



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD  
NOOTRÓPICA DE DERIVADOS  
DE ARILPIPERAZINA”

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA  
P R E S E N T A:

RUTH IVONNE TÉLLEZ BALLESTEROS



MÉXICO, D.F.



EXAMENES PROFESIONALES  
FACULTAD DE QUÍMICA

2005

m. 348640



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo recepcional.  
NOMBRE: Ruth Ivonne Téllez Ballesteros  
FECHA: 30/ septiembre/ 2005  
FIRMA: [Firma]

**Jurado asignado:**

Presidente            Prof. ELIA BROS LA NARANJO RODRÍGUEZ  
Vocal                Prof. ATONATIU EDMUNDO GÓMEZ MARTÍNEZ  
Secretario          Prof. ANDRÉS NAVARRETE CASTRO  
1er. Suplente       Prof. MARTHA LETICIA JIMÉNEZ PARDO  
2do. Suplente      Prof. RUTH BUSTAMANTE GARCÍA

Este Trabajo se desarrolló en el Laboratorio 126 del conjunto E de la Facultad de Química, UNAM.

  
\_\_\_\_\_  
Dr. ANDRÉS NAVARRETE CASTRO  
ASESOR

  
\_\_\_\_\_  
M. en C. LINO JOEL REYES TREJO  
SUPERVISOR TÉCNICO

  
\_\_\_\_\_  
RUTH IVONNE TÉLLEZ BALLESTEROS  
SUSTENTANTE

## DEDICATORIAS

*A Dios.*

*A mi Padre,* por el apoyo y confianza que me has dado, porque eres el mejor ejemplo de superación que puedo tener y por darme lo más valioso que un padre le pueda dar a un hijo ¡GRACIAS POR SER MI PA!

*A mi Madre,* por enseñarme que nada en la vida puede contra nosotros si no nos dejamos vencer, gracias por tu fortaleza y tanto amor que nos das.

*A mi hermana Miriam,* por ser la mejor hermana mayor que pudiera desear, te admiro mucho y gracias por todo el cariño y cuidados que me has brindado.

*A mi hermana Paola,* porque cada vez que te veo me haces recordar que Dios existe.

*A mi hermana Kena,* por todos los momentos compartidos y las pláticas que hemos tenido.

*A Isra y Jois,* por formar parte de mi gran familia.

*A Beto,* por el apoyo que me has brindado, por estar conmigo en las buenas y en las malas, por tener siempre la palabra exacta para reconfortarme, por tu amistad, compañía y cariño, y por todos los momentos especiales que hemos compartido y los que nos faltan por vivir. TE QUIERO MUCHO;

## AGRADECIMIENTOS.

GRACIAS A

### LA UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO, FACULTAD DE QUÍMICA

Por contribuir a mi formación profesional y personal.

**A mis grandes amigos: Humberto, Karen, Gris y Javier.**

Porque son los mejores amigos que pudiera tener, gracias por su gran amistad, cariño, todos los momentos que hemos compartido y por haberme apoyado en los momentos más difíciles. LOS QUIERO MUCHO!

**A mi hermano: Carlos.**

Gracias por todo el apoyo que me has brindado y porque aunque no eres mi hermano de sangre se que cuento contigo como si lo fuera. TE QUIERO MUCHO!

**A mis amigos: Mario, Carlitos, Guadalupe, Julia, Juanito, Marco, Chucho, Richy, Francisco, Ramsés, Magaña, Tania, Ptizio, Etanol, Paco, Tere, Elisa, Marce, Rocío y Agus.**

Gracias por haber compartido una etapa tan bonita, por todos los momentos que vivimos y las alegrías que compartimos. LOS QUIERO MUCHO!

**A la Fam. Díaz Cortés,** por el apoyo y cariño que me brindaron durante tanto tiempo. En especial a Luis, gracias por haber compartido tantas alegrías y tristezas y formar parte muy importante en este logro.

**A Toño Lee.**

Gracias por haberme enseñado el amor hacia la química, por su humildad, por todos los conocimientos que sabe compartir y la amistad que siempre brinda.

**A todos mis compañeros de Laboratorio.**

**A Normita,** gracias por todo el apoyo que me brindaste para la realización de mi tesis, por tu amistad y cariño. TE QUIERO MUCHO!

**A Noemí, Alberto, Elenita y la Sra. Mago,** gracias por todos los momentos compartidos y haber formado parte del gran equipo con el que me encantó trabajar.

**Al Dr. Andrés Navarrete Castro.**

Por todo el apoyo, confianza, asesoría, paciencia y todos los conocimientos brindados para la realización de este proyecto. Por su acertada dirección en la elaboración de este trabajo, por el esfuerzo y constancia que dedicó para guiar este trabajo.

**Al M. en C. Lino Joel Reyes Trejo.**

Gracias por la asesoría brindada en el desarrollo de este trabajo, sin la cual no hubiera salido adelante.

GRACIAS, a la Dirección General de Asunto del Personal Académico (DGAPA) a través del Proyecto IN203902, a la Facultad de Química a través del proyecto PAIP 6390-18.

GRACIAS, al Bioterio del Conjunto E por todas las facilidades y apoyo brindados durante la realización de mi tesis, en especial al Sr. Manuel y a Moni. MIL GRACIAS!

