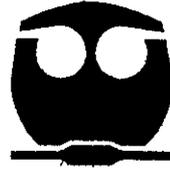


135



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

EVALUACIÓN BIOLÓGICA ANTICONVULSIVA DE DERIVADOS DE LA
2-(o;p-) R-AMINOFENIL-3H-5-FENILO-7-CLORO-
1,4-BENZODIAZEPINA.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE :
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA

P R E S E N T A
ISABEL SÁNCHEZ SERRATO

295108

MÉXICO, D. F.

2001





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.

En la presente tesis se utilizaron los compuestos sintetizados en el área de Investigación de Síntesis Orgánica Heterocíclica y Espectrometría de Masas del Instituto de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México, por el M. en C. Eleazar Salazar Pardo bajo la Dirección del Dr. en Química Orgánica Eduardo Cortés Cortés y la Dra. en Ciencias Biomédicas (Farmacología-Fisiología) Elia Brosla Naranjo Rodríguez en el laboratorio de Farmacología de la Facultad de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México, para las Pruebas de Actividad Biológica, con el apoyo financiero de la Dirección General de Asuntos del Personal Académico (DGAPA) como parte del proyecto IN205196.

DEDICATORIAS

A Dios:

Que me dió la oportunidad de vivir y siempre
camina junto a mí.

Gracias.

A mi Madre:

MARIA ELENA SERRATO SERRATO.

Por ser quién eres, por ese amor tan grande que
llevas dentro de tu ser, con el cual me alimentas
y me impulsas para realizar mis metas.
Gracias. Te quiero.

A mis hermanos:

Miriam, Laura y Toño.

Por su comprensión, cariño y por todas las
enseñanzas que día a día recibió de ello.

Los quiero.

A mis Abuelitos:

Consuelo, por el apoyo y cariño que siempre
me ha brindado y Leovigildo por ese amor
incondicional que compartió conmigo; siempre
vivirá en mí corazón.

Especialmente a la Familia Serrato Serrato:

Por permitirme ser parte de ustedes, por su
cariño y apoyo.

Gracias.

A tí Juan Raúl Bermúdez Ramos:

Por formar parte de mí vida, por tú
comprensión y amor, Gracias.

Te amo.

DEDICATORIAS

DICATORIAS

ra. Elia Brosla Naranjo:

Quién con su profesionalismo, me dió las herramientas necesarias para poder culminar una de mis metas.

Dr. Eduardo Cortés Cortés:

Por el apoyo que me brindó en la revisión de este trabajo.

Alejandro Ortiz Osorio:

Gracias, por asesorarme y por tu paciencia durante todo este tiempo.

A todos mis compañeros:

Por caminar conmigo y brindarme su apoyo en todos los momentos difíciles que se viven durante la carrera.

Gracias.

1.- Introducción.....	1
2.- Generalidades.....	3
2.1 Clasificación de convulsiones.....	4
2.2 Benzodiazepinas (BZP).....	6
2.3 Farmacocinética de BZP.....	7
2.4 Farmacodinamia de BZP.....	9
2.5 Receptor GABA-BZP.....	10
2.6 Diazepam.....	12
3.- Relación estructura actividad.....	14
4.- Antecedentes.....	15
4.1 Métodos para evaluar fármacos anticonvulsivos.....	17
4.2 Pentilentetrazol.....	18
5.- Objetivos.....	20
6.- Hipótesis.....	22
7.- Material y Métodos.....	24
7.1 Material.....	25
7.2 Sustancias.....	26
7.3 Metodología.....	27
8.- Resultados.....	32
8.1.- Elección del vehículo para la administración del compuesto.....	33
8.2.- Curva Dosis Respuesta Cuantal de DZP.....	33
8.3.- Prueba de ternimiento grueso.....	35

8.4.- Curva Dosis respuesta cuantál para los análogos de BZP.....	36
9.- Discusión de resultados.....	40
10.- Conclusiones.....	45
11..Bibliografía.....	48
12.- Anexo I.....	53
A) Vehículos.....	54
13.- Anexo II.....	56
1.- Claves y características de los análogos de BZP.....	57
2.- Ruta general de síntesis de los análogos benzpdiazepínicos.....	58
14.- Anexo III.....	60
a) Patrón de Fragmentación de los análogos benzodiazepínicos... ..	61
b) Rayos X de la 2-[o-cloro-aminofenil]-3H-5-[o-fluorofenil]-7-cloro- 1,4-benzodiaze- pinas.....	62
c) Espectro de Masas del Compuesto VI-2: 2-[p-cloro-aminofenil]-3H-5-fenilo-7-cloro- 1, 4-benzodiazepina.....	63
d) Espectro de Masas del Compuesto VI-9: 2-[p-bromo-aminofenil]-3H-5-fenilo-7-cloro- 1, 4-benzodiazepina.....	64

LISTA DE ABREVIATURAS

GABA	Ácido gammaaminobutírico
BZP	Benzodiazepina
DZP	Diazepam
DE50	Dosis Efectiva Cincuenta
PTZ	Pentilentetrazol
SNC	Sistema nervioso central
IP	Intraperitoneal
Ctrl (+)	Control positivo
Ión cloro	Cl
n	Tamaño de la muestra

INTRODUCCIÓN

En la actualidad, alrededor del 0.5% de la población sufre de convulsiones provocadas por diferentes causas. Algunas de ellas se relacionan con factores específicos que pueden ser traumáticos, tóxicos, infecciosos, neoplásicos, del desarrollo o metabólicos.

Existen diversos fármacos que se utilizan en el tratamiento de las convulsiones, dentro de los más conocidos se encuentran las benzodiazepinas (BZP) cuyos nombres comerciales son Librium^{MR} (Clordiazepóxido), Valium^{MR} (Diazepam) y Mogadón^{MR} (Nitrazepam), entre otros.

Las BZP son utilizadas en el tratamiento de algunos trastornos neurológicos tales como convulsiones, ansiedad y depresión. Estos fármacos producen una gran variedad de efectos dentro de los cuales esta el anticonvulsivo, desafortunadamente los efectos terapéuticos de estos fármacos tienden a desaparecer con el tiempo y al cabo de varios meses de tratamiento anticonvulsivo, algunos pacientes reportan la reaparición de las crisis.

En 1961, el clordiazepóxido nos introdujo a la era de las BZP; desde entonces se han sintetizado más de 3000 BZP, probando así la actividad biológica de más de 120 y se utilizan cerca de 35 en la clínica médica en varias partes del mundo.

Debido a la importancia que tienen este tipo de fármacos a nivel clínico, resulta de gran interés el desarrollo de nuevos compuestos con actividad farmacológica que puedan usarse de forma efectiva en el tratamiento de convulsiones y que además presenten el menor número de efectos secundarios o no presenten.

Por lo antes expuesto se propone como objetivo del presente trabajo la realización de un estudio de cernimiento, con la finalidad de evaluar el perfil anticonvulsivo de una síntesis nueva de análogos de BZP como lo es la, 2-[(o;p)-R-aminofenil]-3H-5-fenilo-7-cloro-1,4-benzodiazepina.

GENERALIDADES

2.1.- Clasificación de convulsiones ^(1, 8, 9).

Las convulsiones consisten en contracciones involuntarias del músculo esquelético provocadas por una descarga anormal, repentina y excesiva de las neuronas de la sustancia gris, que se propaga a través de la sustancia blanca, causando alteraciones de los procesos neuronales, afectando finalmente a un órgano terminal ⁽¹¹⁾.

Se han clasificado en dos grandes grupos que son: Parciales y Generalizadas, en las convulsiones parciales se puede detectar el inicio localizado de la crisis, ya sea por observación clínica o por registro electroencefalográfico (EEG); las crisis se inician en un lugar específico del encéfalo. En las convulsiones generalizadas no existen datos de un inicio localizado y el grupo de personas que lo padece es bastante heterogéneo (Tabla No. 1).

Para el tratamiento de las convulsiones se administran fármacos con actividad anticonvulsiva, ya que estos reducen la hiperexcitabilidad neuronal que provoca la convulsión. Dentro de los fármacos utilizados como anticonvulsivos tenemos a las benzodiazepinas (BZP) que son fármacos que actúan a nivel del SNC.

Tabla No. 1.- Tipos de convulsiones, características y fármacos utilizados en su tratamiento.

Tipos de convulsión	Observaciones	Fármacos
<p>I. Convulsiones generalizadas</p> <p>A. Gran mal (tónico-clónico)</p> <p>B. Pequeño mal (ausencia)</p> <p>C. Motoras menores</p> <p>1. Acinética (atónica)</p> <p>2. Mioclónicas</p> <p>3. Masivas (hipsarritmias)</p>	<p>Movimiento tónico-clónicos, pérdida de la conciencia, depresión parcial.</p> <p>Lapsos breves frecuentes en la conciencia, con o sin actividad motora clónica, elevada frecuencia en los niños.</p> <p>Pérdida repentina y breve del tono muscular postural</p> <p>Contracciones clónicas de músculos del tronco</p> <p>Espasmos motores infantiles, deterioro mental progresivo, epilépticas verdaderas</p>	<p>Fenobarbital Fenitoína Primadona Ácido valproico</p> <p>Etosuximida Clonazepam Trimetadiona Ácido valproico</p> <p>Ácido valproico</p> <p>Clonazepam</p> <p>Corticotropina Adrenocorticosteroide Ácido valproico</p>
<p>II. Convulsiones focales (parciales)</p> <p>A. Motoras (jacksonianas) (parcial simple)</p> <p>B. Sensoriales (jacksoniana) (parcial simple)</p> <p>C. Sicomotoras (parcial compleja).</p>	<p>Lesión cortical, convulsión de un solo miembro o de un grupo de músculos</p> <p>Lesión cortical sensorial</p> <p>Lesión del lóbulo temporal, afecto, percepción o conducta alterados, conciencia nebulosa</p>	<p>Fenobarbital Fenitoína Carbamacepina Primadona</p>
<p>III. Estado epiléptico</p>	<p>Estado de actividad convulsiva continua, por lo común tónico-clónica generalizada</p>	<p>Diazepam Fenitoína</p>

2.2.- BENZODIAZEPINAS (BZP).

Historia (11,14).

A mediados de la década de 1950 se empezaron a estudiar métodos para evaluar el comportamiento de fármacos con efectos tranquilizantes, en 1957 se llevó a cabo la síntesis del clordiazepóxido por Sterbach y el descubrimiento de su patrón único de acciones por parte de Randall.

