16

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
ZARAGOZA

ESTUDIO DE LAS PROPIEDADES CONVULSIONANTES DEL ALFA-SANSHOOL EN RATON ALBINO

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

P R E S E N T A:

MARIO NOEL MORALES HERNANDEZ

DIRECTOR: DR. ANDRES NAVARRETE CASTRO

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

LO HUMANO EJE
DE NUESTRA REFLEXION

MEXICO, D. F. 2000

Universidad Nacional Autónoma de México
UNAM
Biblioteca Central
Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

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.

JURADO ASIGNADO

PRESIDENTE: **DR. ANDRÉS NAVARRETE CASTRO**

VOCAL: **Q.F.I. ESTELA VALENCIA PLATA**

SECRETARIO: **M. EN C. VALENTIN ISLAS PÉREZ**

SUPLENTE: **M.EN C. BENITO REYES TREJO**

SUPLENTE: **M. EN C. VICENTE J. HERNÁNDEZ A.**

SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA:

LABORATORIO 126, CONJUNTO E. DEPARTAMENTO DE FARMACIA DE LA FACULTAD DE QUÍMICA DE LA UNAM. Y LABORATORIO DE PRODUCTOS NATURALES ÁREA DE QUÍMICA. UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO.

SUSTENTANTE: **MARIO NOÉL MORALES HERNÁNDEZ**

DIRECTOR DE LA TESIS: **DR. ANDRÉS NAVARRETE CASTRO**

Bienaventurado el hombre
Que halla la sabiduría
Y que obtiene la inteligencia;

Porque su ganancia es mejor
Que la ganancia de la plata.
Y sus frutos más que el oro fino.

Más preciosas es que las
Piedras preciosas
Y todo lo que puedes desear,
No es comparada a ella.

Largura de dias
Está en su mano derecha
En su izquierda, riquezas y honra.

Sus caminos son caminos deleitosos
Y todas sus veredas paz

Ella es el árbol de la vida
A los que de ella echan mano
Y bienaventurados son los que la retienen.

Proverbios (3. 13-20)

AGRADECIMIENTOS

SE AGRADECE AL DR. ANDRÉS NAVARRETE CASTRO POR SU VALIOSO APOYO E IMPORTANTES CONSEJOS QUE HICIERON POSIBLE LA REALIZACION DE ESTE PROYECTO Y POR LA OPORTUNIDAD QUE ME DIO EN PARTICIPAR EN SUS PROYECTOS DE INVESTIGACION.

SE AGRADECE AL M. EN C. BENITO REYES TREJO POR LA AYUDA BRINDADA PARA EL MEJOR DESARROLLO DEL PRESENTE TRABAJO.

POR LAS FACILIDADES BRINDADAS AL USAR SUS INSTALACIONES SE AGRADECE A LA UNIVERSIDAD AUTONOMA CHAPINGO, EN PARTICULAR AL AREA DE QUIMICA DEL LABORATORIO DE PRODUCTOS NATURALES, EN DONDE SE REALIZO PARTE DE ESTE TRABAJO.

SE AGRADECE A LOS INTEGRANTES DEL LABORATORIO DE PRODUCTOS NATURALES, EN ESPECIAL A JAVIER, JESUS PERALTA, SOCORRO, DANIEL, JESUS ARRIETA POR EL APOYO BRINDADO Y A TODOS LOS QUE DE ALGUNA MANERA PARTICIPARON EN LOS RATOS AGRADABLES Y DIFICILES EN EL LABORATORIO

SE AGRADECE A LA PROFESORA DIANA GUERRA POR LA AMISTAD Y APOYO QUE ME BRINDO.

DEDICATORIAS

ESTE TRABAJO ESTA DEDICADO A:

MI ESPOSA ARACELY POR SER UNA GRAN MUJER Y POR SU GRAN APOYO Y SACRIFICIO REALIZADO PARA EL LOGRO DE ESTE TRABAJO.

MIS HIJOS TERE Y BETO POR SU APOYO Y CARIÑO.

MIS PADRES POR BRINDARME LA OPORTUNIDAD DE ESTUDIAR Y ENSEÑARNOS A SER PERSONA DE PROVECHO

INDICE GENERAL

PAGINA

RESUMEN....1

1. INTRODUCCION....3

2. FUNDAMENTO TEORICO....6

2.1. DEFINICION DE CONVULSION....6

2.2. DEFINICION DE EPILEPSIA....6

2.3. CLASIFICACION DE LA EPILEPSIA....7

2.3.1. Epilepsia Parciales o focales....7

2.3.1.1. Parcial simple....7

2.3.1.2. Parciales complejas....8

2.3.1.3. Parciales Generalizadas....8

2.3.2. Epilepsias Generalizadas....8

2.3.2.1. Tónico-clónicas generalizadas (gran mal)....8

2.3.2.2. Ausencias (pequeño mal)....9

2.3.2.3. Convulsiones Mioclónicas....9

2.3.2.4. Atónicas....9

2.3.2.5. Espasmos Infantiles....10

2.4. ETIOLOGIA....12

2.4.1. Epilepsia Idiopática o Constitucional....12

2.4.2. Epilepsia Sintomática....12

2.4.2.1. Anormalidades Congénitas y Lesiones Perinatales....12

2.4.2.2. Trastornos metabólicos....13

2.4.2.3. Traumatismo....13

2.4.2.4. Tumores y otras lesiones que ocupan espacio....13

2.4.2.5. Enfermedades vasculares....14

2.4.2.6. Enfermedades infecciosas....14

2.5. SINTOMATOLOGIA.....14

2.6. NATURALEZA Y MECANISMO DE ACCION DE LAS CONVULSIONES.....15

2.6.1. Modelos Experimentales de Epilepsia.....19

2.6.1.1. Modelo de Epilepsia por administración sistémica de agentes convulsionantes.....24

2.6.1.1.1. Pentilentetrazol.....26

2.6.1.1.2. Estricnina.....26

2.6.1.1.3. Bicuculina.....27

2.6.1.1.4. 4-Aminopiridina.....28

2.6.1.1.5. Lidocaína.....28

2.6.1.2. Inducción mediante la estimulación eléctrica (electrochoque).....29

2.6.1.3. Estimulación eléctrica repetida (KINDLING).....30

2.6.1.4. Fotosencibilidad en el mandril *Papio papio*.....30

2.6.1.5. Sensibilidad acústica en el roedor.....31

2.7. TRATAMIENTO DE LA EPILEPSIA.....33

2.7.1. Fármacos anticonvulsivos.....33

2.7.1.1. Fármacos utilizados en convulsiones parciales y tónico-clónicas generalizadas.....34

2.7.1.1.1. Fenitoína.....34

2.7.1.1.2. Carbamacepina.....35

2.7.1.1.3. Fenobarbital.....36

2.7.1.1.4. Vigabatrina.....38

2.7.1.1.5. Felbamato.....39

2.7.1.1.6. Lamotrigina.....40

2.7.1.2. Fármacos utilizados en convulsiones generalizadas.....41

2.7.1.2.1. Etosuximida.....41

2.7.1.2.2. Ácido Valpróico.....42

2.7.1.2.3. Oxazolidineodionas (Trimetadiona).....43

2.7.1.2.4. Benzodiacepinas.....44

2.8. GENERALIDADES DE *Zanthoxylium liebmannianum*....48
2.8.1. Descripción....48
2.8.2. Distribución....48
2.8.3. Fitoquímica....48
2.8.4. Actividad biológica....49
2.8.5. Generalidades de las N-isobutilamidas....49

3. PLANTAMIENTO DEL PROBLEMA....51

4. HIPOTESIS....52

5. OBJETIVOS....53
5.1. Objetivo general....53
5.2. Objetivos particulares....53

6. MATERIALES Y METODOS....54

6.1. MATERIAL....54
6.1.1. Material de vidrio....54
6.1.2. Reactivos y Fármacos....55
6.1.3. Equipo e Instrumentos....56

6.2. METODOLOGIA....57
6.2.1. Material Vegetal....57
6.2.2. Separación Cromatográfica del α-Sanshool....57
6.2.3. Determinación de la ventana de actividad biológica convulsionate del α-Sanshool en ratón albino....59
6.2.4. Determinación de la Dosis Efectiva 50 (DE_{50}) y Periodo de latencia de los diversos agentes convulsionantes, (pentilentetrazol, 4- aminopiridina bicuculina, estricnina y α-Sanshool)....61

6.2.5. Evaluación de la inhibición de las convulsiones inducidas por α-Sanshool, con los diversos fármacos anticonvulsivos: diacepam, carbamacepina, etosuximida y pentobarbital.....63

7. RESULTADOS.....64

7.1. ESTUDIO FITOQUIMICO.....64

7.2. ESTUDIO FARMACOLOGICO.....64

7.2.1. Determinación de la ventana de actividad biológica.....64

7.2.2. Determinación de la Dosis Efectiva 50 (DE_{50}) convulsionante.....65

7.2.3. Determinación del periodo de latencia de los diversos agentes convulsionantes.....76

7.2.4. Evaluación del efecto anticonvulsionante de Carbamacepina, Etosuximida, Diacepam y Pentobarbital frente a las crisis convulsivas tónico-clónicas inducidas por α-Sanshool.....80

7.2.5. Comparación de la respuesta convulsionante por el tipo de convulsiones que provocan cada agente convulsionante.....80

8. DISCUSION DE RESULTADOS.....83

9. CONCLUSIONES.....89

BIBLIOGRAFIA.....90

INDICE DE FIGURAS

FIGURA 1 ESTRUCTURA DEL PENTILENTETRAZOL..... 26

FIGURA 2 ESTRUCTURA DE LA ESTRICNINA..... 27

FIGURA 3 ESTRUCTURA DE LA BICUCULINA..... 27

FIGURA 4 ESTRUCTURA DE 4-AMINOPIRIDINA..... 28

FIGURA 5 ESTRUCTURA DE LA LIDOCAINA..... 28

FIGURA 6 ESTRUCTURA HETEROCICLICA DE LOS ANTIEPILEPTICOS..... 33

FIGURA 7 ESTRUCTURA DE LA FENITOINA..... 35

FIGURA 8 ESTRUCTURA DE LA CARBAMACEPINA..... 36

FIGURA 9 ESTRUCTURA DEL FENOBARBITAL..... 37

FIGURA 10 ESTRUCTURA DE LA VIGABATRINA..... 38

FIGURA 11 ESTRUCTURA DEL FELBAMATO..... 39

FIGURA 12 ESTRUCTURA DE LAMOTRIGINA..... 40

FIGURA 13 ESTRUCTURA DE ETOSUXIMIDA..... 41

FIGURA 14 ESTRUCTURA DEL ACIDO VALPROICO..... 42

FIGURA 15 ESTRUCTURA DE TRIMETADIONA..... 43

FIGURA 16 ESTRUCTURA DEL DIACEPAM..... 44

FIGURA 17 ESTRUCTURA DE LA NEOHERCULINA..... 50

FIGURA 18 ESTRUCTURA DEL α-SANSHOOL..... 50

INDICE DE TABLAS

TABLA 1 CLASIFICACION DE LAS CRISIS EPILEPTICAS 11

TABLA 2 AGENTES QUIMICOS QUE INDUCEN CRISIS CONVULSIVAS Y SU VIA DE ADMINISTRACION 20

TABLA 3 MODELOS DE EPILEPSIA 23

TABLA 4 ANTIEPILEPTICOS QUE POTENCIAN LA INHIBICION GABAérgica 46

TABLA 5 NUEVOS FARMACOS ANTIEPILEPTICOS EN EXPERIMENTACION CLINICA 47

TABLA 6 AGENTES CONVULSIONANTES Y VEHICULO DE ADMINISTRACION 61

TABLA 7 DOSIS Y VEHICULOS EN LOS CUALES SE ADMINISTRARON LOS FARMACOS ANTICONVULSIVOS 63

TABLA 8 DETERMINACION DE LA VENTANA DE ACTIVIDAD BIOLOGICA CONVULSIONANTE INDUCIDA POR α-SANSHOOL A DIFERENTES DOSIS 65

TABLA 9 FRECUENCIAS ACUMULATIVAS Y PROBITS PARA DETERMINACION DE LA (DE_{50}) DE 4-AMINOPIRIDINA 71

TABLA 10 FRECUENCIAS ACUMULATIVAS Y PROBITS PARA DETERMINACION DE LA (DE_{50}) DE BICUCULINA 72

TABLA 11 FRECUENCIAS ACUMULATIVAS Y PROBITS PARA DETERMINACION DE LA (DE_{50}) DE. PENTILENTETRAZOL 73

TABLA 12 FRECUENCIAS ACUMULATIVAS Y PROBITS PARA DETERMINACION DE LA (DE_{50}) DE ESTRICNINA 74

TABLA 13 FRECUENCIAS ACUMULATIVAS Y PROBITS PARA DETERMINACION DE LA (DE_{50}) DE α-SANSHOOL 75

TABLA 14 EVALUACION DE LA INHIBICION DE LAS CRISIS CONVULSIVAS INDUCIDAS POR α-SANSHOOL CON LOS DIVERSOS FARMACOS ANTICONVULSIONANTES. EL α-SANSHOOL INDUCE CONVULSIONES QUE NO SE INHIBEN POR LOS PRINCIPALES FARMACOS ANTICONVULSIONATES. SOLO SE INHIBE LA MUERTE POR DIACEPAM (10 mg/kg) Y PENTOBARBITAL (63 mg/kg) EN UN 33% 81

TABLA 15 COMPARACION DEL TIPO DE CONVULSIONES DE LOS DIVERSOS AGENTES CONVULSIONANTES CON BASE AL TIPO DE CONVULSIONES Y MECANISMOS DE ACCION. EL α-SANSHOOL PROVOCA CRISIS CONVULSIVAS CLONICO-TONICAS EN RATON 82

INDICE DE DIAGRAMAS

DIAGRAMA 1 PROCEDIMIENTO PARA EL AISLAMIENTO DEL α-SANSHOOL..... 58

DIAGRAMA 2 DETERMINACION DE LA VENTANA DE ACTIVIDAD BIOLOGICA INDUCIDA POR α-SANSHOOL A DIFERENTES DOSIS EN RATON ALBINO..... 60

DIAGRAMA 3 DETERMINACION DE LA DOSIS EFECTIVA (DE_{50}) DE LOS DIVERSOS AGENTES CONVULSIONANTES: PENTILENTETRAZOL, BICUCULINA, 4-AMINOPIRIDINA, ESTRICNINA Y α-SANSHOOL. LAS DOSIS SE ADMINISTRARON A CADA ANIMAL EN FORMA ACUMULATIVA (D.A) A PARTIR DE LA DOSIS INICIAL (D.I.) MARCADA EN CADA CASO Y CON INCREMENTOS DE LA DOSIS (D.A) EN CADA ADMINISTRACION DESPUES ESPERAR EL PERIODO DE LATENCIA..... 62

INDICE DE GRAFICAS

GRAFICA 1 FRECUENCIA DE LA RESPUESTA CONVULSIONANTE PARA LA 4-AMINOPIRIDINA CON UNA DOSIS INICIAL DE 10 mg/kg Y DOSIS ACUMULATIVAS DE 1 mg/kg. LA ADMINISTRACIÓN SE REALIZO EN GRUPOS DE 30 ANIMALES..... 66

GRAFICA 2 FRECUENCIA DE LA RESPUESTA CONVULSIONANTE PARA LA BICUCULINA CON UNA DOSIS INICIAL DE 2 mg/kg. Y DOSIS ACUMULATIVAS DE 0.5 mg/kg. LA ADMINISTRACIÓN SE REALIZO EN GRUPOS DE 30 ANIMALES..... 67

GRAFICA 3 FRECUENCIA DE LA RESPUESTA CONVULSIONANTE PARA EL PENTILENTETRAZOL CON UNA DOSIS INICIAL DE 50 mg/kg. Y DOSIS ACUMULATIVAS DE 5 mg/kg. LA ADMINISTRACIÓN SE REALIZO EN GRUPOS DE 30 ANIMALES..... 68

GRAFICA 4 FRECUENCIA DE LA RESPUESTA CONVULSIONANTE PARA LA ESTRICNINA CON UNA DOSIS INICIAL DE 0.8 mg/kg. Y DOSIS ACUMULATIVAS DE 0.1 mg/kg. LA ADMINISTRACIÓN SE REALIZO EN GRUPOS DE 30 ANIMALES..... 69

GRAFICA 5 FRECUENCIA DE LA RESPUESTA CONVULSIONANTE PARA EL α-SANSHOOL CON UNA DOSIS INICIAL DE 1.0 mg/kg. Y DOSIS ACUMULATIVAS DE 0.1 mg/kg. LA ADMINISTRACIÓN SE REALIZO EN GRUPOS DE 30 ANIMALES..... 70

GRAFICA 6 DETERMINACION DE LA DOSIS EFECTIVA 50 (DE_{50}) DE LOS DIVERSOS AGENTES CONVULSIONANTES POR EL METODO DE MILLER-TAINER (PROBITS). EL α-SANSHOOL ES MAS POTENTE QUE: PENTILENTETRAZOL, 4-AMINOPIRIDINA Y BICUCULINA Y SOLO MENOS POTENTE QUE ESTRICNINA..... 77

GRAFICA 7 COMPARACION DE LA DOSIS EFECTIVA 50 CONVULSIONANTE DE LOS DIVERSOS AGENTES, CON α-SANSHOOL. LOS RESULTADOS SE EXPRESAN EN mg/kg, CON UN INTERVALO DE CONFIANZA DEL 95%..... 78

GRAFICA 8 COMPARACION DE LOS PERIODOS DE LATENCIA A LA PRIMERA CRISIS CONVULSIVA DE LOS DIVERSOS AGENTES CONVULSIONATES. LOS RESULTADOS SON EXPRESADOS EN SEGUNDOS..... 79

GRAFICA 9 COMPARACION DE LA DOSIS EFECTIVA 50 DEL α-SANSHOOL SOLO Y EN PRESENCIA DE PENTOBARBITAL (63 mg/kg) Y DIACEPAM (5 mg/kg) POR EL METODO DE (PROBITS). LA ADMINISTRACION DEL α-SANSHOOL SE HIZO EN FORMA ACUMULATIVA Y EN GRUPOS DE 30 ANIMALES..... 86

GRAFICA 10 FRECUENCIAS DE LA RESPUESTA CONVULSIONANTE DEL α-SANSHOOL SOLO (BARRAS VACIAS) Y α-SANSHOOL + LA ADMINISTRACION PREVIA DE PENTOBARBITAL 63 mg/kg (BARRAS LLENAS). CADA GRUPO ESTUVO FORMADO POR 30 ANIMALES..... 87

GRAFICA 11 FRECUENCIAS DE LA RESPUESTA CONVULSIONANTE DEL α-SANSHOOL SOLO (BARRAS VACIAS) Y α-SANSHOOL + LA ADMINISTRACION PREVIA DE DIACEPAM 5 mg/kg (BARRAS LLENAS). CADA GRUPO ESTUVO FORMADO POR 30 ANIMALES..... 88

NOTACIONES

DE_{50}	Dosis Efectiva 50
i.p.	Intraperitoneal
ECM	Electrochoque Máximo
EEG	Electroencefalográfia
SCN	Sistema Nervioso Central
GABA	Ácido γ-aminobutírico
CD	Cambio de despolarización
MEE	Modelos experimentales de epilepsia
NMDA	N-Metil-D-Aspartato
DFH	Difenil hidantoínas
T.C.	Tónico-Clónicas
CGTC	Convulsiones generalizadas tónica-clónicas
EP	Epilepsia Parcial
EM	Epilepsia Mioclónica
EPR	Epilepsia Refractaria Pediátrica
CBZ	Carbamacepina
BZ	Benzodiacepinas

RESUMEN

La epilepsia se considera como un síndrome de origen multifactorial. Este fenómeno es el resultado de alteraciones del equilibrio que debe existir entre los estímulos inhibitorios y los excitatorios que determinan la descarga neuronal normal (Feria *et al.*,1997).

