

11
2 ej



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
ZARAGOZA

"OBTENCION Y EVALUACION DE ANALOGOS
DEL IODURO DE 1,1-DIMETIL-4-(2-QUINOLIL)-
PIPERAZINIO EN TIRAS MUSCULARES DE

Ascaris suum

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BILOGO
P R E S E N T A :

GUILLERMO

CERRILLO

PEREZ

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



MEXICO, D. F.

1997

**TESIS CON
FALLA DE ORICEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

LUGAR DONDE SE DESARROLLO EL TEMA.

SECCION DE TERAPEUTICA EXPERIMENTAL DEL DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGIA Y TOXICOLOGIA DEL CENTRO DE INVESTIGACION Y DE ESTUDIOS AVANZADOS DEL INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL.

LABORATORIO DE PRODUCTOS NATURALES, AREA DE QUIMICA DEL DEPARTAMENTO DE PREPARATORIA AGRICOLA , UNIVERSIDAD AUTONOMA CHAPINGO.

JURADO ASIGNADO A ESTA TESIS PARA OBTENER EL TITULO DE:

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

JURADO:

PRESIDENTE:	Q.F.I. ESTELA VALENCIA PLATA.
VOCAL:	Dr. ENRIQUE HONG CHONG.
SECRETARIO:	Dr. ANDRES NAVARRETE CASTRO.
SUPLENTE:	M. EN C. EVANGELINA LOPEZ NIETO.
SUPLENTE:	Q. ARTURO E. CANO FLORES.

SUSTENTANTE:

GUILLERMO CERRILLO PEREZ.

FES ZARAGOZA UNAM, MEXICO D.F., 1997.

DIRECTORES DEL TRABAJO:	Dr. ENRIQUE HONG CHONG.
	Dr. ANDRES NAVARRETE CASTRO.

DEDICATORIA.

A DIOS:

**POR PERMITIRME TERMINAR ESTE TRABAJO, QUE SIN SU AMPARO JAMAS
LO HUBIERA LOGRADO.**

A MIS PADRES:

GUILLERMO Y MARGARITA.

**A QUIENES ME HAN HEREDADO EL TESORO MAS VALIOSO QUE PUEDE
DARSELE A UN HIJO: AMOR.
A QUIENES SIN ESCATIMAR ESFUERZO ALGUNO, HAN SACRIFICADO GRAN
PARTE DE SU VIDA PARA FORMARME Y EDUCARME.
A QUIENES SU ILUSION DE SU EXISTENCIA HA SIDO CONVERTIRME EN
PERSONA DE PROVECHO.
A QUIENES NUNCA PODRE PAGARLES TODOS SUS DESVELO NI AUN CON
LAS RIQUEZAS MAS GRANDES DEL MUNDO.**

A MIS HERMANOS:

DANIEL, JESUS, LEVI Y ROCIO.

**QUE ME APOYARON Y SOPORTARON DURANTE TODA MI FORMACION
PROFESIONAL.**

A MI NOVIA:

SILVIA.

**POR SU APOYO, COMPRESION, CARIÑO Y AMOR DURANTE LA
REALIZACION DE ESTE TRABAJO, LO CUAL AGRADEZCO INFINITAMENTE.**

INDICE.	PAGINA
1. RESUMEN.....	1
2. INTRODUCCION.....	3
3. FUNDAMENTO TEORICO.....	4
3.1. La Ascariasis.....	4
3.2. Epidemiología.....	5
3.3. Sintomatología.....	9
3.4. Diagnóstico.....	9
3.5. Tratamiento.....	10
3.6. Control.....	12
3.7. Generalidades del <i>Ascaris suum</i>	13
3.7.1. Taxonomía.....	14
3.7.2. Características anatómicas del <i>Ascaris suum</i>	15
3.7.3. Pared del cuerpo del <i>Ascaris suum</i>	16
3.7.4. Sistema Nervioso.....	25
3.8. MECANISMO DE ACCION DE LOS AGENTES ANTIHELMINTICOS.....	27
3.9. FARMACOLOGIA DE LOS RECEPTORES EN EL <i>Ascaris suum</i>.....	32
3.9.1. Farmacología de los receptores al GABA.....	32
3.9.2. Farmacología de los receptores de la acetilcolina.....	34
3.10. Actividad de derivados de piperazina en el <i>Ascaris suum</i>.....	37

4. JUSTIFICACION	42
5. OBJETIVOS	43
5.1. Objetivo general.....	43
5.2. Objetivos particulares.....	43
6. HIPOTESIS	45
7. MATERIALES Y METODOS	46
7.1. Obtención de los análogos del DMQP.....	46
7.2. Material biológico.....	49
7.3. Preparación de tiras musculares del <i>Ascaris suum</i>	49
7.4. Aplicación de los fármacos.....	50
7.5. Efecto del agonista colinérgico acetilcolina.....	50
7.6. Efecto de los antagonistas colinérgicos.....	51
7.7. Bloqueo ganglionar en la rata descerebrada y desmedulada.....	51
7.8. Bloqueo neuromuscular en ratas.....	53
7.9. Fármacos y sustancias de prueba.....	53
8. RESULTADOS	55
8.1. Obtención de los análogos del DMQP.....	55
8.2. Determinación de la curva dosis-respuesta de la acetilcolina en tiras musculares del <i>Ascaris suum</i>	56
8.3. Efecto de los antagonistas colinérgicos sobre la respuesta contráctil provocada por acetilcolina en tiras musculares del <i>Ascaris suum</i>	56

8.4. Evaluación de los análogos del DMQP	56
8.5. Evaluación del DMNP, análogo más potente del DMQP como antagonista colinérgico ganglionar en ratas.....	61
8.6. Evaluación del DMNP como bloqueador neuromuscular en ratas.....	61
9. Discusión de resultados	67
10. Conclusiones	70
11. Perspectivas	72
12. Bibliografía	73

INDICE DE FIGURAS.	PAGINAS
Figura 1. Porcentaje de enfermedades parasitarias en México	7
Figura 2. Número de casos de ascariasis de 10 entidades federativas en la República Mexicana hasta la semana 37 de 1996.....	8
Figura 3. Anatomía del <i>Ascaris suum</i> hembra	17
Figura 4. Esófago del <i>Ascaris suum</i>	18
Figura 5. Epitelio intestinal del <i>Ascaris suum</i>	19
Figura 6. Aparato reproductor del <i>Ascaris suum</i> hembra y macho.....	20
Figura 7. Estructura de la célula muscular del <i>Ascaris suum</i>	22
Figura 8. Esquema de la sección transversal del <i>Ascaris suum</i>	24
Figura 9. Diagrama de la organización anatómica de las motoneuronas del <i>Ascaris suum</i>	26
Figura 10. Sistema nervioso de la región anterior del <i>Ascaris suum</i>	28
Figura 11. A. Estructura del ácido 1-dicarbottolpiperazínico. B. Estructura del ácido 1,4-dicarbottolpiperazínico.....	40
Figura 12. Modificaciones que se le realizaron a la molécula del DMQP.....	42
Figura 13. Curva concentración respuesta para el efecto contráctil de la acetilcolina en tiras musculares de <i>Ascaris suum</i>	57

Figura 14. Efecto antagonista de la mecamilamina, tubocurarina, atropina, hexametonio, y DMQP sobre las contracciones provocadas por la acetilcolina (100 μ M) en tiras musculares del <i>Ascaris suum</i>	57
Figura 15. Efecto antagonista de los análogos del DMQP en tiras musculares del <i>Ascaris suum</i>	58
Figura 16. Efecto del DMNP, hexametonio y mecamilamina sobre el incremento de la presión arterial en ratas descerebradas y desmeduladas.....	64
Figura 17. Curva dosis-respuesta de la tubocurarina sobre las contracciones del músculo tibial de rata anestesiada con pentobarbital.....	65
Figura 18. Efecto del DMNP sobre las contracciones del músculo tibial de la rata anestesiada con pentobarbital.....	66

INDICE DE TABLAS Y ESQUEMAS

PAGINAS

Tabla 1. Agonistas de los receptores GABAérgicos en el <i>Ascaris suum</i>	35
Tabla 2. Agonistas y antagonistas colinérgicos en el <i>Ascaris suum</i>	38
Tabla 3. Resultados de la semisíntesis de los análogos del DMQP.....	55
Tabla 4. Potencias relativas de los antagonistas colinérgicos para inhibir el efecto contráctil de la acetilcolina 100 μ M en tiras musculares del <i>Ascaris suum</i>	58
Tabla 5. Potencias relativas de los análogos del DMQP para inhibir el efecto contráctil de la acetilcolina 100 μ M en la preparación de tiras musculares del <i>Ascaris suum</i>	62
Tabla 6. Potencias relativas para los análogos del DMQP y los antagonistas colinérgicos tomando como referencia a la mecamilamina.....	63
Esquema 1. Diagrama de flujo de la metodología general para la evaluación de los análogos del DMQP.....	47
Esquema 2. Semisíntesis de los análogos del DMQP.....	48

1. RESUMEN.

En las células musculares del parásito *Ascaris suum* se ha descrito la presencia de receptores para GABA, acetilcolina, serotonina e histamina. Los receptores para el GABA presentes en el *Ascaris*, presentan características distintas a los receptores GABA de los mamíferos, por lo que se han clasificado como un tipo distinto de receptores denominados receptores GABA_n (Martin *et al.*, 1991)

Recientemente se describió al DMQP [ioduro de 1,1-dimetil-4-(2-quinolil)-piperazinio], como el primer antagonista selectivo para los receptores nicotínicos en el *Ascaris*, el cual ha sido denominado receptor nicotínico_n (Navarrete y Hong, 1995). Tomando como modelo la molécula del DMQP se realizaron modificaciones estructurales para evaluar los requerimientos estructurales para que se conserve la actividad antagonista sobre tales receptores.

En el presente trabajo se realizó la semisíntesis y la evaluación farmacológica de 6 arilpiperazinas análogas al DMQP, a partir de las sales de maleato y clorhidrato. En primer lugar se realizó la liberación de la base con hidróxido de sodio, seguida de una metilación con yoduro de metilo.

La evaluación de la actividad antagonista de los análogos sobre la respuesta inducida por acetilcolina se realizó en una preparación de tiras musculares (Navarrete y Hong, 1995), lo que determinó que es indispensable la amina

cuaternaria en la posición 1 del anillo de piperazina. Se encontró que el cambio del sitio de unión del anillo quinolinico modifica la actividad antagonista del DMQP, siendo 1.6 veces mayor cuando la unión es en 3 y disminuyendo a 0.42 veces cuando la unión es en 4. Sin embargo, la unión en 4 pero con un metilo en la posición 2 de la quinolina aumentó 2.7 veces la actividad. La inserción de un metileno entre el anillo de quinolina y de piperazina aumentó a 1.6 veces la actividad del DMQP. La sustitución del anillo 2-quinolilo por un anillo 4-piridilo no modificó la actividad antagonista, pero se manifestó actividad agonista colinérgica débil, debido tal vez a que se forma un bioisómero del fenilo en la molécula del DMPP (dimetil-fenil-piperazinio), uno de los antagonistas colinérgicos más potentes en el *Ascaris*. La sustitución del quinolilo por naftilo aumentó la actividad antagonista 4 veces, el cual siguió conservando la selectividad por el receptor nicotínico del parásito. Lo anterior tiene implicaciones importantes para la caracterización del receptor nicotínico_N y para el diseño de nuevos agentes antihelmínticos.

2. INTRODUCCION.

En las células musculares del parásito *Ascaris suum* se ha descrito la presencia de receptores para GABA, acetilcolina, serotonina e histamina (Martin *et al.*, 1991). Los receptores para el GABA presentes en el *Ascaris*, presentan características distintas a los receptores del GABA de los mamíferos, por lo cual se han clasificado como un tipo distinto de receptores denominados receptores GABA_n (Martin, *et al.*, 1991). Por otro lado, se conoce la naturaleza nicotínica de los receptores de la acetilcolina presentes en el *Ascaris* y en un trabajo previo se describió al ioduro de 1,1-dimetil-4-(2-quinolil)-piperazinio (DMQP), como el primer antagonista selectivo de los receptores colinérgicos (receptores nicotínicos_n) de este parásito (Navarrete y Hong, 1995). Con el propósito de evaluar los requerimientos estructurales para que se conserve la actividad antagonista sobre los receptores nicotínicos_n, en este trabajo se evaluó una serie de 6 piperazinas análogas al DMQP utilizando una preparación de tiras musculares de *Ascaris*.

3. FUNDAMENTO TEORICO.

3.1. La ascariasis.

El *Ascaris lumbricoides* es el nematodo causante de la ascariasis en los humanos. Los gusanos adultos viven en el intestino delgado, el número de gusanos en el intestino de un individuo puede variar entre uno y varios cientos. La enfermedad ocurre en todo el mundo y afecta a una cuarta parte de la población mundial; principalmente a los niños. Las hembras maduras producen alrededor de 200 000 huevecillos al día, los cuales son eliminados con las heces. Los huevos fértiles sufren un período de maduración antes de hacerse infectantes. En el suelo húmedo a temperatura de 25 °C requieren de tres semanas para dar lugar a la fase infectiva. En condiciones desfavorables pueden permanecer inactivos pero viables durante años, mueren por efecto del calor y la desecación excesiva. Son capaces de sobrevivir varios meses en material fecal o en la basura (Bowman y Rand, 1984). Los huevos son ovales y miden 50-75 μm de largo por 40 a 50 μm de ancho, están provistos de una cáscara gruesa, la capa albuminoidea lleva proyecciones prominentes y son de color pardo amarillento (Soulsby, 1987).

