturales por todas las facilidades otorgadas para la realización de éste trabajo.

Así mismo, deseo agradecer a todos mis compañeros de trabajo de la Facultad y de la UACH en especial a **Jesús Montero** por nunca haberme negado su ayuda.

Además quiero agradecer al M. en C. Benito Reyes Trejo por sus grandes consejos y por el apoyo que me otorgó durante el desarrollo de esta Tesis.

Mi más profunda admiración y respeto es para el Dr. Andrés por haberme permitido convivir con él, aprender de él y por haberme inculcado el sentido de la responsabilidad y todas aquellas cosas y experiencias que adquirí en el momento que empecé a trabajar con él. Infinitamente.....*gracias*.

DEDICATORIAS

Esta Tesis quiero dedicársela a las personas que más han llenado mi vida de felicidad:

A mis padres

ELSA

Y

ARMANDO

Por ser maravillosos; por ganarse mi admiración y respeto, sobre todo les agradezco haberme dado la oportunidad de estudiar y de cumplir uno de mis más grandes anhelos. Los amo.

A mis hermanos:

YOLA

Y

MANDO

Por todo su apoyo moral y económico que me han brindado. *Mil gracias*

A mis cuñados:

MARLEN

Y

RAUL

Por haber soportado mis payasadas tantos años.

A mis sobrinos:

JORGE ARMANDO

GILBERTO ALEJANDRO

RALPH ALEXIS

Por llenar mi vida de inmensa felicidad y de gratos momentos cuando veo sus hermosas caritas sonreír y correr felices. Los adoro y los quiero.

A todos mis tíos y primos que me han brindado su apoyo moral, por preocuparse por mi y por darme aliento en los momentos más difíciles de mi vida. Muy en especial a **MIRIAM GRISELDA** y a **JORGE ALBERTO** donde quiera que estén, siempre los voy a extrañar.

Por último quisiera agradecer a una persona que desde hace tiempo vino a darme un giro total a mi vida, por todas sus enseñanzas, por los gratos momentos que pasamos juntos, por su amor incondicional, por soportarme, tolerarme y apoyarme en momentos muy difíciles; sobre todo por ser un gordito adorable. **TE AMO.**

CLEMENTE

TABLA DE CONTENIDO

I. INTRODUCCIÓN.	1
II. FUNDAMENTO TEÓRICO	4
2.1. Definición de convulsiones y epilepsia.	4
2.2. Etiología de las convulsiones y procesos epilépticos	4
2.3. Clasificación de las convulsiones o estados epilépticos	5
2.3.1. Convulsiones parciales o focales.	6
2.3.1.1. Parciales simples.	7
2.3.1.2. Parciales complejas o psicomotoras.	7
2.3.1.3. Parcial secundariamente generalizado.	7
2.3.2. Convulsiones generalizadas (ataque bilateral abrupto de ambos hemisferios).	8
2.3.2.1. Convulsión tonicoclónica o gran mal.	8
2.3.2.2. Crisis de ausencia o pequeño mal.	13
2.3.2.3. Convulsión mioclónica.	13
2.3.2.4. Convulsiones atónicas.	13
2.3.2.5. Convulsiones tónicas.	14
2.3.2.6. Convulsiones clónicas.	14
2.4. Aspectos terapéuticos.	14
2.4.1. Clasificación de fármacos anticonvulsivos.	15
2.4.2. Mecanismo de Acción.	17
2.4.3. Fármacos o compuestos excluidos del cerebro.	20
2.5. Ácido γ-aminobutírico (GABA).	20
2.5.1. Metabolismo de GABA.	22
2.5.2. Receptores.	23
2.6. Modelos Experimentales de Epilepsia	25
2.6.1. Sustancias convulsivas.	27
2.6.1.1. Mecanismo de acción de los convulsivos.	29
2.6.1.2. Pentilentetrazol.	29
2.7. Profármacos GABA.	30
2.7.1. Sustancias inhibitoras del GABA-T.	32
2.7.2. Inhibidores de la captura del GABA. (Ácido 4, 5, 6, 7-tetrahidroisoxazolo (4,5-c)piridin-3-ol nipecótico).	33
2.7.3. Nuevo fármaco anticonvulsivo.	33
2.7.3.1. Gabapentina.	33
III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.	35

IV. OBJETIVOS	37
4.1 GENERAL	37
4.2 PARTICULARES	37
V. HIPÓTESIS.	39
VI. MATERIAL Y MÉTODOS	40
6.1. Material.	40
6.1.1. Material de laboratorio.	40
6.1.2. Material biológico.	40
6.1.3. Equipo.	40
6.1.4. Reactivos.	41
6.2. Metodología	42
6.2.1. Producción de animales.	42
6.2.2. Pruebas de solubilidad.	42
6.2.3. Preparación de soluciones de prueba.	42
6.2.4. Solución salina.	43
6.2.5. Pentilentetrazol.	43
6.2.6. Medición de la actividad farmacológica.	43
VII. RESULTADOS	44
7.1. Producción de animales.	44
7.2. Pruebas de solubilidad.	44
7.3. Valoración farmacológica	45
VIII. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	51
8.1. Producción de animales.	51
8.2. Pruebas de solubilidad.	51
8.3. Valoración farmacológica.	51
IX. CONCLUSIONES.	54
X. SUGERENCIAS.	55
XI. BIBLIOGRAFÍA	56

INDICE DE CUADROS, TABLAS Y FIGURAS.

CUADROS

Cuadro 1. Clasificación de las convulsiones.	6
Cuadro 2. Clasificación estructural de las fármacos anticonvulsivos.	16

TABLAS

Tabla 1. Estructura química de los fármacos anticonvulsivos.	9
Tabla 1. Estructura química de los fármacos anticonvulsivos (Continuación).	10
Tabla 1. Estructura química de los fármacos anticonvulsivos (Continuación).	11
Tabla 1. Estructura química de los fármacos anticonvulsivos (Continuación).	12
Tabla 2. Características de los receptores GABA.	24
Tabla 3. Solubilidad de las GABA amidas ante 4 diferentes disolventes.	44
Tabla 4. Resultados de la actividad farmacológica de las GABA amidas a la dosis de 3 mg/kg de peso.	45
Tabla 5. Resultados de la actividad farmacológica de las GABA amidas a la dosis de 30 mg/kg de peso.	46
Tabla 6. Resultados de la actividad farmacológica de las GABA amidas a la dosis de 300 mg/kg de peso.	47

FIGURAS

Figura 1. Estructura común de la mayoría de los antiepilépticos.	15
Figura 2. Estructura química de la Progabida.	18
Figura 3. Estructura química de la γ -vinil-GABA	19

Figura 4. Estructura química del ácido γ -aminobutírico (GABA).	21
Figura 5. Metabolismo del GABA.	23
Figura 6. Estructura química del Pentilentetrazol.	30
Figura 7. Ácidos γ -aminobutíricos γ -disustituídos.	31
Figura 8. Estructura molecular del ácido 4, 5, 6, 7-tetrahidroisoxazolo (4,5-c)piridin-3-ol nipecótico (THPO)	33
Figura 9. Período de latencia de todas las GABA amidas a una dosis de 3, 30 y 300 mg/kg.	48
Figura 10. Porcentaje de muertes para todas las GABA amidas. Se destaca el 100 % de muertes existentes para el control.	49
Figura 11. Porcentaje de sobrevivencia para las GABA amidas con respecto al PTZ, en donde se observa un aumento en la sobrevivencia de casi todos los compuestos a todas las dosis.	50

GLOSARIO DE ABREVIATURAS

ACAC	Ácido cis-aminocrotónico
BHE	Barrera Hematoencefálica
Ca	Calcio
Cl	Cloro
DMSO	Dimetilsulfóxido
g	Gramos
GABA	Ácido γ -aminobutírico
GAD	Glutamato descarboxilasa
GBP	Gabapentina
i.p.	Intraperitoneal
K	Potasio
kg	Kilogramos
L	Litro
MEE	Modelos Experimentales de Epilepsia
MeOH	Metanol
mg	Miligramos
min.	Minutos
mL	Mililitros
Na	Sodio
NaCl	Cloruro de sodio
NaHCO ₃	Bicarbonato de sodio
pka	Logaritmo negativo de una constante de ionización
PTZ	Pentilentetrazol
s	Segundos
SNC	Sistema Nervioso Central
SSADH	Semialdehído succínico deshidrogenasa

INTRODUCCIÓN

I. INTRODUCCIÓN.

Las epilepsias son trastornos frecuentes, y a menudo devastadores, que afectan a cerca del 1.0 % de la población mexicana. Se han identificado más de 40 formas diferentes de epilepsia. Las convulsiones epilépticas suelen producir alteración transitoria del conocimiento, dejan al individuo en riesgo de lesión corporal y a menudo obstaculizan las actividades de estudio y de trabajo de éste. El tratamiento es sintomático, puesto que, si bien los fármacos disponibles inhiben las convulsiones, no se cuenta con profilaxia eficaz ni con métodos de curación. Para el paciente, cumplir con el régimen prescrito es un problema de primer orden, dada la necesidad de tratamiento a largo plazo, que en el caso de muchos de los agentes terapéuticos conlleva efectos adversos (McNamara, 1996).

Los mecanismos de acción de los fármacos anticonvulsivos encajan en tres categorías principales. Los medicamentos contra las formas más frecuentes de crisis epilépticas, que son las convulsiones tonicoclónicas generalizadas de manera secundaria, y que parecen actuar por uno de dos posibles mecanismos. Uno consiste en limitar la activación repetitiva y sostenida de una neurona, efecto mediado por la promoción del estado inactivado de los canales del Na^+ activados por voltaje. El otro mecanismo parece consistir en un incremento de la inhibición sináptica mediada por ácido gamma-aminobutírico (GABA), efecto al que media la acción presináptica de algunos fármacos y la postsináptica de otros. Los fármacos eficaces contra una forma menos frecuente de trastorno epiléptico, llamada crisis de ausencia, limitan la activación de un canal del Ca^{2+} voltaje-dependiente de tipo particular; que se denomina corriente T (McNamara, 1996).

Aunque se cuenta con muchos recursos terapéuticos, hoy se presta gran atención a criterios novedosos. Muchos de éstos se ocupan de la dilucidación de los

mecanismos celulares y moleculares de la hiperexcitabilidad, aspectos que parecen ofrecer objetivos específicos para los nuevos tratamientos (McNamara, 1996).

En la búsqueda de fármacos útiles para el tratamiento de los estados convulsivos y de la epilepsia se han empleado los más diversos enfoques. Así, desde 1857, cuando Charles Locock introdujo con éxito los bromuros, su estudio tuvo una base supuestamente racional: se creía que el onanismo era la causa de la epilepsia y que los bromuros tenían efecto afrodisíaco. Aunque ambas ideas son falsas, los bromuros sí tienen un buen efecto antiepiléptico (Feria *et al.*, 1986).

Hasta 1912, gracias a los estudios básicos realizados por Impens, Lowe y Juliusburger acerca de los efectos sedantes e hipnóticos del fenobarbital, Hauptmann informó de la superioridad de éste fármaco sobre los bromuros en el tratamiento de la epilepsia (Feria *et al.*, 1986).

El descubrimiento de las 2,4-oxazolidindionas por Erlenmeyer en 1938, siguiendo las relaciones del isoterismo con otros compuestos hipnóticos, condujo a Spielman y sus colaboradores a probar su efecto anticonvulsionante con éxito en el "pequeño mal" para sintetizar después, en 1944, la tridiona. La presencia constante de una parte de la estructura, común a diversos compuestos activos como anticonvulsionantes, hizo que Richards y Everett descubrieran las succinimidas en 1946. Por razones similares, en 1948, Spielman sintetizó las acilureas como la fenurona y otros compuestos como carbamatos y amidas alifáticas. En 1952, Bergstone y sus colaboradores consideraron que los inhibidores de la anhidrasa carbónica podrían tener efecto anticonvulsionante por ocasionar una acidosis que tendría un efecto favorable contra la epilepsia, utilizándose así por primera vez la acetazolamida en 1954 (Feria *et al.*, 1986).

El importante grupo de las benzodiazepinas de Sternbach que se iniciara con el clordiazepóxido en 1960, seguido por el diazepam, el clorazepam y el nitrazepam, fue descubierto en un estudio farmacológico orientado hacia la obtención de compuestos tranquilizantes. En 1974 se encontró que la carbamazepina, cuyas propiedades para el

tratamiento de la neuralgia del trigémino fueron descubiertas en 1960, era eficaz en el tratamiento de la epilepsia (Feria *et al.*, 1986).

Actualmente es bien sabido que el GABA está implicado en ciertos trastornos convulsivos y que una disminución en los niveles cerebrales de éste aumenta la susceptibilidad a sufrir convulsiones (Olsen y Avoil, 1997). Por esta razón desde hace algunos años los investigadores se han dado a la tarea de buscar nuevos fármacos anticonvulsionantes que, de alguna forma, aumenten la concentración de GABA en el cerebro y así puedan disminuir los ataques convulsivos.

Debido a que los fármacos anticonvulsivos utilizados en la actualidad fueron descubiertos hace muchos años atrás y dado la gran cantidad de efectos adversos que éstos presentan en sus consumidores (urticaria, sedación, toxicidad en hígado, ataxia, anemia aplásica, erupciones cutáneas, etc.), es importante descubrir nuevos fármacos anticonvulsionantes que permitan disminuir los efectos adversos y que mejoren la calidad de vida del paciente (Feria *et al.*, 1986).