Este complejo sintomático es secundario a muchos factores etiológicos. Las epilepsias pueden ser de origen genético, metabólico o bien debidas a factores asociados como a daño perinatal o bien a traumatismo cráneo-encefálico.

La investigación futura de la etiología, diagnóstico y tratamiento de las epilepsias deberá estar orientada a tratar de dilucidar la participación de la inhibición recurrente en las diferentes modalidades de epilepsia. Se requiere diseñar mejores estrategias experimentales que identifiquen modelos adecuados y sustancias anticonvulsivas más específicas, con base en su mecanismo de acción y de acuerdo a factores involucrados en la regulación de la excitabilidad cerebral.

En un trabajo previo, se describió que el α-sanshool induce convulsiones en ratas y ratones (Navarrete y Hong, 1996). Sin embargo, no se tiene un estudio que permita caracterizar el tipo de convulsiones, la potencia relativa convulsionante en relación a otros agentes químicos convulsionantes y a la capacidad de los agentes anticonvulsionantes para inhibir las convulsiones provocadas por el α-sanshool.

En este estudio se caracterizaron las propiedades convulsionantes del α-sanshool aislado de *Zanthoxylium liebmannianum* (Colopahtle) para proponerlo como herramienta farmacológica que pueda ser de utilidad para la evaluación de nuevos fármacos anticonvulsivos, encontrándose que el α-sanshool tiene una potencia convulsionante (DE_{50} = 3.06 mg/kg) mayor que bicuculina (DE_{50} =4.78 mg/kg), 4-aminopiridina (DE_{50} = 12.10 mg/kg) y pentilentetrazol (DE_{50} = 73.61 mg/kg) y es sólo menos potente que la estricnina (DE_{50} = 1.53 mg/kg). Las convulsiones inducidas por α-sanshool son de tipo clónico-tónicas; el periodo de latencia del α-sanshool es extremadamente corto, de

aproximadamente 2 s, en tanto que el pentilentetrazol tiene un período de latencia de 82 s, la bicuculina de 86 s, la estricnina de 184 s. y la 4-aminopiridina de 364 s.

En la evaluación de la inhibición de las convulsiones provocadas por α- Sanshool con los principales fármacos antiepilépticos o anticonvulsionantes, se observó que la carbamacepina (200 mg/kg) y la etosuximida (150 mg/kg) no inhibieron las convulsiones, ni el índice de mortalidad provocadas por el α- Sanshool a la dosis de 9.0 mg/kg.

Con respecto a diacepam (5 mg/kg) y pentobarbital (63 mg/kg), se observó que estos fármacos anticonvulsionantes disminuyen el índice de mortalidad provocada por el α-sanshool en un 33%. El diacepam a la dosis de 5 mg/kg administrado 30 min. antes del α-sanshool, provocó un desplazamiento a la derecha de la curva dosis respuesta, obteniendose una DE_{50} 15.31 mg/kg del α-sanshool. Con respecto a la administración previa de pentobarbital la (DE_{50}= 4.63 mg/kg), prácticamente no se modificó en tanto que se observó un cambio en la pendiente de la curva dosis-respuesta.

Las convulsiones tónico-clónicas provocadas por el α-sanshool presenta caracteristicas distintas a los agentes convulsionantes comunes en cuanto a período de latencia, potencia e inhibición por los agentes anticonvulsionantes, lo que permite proponerlo como una herramienta farmacológica que puede ser útil en el estudio experimental de la epilepsia.

1. INTRODUCCION

En el desarrollo histórico de la medicina, pocas enfermedades han acumulado tantas creencias erróneas, basadas en la superstición, prejuicio o ignorancia, como la epilepsia (Feria *et al.*,1997).

En México se afronta a la epilepsia a través de un Programa Prioritario, el cual busca entre otras metas el mantener actualizada la información sobre la repercusión social del padecimiento, con la finalidad de propiciar el bienestar del paciente. En este contexto, la epilepsia representa un problema de salud pública donde se involucran aspectos de carácter social, además de los puramente biológicos.

La epilepsia constituye un buen ejemplo de padecimiento con características biopsicosociales, donde la dualidad de la medicina, es decir, la ciencia con contenido biológico y social.

Por otro lado, la historia natural de la epilepsia demuestra como a nivel básico de la biología molecular puede desarrollarse, de una manera gradual, el fenómeno epiléptico, que puede iniciarse a nivel de la membrana neuronal, en los canales iónicos, ya sea de sodio, calcio o de cloro, a nivel de la sinapsis, con alteraciones de los receptores o quizá también por alteraciones en el flujo axonal o bien a nivel de las dentritas; todo ello con el fenómeno final de la descarga neuronal paroxística que, con el tiempo, se hace recurrente y se establece como un fenómeno repetitivo y crónico, al cual llamamos epilepsia (Feria *et al.*, 1997).

La epilepsia, para la salud pública, es una afección de etiología diversa, caracterizada por crisis recurrentes y no provocadas, debidas a descargas excesivas de las neuronas cerebrales asociadas a manifestaciones clínicas (Secretaria de Salud de México, 1988).

La epilepsia no es estrictamente una enfermedad, más bien es el resultado tardío de un numeroso grupo de enfermedades, que en ocasiones se atribuyen a un problema genético, o se concluye como criptogénico, cuando no se conoce su etiología (Hauser *et al.*, 1991)

La incidencia, la prevalencia, así como la mortalidad de la epilepsia son los indicadores que expresan su magnitud como problema de salud pública. La incidencia de la epilepsia representa el número de nuevos casos diagnosticados. El conocimiento de la incidencia de esta enfermedad es útil, ya que brinda la posibilidad de identificar su causa.

Por la edad la incidencia de epilepsia es alta en jóvenes, las tasas más altas se observan en los primeros meses de vida (Hauser *et al.*, 1991).

A pesar de que no existe diferencia significativa entre sexos, se ha encontrado un mayor riesgo en el hombre para desarrollar crisis no provocadas, la relación varia entre 1.1 a 1.7 para la mayoría de los estudios (Hauser *et al.*, 1991).

La epilepsia es uno de los desórdenes neurológicos más comunes que afectan a la humanidad y, sin embargo, se ignoran aún muchos de sus aspectos.

Aunque se manejan datos epidemiológicos (Canger, *et al.*, 1985, García-Pedroza, 1986), se acepta en promedio una cifra de prevalencia de 1 a 2 % proveniente, en su mayoría, del análisis de pacientes que están bajo supervisión continua, por lo que probablemente incluye únicamente a las personas más severamente afectadas.

De esta forma se considera que la epilepsia en animales y las crisis convulsivas provocadas experimentalmente, pueden integrar un modelo válido de epilepsia cuando los anticonvulsionantes que son efectivos para los animales de experimentación, lo sean también para el tratamiento de la epilepsia en el ser humano (Feria *et al.*, 1997).

Los aspectos clínicos de algunas convulsiones generalizadas, en especial las convulsiones de ausencia, se correlacionan en alto grado con las convulsiones experimentales generadas en animales por la administración sistémica de agentes convulsionantes tales como pentilentetrazol, bicuculina, ácido kaínico, etc. Así mismo, las convulsiones parciales en los seres humanos se correlacionan de manera positiva con las convulsiones por electrochoque máximo (ECM).

Si bien existen varios agentes convulsionantes, el contar con alternativas de experimentación son siempre útiles para el estudio de la epilepsia. En este trabajo se describen las propiedades convulsionantes de una N-isobutilamida de origen natural, el α-sanshool, aislado del *Zanthoxylium liebmannianum* planta medicinal mexicana utilizada como antiparasitaria en el valle de Tehuacán Puebla (Navarrete y Hong, 1996).

2. FUNDAMENTO TEÓRICO

Las epilepsias son trastornos frecuentes y devastadores. Se han identificado más de 40 formas diferentes de epilepsias. Las convulsiones epilépticas suelen producir alteración transitoria del conocimiento, dejando al individuo en riesgo de lesión corporal y a menudo obstaculizan las actividades de estudio y trabajo de éste.

El tratamiento es sintomático puesto que, si bien los fármacos disponibles inhiben las convulsiones, no se cuenta con profilaxis 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).

2.1. Definición de Convulsión.

Es un trastorno transitorio de la conducta, causado por la activación desordenada, sincrónica y rítmica de poblaciones enteras de neuronas cerebrales (McNamara, 1996).

2.2. Definición de Epilepsia.

El término epilepsia se refiere a un desorden de la función cerebral, caracterizada por la ocurrencia periódica e impredecible de ataques focales o generalizados con pérdida de la conciencia (Chauhan *et al.*, 1988). Estas crisis pueden ser "no epilépticas" cuando se evocan en un cerebro normal por tratamientos como electrochoque o agentes convulsivos, "epilépticas", cuando ocurren sin provocación alguna.

2.3. Clasificación de la Epilepsia.

La clasificación fue desarrollada por la Liga Internacional contra la Epilepsia (ILAE) y la Federación Mundial de Neurología (Feria *et al.*, 1997).

2.3.1. Epilepsias Parciales o focales.

Son aquellas en las cuales puede detectarse el inicio localizado del ataque, ya sea mediante observación clínica o por registro electroencefalográfico.

Las manifestaciones conductuales en las crisis convulsivas dependen de las funciones que normalmente ejerza en el sitio de la corteza donde se originan las convulsiones. Una convulsión parcial simple se vincula con preservación del conocimiento o estado de conciencia (Tierney *et al.*, 1997).

Según la manifestación conductual y/o electroencefalográfica las epilepsias se subdividen a la vez en los 3 tipos siguientes:

2.3.1.1. Parcial simple.

Se caracteriza por una diseminación mínima de la descarga anormal, sin pérdida de la conciencia y el conocimiento. El individuo está completamente conciente. El EEG puede mostrar una descarga anormal muy bien localizada en la porción afectada del encéfalo (Tierney *et al.*, 1997).

2.3.1.2. Parciales complejas.

También tienen un inicio localizado, pero las descargas resultan más diseminadas y casi siempre afectan el sistema límbico. La mayoría de las convulsiones parciales complejas se originan en uno de los lóbulos temporales, debido posiblemente a la susceptibilidad de esta área del cerebro a afecciones como hipoxia o infecciones. Desde el punto de vista clínico, el paciente puede tener un breve acaloramiento, seguido de una alteración de la conciencia durante la cual algunos sujetos pueden fijar la vista y otros quizá se tambaleen o incluso caigan (Tierney *et al.*, 1997).

2.3.1.3. Parciales Generalizadas.

Es el ataque secundariamente generalizado, en el cual una convulsión parcial precede de inmediato a una convulsión tónico-clónica generalizada (gran mal).

2.3.2. Epilepsias Generalizadas.

Son aquéllas en las cuales no existen datos de un inicio localizado, son bastante heterogeneas. A diferencia de las de tipo parcial, 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 (Coulter, 1996). Las epilepsias de tipo generalizado pueden subdividirse en crisis:

2.3.2.1. Tónico-clónicas Generalizadas (gran mal).

Son las más notables de todas las convulsiones epilépticas y se caracterizan por rigidez tónica de todas las extremidades seguida luego de 15 a 30 s, por un temblor que en realidad es una interrupción de los tonos de relajación. Las sacudidas clónicas tardan de 60 a 120 s y el paciente suele quedar en estado de estupor. Puede morderse la lengua y las mejillas y es frecuente la incontinencia urinaria (Tierney *et al.*, 1997).

2.3.2.2. Ausencias (pequeño mal).

Se caracterizan tanto por su comienzo súbito como por cese abrupto, su duración suele ser menor de 10 seg. y en ocasiones de 45 seg. La conciencia se altera, el ataque también puede relacionarse con sacudida clónica leve de párpados o los miembros, con cambios en el tono postural, fenómenos autónomos. Los ataques de ausencia comienzan en la niñez o en la adolescencia, y pueden presentarse hasta cientos de veces al día (Tierney *et al.*, 1997).

2.3.2.3. Convulsiones Mioclónicas.

Se observa en varios tipos de convulsiones incluyendo las tónico-clónicas generalizadas, las parciales y los espasmos infantiles. Algunos pacientes tienen sacudidas mioclónicas como tipo principal de convulsiones y algunos presentan frecuentes sacudidas mioclónicas y en ocasiones convulsiones tónico-clónicas generalizadas sin signos evidentes de deficiencia neurológica (Tierney *et al.*, 1997).

2.3.2.4. Atónicas.

Son aquellas en las cuales el individuo presenta pérdida súbita del tono postural. Si está de pie, el paciente cae súbitamente al suelo y puede lesionarse. Aun cuando es más frecuente en niños, este tipo de crisis no es común en los adultos.

2.3.2.5. Espasmos Infantiles.

Constituye un síndrome epiléptico y no un tipo de convulsión. Los ataques que en ocasiones son fragmentarios, con mayor frecuencia son bilaterales y se incluyen para fines pragmáticos dentro de las convulsiones generalizadas. Estos ataques se caracterizan clínicamente por sacudidas mioclónicas recurrentes y breves del cuerpo, con flexión o extensión súbitas del cuerpo y los miembros; sin embargo, los tipos de espasmos infantiles son bastante heterogéneos. El 90 % de los pacientes afectados tienen su primer ataque antes de cumplir su primer año de edad. La mayoría de los enfermos presentan retardo mental, presumiblemente por el mismo origen del espasmo (Tierney *et al.*, 1997). En la tabla 1 se presenta un resumen de la clasificación de las crisis epilépticas.

Tabla 1. Clasificación de las Crisis Epilépticas. (McNamara, 1996)

TIPO DE CONVULSIÓN	CARACTERÍSTICAS
PARCIAL o FOCAL	
Parciales simples	Diversas manifestaciones que dependen de la región de la corteza activada por la crisis convulsiva. El individuo está completamente consciente durante el ataque y puede describirlo con detalle.
Parciales complejas	Pérdida del conocimiento que dura 30 seg. a 2 min. En muchos casos aunada a movimientos propositivos, como chasquear los labios y agitar la mano.
Parciales con convulsiones tónico-clónicas generalizadas de manera secundaria.	La convulsión simple o compleja evoluciona hasta convulsión tónico-clónica con pérdida del conocimiento y contracciones sostenidas (tónicas) de los músculos de todo el cuerpo, con periodos de contracción muscular alterada con periodos de relajación (convulsiones clónicas). Duran unos 2 minutos.
GENERALIZADAS	
Crisis de ausencia	Inicio repentino de pérdida del conocimiento aunado a mirada fija e interrupción de las actividades y dura aproximadamente 30 segundos.
Crisis mioclónica	Contracción muscular breve (1 seg. de duración) de tipo choque eléctrico, ya sea circunscrita a parte de una extremidad a generalizada.
Crisis tónico-clónicas	Lo mismo que en el caso de las convulsiones parciales con convulsiones tonico-clónicas generalizadas de manera secundaria, salvo que no van procedidas de una convulsión parcial.

2.4. Etiología.

La epilepsia tiene varias causas, como tumores cerebrales, eclampsia, fiebres y trauma cerebral, entre otras (Tierney *et al.*, 1997). De acuerdo con la causa de su origen se le puede dividir en epilepsia idiopática o constitucional y epilepsia sintomática.

2.4.1. Epilepsia Idiopática o Constitucional.

Las convulsiones suelen iniciarse entre los 5 y los 20 años de edad, pero pueden comenzar años después. No es posible identificar alguna causa especifica y no hay anormalidad (Tierney *et al*, 1997).

2.4.2. Epilepsia Sintomática.

Hay muchas causas para las convulsiones recurrentes:

2.4.2.1. Anormalidades Congénitas y Lesiones Perinatales.

Pueden originar convulsiones que se presentan en la infancia o la niñez. Casi en todos los casos de epilepsia parcial en seres humanos, parecen ser adquiridos a través de una lesión focal de la corteza: Se han localizado determinantes genéticos en una minoría de sujetos. Durante los últimos años, se han identificado genealogías aisladas, en las cuales la epilepsia parcial se hereda conforme a un patrón mendeliano (McNamara, 1996).

Otra forma de epilepsia de inicio generalizado, son las convulsiones neonatales familiares benignas, se heredan con carácter autosómico dominante y están ligadas a un cromosoma (McNamara, 1996).

La forma frecuente de epilepsia de inicio generalizado, la epilepsia mioclónica juvenil, parece ser una enfermedad poligénica, y la expresión de su fenotipo requiere la herencia simultánea de múltiples genes (McNamara, 1996).

2.4.2.2. Trastornos metabólicos.

La hipocalemia, la hipoglucemia, la carencia de piridoxina y la fenilcetonuria son causas mayores de convulsiones en recién nacidos o lactantes. En adultos, la supresión del alcohol o drogas es una causa común de convulsiones recurrentes y también puede depender de otros trastornos metabólicos como insuficiencia renal y diabetes (Tierney *et al.*, 1997).

2.4.2.3. Traumatismo.

Son causa importante de convulsiones en cualquier edad, pero en especial en adultos jóvenes. Es probable que se desarrolle epilepsia postraumática si se penetró la duramadre y por lo general se manifiesta en el transcurso de dos años despues de la lesión (Tierney *et al.*, 1997).

2.4.2.4. Tumores y otras lesiones que ocupan espacio.

Pueden causar convulsiones en cualquier edad, pero son una causa especialmente importante de convulsiones en la edad madura y posteriormente, cuando aumenta la frecuencia de enfermedades neoplásicas, las convulsiones suelen ser síntomas iniciales de tumor y con frecuencia son de carácter parcial (local) (Tierney *et al.*, 1997).

2.4.2.5. Enfermedades vasculares.

Son una causa cada vez más frecuente de convulsiones con el envejecimiento y la razón más común de las mismas cuando se inicia a los 60 años o después (Tierney *et al.*, 1997).

2.4.2.6. Enfermedades infecciosas.

Deben considerarse en todos los grupos de edad como causa potencialmente reversible de convulsiones. Puede ocurrir con una enfermedad infecciosa o inflamación aguda, como la meningitis bacteriana o la encefalitis hepática, o en pacientes con trastornos crónicos o de más larga duración, como neurosífilis o cistercercosis cerebral. En pacientes con SIDA, pueden ser el resultado de toxoplasmosis de sistema central, meningitis criptococal, encefalitis viral secundaria y otras complicaciones infecciosas. Las convulsiones son una secuela común de absceso cerebral (Tierney *et al.*, 1997).

2.5. Sintomatología

Algunas alteraciones inespecifícas, como la cefalea, cambios del estado de ánimo, letargo y sacudidas mioclónicas ponen en alerta a algunos pacientes sobre una convulsión inminente.

En la mayoría de los pacientes, las convulsiones ocurren de manera espontánea en cualquier momento y sin relación alguna con la postura o las actividades en curso. Sin embargo, en ocasiones se presenta en un momento particular (durante el sueño). La fiebre e infecciones inespecíficas también puede precipitar convulsiones en epilépticos conocidos; en lactantes y niños pequeños quizá sea difícil de diferenciar estos ataques de las convulsiones febriles (Tierney *et al.*, 1997).

En algunos pacientes las convulsiones son provocadas por estímulos específicos, como luces centelleantes o parpadeo de una televisión (epilepsia fotosensible), la música o la lectura (Tierney *et al.*, 1997).

2.6. Naturaleza y Mecanismo de Acción de las Convulsiones.

El funcionamiento del Sistema Nervioso Central (SNC) depende de manera predominante de la comunicación entre neuronas. (Desde los descubrimientos iniciales que generaron la hipótesis de que la transmisión de información de una neurona a otra a través de las sinapsis era de tipo químico).