La infestación suele ocurrir por ingestión de huevos infectantes que contaminan el agua o verduras sin cocer. Los huevos son tan pequeños como partículas de polvo que pueden inhalarse (Bowman y Rand, 1984).

Al tragar los huevos completamente embrionados, estos eclosionan en el duodeno y realizan una migración por el cuerpo antes de retornar para establecerse en el intestino y alcanzar el estado adulto. En un principio la larva penetra en la pared del duodeno y se introducen en los vasos sanguíneos o linfáticos para llegar al hígado, al corazón y de ahí a la circulación pulmonar. Alcanzan los capilares del pulmón y los atraviesan para penetrar en los alvéolos, ahí crecen y realizan una muda y después de aproximadamente 20 días migran a través de los conductos respiratorios hasta alcanzar el esófago y una vez más el intestino delgado. Dos o tres meses después de la ingestión de los huevos los vermes maduros comienzan la puesta de huevos en el intestino (Markell, Voge y John, 1990).

3.2. Epidemiología

Las parasitosis se extienden por las áreas tropicales y templadas del planeta. Aunque cosmopolita en su distribución, la prevalencia es mayor en áreas con condiciones sanitarias deficientes y donde las heces humanas se usan como abono. El ascárido de cerdo *Ascaris suum*, es diferente de *Ascaris lumbricoides*, pero puede infectar al hombre incluso producirle obstrucción intestinal. Se ha sugerido que la utilización de estiércol de cerdo como abono orgánico en jardinería, conlleva el riesgo de contraer esta parasitosis (Markell, Voge y John, 1990).

Durante el año de 1996 la Dirección General de Epidemiología (DGE) de la Secretaría de Salud, registró 584258 casos de helmintiasis en México (DGE, 1996) en ese informe, la ascariasis ocupó el primer lugar con 253870 casos (43.4616%), seguido por la oxiuriasis con 73122 casos (12.5153%), la teniasis con 2481 casos (0.4246%) y el conjunto de las otras helmintiasis registraron 224137 casos (38.3626%) (figura 1).

Las helmintiasis, constituyen una de las principales parasitosis en México, se encuentran presentes en todas las entidades federativas, predominando en algunos estados del sureste y en la península de Yucatán. La ascariasis a diferencia de otras parasitosis, presentan un incremento en la incidencia a partir de 1985, y posteriormente se presenta un decremento en dicha incidencia.

Datos epidemiológicos hasta la semana 37 de 1996 indican que la ascariasis en México tienen mayor incidencia en los estados de Guerrero y Tabasco, presentándose en Guerrero 33217 casos y en Tabasco 31207 casos (DGE, 1996). En la figura 2 se presenta el número de casos por entidad federativa de la ascariasis.

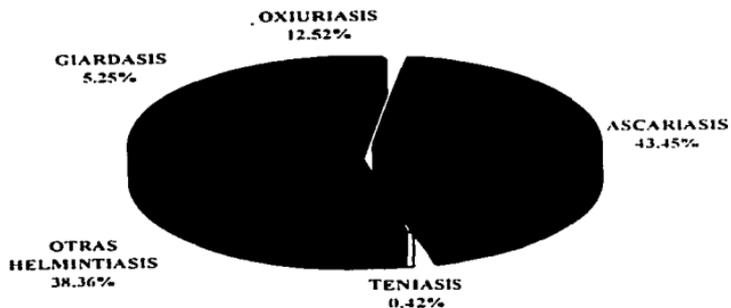


Figura 1. Porcentaje de enfermedades parasitarias en México.

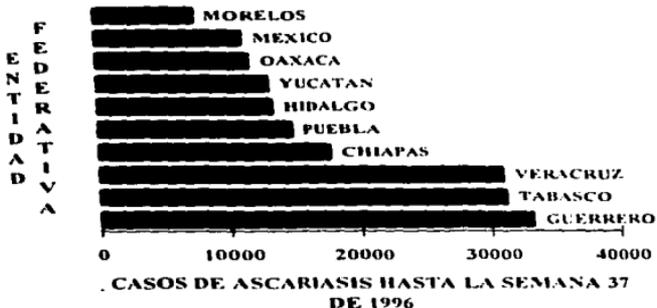


Figura 2. Número de casos de ascariasis de 10 entidades federativas de la República Mexicana en las que la incidencia de esta parasitosis es mayor hasta la semana 37 de 1996 (DGE, 1996).

3.3. Sintomatología.

Cuando se ingieren unos pocos huevos infectivos, generalmente no se producen síntomas, pero si la cantidad es grande al migrar las larvas a

través de los pulmones pueden producir neumonía, hemorragias petequiales y eosinofilia notable, puede haber neumonía lobulillar y consolidación final de todo un lóbulo (neumonitis por *Ascaris*). Las larvas depositadas en riñones, cerebro, hígado, ojos u otros órganos mueren y originan respuestas inflamatorias. Cuando los adultos están infectados con unos cuantos gusanos adultos en el intestino, la infección puede pasar inadvertida. La infestación más intensa causa dolor abdominal, pérdida del apetito, náuseas, diarrea o estreñimiento. En algunos casos, sobre todo en niños, la luz intestinal puede quedar obstruida totalmente por masas de gusanos (Bowman y Rand, 1984).

3.4. Diagnóstico.

Durante las primeras etapas de la enfermedad, los síntomas pueden indicar el posible factor etiológico. El diagnóstico de certeza se hace cuando se observan los parásitos o sus productos. La expulsión espontánea de gusanos por el ano, boca o nariz es concluyente, en ocasiones suelen observarse larvas en el esputo o aspirado bronquial (Llamas *et al.*, 1991).

Los huevos se detectan mediante exámen coproparasitológico directo o de concentración que si es cuantitativo permitirá correlacionar el grado de parasitosis con la sintomatología e indicar la terapéutica a seguir. Mediante radiología es posible detectar las sombras de los gusanos o bien observarlos en el intestino cuando se utiliza material de contraste. El síndrome de Loeffler y la eosinofilia sanguínea son datos muy importantes para el diagnóstico en la fase extraintestinal (Llamas *et al.*, 1991).

Con frecuencia aparecen huevos muy fértiles, lo que es indicativo de que solo existen en gran número gusanos hembra. Aparentemente, la fertilización debe realizarse a intervalos, y pueden depositarse huevos infértiles aún cuando halla machos presentes, tales huevos son de forma variable alargados o triangulares, y contienen numerosas vacuolas así como grandes gránulos (Markell, Voge y John, 1990).

3.5. Tratamiento.

El mebendazol (vermox), un bencimidazol que se absorbe muy mal en el intestino, constituye un tratamiento efectivo de la ascariasis, constituye además un medicamento de elección para todas las parasitemias por nematodos intestinales, excepto la estrongiloidiasis. El mebendazol inhibe la síntesis de microtúbulos en los nemátodos, altera la captación de glucosa, y como resultado de esta acción, los parásitos intestinales mueren o son inmovilizados con lentitud y su eliminación del aparato digestivo, tal vez no sea completa

hasta varios días después de su administración (Goldsmith, 1991). El tiabendazol (mintezol), otro bencimidazol, presenta una actividad de moderada a buena frente a todos los nematodos intestinales, incluyendo a *Strongyloides* y es el medicamento de elección en las infestaciones producidas por este parásito. El albendazol bloquea la captación de glucosa en las etapas larvaria y adulta de los parásitos sensibles, agotando sus reservas de glucógeno y disminuyendo la formación de ATP. Como resultado, el parásito queda inmovilizado y muere, no teniendo efectos farmacológicos en el ser humano a dosis orales terapéuticas (Goldsmith, 1991).

Los compuestos trivalentes de antimonio fueron durante muchos años los fármacos principales para el tratamiento de equistosomiasis, pero por su toxicidad y dificultad de administración ya no son empleados. Recientemente se ha demostrado que las avermectinas son los agentes de elección para el tratamiento de la oncocercosis, no se dispone todavía de suficientes datos para valorar su intervención en otras infestaciones humanas, pero es probable que sea valioso en filariasis y estrongiloidiasis.

Las sales de piperazina continúan siendo alternativas en el tratamiento de la ascariasis, cuando los pacientes son tratados por dos días se obtienen índices de curación mayores de 90%, no administrándose a pacientes con deficiencias renales, hepáticas o con antecedentes de epilepsia o enfermedades neurológicas crónicas (Goldsmith, 1992)

El levamisol un imidazotiazol es muy eficaz para erradicar *Ascaris* y *Trichostrongylus* , y los es moderadamente contra ambas especies de uncinarias, las reacciones adversas por el uso de este medicamento se producen hasta en el 20% de los sujetos, la erupción es el efecto adverso más común, pero también ocurren reacciones más tóxicas, incluyendo leucopenia, agranulocitosis y trombocitopenia; además, se pueden presentar síndromes catarrales, úlceras bucales, náuseas y vómito. La dietilcarbamicina es el agente de elección en el tratamiento de filariasis, loiasis y eosinofilia tropical, y es de uso alternativo para tratar oncocercosis. La dietilcarbamicida es innócula al hombre en dosis terapéuticas. Sólo unos cuantos efectos secundarios leves y ocasionales que aparecen en dos o cuatro horas se pueden atribuir en forma directa al fármaco estos son: cefalea, malestar general, anorexia y debilidad. Con menos frecuencia se presentan náuseas, vómitos y somnolencia. Por la muerte del parásito se presentan afectos secundarios debido a la liberación de proteínas extrañas de microfilarias, o parásitos adultos moribundos en pacientes sensibilizados. Por lo general, la eosinofilia y leucocitosis se intensifican (Goldsmith, 1992).

3.6. Control.

El control de la ascariasis, así como el de otras enfermedades producidas por helmintos, depende tanto de la educación como de la quimioterapias. Esta última puede implicar según las circunstancias, el tratamiento de grandes

masas de población en las que la parasitosis es muy intensa. La identificación de las personas con parasitosis constituye uno de los pasos más graves para el control de la ascariasis (Markell, Voge y John, 1990). Deberá evitarse la reinfección en los lugares contaminados. Es importante proporcionar facilidades para la eliminación adecuada de las excretas y educación de medidas de higiene a madres y niños (Llamas *et al.*, 1991). Un estudio reciente con técnicas de biología molecular, sugiere que el *Ascaris* se transmite del cerdo hacia el hombre (Andersen, 1985).

3.7. Generalidades del *Ascaris suum*.

Los nematodos de vida libre *Caenorhabditis elegans* y el parásito intestina del cerdo *Ascaris suum* son los organismos más utilizados para el estudio *in vitro* de los mecanismos de acción y el cernimiento de agentes antihelmínticos (Jenkins, 1982; Ash y Tucker, 1966).

El *Ascaris suum* presenta algunas características favorables para utilizarlo como modelo de experimentación en el estudio del mecanismo de acción de agentes antihelmínticos. Debido a su abundancia, persiste en el intestino del cerdo y se le puede obtener relativamente fácil en los rastros locales. Se mantiene vivo por algunos días en solución Tyrode a 37 °C (Goodwin, 1958; Aubry *et al.*, 1970). Las características anatómicas y fisiológicas de este parásito, permiten hacer estudios anatómicos, fisiológicos, bioquímicos y farmacológicos con cierta facilidad.

El *Ascaris suum* es la especie que parasita al cerdo, durante años esta especie fué considerada sinónimo del parásito humano *Ascaris lumbricoides*; sin embargo, hoy existen evidencias de que se trata de especies diferentes. Se han descrito diferencias morfológicas en la denticulación de los labios de las dos formas parasitarias, existen diferencias en los truncamientos axiales de los labios y los estudios epidemiológicos efectuados en áreas donde son comunes las infestaciones humanas y porcinas no han podido mostrar la existencia de infestaciones cruzadas; sin embargo, los cromosomas son idénticos la gametogénesis es similar y en condiciones apropiadas, pueden inducirse con la forma humana infestaciones patentes en el cerdo (Soulsby, 1987).

3.7.1. Taxonomía.

La clasificación taxonómica del parásito intestinal *Ascaris suum* es la siguiente: (Brusca y Brusca, 1990; Dunn, 1978).

Filo: Nematoda o Asquelmintos.

Clase: Secernentea o Plásmida.

Subclase: Rhabdita.

Orden: Ascaridida.

Superfamilia: Ascaroidea.

Familia: Ascarididae.

Género: *Ascaris*.

Especie: *suum*.

3.7.2. Características anatómicas del *Ascaris suum*.

El mayor número de los helmintos parásitos pertenecen al grupo de los nematodos. Los nematodos pertenecientes al filo *Asquelmintos*, no son segmentados, presentan generalmente forma cilíndrica aplanándose hacia los extremos y están envueltos en una fuerte cubierta protectora o cutícula. Poseen un aparato digestivo completo con orificio oral y anal. Los *Ascaris suum* son gusanos largos y gruesos de color rosado encontrándose en el intestino del cerdo y muy raramente en el hombre. Los machos pueden medir de 15 a 25 cm mientras que las hembras 40 cm de largo. Los machos pueden distinguirse de las hembras por su tamaño más pequeño y por su cola ligeramente enroscada (Dunn, 1978).