En este sentido en el presente trabajo se evaluaron 10 N-GABA amidas de origen sintético como agentes anticonvulsionantes.

FUNDAMENTO TEÓRICO

II. FUNDAMENTO TEÓRICO

2.1. Definición de convulsiones y epilepsia.

El término convulsión se refiere a un trastorno transitorio de la conducta, causado por la activación desordenada, sincrónica y rítmica de poblaciones enteras de neuronas cerebrales (McNamara, 1996). Las convulsiones son contracciones involuntarias del músculo esquelético que a menudo caracterizan las crisis epilépticas, pudiendo existir o no la pérdida de la conciencia. Una causa frecuente de las convulsiones es el conjunto de deficiencias neuronales agrupadas bajo el término *epilepsia*. Sin embargo, las crisis epilépticas toman muchas formas y no son necesariamente convulsivas (McNamara, 1996; William *et al.*, 1996).

Se denomina *epilepsia* a un trastorno de la función cerebral que se caracteriza por el surgimiento periódico e impredecible de convulsiones (Heilman y Valenstein, 1993). Las convulsiones pueden ser "no epilépticas", cuando se evocan en un cerebro normal mediante recursos como electrochoque o agentes químicos, o "epilépticas", cuando ocurren sin provocación manifiesta (McNamara, 1996).

2.2. Etiología de las convulsiones y procesos epilépticos

Hace más de un siglo, John Hughlings Jackson, quien revolucionara los conceptos sobre la epilepsia, postuló que las convulsiones eran causadas por "descargas ocasionales, repentinas, excesivas, rápidas y locales de la sustancia gris", y que sobrevinía una crisis convulsiva generalizada cuando el tejido cerebral normal se veía invadido por actividad convulsiva iniciada en un foco anormal. Esto demostró que las diversas formas de esta enfermedad eran anomalías de la excitabilidad neuronal. Se considera que las convulsiones se originan en la corteza cerebral, y no en otras estructuras del sistema nervioso central (SNC) como tálamo, tallo encefálico o cerebelo (McNamara, 1996).

Los análisis electrofisiológicos de neuronas individuales durante una crisis convulsiva parcial muestran que las neuronas presentan despolarización y potenciales de acción de activación a frecuencias altas. Este patrón de activación neuronal es característico de las convulsiones, y es poco frecuente durante la actividad neuronal fisiológica (McNamara, 1996).

La función primordial de la sinápsis para mediar la comunicación entre las neuronas en el cerebro del mamífero sugirió que la función sináptica defectuosa podría originar convulsiones, es decir; cabría esperar que la reducción de la actividad sináptica inhibitora y el fomento de la actividad sináptica excitadora desencadenaran una crisis convulsiva. Los neurotransmisores que median de manera global la transmisión sináptica en el cerebro del mamífero son: ácido γ -aminobutírico (GABA), acetilcolina, noradrenalina, serotonina, dopamina, glutamato, aspartato y glicina, como principales neurotransmisores inhibitorios y excitadores (Bloom, 1996; McNamara, 1996).

Cabe señalar que a pesar de los grandes adelantos sobre los conocimientos de epilepsia, las causas de su origen no se saben aun con certeza (Albert y Knoefel, 1994).

2.3. Clasificación de las convulsiones o estados epilépticos

La crisis epilépticas se han clasificado en convulsiones *parciales*, que se inician de manera focal en un sitio cortical, y *generalizadas*, que abarcan con amplitud varios hemisferios desde el principio. Las manifestaciones conductuales en las crisis convulsivas dependen de las funciones que ejerza normalmente el sitio de la corteza donde se originan las convulsiones (McNamara, 1996).

Estas crisis epilépticas están clasificadas con fines de tratamiento, pero la epilepsia es un síntoma más que una enfermedad específica. El diagnóstico se basa

principalmente en las formas clínicas de la crisis (ver cuadro 1) (Laidlaw *et al.*, 1988; Wesley *et al.*, 1990; Velasco *et al.*, 1993; William *et al.*, 1996).

Cuadro 1. Clasificación de las convulsiones.

<p>I. Convulsiones Parciales o focales.</p> <ul style="list-style-type: none">a) Parciales simplesb) Parciales complejasc) Ataque parcial secundario generalizado <p>II. Convulsiones Generalizadas.</p> <ul style="list-style-type: none">a) Tonicoclónicasb) De ausenciac) Mioclónicasd) Atónicae) Tónicaf) Clónica <p>III. No clasificados.</p>

2.3.1. Convulsiones parciales o focales.

En el caso de las convulsiones parciales, la causa de la descarga eléctrica anormal es una anomalía encefálica focal, aun cuando no pueda encontrarse una lesión estructural en el estudio clínico completo (William *et al.*, 1996).

Si el foco de la convulsión parcial está en un área motora, las primeras manifestaciones serán motoras; si está cerca de la franja sensitiva del lóbulo parietal,

las primeras manifestaciones serán sensitivas. La región más "epileptógena" del encéfalo está en el lóbulo temporal y, por tanto, la forma más común de convulsiones focales se inicia a partir de ese lugar (William *et al.*, 1996)

2.3.1.1. Parciales simples.

Se caracterizan por diversas manifestaciones que dependen de la región de la corteza activada por la crisis convulsiva y que duran aproximadamente 20 a 60 s. El aspecto clave es la **conservación del conocimiento**. Los fármacos empleados usualmente son la carbamazepina (1), fenilhidantoína (2), fenobarbital (3), primidona (4), valproato (5), y más recientemente la *gabapentina* (6) y lamotrigina (7) (Ver estructuras en la tabla 1) (McNamara, 1996).

2.3.1.2. Parciales complejas o psicomotoras.

En las convulsiones parciales complejas existe pérdida de conocimiento que dura de 30s a 2 min, y en muchos casos va acompañada por movimientos propositivos, como chasquear los labios o agitar la mano. Los fármacos que se utilizan para este tipo de convulsiones son la carbamazepina (1), fenilhidantoína (2), fenobarbital (3) primidona (4), valproato (5), y recientemente la *gabapentina* (6) y lamotrigina (7) (McNamara, 1996).

2.3.1.3. Parcial secundariamente generalizado.

La convulsión simple o parcial compleja evoluciona hasta convulsión tonicoclónica, con pérdida del conocimiento y contracciones sostenidas (tónicas) de los músculos de todo el cuerpo a los que siguen periodos de contracción muscular alternada con periodos de relajación (convulsiones clónicas), que en su forma característica duran de uno a dos minutos. Se emplean para su tratamiento carbamazepina (1), fenilhidantoína (2), fenobarbital (3), primidona (4), valproato (5), *gabapentina* (6) y lamotrigina (7) (McNamara, 1996).

2.3.2. Convulsiones generalizadas (ataque bilateral abrupto de ambos hemisferios).

En el caso de las convulsiones generalizadas, no se encuentra causa patológica ni estructural; los ataques parecen deberse a una disminución inherente del umbral para las convulsiones determinada genéticamente. La descarga se origina en un área profunda de la línea media del cerebro y en la parte superior del tallo encefálico, y se propaga a ambos hemisferios causando una convulsión súbita sin advertencia. Puede hacerse que cualquier persona tenga convulsiones en ciertas circunstancias, pero en los pacientes con las diversas formas de convulsiones generalizadas, los umbrales están fijos a un nivel tan bajo que las convulsiones se producen espontáneamente (William *et al.*, 1996).

A diferencia de las convulsiones parciales, originadas en regiones circunscritas de la corteza cerebral, las convulsiones de inicio generalizado se originan en la activación recíproca del tálamo y de dicha corteza (McNamara, 1996).

2.3.2.1. Convulsión tonicoclónica o gran mal.

En el caso de las convulsiones parciales con convulsiones tonicoclónicas generalizadas de manera secundaria, salvo que no van precedidas por una convulsión parcial, hay alteración de la conciencia. Generalmente se utilizan en su tratamiento carbamazepina (1), fenilhidantoína (2), fenobarbital (3), primidona (4) y valproato disódico (5) (Ver tabla 1) (McNamara, 1996).

Tabla 1. Estructura química de fármacos anticonvulsivos.

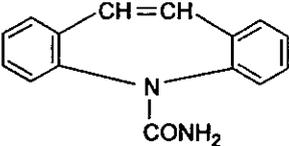
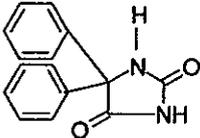
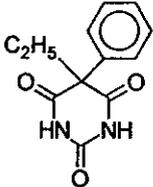
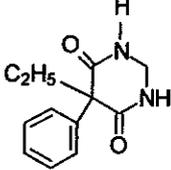
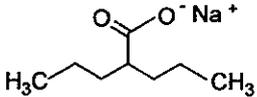
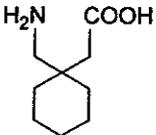
Numero	Estructura Química	Referencia
(1)		(Bowman y Rand 1984)
(2)		(Bowman y Rand 1984)
(3)		(Bowman y Rand 1984)
(4)		(Bowman y Rand 1984)
(5)		(Bowman y Rand 1984)
(6)		(Meldrum, 1996)

Tabla 1. Estructura química de fármacos anticonvulsivos (Continuación).

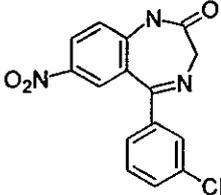
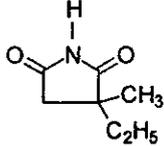
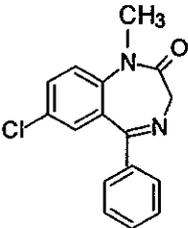
Numero	Estructura Química	Referencia
(7)		(Meldrum, 1996)
(8)		(Bowman y Rand 1984)
(9)		(Bowman y Rand 1984)
(10)		(Bowman y Rand 1984)

Tabla 1. Estructura química de fármacos anticonvulsivos (Continuación).

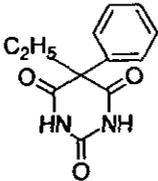
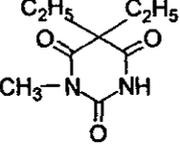
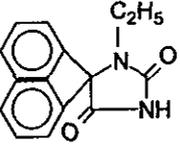
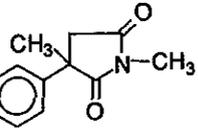
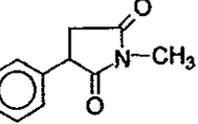
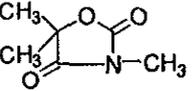
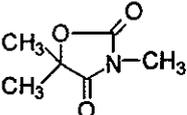
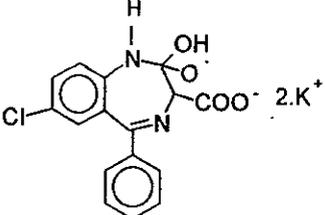
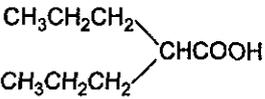
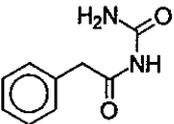
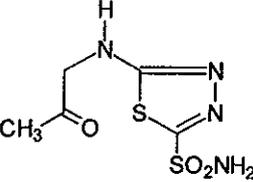
Numero	Estructura Química	Referencia
(11)	 <p>The structure shows a five-membered imidazolidinone ring. One nitrogen atom is bonded to a hydrogen atom and a carbonyl group. The other nitrogen atom is bonded to a hydrogen atom and a carbonyl group. The carbon atom between the two nitrogens is bonded to an ethyl group (C₂H₅) and a phenyl ring.</p>	(Bowman y Rand 1984)
(12)	 <p>The structure shows a five-membered imidazolidinone ring. One nitrogen atom is bonded to a hydrogen atom and a carbonyl group. The other nitrogen atom is bonded to a hydrogen atom and a carbonyl group. The carbon atom between the two nitrogens is bonded to two ethyl groups (C₂H₅) and a methyl group (CH₃).</p>	(Bowman y Rand 1984)
(13)	 <p>The structure shows a five-membered imidazolidinone ring. One nitrogen atom is bonded to a hydrogen atom and a carbonyl group. The other nitrogen atom is bonded to a hydrogen atom and a carbonyl group. The carbon atom between the two nitrogens is bonded to an ethyl group (C₂H₅) and a 1H-indol-3-yl ring.</p>	(Bowman y Rand 1984)
(14)	 <p>The structure shows a five-membered imidazolidinone ring. One nitrogen atom is bonded to a hydrogen atom and a carbonyl group. The other nitrogen atom is bonded to a hydrogen atom and a carbonyl group. The carbon atom between the two nitrogens is bonded to a methyl group (CH₃) and a phenyl ring.</p>	(Bowman y Rand 1984)
(15)	 <p>The structure shows a five-membered imidazolidinone ring. One nitrogen atom is bonded to a hydrogen atom and a carbonyl group. The other nitrogen atom is bonded to a hydrogen atom and a carbonyl group. The carbon atom between the two nitrogens is bonded to a methyl group (CH₃) and a phenyl ring.</p>	(Bowman y Rand 1984)
(16)	 <p>The structure shows a five-membered imidazolidinone ring. One nitrogen atom is bonded to a hydrogen atom and a carbonyl group. The other nitrogen atom is bonded to a hydrogen atom and a carbonyl group. The carbon atom between the two nitrogens is bonded to two methyl groups (CH₃) and a methyl group (CH₃).</p>	(Bowman y Rand 1984)

Tabla 1. Estructura química de fármacos anticonvulsivos (Continuación).