Uno de los mecanismos que cambió el modo de pensar respecto a la regulación de la actividad de las neuronas individuales y de circuitos neuronales completos fue, sin duda, el de la transmisión sináptica de naturaleza inhibitoria. Mientras que en la sinapsis neuromuscular la región postsináptica, es decir, el músculo, sólo puede ser excitado y por lo tanto los mecanismos de regulación se reducen a excitación *versus* no excitación. En el SNC la posibilidad de que la actividad de una neurona resulte en inhibición de la neurona postsináptica correspondiente cambia radicalmente las posibilidades de ejercer un control sobre el funcionamiento de los circuitos: un grupo de neuronas podrá ser excitado mediante la activación de sinapsis excitadoras, pero esto sólo podrá ocurrir si la excitación es suficiente para alcanzar el umbral de disparo, es decir, si supera a la inhibición que las sinapsis inhibitorias puedan estar ejerciendo sobre ese grupo neuronal. Por otro lado, las neuronas podrán excitarse por desactivación de sinapsis inhibitorias (McNamara, 1996).

Estos conceptos se han visto reforzados por los hallazgos, a lo largo de las últimas cuatro décadas, de que las sinapsis inhibitorias son extraordinariamente numerosas en el cerebro de los mamíferos, y de que su actividad sobresale el control de la actividad motora. En especial, la identificación de dos aminoácidos que funcionan como neurotransmisores inhibidores, el ácido γ-aminobutírico (GABA) y la glicina, así como la localización regional en el cerebro de los circuitos ricos en sinapsis GABAérgicas y glicinérgicas, han abierto un extenso panorama en el conocimiento de los mecanismos de control de los movimientos y de sus alteraciones.

Además, este conocimiento ha permitido explicar, así sea parcialmente, el mecanismo de acción de sustancias con efectos sobre el SNC, entre las que se encuentran los fármacos convulsionantes, antiepilépticos, ansiolíticos y antidepresivos.

La función primordial de la sinapsis para mediar la comunicación entre las neuronas en el cerebro del mamífero sugirió que la función sináptica defectuosa podría originar convulsiones.

El progreso en las técnicas de electrofisiología ha estimulado el refinamiento progresivo del nivel de análisis de los mecanismos convulsivos, a partir de la observación del electroencefalograma (EEG). Los estudios electrofisiológicos celulares de la epilepsia se han centrado en la dilucidación de los mecanismos con base en el *cambio de despolarización* (CD). El CD consiste en una gran despolarización de la membrana neuronal aunada a una descarga de potenciales de acción. En la mayor parte de las neuronas corticales, el CD es generado por una gran corriente sináptica excitadora que puede intensificarse por activación de las corrientes intrínsecas de la membrana reguladas por el voltaje (McNamara, 1996).

Si bien no se ha podido responder a muchas interrogantes, el estudio de los mecanismos de generación de los cambios de despolarización, estableció las bases para investigar los mecanismos celulares de las convulsiones

Se han producido sucesos electrográficos con aspectos semejantes a los registrados durante las convulsiones *in vivo*, en rebanadas de hipocampo, mediante muchos procedimientos, entre ellos alteración de los constituyentes iónicos de las soluciones fisiológicas en los que se ponen las rebanadas de cerebro, como la disminución de Ca^{2+} (extracelular), ausencia de Mg^{2+} o aumento de K^{+} (McNamara, 1994). La identificación de estos diversos factores sinápticos y no sinápticos controladores de las convulsiones *in vítro* señala objetivos farmacológicos potencialmente valiosos para regular la sensibilidad convulsiva *in vivo*.

Desde un punto de vista teórico, la acción que un convulsionante podría ejercer a diferentes niveles de la fisiología sináptica puede ser.

1. Reducción de los niveles de neurotransmisión inhibitoria en las terminales sinápticas. Reducir el transmisor en la sinapsis llevaría a inhibir la transmisión sináptica (Feria *et al.*, 1986). Entre los eventos que producirían esta condición están:

- Inhibición de la síntesis del transmisor.
- Bloqueo del almacenamiento del transmisor en la poza de liberación
- Incremento de la actividad de los sistemas de degradación del transmisor.

2. Interferencia con los mecanismos de liberación del transmisor inhibitorio. Cualquier situación que condujera a disminuir la liberación del transmisor produciría un bloqueo de la transmisión nerviosa en esa sinapsis (Feria *et al.*, 1986). Esta alteración seria causada por:

• Interferencia en el desarrollo y/o propagación del potencial de acción.

• Interferencia con la apertura de los canales de Ca^{2+} inducida por el potencial de acción.

•Interferencia con los mecanismos responsables de la liberación del transmisor.

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). Los mecanismos postulados que podrían originar esta situación son:

• Bloqueo de la interacción del transmisor con su receptor.

• Alteración en la cantidad de receptores postsinápticos.

•Alteración de la afinidad del receptor por el transmisor.

• Interferencia con la actividad de los canales iónicos o los sistemas enzimáticos asociados con el receptor.

.

4. Interferencia con los mecanismos de remoción del transmisor.

Tanto aumentar como disminuir la velocidad de inactivación del transmisor produciría una falsa actividad sináptica (Feria *et al.*, 1986).

Entre los mecanismos causales podrían postularse los siguientes:

• Interacción con los sistemas de transporte tanto en la terminal sináptica como en las células gliales.

• Cambio en la actividad de las enzimas responsables de la modificación química del transmisor en el espacio sináptico.

• Interacción con los iones de los que dependen el transporte del transmisor.

2.6.1 Modelos Experimentales de Epilepsia.

Para desarrollar un modelo experimental, generalmente se eligen mamíferos que presentan manifestaciones eléctricas y conductas 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 la epilepsia refleja) o afectar directamente áreas encefálicas (como el electrochoque máximo o MES). 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, oubaína, etc.), intracisternal (rojo de rutenio, etc.) o sistémica (pentilentetrazol, bicuculina, estricnina, 4-aminopiridina, ácido kaínico, 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.*, 1997). En la tabla 2 se muestran los diferentes tipos de agentes químicos convulsionantes utilizados para inducir crisis epilépticas, así como su vía de administración o la supresión o carencia de los mismos.

AGENTE CONVULSIVO	VÍA DE ADMINISTRACIÓN
Penicilina Crema de alúmina	Tópica
Potasio Oubaína	Intraventricular
Rojo de rutenio	Intracisternal
Pentilentetrazol Estricnina Bicuculina 4-aminopiridina Ácido kaínico Lidocaína Picrotoxina Harman	Sistémica
Barbitúricos Etanol	Supresión de la administración
Piridoxina Calcio	Carencia metabólica

Tabla 2. Agentes químicos que inducen crisis convulsivas y su vía de administración (Feria *et al.*, 1997; Hiller y Zetler, 1996).

Al considerar el tipo de mecanismo implicado en la producción de las crisis, los MEE pueden ser provocados con agentes químicos generalmente por: interferencia en la función de sinapsis inhibitorias por las sustancias (bicuculina, estricnina, picrotoxina etc.) o por la facilitación de las excitatorias específicas (acetilcolina, glutamato, aspartato, kainato, etc.), y también por alteraciones inespecíficas de la excitabilidad neuronal (electrochoque, etc.). Otros mecanismos de producción de las crisis pueden alterar el metabolismo neuronal (hidrazonas del fosfato de piridoxal, alilglicina, etc.) o destruir neuronas inhibitorias (crema de alúmina, ácido quinolínico, etc.) (Feria *et al.*, 1997).

Se pueden identificar MEE sin manifestaciones motoras o con ellas. En el primer caso, la validez del modelo está dada por la caracterización eléctrica de la crisis, mientras que en el segundo, las manifestaciones pueden incluir crisis paroxísticas de actividad motora, como carrera compulsiva, actividad tónica, actividad clónica o combinaciones de éstas. También debe considerarse si las manifestaciones motoras son focalizadas y secundariamente generalizadas; y si se presentan de una manera aguda o crónica (Feria *et al.*, 1997).

El modelo experimental ideal debe reunir estos criterios: **a)** Se debe tener un control experimental del tamaño y de los aspectos morfológicos de la lesión epileptógena. **b)** Las alteraciones patológicas deben ser mínimas. **c)** Las crisis se deben controlar en términos de su aparición y del tiempo en que aparezcan. **d)** Después de un tiempo, se observarán crisis espontáneas crónicas.

En la actualidad el estudio controlado y sistematizado de los MEE ha tenido tres aplicaciones fundamentales (Feria *et al.*, 1986).

a). En la evaluación de fármacos anticonvulsionantes que pudieran tener una aplicación en la terapéutica de la epilepsia en el hombre.

b). En la investigación de los mecanismos neuronales básicos implicados en la generación, propagación y supresión de las crisis epilépticas, sean o no convulsivas. A pesar de los diversos mecanismos de inducción o precipitación de las crisis y de la variedad de manifestaciones eléctricas y clínicas, debe haber factores comunes implicados en los mecanismos básicos de todos los tipos de crisis.

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).

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).

La inducción del proceso epiléptico se puede dar de las siguientes maneras: por administración sistémica, estimulación eléctrica o modelos naturales de epilepsia. En la tabla 3 se muestran los diferentes modelos de inducción de crisis epilépticas.

Modelos	Tipos
Administración sistémica de sustancias convulsionantes	Pentilentetrazol Estricnina Lidocaína 4-aminopiridina Bicuculina Ácido kaínico Picrotoxina Harman
Estimulación Eléctrica	Electrochoque Máximo Kindling (estimulación repetida y umbral)
Naturales	Fotosensibilidad en el *papio-papio* Crisis convulsiva en el gerbio Sensibilidad audiogénicas del roedor.

Tabla 3. Modelos de Epilepsia. (Feria *et al.*, 1997).

2.6.1.1. Modelo de Epilepsia por administración sistémica de agentes convulsionantes.

El estudio de las crisis convulsivas ha sido una forma de obtener conocimiento del funcionamiento cerebral. Los compuestos convulsionantes han sido una herramienta útil para entender cómo el cerebro genera los eventos eléctricos y conductuales de las crisis generalizadas. Existe la posibilidad de modificar la acción de neurotransmisores en forma específica, mediante sustancias que tienen propiedades convulsionantes cuyos efectos son dependientes de la dosis. Sin embargo, no todas las neuronas de las diferentes regiones del sistema nervioso se alteran de igual manera. La inyección de estas sustancias en forma sistémica, ionoforética o al medio que rodea la célula, puede producir una acción farmacológica diferente sobre el soma neuronal o sobre un campo dendrítico (Feria *et al.*,1997).

Las sustancias químicas convulsionantes, por lo general, se pueden definir por su mecanismo de acción. La mayoría de ellas son antagonistas de la transmisión GABAérgica y tienen su sitio de acción sobre el receptor $GABA_A$ o de su canal asociado. Ejemplo de estas sustancias son la bicuculina y la picrotoxina que son potentes agentes convulsionantes.

Para la penicilina se ha sugerido que su acción farmacológica es un bloqueo selectivo de la inhibición postsináptica inducida por GABA (Dingledine *et al.*, 1980). Asimismo, bloquea los cambios de conductancia al cloro en respuesta a la aplicación de GABA, acetilcolina, dopamina o 5-hidroxitriptamina y bloquea la liberación de GABA. Es aceptado en general, que muchas sustancias antagonizan la inhibición GABAérgica.

Por otra parte, como mecanismo de acción está el aumento en la transmisión glutamatérgica de algunas sustancias convulsionantes como los agonistas del NMDA y el ácido kaínico. Todas estas sustancias administradas por vía intraperitoneal o sistémica provocan crisis tónico-clónicas con actividad electroencefalográfica bien definida.

La mayoría de los anticonvulsionantes utilizados en el ser humano bloquean las crisis inducidas por la bicuculina, por la picrotoxina o por la penicilina. Es importante hacer notar que sólo el ácido valpróico es efectivo contra las crisis convulsivas inducidas por ácido kaínico, lo que pone de manifiesto la alteración en la transmisión glutamatérgica en algunos modelos de epilepsia (Croucher *et al.*, 1982).

Los receptores NMDA se relacionan directamente con los mecanismos de iniciación y propagación de la descarga convulsiva. Los anestésicos disociados, fenilciclidina y ketamina, bloqueadores de los receptores NMDA asociados a canales iónicos (Anis *et a.l*, 1987), bloquean las descargas epileptiformes en rebanadas de hipocampo (Coan *et al.*, 1987).

Los fármacos de la categoría de estimulantes convulsivos producen convulsiones como efecto farmacológico primario. 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).

En la siguiente sección se presentan generalidades de los principales agentes convulsionantes administrados por vía sistémica.

2.6.1.1.1. Pentilentetrazol.

El pentilentetrazol (figura 1) se ha empleado por vía intraperitoneal, subcutánea o intravenosa en diferentes dosis, en animales íntegros o con 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 convulsionante con un sitio de acción a nivel de la sinápsis y particularmente en sinápsis excitatoria, en contraste con otras sustancias, como la estricnina que actúa a nivel de sinápsis inhibitoria. Recientemente se ha descubierto que el PTZ interactúa con el ionóforo de cloro y con receptores GABA (Taylor., 1990).

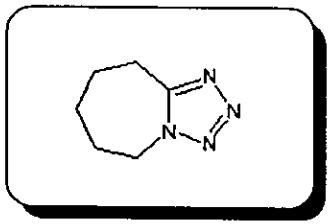


FIGURA 1. Estructura del Pentilentetrazol

2.6.1.1.2. Estricnina

La estricnina (figura 2) fue utilizada por primera vez por Kerley en 1961 (Feria et al., 1986) administrada por vía intraperitoneal. Tiene una dosis letal 99 (DL_{99}) 2 mg/kg en ratón. Es un antagonista de los receptores de glicina y actúa a nivel de sinapsis inhibitoria. Cuando se administra a un animal despierto, las crisis convulsivas que le provoca son exclusivamente tónicas y fácilmente llevan al animal a la muerte por anoxia. Además, cabe mencionar que estas crisis convulsivas se desencadenan con cualquier

estímulo sensorial, razón por la cual los experimentos deben realizarse en un ambiente adecuado, libre de ruidos (Feria *et al.*, 1986).

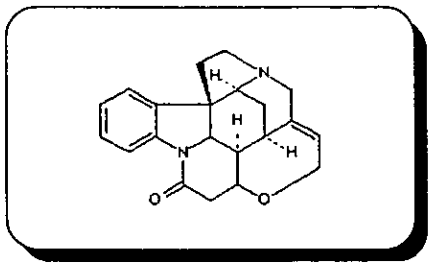


FIGURA 2. Estructura de la Estricnina

2.6.1.1.3. Bicuculina

La bicuculina (figura 3) es un alcaloide natural aislado de *Dicentra cucularia.* Se utiliza como agente convulsionante en modelos de epilepsia. Es un antagonista de la transmisión GABAérgica y tiene su sitio de acción sobre el receptor $GABA_A$ o sobre su canal asociado (Feria *et al.*, 1997).

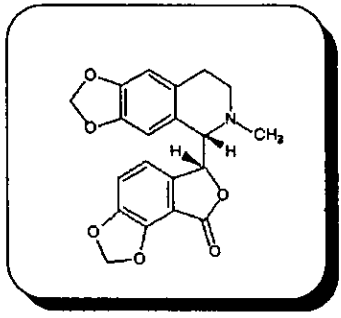


FIGURA 3. Estructura de Bicuculina

2.6.1.1.4. 4-Aminopiridina.

La administración por vía sistemica de la 4-aminopiridina, (figura 4) bloquea sustancialmente los canales de potasio debido a una fuerte despolarización positiva del potencial de membrana, incremento de la duración en la etapa de despolarización, y por las frecuencias de la despolarización (Fragozo-Veloz, 1990).

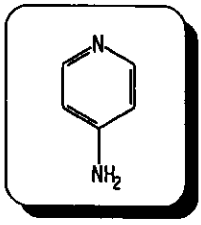


FIGURA 4. Estructura de 4-aminopiridina

2.6.1.1.5. Lidocaína.

Los anestésicos locales como la lidocaína (figura 5), inducen cierta neurotoxicidad asociada con el desarrollo de crisis convulsivas. Los anestésicos producen excitación central por la supresión de la neurotransmisión inhibitoria, intensificándose la transmisión excitatoria por glutamato mediada por la NMDA (n-metil-D-aspartato) (Barat y Rahman, 1997).

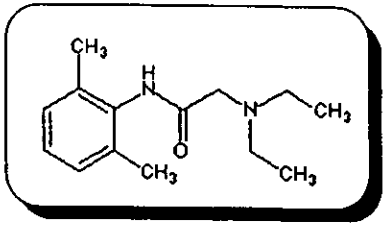


FIGURA 5. Estructura de Lidocaína

2.6.1.2. Inducción mediante la estimulación eléctrica (Electrochoque)

En el hombre, como en el animal de experimentación, la estimulación eléctrica del tejido cerebral produce actividad convulsiva. El electrochoque ha sido un modelo muy usado en animales de laboratorio por la facilidad del método para inducir las crisis convulsivas generalizadas. La mayoría de los anticonvulsionantes comúnmente usados, a excepción de los antiepilépticos antiausencias, son efectivos para proteger al animal de las crisis tónico-clónicas inducidas por electrochoque (Feria *et al.*, 1997).

El electrochoque consiste en aplicar un estímulo de pulso de polaridad alternante de 0.3 milisegundos de duración. Idealmente, la intensidad del estímulo debe ser fuerte para producir despolarización o (hiperpolarización) significativa de todas las neuronas que subyacen al electrodo estimulado, pero sin afectar al tejido cerebral. Cuando se utilizan electrodos grandes se recomienda un estimulación de 15 mA con pulsos breves de menos de 0.3 milisegundos de duración. La estimulación dolorosa o la inducción de posdescargas con estimulaciones de muy baja intensidad pueden ocurrir por la interferencia de un electrodo cuando se está valorando un sitio del cerebro. El dolor inducido por la estimulación es un problema que aún no se ha resuelto y no esta completamente estudiado. Hay evidencia que con una estimulación de 2.5 o más micro coulombios unidireccionales son necesarios para producir daño cuando se utilizan macro electrodos. Un aspecto importante para evitar daño es el uso de pulsos de polaridad alternante para que el flujo de cargas en ambas direcciones sea igual y esto también disminuye la liberación de iones en la interfase electrodo-cerebro. Se ha establecido que los intervalos de inter estímulo entre los pulsos alternantes de 50 milisegundos son efectivos en la protección (Feria *et al.*, 1997).

2.6.1.3. Estimulación eléctrica repetida de baja intensidad (KINDLING)

El cambio en la excitabilidad neuronal propuesto por Goddard *et al.*, (1969) consiste en el aumento progresivo de la posdescarga, aparición de espigas interictales y cambios conductuales que culminan con la aparición de crisis convulsivas generalizadas, en ocasiones también de aparición espontánea. Goddard denominó a dicho fenómeno, "kindling", que denota algo que activa y crece gradualmente.

La importancia del "kindling" como modelo de epilepsia radica en las similitudes muy significativas con la epilepsia humana, lo que indica que muy probablemente algunos mecanismos electrofisiológicos y bioquímicos son comunes para ambos procesos. Los aspectos conductuales que se observan en el "kindling", se parecen a los de las crisis parciales complejas y a las crisis tónico-clónicas secundariamente generalizadas en el ser humano.

El registro electroencefalográfico obtenido durante las diferentes etapas del "kindling", muestran una evolución y morfología similar al registro electroencefalográfico de pacientes con crisis convulsivas parciales complejas con posible origen en el lóbulo temporal. La presencia de espigas interictales en los animales con "kindling" ya establecido, son similares a las espigas interictales que se observan en pacientes epilépticos (Fitz *et al.*, 1979; Pinel *et al.*, 1978).

2.6.1.4. Fotosensibilidad en el mandril *Papio papio* (Feria *et al.*, 1997).

Es un modelo genético de epilepsia refleja generalizada descubierto y ampliamente estudiado por el grupo de Robert Naquet, en Francia. Sesenta por ciento de los mandriles *Papio papio* provenientes de la región de Casamance, en Senegal, son fotosensibles (Feria *et al.*, 1997).