Los órganos reproductores son tubulares, encontrándose plegados en el interior de la cavidad del cuerpo. La hembra tiene dos ovarios idénticos que desembocan en un útero más ancho. El útero puede comunicarse con el exterior por una simple vulva o también presentar una vagina común entre el ovario y la vulva, la vulva suele encontrarse hacia la mitad del cuerpo pero su posición varía de unas especies a otras. Las hembras pueden aparecer más oscuras cuando se encuentran repletas de huevos de color oscuro (Figura 3). En la parte anterior ambos sexos son más delgados pudiéndose observar un orificio bucal con tres labios, dos subventrales y uno dorsal. El labio dorsal lleva dos papilas dobles y cada uno de los ventrolaterales una papila doble subventral y una pequeña lateral. Cada labio lleva en su superficie interna una

corona de diminutos denticulos (Soulsby, 1987). El tubo digestivo consta de una cavidad bucal y faringe estomoideales, un intestino medio o intestino propiamente dicho, terminando en recto o cloaca de origen proctodeal (Markell, Voge y John, 1990).

La cavidad bucal está conectada al esófago llamada también faringe. La faringe es alargada y consta de tres partes: el cuerpo, el istmo y el bulbo terminal (Figura 4) (Brusca y Brusca, 1990). El esófago, es musculoso en la mayoría de las especies. El intestino de *Ascaris* está formado por microvellosidades y en su superficie pueden observarse bulbos excretorios.

La digestión inicial es extracelular; la digestión intracelular ocurre en el intestino seguida de la absorción a través de las microvellosidades de las células intestinales (Figura 5). Los nematodos carecen de aparato respiratorio y circulatorio. Existen modificaciones estructurales que son de importancia en la identificación de las especies (Markell, Voge y John, 1990). En la figura 6 se presenta un esquema del aparato reproductor del *Ascaris* hembra y macho.

3.7.3. Pared del cuerpo.

La pared del cuerpo está constituida por tres estratos: 1) cutícula, 2) hipodérmis y 3) capa muscular.

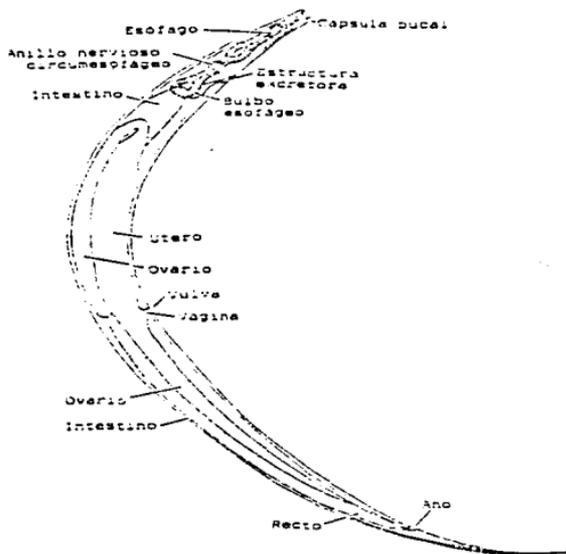


Figura 3. Anatomía del *Ascaris suum* hembra, se observa el tubo digestivo y el sistema reproductor (Brusca y Brusca, 1990).

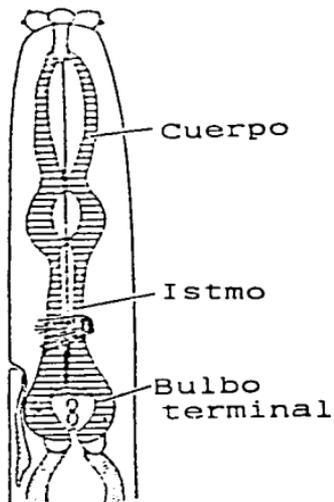


Figura 4. Esófago del *Ascaris suum*, compuesto de tres partes: el cuerpo, el istmo y el bulbo terminal (Brusca y Brusca, 1990).

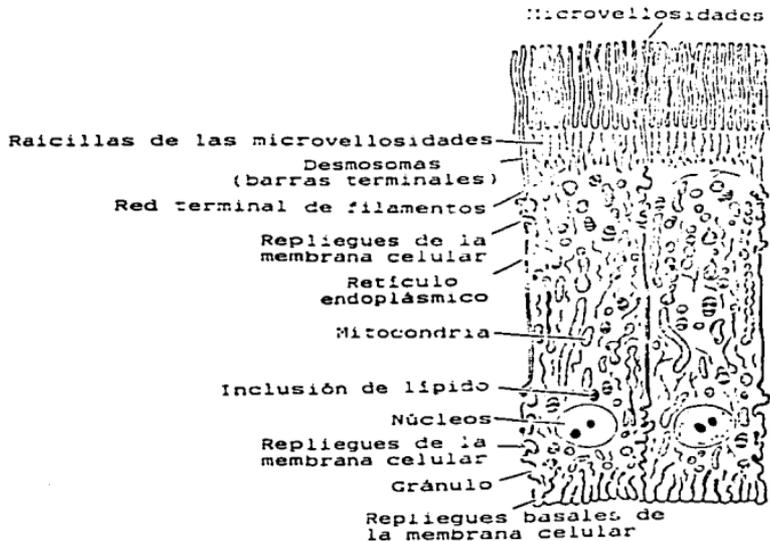


Figura 5. Epitelio intestinal del *Ascaris suum* (Brusca y Brusca, 1990).

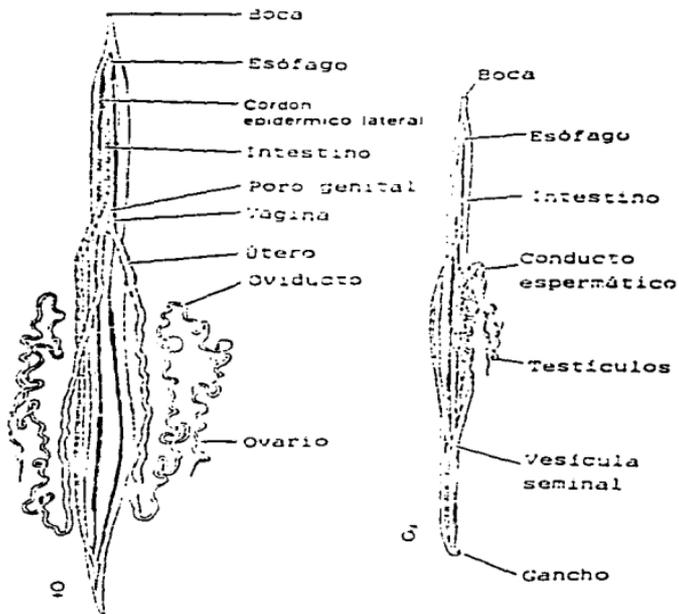


Figura 6. Aparato reproductor del *Ascaris suum* hembra y macho (Brusca y Brusca, 1990).

1) La cutícula es una capa no celular, dividida a su vez en cuatro estratos (epicutícula, exocutícula, mesocutícula y endocutícula); el primero está compuesto por una proteína similar a la queratina y los tres restantes por colágena.

2) La hipodérmis está constituida por un sincitio cuyos núcleos se disponen en cuatro cordones longitudinales; dos laterales, uno ventral y otro dorsal, que recorren todo el cuerpo del animal. El cordón dorsal y el ventral contienen los cordones nerviosos longitudinales y los dos cordones laterales contienen los canales excretores. La función principal de la hipodérmis es la de sintetizar las proteínas que constituyen a la cutícula.

3) La capa muscular está formada por fibras longitudinales exclusivamente (Lamothe y García, 1988; DeBell, *et al.*, 1963; Brusca y Brusca 1990). Las células musculares de *Ascaris* (Fig. 7), están compuestas por tres partes:

- a) El huso (spindle),
- b) La bolsa nuclear,
- c) El brazo.

El huso es una parte fibrilar alargada y es la región contráctil, se encuentra dentro de la hipodérmis y se dispone longitudinalmente. El núcleo de la célula se encuentra en la bolsa nuclear. La bolsa nuclear de forma de balón, tiene un diámetro aproximadamente de 200 μm , y contienen glucógeno particulado (Rosebluth, 1965).

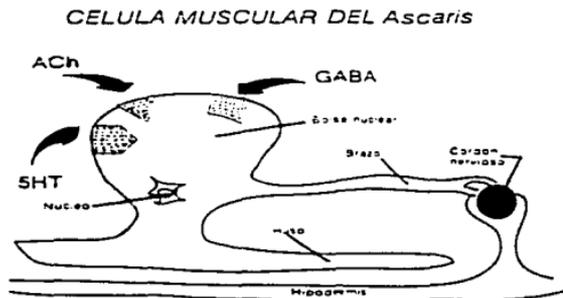


Figura 7. Esquema de la célula muscular del *Ascaris suum*.

El brazo es un apéndice delgado que sale transversalmente de la bolsa nuclear hacia uno de los cordones nerviosos que se encuentran longitudinalmente en el gusano. Los brazos se juntan para formar un sincitio sobre los cordones nerviosos y se acoplan eléctricamente en esta región (Martín, 1980; Del Castillo *et al.*, 1964). En la bolsa nuclear se pueden registrar potenciales de despolarización espontánea de 2 a 10 mV de amplitud superpuestos al potencial de reposo de -30 mV. Se ha demostrado la existencia de receptores extrasinápticos al GABA y a la acetilcolina localizados en la superficie de la bolsa de la célula muscular (Figura 8) (Martín, 1980 y 1982). La acetilcolina despolariza estas células en tanto que la piperazina y el GABA la hiperpolarizan (Martín, 1980; Del Castillo *et al.*, 1964).

La acetilcolina es el neurotransmisor excitatorio en la unión neuromuscular. Este neurotransmisor causa una despolarización y contracción muscular que pueden ser bloqueadas por d-tubocurarina y potenciadas por inhibidores de la acetilcolinesterasa.

Por otro lado, el GABA causa relajación dosis-dependiente en tiras musculares debido a la activación de una conductancia al cloro en las células musculares (Rew y Fetterer, 1986; Ash y Tucker, 1966; Saz y Bueding, 1966; Del Castillo, *et al.*, 1964).

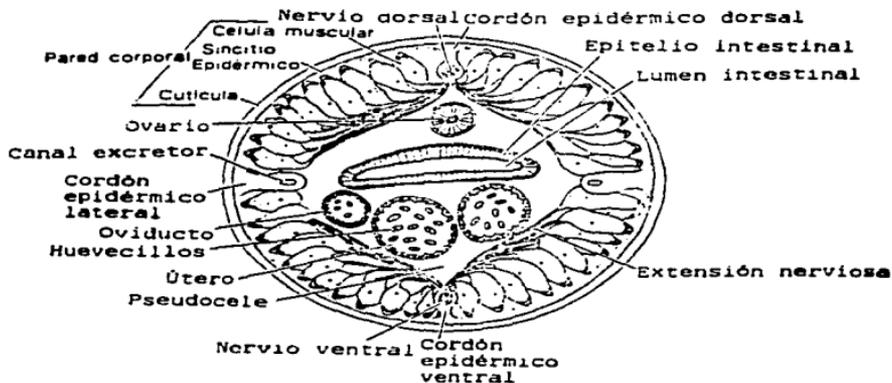


Figura 8. Esquema de la sección transversal del *Ascaris suum*.

3.7.4. Sistema nervioso.

El sistema nervioso del *Ascaris* está constituido por un número pequeño de neuronas (250) reproducibles completamente de animal a animal. La parte motora del sistema nervioso está dividido en cinco segmentos, cada uno contiene 11 motoneuronas. El cordón nervioso ventral se extiende entre los ganglios de la cabeza y de la cola. Contienen los axones de 6 interneuronas, cuyos somas se encuentran en la cabeza o en la cola (Stretton, *et al.*, 1978).

Las 11 motoneuronas de los segmentos, se dividen de acuerdo a su fisiología en dos tipos: en motoneuronas excitatorias (E) y en motoneuronas inhibitorias (I) y de acuerdo a su morfología y distribución de axones y dendritas se dividen en siete tipos, 4 corresponden a la unión neuromuscular dorsal (DI, DE₁, DE₂, y DE₃) y tres corresponden a la unión neuromuscular ventral (VI, V-1 y V-2).

Los cordones nerviosos ventral y dorsal están conectados por ramas transversales de las neuronas llamados comisuras (Figura 9). La estimulación de las motoneuronas excitatorias (DE₁, DE₂, y DE₃) en el cordón nervioso ventral provoca despolarizaciones en las células musculares dorsales y la estimulación de la motoneurona inhibitoria DI provoca la hiperpolarización de las células musculares dorsales.