La mayoría de las BZP que han llegado al mercado, fueron seleccionadas por su elevado potencial ansiolítico en comparación con su potencia para deprimir la función del SNC. Su extraordinaria popularidad en la medicina clínica se debe en gran medida a su habilidad para aliviar los síntomas de la ansiedad con una interferencia relativamente pequeña con la función cognoscitiva o la vigilia.

Todas la BZP poseen propiedades sedante-hipnóticas en grado variable, estas propiedades se han explotado en la clínica médica, en especial para facilitar el sueño. Las benzodiazepinas han desplazado a los barbitúricos como agentes sedantes-hipnóticos sobre todo a raíz de su capacidad notablemente baja para producir depresión fatal de SNC.

Las BZP, suprimen la prolongación de las crisis producidas por focos epiléptogénos en la corteza, el tálamo y las estructuras límbicas pero no anulan la descarga anormal del foco.

En los animales de experimentación, las BZP poseen una potente acción anticonvulsivante y así en el ratón el DZP suprime la fase tónica de las convulsiones provocadas por el electroshock máximo, elevando el umbral de las convulsiones producidas por el electroshock mínimo e inhibe las convulsiones provocadas por el pentilentetrazol (20).

3.- Farmacocinética de BZP (5, 11, 15).

Las BZP son débilmente básicas razón por la cual se absorben con mayor eficacia a un pH alto, que se encuentra en el duodeno, lo que puede explicar de algún modo el inicio más lento de sus efectos en comparación con los barbitúricos.

El metabolismo hepático es quien participa en la depuración o eliminación de todas las benzodiazepinas. Los metabolitos hidrosolubles de las BZP se excretan principalmente por los riñones. Las dos principales vías que intervienen son la oxidación microsomal, incluyendo la N-desalquilación o la hidroxilación alifática y la conjugación subsecuente.

Una característica importante de las BZP es la formación de metabolitos activos con efectos en el SNC, algunos de los cuales pueden tener un tiempo de vida larga (mayor de 50 horas). La biotransformación de las BZP es la siguiente:

A continuación se presenta la biotransformación de BZP, donde en las reacciones de la fase I (*), se obtienen metabolitos activos, mientras que en las reacciones de la fase II no tienen actividad (**), y al ser metabolizadas se vuelven activas.

Biotransformación de BZP

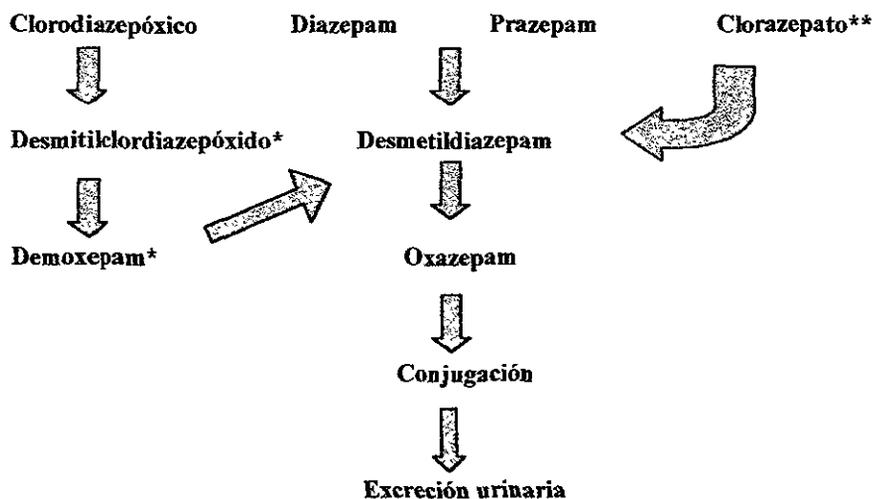


Fig. No. 1.- Metabolismo de algunas BZP, en las reacciones de la fase I, se obtienen metabolitos activos (*), lo que aumenta su tiempo de vida media, sin embargo otras no tienen actividad (**), y al metabolizarse se vuelven activas (11,15)

En humanos las BZP después de la administración intravenosa, son redistribuidas en la forma típica de agentes con alta solubilidad debido a su estructura química que tiene grupos hidrofóbicos, tienen preferencia por los tejidos ricos en lípidos como el adiposo y el cerebro. Las BZP se fijan fuertemente a las proteínas plasmáticas.

2.4.- Farmacodinamia de BZP ^(5, 11).

Se ha encontrado que las acciones anticonvulsivas de las BZP se deben en gran parte a su capacidad para estimular el aumento inducido por el ácido gamma amino butírico (GABA) en la conductancia del ión cloruro (Cl⁻) a nivel de la membrana de la célula neuronal. En concentraciones terapéuticas, el diazepam y otras BZP activas, aumentan los efectos inhibidores producidos por la estimulación de varias vías GABAérgicas y aumentan las modificaciones inducidas por el GABA en el potencial de membrana. Este último efecto está asociado con mayor frecuencia de apertura de los canales de Cl⁻. Hay evidencias que sugieren una asociación molecular estrecha entre los sitios de unión específicos para las BZP y los canales de Cl⁻, regulados por el GABA ⁽¹⁵⁾.

Sin embargo, pueden existir otros mecanismos por los cuales las benzodiazepinas reducen la excitabilidad de las neuronas. Ello incluyen, el aumento de las conductancias de potasio (K⁺), dependientes de calcio (Ca⁺⁺) y a la acumulación de adenosina, ninguno de los cuales requiere GABA.

Un mecanismo generalmente supuesto para la acción de los fármacos anticonvulsivos es que ejercen acción estabilizante o depresora general, o estabilizante de membranas para células excitables, y que el grado de especificidad que ejercen sobre neuronas particulares depende de su capacidad de penetrar en forma relativamente selectiva en tales neuronas.

2.5.- Receptor GABA-BZP ^(5,15,19).

El receptor GABA es una glucoproteína heterooligomérica de 200 a 400 KDa constituida al menos por tres subunidades distintas alfa, beta y gamma. La unión de estas subunidades forma canales al ión cloro (Cl⁻). Los receptores a GABA pueden contener diferentes tipos de subunidades distintas Fig. No. 2 lo que les confiere actividad farmacológica, mientras que el GABA requiere de las subunidades alfa y beta para unirse, las BZP requieren de la subunidad gamma.

Estudios electrofisiológicos han demostrado que las BZP potencian la neurotransmisión GABAérgica a todos los niveles del neuroeje en mamíferos, incluyendo médula espinal, hipotálamo, hipocampo, sustancia negra, corteza cerebelosa y corteza cerebral. La potencia producida por las BZP se debe a una hiperpolarización de membrana reduciendo así la frecuencia de carga de las neuronas. Las BZP no sustituyen al GABA, sino que interactúan con él aumentando la conductancia de iones Cl⁻ debido a una mayor frecuencia en la apertura de estos canales. El ácido gamma amino butírico (GABA) producido por la descarboxilación del ácido glutámico es el principal neurotransmisor inhibitorio del SNC.

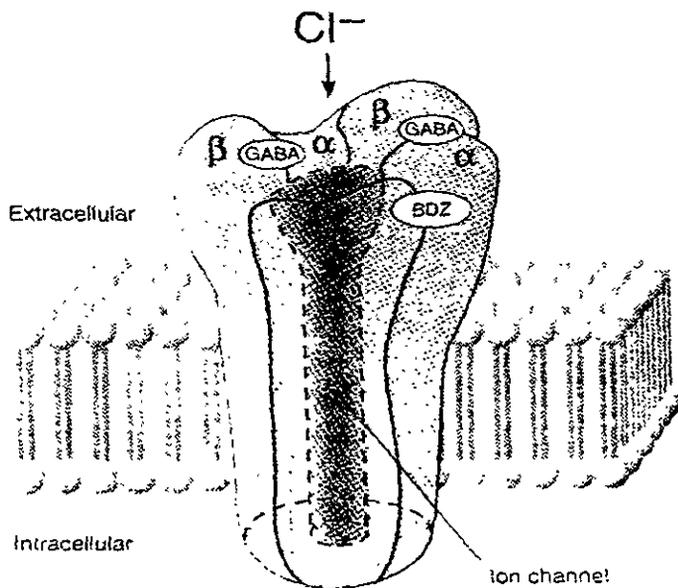
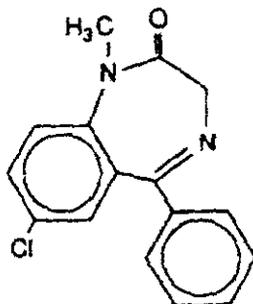


Fig. No. 2.- Modelo representativo del complejo macromolecular de la proteína heterooligomérica que conforma al receptor GABAérgico, así como la unión a las BZP y como es que rodea al canal iónico de Cl⁻ con el que está íntimamente relacionado⁽⁵⁾.

- Diazepam (DZP) (5,11,13,16)

Nombre químico: 7-cloro-1,3, dihidro-1-metil-5-fenil-2H-1,4-benzodiazepina-2-ona.

Nombre comercial: Valium^{MR}; Vazepam^{MR}; Zetran^{MR}.

Indicaciones: Preanestesia, sedación, hipnosis, tranquilizante, ansiolítico, anticonvulsivo y relajante muscular.

Generalidades: El DZP es una BZP de duración prolongada que actúa principalmente sobre el SNC, produciendo diversos grados de depresión, desde sedación hasta hipnosis y estupor dependiendo de la dosis.

Farmacocinética: El DZP es redistribuido en forma especialmente rápida, con una vida media de 1 hora. El principal metabolito del diazepam es el N-desmetildiazepam, es menos activo que el compuesto original y puede comportarse como un agonista parcial. El diazepam y el N-desmetildiazepam son hidroxilados lentamente dando otros metabolitos activos, como el oxazepam. La vida media del DZP en el plasma es en promedio de 1 a 2 días, mientras que la del derivado N-desmetilado es de 60 horas.

farmacodinamia: Deprime el SNC a los niveles límbicos y subcortical del cerebro. Como anticonvulsivo, suprime la diseminación de la actividad convulsiva producida por focos epilépticos en corteza, tálamo y estructuras límbicas.