**“ You have to begin to lose your memory, if only in bits and pieces, to realise that memory is what makes our lives. Life without memory is no life at all... Our memory is our coherence, our reason, our feeling, even our action. Without it, we are nothing....”**

Extract from The man who mistook his wife for a hat,

By Oliver Sacks

Í N D I C E G E N E R A L

Resumen.....	9
1. Introducción.....	10
2. Marco teórico.....	12
2.1 Síntesis de derivados de Piperazinas.....	12
2.2 Definición de Memoria y Aprendizaje.....	13
2.3 Tipos de Memoria.....	14
2.3.1 Memoria a corto plazo.....	15
2.3.2 Memoria a largo plazo.....	16
2.4 Mecanismo de la Memoria.....	16
2.5 Sensibilización.....	18
2.6 Fisiología de la Memoria.....	19
2.7 Trastornos de la Memoria.....	21
2.8 Tratamientos.....	23
2.9 Neurotransmisores involucrados en la Memoria.....	26
2.9.1 Aminoácidos.....	26
2.9.1.1 GABA.....	26
2.9.1.2 Glutamato (NMDA/AMPA).....	27
2.9.2 Aminas biogénicas.....	27
2.9.2.1 Acetilcolina.....	27
2.9.2.2 Histamina.....	28
2.9.2.3 Serotonina.....	29
2.10 Pruebas para el estudio de la Memoria.....	35
2.10.1 Evitación pasiva ( <i>Passive Avoidance</i> ).....	35
2.10.1.1 Paso a lo largo ( <i>Step-through</i> ).....	35
2.10.2 Laberinto de Morris ( <i>Morris maze</i> ).....	37
2.10.3 Laberinto Radial ( <i>Radial maze</i> ).....	37
2.10.4 Pruebas de comportamiento operante ( <i>Operant behaviour tasks</i> ).....	38
2.11 Agentes nootrópicos.....	38
2.11.1 Piracetam.....	40
2.12 Escopolamina.....	43

## **Evaluación de la actividad nootrópica de derivados de arilpiperazinas**

---

---

3. Justificación.....	47
4- Hipótesis.....	48
5. Objetivo general.....	49
6. Objetivos específicos.....	49
7. Material y método.....	50
7.1 Formación de la R-Arilpiperazina.....	50
7.2 Animales.....	50
7.3 Fármacos y Dosis.....	51
7.4 Evaluación del efecto nootrópico.....	51
7.4.1 Aparato de Evitación Pasiva ( <i>Passive Avoidance Apparatus</i> ).....	51
7.4.2 Fase de Entrenamiento.....	52
7.4.3 Actividad amnésica.....	53
7.4.4 Prueba de retención.....	53
7.5 Análisis estadístico.....	53
8. Resultados y Discusión.....	54
8.1 Parte química.....	54
8.2. Parte farmacológica.....	57
9. Conclusiones.....	76
10. Bibliografía.....	77
11. Apéndice 1 (Certificado de Salud de los ratones ICR).....	92
12. Apéndice 2 (Espectros).....	95



**Í N D I C E D E C U A D R O S**

<b>CUADRO 1</b>	Clasificación de la Memoria.....	<b>14</b>
<b>CUADRO 2</b>	Trastornos de la Memoria.....	<b>22</b>
<b>CUADRO 3</b>	Fármacos que aumentan la Función Cognitiva.....	<b>24</b>
<b>CUADRO 4</b>	Receptores 5-HT o mRNA localizados en las áreas del cerebro involucrados en el aprendizaje y memoria y los cambios de 5-HT observados durante la enfermedad de Alzheimer (EA) y envejecimiento (E).....	<b>30</b>
<b>CUADRO 5</b>	Estudio de los comportamientos observados en el Aparato de Evitación Pasiva.....	<b>36</b>
<b>CUADRO 6</b>	Estructura de los compuestos sintetizados.....	<b>54</b>
<b>CUADRO 7</b>	Caracterización de arilpiperazinas.....	<b>55</b>
<b>CUADRO 8</b>	Dosis mínima efectiva (MED) para las arilpiperazinas sintetizadas..	<b>73</b>
<b>CUADRO 9</b>	Dosis con mayor efecto para las arilpiperazinas sintetizadas.....	<b>74</b>