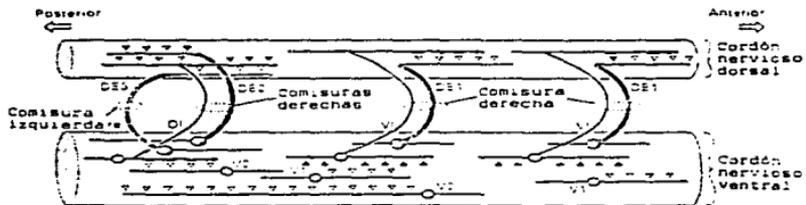


Figura 9. Diagrama de la organización anatómica de las motoneuronas del *Ascaris suum*. Hay 7 tipos anatómicos pero solo hay 2 tipos fisiológicos (excitatorios E; inhibitorios I). DE1, dorsal excitatoria 1; DE2, dorsal excitatoria 2; DE3, dorsal excitatoria 3; DI, dorsal inhibitoria; VI, ventral inhibitoria; V1 y V2 son motoneuronas excitatorias ventrales (Martin *et al.*, 1991).

La motoneurona inhibitoria VI es la única que responde cuando se estimula el cordón nervioso dorsal, provocando la hiperpolarización de las células musculares ventrales. Los cuerpos celulares de las motoneuronas se encuentran en el cordón nervioso ventral. La interacción de motoneuronas excitatorias y motoneuronas inhibitorias, forman circuitos que regulan la relajación y contracción de los músculos dorsales y ventrales (Stretton, *et al.*, 1978). En la figura 10 se presenta un esquema del sistema nervioso de la parte anterior del *Ascaris suum*.

3. 8. Mecanismo de acción de los agentes antihelmínticos.

Se denomina antihelmínticos a los medicamentos que se emplean para liberar al organismo de gusanos parásitos que reciben el nombre de helmintos.

En forma general los agentes utilizados contra los nematodos actúan por tres formas (Rew y Fetterer, 1986): 1) alternado el metabolismo de la glucosa; 2) alterando la coordinación neuromuscular y 3) inhibiendo la función microtubular.

a) Fármacos que actúan sobre el metabolismo de la glucosa.

Los fármacos que actúan sobre el metabolismo de la glucosa de los nematodos parásitos, pueden actuar alterando el transporte, el catabolismo o bien inhibir la síntesis de glucógeno.

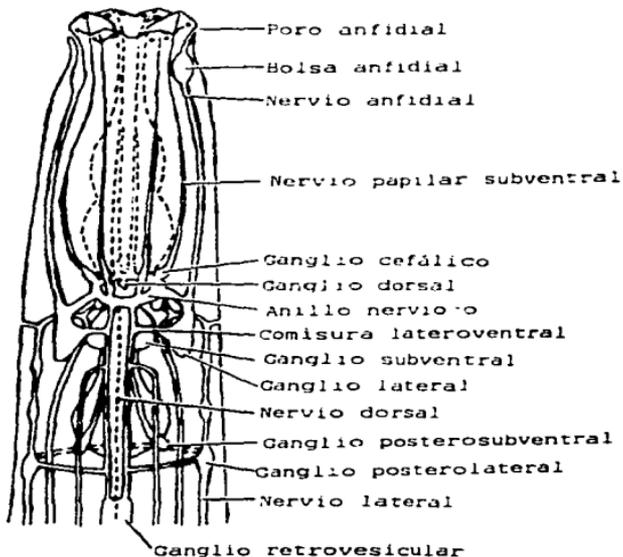


Figura 10. Sistema Nervioso de la región anterior del *Ascaris suum* (Brusca y Brusca, 1990).

Los fármacos que pertenecen a este grupo son: Isotiocianato (bitoscanato), bencimidazoles (tiabendazol, mebendazol), colorantes cianinas (pirvinio, ditiазanina), compuestos de antimonio (testibofén, tioglicolato de antimónio sódico, estibocaptato, estibogluconato, tartrato de antimónio potásico), fenoles sustituidos (disofenol) y salicilanilidas (rafozanida, closantel).

b) Fármacos que inhiben la función microtubular.

Los bencimidazoles, como el mebendazol y fenbendazol, tienen la capacidad de unirse con gran afinidad a las tubulinas en fracciones citosólicas de embriones de *Ascaris suum* de 8 días de edad (Friedman y Platzer, 1980). El fenbendazol, parbensazol y mebendazol, presentan el mismo nivel de potencia para inhibir el ensamblaje de tubulina tanto en mamíferos como en nematodos. En tanto que, el tiabendazol y el oxbendazol son mucho más activos para inhibir el ensamblaje de tubulina en nematodos y son prácticamente inactivos en los mamíferos. Los microtúbulos desarrollan una serie de actividades en las células, están presentes en la mitosis durante la formación del huso y del citoesqueleto, en donde participan en la secreción, la configuración celular y el transporte intracelular (Gull *et al.*, 1987).

Los bencimidazoles provocan la desaparición selectiva de los microtúbulos citoplasmáticos de las células tegumentarias e intestinales de los parásitos afectados y provocan la acumulación de las secreciones de las vesículas dentro de las células. Los bencimidazoles también alteran la secreción de la

acetilcolinesterasa, el consumo de glucosa y agotan las reservas del glucógeno (Webster, 1991). La efectividad de los bencimidazoles radica en la mayor sensibilidad de la tubulina de los helmintos en relación a la de los mamíferos.

c) Fármacos que alteran la coordinación neuromuscular.

Para los nematodos parásitos la coordinación neuromuscular de sus movimientos es fundamental para mantenerse en el sitio adecuado dentro del sujeto que parasitan, para copular, desovar y alimentarse. La mayoría de los agentes antihelmínticos afectan al sistema neuromuscular de los parásitos y se ha puesto especial interés en los neurotransmisores acetilcolina y GABA (Martin *et al.*, 1991).

Algunos agentes antihelmínticos actúan como agonistas colinérgicos, entre los que se encuentran: los imidazotiazoles (levamisol, butamisol), las sales de amonio cuaternarias (befeño, closilato de tenio) y las tetrahidropirimidinas (pirantel, oxantel, morantel).

La inhibición de la enzima acetilcolinesterasa, constituye otra estrategia para alterar la función neuromuscular de los nematodos. Entre los inhibidores de la colinesterasa se encuentran los compuestos organofosforados como: coumafos, triclorfón, haloxón, naftalafos y diclorvos. En realidad estos compuestos se utilizan en la agricultura para combatir insectos y nematodos, y su uso en medicina humana y veterinaria está limitado por su alta toxicidad.

El antihelmíntico piperazina, actúa como agonista selectivo de baja potencia de los receptores del GABA presentes en el *Ascaris*, sobre el cual provoca una parálisis flácida (Del Castillo *et al.*, 1964a; 1964b; Martín *et al.*, 1991).

Las avermectinas (AVM), son un grupo de lactonas macrocíclicas de 16 miembros, con un sistema espiroacetal y un disacárido, obtenidas de actinomicetos del suelo (*Streptomyces avermectilis*). Las avermectinas se pueden separar en cuatro componentes homólogos principales, denominados A_{1a}, A_{2a}, B_{1a}, B_{2a} y cuatro componentes homólogos secundarios A_{1b}, A_{2a}, B_{1b} y B_{2b}, de los cuales de la serie B son en general los componentes con mayor actividad biológica (Wright, 1987).

Las avermectinas tienen una estructura química similar a la de los antibióticos macrocíclicos, sin embargo no presentan actividad antimicrobiana. Son extremadamente tóxicas para los nematodos, los moluscos, varios ácaros y para muchos insectos, pero son inactivas contra trematodos y céstodos. En el *Ascaris suum*, las avermectinas actúan como agonistas postsinápticos del GABA, potenciando la corriente de cloro (Stretton *et al.*, 1978; Kass *et al.*, 1980; Wright).

La AVM B_{1a} a una concentración 6 μ M tiene los siguientes efectos: 1) bloquea la transmisión entre interneuronas y motoneuronas excitatorias (DE1) en el cordón nervioso ventral, reduciendo la despolarización de las células musculares dorsales y 2) bloquea la transmisión entre motoneuronas

inhibitorias (VI) y las células musculares, reduciéndose de esta manera la hiperpolarización de éstas. Para explicar estos efectos se ha postulado la participación del GABA en un tipo de interneuronas del *Ascaris* (Kass *et al.*, 1980).

Las avermectinas son antihelmínticos potentes, insecticidas y antiektoparásitos sin problemas de resistencia cruzada con agentes que actúan sobre el sistema colinérgico (Wang, 1992).

3. 9. Farmacología de los receptores en el *Ascaris suum*.

3. 9.1. Farmacología de los receptores al GABA.

Los receptores al GABA en el *Ascaris*, se encuentran tanto en el sincitio como en las células musculares. El GABA presenta efecto hiperpolarizante en las células musculares en este parásito (Martin, 1980).

Los receptores al GABA del *Ascaris* presentan algunas características similares a los receptores GABA de los vertebrados:

1. La estereoselectividad de los receptores al GABA en el *Ascaris* es idéntica a la de los receptores GABA_A de los vertebrados la cual fue determinada por la potencia relativa de los pares de enantiómeros del dihidromuscimol, 3-OH-GABA y del ácido 4-metil-trans-aminocrotónico.

2. Los agonistas de los receptores GABA_A de los vertebrados son menos potentes en el *Ascaris*.
3. Las respuestas en el receptor GABA de los *Ascaris* es mediada por un incremento en la conductancia de los iones cloro.
4. Existe una correlación de la potencia de los agonistas del GABA en el *Ascaris* y la potencia relativa de los agonistas de los receptores GABA_A en los vertebrados.
5. El antihelmíntico piperazina actúa como agonista selectivo de los receptores GABA en el *Ascaris*.

Hay aún más diferencias farmacológicas entre el receptor GABA en el *Ascaris* y el receptor GABA_A de los vertebrados:

- a) Las respuestas GABAérgicas en el *Ascaris* no son potenciadas por pentobarbitona ni por flurazepan, como ocurre en los vertebrados.
- b) Los antagonistas de los agentes GABAérgicos que actúan sobre los receptores GABA_A: bicuculina, picrotoxina, securinina, pitrazepina y dieldrin son débiles o inactivos en el *Ascaris*.

La insensibilidad a estos fármacos presenta diferencias en la farmacología del receptor GABA en el *Ascaris* en relación con el receptor GABA_A de los vertebrados. Esto ha llevado a proponer que hay un tipo distinto de receptores en nematodos, el cual se denomina receptor GABA_n (n=no antagonizado por picrotoxina; n=nematodos) (Martin, 1991) En la tabla 1 se presentan algunos de los agonistas GABAérgicos con actividad en el *Ascaris*.

3.9.2. Farmacología de los receptores de la acetilcolina.

La presencia de receptores a la acetilcolina en el *Ascaris suum* fueron encontrados inicialmente por Baldwin y Moyle (1949) y más tarde por Norton y De Beer (1957). Estos receptores fueron localizados sinápticamente en la región sincitial (Del Castillo *et al.*, 1963; Martin, 1982) y extrasinápticamente en la región de la bolsa del músculo de *Ascaris* (Martin, 1982). La acetilcolina despolariza y cambia la frecuencia y la amplitud de las espigas en las células musculares (Del Castillo *et al.*, 1963) e incrementa la conductancia no selectiva de cationes en la membrana con un potencial inverso cercano a 0 mV (Martin, 1982; Harrow y Gratton, 1985). Por estudios en células individuales se ha demostrado la presencia de la colina acetiltransferasa en las motoneuronas excitatorias presinápticas del músculo (Johnson y Stretton, 1977). La nicotina a concentraciones bajas produce contracciones al igual que la acetilcolina (Onaguluchi, 1989).

Tabla 1. Agonistas de los receptores GABAérgicos en el *Ascaris suum* ordenados de mayor a menor de acuerdo a sus potencias relativas (Martin *et al.*, 1991).

Agonistas

S-(+)-dihidromuscimol

± dihidromuscimol

Acido (Z)-3-(aminoiminometil)-tiol-2-propenoico (ZAPA)

Acido γ -aminobutírico (GABA)

R-(-)-dihidromuscimol

Acido *trans* - aminocrotónico (TACA)

R-(-)-3-OH-GABA

Acido imidazol-4-acético (IAA)

Muscimol

Isoguvacina

S-(+)-3-OH-GABA

Acido guanidoacético (GuAA)

Homo- β -prolina

Acido delta-aminovalérico (DAVA)

Acido *cis* - aminocrotónico (CACA)

Acido beta-guanidopropiónico (BGuPA)

4,5,6,7-tetrahidroisoxazol-[5,4c]-piridin-3-ol (THIP)

motoneuronas excitatorias presinápticas del músculo (Johnson y Stretton, 1977). La nicotina a concentraciones bajas produce contracciones al igual que la acetilcolina (Onauguluchi, 1989). Los agonistas nicotínicos provocan buenas respuestas sobre los receptores a la acetilcolina del *Ascaris*, mientras que los agonistas muscarínicos son débiles o inactivos (Baldwin y Moyle, 1949; Natoff, 1969; Rozhkova *et al.*, 1980; Colquhoun *et al.*, 1991).

La potencia relativa de los agentes nicotínicos y muscarínicos en este nematodo, tienen el orden de potencia siguiente: metahidroxifenilpropiltrimetilamonio (HPPT)> yoduro de 1,1-dimetil-4-fenil piperazinio (DMPP)> acetilcolina> nicotina> carbacol> tetrametilamonio (TMA⁺)> muscarona> arecolina> decametonio, que fue un antagonista débil también (Colquhoun, *et al.*, 1991; Natoff, 1969; Harrow y Gratton, 1985).