La estimulación intermitente, a la frecuencia óptima de 25 Hz, provoca en estos monos mioclonias bilaterales que han sido clasificadas en 4 estadios en orden de intensidad creciente.

1. Mioclonias palpebrales aisladas.
2. Mioclonias palpebrales que se irradian a la cara y a la musculatura cervical
3. Mioclonias palpebrales que invaden secundariamente el conjunto del cuerpo, para tomar aspecto de miclonias masivas de aparición en salvas, que cesan en el momento de interrumpir.
4. Los animales más fotosensibles presentan mioclonias generalizadas seguidas de una crisis tónico-s|ónica.

Las mioclonias se acompañan de descargas paroxíticas de puntas de onda y polipuntas-onda, con una localización fronto-rolándica. Existe una relación temporal constante entre las puntas de onda corticales inducidas por la estimulación luminosa intermitente y las mioclonias. La punta es seguida, algunos milisegundos después, de una salva de activación muscular. La onda lenta se correlaciona con una inactivación muscular. Los grupos musculares se implican de acuerdo con un orden cronológico preciso: la mioclonia involucra en primer lugar, al músculo orbitario palpebral, después los otros músculos de la cara, después los miembros y finalmente la musculatura axial y proximal (Feria *et al.*, 1997).

2.6.1.5. Sensibilidad acústica en el roedor.

Las crisis audiogénicas ha sido descritas desde hace varios decenios. Inicialmente se les interpretó como una conducta de fuga más o menos bien adaptada, permitiendo el escape de una agresión sonora. Actualmente, la naturaleza epiléptica de las crisis parece ser demostrada con base en su sintomatología clínica y reactividad farmacológica. La crisis audiogénica se halla determinada genéticamente. Se observa en varias especies de

roedores, ratones, ratas, cobayos, hámsters, también en conejos y perros (Feria *et al.*, 1997).

En los animales sensibles, un sonido de fuerte intensidad provoca uno o dos episodios de carrera desbocada seguida de una crisis tónica en flexión o en extensión. El final de la fase tónica está marcada por elementos vibratorios discretos o por algunas sacudidas aisladas. La carrera y las crisis tónicas se siguen de un estado catatónico prolongado. Durante la crisis tónica, el EEG cortical no demuestra actividad epiléptica de tipo espiga-onda, sino más bien un aplanamiento de trazo que dura varios segundos, seguido de una actividad rápida de poca amplitud (Feria *et al.*, 1997).

Las crisis audigénicas son suprimidas por los antiepilépticos eficaces contra las crisis convulsivas generalizadas (fenitoina, carbamacepina, fenobarbital, valproato, etc.). Este modelo forma parte de pruebas de cernimiento (screening) utilizadas rutinariamente para estudiar nuevos antiepilépticos potenciales (Löscher *et al.*, 1988).

2.7. TRATAMIENTO DE LAS EPILEPSIAS

2.7.1. Fármacos Anticonvulsivos.

El fenobarbital fue el primer compuesto orgánico sintético en el que se conoció actividad anticonvulsiva (Hauptman, 1912).

En un descubrimiento de mucha importancia, Merrit y Putman, desarrollaron la prueba de convulsiones por electrochoque en animales de experimentación, para investigar a los agentes químicos con eficacia anticonvulsiva.

Hasta 1990 se disponía de aproximadamente 16 antiepilépticos y 13 de ellos pueden clasificarse en cinco grupos químicos muy similares. Estos grupos tienen en común una estructura de anillo heterocíclico similar, con diversos sustituyentes (figura 6).

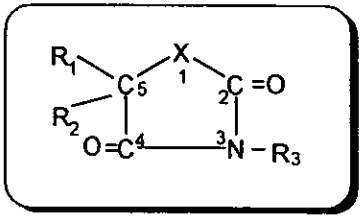


FIGURA 6. Estructura heterocíclica de los antiepilépticos.

La "X" varia como sigue: Derivados de la Hidantoína -N-; Barbitúricos -C-N; Oxozolidinadionas-O-; Succinmidas-C-; Acetilureas-NH_2 (N está conectado al C_2), R_1, R_2 y R_3 varia dentro de cada grupo (Tierney *et al.*, 1997).

Para los fármacos con esta estructura básica, los sustituyentes en el anillo heterocíclico similar, con diversos sustituyentes determinan la clase farmacológica, ya sea contra los electrochoques máximos o contra el pentilentetrazol (Tierney *et al.*, 1997).

Los fármacos restantes (carbamacepina, ácido valproico y benzodiacepinas) son estructuralmente distintos, al igual que los compuestos más nuevos del decenio de 1990 como: Vigabatrina, Oxocarbamacepina, Lamotrígina, Gabapentina y Felbamato (McNamara, 1996).

Los antiepilépticos muestran muchas propiedades similares, incluso aquéllos cuyas propiedades estructurales y químicas son muy diversas.

Los fármacos antiepilépticos se clasifican de acuerdo al tipo de crisis convulsivas en (Tierney *et al.*, 1997).

Fármacos utilizados en convulsiones parciales y tónico-clónicas generalizadas
Fármacos utilizados en convulsiones generalizadas.

2.7.1.1. Fármacos utilizados en convulsiones parciales y tonico-clónicas generalizadas.

Los principales fármacos utilizados para las convulsiones parciales y las tónico-clónicas generalizadas son fenitoína (y sus derivados), carbamacepina y barbitúricos.

2.7.1.1.1. Fenitoína.

La fenitoína (figura 7) es el antiepiléptico no sedante más antiguo, es una hidantoína sustituida con un difenilo.

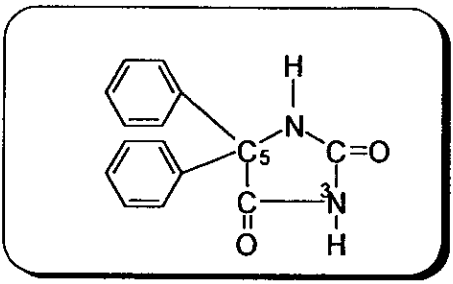


FIGURA 7. Estructura de la Fenitoína.

Mecanismo de Acción.

Altera la conductancia de Na^+, K^+ y Ca^{2+}, los potenciales de la membrana y las concentraciones de aminoácidos y de los neurotransmisores noradrenalina, acetilcolina y ácido gama-aminobutírico (GABA). Estudios con neuronas en cultivos celulares muestran que la fenitoína bloquea de manera sostenida la descarga repetida de alta frecuencia de los potenciales de acción (McNamara, 1996).

2.7.1.1.2. Carbamacepina.

La carbamacepina (figura 8) está estrechamente relacionada con la imiprimida y otros depresores; la carbamacepina es un compuesto tricíclico desarrollado originalmente para el tratamiento de la depresión bipolar. La fracción urido (-N-CO-NH_2) presente en el anillo heterocíclico de la mayoría de los antiepilépticos también se encuentra en la carbamacepina (Tierney *et al.*, 1997).

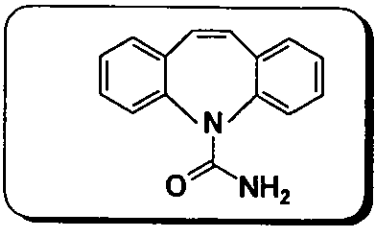


FIGURA 8. Estructura de la Carbamacepina.

Mecanismo de acción.

Es similar al de la fenitoína, la carbamacepina muestra actividad contra las convulsiones por electrochoque máximo. Estudios de permeabilidad de membrana indican, de igual modo, que la fenitoína bloquea los conductos de sodio en concentraciones terapéuticas e inhibe la descarga repetitiva de alta frecuencia en las neuronas en cultivo celular. La carbamacepina también inhibe la captación y liberación de noradrenalina a partir de sinaptosomas cerebrales, pero no influye en la captación de GABA en el frotis de encéfalo o en la inhibición posináptica inducida por el GABA, por lo que es probable que su acción sea independiente del sistema GABAérgico. Inhibe la despolarización de la terminación nerviosa dando como consecuencia la inhibición de la liberación de glutamato (McNamara, 1996).

2.7.1.1.3. Fenobarbital

Se considera uno de los antiepelépticos más seguros porque tiene menores efectos sedantes. Se considera a los barbitúricos como los fármacos de elección para las convulsiones en lactantes (Tierney *et al.*, 1997).

Las conformaciones tridimensionales del fenobarbital (figura 9) y del N-metilfenobarbital son casi idénticas a las de la fenitoína. Ambos compuestos poseen un anillo fenilo y son activos contra las convulsiones parciales.

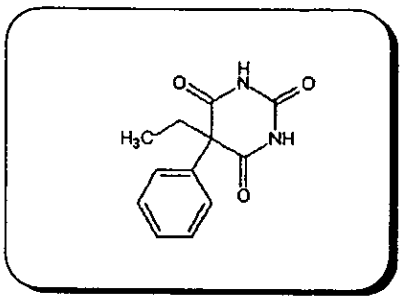


FIGURA 9. Estructura del Fenobarbital.

Mecanismo de acción.

El mecanismo de acción por el cual el fenobarbital inhibe las convulsiones incluye, posiblemente, potenciación de la inhibición neurotransmisión inhibitoria sináptica por una acción en el receptor $GABA_A$. Registros intracelulares de neuronas corticales o raquídeas del ratón pusieron de manifiesto que el fenobarbital intensifica las reacciones al GABA aplicado de manera ionoforética (Mac Donald y Barker, 1979).

Tanto pentobarbital como fenobarbital incrementan las corrientes mediadas por el receptor $GABA_A$. El efecto máximo del fenobarbital para incrementar las reacciones del GABA es sólo 40% de aquél del isómero activo del pentobarbital. Más aún, el pentobarbital inhibe a los canales de Ca^{+2} activados por el voltaje con mayor potencia que el fenobarbital (McNamara, 1996). Una consecuencia de la inhibición de estos canales del Ca^{+2} podría ser el bloqueo de la entrada de Ca^{+2} en las terminaciones presinápticas y la inhibición de la descarga de neurotranmisores como glutamato, con la subsecuente

reducción neta de la transmisión sináptica excitadora. Por lo tanto, la poderosa acción sedante del pentobarbital quizá se deba al mayor incremento máximo de las reacciones al GABA, junto con la inhibición de la corriente del Ca^{+2} (McNamara, 1996).

2.7.1.1.4 Vigabatrina.

El γ- vinil GABA (vigabatrina figura 10) es el primer anticonvulsivo creado con base en los datos obtenidos sobre los mecanismos de acción sinápticos que controlan el umbral convulsivo. La finalidad era, desde el punto de vista farmacológico, la inhibición sináptica mediada por GABA mediante bloqueo irreversible de la enzima degradadora GABA transaminasa (McNamara, 1994).

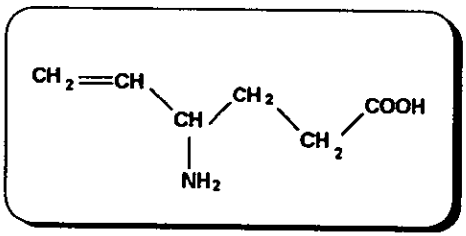


FIGURA 10. Estructura de la Vigabatrina.

Mecanismo de acción.

La Vigabatrina es un inhibidor irreversible de GABA transaminasa (GABA-T), la enzima que origina la degradación de GABA. Puede actuar aumentando el GABA en sitios sinápticos, incrementando los efectos inhibidores y, así de manera aún por determinarse, disminuyendo la hiperexcitabilidad que requiere para la generación y propagación de una convulsión epiléptica (McNamara, 1996).

2.7.1.1.5. Felbamato.

Es un dicarbamato aprobado en 1993 por la Food and Drug Administration de los Estados Unidos, para tratar las convulsiones parciales. Tiene una vida media de 20 horas y se elimina por vía hepática. La estructura del Felbamato se presenta en la (figura 11).

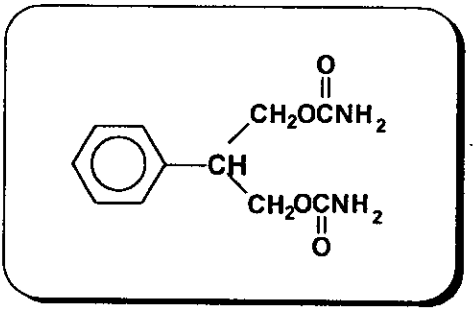


FIGURA 11. Estructura del Felbamato.

Mecanismo de acción.

Las concentraciones de importancia clínica de felbamato inhiben reacciones evocadas por NMDA, y potencian las evocadas por el GABA en registros de voltaje de pinzado celular completos de neuronas cultivadas del hipocampo de la rata (Rho *et al.*, 1994).

2.7.1.1.6. Lamotrigina

Se desarrolló pensando que los efectos antifolato de ciertos antiepilépticos (fenitoína) podrían contribuir a su eficacia. Es un derivado de la feniltriazina, se desarrollaron varias feniltiacinas, y aunque sus propiedades antifolato fueron débiles, algunas resultaron activas en pruebas de detección con respecto a las convulsiones, en las cuales este fármaco se asemeja a la fenitoína. En la (figura 12) se presenta su estructura.

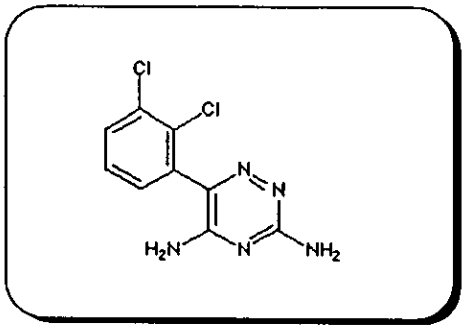


FIGURA 12. Estructura de Lamotrigina.

Mecanismo de acción.

La Lamotrigina inhibe la extensión tónica de los cuartos traseros en el modelo de convulsiones por electrochoque máximo. La Lamotrigina bloquea la activación repetitiva sostenida por despolarización de neuronas de la médula espinal *in vitro*, acción compatible con el bloqueo de los canales de Na^+ dependientes del voltaje (Tierney *et al.*, 1997).

2.7.1.2. Fármacos utilizados en convulsiones generalizadas.

2.7.1.2.1. Etosuximida.

Las succimidas se obtuvieron a partir de la búsqueda sistemática de medicamentos eficaces y menos tóxicos que las oxazolidindionas para el tratamiento de las crisis de ausencia. La etosuximida, (figura 13) con substituyentes alquil, es la más activa de las succimidas contra las convulsiones inducidas por el pentilentetrazol y es la sustancia más selectiva para tratar las crisis clínicas de ausencia.

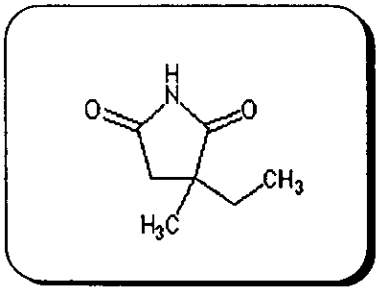


FIGURA 13. Estructura de Etosuximida.

Mecanismo de acción.

La Etosuximida reduce las corrientes del Ca^{+2} de bajo umbral (corrientes T) en las neuronas talámicas (McNamara, 1996). El tálamo cumple una función importante en la generación de ritmos de espigas y ondas de 3 Hz característicos de las crisis de ausencia: las neuronas del tálamo manifiestan espigas de corriente T de gran amplitud, subyacentes a las descargas de acción, y del mismo modo desempeña una función importante en la actividad talámica oscilatoria, como la actividad de espigas y ondas 3 Hz (McNamara, 1996).

2.7.1.2.2. Ácido Valpróico

El ácido valpróico (ácido n-dipropil acético, figura 14) es un ácido carboxílico de cadena ramificada simple. Otros ácidos carboxílicos de cadena ramificada tienen potencias semejantes a las del ácido valproíco para antagonizar las convulsiones inducidas por pentilentetrazol. Sin embargo, al aumentar a nueve el número de átomos de carbono, se obtienen propiedades sedantes notables. Los ácidos de cadena recta tienen poca o ninguna actividad. La amida primaria del ácido valpróico es más potente que el compuesto original (Tierney *et al.*, 1997).

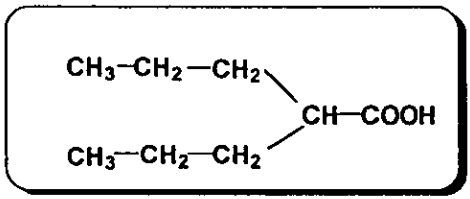


FIGURA 14. Estructura del ácido Valpróico.

Mecanismo de acción.

En neuronas aisladas, el ácido valpróico muestra efectos semejantes a los de fenilhidantoínas y etosuximidas. A concentraciones terapéuticas, inhibe la activación repetitiva sostenida, inducida por la despolarización de las neuronas corticales o de la médula espinal, en el ratón (MacLean y MacDonald, 1986). Esta acción es semejante a las de fenilhidantoinas y carbamacepina, y parece mediada por recuperación prolongada de los canales del Na^+ activados por voltaje, a partir de la inactivación (Tierney *et al.*, 1997).

Otro mecanismo que puede contribuir a las acciones anticonvulsivas de valproato se refiere al metabolismo del GABA. Aunque el valproato no tiene efecto en las

reacciones del GABA, incrementa la cantidad del GABA que se pueda recuperar del cerebro después de administrar este fármaco en animales. *In vitro*, se ha valorado que puede estimular la actividad de la enzima sintética del GABA, descarboxilasa del ácido glutámico (Phillips y Fower, 1982), e inhibir a las enzimas degradadoras del GABA, GABA transaminasa y semialdehido deshidrogenasa succínica.

2.7.1.2.3. Oxazolidinedionas (Trimetadiona).

La trimetadiona, (figura 15) la primera oxazolidinediona es un antiepiléptico para las convulsiones de ausencia hasta que fue desplazada por las succimidas. Ofreció la primera indicación clara de que los fármacos podrían ser selectivos para los diversos tipos de epilepsia, e impulsó la investigación sobre el mecanismo fisiológico básico de las crisis de ausencia, que antes habían sido resistentes al tratamiento (McNamara, 1996).

Los sustituyentes alquil del carbono en la posición 5 parecen ser importantes en la selectividad de las oxazolidindionas, lo mismo como antagonistas del pentilentetrazol en animales que como compuestos de utilidad clínica en la terapéutica de las crisis de ausencia (McNamara, 1996).

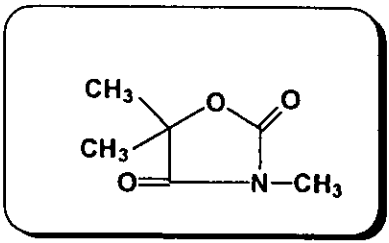


FIGURA 15. Estructura de Trimetadiona.

Mecanismo de acción.

Estos compuestos son activos contra las convulsiones inducidas por el pentilentetrazol. La trimetadiona aumenta el umbral para las descargas convulsivas después de la estimulación repetitiva. Tiene el mismo efecto en las corrientes talámicas de Ca^{+2} que la etosuximida (lo que reduce la corriente de calcio tipo T). Así, es probable que la supresión de las convulsiones de ausencia dependa del bloqueo de la acción de marcapasos de las neuronas talámicas (McNamara, 1996).

2.7.1.2.4. Benzodiacepinas.

El diacepam (figura 16) por vía intravenosa es sumamente eficaz para detener la actividad convulsiva continua, en especial el estado epiléptico tónico-clónico generalizado (McNamara, 1996).

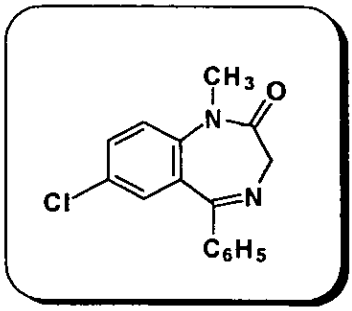


FIGURA 16. Estructura del Diacepam.