**Í N D I C E D E F I G U R A S**

<b>FIGURA 1</b>	Diferencia entre la sensibilización a corto plazo y a largo plazo.....	<b>19</b>
<b>FIGURA 2</b>	Cara interna del hemisferio cerebral derecho donde se observan las estructuras que forman el Sistema Límbico.....	<b>20</b>
<b>FIGURA 3</b>	Estructura de la Serotonina.....	<b>29</b>
<b>FIGURA 4</b>	Sinapsis serotoninérgica.....	<b>34</b>
<b>FIGURA 5</b>	Estructura del Piracetam.....	<b>40</b>
<b>FIGURA 6</b>	Estructura de la Escopolamina.....	<b>44</b>
<b>FIGURA 7</b>	Estructura general de arilpiperazinas.....	<b>49</b>
<b>ESQUEMA 1</b>	Método de Síntesis de arilpiperazinas. Medio de reacción n-butanol.....	<b>50</b>
<b>FIGURA 8</b>	Aparato de Evitación pasiva.....	<b>52</b>
<b>FIGURA 9</b>	Gráfico a diferentes voltajes.....	<b>53</b>
<b>FIGURA 10</b>	Estructura general de arilpiperazinas.....	<b>54</b>
<b>FIGURA 11</b>	Efecto nootrópico del Piracetam y los controles utilizados.....	<b>58</b>
<b>FIGURA 12</b>	Curva del efecto amnésico de la Escopolamina.....	<b>59</b>
<b>FIGURA 13</b>	Efecto nootrópico de p-bromofenilpiperazina.....	<b>61</b>
<b>FIGURA 14</b>	Efecto nootrópico de m-clorofenilpiperazina.....	<b>62</b>
<b>FIGURA 15</b>	Efecto nootrópico de p-clorofenilpiperazina.....	<b>63</b>
<b>FIGURA 16</b>	Efecto nootrópico de 3,5-diclorofenilpiperazina.....	<b>64</b>
<b>FIGURA 17</b>	Efecto nootrópico de 3,4-(metilendioxi)fenilpiperazina.....	<b>66</b>
<b>FIGURA 18</b>	Efecto nootrópico de 4-metoxi-2-metilfenilpiperazina.....	<b>67</b>
<b>FIGURA 19</b>	Efecto nootrópico de 1-naftilpiperazina.....	<b>68</b>
<b>FIGURA 20</b>	Efecto nootrópico de 3-nitrofenilpiperazina.....	<b>69</b>
<b>FIGURA 21</b>	Comparación del efecto nootrópico entre compuestos.....	<b>71</b>
<b>FIGURA 22</b>	Comparación de la Dosis mínima efectiva y de la dosis con mayor efecto de las arilpiperazinas con efecto nootrópico.....	<b>75</b>

**G L O S A R I O D E A B R E V I A T U R A S**

<b>1-NP</b>	1-naftilpiperazina
<b>5-HT</b>	5-hidroxitriptamina ó Serotonina
<b>5,7-DHT</b>	5,7-dihidroxitriptamina
<b>Ach</b>	Acetilcolina
<b>AND</b>	Ácido desoxirribonucleico (Desoxirribonucleic acid)
<b>AMPA</b>	Ácido $\alpha$ -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolpropiónico
<b>Ar.</b>	Aromático
<b>cAMP</b>	Adenosin monofosfato cíclico
<b>cm</b>	Centímetro
<b>CREB</b>	Cyclic AMP response element binding protein (elemento de respuesta cAMP/Ca <sup>2+</sup> de unión a proteína)
<b>DMSO</b>	Dimetil sulfóxido
<b>DOI</b>	2,5-dimetoxi-4-iodoanfetamina
<b>EEM</b>	Error estándar de la media
<b>EM</b>	Espectrometría de masas
<b>EMAE</b>	Empeoramiento de la memoria asociado con la edad
<b>EA</b>	Enfermedad de Alzheimer (Alzheimer disease)
<b>etc.</b>	Etcétera
<b>FDA</b>	Food and Drug Administration (Administración de alimentos y fármacos)
<b>Fig.</b>	Figura
<b>GABA</b>	Gamma Amino butyric acid (Ácido gamma aminobutírico)
<b>GI</b>	Gastrointestinal
<b>H</b>	Histamina
<b>h</b>	Hora
<b>i.c.v.</b>	Intracerebroventricular
<b>i.p.</b>	Intraperitoneal
<b>i.m.</b>	Intramuscular
<b>IR</b>	Infrarrojo
<b>Kg</b>	Kilogramo

## **Evaluación de la actividad nootrópica de derivados de arilpiperazinas**

---

<b>MA</b>	Microamperio
<b>MCP</b>	Memoria a corto plazo
<b>m-CPP</b>	meta-clorofenilpiperazina
<b>MED</b>	Dosis mínima efectiva
<b>mg</b>	Miligramo
<b>m</b>	Minuto
<b>mL</b>	Mililitro
<b>MLP</b>	Memoria a largo plazo
<b>NMDA</b>	N-Metil-D-Aspartato
<b>MPI</b>	Memoria a plazo intermedio
<b>PCA</b>	Para-cloroanilina
<b>pCPA</b>	para-clorofenilaminilina
<b>p. ej.</b>	por ejemplo
<b>PLP</b>	Potenciación a largo plazo
<b>ppm</b>	Partes por millón
<b>R</b>	Radical o Sustituyente
<b>RMN<sup>1</sup>H</b>	Resonancia magnética nuclear de protones
<b>S.A de C.V.</b>	Sociedad anónima de capital variable
<b>s.c.</b>	Subcutánea
<b>S</b>	Segundos
<b>SN<sub>2</sub></b>	Sustitución nucleofílica SN <sub>2</sub>
<b>SNC</b>	Sistema nervioso central
<b>SSI</b>	Solución salina isotónica
<b>SSRIs</b>	Inhibidores de la recaptura de 5-HT
<b>TEC</b>	Terapia electroconvulsiva
<b>TFMPP</b>	N-(3-trifluorometilfenil)piperazina
<b>uma</b>	Unidad de masa atómica

## **Evaluación de la actividad nootrópica de derivados de arilpiperazinas**

---

### **R E S U M E N**

El descubrimiento y desarrollo de nuevos agentes terapéuticos para padecimientos neurológicos asociados con memoria, amnesia y patologías relacionadas, se ha convertido en un tópico de suma importancia y de gran interés en nuestros días, debido al aumento numérico de la población de edad avanzada y a la falta de principios activos con una actividad específica y comprobable en este tipo de patologías.