La mecamilamina y benzoquinonio son los antagonistas más potentes para antagonizar la respuesta de la acetilcolina en el *Ascaris* y son más potentes que la tubocurarina. El orden de potencia de otros antagonistas es: tetrafenilfosfonio> quinacrina> tubocurarina> pancuronio, curare> trimetofan> atropina> clorisondamina, decametonio> hexametonio> dihidro- β -eritroidina. El antagonista ganglionar potente en los vertebrados hexametonio tiene una potencia baja como antagonista en el *Ascaris* (Natoff 1969; Martin, 1991) y el antagonista selectivo de los receptores muscarínicos, la atropina es una antagonista muy débil para antagonizar la respuesta de la acetilcollina (Coulquhoun, *et al.*, 1991; Natoff, 1969).

Las contracciones inducidas por acetilcolina se bloquean por d-tubocurarina, pero no por atropina, así el receptor a la acetilcolina en el *Ascaris* tuvo algunas de las propiedades farmacológicas del receptor nicotínico de los vertebrados (Martin *et al.*, 1991).

Considerando la actividad de los agonistas colinérgicos en el *Ascaris* se propuso que este receptor es de tipo nicotínico. Sin embargo, este receptor no se había podido clasificar de acuerdo a la nomenclatura de los receptores colinérgicos en los mamíferos como ganglionar o como neuromuscular, debido a que se bloquea tanto por los antagonistas nicotínicos musculares, tubocurarina y benzoquinona, como por el antagonista nicotínico ganglionar mecamilamina, pero no por el hexametonio (Martin *et al.*, 1991). Sin embargo recientemente se ha propuesto que se trata de un subtipo de receptor nicotínico denominado receptor nicotínico_n (Navarrete y Hong, 1995). En la tabla 2 se presenta la lista de los agonistas y antagonistas colinérgicos más importantes, que tienen efecto en los receptores colinérgicos del *Ascaris*.

3.10. Actividad de derivados de piperazina en el *Ascaris suum*.

El descubrimiento de las propiedades antihelmínticas de la piperazina es acreditada a Fayard (1949), pero esto fue observado primeramente por Boismare, esto fue un avance muy importante en el desarrollo de antihelmínticos originado no por quimioterapia experimental, sino por observación directa de los farmacéutico en las provincias de Francia.

Tabla 2. Agonistas y antagonistas colinérgicos en el *Ascaris suum* ordenados de mayor a menor de acuerdo a su potencia relativa (Colquhoun *et al.*, 1991; Martin *et al.*, 1991, Navarrete y Hong, 1995).

AGONISTAS

Morantel
Pirantel
DMPP
Levamisol
Acetilcolina
Propionilcolina
Succinilcolina
Nicotina
Carbacol
Trimetilamonio
Muscarina
Furtretonio
Arecolina
Suberildicolina
Decametonio

ANTAGONISTAS

Benzoquinonio
Mecamilamina
Clorisondamina
Tetrafenilfosfónio
Quinacrina
Tubocurarina
DMQP
Pancuronio
Trimetofan
Atropina
Decametonio
Hexametonio
Dihidro- β -eritroidina

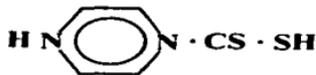
En los diez años siguientes, estas observaciones formaron parte de una gran cantidad de trabajos experimentales y clínicos, considerando a la piperazina como un fármaco ideal para el tratamiento de oxiuriasis y ascariasis por su gran actividad, simplicidad en el tratamiento, ausencia de toxicidad a dosis terapéuticas, bajo costo y compatibilidad en formulaciones para ascariasis. (Standen, 1963).

La piperazina hexahidratada, como citrato, adipato y fosfato es recomendable en dosis de 4 g para la ascariasis. El uso de cada sal tiene pequeñas diferencias en sus resultados, en preparaciones *in vitro* de *Ascaris*.

Varios derivados de la piperazina fueron desarrollados para su uso como antihelmínticos. Leiper en 1954 describe la efectividad de una piperazina de disulfuro de carbono, la cual fue 100% efectiva a la dosis de 100 mg/Kg contra *Ascaris lumbricoides* y *Oesophagostomum dentatum* en el puerco. Esta sustancia es un polímero compuesto del ácido 1-dicarbottiopiperazínico (Figura 11A) y la sal de ácido 1,4 dicarbottiopiperazínico (Figura 11B); este compuesto se descompone en el jugo gástrico y libera la piperazina y el disulfuro de carbono. Las observaciones de Leiper fueron confirmadas por Riedel y Larson (1956) quienes obtuvieron el 95-100% de limpieza de *Ascaris lumbricoides* en puercos a dosis de 110 mg/Kg (Standen, 1963).

La polimetilpiperazina fue efectiva contra *Ascaris* y pequeños *Strongyloides* en caballos a dosis de 46 mg/Kg y poco efectivo contra oxiuros. La 1,4-Bis-(D-glucosil)-piperazina por sus propiedades tóxicas fue retirada y 2,4,5-triclorofenil-piperazina fue efectiva contra ascariasis trichuriasis y oxiuriasis. Harfenist *et al.* (1957) demostró la relación estructura actividad en sales de piperazina monocuaternarias probadas en ratones infectados con *Syphacia obvelata* las cuales resultaron inactivas.

A



B



Figura 11. A. Estructura del ácido 1-dicarbottolpiperazínico.
B. Estructura del ácido 1,4-dicarbottolpiperazínico.

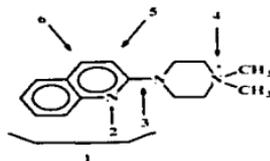
El DMQP, un análogo del DMPP, obtenido por reemplazamiento del grupo fenilo de la posición 4 de la estructura del DMPP por un grupo 2-quinolilo, inhibió de un modo no competitivo la respuesta de contracción provocadas por carbacol y DMPP (Navarrete y Hong, 1995).

El DMQP se considera como el primer antagonista selectivo de los receptores colinérgicos del *Ascaris suum*, el cual distingue a los receptores nicotínicos de mamíferos de los receptores nicotínicos del *Ascaris*. Esto apoya la idea de que los receptores colinérgicos del *Ascaris* son un subtipo de receptores nicotínicos, para los cuales se ha propuesto denominarlos receptores nicotínicos n (n=nematodos) (Navarrete y Hong, 1995).

4. Justificación.

El DMQP es un antagonista selectivo de los receptores nicotínicos n del *Ascaris suum*, sin embargo su potencia es baja (Navarrete y Hong, 1995). Este antagonista puede tomarse como base para la búsqueda de moléculas análogas con mayor potencia, lo que permitió conocer mejor la naturaleza del receptor nicotínico presente en el *Ascaris suum* y constituir un blanco de ataque para el desarrollo futuro de agentes antihelmínticos.

En este trabajo se realizó la evaluación de 6 compuestos análogos del DMQP, así mismo, se comparó con la actividad de otros antagonistas colinérgicos como mecamilamina, d-tubocurarina, atropina y hexametonio. La estructura del DMQP y las modificaciones que se llevaron a cabo se presentan en la figura 12.



1. EL CAMBIO DEL ANILLO AROMÁTICO
2. LA PRESENCIA DE NITRÓGENO EN EL ANILLO AROMÁTICO
3. LA INSERCIÓN DE UN METILO EN EL ANILLO QUINOLÍNICO Y LA PIPERAZINA
4. LA ANILINA CUATERNARIA.
5. EL CAMBIO DE LA POSICIÓN 2 A LA POSICIÓN 3
6. EL CAMBIO DE LA POSICIÓN 2 A LA POSICIÓN 4

Figura 12. Modificaciones que se realizaron a la molécula del DMQP.

5. Objetivos.

5.1 Objetivo General.

El objetivo general en este trabajo es:

Realizar la evaluación de moléculas análogas al DMQP como antagonistas selectivos de los receptores nicotínicos n, utilizando una preparación con tiras musculares de la región ventral de *Ascaris suum*.

5.2 Objetivos Particulares.

Los objetivos particulares en este trabajo son:

5.2.1. Realizar la semisíntesis química de los compuestos análogos del DMQP.

5.2.2. Recolectar los especímenes de *Ascaris suum* en el rastro de especies mayores de la "Aurora" en Ciudad Nezahualcoyotl Estado de México.

5.2.3. Mantener vivos en el laboratorio a los especímenes de *Ascaris suum* en solución Tyrode a 37°C.

5.2.4. Evaluar el efecto antagonista de los siguientes compuestos análogos al DMQP: yoduro de 1,1-dimetil-4-(2-metil-4-quinolil)-piperazinio (DM2M4QP); yoduro de 1,1-dimetil-4-(3-quinolil)-piperazinio (DM3QP); yoduro de 1,1-dimetil-4-(2-naftil)-piperazinio (DMNP); yoduro de 1,1-dimetil-4-(2-metilenquinolil)-piperazinio (DM2MQP); yoduro de 1,1-dimetil-4-(4-quinolil)-piperazinio (DM4QP); yoduro de 1,1-dimetil-4-(4-piridil)-piperazinio (DM4PP).

5.2.5. Evaluar el efecto de algunos antagonistas colinérgicos como mecamilamina, tubocurarina, atropina y hexametonio sobre los receptores de la acetilcolina.

5.2.6. Calcular la potencia relativa de los análogos del DMQP en relación a la mecamilamina y el DMQP.

5.2.7. Evaluar el efecto del análogo del DMQP más potente sobre el bloqueo ganglionar en una preparación de rata descerebrada y desmedulada

5.2.8. Evaluar el efecto del análogo del DMQP más potente sobre el bloqueo neuromuscular en ratas.

6. Hipótesis.

La hipótesis planteada para este trabajo es:

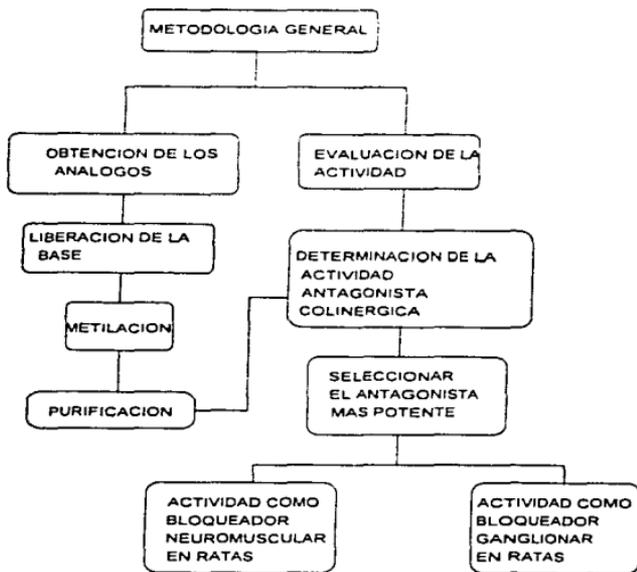
Las moléculas análogas del DMQP actúan como antagonistas selectivos de los receptores nicotínicos n del *Ascaris suum* con mayor potencia que el DMQP.

7. Materiales y Métodos.

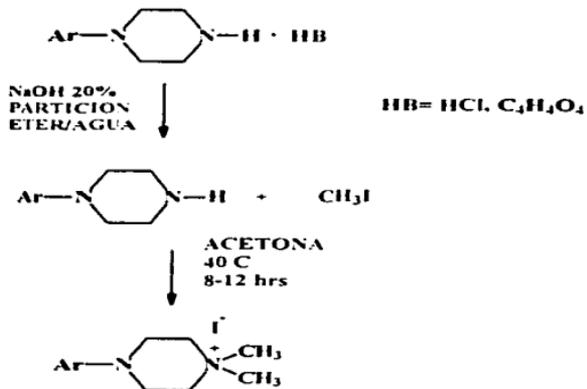
El método que sirvió para el desarrollo de este trabajo, fue descrito por Navarrete y Hong (1995). La metodología general se plantea en el esquema 1.

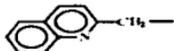
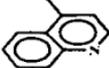
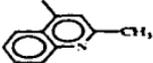
7.1. Obtención de los análogos del DMQP.

Los análogos del DMQP: yoduro de 1,1-dimetil-4-(2-metil-4-quinolil)-piperazinio (DM2M4QP); yoduro de 1,1-dimetil-4-(3-quinolil)-piperazinio (DM3QP); yoduro de 1,1-dimetil-4-(2-naftil)-piperazinio (DMNP); yoduro de 1,1-dimetil-4-(2-metilenquinolil)-piperazinio (DM2MQP); yoduro de 1,1-dimetil-4-(4-quinolil)-piperazinio (DM4QP); yoduro de 1,1-dimetil-4-(4-piridil)-piperazinio (DM4PP), disponibles en la Sección de Terapéutica Experimental del Centro de Investigación y Estudios Avanzados se obtuvieron de las sales de maleato, clorhidrato y oxalato de las arilpiperazinas correspondientes. Cada una de estas sales fue tratada con una solución de hidróxido de sodio al 20% (peso/volumen), la cual se agregó poco a poco hasta alcanzar un pH= 8. Esta solución se extrajo tres veces con acetato de etilo, la fase de acetato de etilo se lavó con agua hasta un pH neutro, se secó con sulfato de sodio anhidro y se eliminó el disolvente a presión reducida. Cada mmol del producto obtenido en esta fase fue tratado con 4 mmoles de yoduro de metilo en acetona, la mezcla resultante se calentó a reflujo por un período de 8 a 24 horas, dependiendo del compuesto (Esquema 2). La reacción se siguió por cromatografía en capa fina.