Numero	Estructura Química	Referencia
(17)		(McNamara, 1996)
(18)		(Velasco, 1993)
(19)		(Burnham, 1989)
(20)		(Bowman y Rand 1984)
(21)		(Velasco, 1993)

A diferencia de las convulsiones parciales, originadas en regiones circunscritas de la corteza cerebral, las convulsiones de inicio generalizado se originan en la activación recíproca del tálamo y de dicha corteza (McNamara, 1996).

2.3.2.2. Crisis de ausencia o pequeño mal.

Se caracteriza por un inicio repentino de pérdida del conocimiento, aunada a mirada fija e interrupción de las actividades que se estaban efectuando y que dura de manera característica menos de 30 segundos y se presenta en la pubertad o la adolescencia. Para su tratamiento se utilizan los fármacos clonazepam (8), etosuximida (9), valproato (5) y lamotrigina (7) (Tabla 1) (McNamara, 1996).

2.3.2.3. Convulsión mioclónica.

Existe una contracción muscular breve de tipo choque eléctrico, ya sea circunscrita a parte de una extremidad, o generalizada. Generalmente nada más se utiliza el valproato (5) (Tabla 1) para su tratamiento (McNamara, 1996).

2.3.2.4. Convulsiones atónicas.

Las convulsiones atónicas son ataques breves durante los cuales el sujeto pierde el tono muscular por unos cuantos segundos, y a menudo cae pesadamente al suelo. Se produce durante la lactancia y la infancia. Para su tratamiento se utilizan valproato (5), clonazepam (8) y etosuximida (9) (Tabla 1) (William *et al.*, 1996).

2.3.2.5. Convulsiones tónicas.

Se caracterizan por contracción continua del músculo y pueden producir fijación de las extremidades y desviación de la cabeza y los ojos hacia un lado; la interrupción que se presenta de los movimientos ventilatorios produce cianosis. Se pierde el conocimiento y no hay fase clónica. La difenilhidantoína (2), y el fenobarbital (3) son usados frecuentemente para este tipo de convulsiones, aunque también se puede utilizar el diazepam (10) (Simons *et al.*, 1992).

2.3.2.6. Convulsiones clónicas.

Se caracterizan por sacudidas clónicas (contracción y relajación alternada) repetidas acompañadas por pérdida de la conciencia. No hay componente tónico inicial. Se usan valproato (5) y clonazepam (8) para su tratamiento (Simons *et al.*, 1992).

2.4. Aspectos terapéuticos.

El fármaco anticonvulsivo ideal suprimiría todas las convulsiones, sin generar efectos adversos de ninguna clase. Desafortunadamente, los medicamentos de uso actual logran el control de la actividad convulsiva en algunos pacientes, no sin causar en muchos casos, efectos adversos que varían en gravedad desde trastorno mínimo del Sistema Nervioso Central (SNC) hasta la muerte por anemia aplásica o insuficiencia hepática. El médico que trata pacientes epilépticos afronta, por tanto, el riesgo de seleccionar al fármaco apropiado o la combinación que logre el mejor control de las convulsiones en un paciente dado, a más de un nivel de efectos indeseables. Por lo general se sostiene que se pueden suprimir por completo las convulsiones hasta

en 50 % de los pacientes, y que esta supresión mejora en grado importante en una proporción adicional del 25 %. Se obtienen mejores resultados en los pacientes con diagnóstico reciente, lo cual depende de factores como tipo de actividad convulsiva, antecedentes familiares y gravedad de las anomalías neurológicas concomitantes (McNamara, 1996).

2.4.1. Clasificación de fármacos anticonvulsivos.

La mayoría de los fármacos anticonvulsivos tienen una similitud estructural que les confiere sus propiedades anticonvulsivas. La estructura general corresponde a la de una acetamida trisustituída (Ver figura 1), en la que los sustituyentes varían dentro de límites muy estrechos. Desde el punto de vista estructural es posible clasificar a los compuestos usados en el tratamiento de las epilepsias como se presenta en el cuadro 2 (Wesley *et al.*, 1990).

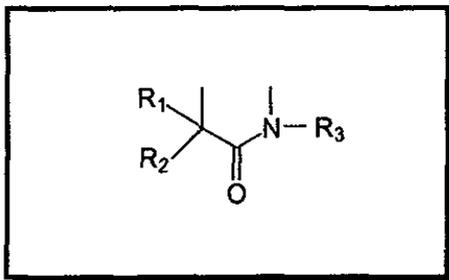


Figura 1. Estructura común de la mayoría de los antiépilépticos¹, en donde los sustituyentes R₁, R₂, y R₃ pueden ser: C₆H₅-, C₂H₅-, CH₃-, H-, Cl-, OH-, CH₃-O-CH₂-, C₆H₅-CH₂-, CH₂-CH-CH₂-, C₆H₅-CH₂-CH₂- ó ninguno.

¹ Fera *et al.*, 1986.

Cuadro 2. Clasificación estructural de las fármacos anticonvulsivos.

TIPO DE COMPUESTO	EJEMPLOS	ESTRUCTURA (Ver tabla 1)
Barbituricos y compuestos relacionados	<ul style="list-style-type: none"> • Fenobarbital • Mefobarbital • Metabarbital • Primidona 	<p>(3)</p> <p>(11)</p> <p>(12)</p> <p>(4)</p>
Hidantoínas	<ul style="list-style-type: none"> • Fenilhidantoína² • Etotoína 	<p>(2)</p> <p>(13)</p>
Succinamidas	<ul style="list-style-type: none"> • Etosuximida • Metsuximida • Fensuximida 	<p>(9)</p> <p>(14)</p> <p>(15)</p>
Oxazolidindionas	<ul style="list-style-type: none"> • Trimetadiona • Parametadiona 	<p>(16)</p> <p>(17)</p>
Benzodiazepinas	<ul style="list-style-type: none"> • Clonazepam • Diazepam • Clorazepato 	<p>(8)</p> <p>(11)</p> <p>(18)</p>
Anticonvulsivos Misceláneos	<ul style="list-style-type: none"> • Carbamazepina • Ácido valproico • Divaloprex sódico • Fenacemida • Acetazolamida 	<p>(1)</p> <p>(19)</p> <p>*</p> <p>(20)</p> <p>(21)</p>

² La fenilhidantoína también es conocida como difenilhidantoína

* El divaloprex sódico es una mezcla de ácido valproico y valproato de sodio

2.4.2. Mecanismo de Acción.

En principio, se puede suprimir una crisis epiléptica mediante la depresión de la actividad neuronal en el foco de iniciación o mediante el bloqueo de los mecanismos de propagación. Esto se puede conseguir mediante: a) alteración directa de la reactividad de la neurona frente a estímulos, por interacción del fármaco con componentes de su membrana o del citoplasma; b) modificaciones del ambiente iónico; c) facilitación de la actividad de sistemas neuronales inhibidores, entre los que destaca el sistema GABA, y d) inhibición de la actividad de sistemas excitadores, tipo glutamato (Flórez y Armijo, 1992).

Aunque todavía no es posible efectuar una clasificación rigurosa de los fármacos antiepilépticos de acuerdo con su mecanismo de acción, existen al menos tres mecanismos celulares que pueden verse gravemente afectados por dichos compuestos, alterando de este modo las propiedades de las neuronas y su comportamiento en la génesis y la propagación de una crisis (Okpako, 1971; Laidlaw *et al.*, 1988; Flórez y Armijo, 1992, Meldrum, 1996; Norhito *et al.*, 1996).

a) Bloqueo del mantenimiento de descargas repetitivas de alta frecuencia.

Este tipo de descargas aparecen en respuestas a fenómenos de despolarización y está íntimamente asociada al comportamiento de los canales de Na^+ . Ciertos antiepilépticos bloquean esta respuesta, bloqueo que es voltaje-dependiente, mayor a medida que avanza la descarga de potenciales de acción (uso-dependiente) y lento en recuperarse (tiempo-dependiente). Los fármacos que bloquean este fenómeno bioeléctrico son la fenitoína, la carbamazepina y el valproato sódico a concentraciones terapéuticas, mientras que el fenobarbital, la primidona y las benzodiazepinas lo hacen a concentraciones supratrapéuticas. Se ha propuesto que la acción es consecuencia de la fijación de los fármacos a

algún sitio del canal de Na^+ voltaje-dependiente cuando éste se encuentra en su forma inactiva. De hecho, la fenitoína, la carbamazepina y el fenobarbital son capaces de interferir en la fijación y las acciones de la batracotoxina en el canal; ello no ocurre con el valproato sódico, pero es posible que este fármaco ocupe en el canal un sitio diferente de los demás compuestos (Flórez y Armijo, 1992).

b) Incremento de la actividad inhibitoria, inducida por el sistema GABA.

Esto se puede conseguir a un nivel presináptico por incremento de las síntesis o de la liberación de GABA o por inhibición de su metabolismo o de su recaptura, y a nivel postsináptico por facilitación de la fijación del GABA a su receptor. El valproato sódico, la vigabatrina, la progabida (Ver figura 2), las benzodiazepinas y el fenobarbital, utilizan alguno o algunos de estos mecanismos (Flórez y Armijo, 1992).

c) Alteración de los canales de Ca^{2+} . La fenitoína y los barbitúricos y las benzodiazepinas son capaces de interferir la entrada del Ca^{2+} en las terminaciones sinápticas, y bloquear así la liberación del neurotransmisor, pero sólo consiguen esta acción a concentraciones supratrapéuticas. En cambio la etosuximida y la dimetadiona inhiben la corriente T de Ca^{2+} a concentraciones terapéuticas (Flórez y Armijo, 1992).

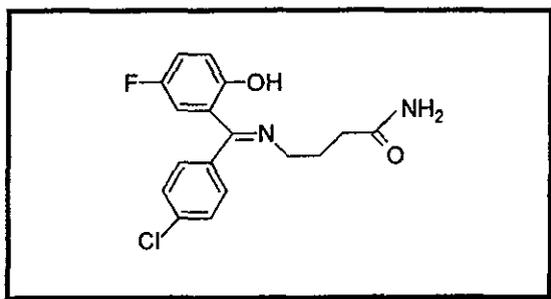


Figura 2. Estructura química de la Progabida.

La información obtenida acerca de los mecanismos de las convulsiones sugiere que el incremento de la inhibición sináptica mediada por el GABA reducirá la excitabilidad neuronal y elevaría el umbral convulsivo. Se supone que diversos fármacos bloquean las convulsiones al regular la inhibición sináptica mediada por GABA a través de una actividad en sitios distintos de la sinápsis. El principal receptor postsináptico del GABA descargado a nivel de las sinápsis se denomina receptor GABA_A. La activación de éste; inhibe a la célula postsináptica, al incrementar el flujo de iones de Cl⁻ hacia el interior de la célula, lo cual tiende a hiperpolarizar a la neurona. El γ -vinil-GABA (Ver figura 3), anticonvulsivo que seguramente quedará a la disposición clínica en Estados Unidos en el futuro próximo, parece ejercer su acción anticonvulsiva al inhibir con carácter irreversible a una enzima que degrada al GABA, llamada GABA transaminasa; esto parece producir cantidades incrementadas de GABA disponibles para la descarga sináptica (Halonen *et al.*, 1991; Reynolds *et al.*, 1991; Meldrum, 1996; Manguiere *et al.*, 1997). Un tercer mecanismo de intensificación de la inhibición sináptica mediada por el GABA parece ser subyacente al mecanismo anticonvulsivo de la gabapentina (6); en algunas condiciones, esta sustancia puede incrementar más del triple la descarga de GABA desde las terminaciones presinápticas (Laidlaw *et al.*, 1988; Sivenius, 1991; Gale, 1992; Albert y Knoefel, 1994; McNamara, 1996; Meldrum, 1996; Walker y Patsalos, 1996).

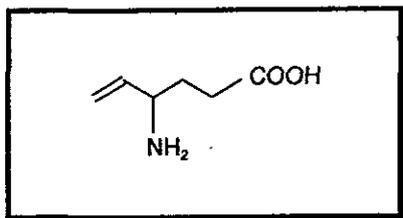


Figura 3. Estructura química de la γ -vinil-GABA

2.4.3. Fármacos o compuestos excluidos del cerebro.

La primera propiedad que rige la penetración en el cerebro a partir de la circulación es el peso molecular. Las sustancias de alto peso molecular no pasarán fácilmente de la sangre al cerebro. Existen dos factores fisicoquímicos que tienen importancia para permitir la penetración de un fármaco en el SNC. En primer lugar, para compuestos que en su mayor parte no están ionizados al pH plasmático (pKa 7.4 o mayor) parece ser una determinante importante la solubilidad de fármacos en lípidos. La liposolubilidad suele expresarse como el cociente de reparto entre grasa y agua. Un agente más liposoluble tiene un coeficiente de reparto grasa-agua mayor y puede penetrar más fácilmente a través de membranas lipídicas como las existentes en el SNC. El otro factor importante parece ser la proporción de fármaco no ionizado. Sin embargo, estas dos propiedades no pueden separarse completamente, pues los fármacos no ionizados suelen ser más liposolubles que los fármacos ionizados. Un tercer factor es la fijación a proteínas la cual debe ser baja (Craig y Stitzel, 1984).

Para que una sustancia cruce la barrera penetrando en el líquido extracelular del cerebro, la única vía disponible que no sea transporte activo, sería por paso directo a través de la membrana lipídica de la pared capilar. Por lo tanto, se favorece la difusión de un compuesto no ionizado liposoluble (Krogsgaarde-Larsen *et al.*, 1984).

2.5. Ácido γ -aminobutírico (GABA).