El DZP suprime las convulsiones generalizadas inducidas por estímulo en ratas "señaladas" pero producen poca o ninguna reducción en las postdescargas inducidas por estímulos.

efectos adversos: Insuficiencia respiratoria, paro cardiaco, urticaria, náuseas, vómito, excitación, temblores, leucopenia, daño hepático, flebitis, trombosis venosa, dependencia.

formas de administración y dosificación:

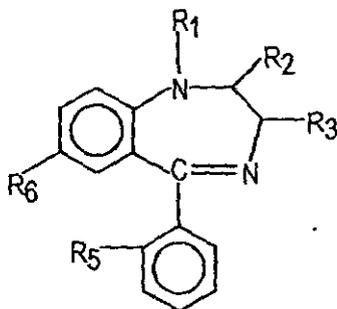
El diazepam, se presenta en tabletas de 2, 5 y 10 mg, en cápsulas de 15mg. de liberación prolongada para administración oral y para administración inyectable de 5 a 10 mg. Para el estado anticonvulsivo el diazepam se administra por vía intravenosa con una velocidad no mayor de 5 a 10 mg., según sea necesario; puede repetirse con intervalos de 10 a 15 minutos, hasta una dosis máxima de 30 mg. Si es necesario, este régimen puede ser repetido luego de 2 a 4 horas, pero no debe administrarse más de 100 mg. en un periodo de 24 horas.

RELACIÓN ESTRUCTURA ACTIVIDAD (3,11, 14, 15).

El desarrollo de nuevos compuestos involucra la síntesis química, estudios de síntesis y evaluación biológica de los mismos, para determinar su uso terapéutico. La actividad de los compuestos se obtienen por modificación molecular, generando una serie de derivados de algún compuesto con actividad ya conocida.

La BZP es una estructura compuesta por un anillo de benceno fusionado a una diazepina (un anillo de 7 miembros que contiene dos nitrógenos). La posición relativa de los átomos de nitrógeno en el anillo diazepínico da la posibilidad de formar diferentes series de compuestos con actividades similares Fig. No. 3.

Se han identificado las características químicas comunes para la mayoría de las sustancias antiepilépticas las cuales poseen dos regiones hidrófobas. En general, para ser activo contra las convulsiones parciales, el fármaco debe tener por lo menos un anillo fenilo como región hidrófoba(5).



Estructura general de las benzodiazepinas.

Fig. No. 3.- representa la estructura general de las benzodiazepinas los radicales van a depender de la benzodiazepina en cuestión.

ANTECEDENTES

En el Instituto de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México se sintetizan análogos de BZP por el Dr. Eduardo Cortés Cortés y sus colaboradores, mismos que son proporcionados a la sección de Farmacología del departamento de Farmacia en la Facultad de Química, para evaluar mediante un estudio ciego, su perfil anticonvulsivo

En este caso los compuestos a estudiar son derivados de las BZP, teniendo como prototipo al Diazepam del cual se tiene una actividad ya conocida, y se le realizaran modificaciones moleculares, con la finalidad de encontrar un fármaco más potente y eficaz .

A los compuestos proporcionados para realizar este proyecto se les asigno una clave que es: compuesto VI-1, compuesto VI-2, hasta el compuesto VI-12, y es asignada por la persona que lleva a cabo la síntesis y por su criterio de trabajo.

El ANEXO II presenta los análogos de BZP que se trabajaron durante el proyecto, así como algunas de sus características.

1- Métodos para evaluar fármacos anticonvulsivos: (7,9,10).

Existen diversos métodos de cernimiento de fármacos o sustancias con actividad anticonvulsivas, algunos de ellos son:

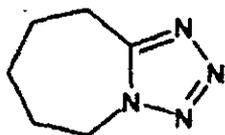
- 1) Crisis eléctricamente inducidas
 - Estimulación generalizada.
 - Estimulación localizada.
- 2) Crisis químicamente inducidas
 - Estimulación generalizada: Pentilentetrazol (metrazol), estricnina, picrotoxina.
 - Estimulación local: Agentes irritantes (metales).
- 3) Estimulación sensorial
 - Auditiva
 - Óptica
- 4) Alteraciones metabólicas

Para evaluar el tipo de actividad presente en las benzodiazepinas, existen metodologías que se realizan en animales (tales como la rata y el ratón), algunas de ellas son las siguientes:

- Actividad locomotora
- Actividad miorelajante
- Actividad hipnagénica
- Actividad anticonvulsiva
- Comportamiento en general.

4.2.- Pentilentetrazol (13, 18).

Generalmente, el método de inducir convulsiones por administración de sustancias químicas es el más utilizado, empleando como agente convulsivante al pentilentetrazol. El cual evalúa la capacidad de las sustancias para inhibir las convulsiones tónico-clónicas producidas por el agente químico.



Nombre químico: 6, 7, 8, 9-Tetrahidro-5H-tetrazol [1,5-a] azepine

Nombre comercial: Metrazol

Indicaciones: Estimulante del sistema nervioso central, afecciones mentales tales como la esquizofrenia y los estados depresivos.

Generalidades: El pentilentetrazol, pentetrazol o pentimetilenotetrazol (Metrazol) es un compuesto heterocíclico, derivado del tetrazol, anillo que contiene 4 átomos de nitrógeno. Es antagonista del GABA que actúa en diferentes regiones del cerebro.

Farmacodinamia: Para el pentilentetrazol la acción es central directa únicamente, pues no disminuye por la desnervación carotídea.

La estimulación puede lograrse por uno de los dos mecanismos generales, por bloqueo de inhibición o por excitación neuronal directa, que puede comprender la mayor liberación del transmisor, su acción más prolongada, la labilización de la membrana, postsináptica o el menor tiempo de recuperación sináptica.

Efectos adversos: La dosis que produce una estimulación respiratoria eficaz está cerca de la dosis convulsivante (DE50= 90 mg/kg en ratón)

OBJETIVOS

Objetivos Generales:

- Evaluar el efecto anticonvulsivo de nuevos análogos benzodiazepínicos.

Objetivos Particulares:

- Determinar pruebas de solubilidad para los compuestos VI-1 al VI-12 utilizando diferentes vehículos.
- Hacer una prueba de cernimiento para encontrar los análogos benzodiazepínicos con efecto anticonvulsivo.
- Determinar la DE50 para cada compuesto que presente actividad anticonvulsiva.

HIPÓTESIS

Hipótesis:

- El PTZ actúa a nivel del SNC, provocando convulsiones tónico-clónicas, cuyas características permiten el estudio de fármacos con propiedades anticonvulsivas; y el DZP actúa como neurotransmisor inhibitor del SNC, evitando las convulsiones provocadas por el PTZ, por lo que si los análogos benzodiazepínicos en estudio tienen propiedades anticonvulsivas éstas serán detectadas mediante el modelo de inducción de convulsiones por PTZ.

MATERIAL Y METODOS

1.- MATERIAL

Biológico:

Se utilizaron 129 ratones machos de la cepa CD-1 con un peso promedio entre 25-30 gramos. Los animales de experimentación provienen del Bioterio de la Facultad de Química y no han sido utilizados antes en alguna experimentación. Los ratones se mantenían en cajas de acrílico transparentes con rejillas de acero inoxidable, estos permanecen con acceso libre de agua y alimento (Purina Rat chaw).

Vidrio:

- Vasos de precipitados de 100 ml
- Pipetas graduadas de 1 mL, 5 ml
- Agitador de vidrio
- Pipeta Pasteur con bulbo
- Frascos viales

Curación:

- Jeringas insulínicas

Diversos:

- Propipeta
- Espátula
- Plumón
- Balanza
- Cajas de acrílico transparentes con rejillas

7.2.- Sustancias:

Estas sustancias fueron proporcionadas por la Sección de Farmacología del Departamento de Farmacia de la Facultad de Química:

- Agua destilada
- Metilcelulosa al 2%
- Pentilentetrazol; laboratorios SIGMA
- Propilenglicol al 25%
- Tween 80 al 25%; laboratorios SIGMA
- Diazepam, proporcionado por el Dr. Eduardo Cortés del Instituto de Química de la UNAM.

3.- Metodología:

Las estructuras de los análogos de BZP, no se nos dieron a conocer por tratarse de un estudio ciego, solo los identificábamos por las siguientes claves:

VI-1

VI-2

VI-3

VI-4

VI-5

VI-6

VI-8

VI-9

VI-10

VI-11

VI-12

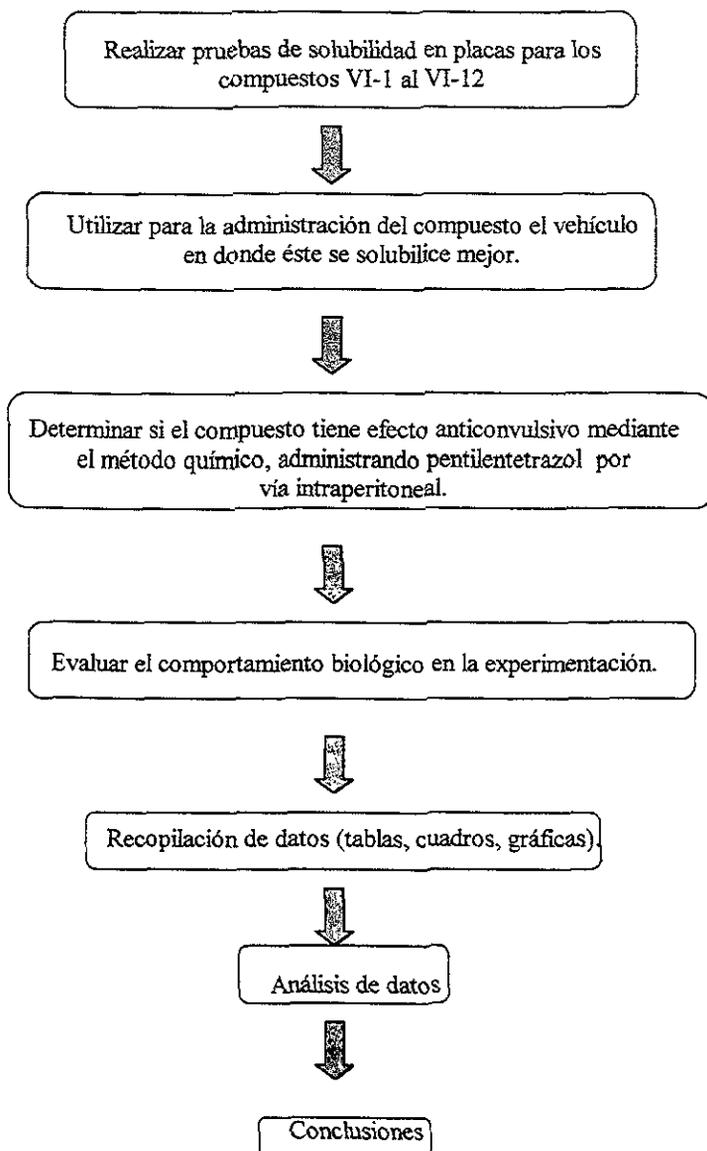
Para evaluar si los compuestos proporcionados tenían efecto anticonvulsivo, fue necesario solubilizarlos, realizando pruebas de solubilidad. Para lo cual se sugirieron 4 vehículos que se eligieron en base al tipo de estructura del compuesto en estudio, para determinar cual de ellos solubiliza mejor el compuesto y lograr una mejor administración. Los vehículos propuestos son: Agua, metilcelulosa, propilenglicol y Tween 80.