Esquema 1. Diagrama de flujo de la metodología general para la obtención y evaluación de los análogos del Ioduro de 1,1-dimetil-4-(2-quinolil)-piperazinio (DMQP).



Ar		
		
		

Esquema 2. Semisíntesis de los análogos del Ioduro de 1,1-dimetil-4-(2-quinolil)-piperazinio.

Las estructuras de estos compuestos se verificó a través de sus espectros de H-RMN y de sus constantes físicas.

7.2. Material biológico.

Especímenes de *Ascaris suum* fueron obtenidos del rastro de especies mayores "La Aurora" de Ciudad Nezahualcóyotl, en el Estado de México. Los parásitos se colocaron y se transportaron al laboratorio en solución Tyrode a 37°C (Onauguluchi, 1989) conteniendo (mM): cloruro de sodio 136.8; cloruro de potasio 2.68; cloruro de magnesio 0.5; cloruro de calcio 1.36; carbonato de sodio 1.78; fosfato de sodio 1.86; glucosa 27.75. Los *Ascans* fueron utilizado para los experimentos en un periodo no mayor de 5 días. Se utilizaron únicamente los gusanos hembra, de peso entre 4 y 6 gramos.

7.3. Preparación de tiras musculares de *Ascaris suum*.

Se utilizaron tiras musculares ventrales de 2 cm de largo de la pared muscular, obtenidas inmediatamente después del poro genital del *Ascaris*. El fragmento obtenido fue cortado a lo largo de los conductos laterales, y la porción dorsal fue descartada. El intestino y el útero fueron retirados cuidadosamente usando unas pinzas finas. La tira muscular ventral se colocó en una cámara de órgano aislado, conteniendo 10 ml de solución Tyrode modificada a 37 °C.

La preparación se suspendió entre 2 ganchos, un extremo de la preparación muscular se fijó al tapón de la cámara y el extremo opuesto se unió a un transductor de desplazamiento de fuerza Grass 7 FT03 conectado a un polígrafo Grass 7D para registrar las contracciones isométricas del músculo. Las tiras se dejaron estabilizar por una hora bajo una tensión inicial de 4 g antes de la aplicación de los fármacos.

7.4. Aplicación de fármacos.

Los fármacos se disolvieron en solución Tyrode. Todos los compuestos se prepararon diariamente y se adicionaron a la cámara de órgano aislado en volúmenes de 0.1 ml. La concentración de los fármacos se expresó como la concentración final en la solución del baño.

7.5. Efecto del agonista colinérgico acetilcolina.

La capacidad para producir contracción fue analizada por medio de curvas dosis-respuesta, obtenidas para la acetilcolina. La curva dosis-respuesta para la acetilcolina fue construida con concentraciones individuales. Las concentraciones de acetilcolina fueron adicionadas a intervalos de 15 min dejando 2 min de contacto con el tejido. La curva dosis-respuesta para la acetilcolina fue expresada en gramos. Todos los resultados fueron expresados como la media \pm e.e.m. de por lo menos 6 repeticiones.

7.6. Efecto de los antagonistas colinérgicos.

La acetilcolina se adicionó al baño del tejido a intervalos de 30 min dejando 5 min de contacto. Los fármacos antagonistas mecamilamina, tubocurarina, atropina, hexametonio, DMQP y los análogos obtenidos se adicionaron 10 min antes de la adición subsecuente de la concentración de acetilcolina. La concentración del agente bloqueador requerida para producir el 50% de la inhibición de la respuesta a la contracción de acetilcolina fue estimada por regresión no lineal. Cada experimento se realizó al menos 6 veces y los datos fueron expresados como las medias \pm e.e.m.

7.7. Bloqueo ganglionar en la rata descerebrada y desmedulada.

Las ratas Winstar se anestesiaron con éter etílico, se les canuló la traquea y posteriormente se descerebraron y desmedularon mediante el uso de un estilete de 1.5 mm de diámetro, que se introdujo por el orificio ocular, destruyendo el cerebro por movimientos repetidos en la cavidad craneal. La médula fue destruida por la introducción del estilete en el canal espinal. Inmediatamente después, se conectó la cánula de la traquea a una bomba Ideal Palmer para proporcionarles respiración artificial (56 ciclos/minuto; a un volumen de 2 ml/100 g de peso). Se les cortaron los nervios vagos, se canuló la vena femoral derecha para la administración de los fármacos y una arteria carótida para registrar la presión sanguínea. El estilete se substituyó por un electrodo cubierto con un material aislante, este electrodo contiene un

segmento, de un cm de longitud sin cubrir con el material aislante, situado a 9 cm de la punta del electrodo. El segmento sin cubrir quedó situado a la altura de las vértebras T7-T9 del cordón espinal, lo que permitió estimular selectivamente a los nervios simpático que inerva a los lechos vasculares sistémicos (Gillespie *et al.*, 1970). Se colocó un electrodo diferencial dorsalmente y para evitar los espasmos musculares se administrará galamina (25 mg/Kg, i.v.) disuelta en solución salina isotónica. Se aplicaron pulsos rectangulares monofásicos de una duración de 0.5 ms y un voltaje supramáximo (50 mV) como trenes de 10 segundos a 1 y 3.1 Hz de frecuencia. La presión sanguínea se registró con un transductor de presión Statham (P23 ID) el cual se encontró conectado a un polígrafo Grass 7D, la temperatura del animal se mantuvo entre 37 y 38 °C. Se registraron las respuestas controles para la estimulación eléctrica a 1 y 3.1 Hz, posteriormente se evaluó el efecto bloqueador de los fármacos, administrándolos por la vena femoral 10 minutos antes de registrar nuevamente las respuestas a las mismas frecuencias. En cada rata se evaluó el efecto del compuesto de prueba (10 mg/Kg), mecamilamina (3.1 mg/Kg) y hexametonio (10 mg/Kg) disueltos en solución salina isotónica. Los resultados se procesaron estadísticamente por un análisis de varianza, aceptándose diferencias significativas para un valor de $p < 0.05$.

7.8. Bloqueo neuromuscular en ratas.

Las ratas se anestesiaron con pentobarbital sódico (50 mg/Kg, i.p.), se canuló Palmer (56 ciclos/min; a un volumen de 2ml/100 g de peso corporal). Para la administración de los fármacos se canuló la vena femoral derecha. Se disecó el músculo tibial anterior y el nervio ciático en la extremidad inferior izquierda. El extremo inferior del músculo se conectó con un hilo a un transductor de desplazamiento de fuerza Grass FT 10C, conectado a un polígrafo Grass 7D. Las contracciones musculares se provocaron por la estimulación eléctrica distal del nervio ciático en el espacio popliteal con pulsos rectangulares de una duración de 0.5 ms y de una intensidad supramáxima determinada para cada animal (Buckett et al., 1968). La bomba de respiración artificial se utilizó para evitar la muerte de los animales debidas al bloqueo neuromuscular de los músculos de la respiración. Con esta preparación se evaluó el efecto como bloqueador neuromuscular del análogo del DMQP, el DMNP, a las dosis de 1.0, 3.1, y 10.0 mg/kg y se comparó con el efecto del clorhidrato de tubocurarina a las dosis de 20, 40, 60, 80, 100 y 120 μ g/Kg, administrados intravenosamente a través de la cánula de la vena femoral derecha.

7.9. FARMACOS Y SUSTANCIAS DE PRUEBA.

El clorhidrato de acetilcolina y el yoduro de metilo se obtuvieron de la compañía Sigma Chemicals. Las sales de maleato, clorhidrato y oxalato de las arilpiperazinas fueron obtenidas del acervo de compuestos perteneciente a la

Sección de Terapéutica Experimental del Departamento de Farmacología y Toxicología del CINVESTAV. Las sales orgánicas utilizadas para la preparación de la solución Tyrode así como los disolventes y compuestos utilizados en el proceso de semisíntesis fueron de grado analítico, adquiridos de las compañías J.T. Baker y Sigma.

8. RESULTADOS.

8.1. Obtención de los análogos del DMQP.

Las estructuras de los análogos del DMQP fueron comprobadas por medio de sus espectros de resonancia magnética nuclear de hidrógeno (H-RMN), así como por sus propiedades físicas. En la tabla 3 se resumen sus puntos de fusión, rendimientos y disolvente utilizado para su extracción de la fase acuosa.

Tabla 3. Resultados de la semisíntesis de los análogos del DMQP.

COMPUESTO	P.M.	p.f. (°C)	D.E.	RENDIMIENTO (%)
DMNP	369.26	230-232	Eter etílico	74.86
DM2M4QP	384.27	236-238	Cloroformo	62.77
DM3QP	368.90	236-238	Eter etílico	61.41
DM2MQP	384.10	154-156	Acetato de etilo	39.70
DM4PP	329.90	228-230	Cloroformo	87.28
DM4QP	368.90	256-258	Eter etílico	75.32

D.E. = Disolvente de extracción.

8.2. Determinación de la curva concentración-respuesta contráctil de la acetilcolina en tiras musculares del *Ascaris*.

La acetilcolina provoca respuesta contráctil de corta duración, dependiente de la concentración. La acetilcolina provocó el efecto máximo a la concentración de 100 μ M (Figura 13). Para evaluar el efecto de los antagonistas se utilizó una concentración 100 μ M de acetilcolina la cual dio una tensión de 3.67 ± 0.36 g.

8.3. Efecto de los antagonistas colinérgicos sobre la respuesta contráctil provocada por acetilcolina en tiras musculares de *Ascaris*.

En la tabla 4 y en la figura 14 se resumen los resultados de la actividad de los agonistas colinérgicos para inhibir las contracciones de la acetilcolina 100 μ M; el orden de potencia para estos antagonistas fue el siguiente: mecamilamina > d-tubocurarina > atropina > DMQP > hexametonio.

8.4. Evaluación de los análogos del DMQP

Los análogos del DMQP: DMNP, DM2M4QP, DM3QP, DM2MQP, DM4PP y DM4QP inhibieron de manera dependiente de la concentración, las respuestas contráctiles provocadas por acetilcolina 100 μ M. En la figura 15 se presenta las curvas concentración-respuesta del efecto antagonista de los análogos del DMQP.

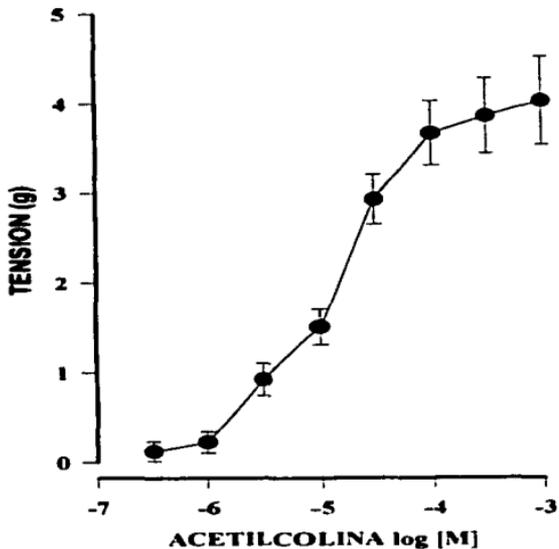


Figura 13. Curva concentración respuesta para el efecto contráctil de la acetilcolina en tiras musculares del *Ascaris suum*. El punto representa la media \pm e.e.m. de por lo menos 6 experimentos.

Tabla 4. Potencias relativas de los antagonistas colinérgicos para inhibir el efecto contráctil de la acetilcolina 100 μ M en tiras musculares del *Ascaris suum*.

ANTAGONISTA	CI ₅₀	POTENCIA RELATIVA*
Mecamilamina	0.07 \pm 0.2	1
Tubocurarina	0.11 \pm 0.26	0.63
Atropina	16.54 \pm 0.20	0.0042
DMQP	35.48 \pm 0.08	0.0019
Hexametonio	279.14 \pm 0.12	0.0002

* La potencia relativa se calculó por el cociente del valor de CI₅₀ de la mecamilamina entre el CI₅₀ de la tubocurarina, atropina, el DMQP, DMNP y hexametonio.