El ácido γ -aminobutírico (Ver figura 4) fue sintetizado en 1883 y se conoció durante muchos años como un producto del metabolismo de las bacterias y de las plantas. (Cooper *et al.*, 1977). El GABA se identificó como constituyente químico único del cerebro en 1950, pero no se reconoció de inmediato su potencia como depresor del SNC. En 1963 se demostró que el GABA era el único aminoácido inhibidor que se

encontraba exclusivamente en los nervios inhibidores del langostino y que la potencia inhibidora de los extractos de estos medios se debía a su contenido de GABA. La descarga de GABA se correlacionó a continuación, con la frecuencia de la estimulación nerviosa. Los registros intracelulares del músculo indicaron que la estimulación del nervio inhibitor y la administración de GABA producían incrementos idénticos de la conductancia del Cl⁻ en el músculo (Bloom, 1996).

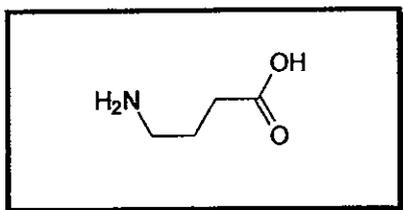


Figura 4. Estructura química del ácido γ -aminobutírico (GABA).

Se cuenta con gran número de datos a favor de que el GABA media las acciones inhibitoras de las interneuronas locales en el cerebro, y que puede mediar también la inhibición presináptica dentro de la médula espinal. Se han demostrado sinápsis inhibitoras GABAérgicas presinápticas con mayor claridad entre las neuronas cerebelosas de Purkinje y sus blancos en el núcleo de Deiter; también entre las interneuronas pequeñas y las células mayores emisoras de impulsos de la corteza cerebelosa, el bulbo olfatorio, el núcleo cuneiforme, el hipocampo y el núcleo septal lateral; por último, entre el núcleo vestibular y las motoneuronas trocleares. El GABA media también la inhibición dentro de la corteza cerebral y entre el núcleo caudado y la sustancia nigra (Olsen y Avoli, 1997).

El ácido γ -aminobutírico es reconocido como el principal neurotransmisor inhibitorio en el Sistema Nervioso Central (SNC) en los mamíferos. Se ha estimado que aproximadamente el 40 % de las sinápsis en el SNC son GABAérgicas. La atenuación de la neurotransmisión GABAérgica se ha postulado que está involucrada en la patofisiología de los desórdenes severos en el SNC de los seres humanos, como el dolor y la epilepsia (Andersen *et al.*, 1993).

La farmacología de la neurotransmisión GABAérgica es de gran importancia puesto que algunos ansiolíticos, hipnóticos, anticonvulsivos, anestésicos, relajantes musculares, etc., producen su efecto modificando la neurotransmisión GABAérgica (Krogsgaard-Larsen *et al.*, 1984).

2.5.1. Metabolismo de GABA.

El GABA se sintetiza por descarboxilación del ácido glutámico mediante una *enzima citoplásmica muy específica y característica de las neuronas GABAérgicas, la glutamato descarboxilasa (GAD)*. El GABA se almacena en pozas en las terminaciones presinápticas y se libera mediante un proceso dependiente del Ca^{2+} . Tras la interacción con sus receptores, el GABA liberado es recapturado tanto por las terminaciones nerviosas como por células gliales mediante sistemas de transporte de alta afinidad dependientes de Na^+ y otros sistemas de baja afinidad. (Krogsgaard-Larsen, 1981; Laidlaw *et al.*, 1988; Flórez, 1992, Strange, 1995).

El GABA es metabolizado (Ver figura 5) por la enzima mitocondrial GABA-transaminasa o GABA-T que origina semialdehído succínico y regenera el glutámico a partir de ácido α -cetoglutámico; el semialdehído succínico es rápidamente oxidado a ácido succínico por la enzima mitocondrial semialdehído succínico deshidrogenasa (SSADH) que entra en el ciclo de Krebs y se vuelve a formar α -cetoglutámico, o se convierte en ácido γ -hidroxibutírico. La presencia de GAD constituye un importante marcador para identificar a las neuronas GABA (Laidlaw *et al.*, 1988; Flórez, 1992, Strange, 1995).

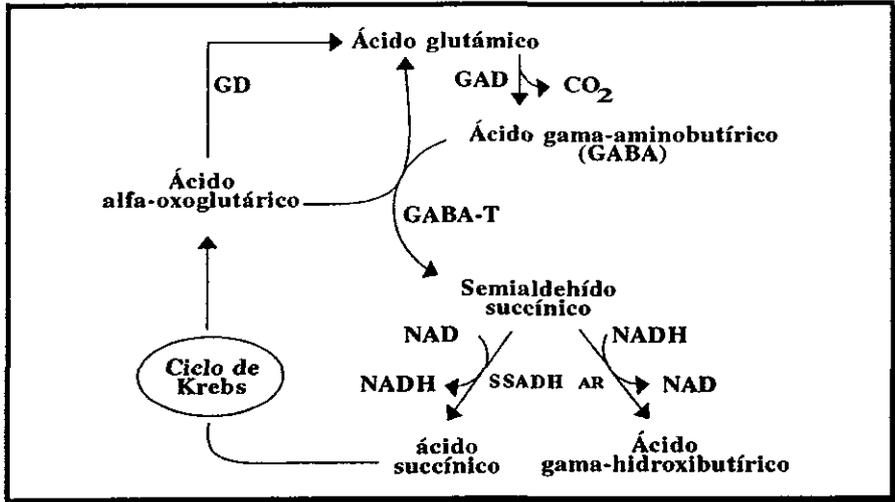


Figura 5. Metabolismo del GABA.

2.5.2. Receptores del GABA.

Se han identificado dos tipos principales de receptores para el GABA, el receptor GABA_A acoplado a un canal iónico de Cl⁻ y forma parte de un magno complejo que permite la acción alostérica de numerosos fármacos, mientras que el GABA_B está asociado a proteínas G reguladoras de los canales de Ca²⁺ y K⁺. Desafortunadamente los receptores GABA_B están menos caracterizados que los receptores GABA_A, pero lo que si se sabe es que los perfiles farmacológicos de los receptores GABA son completamente diferentes. Lo que tentativamente se supone del GABA_B, es que puede estar relacionado con el control del tono muscular y con el arco reflejo. El receptor GABA_A es una proteína heterooligomérica compuesta por cuatro subunidades polipépticas: α, β, γ y δ, cuyo peso molecular oscila entre 50 y 60 kd. Existen numerosos subtipos de cada subunidad, habiéndose clonado hasta ahora seis subtipos de la α, tres de la β, dos de la γ y uno de la δ. Todas las subunidades se ensamblan en conjunto alrededor de un poro iónico central y no pueden ser parte de un solo complejo receptor GABA_A (Ver tabla 2) (Burnham, 1989; Range y Dale, 1992; Flórez, 1992; Smith y Reynard, 1993; Valeyev *et al.*, 1993; Bloom, 1996; Olsen y Avoli, 1997).

Tabla 2. Características de los receptores GABA³.

Receptor	GABA _A	GABA _B	GABA _C
Agonistas	GABA	GABA	GABA
Agonistas selectivos	Muscimol	L-Baclofen	ácido cis-aminocrotónico
Antagonistas moduladores	Bicuculina	Saclofen	-
Transducción	Canales de Cl ⁻	Modificación del AMPC _c e indirectamente aumento de la permeabilidad a K ⁺ y disminución de Ca ²⁺ .	
Funciones	Inhibiciones en todo el SNC.	Inhibiciones en el SNC, muchas de ellas presinápticas.	-

³ Flórez, 1992; Krosgaard-Larsen *et al.*, 1994

Recientemente se ha propuesto, por exclusión, un tercer tipo de receptor denominado GABA_C, al cual no se fijan los antagonistas del GABA_A (bicuculina) ni los agonistas selectivos del GABA_B (baclofen), su agonista selectivo es el ácido cis-aminocrotónico (ACAC). Las inhibiciones mediadas por GABA que han sido bien caracterizadas utilizan receptores GABA_A, y, sólo más recientemente, se describen algunas mediadas por GABA_C. Muchas de las inhibiciones se ejercen presinápticamente impidiendo la liberación de otros neurotransmisores, pero también parecen existir inhibiciones postsinápticas mediadas por receptores GABA_B. La distribución de los receptores GABA_A y GABA_B en el SNC es bastante coincidente, aunque en la mayor parte de las regiones cerebrales predomina el GABA_A. Son extraordinariamente abundantes en la corteza cerebral, en particular en las capas granular y molecular. Están ampliamente representados en el tálamo, el hipocampo, la corteza cerebral, los núcleos de la base, los núcleos del tronco y la médula espinal en sus diversas capas (Burnham, 1989; Range y Dale, 1992; Flórez, 1992; Smith y Reynard, 1993; Valeyev *et al.*, 1993; Bloom, 1996; Olsen y Avoli, 1997).

2.6. Modelos Experimentales de Epilepsia

La limitación natural que existe al intentar estudiar la epilepsia en seres humanos, mediante técnicas invasivas o ensayos farmacológicos, han creado la necesidad de buscar modelos experimentales de epilepsia que asemejen a la epilepsia humana (Feria *et al.*, 1986).

Para desarrollar un modelo experimental, generalmente se eligen mamíferos que presentan manifestaciones eléctricas y conductuales similares a las de la epilepsia humana. Los modelos experimentales de epilepsia (MEE) se pueden clasificar al considerar tres criterios principales: a) el procedimiento de inducción, b) los mecanismos neuronales implicados en su producción y c) las manifestaciones conductuales (Feria *et al.*, 1986).

Los MEE pueden clasificarse como inducidos por agentes físicos o por agentes químicos. En la primera categoría, los agentes físicos pueden afectar receptores sensoriales (como en la epilepsia refleja) o afectar directamente áreas encefálicas (como el electrochoque). A su vez, la categoría de MEE inducidos por agentes químicos incluyen a los provocados por la aplicación tópica (penicilina, crema de alúmina, etc.) o por la administración intraventricular (potasio, ouabaína, etc.) o sistémica (pentilentetrazol, bicuculina, etc.) o bien a los inducidos por supresión de la administración de un agente químico (barbitúricos, etanol, etc.) o por carencia metabólica de otros (piridoxina, calcio, etc.) (Feria *et al.*, 1986).

En la actualidad el estudio controlado y sistematizado de los MEE ha tenido tres aplicaciones fundamentales:

- a) En el ensayo de fármacos anticonvulsionantes que pudieran tener una aplicación efectiva en la terapéutica de la epilepsia en los seres humanos.
- b) En el estudio de los mecanismos neuronales básicos implicados en la generación y autosupresión de las crisis epilépticas.
- c) En el estudio de los mecanismos neuronales que en condiciones normales se relacionan con la regulación de la excitabilidad en el SNC y de la actividad motora (Feria *et al.*, 1986).

La administración de sustancias convulsionantes por vía sistémica es un procedimiento frecuentemente empleado en los estudios experimentales de epilepsia (Feria *et al.*, 1986).

El proceso que se sigue para producir las crisis convulsivas en estos modelos, consiste en administrar el agente convulsivo por vía intraperitoneal, intravenosa o subcutánea a una dosis convulsionante máxima o a una dosis efectiva media, según sea el objetivo del estudio (Feria *et al.*, 1986).

La administración de la sustancia convulsionante por vía sistémica permite su distribución homogénea en la red de capilares sanguíneos cerebrales, por lo que su acceso al parénquima cerebral queda condicionado por las características regionales de la permeabilidad capilar al agente químico en estudio (Feria *et al.*, 1986).

En el estudio de nuevos fármacos anticonvulsionantes, es imprescindible el registro y análisis de las manifestaciones electrofisiológicas y conductuales. Dentro de éstas últimas, generalmente se considera la incidencia del efecto convulsivo, la duración de la latencia para el efecto convulsivo, la duración del período convulsivo, el tipo de crisis convulsivas, y la duración frecuente de las mismas (Feria *et al.*, 1986).

2.6.1. Sustancias convulsivas.

Se admite que los fármacos producen estimulación del SNC en dos formas fundamentales. El cerebro incluye ingresos finamente equilibrados excitadores e inhibidores, con neurotransmisores inhibidores y excitadores liberándose continuamente por las neuronas. Está probado que algunos estimulantes actúan antagonizando algunos sistemas inhibidores, mientras que otros lo hacen facilitando la neurotransmisión excitadora. En general, los estimulantes del SNC (también conocidos como analépticos o convulsionantes) no se utilizan mucho en la práctica médica, aunque tienen cierta utilidad clínica. Los estimulantes del SNC no son antagonistas farmacológicamente específicos de los depresores (Taylor, 1990).

Los fármacos de la categoría de estimulantes convulsivos producen convulsiones como efecto farmacológico primario. De ordinario no se observa ninguna otra acción antes de iniciarse la crisis. La distribución, el metabolismo y la eliminación en el hombre no han sido plenamente estudiados. Estos agentes son principalmente de uso experimental, en la actualidad su empleo clínico es muy limitado (Taylor, 1990).

La inducción del proceso epiléptico se puede dar de las siguientes maneras:

1) Por administración sistémica de sustancias convulsionantes

- a) Pentilentetrazol
- b) Estricnina
- c) Bemegríde
- d) Fluorotil
- e) L-glutamato monosódico
- f) Bicuculina
- g) 4-Aminopiridina
- h) α -Sanshool (Navarrete y Hong, 1996)
- i) Disolventes orgánicos
 - Benceno
 - Tolueno
- j) Rojo de rutenio

2) Por aplicación tópica de sustancias irritantes

- a) Penicilina
- b) Crema de alúmina
- c) Cobalto
- d) Picrotoxina
- e) Ácido kaínico

3) Mediante estimulación eléctrica

- a) Electrochoque
- b) Kindling (estimulación eléctrica subliminal)

4) Utilización de cepas mutantes de algunas especies de animales como modelos naturales de epilepsia.