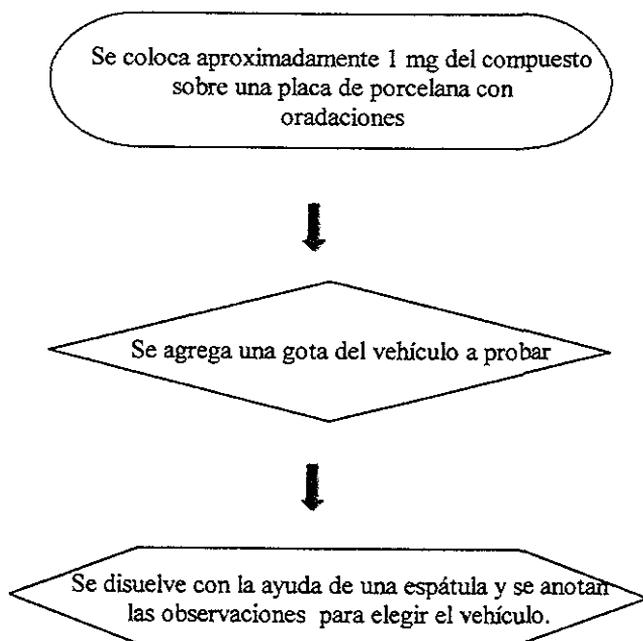
Las pruebas de solubilidad se realizaron a micro escala de la siguiente forma:

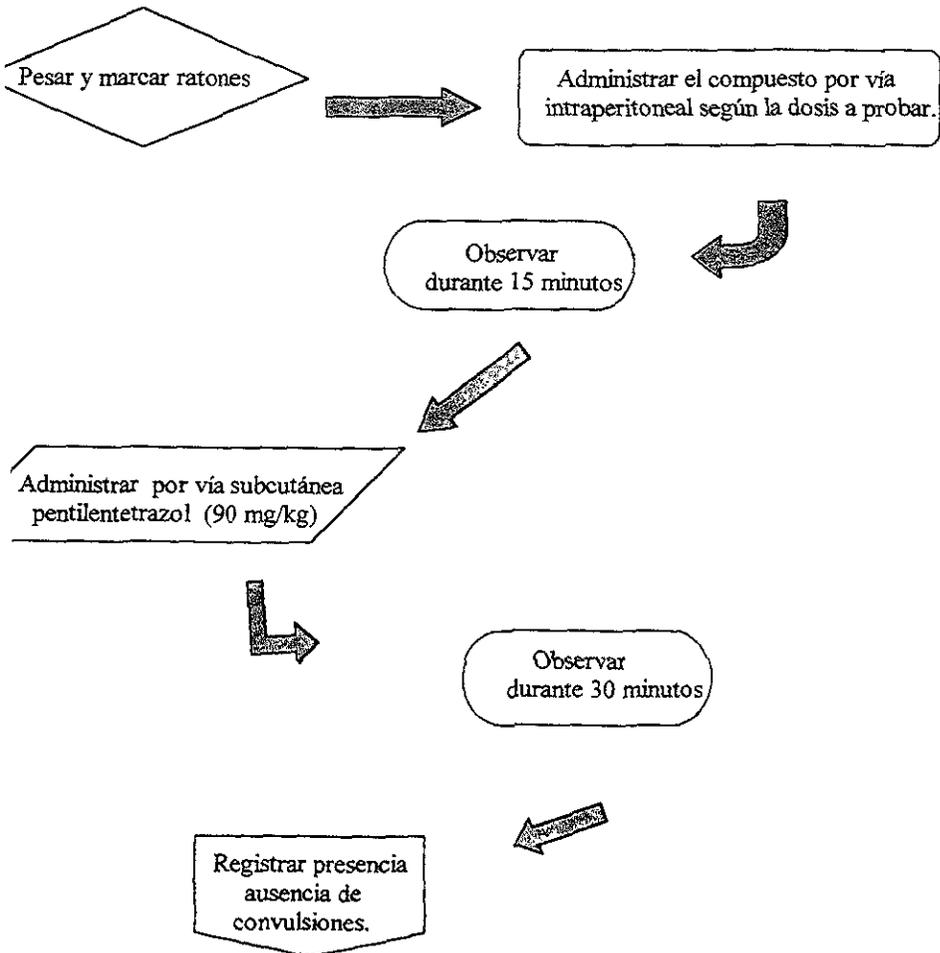
Se tomo alrededor de 1 mg del análogo de BZP y se colocó en una placa con oradaciones, posteriormente se le agregó una gota del vehículo y se agitó con la espátula, observando si el compuesto solubilizaba o no.

Una vez elegido el vehículo a utilizar se procedió a buscar el efecto anticonvulsivo en las nuevas síntesis de análogos de BZP, de la siguiente forma:

- Los ratones se pesan y se marcan por el método binario, colocándolos en cajas de acrílico transparentes con aserrín
- Se formaron grupos aleatorios de ratones con una n de 3, para cada dosis.
- Se administra el compuesto a probar por vía intraperitoneal, la dosis a utilizar se encuentra en un rango de 30 mg/kg a 100 mg/kg; se observa el comportamiento del animal por un periodo de tiempo de 15 minutos.
- Posteriormente se administra el PTZ por vía subcutánea a una dosis de 90 mg/kg.
- Se observa el comportamiento de los animales por un periodo de 30 minutos, buscando una respuesta del tipo todo o nada en cuanto sí presentan o no convulsiones.

DISEÑO EXPERIMENTAL

PRUEBA DE SOLUBILIDAD

**DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD
ANTICONVULSIVA**

RESULTADOS

8.1.- Elección del vehículo para la administración del compuesto.

En el cuadro No. 1, se encuentran los resultados de la solubilidad de los once análogos de BZP, utilizando los 4 vehículos propuestos y en donde se observa cual solubilizo mejor a cada compuesto.

Cuadro No. 1.- Solubilidad de la serie de análogos benzodiazepínicos VI-1 al VI-12.

Disolventes	1	2	3	4	5	6	8	9	10	11	12	Diazepam
Agua destilada	-	++	-	-	-	+	+	+	-	++	++	-
Propilenglicol 25%	+	+	-	-	-	+	-	+	+	++	++	+++
Propilenglicol 30%	++	++	-	+	-	+	-	++	+	++	++	+
Propilenglicol 100%	-	+++	++	++	++	++	++	+++	++	++	+++	+++
Metilcelulosa 2%	-	+++	++	++	++	++	++	+++	++	+++	+++	++
Tween 80:25%	-	+++	++	+++	++	+++	++	+++	++	++	+++	+++
Tween 80:100%	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++	+++

- No soluble, + Poco soluble, ++ Soluble, +++ Muy soluble.

8.2.- Curva Dosis Respuesta Cuantitativa de DZP

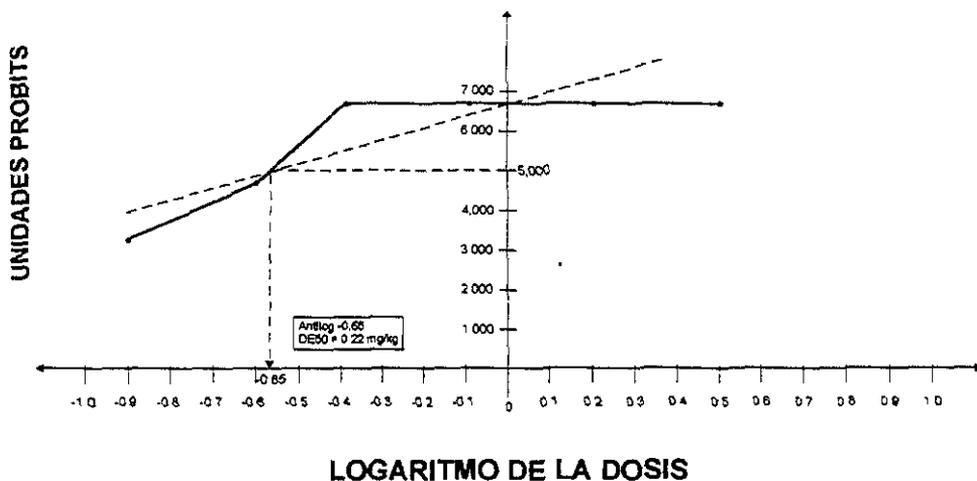
Se realizó una curva dosis respuesta cuantitativa para el diazepam, que es nuestro control positivo Ctrl (+). En el cuadro No. 2, se presenta el porcentaje de actividad anticonvulsiva obtenida con el Ctrl (+) en ratones, indicando así que al utilizar una dosis (7) de 0.4, 0.8, 1.6, y 3.2 mg/kg se obtiene el 100 % de protección de convulsiones en ratones, con las dosis de 0.25 mg/kg se obtuvo 60 % de protección y con 0.125 mg/kg no hubo protección, lo cual quiere decir que a esta última dosis todos los ratones convulsionaron.

Cuadro No.2. Datos de la Curva Dosis Efectiva 50 del Ctrl (+) DZP.

Dosis (mg/Kg)	Logaritmo de la dosis	No. Animales e/efecto	% de actividad inficonvulsiva	Unidades Probits
		No. Animales probados		
0.125	-0.9030	0/5	0	3,355
0.25	-0.6020	2/5	40	4,747
0.4	-0.3979	5/5	100	6,728
0.8	-0.0969	5/5	100	6,728
1.6	0.2041	5/5	100	6,728
3.2	0.5051	5/5	100	6,728

En la gráfica No. 1.- Representa la curva DE50 del control utilizado en este estudio que es el DZP.

CURVA DE50 DEL CRTL(+) (DIAZEPAM)



8.3.- Prueba de cernimiento grueso

El Cuadro No. 3, indica el vehículo empleado para cada compuesto, así como los análogos benzodiazepínicos que presentaron un efecto anticonvulsivo, de los once análogos de BZP solo dos protegieron a los ratones de las convulsiones inducidas por el pentilentetrazol.

CUADRO No. 3.- Cernimiento de los análogos benzodiazepínicos.