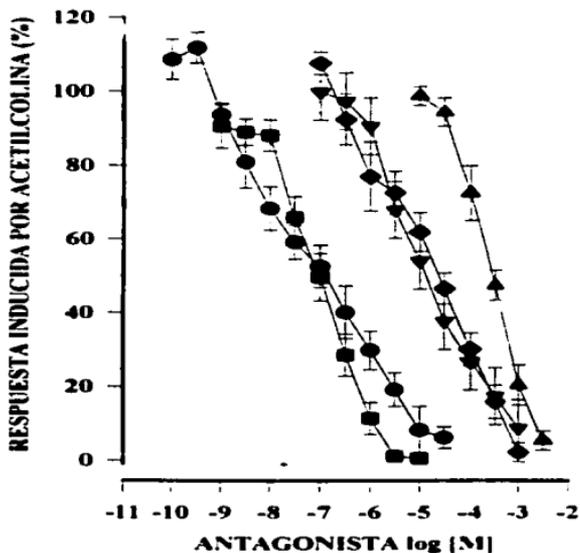


Figura 14. Efecto antagonista de la mecamilamina (●), tubocurarina (■) atropina (▼), hexametonio (▲) y DMQP (◆) en tiras musculares del *Ascaris suum*. El 100% corresponde a la respuesta de acetilcolina 100 μ M en ausencia del antagonista (3.67 ± 0.36). Los resultados representan a la media \pm e.e.m de 8 experimentos.

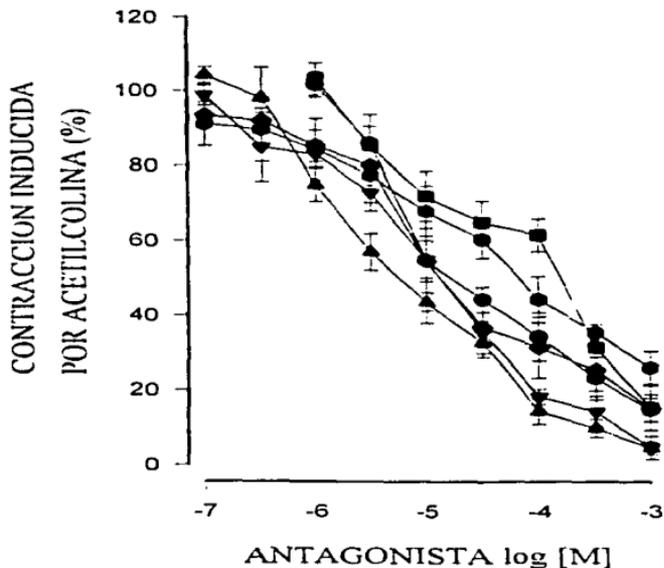


Figura 15. Efecto antagonista de los análogos del DMQP: DMNP (▲), DM3QP (◆), DM4QP (■), DM2M4QP (▼), DM2MQP (●), DM4PP (●), en tiras musculares de *Ascaris suum*. El 100% corresponde a la respuesta de acetilcolina 100 μ M en ausencia del antagonista (3.67 ± 0.36). Los resultados corresponden a la media \pm e.e.m. de 8 experimentos.

La potencia relativa para estos compuestos (razón de CI_{50} del DMQP entre el CI_{50} de los análogos del DMQP) fue la siguiente: DMNP > DM2M4QP > DM3QP > DM2NQP > DM4PP > DMQP > DM4QP. En la tabla 5 se resume la concentración inhibitoria 50 (CI_{50}) y la potencia relativa (PR) para estos compuestos. Tomando como referencia al antagonista mecamilamina el orden de potencia para los análogos del DMQP y los antagonistas colinérgicos fue el siguiente: mecamilamina > tubocurarina > DMNP > DM2M4QP > atropina > DM3QP > DM2MQP > DM4PP > DMQP > DM4QP > hexametonio (tabla 6). El DMNP fue el análogo más potente, inclusive que el DMQP.

8.5. Evaluación del DMNP como antagonista colinérgico ganglionar en ratas.

El DMNP en dosis de 10 mg/Kg (i.v.) no tuvo efecto como bloqueador ganglionar en ratas descerebradas y desmeduladas, mientras que la mecamilamina en dosis de 3.1 mg/Kg (i.v.) y el hexametonio en dosis de 10 mg/Kg (i.v.) inhibieron de forma significativa, los incrementos de la presión arterial inducidos por estimulación eléctrica a 1.0 y 3.1 Hz (Figura 16).

8.6. Evaluación del DMNP como bloqueador neuromuscular en ratas.

El DMNP no inhibió las contracciones del músculo tibial de la rata a la dosis intravenosas de 1.6, 3.0, 5.6 y 10 mg/Kg, mientras que la tubocurarina presentó una DE_{50} de $85.4 \pm 1.6 \mu\text{g/Kg}$ (i.v.) en dicha preparación (Figura 17 y 18).

Síntesis y evaluación de los análogos del DMQP sobre el *Ascaris suum*.

Tabla 5. Potencias relativas de los análogos del DMQP para inhibir el efecto contráctil de la acetilcolina (100 μ M) en la preparación de tiras musculares del *Ascaris suum*.

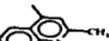
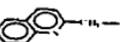
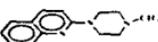
R	Cl ₅₀ (mM)	POTENCIA RELATIVA A LA MECAMILAMINA	POTENCIA RELATIVA AL DMQP
MECAMILAMINA	0.07 \pm 0.2	1	
	35.48 \pm 0.08	0.0019	1
	8.91 \pm 0.14	0.0078	3.98
	12.79 \pm 0.10	0.0054	2.7740
	22.02 \pm 0.14	0.003178	1.6112
	22.06 \pm 0.19	0.003173	1.6083
	27.72 \pm 0.28	0.0025	1.2799
	84.13 \pm 0.19	0.00083	0.4217
	>1000		

Tabla 6. Potencias relativas para los análogos del DMQP y los antagonistas colinérgicos tomando como referencia a la mecamilamina.

ANTAGONISTA	CI ₅₀ (mM)	POTENCIA RELATIVA*
Mecamilamina	0.07±0.2	1
Tubocurarina	0.11±0.26	0.63
DMNP	8.91±0.14	0.0078
DM2M4QP	12.79±0.10	0.0054
Atropina	16.54±0.20	0.0042
DM3QP	22.02±0.14	0.003178
DM2MQP	22.06±0.19	0.003173
DM4PP	27.72±0.28	0.0025
DMQP	35.48±0.08	0.0019
DM4QP	84.13±0.19	0.000083
Hexametonio	279.14±0.12	0.0002

* La potencia relativa se calculó por el cociente del valor de CI₅₀ de la mecamilamina entre el CI₅₀ de los análogos del DMQP y los antagonistas colinérgicos.

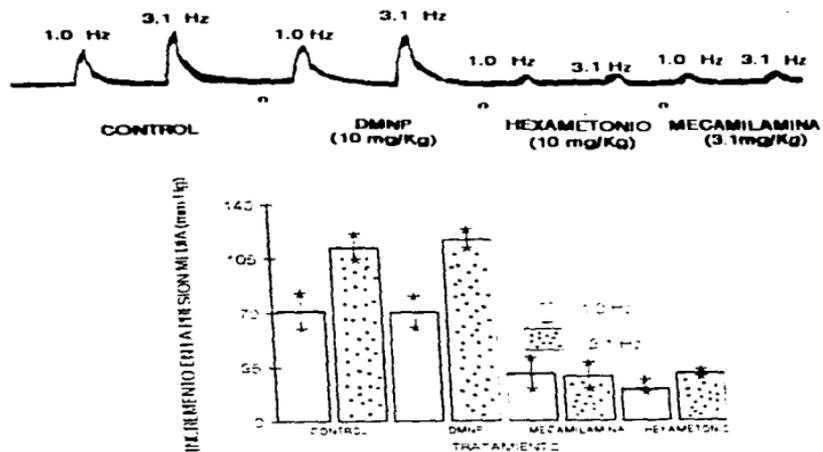


Figura 16. A) Registro en polígrafo de la respuesta observada. B) Efecto del DMNP, hexametonio y mecamilamina sobre el incremento de la presión arterial en ratas descerebradas y desmeduladas, sometidas a la estimulación supramáxima a 1.0 Hz y 3.1 Hz en los nervios simpáticos espinales (T7-T9). Los resultados representan las medias \pm e.e.m. de por lo menos 6 experimentos.

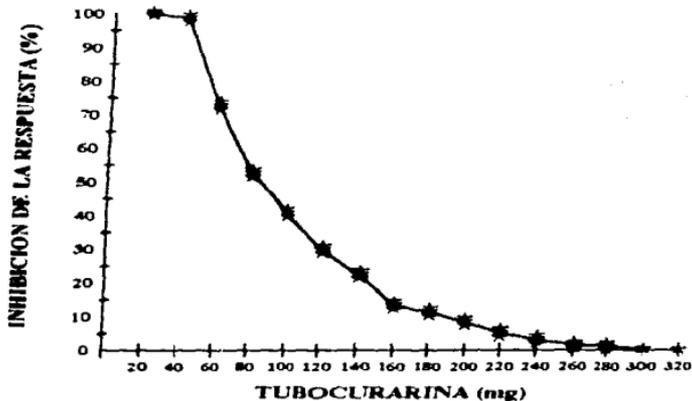


Figura 17. Curva dosis-respuesta del efecto del bloqueo neuromuscular de la d-tubocurarina en el músculo tibial por estimulación eléctrica de 1.2 V con una duración de 1.0 ms y una frecuencia de 10.0 ppm. en nervio sciático. Los resultados representan las medias \pm e.e.m. de por lo menos 6 experimentos.

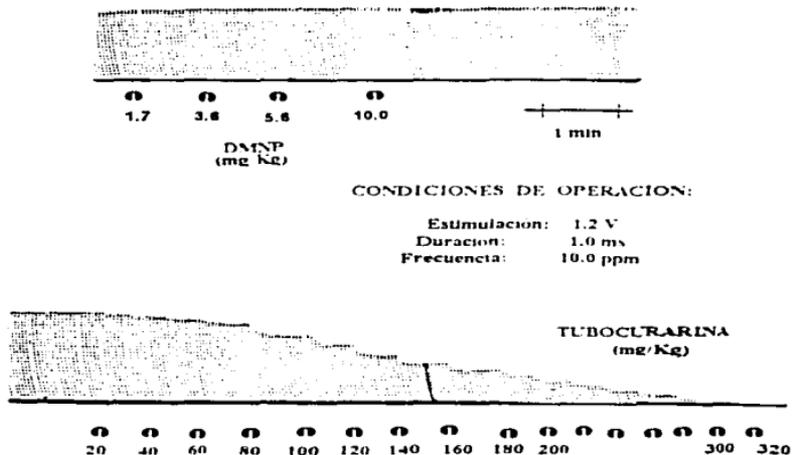


Figura 18. Efecto del DMNP (1.0, 3.1 y 10 mg/Kg, i. v.) sobre las contracciones del músculo tibial de la rata anestesiada con pentobarbital. El nervio sciático se estimuló eléctricamente a 1.2 V, con una duración de 1.0 ms a una frecuencia de 10.0 ppm.

9. DISCUSION DE RESULTADOS.

La metodología seguida para la obtención de los análogos del DMQP, resultó ser un método adecuado, los rendimientos obtenidos para estos se encuentran en valores por arriba del 50% a excepción del DM2MQP, el cual presenta un rendimiento del 39.70%. Las dificultades de mayor importancia en la obtención corresponden a la temperatura de reacción, así como los disolventes utilizados en la extracción de la fase acuosa y la purificación de los compuestos. Los resultados obtenidos para la acetilcolina en tiras musculares del *Ascaris* concuerdan con los resultados obtenidos anteriormente (Colquhoun *et al* ., 1991; Del Castillo *et al* .,1963; Martin,1980) en estudios con métodos electrofisiológicos. Así mismo, los datos obtenidos para los antagonistas colinérgicos también están de acuerdo con los obtenidos por Colquhoun *et al* ., 1991 y Natoff, 1969. El DMQP un antagonista selectivo de los receptores nicotínicos de *Ascaris suum*, presentó un antagonismo dependiente de la concentración, tal como fue reportado por Navarrete y Hong (1995). La existencia de una molécula como el DMQP, con una actividad antagonista baja sobre los receptores nicotínicos del *Ascaris suum* (Navarrete y Hong, 1995), permite realizar un estudio estructural de la molécula con el fin de mejorar su actividad. La semisíntesis de seis moléculas análogas al DMQP permitió evaluar su actividad como antagonista de las propiedades contráctiles de la

acetilcolina en una preparación de tiras musculares de *Ascaris suum*. En las modificaciones estructurales en la molécula del DMQP, presentaron la siguiente actividad.

1. Los resultados obtenidos demuestran que es necesaria la presencia de una amina cuaternaria, ya que la amina monometilada no presentó actividad antagonista a concentraciones hasta de 1.0 mM.
2. La unión en la posición 3 del anillo quinolinico aumenta el efecto antagonista sobre los receptores colinérgicos del *Ascaris suum* en 2.77 veces la actividad del DMQP.
3. La unión en la posición 4 del anillo quinolinico disminuye la actividad antagonista sobre los receptores colinérgicos del *Ascaris suum*, en un 60% respecto al DMQP.
4. El nitrógeno presente en el anillo quinolinico, al parecer no tiene importancia relevante, como se observa al cambiar el anillo aromático de quinolina por un naftaleno.
5. Cuando existe un metileno entre la unión del anillo quinolinico en 2 y la piperazina, la actividad sobre los receptores colinérgicos aumenta en 1.6 veces. Sin embargo se presenta actividad agonista a dosis altas.

6. Al efectuar el cambio del anillo aromático se observa lo siguiente:

6.1 La piridina aumentó 1.6 veces la actividad antagonista del DMQP sobre los receptores colinérgicos, pero presenta un efecto agonista colinérgico débil a concentraciones de 1 μM sobre las tiras musculares de *Ascaris suum*.