Algunos investigadores señalan que los antagonistas de los receptores 5-HT podrían tener efectos benéficos sobre la memoria, es por esto que en el presente trabajo se sintetizaron 8 fenilpiperazinas con diferentes sustituyentes a partir de las anilinas correspondientes, llevándose a cabo una reacción de tipo SN<sub>2</sub>, con bis (2cloroetil)amina, compuestos presumiblemente antagonistas de dichos receptores, con la finalidad de evaluar su posible efecto de tipo nootrópico en los ratones a los que se les administraron. Los compuestos sintetizados fueron: p-bromofenilpiperazina, m-clorofenilpiperazina, p-clorofenilpiperazina, 3,5-diclorofenilpiperazina, 3,4-(metilendioxi)fenilpiperazina, 4-metoxi-2-metilfenilpiperazina, 1-naftilpiperazina y 3-nitrofenilpiperazina. La identificación de los compuestos se comprobó mediante métodos físicos como: punto de fusión, cromatografía en capa fina, espectroscopía de IR, RMN<sup>1</sup>H, y espectrometría de masas. Para la evaluación del efecto nootrópico de las arilpiperazinas sintetizadas, se utilizó la prueba de Evitación Pasiva (*Passive Avoidance Test* Ugo Basile 7550), utilizando como control positivo el Piracetam y como agente amnésico la escopolamina. Los compuestos se evaluaron a diferentes dosis (0.1 a 100 mg/Kg) para obtener la ventana de actividad biológica de éstos.

Al evaluar el efecto nootrópico de los compuestos sintetizados, se observó que la mayoría de éstos presentaban un efecto mayor que el control positivo utilizado, el Piracetam; sin embargo, los compuestos: m-clorofenilpiperazina, 3,4-(metilendioxi)fenilpiperazina y 3-nitrofenilpiperazina, no presentaron dicha actividad. El compuesto 4-metoxi-2-metilfenilpiperazina presentó el mayor efecto nootrópico a menor dosis. Los compuestos, con efecto nootrópico, podrían usarse en otros modelos de memoria para comprobar el efecto evaluado, así como realizarles un perfil neurofarmacológico para determinar el mecanismo, lugar de acción específico y determinar sus efectos colaterales.

Los resultados mostrados en este trabajo dan lugar a un nuevo tipo de compuestos derivados de la piperazinas con un efecto nootrópico importante en la prueba de evitación pasiva, y permite planificar la síntesis de nuevos compuestos con efecto sobre SNC.

### **I. I N T R O D U C C I Ó N .**

La memoria, definida como la capacidad para almacenar y recordar información, es una función mental crucial y cotidiana en nuestra existencia. Todas nuestras funciones cognitivas serían imposibles si no tuviéramos la capacidad para recordar o evocar experiencias previas; es por esto que las investigaciones sobre memoria y sus afecciones, constituyen una de las áreas más estudiadas y fascinantes en nuestros días (Ghoneim, 2004).

Las habilidades para aprender y recordar son esenciales para la sobrevivencia de todos los organismos (Squire y Kandel, 2000). El desarrollo de nuevos agentes terapéuticos para el tratamiento de desórdenes cognitivos es un problema real y urgente, debido a los cambios demográficos y el notable incremento en el promedio de esperanza de vida en las ciudades en desarrollo (Mingeot-Leclercq *et al.*, 2003). El olvido progresivo, es una situación con la que nos enfrentamos como parte del proceso normal de envejecimiento, pero la pérdida de memoria es un factor asociado con varios estadios de enfermedad. Lo anterior, incluye varias condiciones patológicas neurodegenerativas, como el síndrome de Korsakoff en alcohólicos y la enfermedad de Alzheimer. Una pérdida de la memoria más aguda, es también consecuencia de daño cerebral por golpes y tumores (Fletcher, 1997). La amnesia total es rara, pero actualmente nos enfrentamos a una epidemia de pérdida de memoria. En el presente, existen alrededor de 18 millones de personas en todo el mundo que padecen la enfermedad de Alzheimer, y se cree que es cifra aumentará al doble en los próximos 25 años (Fletcher, 1997). Actualmente, en México, 5% de los adultos mayores padecen Alzheimer y se espera que en los próximos 15 a 20 años se incremente este porcentaje, ya que aumentará la población de ancianos (SUN, 2004).

Hasta la fecha, existen pocos fármacos disponibles para el tratamiento de la pérdida de memoria entre los que destacan, el Aricept, que bloquea la liberación de acetilcolina en los estadios iniciales de la enfermedad de Alzheimer; otros candidatos tienen diversos orígenes e incluyen: Deprenyl (antiparkinsoniano), Phenytoin (antiepiléptico) y la Vincamina (vasodilatador) (Fletcher, 1997). También, los inhibidores de la colinesterasa (Tacrina, Rivastigmina, Galantamina, Memantenina, Selegilina) y algunas plantas de uso medicinal como, el *Ginkgo biloba* (China) y *Bacopa monniera* (India), las cuales se usan comúnmente en la medicina tradicional por tener efectos en el aumento de la cognición.

## **Evaluación de la actividad nootrópica de derivados de arilpiperazinas**

Sin embargo, en la mayoría de los casos los efectos de estos fármacos y/o plantas son mínimos (un poco más que la acción de una taza de café cargado) y las bases farmacológicas de sus efectos están poco documentadas; además de que algunos de ellos también tienen indeseables o peligrosos efectos secundarios (Fletcher, 1997).