Compuesto N ^o	Vehículo	Dosis (mg/kg)	No de ratones	Efecto anticonvulsivo	Observa- ciones
1	Tween 80 al 25%	100	3	Negativo	*
2	Propilenglicol 25%	30	3	Positivo	**
3	Tween 80 al 25%	100	3	Negativo	*
4	Tween 80 al 25%	92	3	Negativo	*
5	Tween 80 al 25%	100	3	Negativo	*
6	Tween 80 al 25%	100	3	Negativo	*
8	Tween 80 al 25%	100	3	Negativo	*
9	Tween 80 al 25%	84	3	Positivo	**
10	Tween 80 al 25%	75	3	Negativo	*
11	Metilcelulosa al 2%	100	3	Negativo	*
12	Tween 80 al 25%	100	3	Negativo	*

* Los ratones presentaron convulsiones del tipo tónico clónicas con las siguientes características: levantamiento del tren posterior, separación entre sus patas traseras, opistótonos y en algunos casos muerte por asfixia.

** No hubo presencia de convulsiones, los ratones se postraron tranquilos semejando estar sedados.

Como en el estudio anterior los compuestos VI-2 y VI-9 presentaron un efecto anticonvulsivo, este se repitió para verificar el efecto, por lo que se completo una n de 6 ratones.

En el cuadro No. 4, se muestran los análogos de BZP que presentaron un efecto anticonvulsivo y la dosis utilizada en cada uno de ellos, el compuesto VI-2 a una dosis de 30 mg/kg, empleando como vehículo propilenglicol al 25% y el compuesto VI-9 a una dosis de 84 mg/kg, utilizando, Tween 80 al 25%.

CUADRO No. 4.-Compuestos que presentan actividad anticonvulsiva.

Compuesto VI	Vehículo	Dosis (mg/kg)	No. de Animales c/efecto No. Animales probados	Efecto anticonvulsivo
2	Propilenglicol al 25%	30	3/6	Positivo
9	Tween 80 al 25%	84	6/6	Positivo

8.4.- Curva Dosis Respuesta Cuantal para los análogos

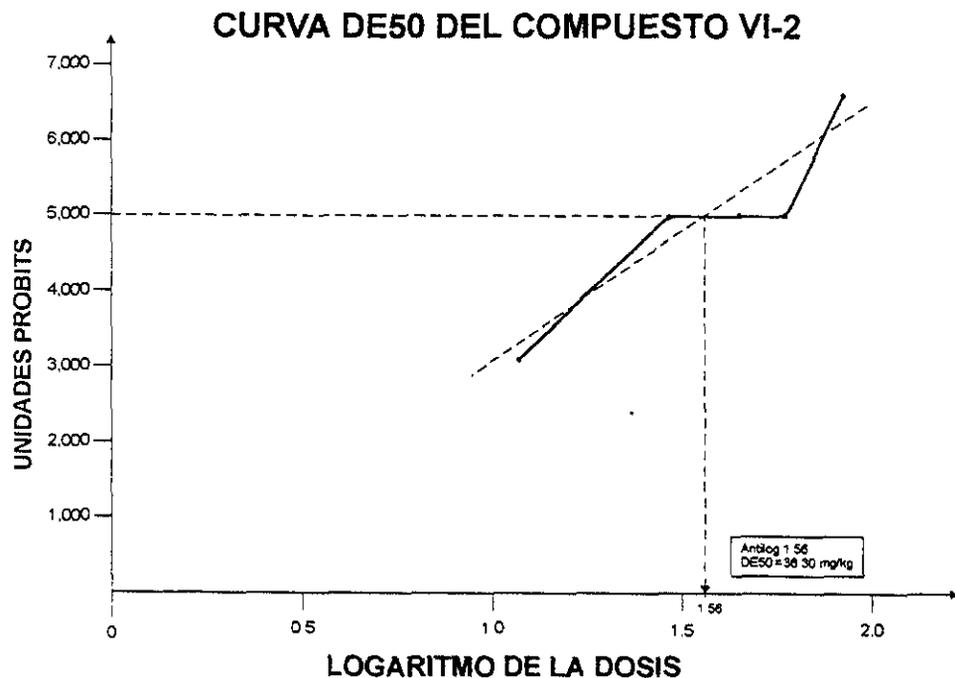
Una vez identificados los compuestos que presentan la actividad anticonvulsiva se procedió a realizar una curva dosis efectiva 50 para cada compuesto.

Para el compuesto VI-2 (cuadro No. 5), se realizó la curva DE50 y se encontró que a una dosis de 30, 45 y 60 mg/kg había protección del 50 % en los ratones de las convulsiones y a una dosis de 90 mg/kg se protegían al 100% de estas.

Cuadro No. 5.- Representa la curva Dosis Efectiva 50 para el compuesto VI-2.

Dosis (mg/kg)	Logaritmo de la dosis	No. Animales c/efecto / No. Animales probados	Unidades Probits
15	1.1760	0/6	3,249
30	1.4771	3/6	5,000
45	1.6532	3/6	5,000
60	1.7781	3/6	5,000
90	1.9542	6/6	6,728

Gráfica No. 2.- Nos presenta la Curva Dosis Efectiva 50 para el compuesto VI-2.



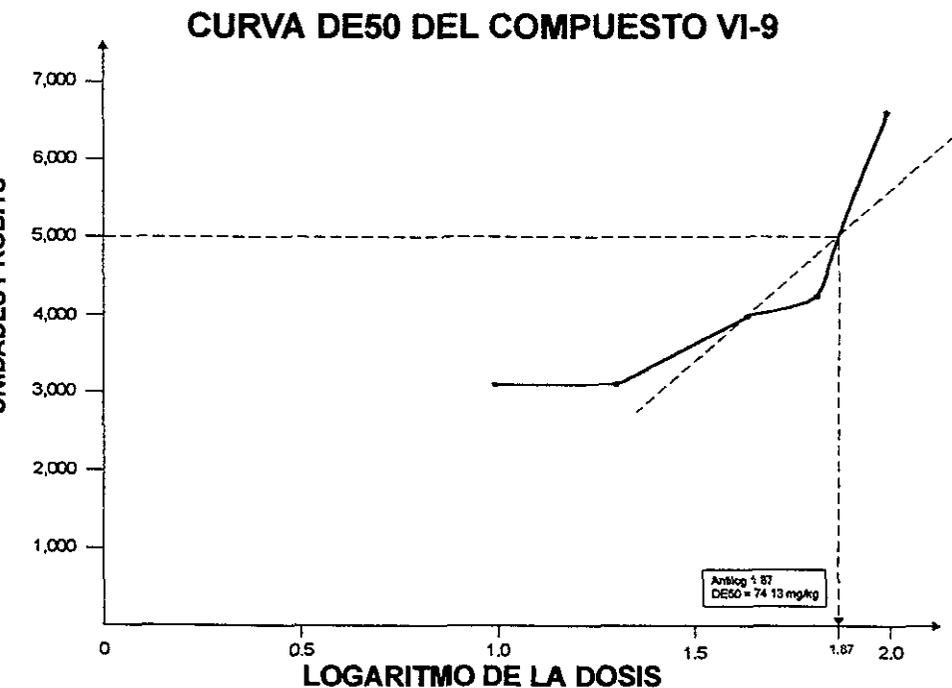
Para el compuesto VI-9 también se realizó la curva DE50 (Cuadro No. 6) encontrándose que a una dosis de 84 mg/kg se obtenía el 100% de protección para los ratones con respecto a las convulsiones, sin embargo no se logró determinar experimentalmente la protección al 50 % en los ratones, debido a que no se contaba con más compuesto, pero sí se determinó gráficamente.

Cuadro No. 6.- Presenta los datos para elaborar la curva DE50 del compuesto VI-9.

Dosis (mg/kg)	Logaritmo de la dosis	No. Animales afecto	Unidades probas
		No. Animales probados	
11	1.0413	0/6	3,249
22	1.3424	0/6	3,249
44	1.6434	1/6	5,842
66	1.8195	2/6	5,253
84	1.9242	6/6	6,728

En la gráfica No. 3, se encontró la Dosis Efectiva 50 para el compuesto VI-9 de 74.13 mg/kg

Gráfica No. 3.- Curva Dosis Efectiva 50 para el compuesto VI-9.



DISCUSIÓN DE RESULTADOS

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En este proyecto se llevó a cabo la evaluación biológica anticonvulsiva de síntesis nuevas de benzodiazepinas (derivados de la 2-(o-; p-)R-aminofenil-3H-5-fenilo-7-cloro-1,4-benzodiazepina).

Las BZP en general son estructuras débilmente básicas. Se propusieron 4 vehículos para solubilizar a las BZP: Agua que tiene una estructura polar, Metilcelulosa, por ser una estructura estable en los álcalis (13), además de ser utilizada como vehículo en algunos experimentos; propilenglicol que es un excelente vehículo para las sustancias orgánicas, por lo que se utiliza como disolvente de fármacos (15) y por último, Tween 80 que es un detergente usado como vehículo en estudios farmacológicos y fisiológicos (23), estos vehículos además tienen baja o nula toxicidad (13,20).

Elección del vehículo

Del Cuadro No.1, se observa que los vehículos polares como el agua presentan baja solubilidad para los análogos benzodiazepínicos, lo cual es debido quizá a las características predominantemente hidrofóbicas de estos compuestos.

Los solventes propilenglicol y metilcelulosa presentaron una buena solubilidad para la mayoría de los compuestos debido a las características de cada solvente.

El tween 80 fue el disolvente que mejor solubilizó a los compuestos como se observa en el Cuadro No. 1, esto puede ser a que por su naturaleza tensoactiva permite establecer una

interfase entre la naturaleza hidrofílica de agua y la hidrofóbica de los compuestos permitiendo así una mejor solubilidad de todos los vehículos probados.

El DZP fue el prototipo de los análogos benzodiazepínicos trabajados durante el proyecto, al cual se le modificó el grupo funcional carbonilo por una anilina (ANEXO II), que contenía otros grupos como: H, Cl, OCH₃, NO₂, Br, CH₃ y OH en posición orto (o-) y para (p-), esto al parecer, con la finalidad de aumentar la basicidad de las BZP en estudio, y así pudieran absorberse con mayor eficacia (5).

Efecto anticonvulsivo

En la evaluación del efecto anticonvulsivo Cuadro No. 3, se observó que la mayoría de los compuestos no tienen tal efecto, indicando así que las modificaciones realizadas en la estructura de la BZP, intervinieron en la determinación de la actividad anticonvulsiva.

En general, se observa que las modificaciones hechas a estos análogos del DZP son principalmente por grupos voluminosos, lo cual nos hace pensar que debido a estos grupos no hay una adecuada interacción con el receptor GABA; ya que en la zona en que se hicieron las modificaciones (la posición orto y para), es una de las zonas que al parecer interactúa con el receptor GABA.