6.2 El naftaleno aumentó 3.98 veces la actividad antagonista del DMQP sobre los receptores colinérgicos del *Ascaris suum*.

Los datos anteriores no pueden establecer un estudio de relación estructura-actividad completo, pero da indicaciones de los requerimientos estructurales del DMQP para que se conserve la actividad antagonista.

Los resultados obtenidos con el DMNP, tiene implicaciones importantes, ya que todos los antagonistas colinérgicos evaluados en el *Ascaris suum* tienen actividad en los mamíferos ya sea como bloqueadores ganglionares o neuromusculares (Martin *et al.*, 1991; Colquhoun *et al.*, 1991), en cambio el DMNP y el DMQP pueden considerarse antagonistas selectivos de los receptores nicotínicos n del *Ascaris suum* ya que son capaces de distinguir entre los receptores de los mamíferos y los receptores presentes en el *Ascaris*.

Dado el carácter nicotínico de los receptores del *Ascaris suum* (Natoff, 1969, Colquhoun *et al.*, 1991), se consideró importante conocer si el análogo del DMQP más potente, el DMNP presentaba actividad como antagonista

nicotínico ganglionar y neuromuscular en los vertebrados. Para ello se utilizó el modelo de la rata descerebrada y desmedulada (Gillespie *et al.*, 1970) y una preparación neuromuscular en ratas. El DMNP, no presentó actividad ni como bloqueador ganglionar (Figura 16), ni como bloqueador neuromuscular (Figura 17).

Con lo anterior queda abierta la posibilidad de continuar haciendo modificaciones a la molécula del DMQP, con la finalidad de aumentar aún más el efecto antagonista de los receptores nicotínicos del *Ascaris suum* y con ello se espera obtener agentes antihelmínticos cuyo blanco sea el bloqueo de los receptores nicotínicos de este parásito.

10. CONCLUSIONES.

La serie de compuestos análogos al DMQP, presentan una actividad antagonista sobre la respuesta contráctil de la acetilcolina, teniendo el DMNP una potencia 4 veces mayor en comparación al DMQP. Tomando en cuenta la actividad de los agonistas colinérgicos y análogos del DMQP sobre los receptores nicotínicos en el *Ascaris suum*, se estableció el siguiente orden de potencia: mecamilamina > tubocurarina > DMNP > DM2M4QP > atropina > DM3QP > DM2MQP > DM4PP > DMQP > DM4QP > hexametonio.

El yoduro de 1,1-dimetil-4-(2-naftil)-piperazinio (DMNP). fue el más potente de la serie de análogos del DMQP como antagonista de los receptores nicotínicos presentes en el *Ascaris suum* (Navarrete y Hong, 1995) , ya que al igual que el DMQP conserva su selectividad y no presenta actividad como bloqueador neuromuscular, ni como bloqueador ganglionar.

11. Perspectivas.

Las enfermedades parasitarias constituyen un importante problema de salud en los países en vías de desarrollo. Los estudios recientes acerca de las características fisiológicas del parásito *Ascaris suum* y los requerimientos estructurales necesarios de los antagonistas selectivos como el DMQP y DMNP representan una línea de investigación para la síntesis química de más compuestos para la realización de un estudio completo de relación estructura actividad, con la cual se puede aumentar el conocimiento de los receptores nicotínicos n del *Ascaris* que pueden dar las bases para el diseño de agentes antihelmínticos cuyo mecanismo de acción sea el bloqueo de los receptores nicotínicos de este nematodo, lo que constituiría una nueva clase de compuestos antihelmínticos con un mecanismo de acción distinto a los existentes.

12. BIBLIOGRAFIA.

Anderson, T.J.C. (1995). *Ascaris* infections in human from north america: molecular evidence for crass-infections. *Parasitol.* 110, 215-219

Ash, A.S.F., y Tucker, J.F., (1966). Inhibition of *Ascaris* muscle by γ -aminobutyric acid: possible new assay method. *Nature* 209, 306-307.

Aubry, M.L., Cowell, P., Davey, M.J. y Shevde, S. (1970) Aspects of de pharmacology of new anthelmintics: pyrantel. *Br. J. Pharmacol.* 38, 332-344.

Baldwing, E. y Moyle, V. (1949). A contribution of the physiology and pharmacology of *Ascaris lumbricoides*. *Br. J. Pharmacol.* 4, 145-152.

Bowman, W.C. y Rand, M.J. (1984). Farmacología. Bases bioquímicas y patológicas. Aplicaciones clínicas. 2a. ed. Ed. Interamericana, México, D.F. pp 37.1-37.4.

Bucket, W.R., Marjoribanks, C.E.B., Marwick, F.A. y Morton, M.B. (1968). The pharmacology of pancuronium bromide (ORG.NA97), a new potent steroidal neuromuscular blocking agent. *Br. J. Pharmac. Chemother.* 32, 671-682.

Brusca, C.R., Brusca, J.R. (1990). Invertebrates. Sinaver Associates, Inc. Publishers. Sunderland, Massachusetts. 350-360.

Colquhoun, L., Holden-Dye, L. y Walker, R.J. (1991). The pharmacology of cholinceptors on the somatic muscle cell of the parasitic nematode *Ascaris suum*. *J. Exp. Biol.* 158, 509-530.

Cuevas, R., Ramírez, G., Sarti, E., Velázquez, O., Tapia, R. (1994). Epidemiología de las enfermedades parasitarias en México. *Boletín de Morbilidad y Mortalidad*. 1. 19, 1-10.

De Bell, J.T., Del Castillo, J. y Sánchez, V. (1963). Electrophysiology of the somatic muscle cell of *Ascaris lumbricoides*. *J. Cell. Comp. Physiol.* 62, 159-177.

Del Castillo, J. De Melo, W.C. y Morales, T. (1963) The physiological role of acetylcholine in neuromuscular system of *Ascaris lumbricoides*. *Arch. Interrogative Physiol. Biochem.* 71, 741-757.

Del Castillo, J., De Melo, W.C. y Morales, T. (1964). Influence of some ions on the membrane potential of *Ascaris* muscle. *J. Gen. Physiol.* 48, 129-140.

Dunn, M.A. (1978). Veterinary Helminthology. 2a. ed. Ed. Medical Books. 9-59.

Fisher, M.H. (1986). Chemistry of antinematodal agents. In Campbell, W.C. y Rew, R.S. (Eds.). Chemoterapy of parasitic diseases. Plenum Press, New York, USA. pp 239-266.

Friedman, P., y Platzer, E. (1980), The molecular mechanism of action of benzimidazoles in embryos of *Ascaris suum*, in *The Host Invader Interplay* (H. Vander Bossche, ed.). Elsevier/North Holland Biomedical Press. Amsterdam. pp. 595-604.

Gillespie, J.S., Maclaren, A. y Pollock, D. (1970). A method of simulating different of autonomic outflow form the spinal column to various organs in the pit cat and rat. *Br. J. Pharmac.* 40, 257-267.

Goldsmith, S.R.(1991). Farmacología Clínica de los Antihelmínticos. In Farmacología Básica y Clínica, 4a. ed. Ed. El Manual Moderno. pp 670-685.

Goodwin, L.G. (1958). A method to recording the effect of anthelmintic on the movements of *Ascaris lumbricoides*. *Br. J. Pharmacol.* 13, 197-201.

Harfenist, M., Fanelli, R.V., Baltzly, R., Brown, H.W., Hussey, K.L. and Chan, K.F. (1957). The relation of piperazine monoquaternary salt structure to activity against *Syphacia obvelata*, a mouse pinworm. *J. Pharmacol. Exptl. Therap.* 121, 347-353.

Harrow, I.D. y Gration, K.A.F. (1985). Mode of action of the anthelmintics morantel, pyrantel and levamisol on de muscle cell membrane of the nematode *Ascaris suum*. *Pestic. Sci.* 16, 662-672.

Jenkins, D.C. (1982). *In vitro* screening tests for anthelmintics. In D. Owen (Ed.), *Animal models in parasitology*. Mc. Millan Press LTD. Gran Bretaña, pp 173-186.

Krass, I.S., Wang, C.C., Walrond, J.P. y Stretton, A.O.W. (1980). Avermectin B_{1a}, a paralysing anthelmintic that effects interneurons and inhibitory motoneurons in *Ascaris*. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 77, 6211-6215.

Lamothe, R. y Garcia, L. (1988). Helminthiasis del Hombre en México. Tratamiento y profilaxis. AGT Editor, S.A., México, pp 59-129.

Lieper, J.W.G. (1954). The piperazine compound V. 19 for the removal of *Ascaris* and *Oesophagostomum* from the pig. *Vet. Record.* 66, 596-599.

Llamas, E.G., Tay, Z.J. (1991). Parasitología. In E. G. Llamas (Ed.), *Diagnóstico y Terapéutica en Medicina Interna*. Ed. Méndez Cervantes. México, D.F., pp 829-872.

Martin, R.J., (1980). The effect of γ -aminobutyric acid on the input conductance and membrane potential of *Ascaris* muscle. *Br. J. Pharmacol.* 71, 99-106.

Martin, R.J. (1982). Electrophysiological effects of piperazine and diethylcarbamazine on *Ascaris suum* somatic muscle. *Br. J. Pharmacol.* 77, 255-265.

Martin, R.J., Pennington, A.J., Duittoz, A.H., Robertson, S. y Kusel, J.R. (1991). The physiology and pharmacology of neuromuscular transmission in the nematode parasite, *Ascaris suum*. *Parasitology* 102, S41-S58.

Markell, E.K., Voge, M. Jonh, D.T. (1990). *Parasitología Médica*. 6a. ed. Ed. Mc Graw-Hill. España. pp 219-247.

Natoff, I.L. (1969). The pharmacology of the cholinceptor in muscle preparation of *Ascaris lumbricoides var. suum*. *Br. J. Pharmacol.* 37, 251-257.

Navarrete, A. y Hong, E. (1995). A selective *Ascaris* acetylcholine receptor antagonist: 1,1-dimethyl-4-(2-quinoyl)-piperazinium iodide. *Proc. West. Pharm. Soc.* 38, 35-36.

Norton, S. y De Beer, E.J. (1957). Investigations on the action of piperazine on *Ascaris lumbricoides*. *Am. J. Trop. Med.* 6, 898-905.

Onuaguluchi, G. (1989). Some aspects of the pharmacology and physiology of the *Ascaris suum* muscle. *Arch. Int. Pharmacodyn. and Therap.* 298, 264-275.

Rew. R.S. y Fetterer, R.H. (1986). Mode of action of antinematodal drugs. In Campell, W.C. y Rew. R.S. (Eds). *Chemiotherapy of parasitic diseases*. Plenum Press, New York, USA, pp 321-337.

Riedel, B.B., and Lunde, M.N. (1956). The critical evaluation of new swine anthelmintic containing piperazine and carbon disulfide-Parvex. *J. Am. Vet. Assoc.* 129, 156-159.

Rosembluth, J. (1965). Ultrastructural organization of obliquely striated muscle fibres in *Ascaris lumbricoides*. *J. Cel. Biol.* 25, 495-515.

Rozhkova, E.K., Malyutina, T.A. y Shishov, B.A. (1980). Pharmacological characteristics of cholinoreception in somatic muscle of the nematode *Ascaris suum*. *General Pharmacology* 11, 141-146.

Saz, H. J. y Bueding, E. (1966). Relationships between anthelmintic effects and biochemical and physiological mechanisms. *Pharmacol. Rev.* 18, 871-894.

Soulsby, E.J. (1987). *Parasitología y Enfermedades Parasitarias en los Animales Domésticos*. 7a. ed. Ed. Interamericana. México, D.F., pp 142-148.

Standen, O.D. (1963). Chemotherapy of helminthic infections. *Experimental Chemotherapy*. Vol. 1. Academic Press in New York. pp 701-892.

Stretton, A.O.W., Fishpool, R.M., Southgate, E., Donmoyer, J.E., Walrond, J.P., Moses, J.E.R. y Kass, I. S. (1978). Structure and physiological activity of the motoneurons of the nematode *Ascaris*. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 75, 3493-3497.

Valenzuela, H.R. (1993). Manual de Pediatría. 11va ed. Ed. Interamericana Mc. Graw-Hill. México, D.F., pp 338-349.

Wang, C.C. (1984). Parasite enzymes as potential target for antiparasitic chemotherapy. *J. Med. Chem.* 27, 1-9.

Wang, C.C. (1992). Basic principles of antiparasitic chemotherapy. In B.G. Katzung (Ed.). *Basic anlinical Pharmacology*. 5th. Ed. Appleton and Lange, Connecticut USA, pp 712-722.

Watanabe, A.M. (1991). Fármacos activantes de los colinoceptores. In Katzung B.G. (Ed). *Farmacología Básica y Clínica*. 4a. ed. Ed. Manual Moderno. México, D.F. pp 74-86.

Webster, L.T. (1991). Fármacos usados en la quimioterapia de las helmintiasis. In Goodman, A. , T.W., Nies, A.S. y Taylor, P. (Eds.). *Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica*. 8va. ed. Ed. Panamericana, México. pp 935-952.