Mecanismo de acción.

Los efectos anticonvulsivos de las benzodiacepinas, lo mismo que otros causados por dosis no sedantes, son resultado en gran parte de su capacidad para intensificar los incrementos inducidos por el GABA en la conductancia por Cl^-. A concentraciones de importancia terapéutica, el diacepam y otras benzodiacepinas activas, potencian los efectos inhibidores producidos por la estimulación de diversas vías GABAérgicas e incrementan los cambios inducidos por el GABA en el potencial de membrana. Este último efecto podría deberse a incrementos de la frecuencia de descargas de abertura de los canales de Cl^- activados por el GABA (Twyman *et al.*, 1989).

La comprensión del mecanismo fisiológico y celular de ciertos tipos de epilepsia, específicamente de las de ausencia, ha contribuido al entendimiento de cómo actúan la mayoría de los fármacos antiepilépticos disponibles. Los avances en neurobiología han contribuido a dirigir la acción de los nuevos antiepilépticos. Tal es el caso de los antagonistas del NMDA-G que podrían actuar sobre algunos de los sitios de reconocimiento del receptor. Del mismo modo hay interés por diseñar y sintetizar moduladores de canales iónicos que actúen sobre el canal de sodio como lo hace la difenil hidantoínas (DFH 9; así también de inhibidores del canal de calcio que sean más seguros. Es obvio que existe aún la opción de sintetizar compuestos que aumenten la neurotransmisión inhibitoria del sistema GABAérgico (Feria *et al.*, 1997). En la tabla 4 se muestran los fármacos que potencian la inhibición GABAérgica.

C. Prototipo	Espectro de Acción	Mecanismo de acción
		PRESINAPTICO
Vigatrim (γ-vinil GABA)	Parcial compleja	Inhibidor irreversible de GABA-T, aumenta GABA cerebral liberable.
Valproato	Amplio: generalizadas T.C. Ausencias mioclónicas parciales	Activados de GAD e inhibidor de GABA-T, aumenta GABA cerebral
Tiagabina	En investigación	Bloqueador de la recaptura de GABA en neuronas y glia.
		POSTSINAPTICO
Barbitúricos y benzodiacepinas	Amplio: *status epilepticus*, febriles, mioclónicas, ausencias	Modifica el multirreceptor GABA canal Cl^-. Prolonga la duración de apertura del canal de Cl^- correspondiente
		PRE Y POSTSINAPTICA
Progabide	Amplio	Receptores $GABA_A$ y GABA

Tabla 4 . Antiepilépticos que potencian la inhibición GABAérgica (Feria *et al.*, 1997).

En la actualidad, existen varios compuestos prometedores que están en diferentes etapas de investigación, entre ellos sobre salen: clozabam, denzimol, felbamato etc. En México, con el propósito de· contribuir al desarrollo de nuevos fármacos anticonvulsionantes, se ha estudiado intensamente una serie de derivados de fenil alcohol aminas, que son potentes en varios modelos experimentales de epilepsia (Meza *et al.*, 1990). Todos los fármacos nuevos se han diseñado racionalmente, con base en su mecanismo de acción molecular, y por ello es factible que en la década próxima se sinteticen varios compuestos dirigidos a actuar sobre moléculas o sobre partes específicas de macromoléculas como los multirreceptores $GABA_A$. En la tabla 5 se muestran los fármacos en experimentación clínica (Feria *et al.*, 1997).

Compuestos	Espectro de Acción	Mecanismo de Acción	Observaciones
Oxicarbamcepina	CGTC	Profármaco de CBZ	Mejor que CBZ
Lamotrigina	CGTC	Antifolato, antagoniza NMDA-G Profármaco de glicina	Efectividad clínica reducida
Zonisamina	EM	Modula canales de Na^+, bloquea canales de Ca^+	Riesgo litiasis renal Desventaja de reacciones extrapiramidales
Felbamato	Amplio		
Estiripentol	Amplio	Inhibe recaptura de GABA y bloquea GABA-T	
Topiramida	EP	Modulador de canales de Na^+	
Eterobarb	Amplio, EPR	Multirreceptor $GABA_A$	Actividad hipnótica reducida
Taltrimida	Ausencias	Agonista de taurina	Eficacia clínica limitada
Tiagabina	Ausencias	Inhibe recaptura de GABA	Neurotoxicidad en evaluación
Clobazam	Amplio	Multirreceptor $GABA_A$-BZ	Desarrolla tolerancia
AHR-12245	Ausencias	Desconocido	

Tabla 5. Nuevos antiepilépticos en experimentación clínica (Feria *et al.*, 1997).

2.8. Generalidades de *Zanthoxylum liebmannianum.*

2.8.1. Descripción.

La descripción encontrada en la literatura para *Zanthoxylium liebmannianum* señala las siguientes características (Stanley, 1920):

Es un arbusto o árbol pequeño de 3-4.5 m de altura, y con espinas esparcidas, foliolos de 1.3 cm de largo, verde amarillento y granulados, con dientes muy pequeños, semillas negras lustrosas brillantes, originalmente fue descrito un ejemplar de San Juan municipio del estado de Oaxaca.

El género *Zanthoxylum* (Rutaceae) comprende alrededor de 80 especies (Della-Casa *et al.*, 1972)

En México, se han registrado 17 especies del género *Zanthoxylum* (Reyes *et al*, 1991)

El nombre " Colopahtle " proviene de los vocablos de la lengua Náhuatl: *Colotl*, que significa alacrán o gancho y de *Pahtli*, que significa hierba que modifica al organismo y se utiliza en el Náhuatl para designar a una planta medicinal o estupefaciente (Navarrete, 1996).

2.8.2. Distribución.

En México se localiza al norte y centro de la República hasta llegar al sur, en los estados de Oaxaca, Michoacán, Hidalgo, Puebla y Chiapas (Stanley, 1920).

2.8.3. Fitoquímica.

El estudio fitoquímico de esta planta permitió aislar e identificar al α- sanshool, una N-isobutilamida, como el compuesto responsable del efecto adormecedor de los labios y lengua (Reyes *et al*, 1991). El α-sanshool es un compuesto que se ha encontrado en varias especies del género *Zanthoxylum* (Takeya *et al.*, 1982)

De la corteza y hojas del *Zanthoxylum liebmannianum* (Colopahtle) se tienen trabajos previos que describen el aislamiento de los siguientes metabolitos: un lignano (sesamina), dos esteroles (β-sitosterol, β-(D)-glucósido de β-sitosterol) (Jiménez, 1989), un sesquiterpeno (β-hidroxijunennol) (Reyess *et al.*, 1991). También se aisló otro lignano (asarinina) y un flavonoide (hiperina), (Arrieta, 1997).

2.8.4. Actividad biológica.

Los extractos de *Zanthoxylium liebmannianum* se han sometido a ensayos para evaluar su actividad amebicida. En este estudio se determinó que existe un efecto sobre las enzimas hexocinasa y fosfoglucomutasa de *Entamoeba histolytica* (Jiménez, 1989). También la decocción de la corteza de *Zanthoxylium liebmannianum*, disminuye la cuenta de huevecillos de nemátodos en borregos y se ha logrado identificar al α-sanshool, como el principio activo nematicida de esta planta en contra del *Ascaris suum* (Navarrete y Hong, 1996). Así como también se ha descrito que provoca convulsiones en ratas y ratones (Navarrete y Hong, 1996).

2.8.5. Generalidades de las N-isobutilamidas.

Las N-isobutilamidas forman una familia de compuestos presentes en las plantas de las familias Rutaceae, Asteraceae y Aristolochiaceae (Blade, 1990; Rossi *et al*, 1991, Yasuda *et al*, 1981). Presentan una serie de actividades biológicas entre las que se encuentran la acción antibacteriana, piscicida, molusquicida, anti-inflamatoria, antitusígena, anestésica local, inhibidora de la germinación, insecticida, inhibidora de la ingesta de alimentos en insectos fitófagos de interés agronómico y larvicida en moscos (Elliot *et al*, 1987; Kubo *et al.*, 1984; Oriowo, 1982; Yasuda *et al.*, 1981).

Estructuralmente, las N-isobutilamidas están formadas por una cadena hidrocarbonada con diferente grado de insaturación, geometría y longitud. Las insaturaciones son de naturaleza olefínica, acetilénica o bien olefínica unida a anillos aromáticos libres o sustituidos, tanto homocíclicos como heterocíclicos (Navarrete, 1996).

Las N-isobutilamidas alifáticas con varias insaturaciones son poco estables en presencia de aire, lo que dificulta su purificación y caracterización (Elliot *et al.*, 1987), así como su evaluación biológica, ya que se dispone de ellas por poco tiempo.

De la corteza y el fruto de diferentes especies de *Zanthoxylium* se han encontrado isobutilamidas de 12 a 14 átomos de carbono, con una conjugación de los dobles enlaces con el grupo amida y con una geometría E. Ejemplos de algunas isobutilamidas aisladas de especies de *Zanthoxylium* (Haral, 1984) son la Neoherculina (figura 17) y el α-Sanshool (figura 18).

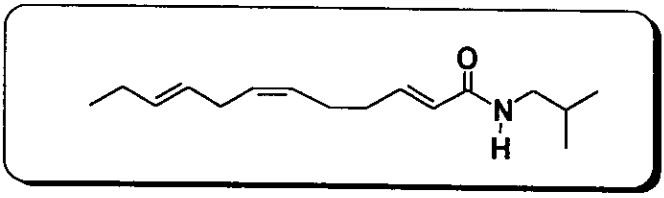


FIGURA 17. Estructura de la Neoherculina.

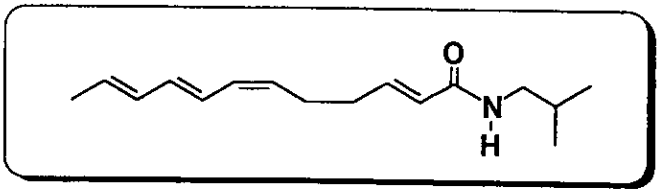


FIGURA 18. Estructura del α- Sanshool.

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los aspectos clínicos de algunas convulsiones generalizadas, en especial las convulsiones de ausencia, se correlacionan en alto grado con las convulsiones experimentales generadas en animales por la administración sistémica de agentes convulsionantes tales como pentilentetrazol, bicuculina, ácido kaínico, etc. Así mismo, las convulsiones parciales en los seres humanos se correlacionan de manera positiva con las convulsiones por electrochoque máximo (ECM).

En un trabajo previo se describe que el α-sanshool tiene propiedades convulsionantes en ratón (Navarrete y Hong, 1996); sin embargo, no se tiene un estudio que permita describir y comparar el tipo de convulsiones provocadas por el α-sanshool con las convulsiones provocadas por otros agentes químicos, y así también se desconoce el comportamiento de los fármacos antiepilépticos principales sobre la inhibición de las convulsiones provocadas por este compuesto. Por lo que, este estudio trata sobre la evaluación de la actividad convulsionante de α-sanshool, aislado de *Zanthoxylium liebmannianum* (Colopahtle), y de la interacción de estos compuestos con algunos fármacos antiepilépticos, con el propósito de proponerlo como herramienta farmacológica en el estudio y en la investigación del desarrollo de nuevos fármacos anticonvulsivos o antiepilepticos.

4. HIPÓTESIS

La hipótesis que guió la presente investigación fue:

La comparación del efecto convulsionante del α- sanshool con los efectos de otros convulsionantes comunes, en lo relativo a tipo de convulsiones, período de latencia, potencia relativa convulsionante e inhibición de las convulsiones por fármacos anticonvulsionantes conocidos, permitirá describir las características generales de las convulsiones provocadas por el α- sanshool, para proponerlo como herramienta farmacológica en el estudio de las convulsiones.

5. OBJETIVOS

Para poder contrastar la hipótesis de trabajo se plantearon los siguientes objetivos:

5.1. Objetivo general.

Caracterizar las propiedades convulsionantes del α-Sanshool por la comparación del tipo de convulsiones, potencia relativa con respecto a otros agentes convulsionantes e inhibición de las convulsiones con fármacos anticonvulsionantes en ratones albinos.

5.2. Objetivos particulares.

a. Aislar e Identificar al α-sanshool del extracto de cloruro de metileno de la corteza de *Zanthoxylium liebmannianum*

b. Determinar la ventana de actividad convulsionante del α sanshool en ratón albino.

c. Determinar la dosis efectiva 50 (DE_{50}) convulsionante del α-sanshool en ratón albino.

d. Comparar el efecto convulsionante del α-sanshool con otros convulsionantes tales como: estricnina, 4-aminopiridina, bicuculina y pentilentetrazol.

e. Evaluar la capacidad de inhibición de las convulsiones inducidas por el α-sanshool de los fármacos anticovulsivos diacepam, carbamacepina, etosuximida y pentobarbital.

6. MATERIALES Y MÉTODOS.

6.1. Material

6.1.1. Material de vidrio

Placas para cromatografía en capa fina de 3 x 5 cm.

Columnas de vidrio para cromatografia en columna de diferentes tamaños

Vasos de precipitados de 1000, 250, 100 y 50 mL

Matraces bola de boca esmerilada de 250, 100 y 50 mL

Matraz Erlenmeyer de 250, 125 y 50 mL

Embudos de separación de 500, 250 y 100 mL

Probetas de 1000, 500, 100, 50 y 10 mL

Embudos de vidrio de tallo corto y largo

Espátulas de diferentes tamaños

Soportes universales

Anillos metálicos

Trampa para vacío

Refrigerantes rectos

Refrigerantes de serpentín

Tubos capilares

Jeringas de 5, 3 y 1 mL

Rejillas de acrílico para animales

6.1.2. Reactivos y Fármacos.

Gel de Sílice (Merck 70-230) (tamaño de partícula de 0.063-0.20 mm) para cromatografía en columna.

Placas de gel de sílice 60 F_{254} para cromatografía en capa fina.

Disolventes orgánicos: hexano, cloroformo, acetona, acetato de etilo, metanol, etanol y cloruro de metileno grado R.A.

Carbonato de sodio.

Cloruro de sodio

Hidróxido de sodio.

Sulfato de sodio anhidro.

Ácido clorhídrico.

Sulfato cérico amoniacal.

Agua destilada.

Dimetilsulfóxido

Pentilentetrazol

Estricnina

4-aminopiridina

Bicuculina

Ácido kaínico

Diacepam

Carbamacepina

Etosuximida

Lidocaína

6.1.3. Equipo e instrumentos.

Rotavapor Büchi RE 111.

Parrilla de calentamiento

Bomba para vacío

Lámpara de luz ultravioleta Modelo USV-11 (254nm).

Balanza analítica (August Sauter GmbH D-7470 Albstadt Ebingen).

Balanza semianalítica.

Espectrófotometro de infrarrojo modelo Perkin Elmer 16 F PC FT.

Balanza para animales.

Sonicador Bransonic 1210R- MTH.

6.2. Metodología

6.2.1 Material Vegetal

La corteza de *Zanthoxylium liebmannianum,* utilizada para este estudio fue colectada en San Andrés Cacaloapan, municipio de Tehuacán, Puebla. La recolección se hizo en septiembre de 1996. El material vegetal se secó a la sombra a temperatura ambiente, posteriormente se pulverizó en un molino manual.

La corteza seca y molida (2 kg) de *Zanthoxylium liebmannianum* (Colopahtle), se colocó en un matraz y se puso a reflujo durante 30 minutos con agua destilada (6 L). Después de esto se separó el agua y se secó la corteza a temperatura ambiente. Posteriormente se extrajo con metanol (6 L) y cloruro de metileno (6 L) en forma sucesiva. El disolvente se eliminó a presión reducida en un rotavapor, obteniéndose 150 g de extracto de cloruro de metileno (Diagrama 1).

6.2.2. Separación Cromatográfica del α- Sanshool.

Para separar el α-sanshool se siguió un procedimiento previamente descrito (Navarrete y Hong, 1996) el cual consistió en lo siguiente:

El α-sanshool se obtuvo del extracto de cloruro de metileno por cromatografía en columna en pequeñas porciones de 6 a 8 g de extracto.

Por cada gramo de extracto se utilizaron 10 de gel de sílice (Silica gel Merck 70-malla 230). La elución se hizo con cloruro de metileno, recogiéndose 60 fracciones de 20 mL cada una.

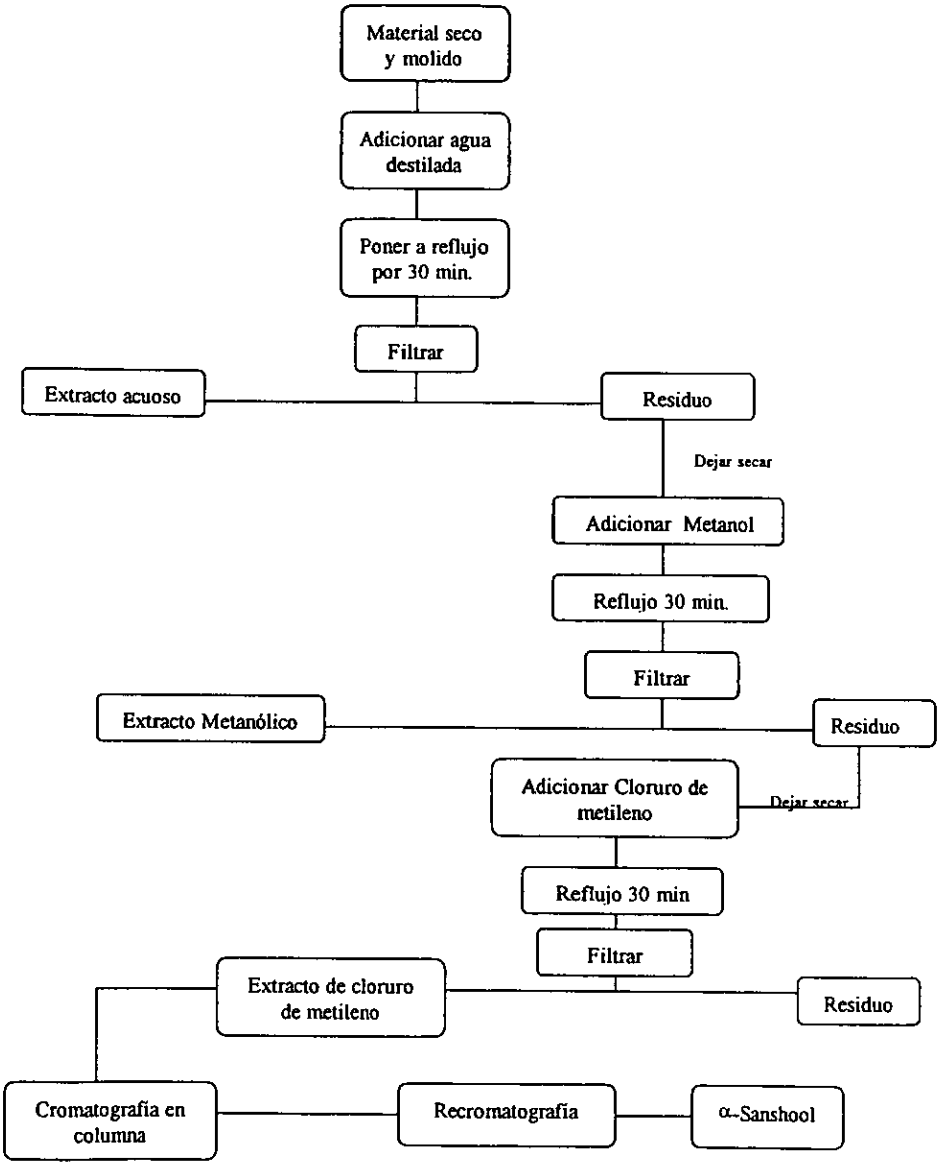


DIAGRAMA 1. Procedimiento para el Aislamiento del α-Sanshool.