Por otro lado, se sabe que grupos voluminosos generalmente son antagonistas del receptor por lo cual sería bueno plantear un experimento para identificar esta acción farmacológica.

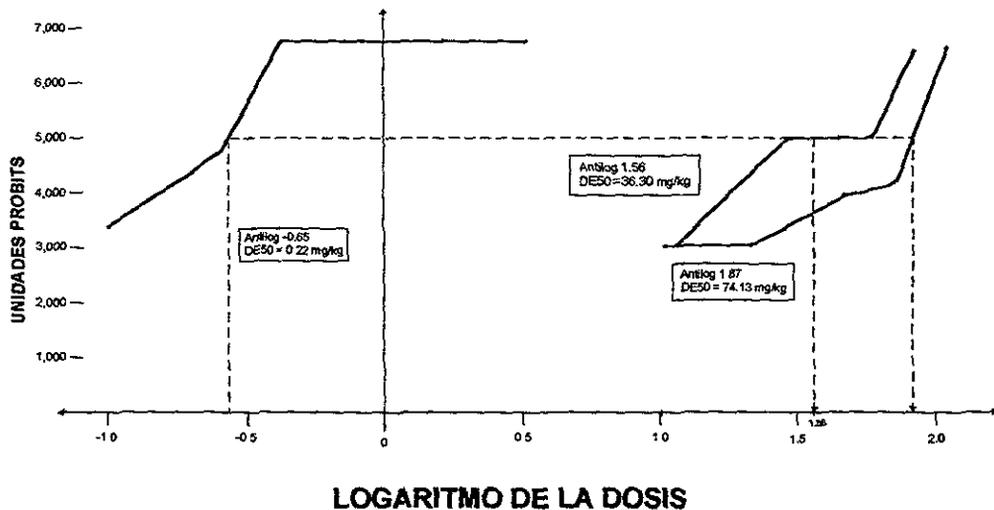
Hay también otro factor que puede ser el responsable de que no se presentara el efecto anticonvulsivo y es la dosis administrada, ya que a dosis altas, pueden algunos agonistas presentar efecto antagonista (3,5).

Algo muy importante de estos análogos, es que de todos los análogos probados, aquellos que presentaban en posición "para" (ANEXO II), un grupo altamente electronegativo como el Cl y el Br presentaron efecto anticonvulsivo, lo cual reafirma la importancia de este tipo de radicales (5).

En la curva dosis respuesta cuantitativa para el Ctrl (+), se determinó una DE50 de 0.22 mg/kg del DZP, mientras que en la literatura (7), se reporta una DE50 de 0.54 y 0.8 mg/kg por vía intraperitoneal debido a que el Ctrl (+) fue sintetizado bajo las mismas condiciones que los análogos benzodiazepínicos trabajados, se decidió utilizarlo como control en lugar de los compuestos comerciales.

En lo que se refiere a la comparación entre las DE50 del DZP y la DE50 de los análogos que presentaron el efecto anticonvulsivo (Gráfica No. 4), podemos observar que el DZP sigue siendo más potente que los análogos benzodiazepínicos.

GRAFICA COMPARATIVA DEL CRTL (+) Y LOS COMPUESTOS VI-2 Y VI-9



También, se observa que el compuesto VI-2, que contiene al grupo cloro (Cl) en su modificación, es más potente que el compuesto VI-9 que contiene al grupo bromo (Br), esto puede ser debido a que el cloro es más electronegativo que el bromo, aumentando así su potencia (5) con respecto al Br y por otro lado es menos voluminoso que el Br, lo cual ratifica el que grupos voluminosos impiden una adecuada interacción fármaco-receptor (3).

CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

- De los once análogos benzodiazepínicos, solo dos presentaron el efecto anticonvulsivo.
- Los vehículos que solubilizaron mejor a los análogos benzodiazepínicos son el propilenglicol a una concentración del 25% y el Tween 80 al 25%.
- El DZP sigue siendo más potente que la nueva síntesis de análogos benzodiazepínicos en estudio, debido a que se introdujo un grupo voluminoso (anilina) como sustituyente del grupo carbonilo, lo que provocó una reducción de la actividad de las BZP.
- Solo los compuestos en la posición para (p-) presentaron el efecto anticonvulsivo.
- Para el compuesto VI-2 (p-Cl) se determinó una DE50 de 36.30 mg/kg, mientras que para el compuesto VI-9 (p-Br) su DE50 es de 74.13 mg/kg, debido a que el cloro es más electronegativo que el bromo.

Sugerencias

- ❖ Usar grupos pequeños que contengan un grupo nitro, para aumentar la basicidad de las benzodiazepinas, grupos muy electronegativos para aumentar la potencia de estas y puedan tener una mayor absorción y por lo tanto sean más eficaces.
- ❖ Probar los análogos benzodiazepínicos por vía oral.
- ❖ Buscar si los análogos benzodiazepínicos son antagonistas del DZP.

BIBLIOGRAFÍA

1. Bancaud, J. Henriksen, o. y Rubio-Donnadieu colbs, F. (1981). Proposal for Revised Clinical and Electroencephalographic Classification Of Epileptic Seizures. *Epilepsia*, 22:489-501, 1981.
2. Goth W, Clark G. y Johnson, A.R. *Farmacología Clínica*. Cap. 5, 21, 31, 42; 12ª Ed, Edit. Panamericana. México 1994.
3. Avendaño López Ma. Del C. *Introducción a la Química Farmacéutica*. 13ª ed. Edit. Interamericana Mc. Graw-Hill. México 1991.
4. Harvey J. K. Strategies for identifying and developing new anticonvulsant drugs. *Pharmaceutisch Weelblan Scientific edition*, 14(3a), 1992.
5. Katzung, B.F. *Farmacología Básica y Clínica*. Cap. 21, 6ª Ed. Edit. El Manual Moderno, México, 1996.
6. Krall, J. F. Penry, B. G. White, H. J. Kupferbery and A. E. Swinyard. Antiepileptic drug development: Anticonvulsant drug screening. *Epilepsia*. 19,409, 1978.
7. De Angelis, L. Animal Techniques for Evaluating Benzodiazepine Drugs. *Myth and Find Exp. Clin. Pharmacol.* 1(3), 129-155, 1979.
8. Sander, J. W. A. S. y Bucks, P. The Epidemiology of the Epilepsies: Future Directions. *Epilepsia*, 38 (5): 614-618, 1997.
9. Swinyard, E. A. Laboratory Evaluation of Antiepileptic Drugs. Review of laboratory methods. *Epilepsia*, 10: 107-119, 1969.
10. Swinyard, E. A. Woodhead, J. H, Whte, H. S. y Franklin, M. R. Experimental Selection, Quantification, and Evaluation of Anticonvulsivants. *Antiepilec Drugs*, Third Edition, 5, 85-102, 1989.

11. Goodman y Gilman; A.G. Rall, T. W, Nies, A. S y Taylor, P. Las bases Farmacológicas de la Terapeutica, Cap. 18, Edit. Panamericana, México, 1991.
12. B. Abila, A. Richens and J. A. Davies. Anticonvulsivants effects of extracts of the West Africann black pepper, Piper guincense. J. of Ethnopharmacol., 3a Ed, 113-117, 1993.
13. The Merck Index. Twelfth edition, 1996.
14. Roth, H.J. Pharmaceutical Chemistry. Vol. 2. Ellis Horwood. Great Britain, 1991.
15. Tallman, J. F. Paul, S. M; Skollmick, P. Gallager, D. W. Receptors for the age anxiety: Pharmacology of the benzodiazepines. Science 207 (18): 274-281, 1980.
16. General Monograph, CphA. Diazepam, Reviewed 1996.
17. Klaus Braak and Hans-Hasso Frey. Effects of Solvents and Detergents on the Contractions of Isolated Smooth Muscle preparations, J. Pharm. Pharmacol, 1990.
18. Marjolein Beekman, Jesse T. Ungard. Revesal of Behavioral Effects of pentylenetetrazol by the Neuroactive Steroid Ganaxolone. J. Pharmacol. Exp. Ther. 284:868-877, 1998.
19. J. Francis, S, J. Mihic, W. B. Sneddon and W. M. Burnham. The Effect of Anticonvulsant Drugs on GABA-Stimulated Chloride Uptake. J. Can. Neurol. Sci. 21:3-8, 1994.
20. Litter, M. Compendio de Farmacologia. Cap. 11, 4ª. Ed. Edit. El Ateneo, Argentina, 1988.
21. Dolan B. Pritchett, Harald Sontheimer. Importance of a nevel GABA_A receptor subunit for benzodiazepine pharmacology. Letters to Nature, 338:582; 1989.

22. Erminio Costa and Alessandro Guidotti. Benzodiazepines on trial: a research strategy for their rehabilitation. *Trends Pharmacol. Sci.* 17:192; 1996.
23. Carl Andreq Castro, John B. Hogan. Behavioral Effects of Vehicles: DMSO, Ethanol, Tween 80, and Emulphor-620. *Pharm. Biochem. Behav.* 50:4:521, 1995.
24. Löscher, W. and Nolting, B.: The role technical, biological and pharmacological factors in the laboratory evaluation of anticonvulsant drugs-IV Protective indices. *Epilepsy Res.* 9:1-10, 1991.
25. Maciej Gasiór, Richard B. Carter: Anticonvulsant and Behavioral effects of Neuroactive Steroids Alone and in Conjunction with Diazepam. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 282:543-553, 1997.
26. M.E. Maza, M. Galíndez, R. Martínez and E. Córtes. Mass espectral fragmentation patterns of 1,5-benzodiazepines I. Ortho effects of a R2 substituents on 2-(ortho-R-aniline)-4-para-R1-phenil-3H-1,5, benzodiazepines. *J. Of Heterocyclic Chem.*, 19, 107 (1982).
27. Cortés, E.; Araluce, L. A. synthesis and spectral properties of methyl 5-[(o-; m- and p-R)-phenoxy-2-benzimidazole carbamate. *J. Heterocyclic Chem.* 34, 745, 1997.
28. Ashoton, H. *Drugs.* 48, 25, 1994.
29. Baker, R. H. Use of Benzodiazepines. *Brit. Med. J.* 309, 412, 1994.
30. Makevec, F., D' Amato, M. *Drug Discovery Today.* 2, 283, 1997.
31. Bock, M.G.; Dipardo, R. M.; Evans, B. E. *J. Med. Chem.* 32, 16, 1989.
32. Zníber, R. *Science*, 1799, 1991.