Un mejor entendimiento de los mecanismos celulares de la formación de memoria y su almacenaje son de importancia predominante para el desarrollo de tratamientos efectivos y para la cura de los defectos en la memoria y enfermedades neurodegenerativas (Mayford y Kandel, 1999; Milner *et al.*, 1968).

Existe una gran evidencia que sugiere que la edad está asociada con una disminución en el aprendizaje y la memoria, lo cual se cree es resultado de cambios en la concentración de neurotransmisores específicos (Hartikainen *et al.*, 1990; Weksler *et al.*, 1990).

Durante los últimos 10 a 15 años, la farmacología ha contribuido al entendimiento de los receptores de 5-HT<sub>3</sub> y su relación con las enfermedades del sistema nervioso. Las investigaciones de los antagonistas de los receptores de 5-HT<sub>3</sub>, como lo son las piperazinas, continúan debido a su uso potencial para el tratamiento de psicosis, ansiedad, migraña, esquizofrenia, dolor, sustancias de abuso y la pérdida de memoria (Morreale *et al.*, 1998).

Evidencias abundantes sostienen la hipótesis que la vía 5-HT, el complejo de recaptura sitio/transportador de 5-HT y los receptores 5-HT, muestran una distribución regional en las áreas del cerebro implicadas en el aprendizaje y memoria. Investigaciones adicionales ayudarán a especificar la relación natural del sistema 5-HT en los procesos cognitivos para identificar tratamientos farmacológicos, su mecanismo y sitios de acción y para determinar bajo que condiciones operan (Meneses, 1999).

La obtención de principios activos que ayuden a minimizar este tipo de patologías neurológicas es necesaria. En este sentido, en el presente trabajo se presenta la síntesis y evaluación del efecto nootrópico de una serie de derivados de piperazinas.

### 2. MARCO TEÓRICO.

#### 2. 1. Síntesis de derivados de Piperazinas.

Entre las clases de compuestos que muestran alta afinidad por las subclases de receptores serotoninérgicos 5-HT<sub>1A</sub>, uno de los más ampliamente estudiados son las arilpiperazinas (Perrone *et al.*, 1994). El descubrimiento de la Quipazina ha generado un gran interés en otras arilpiperazinas como una nueva clase de antagonistas de 5-HT<sub>3</sub> (Morreale *et al.*, 1998). Las fenilpiperazinas son únicas desde el punto de vista, de que sólo se unen con una alta afinidad a los receptores de serotonina (Martín *et al.*, 1998). De hecho, las fenilpiperazinas han demostrado poseer actividad serotoninérgica tanto *in vivo* como *in vitro* (Glennon, 1987; Cohen *et al.*, 1986; Huff *et al.*, 1985; Fuller *et al.*, 1980); por lo que, algunos de sus derivados se han evaluado clínicamente para el tratamiento de la hipertensión (Page *et al.*, 1959) y la ansiedad (Charney *et al.*, 1987).

Las 1-fenilpiperazinas pueden ser sintetizadas por una condensación a partir de arilaminas para dar una reacción de ciclización (Martín *et al.*, 1989). La reacción entre las sales de bis-(2-haloetil)-aminas y aminas aromáticas, fueron empleadas por Prelog y Blazek, para obtener las 1-arilpiperazinas correspondientes (Prelog y Blazek, 1934). Esta reacción, consistía en un reflujo de bis-(cloroetil)-amina con una solución de anilina en metanol.

Otra forma de obtención, consiste en una mezcla de anilina sustituida y piperazina anhidra, en la cual, la mezcla se calentó a 100° por 24 horas, ocurriendo una reacción de sustitución nucleofílica aromática (Martín *et al.*, 1998).

Kuipers y sus colaboradores usaron un método de síntesis, en el que una anilina previamente sintetizada se mezcló con bis (2-cloroetil)-amina-HCl en un solvente apolar (Van Wijngaarden *et al.*, 1988), dando las piperazinas correspondientes en rendimientos razonables (Kuipers *et al.*, 1995).

Las fenilpiperazinas parecen preferir una conformación en la que el par solo de nitrógeno está perpendicular al plano del anillo aromático y puede participar en el sistema pi (Gilli y Bartolasi, 1979; Huff *et al.*, 1985; Dijkstra, 1993). Esta interacción, requiere una orientación relativa coplanar del anillo de piperazina con respecto al anillo de benceno (Kuipers *et al.*, 1995).



## **Evaluación de la actividad nootrópica de derivados de arilpiperazinas**

---

Quizá el grupo farmacofórico más conocido para los receptores 5-HT<sub>3</sub>, es el propuesto por Hibert; el cual, consiste en los siguientes tres componentes: (1) Un anillo aromático, (2) un grupo carbonilo y, (3) un centro básico fuera de plano (Morreale *et al.*, 1998).

En la literatura, dos posibilidades probables de la interacción de la fenilpiperazina con el receptor de 5-HT fueron representadas (Glennon, 1987). En la primera orientación, usada por Hibert y sus colaboradores (1987), para la definición del mapa del receptor de 5-HT<sub>1A</sub>, el anillo de benceno de la fenilpiperazina, coincide con el anillo bencénico de la serotonina (5-HT). En la segunda orientación, el anillo de benceno se acopla en la parte del pirrol aromático de 5-HT (Glennon *et al.*, 1989). La mayoría de las arilpiperazinas contienen una cadena larga sustituida en el nitrógeno básico del anillo de piperazina, el cual es importante para la alta afinidad para los receptores 5-HT<sub>1A</sub> de estos compuestos (Nelson, 1991; Glennon, 1992; Van Steen *et al.*, 1993; Mokrosz *et al.*, 1992).