El α-sanshool se obtuvo en las fracciones 25- 45, posteriormente se purificó en otra columna cromatográfica pequeña eluida con cloruro de metileno y acetato de etilo (9:1), él α-sanshool se obtuvo como un aceite amarillo el cual fue identificado por sus propiedades físicas y espectroscópicas (Reyes *et al.*, 1991) en las fracciones 15-20.

6.2.3. Determinación de la ventana de actividad biológica convulsionante del α-Sanshool en ratón albino.

Se utilizaron ratones albinos de ambos sexos con un peso de entre 25-35 g. y de 60 días de edad; Los animales se pusieron en ayuno de 24 horas previas al experimento con libre acceso al agua. Se utilizaron grupos de 6 animales para cada tratamiento.

A cada grupo de ratones se les administró por vía intraperitoneal el α-sanshool a diferentes dosis, utilizando como vehículo dimetil sulfóxido (DMSO) al 50 % y solución salina, así como un grupo control (diagrama 2).

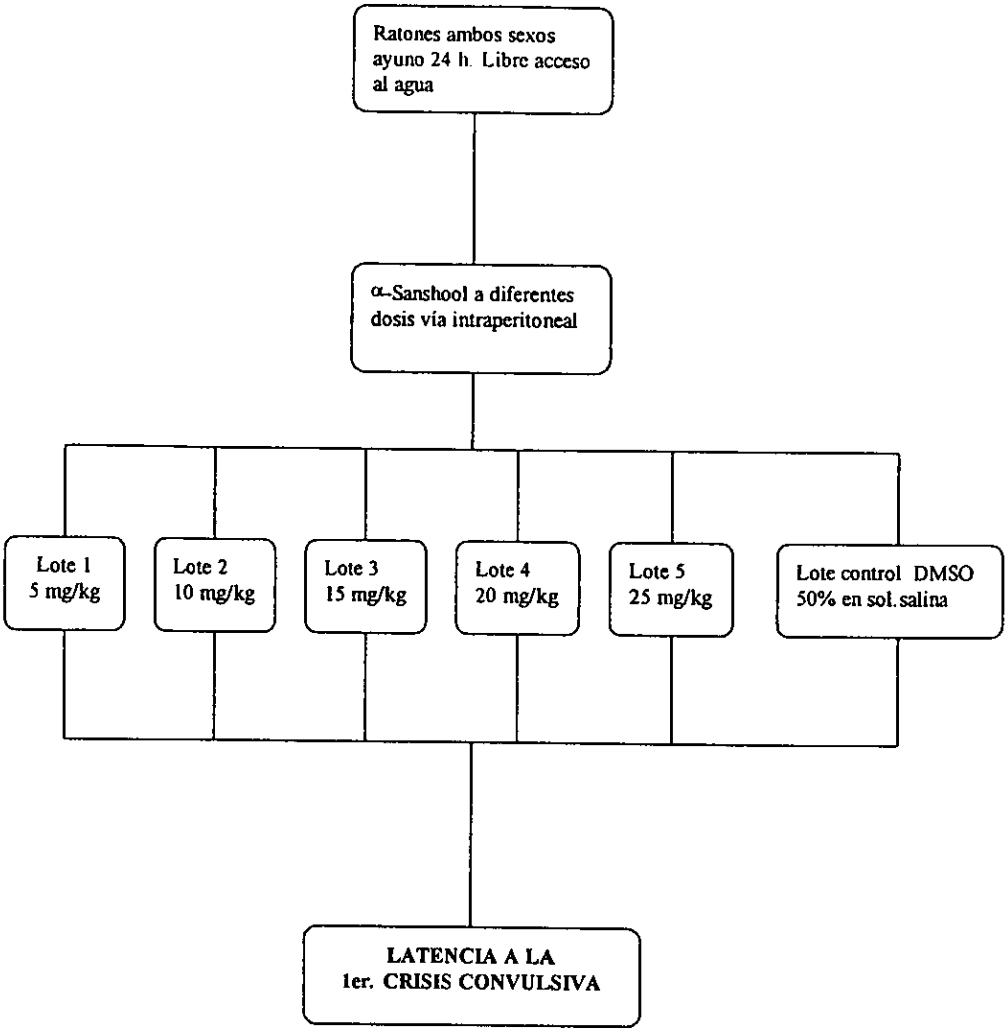


DIAGRAMA 2. Determinación de la ventana de actividad biológica inducida por α-Sanshool a diferentes dosis en ratón albino.

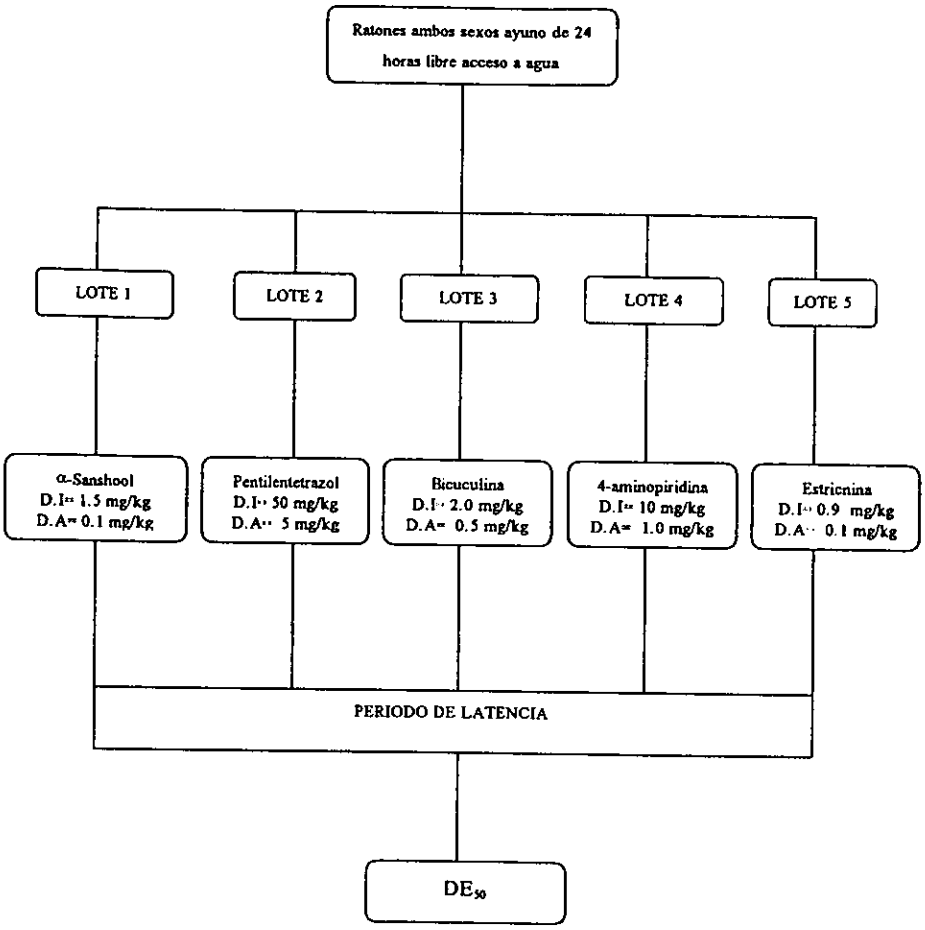
6.2.4. Determinación de la Dosis Efectiva 50 (DE_{50}) y Periodo de latencia de los diversos agentes convulsionantes: (pentilentetrazol, 4-aminopiridina, bicuculina, estricnina, α-sanshool).

Se utilizaron ratones albinos de ambos sexos con un peso aproximado de 25-35 g. y 60 días de edad, con ayuno de 24 horas previas al estudio con libre acceso al agua. Los animales se distribuyeron en grupos de 30.

La administración de los agentes convulsionantes se realizó por vía intraperitoneal, con un volumen de 0.1mL/10 g de peso, en dosis acumulativas (Turner,1965) esperando en cada administración un lapso igual a su periodo de latencia de cada uno de los agentes convulsionante (diagrama 3). En la tabla 6 se presentan los vehículos en los que se administraron los diferentes agentes convulsionantes y los periodos de latencia convulsionante de la literatura.

AGENTE CONVULSIONANTE	VEHICULO	INTERVALO DE DOSIFICACIÓN
PENTILENTETRAZOL	SOLUCION SALINA	1.22 MINUTOS
ESTRICNINA	SOLUCION SALINA	3.04 MINUTOS
BICUCULINA	SOLUCION AMORTIGUADORA DE FOSFATOS	1.16 MINUTOS
4-AMINOPIRIDINA	SOLUCION SALINA	3.00 MINUTOS
α-SANSHOOL	DMSO 50% EN SOLUCION SALINA	2 SEGUNDOS

Tabla 6. Agentes convulsionantes y vehículo de administración.



D.I.= dosis inicial D.A.= dosis acumulativas

DIAGRAMA 3. Determinación de la dosis efectiva 50 (DE_{50}) de los diversos agentes convulsionantes: pentilentetrazol, bicuculina, 4-aminopiridina, estricnina y α - sanshool. Las dosis se administraron a cada animal en forma acumulativa (D.A) a partir de la dosis inicial (D.I.) marcada en cada caso y con incrementos de la dosis (D.A) en cada administración después de esperar el período de latencia marcado en la tabla 6.

6.2.5. Evaluación de la inhibición de las convulsiones provocadas por α-sanshool, con diversos fármacos anticonvulsivos: diacepam, carbamacepina, etosuximida y pentobarbital.

Se utilizaron ratones albinos de ambos sexos con un peso aproximado de 25-35 g y 60 días de edad, con ayuno de 24 horas previo al estudio con libre acceso al agua. Se utilizaron grupos de 6 animales cada uno.

Los fármacos anticonvulsivos se administraron por vía intraperitoneal a diferentes dosis en un volumen de 0.1 mL por cada 10g de peso, la administración de estos fue 30 minutos antes de administrar él α-sanshool a la dosis de 9 mg/kg que asegura que el 100 % de los animales convulsionan. El α-sanshool se administró disuelto en DMSO al 50% en solución isotónica. En la tabla 7 se presentan los fármacos anticonvulsionante y a las dosis administradas y así como los vehículos empleados.

FÁRMACO ANTICONVULSIVO	DOSIS	VEHICULO
Carbamacepina	150 mg/kg 200 mg/kg	Propilenglicol
Etosuximida	300 mg/kg	Solución salina
Diacepam	2 mg/kg 5 mg/kg 7,5 mg/kg 8.5 mg/kg 10 mg/kg	Solución salina
Pentobarbital sódico	42 mg/kg 63 mg/kg	Solución salina

Tabla 7. Dosis y vehículos en los cuales se administraron los fármacos anticonvulsivos.

7. RESULTADOS

7.1. Estudio Fitoquímico.

El estudio químico se inició reproduciendo el procedimiento utilizado en el trabajo previo, para obtener el α-sanshool, en el cual se descubrieron las propiedades convulsionantes del α-sanshool (Navarrete y Hong, 1996).

El α-sanshool se aisló del extracto de cloruro de metileno, obteniéndose 150 g del extracto a partir de 2 kg de planta seca. El aislamiento se hizo por cromatografía en columna en porciones de 6-8 g, obteniéndose un rendimiento del 4.5 % con respecto al extracto de cloruro de metileno. Se realizó en pequeñas porciones ya que el α- sanshool se degrada rápidamente.

La identificación del α- sanshool se realizó de acuerdo con sus propiedades físico químicas y espectroscópicas (Reyes *et al.*, 1991).

7.2. Estudio Farmacológico.

7.2.1. Determinación de la ventana de actividad biológica.

El efecto convulsivo del α-sanshool se presentó en las diferentes dosis probadas, encontrándose que a dosis mayores de 10 mg/kg de peso, todos los animales presentaron convulsiones de tipo tónico-clónicas. En la tabla 8 se presentan los resultados obtenidos en este experimento.

DOSIS (mg/kg de peso)	n (No. de animales)	r * Convulsiones	r ** Muerte
5	6	3/6	3/6
10	6	6/6	6/6
15	6	6/6	6/6
20	6	6/6	6/6
25	6	6/6	6/6

* No. de animales que convulsionaron

* *No. de animales que murieron

Tabla 8. Determinación de la ventana de actividad biológica convulsionante inducida por α-Sanshool a diferentes dosis.

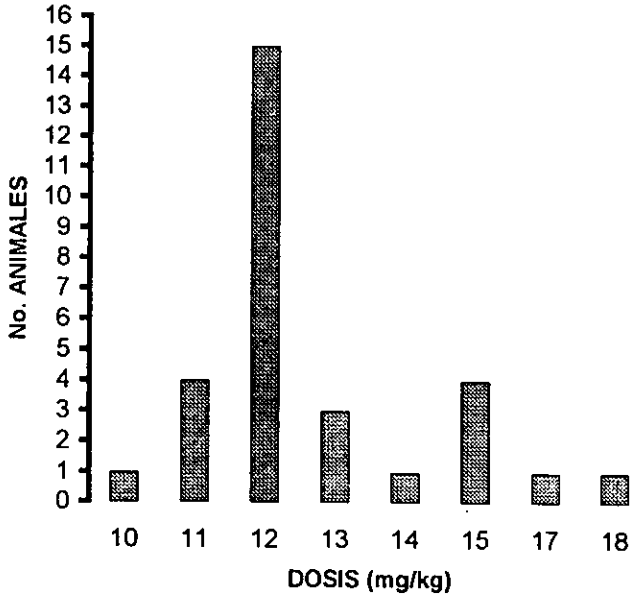
7.2.2. Determinación de la Dosis Efectiva 50 (DE_{50}) convulsionante.

El agente convulsionante se administró en forma individual a cada animal hasta que se presento el efecto convulsionante, dejando un intervalo de tiempo igual al periodo de latencia. Se obtuvieron las frecuencias de respuesta para cada dosis y para cada agente convulsionante.

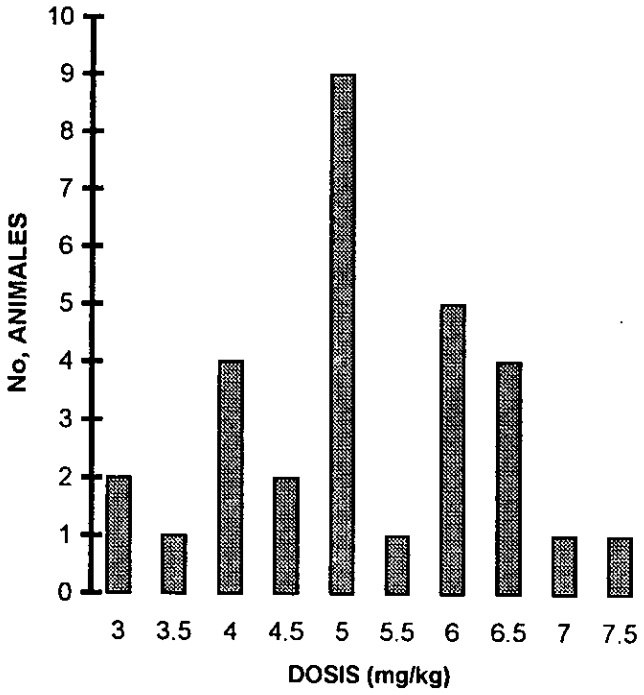
En las gráficas 1 a 5 se muestran las frecuencias convulsionantes encontradas en cada dosis y para cada agente convulsionante.

Se calcularon las frecuencias acumulativas y los probits correspondientes para determinar la dosis efectiva 50 (DE_{50}). El calculo se realizó utilizando un software programa de cómputo no comercial desarrollado en el departamento de Farmacología y Toxicología del CINVESTAV-IPN.

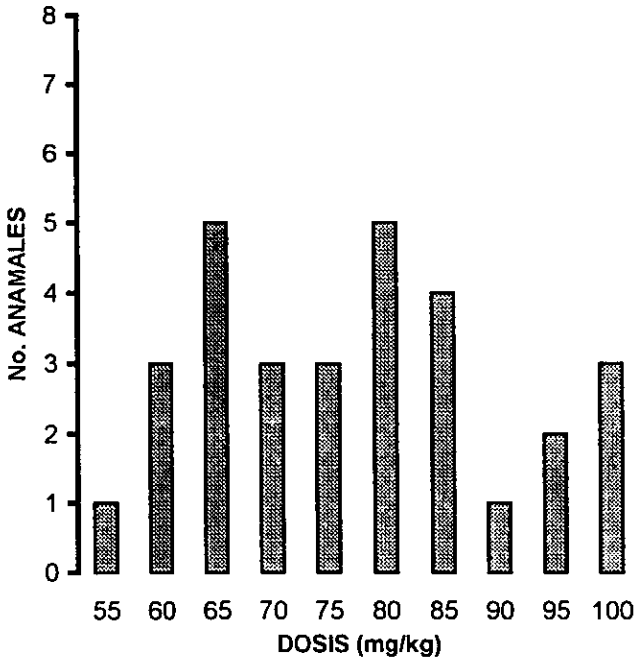
En las tablas 9 a 13 se presentan los valores de las frecuencias acumulativas a diferentes dosis de los diferentes agentes convulsionantes, así como los probits encontrados.



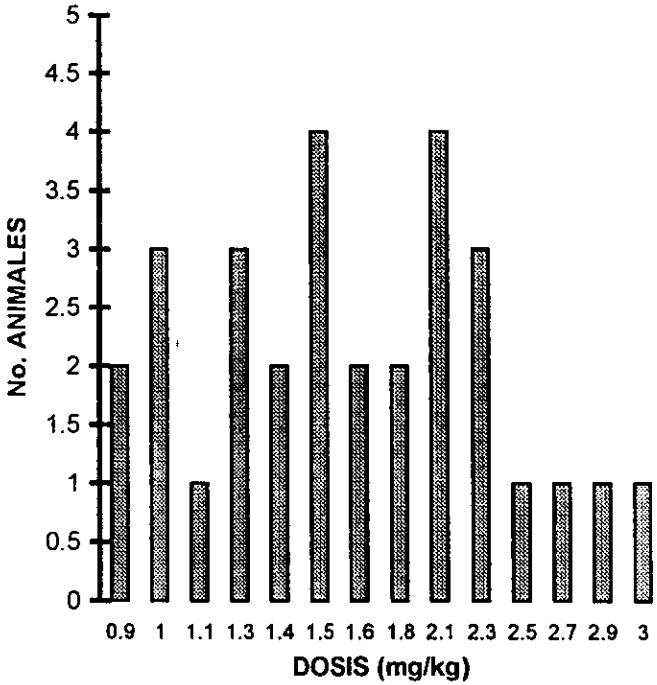
GRÁFICA 1 . Frecuencia de la respuesta convulsionante para la 4-aminopiridina con una dosis inicial de 10.0 mg/kg y dosis acumulativas de 1 mg/kg. La administración se realizó en un grupo de 30 animales.



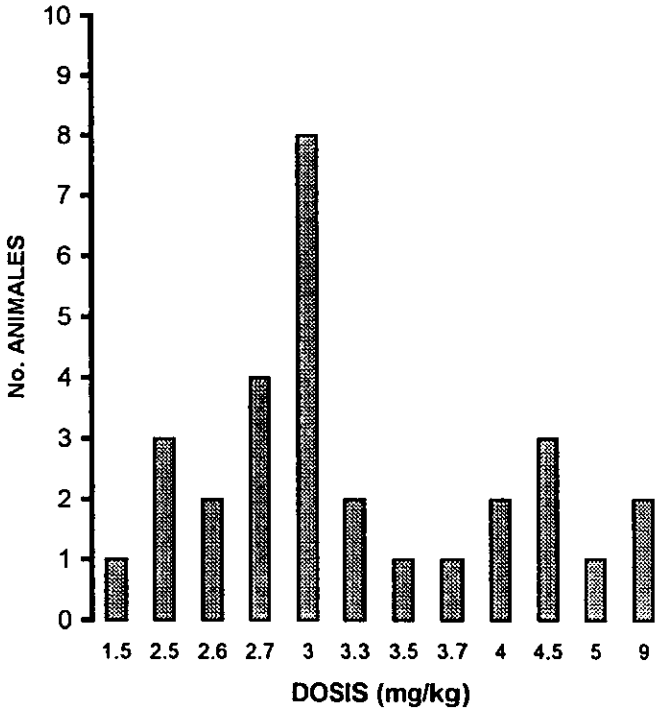
GRÁFICA 2. Frecuencia de la respuesta convulsionante para la Bicuculina con una dosis inicial de 2 mg/kg y dosis acumulativas de 0.5 mg/kg . La administración se realizó en un grupo de 30 animales.