- a) Fotosensibilidad en el babuino papio-papio
- b) Crisis convulsivas en el gerbil
- c) Sensibilidad acústica de ratones (Feria *et al.*, 1986).

2.6.1.1. Mecanismo de acción de los convulsivos.

Desde el punto de vista teórico, la acción de un convulsiónante podrá ejercer a diferentes niveles de la fisiología sináptica, entre las cuales se tienen las siguientes:

1. Reducción de los niveles de neurotransmisión en las terminales sinápticas. Reducir el transmisor en la sinápsis llevaría a inhibir la transmisión sináptica (Feria *et al.*, 1986).
2. Interferencia con los mecanismos de liberación del transmisor. Cualquier situación que condujera a disminuir la liberación del trasmisor produciría un bloqueo de la transmisión nerviosa en esa sinápsis (Feria *et al.*, 1986).
3. Interferencia con los mecanismos de acción del transmisor. Modificar la interacción del transmisor con el receptor postsináptico originaría una decodificación falsa en la neurona postsináptica (Feria *et al.*, 1986).
4. Interferencia con los mecanismos de remoción del transmisor. Tanto aumentar como disminuir la velocidad de inactivación del trasmisor produciría una falsa actividad sináptica (Feria *et al.*, 1986).

2.6.1.2. Pentilentetrazol.

El pentilentetrazol (Ver figura 6) se ha empleado por vía intraperitoneal, subcutánea o intravenosa en diferentes dosis, en animales íntegros o con una lesión epiléptica previa. El pentilentetrazol actúa en todo el SNC, pero es particularmente activo en regiones sensitivo-motoras de la corteza cerebral del mamífero. En 1960, se encontró que el pentilentetrazol era un convulsiónante con un sitio de acción en el nivel de las sinápsis y particularmente en sinápsis excitatorias, en contraste con otras sustancias, como la estrícina que actúa en el nivel de sinápsis inhibitorias.

Recientemente se ha descubierto que el PTZ interactúa con el ionóforo de cloro y con los receptores GABA (Taylor, 1990).

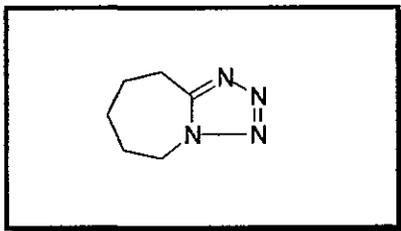


Figura 6. Estructura química del Pentilentetrazol.

Es importante señalar que el pentilentetrazol es una de las sustancias que se utilizan sistemáticamente en la primera fase de la valoración de compuestos con posible efecto anticonvulsionante (Feria *et al.*, 1986).

2.7. Profármacos GABA.

Se conocía que en algunos estados convulsivos se hallaba alterada la biosíntesis del ácido γ -aminobutírico y que la administración de dosis altas del mismo tenía una clara actividad anticonvulsionante. La razón para administrar dosis altas del aminoácido se atribuye a la baja permeabilidad de la barrera hematoencefálica para el GABA (Worms *et al.*, 1981; Laidlaw *et al.*, 1988; Andersen *et al.*, 1993). El análogo cíclico del GABA (la 2-pirrolidona) presenta una actividad anticonvulsionante mayor que la del GABA -aparentemente porque penetra mejor la barrera hematoencefálica- y es hidrolizado *in situ* a ácido γ -aminobutírico (GABA) (Feria *et al.*, 1986).

También se sabe que la principal vía catabólica del GABA es la transaminación con el ácido alfa cetoglutarico y que la inhibición de esta reacción con la hidroxilamina o el ácido aminooxiacético produce un aumento en los niveles del GABA y contrarresta el efecto convulsionante de varios agentes, aunque la máxima acción anticonvulsionante no coincide con el nivel de GABA cerebral más alto (Feria *et al.*, 1986).

Con base en lo anterior, cabe pensar que sería posible obtener un efecto anticonvulsinante si se inhibiera la transaminasa del GABA. En la actualidad se ha planeado la preparación de compuestos análogos del aminoácido con sustituyentes en la posición gamma, que al incapacitar a la transaminasa de la indispensable expulsión de un protón del átomo de carbono vecino al grupo amino evitaría la transaminación. Así, se proyectó sintetizar los compuestos con sustituyentes hidrofóbicos etilo y fenilo en el carbono gamma, para que permitieran la formación de uniones hidrofóbicas y también para disminuir la excesiva polaridad del GABA que limita su penetración a través de la barrera hematoencefálica por libre difusión (Ver figura 7). (Krogsgaard-Larsen *et al.*, 1984; Ali *et al.*, 1985; Feria *et al.*, 1986).

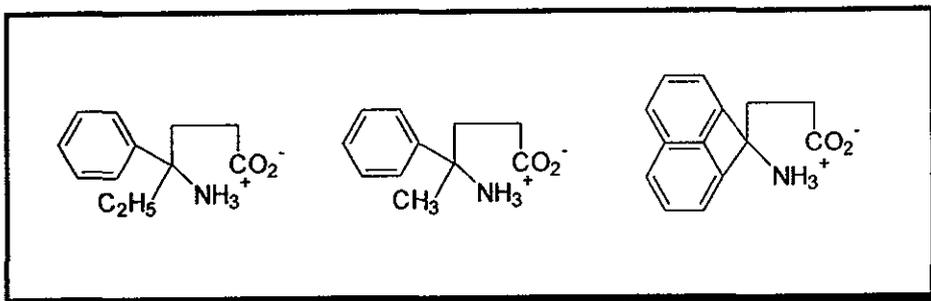


Figura 7. Ácidos γ -aminobutíricos γ -disustituídos.

Dado que los aminoácidos tienen los grupos polares, se pensó disminuir dicha polaridad con la formación de la lactama, considerando que así como se decía que la 2-pirrolidona se hidrolizaba en el encéfalo, lo mismo podría suceder con los análogos cíclicos del GABA ideados (Feria *et al.*, 1986).

Los productos análogos del GABA resultan tener actividad anticonvulsinante y en muchos de los casos, la potencia anticonvulsiva es mucho mayor para los análogos del GABA que para éste mismo, pero en otros casos no resulta ser así (Worms *et al.*,

1981; Krosggaard-Larsen *et al.*, 1984, Feria *et al.*, 1988; Wermuth y Bizière, 1986; Wermuth *et al.*, 1987; Laidlaw *et al.*, 1988; Reynolds *et al.*, 1991; Swinyard *et al.*, 1991; Poter y Rogawski, 1992; Gram, 1996; McNamara, 1996; Meldrum, 1996; Walker y Patsalos, 1996).

La razón principal para que se sinteticen sustancias análogas del GABA, es para aumentar la liposolubilidad de éstos compuestos y que puedan atravesar de ésta manera más fácilmente la barrera hematoencefálica y subsecuentemente sufrir una conversión enzimática dentro del cerebro para descargar el GABA sólo o como un análogo (Worms *et al.*, 1981; Laidlaw *et al.*, 1988).

2.7.1. Sustancias inhibitoras del GABA-T.

La etanolamina-o-sulfato, la vigabatrina y el ácido- γ -acetilen- γ -aminobutírico son inhibidores enzimáticos específicos e irreversibles de la enzima GABA-Transaminasa, y previenen de este modo el agotamiento del GABA en las neuronas y las células glia (Laidlaw *et al.*, 1988).

La concentración de GABA en el cerebro se aumenta después de la administración de estos compuestos a animales de experimentación, ya que se piensa que las pozas del GABA están incrementadas y se encuentra disponible para las descargas sinápticas de las terminales nerviosas. Los estudios realizados acerca de esto condujo a los investigadores a la Vigabatrina, a la que se le ha demostrado actividad como un anticonvulsionante en modelos animales de epilepsia. Los estudios realizados utilizando éste fármaco en pacientes con epilepsia, tienen confirmada su actividad antiepiléptica y se tiene demostrado que es bien tolerado (Lohr y Wisniewskui, 1987; Laidlaw *et al.*, 1988; Halonen *et al.*, 1991; Gram, 1996; Meldrum, 1996; Mauguire *et al.*, 1997).

2.7.2. Inhibidores de la captura del GABA.

El ácido 4, 5, 6, 7-tetrahidroisoxazolo (4,5-c)piridin-3-ol nipecótico (THPO) (Ver figura 8) inhibe la recaptura presináptica del GABA. Los compuestos que inhiben este recapturamiento, resaltan el efecto inhibitor del GABA. Aquellas sustancias que son inhibidoras selectivas de la recaptura en la célula glia, tienen acción anticonvulsionante. Muchos de éstos compuestos no cruzan la barrera hematoencefálica sin embargo, se ha comprobado que si tienen actividad anticonvulsionante. Ninguno de los inhibidores de la recaptura del GABA, son suficientemente prometedores hasta ahora para ser probados en pacientes (Ali *et al.*, 1985; Laidlaw *et al.*, 1988).

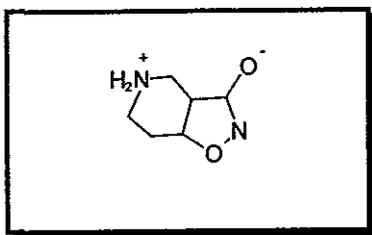


Figura 8. Estructura molecular del ácido 4, 5, 6, 7-tetrahidroisoxazolo (4,5-c)piridin-3-ol nipecótico (THPO)

2.7.3. Nuevo fármaco anticonvulsivo.

2.7.3.1. Gabapentina.

La gabapentina es un nuevo medicamento aprobado por la Food and Drug Administration de los Estados Unidos de Norteamérica para el tratamiento de las convulsiones parciales. La estructura química de la gabapentina (6) consiste en una molécula de GABA ligada de manera covalente a un anillo ciclohexano lipófilo. La

gabapentina se diseñó para actuar como agonista del GABA de actividad central, y su alta solubilidad en lípidos tiene como finalidad facilitar su transferencia a través de la barrera hematoencefálica (McNamara, 1996).

La gabapentina GBP es efectivo contra las convulsiones producidas por el pentilentetrazol e inhibe la extensión tónica de los cuartos traseros en el modelo de convulsiones por electrochoque (Willmore, 1996). A pesar de su diseño como agonista GABA , la gabapentina no imita la acción de éste último cuando se aplica por medios iontoforéticos a neuronas en cultivo primario. La gabapentina parece actuar por un mecanismo nuevo; incrementa la descarga promovida de GABA mediante un proceso no identificado. No se ha observado que reduzca de manera sostenida la activación repetitiva sostenida de los potenciales de acción, ni que afecte en grado importante a la corriente del canal del Ca^{2+} . Se absorbe bien por vía oral y no se metaboliza en el ser humano. Se excreta sin cambios principalmente por la orina. Su vida media, cuando se utiliza a manera de monoterapia, es de cinco a nueve horas (Willmore, 1992; Albert y Knoefer, 1994; Gram, 1996; McNamara, 1996; Meldrum, 1996).

III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

No todos los ataques o estados convulsivos indican la presencia del síndrome conocido como epilepsia. Pueden presentarse ataques como manifestación crónica de estimulantes del SNC y otras drogas, y a veces se observan en casos de eclampsia, uremia, hipoglucemia, deficiencia de piridoxina y como parte del síndrome de abstinencia de individuos físicamente dependiente de depresores del SNC (Sutherland y Eadie, 1982; Olsen Y Avoil, 1997). Sin embargo, con mucho, el número mayor de trastornos convulsivos se agrupan bajo el nombre de epilepsia, o más correctamente, epilepsias, pues se conocen entidades clínicas netamente diferentes (Craig y Stitzel, 1988).

Las epilepsias son trastornos frecuentes y a menudo devastadores, que afectan del 0.5 al 1% de la población general en México. Su incidencia es máxima en edades tempranas, se estabiliza en la edad adulta y vuelve a aumentar en las últimas décadas de la vida (Velasco *et al.* 1993).

El ácido γ -aminobutírico (GABA) está reconocido como el principal neurotransmisor inhibitorio en el SNC de los mamíferos. Se ha estimado que aproximadamente el 40 % de las sinápsis en el SNC son GABAérgicas. Se ha postulado que la atenuación de la transmisión GABAérgica está involucrada en la patofisiología de severos desordenes en el SNC de los seres humanos como ansiedad, dolor y epilepsia (Andersen *et al.* 1992).

Se sabe que el GABA administrado en grandes cantidades, actúa como anticonvulsionante. Debido a que el GABA no cruza la barrera hematoencefálica, es necesario contar con compuestos que tengan grupos funcionales que le confieran mayor liposolubilidad a las sustancias, como es el caso de los profármacos GABA. Éstas sustancias obtienen una mayor liposolubilidad que facilita su penetración y subsecuentemente al sufrir una conversión enzimática dentro del cerebro que

descargan al GABA sólo o como un análogo (Gale, 1992; Andersen *et al.*, 1993; Olsen y Avoli, 1997).

Existen varios factores que determinan la liposolubilidad de una sustancia para que puedan penetrar con facilidad la barrera hematoencefálica como son:

- Liposolubilidad
- Cantidad de fármaco no ionizado a pH fisiológico.
- Grado bajo de fijación proteica (Craig y Stitzel, 1984).