### **2.2. Definición de Memoria y Aprendizaje.**

La memoria se define como el almacenaje y recuerdo de experiencias previas; o bien, como el mecanismo en donde una experiencia se incorpora dentro del organismo, lo que puede causar un cambio adaptativo en el comportamiento. En organismos inferiores, el mecanismo de almacenaje de la información puede involucrar casi cualquier proceso celular o neuronal que puede ser perturbado por experiencias o acciones en el ambiente. En vertebrados mayores, y especialmente en seres humanos, usualmente pensamos en memorias como aquellas experiencias que están sujetas a un recuerdo consciente (Gordon, 1988).

La memoria es una función crucial y mental que forma parte de nuestra existencia; en adición, al evocar los hechos aprendidos y las ideas de la mente, afecta nuestro comportamiento en una forma inconsciente (Ghoneim, 2004).

La capacidad para almacenar y recordar información (definición de memoria), es un componente necesario para el aprendizaje. El aprendizaje es un cambio adaptativo en el comportamiento debido a una experiencia (Gordon, 1988).

Cuando se habla de aprendizaje, se pone mayor énfasis en la investigación de los problemas de adquisición; al estudiar memoria, se enfoca primordialmente en los problemas de retención. Para que el aprendizaje sea demostrado, una nueva información debe de ser adquirida y retenida hasta la prueba. Similarmente, para que la memoria sea examinada, una información debe ser primero adquirida (Hinrichs, 1995).

## Evaluación de la actividad nootrópica de derivados de arilpiperazinas

### 2.3. Tipos de Memoria.

Existen varios tipos de memoria y varían en complejidad desde los tipos primitivos que fundamentan la habituación y la sensibilización hasta las memorias complejas de los seres humanos (Ganong, 1996). Existen muchas clasificaciones de la memoria, dentro de éstas las más usuales se muestran en el Cuadro 1.

<b>Cuadro 1. CLASIFICACIÓN DE LA MEMORIA</b>		
<b>Tipo</b>	<b>Subtipo</b>	<b>Definición</b>
<b>En atención a su duración:</b>		
	<b>Visual o Icónica.</b>	De escasa duración, menos de medio segundo, puede almacenar información de una fijación ocular.
	<b>Auditiva o Ecoica</b>	Breve, entre uno y dos segundos de duración, puede mantener brevemente los primeros segmentos del estímulo auditivo.
	<b>Memoria inmediata (memoria a corto plazo)</b>	Duración de menos de un minuto, y está limitada a unos pocos objetos, acontecimientos que ocurren en el instante.
	<b>Memoria reciente</b>	Su duración oscila entre unos minutos y varias semanas, abarca el período durante el cual los acontecimientos presentes se consolidan y convierten en memoria remota.
	<b>Memoria remota</b>	Mantiene la información desde semanas hasta toda la vida
<b>En atención a los contenidos o a su utilización:</b>		
	<b>Memoria de referencia</b>	Contiene la información reciente y remota obtenida por experiencias previas.
	<b>Memoria de trabajo</b>	Se aplica a un proceso activo que está siendo actualizado de manera continua por la experiencia de un momento determinado
	<b>Memoria episódica</b>	Contiene la información relativa a sucesos acontecidos en un momento y lugar determinados, hace retener cosas sin que nos demos cuenta.
	<b>Memoria semántica</b>	Contiene información que no varía. Guarda datos concretos, información consciente sobre lo que se desea recordar.
	<b>Memoria declarativa (o explícita)</b>	Recuperación consciente de acontecimientos y hechos ocurridos; el hipocampo es un factor crítico en la formación de estos recuerdos. Dos pruebas que ayudan a estudiarla son: El laberinto de agua de Morris ( <i>Morris water maze</i> ) y el condicionamiento dependiente en un contexto de temor ( <i>context-dependent fear conditioning</i> ).
	<b>Memoria de procedimiento (o implícita)</b>	Aprendizaje y conservación de destrezas y habilidades. Estos procedimientos se automatizan y no precisan de una ejecución consciente.
	<b>Memoria procedural</b>	Permite realizar cosas después de haberlas aprendido, sin tener que mantener constantemente la atención. Dos pruebas que estudian este tipo de memoria son: el gusano de mar <i>Aplysia</i> y la mosca de fruta <i>Drosophila</i> .

Tomado de: Ardila, 1985; Davidof, 1989; Dávila, 2000; Ganong, 1996; Gross, 1998; Habib, 1994.

La mayor parte de los fisiólogos clasifican la memoria de dos a cuatro tipos diferentes, la clasificación más usual es la siguiente: **(a) Memoria sensorial (b) Memoria primaria y (c) Memoria secundaria** (Guyton, 1997).

La memoria se divide también a menudo en la que es "*a corto plazo*" y la que es "*a largo plazo*"; sin embargo, es extremadamente liberal el empleo de estos términos. Los psicólogos usan muchas formas para describir a la memoria resultando en una amplia variedad de terminologías, la cual puede ser muy confusa (Ghoneim, 2004); clasifican a menudo a la memoria a corto plazo como memoria primaria y a la de largo plazo como secundaria; sin embargo, muchos fisiólogos y clínicos incluyen en la memoria a corto plazo las primeras etapas de la memoria secundaria. En el campo de la investigación se utilizan los siguientes términos, referidos a los mecanismos de memoria: **Memoria a corto plazo (MCP) o memoria primaria, y Memoria a largo plazo (MLP) o memoria secundaria** (Guyton, 1997).