33. Pardee, A.B.; Biswas, D, Bruce, J. US US 56441, 773 (Cl.514-221; A61k31/55), Appl 159, 509, 24 Jun 1997.
34. Haefly, W; Martin, J. R. and Schoch, P.: novel anxiolytics that act as partial agonists at diazepam receptors. *Trends Pharmacol. Sci.* 11:452-456, 1990.
35. Rundfeldt, C; W_{Laz}, P; Hönack, D and Löscher, W.: Anticonvulsant to ance and withdrawal characteristics of benzodiazepine receptor ligand different seizure models in mice. Comparison of diazepam, bretazenil abecarnil. *J. Pharmacol Exp. Ther.* 275: 693-702, 1995.
36. Wolfgang Löscher, Chris Rundfeldt, Dagmar Hönack and Ulrich Ebert.: Long-Term Studies on Anticonvulsant Tolerance and Withdrawal Characteristics of Benzodiazepine Receptor Ligands in Different Seizure Models in Mice. I. Comparison of Diazepam, Clonazepam, Clobazam and Abecarnil¹. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* JPET 279:561-572, 1996.

ANEXO I

VEHÍCULOS

Metilcelulosa (13).

Nombre químico: Éter metílico de celulosa

Nombre comercial: Syncelosa, Bagolax

Propiedades: polvo o gránulos blancos, aumenta su viscosidad con las sales inorgánicas, estable a los álcalis y ácidos grasos, las suspensiones acuosas son neutras al tornasol.

Solubilidad: Soluble en ácido acético glacial; insoluble en agua y en soluciones salinas saturadas; insoluble en éter, alcohol o cloroformo.

Dosis habitual como laxante de 1 a 1.5 g con agua de 2 a 4 veces al día

Usos: Laxante, agente dispersante espesante, emulsificante y estabilizante.

Propilenglicol (13).

Nombre químico: 1,2-propanodiol

Propiedades: Densidad = 1.037 g/ml, higroscópico, líquido viscoso, incoloro, sabor ligeramente acre.

Solubilidad: Misible con agua, acetona, cloroformo. Soluble en éter

Dosis letal en ratas: 25 ml/kg

Usos: Disolvente para fármacos, cosméticos, lociones y ungüentos, conservador, humectante, emulsificante.

Tween 80 (13, 17).

Nombre químico: Polisorbaato 80, Esteres del sorbitán, derivados de poli(oxi-1,2-etanodíolo)

Nombre comercial: Zeneca

Propiedades: Densidad de 1.09 g/ml, líquido oleoso color limón a ambar, olor suave característico, sabor cálido, algo amargo, pH entre 6 a 8 en solución acuosa.

Solubilidad: Muy soluble en agua, soluble en alcohol; insoluble en aceite mineral

Dosis letal 50 en ratones, ratas (ml/Kg): 7.5, 6.3 por vía intraperitoneal

Usos: Es un excelente hidrofílico y liofílico, emulsificante y agente dispersante en productos de medicina, surfactante, agente emulsionante.

ANEXO II

El presente cuadro nos presenta los grupos modificados al DZP, que se trabajaron durante el proyecto, así como algunas de sus características:

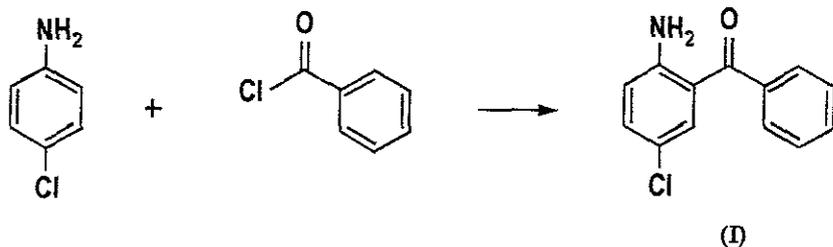
Claves y características de los Análogos de benzodiazepina en estudio.

Clave	Radical modificado (R ₂)	% Rendimiento	Punto de fusión	Color del cristal	Actividad anticonvulsiva
COMP VI-1	H	48	208-210	crema	Negativa
COMP VI-2	p-Cl	63	117-118	amarillo	Positiva
COMP VI-3	o-Cl	45	189-191	crema	Negativa
COMP VI-4	o-OCH ₃	57	196-198	aperlado	Negativa
COMP VI-5	p-OCH ₃	39	98	aperlado	Negativa
COMP VI-6	p-NO ₂	51	159-161	amarillo	Negativa
COMP VI-8	o-Br	26	97-99	amarillo	Negativa
COMP VI-9	p-Br	55	146-148	amarillo	Positiva
COMP VI-10	o-CH ₃	67	161	crema	Negativa
COMP VI-11	o-OH	31	187-188	crema	Negativa
COMP VI-12	p-OH	73	156-158	naranja	Negativa

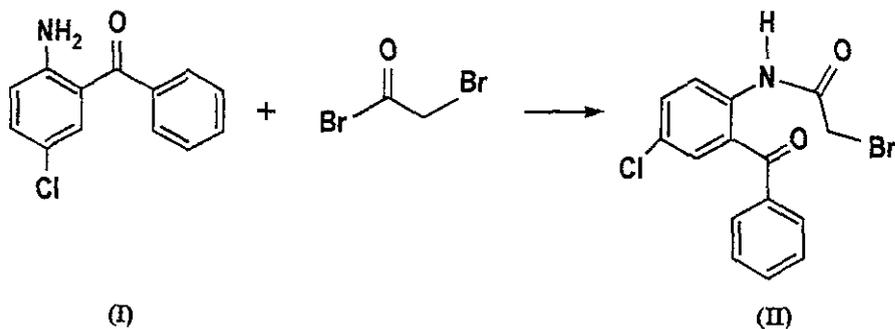
A continuación se presenta la síntesis de los derivados de la 2-((o-,p-)R-amino)fenil-3H-5-fenilo-7-cloro-1,4-benzodiazepina se llevó a cabo por una ruta sintética de seis pasos, utilizando como materias primas para el último paso la 2-tiometil-5-fenilo-7-cloro-1,4-benzodiazepina

RUTA GENERAL DE SÍNTESIS

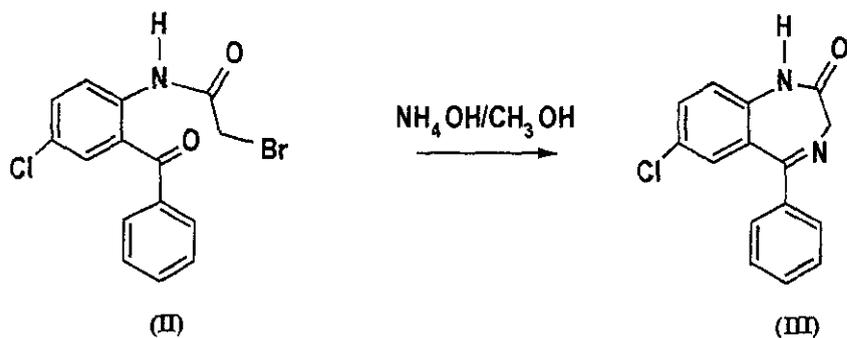
Primer paso:



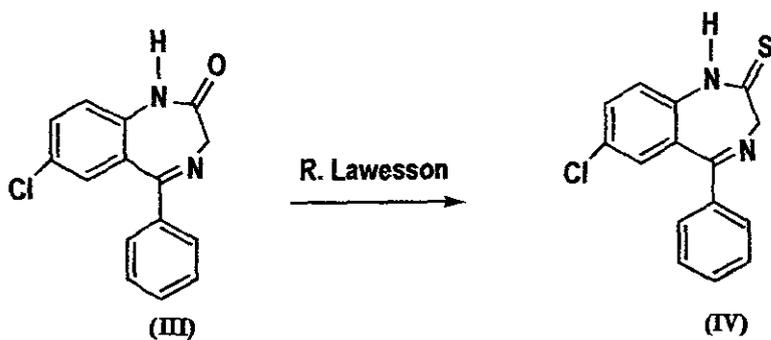
Segundo paso:



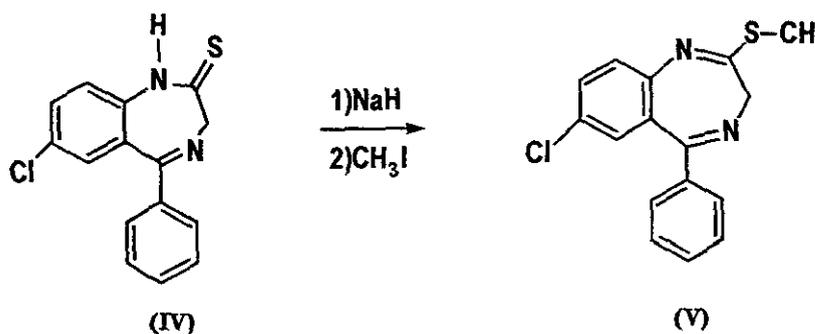
Tercer paso:



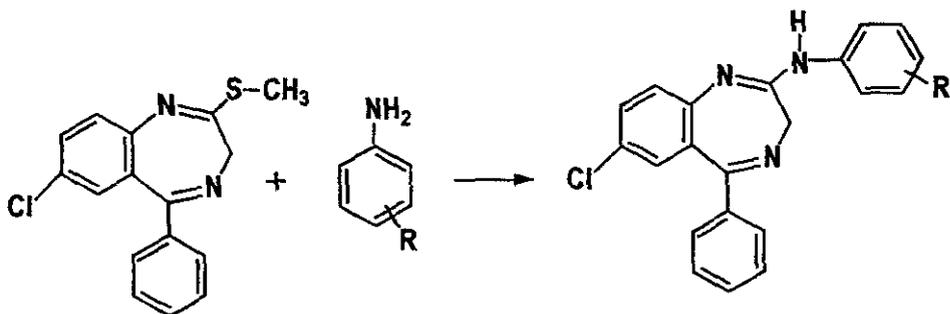
Cuarto paso:



Segundo paso:

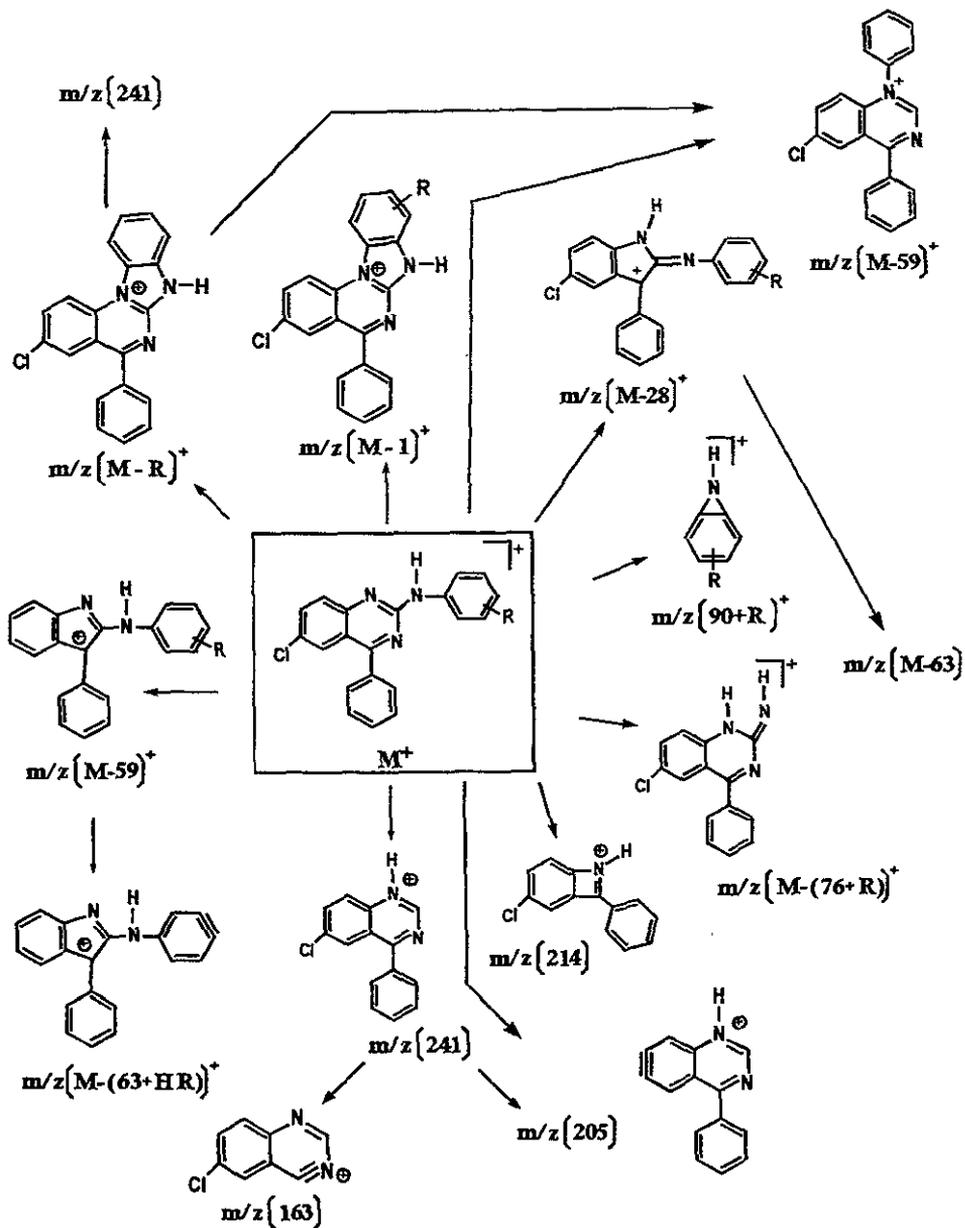


Sexto paso:

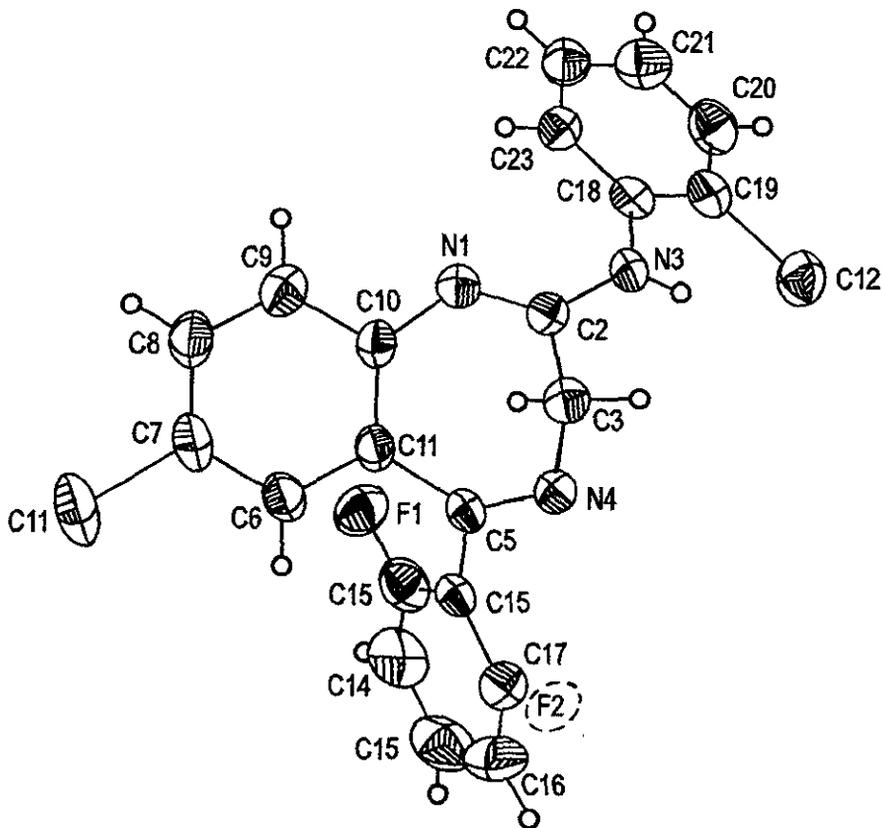


ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA

ANEXO III



Patrón general de fragmentación



Rayos X de la
2-[o-cloro-aminofenil]-3H-5-[o-fluorofenil]-7-cloro-1,4-benzodiazepina

1 Mass Spectrometry
Data: Dr Cortes Eduardo 067

Date: 15-Nov-97 12.17

Sample: 172-VI-C1

Date:

Inst: Direct

Ion Mode: EI+

Spectrum Type: Normal Ion (MF-Linear)

RI: 1.14 min

Scan: (31,59)-(31,36)

Temp: 172.6 deg.C

HI: 229 K200

Int.: 248 25

Output range: 0.0000 to 415.4303

Cut Level: 0.00 %



ACTIVIDAD DE QUIMICA

ANEXO III

Data: Dr. Cortes Eduardo B/1

Date: 15 Nov-97 12:31

Sample: 121 XII-1

Batch: -

Inst: Direct

Ion Mode: EI

Spectrum Type: Normal Ion (M⁺-Linear)

RF: 1.21 MHz

Scan#: (27,56)-(27,31)

Temp: 184.4 deg.C

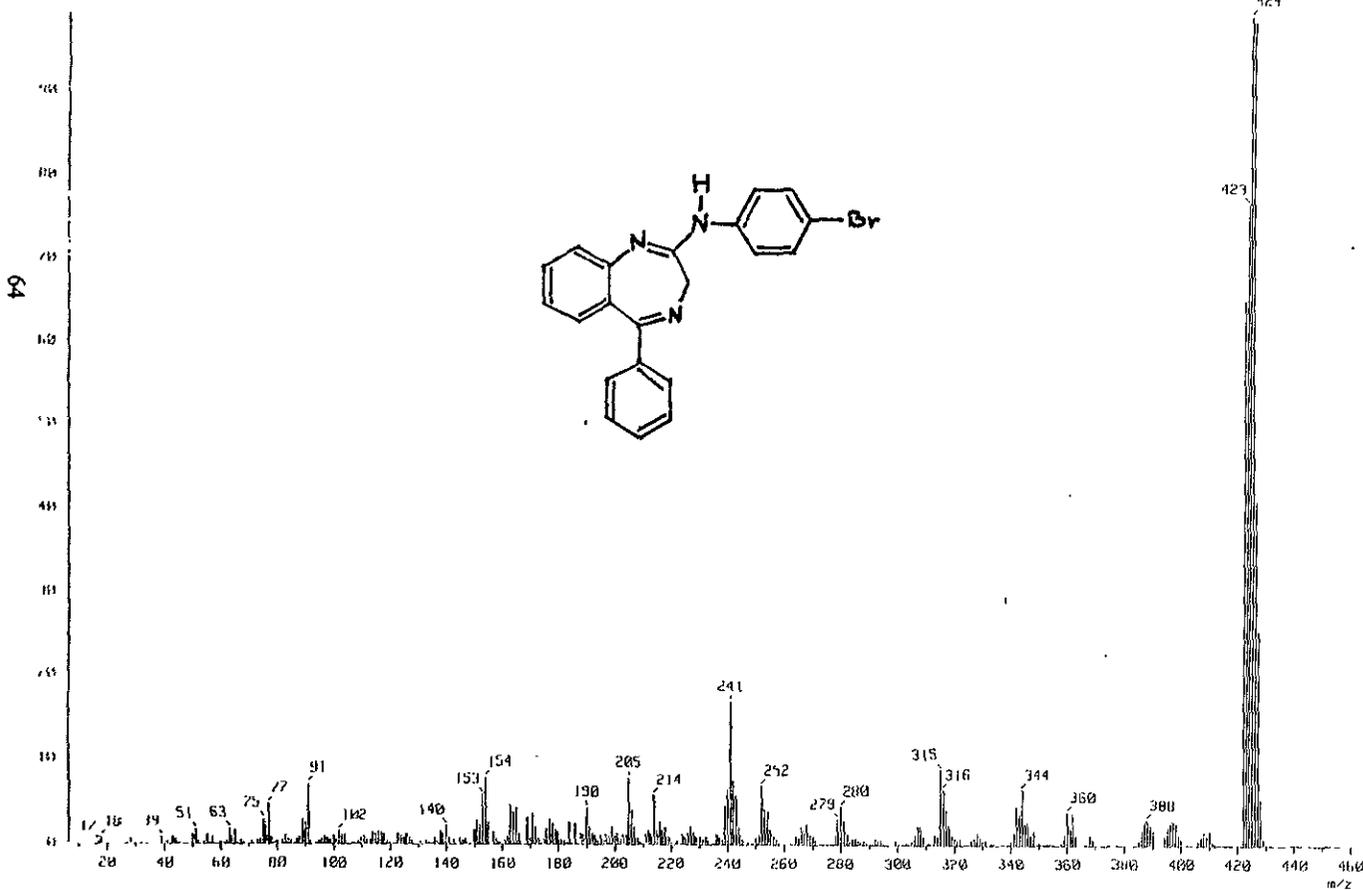
He: 0.22 0.1 0.000

Int: 347.30

Output: 0.00 range: 8.3006 to 460.5341

Gain Level: 0.00 %

61127



CENTRO DE QUÍMICA

ANEXO III