Las amidas N-GABA-3-(R-fenil)-2-(E)-propenamidas son derivados del GABA, en los cuales se ha aumentado considerablemente su liposolubilidad. Es de esperar que éstos compuestos pasen la barrera hematoencefálica con mayor facilidad que el GABA y que una vez dentro del SNC, se hidrolicen liberando el GABA, por tal motivo se espera que presenten actividad anticonvulsivante; si esto se cumple se contará con nuevos agentes anticonvulsivantes que serán auxiliares en el tratamiento de trastornos convulsivos y mejorarán la calidad de vida de las aproximadamente 50 000 000 personas en el mundo que padecen de epilepsia.

OBJETIVOS

IV. OBJETIVOS

4.1 GENERAL

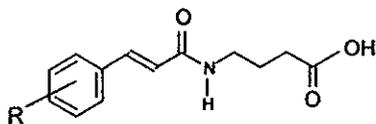
Valorar la actividad anticonvulsionante de N-GABA-3-(R-fenil)-2-(E)-propenamidas en ratón albino, utilizando el modelo de epilepsia inducida con pentilentetrazol.

4.2 PARTICULARES

Realizar la producción de animales con las características de edad, sexo y peso requeridas para el estudio.

Determinar la solubilidad de las sustancias para su administración intraperitoneal.

Valorar la actividad anticonvulsionante de las amidas con la estructura general:



N-GABA-3-(R-Fenil)-2-(E)-propenamidas.

Específicamente se valorarán las amidas siguientes:

Clave	Nombre	Sustituyente (R-)
GA-1	N-GABA-3-fenil-2-(E)-propenamida	H-
GA-10	N-GABA-3-(2,4-Dimetoxi fenil)-2-(E)-propenamida	2,4-diMeO-
GA-8	N-GABA-3-(3,4-Dimetoxi fenil)-2-(E)-propenamida	3,4-diMeO
GA-9	N-GABA-3-(3,5-Dimetoxi fenil)-2-(E)-propenamida	3,5-diMeO-
GA-5	N-GABA-3-(3-cloro fenil)-2-(E)-propenamida	m-Cl-
GA-6	N-GABA-3-(3-nitro fenil)-2-(E)-propenamida	m-NO ₂ -
GA-3	N-GABA-3-(3-metoxi fenil)-2-(E)-propenamida	m-MeO-
GA-4	N-GABA-3-(4-cloro fenil)-2-(E)-propenamida	p-Cl-
GA-7	N-GABA-3-(4-nitro fenil)-2-(E)-propenamida	p-NO ₂ -
GA-2	N-GABA-3-(4-metoxi fenil)-2-(E)-propenamida	p-MeO-

HIPÓTESIS

V. HIPÓTESIS.

Existe suficiente evidencia que sugiere que la disminución del GABA puede causar ataques y estar implicado en algunos tipos de epilepsia. Se ha comprobado que el aumento en los niveles de GABA reduce o elimina la susceptibilidad a sufrir ataques. Pero debido a que el ácido γ -aminobutírico no cruza la barrera hematoencefálica por su baja liposolubilidad, no es posible administrar el GABA como tal a los pacientes que sufren de algún tipo de convulsión, por tal motivo, varios compuestos tienen que ser sintetizados como profármacos del GABA para aumentar su liposolubilidad y tener así una actividad farmacológica al inhibir las convulsiones (Olsen y Avoli, 1997).

Por ello se espera que las N-GABA-3-(R-fenil)-2-(E)-propenamidas a valorar con mayor liposolubilidad que el GABA presenten actividad anticonvulsionante.

MATERIAL Y MÉTODOS

VI. MATERIAL Y MÉTODOS

6.1. Material.

6.1.1. Material de laboratorio.

- Pipeta graduada 1, 5, 10 mL
- Pipeta volumétrica 1, 2 mL
- Vaso de precipitados 100 mL
- Probeta graduada 50 mL
- Matraz aforado 10 mL
- Pipeta Pasteur
- Jeringas (1 mL)
- Frascos viales
- Papel glassín
- Placa de toque
- Espátula
- Agitador con gendarme

6.1.2. Material biológico.

- Ratón albino macho de 20-25 g de peso.

6.1.3. Equipo.

- Balanza analítica Sauter 123.
- Balanza para pesar animales Irosa 4066.
- Sonificador Branson 1210.
- Cronómetro

6.1.4. Reactivos.

- Dimetilsulfóxido reactivo analítico (Baker).
- Pentilentetrazol [54-95-5] (Sigma)
- Cloruro de sodio grado técnico
- Metanol grado técnico
- Tween 80 grado reactivo (Sigma).
- Bicarbonato de sodio reactivo analítico (Baker).

- Amidas siguientes:

Clave	Nombre
GA-1	N-GABA-3-fenil-2-(E)-propenamida
GA-10	N-GABA-3-(2,4-Dimetoxi fenil)-2-(E)-propenamida
GA-8	N-GABA-3-(3,4-Dimetoxi fenil)-2-(E)-propenamida
GA-9	N-GABA-3-(3,5-Dimetoxi fenil)-2-(E)-propenamida
GA-5	N-GABA-3-(3-cloro fenil)-2-(E)-propenamida
GA-6	N-GABA-3-(3-nitro fenil)-2-(E)-propenamida
GA-3	N-GABA-3-(3-metoxi fenil)-2-(E)-propenamida
GA-4	N-GABA-3-(4-cloro fenil)-2-(E)-propenamida
GA-7	N-GABA-3-(4-nitro fenil)-2-(E)-propenamida
GA-2	N-GABA-3-(4-metoxi fenil)-2-(E)-propenamida

6.2. Metodología

6.2.1. Producción de animales.

Para la producción de los animales que se necesitaron para este trabajo, se colocaron en cruce un 1 macho por cada 2 hembras de la cepa CD1 durante 8 días y cumplidos éstos se separaron los machos de las hembras a las cuales se les colocó individualmente en cajas de acrílico con tapa de acero. A partir del primer día en que se colocaron en cruce, se contaron 21 días para tener la fecha de nacimiento de las crías. Una vez nacidas las crías se contaron nuevamente 21 días, fecha a la cual se destetaron los animales separando hembras de machos. Una vez que cumplieron los dos meses de edad con un peso aproximado de 20 a 25 g, se utilizaron para los experimentos.

6.2.2. Pruebas de solubilidad.

En una placa de toque se colocó una pequeña cantidad de la sustancia a analizar con la punta de una microespátula y se le adicionó 0.1 mL aproximadamente de uno de los disolventes a probar (MeOH, NaHCO₃ al 1%, NaHCO₃ al 2% y DMSO), repitiendo esta operación para todas las sustancias.

6.2.3. Preparación de soluciones de prueba.

Se pesaron 90 mg de la sustancia a valorar y se adicionaron 0.5 mL de DMSO y 2.5 mL de solución salina para tener una concentración de 30 mg/mL. Se disolvió en el sonicador. Se tomó una alícuota de 0.5 mL y se aforó a 5 mL con solución salina, para tener una concentración de 3 mg/mL. De aquí se tomó una alícuota de 0.5 mL y se aforaron a 5 mL con solución salina para obtener una concentración de 0.3 mg/mL.

Se administraron 0.1 mL por cada 10 g de peso, para tener dosis equivalentes a 3, 30 y 300 mg/kg.

6.2.4. Solución salina.

Se pesaron 9 g de NaCl y se aforaron en 1L de agua destilada.

6.2.5. Pentilentetrazol.

Se pesaron 80 mg de PTZ y se aforaron a 10 mL con solución salina al 0.9 %

6.2.6. Medición de la actividad farmacológica.

Se seleccionaron ratones macho de 2 meses de edad aproximadamente, que pesaran entre 20-25 g. Se organizó a los animales en tres grupos de 6 ratones cada uno y dos ratones para control en cada experimento. 24 h antes de cada experimento se les retiró el alimento y se les permitió el acceso libre al agua. Las sustancias de prueba se administraron en un volumen de 0.1 mL/10 g de peso. Los animales controles recibieron el vehículo en el mismo volumen. 30 min. después de la administración de los tratamientos se administró por vía intraperitoneal, a todos los animales, una dosis de 80 mg/kg de peso de pentilentetrazol. Se midió el periodo de latencia de la aparición de las convulsiones tónico-clónicas y se registró el número y la intensidad de éstas.

RESULTADOS

VII. RESULTADOS

7.1. Producción de animales.

Se obtuvieron un total de 268 ratones macho de las 3 producciones realizadas durante el desarrollo de esta Tesis, de los cuales se utilizaron 245 y los demás fueron utilizados como pie de cría.

7.2. Pruebas de solubilidad.

Las pruebas de solubilidad realizadas se presentan en la tabla 3.

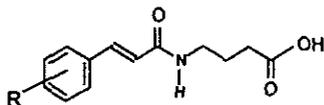


Tabla 3. Solubilidad de las GABA amidas ante 4 diferentes disolventes.

(R-)	H-	p-MeO-	m-MeO-	p-Cl-	m-Cl-	m-NO ₂ -	p-NO ₂ -	3,4-diMeO-	3,5-diMeO-	2,4-diMeO-
Disolvente										
NaHCO ₃ 1%	++	+	+	-	+	+	++	-	+++	*
NaHCO ₃ 2%	+	-	-	-	-	+	+	-	+++	*
MeOH	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++	*
DMSO	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++	*

- Insoluble

+ Poco soluble

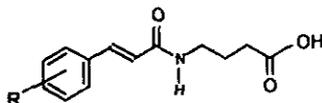
++ Soluble

+++ Fácilmente soluble

* No se realizó la solubilidad de éste compuesto por falta de materia prima.

7.3. Valoración farmacológica

La valoración farmacológica realizada a los fármacos derivados del GABA como agentes anticonvulsinantes, es presentada en las tablas 4, 5 y 6 ; en donde se muestra el periodo de latencia en segundos, animales convulsionados, las muertes y la sobrevivencia en porciento para cada una de las GABA amidas estudiadas.



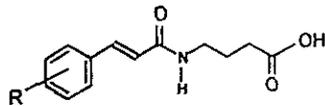
Sustancia (R-)	Periodo de latencia ^{4,5}	% de ratones que presentaron convulsiones	% Muertes ⁶	% Sobrevivencia
Control	122.61 ± 19.12	100	100	0
H-	63.62 ± 8.33	100	100	0
P-Me-O	145.74 ± 30.72	100	16	84
m-MeO-	186.27 ± 55.86	100	100	0
p-Cl-	119.43 ± 20.67	83.3	33.33	66.67
m-Cl-	191.7 ± 46.31	100	50	50
m-NO ₂	130.39 ± 15.98	83.3	16.66	83.34
P-NO ₂	181.14 ± 24.41	60	60	40
3,4-diMeO-	241.69 ± 140.5	66.66	33.33	66.67
3,5-diMeO	98.15 ± 22.24	100	83.3	16.7
2,4-diMeO	103 ± 18.02	100	83.3	16.7

Tabla 4. Resultados de la actividad farmacológica de las GABA amidas a la dosis de 3 mg/kg de peso, en donde también se muestra el porciento de animales que convulsionaron, el % de muertes existentes y el % de sobrevivientes.

⁴ El periodo de latencia está dado en segundos.

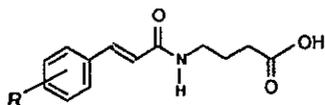
⁵ Media ± error estándar de la media.

⁶ El % de muertes se registró durante las 24 h siguientes al experimento.



Sustancia (R-)	Período de latencia	% de ratones que presentaron convulsiones	% Muerte	% Supervivencia
Control	122.61 ± 19.12	100	100	0
H-	67.13 ± 7.97	100	66.66	33.34
P-Me-O	101.51 ± 15.17	100	33.33	66.67
m-MeO-	405.97 ± 162.07	83.3	50	50
p-Cl-	94.89 ± 15.53	100	33.33	66.67
m-Cl-	86.01 ± 17.49	100	83.3	16.7
m-NO ₂	96.81 ± 12.28	100	50	50
P-NO ₂	461.87 ± 145.83	100	33	67
3,4-diMeO-	244.8 ± 94.79	83.3	16.6	83.4
3,5-diMeO	92.53 ± 11.76	100	66.66	63.34
2,4-diMeO	101.4 ± 15.75	83.3	83.3	16.7

Tabla 5. Resultados de la actividad farmacológica de las GABA amidas a la dosis de 30 mg/kg de peso, en donde también se muestra el porcentaje de animales que convulsionaron, el % de muertes existentes y el % de sobrevivientes.



Sustancia (R-)	Periodo de latencia	% de ratones que presentaron convulsiones	% Muerte	% Supervivencia
Control	122.61 ± 19.12	100	100	0
H-	109.84 ± 12.22	100	100	0
P-Me-O	703 ± 61.63	66.66	33.33	66.67
m-MeO-	109.42 ± 16.37	100	83.3	16.7
p-Cl-	239.43 ± 73.84	80	40	60
m-Cl-	158.49 ± 52.3	100	60	40
m-NO ₂	408.57 ± 105.42	100	50	50
P-NO ₂	212.53 ± 40.31	100	50	50
3,4-diMeO-	403.7 ± 138.07	83.3	33.33	66.67
3,5-diMeO	138.95 ± 36.04	100	50	50
2,4-diMeO	177 ± 28.56	83.3	66.66	33.34

Tabla 6. Resultados de la actividad farmacológica de las GABA amidas a la dosis de 300 mg/kg de peso, en donde también se muestra el porcentaje de animales que convulsionaron, el % de muertes existentes y el % de sobrevivientes.