De hecho, hay pruebas sólidas de que realmente hay dos almacenes de memoria distintos en el cerebro: una *memoria a largo plazo* (MLP) la cual toma la forma del tipo de cambios sinápticos y una *memoria a corto plazo* (MCP), la cual retiene la información temporalmente para cubrir el periodo –quizá alrededor de unos 20 minutos- durante el cual tiene lugar la consolidación (Carpenter, 1986).

### **2.3.1. Memoria a corto plazo.**

La memoria a corto plazo dura pocos segundos (la cual puede extenderse a minutos con ensayos activos) (Squire y Kandel, 2000). La cantidad de información movilizada tiene un límite que algunos autores sitúan entre 5 y 10 segundos (Habib, 1994); sin embargo, algunos experimentos han demostrado que entre 7 y 9 segundos es el límite de retención de información, y su existencia en el tiempo es limitada, por lo tanto no duradera (Davila, 2000). Los científicos denominan a la memoria a corto plazo como una memoria continua y marcan su duración de 30 segundos (Davidof, 1989; Gross, 1998).

Los traumatismos intensos de cualquier tipo – como un golpe en la cabeza, o el paso de una gran descarga eléctrica a través del cráneo, como en la terapia electroconvulsiva- son suficientes para deteriorar la MCP, y causar un tipo característico de amnesia llamado amnesia retrógrada (Carpenter, 1986).

La memoria a corto plazo se puede interrumpir por anestésicos, mientras que la memoria a largo plazo se bloquea a través de inhibidores de la síntesis de proteínas (Fletcher, 1997).

### **2.3.2. Memoria a largo plazo.**

La memoria a largo plazo es vista como un almacén permanente en el cual la información puede permanecer indeterminadamente o puede estar sujeta a una disminución autónoma (Ghoneim, 2004). La memoria a largo plazo, puede durar semanas, meses o aún una vida entera e involucra una búsqueda dentro del pasado (Squire y Kandel, 2000). El establecimiento de la memoria a largo plazo, depende de un gran número de factores que pueden influenciar tanto los procesos de adquisición y/o su consolidación. Éstos incluyen cambios fisiológicos y endocrinos, los cuales podrían mediar el stress y la atención (Loscertales *et al.*, 1998).

En general, se cree que la MLP tiene una capacidad ilimitada; se visualiza como un depósito de todas las cosas en la memoria que no se utilizan en el momento pero que potencialmente pueden recuperarse (Ardila, 1985; Gross, 1998). Es aquella que se retiene toda la vida, y que para poder perdurar produce cambios estructurales en el cerebro (cambios neuroquímicos); por supuesto, que para alcanzar tal grado de persistencia, a nivel biológico hacen falta aproximadamente 15 horas de procesamiento neuroquímico (Ardila, 1985).

Existen más de dos cursos de memoria, y la distinción entre la memoria a corto plazo y la memoria a largo plazo, no parece abarcar todas las características del proceso de memoria (Baudry, 1998). Hasta el día de hoy, los estudios más recientes de la formación de la memoria y su mantenimiento, se han concentrado en análogos neuronales de memoria a corto plazo (MCP, durando sólo unos pocos minutos) y memoria a largo plazo (MLP) (Lechner *et al.*, 1999; Martín *et al.*, 2000). En el nivel de funcionamiento, se ha puesto un poco menos de atención a la forma de más corta duración de MLP, la cual se ha denominado memoria a plazo intermedio (-MPI-, que dura unas pocas horas) (Rosenzweig *et al.*, 1993).

### **2.4. Mecanismo de la memoria.**

La memoria es uno de los pocos procesos mentales que ha experimentado búsquedas extensivas para su comprensión. La mayoría de los fármacos modulan el acto de memoria a través de receptores específicos y neurotransmisores, y algunos actúan a través de

## Evaluación de la actividad nootrópica de derivados de arilpiperazinas

hormonas y sistemas de neuropéptidos. La activación de receptores celulares, producen cambios en la función celular, lo cual resulta en un cambio en el funcionamiento de la memoria (Ghoneim, 2004).

La memoria no constituye un proceso unitario y global. De primer instancia, involucra distintos pasos; existen al menos tres estados principales: (1) un **estado de adquisición**, en el cual la información es codificada (proceso que convierte el estímulo sensorial a una forma que puede ser puesta dentro de la memoria) en los circuitos centrales que incluyen microcircuitos en regiones específicas como el hipocampo; (2) un **estado de almacenaje**, en el cual la información se retiene en dichos circuitos, presumiblemente dependientes de cambios en la sinapsis, y; (3) un **estado de recuerdo o evocación**, en el cual la información se recuerda al producir una salida perceptual o motora. El estado 2 es usualmente reconocido al consistir en un periodo corto lábil de memoria a corto plazo, el cual entonces pasa a un periodo estable más largo de memoria a largo plazo por un proceso conocido como consolidación; que es el proceso que forma un recuerdo durable del que ha sido adquirido (Gordon, 1988).