GRÁFICA 3. Frecuencia de la respuesta convulsionante para el pentilentetrazol con una dosis inicial de 50 mg/kg y dosis acumulativas de 5 mg/kg. La administración se realizó en un grupo de 30 animales.



GRÁFICA 4. Frecuencia de la respuesta convulsionante para la estricnina con una dosis inicial de 0.8 mg/kg y dosis acumulativas de 0.1 mg/kg. La administración se realizó en un grupo de 30 animales.



GRÁFICA 5. Frecuencia de la respuesta convulsionante para el α-Sanshool con una dosis inicial de 1.0 mg/kg y dosis acumulativas de 0.1 mg/kg. La administración se realizó en un grupo de 30 animales.

4--AMINOPIRIDINA					
Dosis	Frecuencia	Frecuencia Acumulativa r	P (r/n)	Probits	Logaritmo Dosis
10	1	1	0.03	3.58	1.0
11	4	5	0.17	4.23	1.0414
12	15	20	0.67	4.83	1.0792
13	3	23	0.77	5.39	1.1139
14	1	24	0.80	5.90	1.1461
15	4	28	0.93	6.37	1.1761
17	5	29	0.97	7.24	1.2304
18	1	30	1.00	7.63	1.2553

n= 30 animales DE_{50} (IC 95%) = 12.10 mg/kg (11.6-12.5)

Tabla 9 . Frecuencias acumulativas y Probits para determinación de la DE_{50} de 4-aminopiridina.

BICUCULINA					
Dosis	Frecuencia	Frecuencia Acumulativa r	P (r/n)	Probits	Logaritmo Dosis
3	2	2	0.07	3.17	0.4771
3.5	1	3	0.10	3.79	0.5441
4.0	4	7	0.23	4.33	0.6021
4.5	2	9	0.30	4.80	0.6532
5.0	9	18	0.60	5.22	0.6990
5.5	1	19	0.63	5.61	0.7404
6.0	5	24	0.80	5.96	0.7782
6.5	4	28	0.93	6.28	0.8129
7.0	1	29	0.97	6.58	0.8451
7.5	1	30	1.00	6.86	0.8751

n= 30 animales DE_{50}(IC95%)= 4.78 mg/kg (4.55-5.03)

Tabla 10. Frecuencias acumulativas y Probits para determinación de la DE_{50} de Bicuculina.

PENTILENTETRAZOL					
Dosis	Frecuencia	Frecuencia Acumulativa r	P (r/n)	Probits	Logaritmo Dosis
50	1	1	0.03	3.37	1.7404
55	3	4	0.13	3.84	1.7782
65	5	9	0.30	4.28	1.8129
70	3	12	0.40	4.68	1.8451
75	3	15	0.50	5.06	1.8751
80	5	20	0.67	5.41	1.9031
85	4	24	0.80	5.74	1.9294
90	1	25	0.83	6.06	1.9542
95	2	27	0.90	6.35	1.9777
100	3	30	1.00	6.63	2.000

n= 30 animales DE_{50}(IC95%)= 73.61 mg/kg (70.9-76.3)

Tabla 11. Frecuencias acumulativas y Probits para determinación de la DE_{50} de Pentilentetrazol.

ESTRICNINA					
Dosis	Frecuencia	Frecuencia Acumulativa r	P (r/n)	Probits	Logaritmo Dosis
0.9	2	2	0.07	3.58	-0.0458
1.0	3	5	0.17	3.86	0.000
1.1	1	6	0.20	4.11	0.0414
1.3	3	9	0.30	4.56	0.1139
1.4	2	11	0.37	4.76	0.1461
1.5	4	15	0.50	4.94	0.1761
1.6	2	17	0.57	5.11	0.2041
1.8	2	19	0.63	5.43	0.2553
2.1	4	23	0.77	5.84	0.3222
2.3	3	26	0.87	6.08	0.3617
2.5	1	27	0.90	6.31	0.3979
2.7	1	28	0.93	6.51	0.4314
2.9	1	29	0.97	6.70	0.4624
3.0	1	30	1.00	6.79	0.4771

n= 30 animales DE_{50}(IC95%)= 1.53 mg/kg (1.44-1.62)

Tabla 12. Frecuencias acumulativas y Probits para determinación de la DE_{50} de Estricnina.

α-SANSHOOL					
Dosis	Frecuencia	Frecuencia Acumulativa r	P (r/n)	Probits	Logaritmo Dosis
1.5	1	1	0.03	2.85	0.1761
2.5	3	4	0.13	4.41	0.3979
2.6	2	6	0.20	4.53	0.4150
2.7	4	10	0.33	4.64	0.4314
3.0	8	18	0.60	4.96	0.4771
3.3	2	20	0.67	5.25	0.5185
3.5	1	21	0.70	5.43	0.5441
3.7	1	22	0.73	5.60	0.5686
4.0	2	24	0.80	5.84	0.6021
4.5	3	27	0.90	6.20	0.6532
5.0	1	28	0.93	6.52	0.6990
9.0	2	30	1.00	8.31	0.9542

N= 30 animales DE_{50}(IC95%)= 3.06 mg/kg (2.9-3.22)

Tabla 13. Frecuencias acumulativas y Probits para la determinación de la DE_{50} de α-Sanshool.

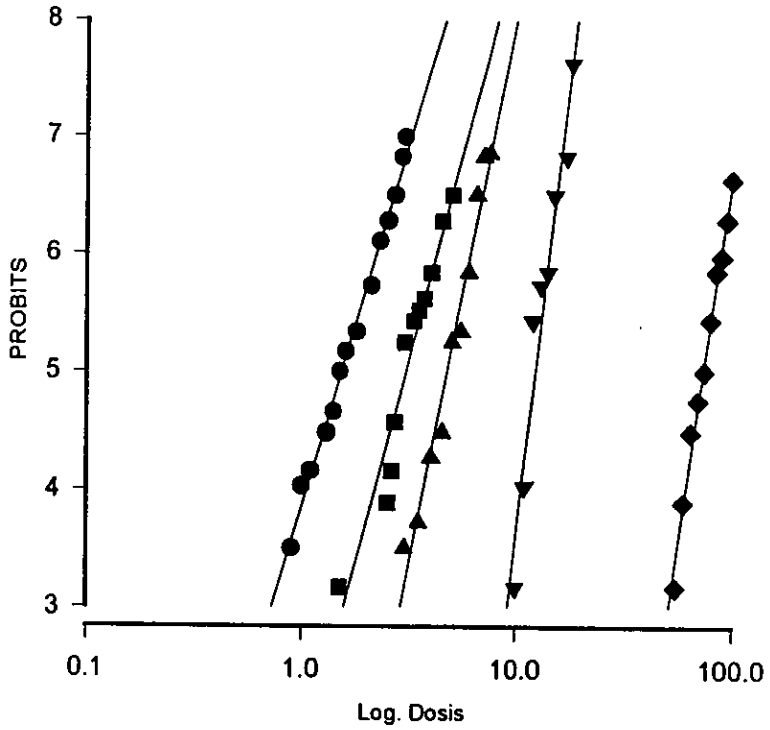
Se determino la DE_{50} del α-sanshool, y de los diversos agentes convulsionantes, encontrándose que el α-sanshool tiene una potencia convulsionante [DE_{50} (IC 95%)= 3.04 (2.88-3.20 mg/kg)], mayor a pentilentetrazol [DE_{50} (IC 95%)= 73.61 (70.99-76.33 mg/kg)], 4-aminopiridina [DE_{50} (IC 95%)= 12.10 (11.65-12.5 mg/kg)] y bicuculina [DE_{50} (IC 95%)= 4.78 (4.55-5.03 mg/kg)] y sólo menos potente que estricnina [DE_{50} (IC 95%= 1.53 (1.44-1.62 mg/kg)].

En la gráfica 6 se presentan las curvas dosis-respuesta para los diferentes agentes convulsionantes, en donde se indican las Dosis Efectivas 50 (DE_{50}) determinadas por la administración acumulativa (Turner, 1965) .

En la (gráfica 7) se muestra la comparación de la DE_{50} del α-sanshool y los diversos agentes convulsionantes.

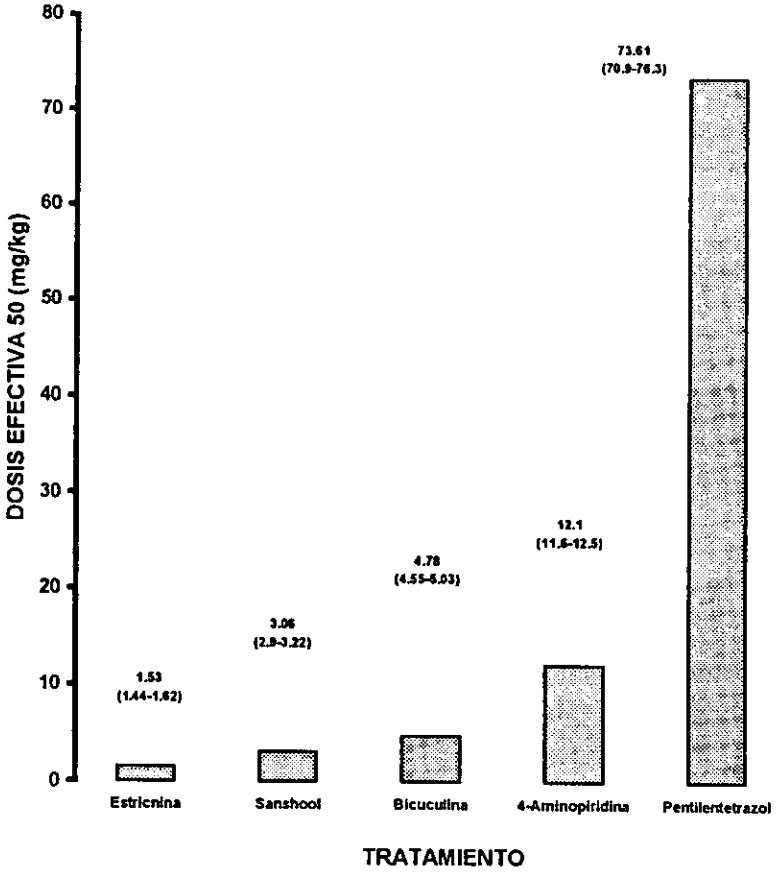
7.2.3. Determinación del periodo de latencia de los diversos agentes convulsionantes.

El periodo de latencia presentado por el α-Sanshool es extremadamente corto, de aproximadamente 2 s, en tanto que Pentilentetrazol tienen una latencia de 82 s, la Bicuculina de 76 s, la 4-aminopiridina de 364 s y Estricnina de 184 s. En la gráfica 8 se presentan estos valores en barras para cada agente convulsionante.

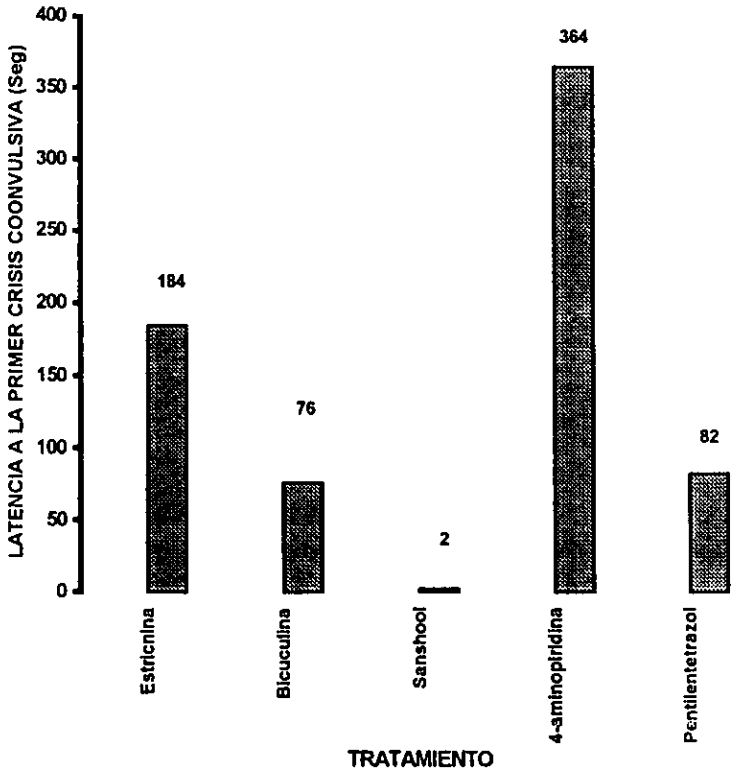


GRÁFICA 6 . Determinación de la Dosis efectiva 50 (DE_{50}) de los diversos agentes convulsionantes por el método de Miller-Tainer (Probits). El α-Sanshool es más potente que Pentilentetrazol, 4-aminopiridina y Bicuculina y sólo menos potente que Estricnina.

● Estricnina [DE_{50}= 1.53 mg/kg (1.44-1.62)]
■ α-Sanshool [DE_{50}= 3.06 mg/kg (2.9-3.22)]
▲ Bicuculina [DE_{50}= 4.78 mg/kg (4.55-5.03)]
▼ 4-Aminoipiridina [DE_{50}= 12.10 mg/kg (11.6-12.5)]
◆ Pentilentetrazol [DE_{50}= 73.61 mg/kg (70.9-76.3)]



GRÁFICA 7. Comparación de la dosis efectiva 50 (DE_{50}) convulsionante de los diversos agentes, comparados con α-Sanshool. Los resultados se expresan en mg/kg, con un intervalo de confianza del 95 %.



GRÁFICA 8 . Comparación de los periodos de latencia a la primera crisis convulsiva de los diversos agentes convulsionantes. Los resultados son expresados en segundos.

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA

7.2.4. Evaluación del efecto anticonvulsionante de Carbamacepina, Etosuximida, Diacepam y pentobarbital frente a las crisis convulsivas tónico-clónicas inducidas por α-Sanshool.

Las convulsiones inducidas por α-Sanshool (9 mg/kg i.p.) no se inhibieron por carbamacepina (200 mg/kg), ni por etosuximida (150 mg/kg), en tanto que la mortalidad inducida por α-Sanshool (9 mg/kg) fue disminuida en un 66% a dosis altas de los fármacos antiepilépticos diacepam (10 mg/kg) y Pentobarbital (63 mg/kg). Los fármacos anticonvulsivos se administraron 30 minutos antes de administrar el α-Sanshool (tabla 14).

7.2.5. Comparación de la respuesta convulsionante por el tipo de convulsiones que provoca cada agente convulsionante.

En la tabla 15 se presenta la comparación del tipo de convulsiones respecto a los diferentes agentes convulsionantes incluyéndose la lidocaína que es un anestésico local con propiedades convulsionantes.

FARMACO	DOSIS	n	r CONVULSIONES	r MUERTE	% MUERTE
DIAZEPAM	2	6	6/6	6/6	100
	2.5	6	6/6	6/6	100
	5	6	6/6	6/6	100
	8.5	6	6/6	6/6	100
	10	6	6/6	2/6	33
ETOSUXIMIDA	150	6	6/6	6/6	100
CARBAMACEPINA	100	6	6/6	6/6	100
	200	6	6/6	6/6	100
PENTOBARBITAL	42	6	6/6	6/6	100
	63	6	6/6	2/6	33

* n= numero de animales

Tabla 14 . Evaluación de la inhibición de las crisis convulsivas inducidas por α- Sanshool con los diversos fármacos anticonvulsionantes. El α-Sanshool induce convulsiones que no se inhiben por los principales fármacos anticonvulsionantes. Sólo se inhibe la muerte por diacepam (10 mg/kg) y pentobarbital (63 mg/kg) en un 33%.

CONVULSIONANTE	TIPO DE CONVULSIONES	MECANISMOS DE ACCION
Estricnina	Tónicas	Antagonista de los receptores de glicina
Bicuculina	Clónico-tónicas	Antagonista de los receptores $GABA_A$
4-Aminopiridina	Clónico-tónicas	Bloqueador de los canales de K^+
Lidocaína	Parciales localizadas	Antagononista del NMDA y no NMDA
Pentilentetrazol	Clónico-tónicas	Intensifica la actividad GABAérgica con interacción con los canales de cloro
α-Sanshool	Clónico-tónicas	No descrito

Tabla 15 . Comparación del tipo convulsiones de los diversos agentes convulsionantes con base al tipo de convulsiones y mecanismo de acción. El α-Sanshool provoca crisis convulsivas clónico -tónicas en ratón.

8. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

El análisis experimental del mecanismo fisiopatológico del fenómeno convulsivo, el conocimiento de sus características y la investigación de procedimientos terapéuticos que prevengan, impidan o disminuyan las crisis convulsivas son de interés científico. Los modelos experimentales de epilepsia han sido fundamentales para demostrar la efectividad de un nuevo fármaco anticonvulsivo. Más aún, estos modelos parecen ser los que en un momento dado aportarán el conocimiento sobre los mecanismos básicos neuronales que determinan la epilepsia en el ser humano (Feria *et al.*, 1997)

Los modelos experimentales de epilepsia han sido fundamentales para demostrar la efectividad de un nuevo fármaco anticonvulsivo. De esta forma se considera que la epilepsia en animales y las crisis convulsivas provocadas experimentalmente, pueden integrar un modelo válido de epilepsia cuando los anticonvulsionantes que son efectivos para los animales de experimentación sean también para el ser humano.

Por esta razón en el presente estudio se decidió realizar la caracterización de las propiedades convulsionantes del α- Sanshool, aislado de *Zanthoxylium liebmannianum* (Colopathle) con la finalidad de proporcionar una alternativa en el uso de herramientas farmacológicas en la investigación de nuevos fármacos antiepilépticos o anticonvulsionantes, o bien en el estudio de la epilepsia. Uno de los agentes convulsionantes que se usan por vía parenteral es el pentilentetrazol empleado comúnmente durante la primera fase de toda valoración diseñada para estudiar compuestos con actividad anticonvulsionante, además de otros como lo es la estricnina, bicuculina, 4-aminopiridina, ácido kaínico etc. (Feria *et al.*,1997).

Estos agentes son utilizados dependiendo de su mecanismo de acción o del tipo de convulsiones que provocan. Las propiedades que normalmente se evalúan son: Periodo de latencia, Dosis efectiva cincuenta (DE_{50}) y tipo de convulsiones.

Estas características fueron evaluadas para el α- Sanshool y comparadas con los diversos agentes convulsionantes pentilentetrazol, estricnina, bicuculina y 4-aminopiridina y lidocaína. El α- Sanshool presentó el periodo de latencia mas bajo (de tan solo 2 segundos) y mucho menor a la de los otros convulsionantes. El α- Sanshool (DE_{50}=3.06 mg/kg) fue menos potente que la estricnina (DE_{50}= 1.53 mg/kg). Otra de las propiedades que se evalúo fue el tipo de convulsiones que provoca, el tipo de respuesta que presentó fue muy similar al del pentilentetrazol, presentando convulsiones clónico-tónicas, sin embargo, por sus características anteriores y las evaluadas con fármacos anticonvulsionates, se determino que el α- Sanshool tiene un mecanismo de acción similar al del pentilentetrazol y difiere considerablemente con las convulsiones provocadas por otros agentes convulsionantes. También al considerar que el α- Sanshool tiene propiedades anestésicas locales (Reyes *et al.*,1991) se procedió a comparar el tipo de convulsiones con las provocadas por la lidocaína que a dosis de 20 mg/kg provoca crisis convulsivas en ratas (Barat. *et al.*,1997), sin embargo, difieren considerablemente ya que tienen un patrón distinto, la lidocaína presenta convulsiones parciales que se presentan como movimientos rítmicos de la cabeza con movimientos de las patas delanteras (Barat. *et al.*,1997), y no convulsiones clónico-tónoicas como el α- Sanshool.