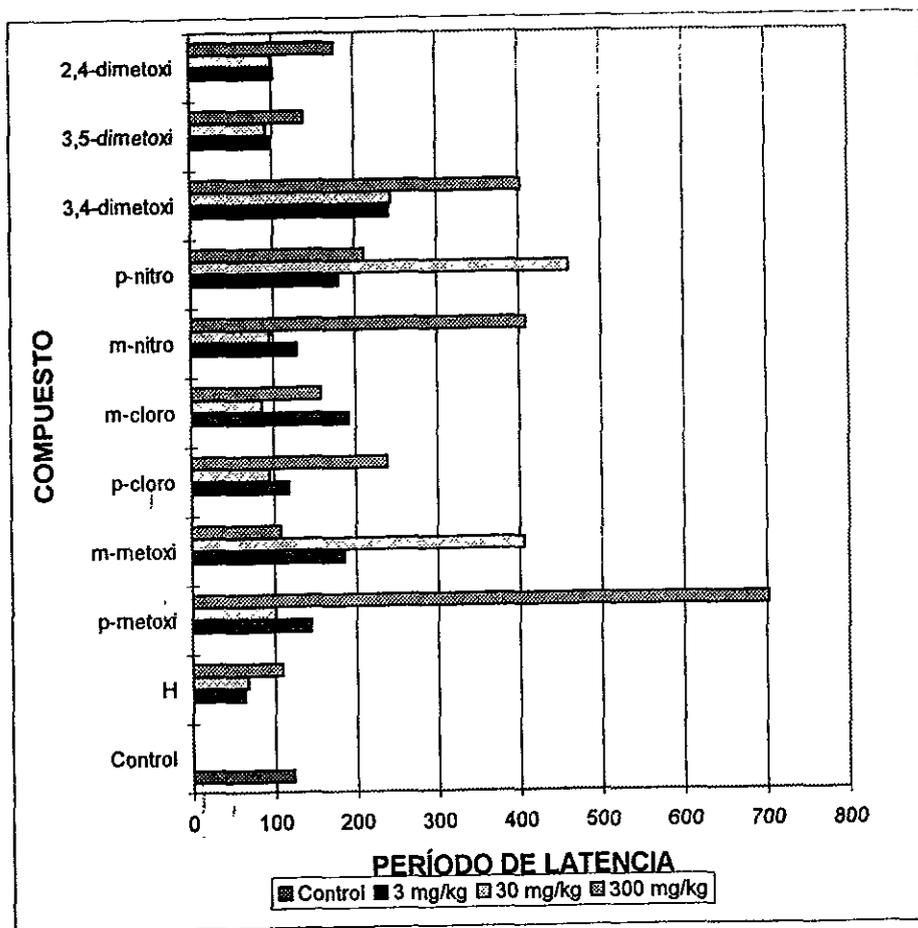
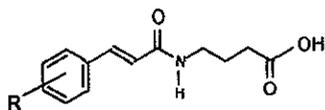


Figura 9. Período de latencia de todas las GABA amidas a una dosis de 3, 30 y 300 mg/kg.

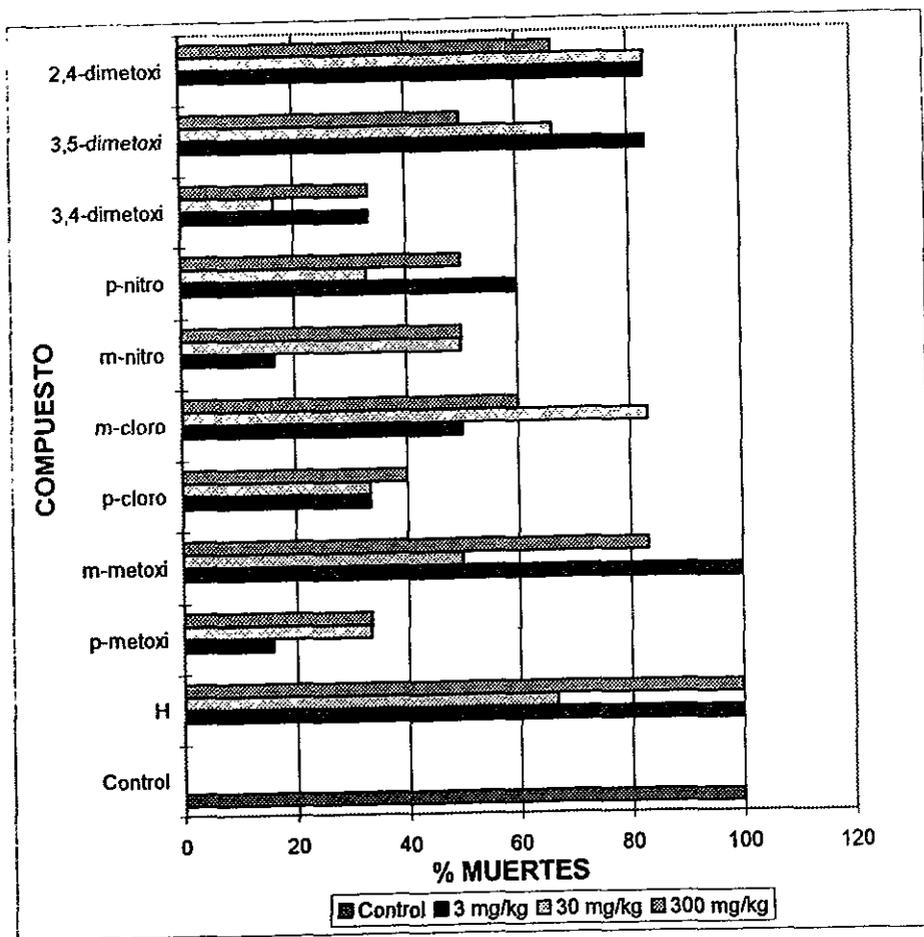
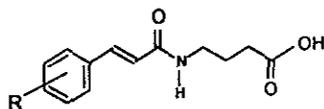


Figura 10. Porcentaje de muertes para todas las GABA amidas. Se destaca el 100 % de muertes existentes para el control.

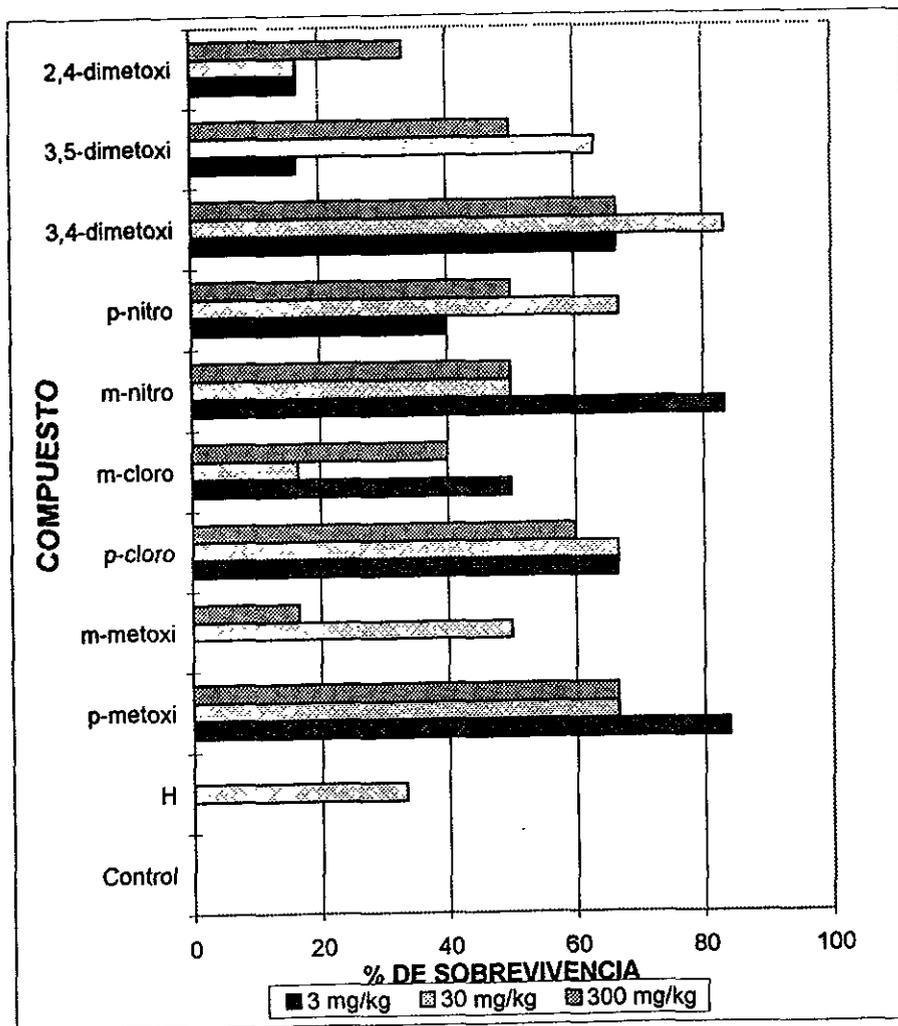
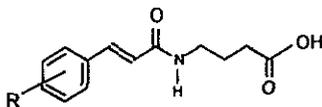


Figura 11. Porcentaje de sobrevivencia para las GABA amidas con respecto al PTZ, en donde se observa un aumento en la sobrevivencia de casi todos los compuestos a todas las dosis.

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

VIII. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

8.1. Producción de animales.

Todos los animales obtenidos en las producciones realizadas, se encontraron bajo las especificaciones así requeridas en ésta Tesis, excepto en algunos casos el desarrollo de los animales fue muy rápido y antes de que tuvieran la edad suficiente para su experimentación ya tenían el peso adecuado para ello.

8.2. Pruebas de solubilidad.

De las pruebas de solubilidad realizadas a las sustancias se encontró que todas son solubles en MeOH y DMSO, no siendo así en todos los caso para NaHCO_3 al 1 y 2 %. La solubilidad fue uno de los parámetros más importantes para poder seleccionar el vehículo en el que serían administradas las sustancias y dado los resultados se consideró que el más idóneo fue el DMSO, con el cual se realizaron la mayoría de los experimentos.

8.3. Valoración farmacológica.

El aumento en el período de latencia para que se presenten las convulsiones así como la disminución en el número de animales que mueren por el agente convulsionante, es un indicativo de actividad anticonvulsionante.

Conforme a los resultados obtenidos en la valoración farmacológica de las GABA amidas como agentes anticonvulsionantes, se observa (figuras 9, 10 y 11) que el período de latencia al cual se presentan las convulsiones tónicas fue mayor y

estadísticamente significativo con los compuestos cuyos sustituyentes en el anillo aromático son p-metoxi a 300 mg/kg, m-metoxi a 30 mg/kg, m-nitro a 300 mg/kg, p-nitro a 30 mg/kg y 3,4-dimetoxi a 300 mg/kg (Ver figura 9).

Cabe señalar que el período de latencia también se vio aumentado con respecto al control para otros sustituyentes, tales como m-metoxi a 3 mg/kg, p-cloro a 300 mg/kg, m-cloro a 300 mg/kg, p-nitro a 3 y 300 mg/kg, 3,4-dimetoxi a 3 y 30 mg/kg y 2,4-dimetoxi a 300 mg/kg, aunque en menor grado.

De acuerdo con la figura 9, se ve claramente que los compuestos cuyos sustituyentes en el anillo aromático como p-nitro y 3,4-dimetoxi presentaron un aumento en el período de latencia en las 3 dosis, por lo que se deduce que éstos son los compuestos que presentan una actividad anticonvulsionante más alta con respecto al control.

Respecto al % de animales que presentaron convulsiones (tablas 4, 5 y 6) se demuestra que existen algunos compuestos que inhiben las convulsiones tónicas en por lo menos un animal del grupo evaluado, tal es el caso del p-cloro y el 2,4-dimetoxi que a dos diferentes dosis, ya que protegieron a uno o dos animales del grupo de sufrir convulsiones tónicas. Cabe destacar que el 3,4-dimetoxi protegió mínimo a un ratón del grupo en cada una de sus dosis (3, 30 y 300 mg/kg), lo que le confiere un interés especial sobre los demás compuestos.

Con excepción de los animales tratados con compuestos cuyos sustituyentes son H y m-metoxi a la dosis de 3 mg/kg, todos los demás animales tratados con los otros compuestos presentan una mayor sobrevivencia (Ver figuras 10 y 11) aún cuando presentan las convulsiones tónicas provocadas por el pentilentetrazol, el cual en el lote control provocó el 100 % de muerte en los animales. Por lo anterior se

presume aún más que los compuestos derivados del GABA tienen algún efecto protector, ya que los ratones son menos propensos a sufrir estados convulsivos severos que terminen en muerte.

También se puede apreciar que los sustituyentes del anillo aromático aumentan la actividad anticonvulsionante, ya que la N-GABA-3-(R-fenil)-2-(E)-propenamida (con sustituyente H-) fue la que presentó el menor efecto.

Los datos anteriores confirman los resultados de otras investigaciones realizadas con compuestos de la clase de las GABAcianamidas, donde se presume la actividad anticonvulsionante potente de varios compuestos con sustituyentes en el anillo aromático (Wang *et al.*, 1986).