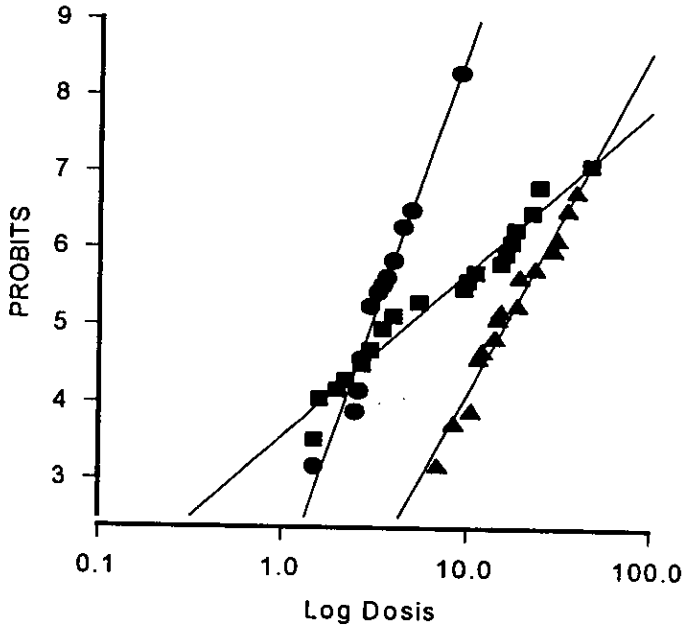
En la búsqueda de nuevos compuestos antiepilépticos o anticonvulsionates se iniciaron aquellos que aumentan la inhibición neuronal. Tales como las benzodiacepinas, barbitúricos y las difenilhidantoínas que potencian el sistema GABAérgico. En los estudios realizados en los modelos de epilepsia se ha probado que la alteración de la función sináptica del principal neurotransmisor inhibitorio GABA, es la causa principal de la epilepsia humana.

En la evaluación de la inhibición de las convulsiones provocadas por α- Sanshool con los principales fármacos antiepilépticos o anticonvulsionantes, se observó que la carbamacepina y la etosuximida no inhibieron las convulsiones, ni el índice de mortalidad provocadas por el α- Sanshool a la dosis de 9.0 mg/kg.

Con respecto a diacepam y pentobarbital se observó que estos fármacos anticonvulsionantes a dosis altas disminuían el índice de mortalidad en un 33%. Posteriormente, se realizó otro experimento para estudiar el efecto inhibitorio de las convulsiones, provocadas por el α-sanshool con dosis acumulativas de éste, utilizando diacepam (5mg/kg) y pentobarbital (63 mg/kg) administrado 30 min antes del α-sanshool. Se observó que hubo un desplazamiento a la derecha de las curvas dosis respuesta obtenida con la administración previa de diacepam (gráfica 9) en la cual la dosis efectiva 50 del α-sanshool en presencia de diacepam fue de 15.31 mg/kg, también se observó que se mantuvo un paralelismo en las curvas dosis-respuesta.

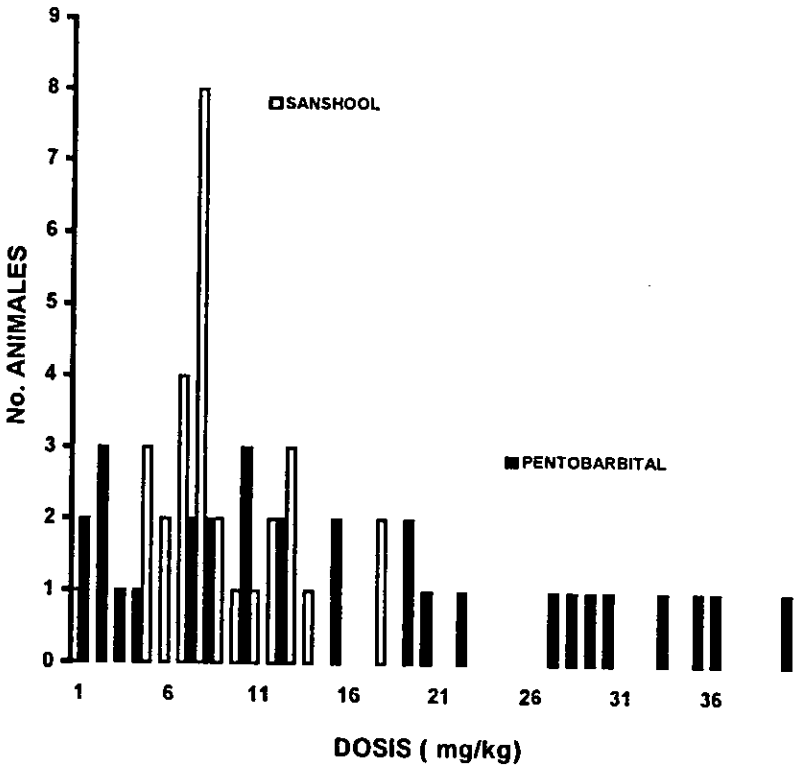
Con respecto a la administración previa de pentobarbital prácticamente no se modificó la DE_{50} (4.63 mg/kg), sin embargo la pendiente cambio considerablemente (gráfica 9). En el histograma de frecuencias de las convulsiones provocadas con α-sanshool solo y en presencia de pentobarbital, se aprecia que las muestras pertenece a la misma población (gráfica 10) aunque hay mayor número de animales que requirieron dosis mayores para que se presentaron las convulsiones, cuando dichos animales se pretrataron con pentobarbital. En cambio, en el histograma de frecuencias de las convulsiones obtenidas con α-sanshool solo y en presencia de diacepam, se aprecia claramente que forman 2 poblaciones distintas con pocos datos en común (gráfica 11).

Por lo tanto, y de acuerdo a los resultados obtenidos en este trabajo de investigación se puede considerar que el α-sanshool presenta características particulares para provocar convulsiones y podría considerarse como herramienta farmacológica en el estudio de la epilepsia y para la investigación de nuevos fármacos antiepilépticos o anticonvulsivos.

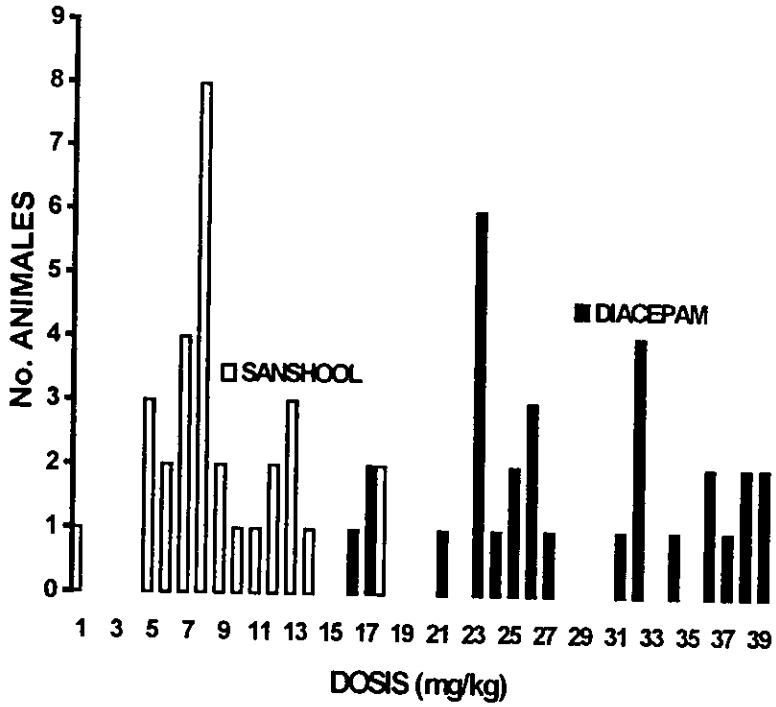


GRAFICA 9 . Comparación de las dosis efectivas 50 (DE_{50}) del α-Sanshool solo y en presencia de pentobarbital (63 mg/kg) y diacepam (5 mg/kg) por el método (PROBITS). La administración del α-Sanshool se hizo en forma acumulativa y en grupos de 30 animales.

● α-Sanshool [DE_{50}= 3.06 mg/kg (2.9-3.22)]
■ α-Sanshool + Pentobarbital [DE_{50}= 4.63 mg/kg (3.98-5.39)]
▲ α-Sanshool + Diacepam [DE_{50}= 15.31 mg/kg (15.10-15.43)]



GRAFICA 10. Frecuencias de la respuesta convulsionante del α- Sanshool solo (barras vacías) y α- Sanshool + la administración previa de pentobarbital 63 mg/kg (barras llenas). Cada grupo estuvo formado por 30 animales.



GRAFICA 11. Frecuencias de la respuesta convulsionante del α- Sanshool solo (barras vacías) y α- Sanshool + la administración previa de diacepam 5 mg/kg (barras llenas). Cada grupo estuvo formado por 30 animales.

9. CONCLUSIONES.

Con base en los resultados obtenidos se llegó a las siguientes conclusiones.

1. El α-Sanshool induce convulsiones clónico-tónico similares a las provocadas por pentilentetrazol, 4-aminopiridina y bicuculina pero con un periodo de latencia extremadamente corto de 2 segundos y con mayor potencia que los convulsionantes mencionados y sólo menos potente que estricnina, pero difiere del tipo de convulsiones. Así también fue distinto al patrón de convulsiones producidas por lidocaína, a pesar de que comparten el efecto anestésico local.

2. Las convulsiones del α-Sanshool son inhibidas por diacepam y sólo a dosis muy altas de pentobarbital se disminuye la mortalidad en un 33%, pero a dosis bajas de este fármaco no se obtiene efecto anticonvulsionante.

3. El α-Sanshool es un producto natural que se propone como herrramienta farmacológica para la inducción y el estudio de las convulsiones, con un patrón distinto al de los principales agentes convulsionantes.

BIBLIOGRAFÍA

Anis, N.a., Saywood, W., y Collingride, G.L. (1987). MK-801 blochs NMDA recetor-mediated synaptic trnsmission and long-term potentation in rat hippocaampal slices. *Neurisci. Lett.* **80**: 111-114

Arrieta, V. J., (1997). Estudio fitoquímico y Evaluación de la Actividad Amebicida y Giardicida de la hojas de *Znathoxylium libmannianum* (Colopahtle).Tesis de Licenciatura Químico Farmacéutico Biólogo. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza UNAM. 38 -45

Barat.S.A., Abdel-Rahaman, M.S. (1997). Decreased cocaine- and lidocaine- induced seizure response by dextromethorphan and DNQX in rat. *Brain Research* **756**: 179-183

Blade, R.J. (1990). Some aspects of synthesis and structure activity in insecticidal lipid amides. In recent advances in the chemistry of insect control II. The Royal Society of Chemistry. P.p. 151-169

Canger, R. y Cornaggia, C. (1985). Public attitudes toward Epilepsy in Italy. *Epilepsy* **26**: 145-181

Chauhan, A. K., Mahaveer, P. D. y Bhuwan, C. J. (1988). A review of medicinal plants showing anticonvulsant activity. *Journal of Ethanopharmacology* **29**: 11-23.

Coan, E.J., Saywood, W. y Collingridge, G.L. (1987). MK-801 blochs NMDA receptor- mediated synaptic trnadmission and long- term potentation in rat hippocampal slices. *Neurosci.* **80**: 111-114

Coulter, D.A. (1996). Thalamocortical anatomy and phisology. In Epilepsy. A. Comprehensive texbook. Raven Press. New York. In Press.

Croucher,M.J., Collins, J.F. y Meldrum, B.S. (1982). Anticonvulsant action of excitatory amino acid antagonists. *Science* **216**: 899-901.

Della Casa, D., Hasegawa, M. y Castaldi, A. (1972). Neutral compounds and alkaloids of *Zanthoxylium ocumarense*. *Phytochemistry*. **11**: 1531-1532.

Dingledine, R. y Gjerstad, L. (1980). Reduced inhibitions during epileptiform activity in the *in vitro* hippocampal slice. *J. Physiol.* **305**: 297-313.

Elliott, M., Farnham, A.W., James, N.F., Johnson, D.M. y Pulman, D. A. (1987). Synthesis and insecticidal activity of lipophilic amides. Part. 1; Introductory survey and discovery of an active synthetic compound. *Pestic Sci.* **18:** 191-201.

Feria, U.A. Martínez, M.D. y Rubio, D.F. (1986). Epilepsia. Un enfoque multidiciplinario, Trillas, México, 75-117 : 203 207.

Feria, U.A. Martínez, M.D. y Rubio, D.F. (1997). Epilepsia. Aspectos Neurobilógicos, Medicos y Sociales. Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía. México. 1ª. Edición.

Fitz, J.G. y McNamara, J.O. (1979). Spontaneous interictal spiking in the amake Kindled rat. *Electroencephal. Clin. Neurophysiol.* **58:** 55-64

Fragoso, V.J., Massieu, L., Alvarado, R. y Tapia, R. (1990). Seizures and wet-dog shakes induced by 4-aminopyridine, and their potentation by nifedipine. *Europan Journal of Pharmacology* **178:** 275-284.

García-Pedroza, F. (1986). La Investigación Sociomédica de la Epilepsia. En. Epilepsia un Enfoque Multidiciplinario. A. Feria-Velazco, D. Martínez de Muñoz y F. Rubio- Donnadieu. Ed. Trillas. México. pp. 345-366

Goddard., G.V., McIntyre, D.C. y Leech, C.K. (1969). A permanent change in brain funtion resulting from daily electrical stimulation. *Exp. Neurology.* **25** 295-330

Haral, G. (1984). Alkamides: Structural Relationship, Distribution and Biological Activity. *Planta Medica.* **80:** 366-375.

Hauptman. A. (1912). Luminal bei Epilepsie Munch. *Med. Wochenschr* **59:** 1907-1909

Hauser, W.A. y Hesdarker, D.C. (1991). Epidemiology of Epilepsy. En Neuroepidemiology: Atribute to bruce Shoenberg. Dallas. W. Anderson. Ed. CRC. Press. P. 97-119.

Hiller, K.O. y Zetler, G. (1996). Neuropharmacological studies on ethanol extracs of valeriana officinalis L: Behavioural and convulsant properties. *Phytother. Res.* **10:** 145-151.

Jiménez, H.S. (1989). Estudio químico de plantas medicinales mexicanas constituyentes de *Cecropia obtusifolia* (Guarumbo) y *Zanthoxylium liebmannianum* (Colopahtle). Tesis de Licenciatura Químico Farmacéutico Biólogo ENEP. " ZARAGOZA" UNAM México, 4-6.

Kubo, I., Matsumoto, T., Kloker, J. A. y Kimikawa, T. (1984). Molluscicidal and insecticidal activities of isobutylamides isolated from *Fagara macrophylla. Experientia* **40**: 340-341.

Löscher, W. y Schmidt, D. (1988). Which animal models should be used in the search for new antiepileptic drugs. A proposal based on Experimental and clinical considerations. *Epilepsy Resech.* **2**: 145-181

Mac Donald, R.L.y Barker, J.L. (1979). Anticonvulsant and anesthetic barbiturates: different postsynaptic action in cultered mammalian neurons. *Neurology* **29**: 423-447.

Mc Lean, M.J. y MacDonald, R.L. (1986). Sodium valproate, but not ethosuximide, produce use and voltage dependent limitation of high frequency repetitive firing of action potentials of mause central neurons in cell culture. *J.Pharmacol. Exp.Their* **237**: 1001-1011

McNamara, O. J. (1996). Fármacos eficaces para el tratamiento de la epilepsia en. Goodman y Gilman. Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica Vol. 1, 9a. edición. Mc Graw Hill. Interamericana, México. 491-514.

Meza-Toledo, S:E., Zenteno, M.T., Juárez, E., Martínez de Muñoz, D. Y. Carvajal, G. (1990). A new homologous series of anticonvulsants: Phenyl alcohol amides. *Arzneim. Forsch. Drug Res.* **40**: 1289-1291.

Merrit, H.H. y Putnam, T.J. (1938). A new series of anticonvulsant drugs tested by experiments on animals. *Arch. Neurol. Phychiatry.* **39**: 1003-1015

Navarrete, A. y Hong, E. (1996). Anthelmintic properties of α-sanshool from *Zanthoxylium leibmannianum. Planta Medica.* **62**: 250-251.

Navarrete, A. (1996). Valoración Farmacológica de la Actividad Antihelmintica de Compuestos de Origen Natural y Sintético en el Parásito *Ascaris suum.* Tesis Doctoral en la Especialidad de Farmacológia. Centro de Investigación de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional. 18.

Oriowo, M.A. (1982). Anti-inflamatory activity of piperonyl-4-acrilic isobutylamide and extractive from *Zanthoxylium zanthoxyloides. Planta Medica.* **44**: 54-56.

Pinel, F.P.F y Rovnar, L.I. (1978). Electrode placement and Kindling induced experimental epilepsy. *Exp. Neurol.* **58**: 335-346

Phillips, N.I. y Fowler, L.J. (1982). The effects of sodium valproate on gamma-aminobutyrate metabolism and behavior in naive and ethanolamine- o- sulphate pretreated rats and mice. *Biochem. Pharmacology*. **31**: 2257-2261

Reyes, B., Navarrete, A., Sixtos, C., Aguirre, E., Jiménez, S. y Estrada, E. (1991). Constituyentes Químicos de *Zanthoxylium liebmannianum* (Engl.) P. Wilson. Colopahtle, una Planta Medicinal Mexicana. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas* **24**: (11), 30-34.

Rho, J.M., Doneavean, S.D. y Rogawki, M.A. (1994). Mechanism of action on the anticonvulsant felbamate opposing effects on N-methyl-D-aspartate and $GABA_{A}$ receptors. *Ann. Neurology*. **36**: 677-678

Rossi, R., Carpita, A. y Lippolis V. (1991). Stereoselective synthesis of naturally ocurring 7- (hetero)-aril- (2E,4E, 6E)- 2,4,6- hepta trienamides and their structural analoges. *Synthetic Communications* **21**: 333-349

Secretaria de Salud. (1988). Norma Técnica para la Prevención y Control de la Epilepsia en el Primer Nivel de Salud. Diario Oficial de la Federación. México. septiembre 22.

Stanley, P. C. (1920). Trees and shubs of México. Washington Goverment Printing Office, 503.

Takeya, K., Iokawa, H. y Yasuda, I. (1982). Distribution of insaturated aliphatic acid amides in japanes *Zanthoxylium* species. *Phytochemistry* **21**: 1295-1298.

Taylor, D. A. (1990). Central nervous system stimulants. Moderm Pharmacology. Third edition. Little Brown. USA 452-455.

Tierney, M. L., Mc Phee, J. S., Papadakis, A. M. (1997). Diagnóstico Clínico y Tratamiento. El manual moderno, México., 32 ° edición, 882-885.

Turner, R:A., (1965) Screening. Methods in Pharmacology. Academic. Press. USA

Twyman, R.E., Rogers, C.J. y Mac Donald, R.L. (1989). Differential regulation of γ-aminobutyric acid receptor chamels by diazepam and phenobarbital. *Ann. Neurol.* **25**: 213-220

Yasuda, I., Takeya, K. e Itokawa, H. (1981). Structure of amides from asicirum heterotropoides mask. Var mandshuricum maek. *Chem. Pharm. Bull.* **29**: 564-566.