CONCLUSIONES

IX. CONCLUSIONES.

De acuerdo a los resultados obtenidos en esta Tesis se puede concluir lo siguiente:

- Fue posible producir exitosamente los animales requeridos para el estudio bajo las condiciones así requeridas de edad, peso y sexo para este trabajo.
- Se determinó la solubilidad de las sustancias, con lo que se pudo elegir satisfactoriamente el vehículo para su administración intraperitoneal.
- En general, las N-GABA-3-(R-fenil)-2-(E)-propenamidas valoradas presentaron actividad anticonvulsiónante manifestada en el aumento de la sobrevivencia con respecto al control.
- De la serie valorada, las GABAamidas con sustituyentes p-metoxi, m-metoxi, m-nitro, p-nitro y 3,4-dimetoxi destacan por el aumento en el período de latencia quedando en el orden de mayor a menor actividad como: p-metoxi > p-nitro > m-metoxi > 3,4-dimetoxi > m-nitro y por la consistencia en el aumento de la sobrevivencia de los animales tratados con PTZ en más del 50 % en la mayoría de los casos.

SUGERENCIAS

X. SUGERENCIAS.

Las sugerencias que se dan para este trabajo son las siguientes:

- 1) Dada la importancia de encontrar nuevos fármacos que inhiban los ataques convulsivos, es posible sugerir que se continúen las investigaciones con las sustancias que presentaron mayor actividad, es decir que se evalúen a otras dosis.
- 2) Se puede realizar un mayor lote de animales para disminuir la variabilidad biológica entre cada grupo de animales.
- 3) Evaluar nuevamente los fármacos sin actividad aparente con otros Modelos Experimentales de Epilepsia.
- 4) Sintetizar nuevas sustancias derivadas del GABA para continuar con los estudios en busca de nuevas sustancias anticonvulsionantes.
- 5) Determinar el coeficiente de partición de las sustancias para aportar más datos sobre la liposolubilidad de las sustancias y su actividad farmacológica.
- 6) Realizar una valorización más detallada a los GA-5 y GA-6, ya que está reportado que esta clase de compuestos con sustituyentes Cl-, presentan una actividad anticonvulsionante muy importante (Wang *et al*; 1986).

BIBLIOGRAFÍA

XI. BIBLIOGRAFÍA

- Albert, M. L. y Knoefel, J. E.. (1994). *Clinical Neurology of aging*. 2th edition. Oxford University Press, New York. 595-607.
- Ali, F. E., Bondinell, W. E., Dandridge, P.A., Frazee, J. S., Garvey, E., Girard, G. R., Kaiser, C., Ku, T. W., Lafferty, J. J., Moonsammy, G. L., Oh, H., Rush, J. A., Setler, P. E., Stringer, O. D., Vennslavsky, J. W., Volpe, B. W., Yunger, L. B. y Zirkle, C. L.. (1985). Orally Active and Potent Inhibitors of γ -Aminobutyric Acid Uptake. *J. Med. Chem.* 28. 653-660.
- Andersen, K. E., Braestrup, C., Grønwald, F. C., Jørgensen, A. S., Nielsen, E. B., Sonnewald, U., Sørensen, P. O., Suzdak, P. D. y Knutsen, L. J. S.. (1993). The Synthesis of Novel GABA Uptake Inhibitors. 1. Elucidation of the Structure-Activity Studies Leading to the Choice of (R)-1-[4,4-Bis(3-methyl-2-thienyl)-3-butenyl]-3-piperidinecarboxylic Acid (Tiagabine) as an Anticonvulsant Drug Candidate. *J. Med. Chem.* 36: 1716-1725.
- Bloom, E.F.. (1996). Neurotransmisión y Sistema Nervioso Central. En J. G. Hardman, L. E. Limbird, P. E. Molinoff, R. W. Raddio y A. Goodman. (Editores) *Goodman & Gilman. Las bases Farmacológicas de la Terapéutica*. Vol. 1. 9^a ed. Mc Graw Hill-Interamericana, México. 283-287.
- Bowman, W. C. y Rand, M. J.. (1984). *Farmacología. Bases Bioquímicas y Patológicas*. 2^a ed. Interamericana. 18.24-18.25.

- Burnham, W. M. (1989). *Antiseizure Drugs*. En. H. Kalant y W. H. E. Roschallau. (Editors). *Principles of Medical Pharmacology*. Fifth edition. The Book Committee of the Department of Pharmacology. USA. 203-213.
- Cooper, J. R., Bloom, F. E. y Roth, R. H.. (1977). *Las bases bioquímicas de la Neurofarmacología*. El Manual Moderno, México. 175-193.
- Craig, C. y Stitzel, R. E.. (1984). *Farmacología Médica*. Nueva Editorial Interamericana, México D.F.. 433-436.
- Ellis, D. W. y Chistensen, A-L.. (1989). *Neurophysiological treatment after brain injury*. Kluwer Academic Publishers, USA. 91-92.
- Feria, V. A., Martínez, M. D. y Rubio, D. F.. (1986). *Epilepsia*. Un enfoque multidisciplinario. Trillas, México. 75-117, 203-207.
- Flórez, j.. (1992). *Acciones de los fármacos II. Mecanismos moleculares*. En. J. Flórez, J. A. Armijo y A. Mediavilla. (Editores). *Farmacología Humana*. 2ª ed. España. 19-25.
- Flórez, j.. (1992). *Neurotransmisión en el sistema nervioso central*. En. J. Flórez, J. A. Armijo y A. Mediavilla. (Editores). *Farmacología Humana*. 2ª ed. España. 353-354.
- Flórez, J. y Armijo, J. A.. (1992). *Fármacos antiepilépticos y anticonvulsionantes*. En. J. Flórez, J. A. Armijo y A. Mediavilla. (Editores). *Farmacología Humana*. 2ª ed. España. 425-428.
- Gale, K.. (1992). *GABA and Epilepsy: Basic Concepts from Preclinical Research*. *Epilepsia*. 33(Suppl. 5). S3-S12.

- Gram, L.. (1996). Pharmacokinetics of New Antiepileptic Drugs. *Epilepsia*. 37(Suppl. 6). S12-S16.
- Halonen, T., Pitkänen, A., Saano, V y Riekkinen, P. J.. (1991). Effects of Vigabatrin (γ -vinyl GABA) on Neurotransmission-Related Amino Acids and on GABA and Benzodiazepine Receptor Binding in Rats. *Epilepsia*. 32. 242-249.
- Heilman, K. H. y Valenstein, E.. (1993). Clinical Neurophysiology. 3th edition. Oxford Univerity Press, New York. 482-486.
- Krogsgaard-Larsen, P., Falch, E. y Christensen, V.. (1984). Chemistry and Pharmacology of the GABA Agonists THIP (Gaboxadol) and Isoguavacine. *Drugs of the Future*. 9. 597-618.
- Krogsgaard-Larsen, P.. (1981). γ -Aminobutiric Acid Agonists, Antagonists, and Uptake Inhibitors. Design and Therapeutic Aspects. *J. Med. Chem.*. 24. 1377-1383.
- Krogsgaard-Larsen, P., Frølund, B., Jørgensen, F. S. y Schousboe A.. (1994). GABA_A Receptor Agonists, Partial Agonists, and Antagonists. Design and Therapeutic Prospects. *J. Med. Chem.*. 37. 2489-2505.
- Laidlaw, J., Richens, A. y Oxley, J.. (1988). A Textbook of Epilepsy. Churchill Livingstone, Great Britain. 28. 421-478.
- Lohr, J. B. y Wisnieawski, A. A.. (1987). Movement Disorders. The Guilford Press, New York. 261-262.
- Mauguiere, Chavel, F. P., Dewally, J. y Dousse, N.. (1997). No Effect of long-Term Vigabatrin Treatment on Central Nervious System Conduction in Patients with Refractory Epilepsy: Results of a Multicenter Study of Somatosensory and Visual Evoked Potentials. *Epilepsia*. 39. 301-308.

- McNamara, O. J.. (1996). Fármacos Eficaces para el Tratamiento de las Epilepsias
En J. G. Hardman, L. E. Limbird, P. E. Molinoff, R. W. Raddio y A.
Goodman. (Editores) Goodman & Gilman. Las bases Farmacológicas de la
Terapéutica. Vol. 1. 9ª ed. Mc Graw Hill-Interamericana, México. 491-514.
- Meldrum, B. S.. (1996). Update on the Mechanism of Action of Antiepileptic Drugs.
Epilepsia. 37(Suppl 6). S4-S11.
- Navarrete, A. y Hong, E.. (1996). Anthelmintic Properties of α -Sanshool from
Zanthoxylum liebmannianum. *Planta Medica*. 62. 250-251.
- Norhito, Y., Kryoshi, M., Kenro, O., Shinkei, N. y Yakurigahv, S.. (1996). Recent
progress in development of psychotropic drugs. Anticonvulsants an overview
on the mechanism of action. *Zasshi*. 16. 151-159. (Chemical Abstracts . 1996.
126. 139339f).
- Olsen, R. W. y Avoil, M.. (1997). GABA and Epileptogenesis. *Epilepsia*. 38. 399-407.
- Okpako, P. T.. (1971). Principles of Pharmacology A tropical Approach. Cambridge
University Press, New York. 438-443.
- Porter, R. J. y Rogawski, M.. (1992). New Antiepileptic Drugs: From Serendipity to
Rational Discovery. *Epilepsia*. 33(Suppl. 1). S1-S6.
- Rang, H. P. y Dale, M. M.. (1992). Farmacología. Alhambra. España. 278-279, 686-
689.
- Reynolds, E. H., Ring, H. A., Farr, I. N., Heller, A. J. y R. D. C.. (1991). Open, Double-
Blind and Long-Term Study of Vigabatrin in Chronic Epilepsy. *Epilepsia*. 32.
530-538.

- Simons, R. P., Aminoff, M. J. y Greenberg, D. A.. (1992). Neurología Clínica. El Manual Moderno, México. 373-393.
- Sivenius, J., Kälviäinen, R., Ylinen, A. y Rieekkinen, P..(1991). Double-Blind Study of Gabapentin in the treatment of Partial Seizures. *Epilepsia*. 32. 539-542.
- Strange, P. G (1995). Biochemistry and Brain Disorders. Oxford University Press, USA. 29, 52, 80.
- Sutherland, J. M. y Eadie, M. J.. (1982). Epilepsias. Diagnóstico y tratamiento. 2ª ed. El Manual Moderno, México. 10-12.
- Swinyard, E. A., White, S., Wolf, H. H. y Bondinell, W. E.. (1991). Anticonvulsant Profiles of the Potent and Orally Active GABA Uptake Inhibitors SK & F 89976A and SK & F 100330-A and Four Prototype Antiepileptic Drugs in Mice and Rats. *Epilepsia*. 32. 359-542.
- Taylor, D. A.: (1990). Central Nervous System Stimulants. En. C. R. Craig y R. E. Stitzel. (Editors). Modern Pharmacology. Third edition. Little Brown. USA. 452-455.
- Valeyev, A. Y., Barker, J. L., Cruiciani, R. A., Lange, G. D., Smallwood, V. V. y Mahan, L. C.. (1993). Characterization of the γ -Aminobutyric Acid_A Receptor-Channel Complex Composed of $\alpha_1\beta_2$ and $\alpha_1\beta_3$ Subunits from Rat Brain. *J. Pharmacol. and Exp. Therap.*. 265. 985-991.
- Velasco, M. A., Fernandez, P. L., Serrano, J. S. y Trelles, F. A.. (1993). Velazquez Farmacología. 16ª ed. Interamericana McGraw-Hill, Madrid. 285-287, 416-431 y 591.

- Walker, M. C. y Patsalos, P. N.. (1996). The tolerability and safety profile of gabapentin. *Rev. Contemp. Pharmacoter.* 7. 149-157. (Chemical Abstracts. 1996. 126. 180677c.)
- Wang, S. Y., Li, R. L., Liu, W-Q., Wang, G-Q., Liu, P., Song, J-M., Pei Y-Q., Yao, H-Y. y Gao, X-M.. (1986). Structure-Anticonvulsant activity relationships of some cinnamamides of substituted aromatic ring. *Acta Pharmaceutica Sinica.* 21. 542-545.
- Wermuth, C-G. y Bizière, K.. (1986). Pyridazinyl-GABA derivatives: a new class of synthetic GABA_A antagonists. *Trends in Pharmacological Sciences.* 7. 421-424.
- Wermuth, C-G., Bourguignon, J-J., Schlewer, G., Gies, J-P., Shoenfelder, A., Melifian, A., Bouchet, M-J., Chantreux, D., Molimard, J-C., Heaulme, M., Chambon, J-P. y Biziere, K.. (1987). Synthesis and Structure-Activity Relationships of a Series of Aminopyridazine Derivates of γ -Aminobutyric Acid Acting as Selective GABA A Antagonists. *J. Med. Chem.* 30. 239-249.
- Wesley, G.C., Craig, B. y Johnson, A. R.. (1990). Goth. Farmacología Clínica. 12ªed.. Médica Panamericana, México. 251-255.
- William, E. M., Pryse, P. y Muray, T. J.. (1996). Neurología Clínica. 2ªed. El Manual Moderno, México D.F.. 215-237.
- Willimore, L. J.. (1996). Management of Epilepsy in the Elderly. *Epilepsia.* 37(Suppl. 6). S25-S30.
- Worms, P., Depoortere, H., Durand, A., Morsell, P. L., Lloyd, K. G. y Bartholoni, G.. (1981). *Aminobutyric Acid (GABA) Receptor Stimulation.* 1. Neuropharmacological Profiles of Progabide (SL 76002) and SL 75102, with Emphasis on Their Anticonvulsant Spectra. *J. Pharmacol. and Exp. Therap.* 220. 660-671.