Estímulos débiles dan picos de ciertos cambios químicos en la sinapsis, y estos cambios son la base de la memoria a corto plazo. En contraste, estímulos fuertes causan cambios estructurales en ambas células presinápticas y postsinápticas, asociadas con el crecimiento de nuevas conexiones sinápticas o retracciones de las preexistentes, las cuales son las bases de la memoria a largo plazo (Ghoneim, 2004). La memoria a largo plazo, involucra la transcripción de genes, síntesis de proteínas y la formación de nuevas conexiones sinápticas (Bailey y Kandel, 1993; Davis y Squire, 1984). Una amplia evidencia en el gastrópodo marino *Aplysia californica* y en *Drosophila melanogaster*, indican que la familia de CREB (elemento de respuesta cAMP/Ca<sup>2+</sup> de unión a proteína) en los factores de transcripción son importantes para la MLP en estas especies de invertebrados (Dash *et al.*, 1990; Yin *et al.*, 1995; Tully, 1998; Mayford y Kandel, 1999; Silva *et al.*, 1998).

En los laboratorios de Tuly y Kandel, se ha demostrado que cuando los animales normales aprenden algo y consolidan este aprendizaje en la memoria, la sinapsis usada para formar dicha memoria está relacionada y dirigida en un proceso que requiere la activación de genes. La formación de la memoria, requiere una molécula mensajera dentro de la célula: AMP cíclico (cAMP); esta molécula actúa hasta la formación de la proteína que une al ADN de la célula nerviosa, y así activa una gama de genes que construyen la sinapsis para consolidar la formación de la memoria. Dicha proteína es

## **Evaluación de la actividad nootrópica de derivados de arilpiperazinas**

llamada *proteína de unión del elemento de respuesta del AMP cíclico* o CREB (cyclic AMP response element binding protein). Cuando la mayoría de CREB recorre la neurona, la memoria a largo plazo se consolida; al menos, lo anterior se ha observado con moluscos marinos, moscas de frutas y ratones (citado por Stephen, 2003).

Poco se sabe acerca de las bases moleculares de MPI. Primero, el descubrimiento de un componente de memoria de duración intermedia depende de diferentes clases de activación de proteína cinasa que aquéllas requeridas por MLP (Rosenzweig *et al.*, 1993); así, se creía ampliamente que la MPI era indistinguible de MLP. Esta forma de facilitación sináptica requiere la síntesis de proteína, pero a diferencia de analogías neuronales de MLP, no requiere transcripción, sugiriendo que la proteínas necesarias para la formación de ITM son trasladadas de mRNAs preexistentes (Smyth *et al.*, 2002).

Tim Bliss y Terje Lomo en Londres, reportaron algunos estudios en conejos anestesiados intactos, en los cuales registraron los potenciales producidos en la dentadura debidos a un shock de la corteza entortinal; estimularon con una frecuencia alta por varios segundos, y entonces evaluaron con un solo shock en varios intervalos, después de esto, encontraron que la parte del recuerdo debida a la respuesta sináptica de las células granulares crecía a una mayor amplitud que la normal. Este fenómeno, es lo que denominaron potenciación a largo plazo (PLP) (citado por Gordon, 1988). La potenciación a largo plazo (PLP) en el hipocampo, se cree es un componente del aprendizaje y la memoria (Bliss y Collingridge, 1993). En los años siguientes, PLP en el hipocampo, ha generado una cantidad enorme de interés como modelo para los mecanismos involucrados en el aprendizaje y la memoria. A favor del locus presináptico, se ha encontrado que PLP está acompañado por un incremento prolongado en la liberación de glutamato marcado radioactivamente; además, ha sido postulado que en analogía con *Aplysia*, la fosforilación de los canales iónicos podrían estar involucrados, y una gran evidencia ha sido obtenida de fosforilación de un gran número de proteínas, algunas de las cuales se sabe se concentran en las terminales presinápticas (Gordon, 1988).

### **2.5. Sensibilización.**

La sensibilización se puede definir como un aumento de la respuesta reflexiva debida a la introducción de un estímulo fuerte o nocivo al organismo en estudio (Gordon, 1988). Las bases celulares de la sensibilización han sido investigadas en *Aplysia*. El estímulo nocivo puede ser producido al dar un estímulo de shock eléctrico a la piel del animal. El efecto de esta estimulación es para restaurar parcialmente la amplitud original de la respuesta del

## Evaluación de la actividad nootrópica de derivados de arilpiperazinas

reflejo del comportamiento habitual. Una amplia variedad de estudios realizados por James Schwartz y sus colegas (1986), han demostrado que la sensibilización llevada a cabo por este método involucra una serie de pasos a nivel molecular. Estos incluyen: (1) la acción en la vía "nociceptora", al liberar serotonina, y otros transmisores o neuropéptidos, al activar un receptor específico en la membrana de las terminales neuronales sensitivas; (2) La unión del receptor a la adenilato ciclasa, con la producción de cAMP; (3) Activación de cAMP dependiente de proteína-cinasa; (4) Fosforilación de una canal de  $K^+$  (canal S) que reduce las cantidades de  $K^+$  durante el impulso; (5) El subsecuente ensanchamiento del impulso, que permite el incremento del flujo interno de  $Ca^{2+}$ , por lo que se incrementa la liberación del neurotransmisor (Gordon, 1988).

La esencia de este mecanismo es el control de los canales de  $K^+$ , lo cual se vuelve en un efecto en el flujo intracelular de  $Ca^{2+}$  y la liberación del neurotransmisor. El entrenamiento a largo plazo, puede producir una sensibilización de larga duración (Figura 1) (Gordon, 1988).

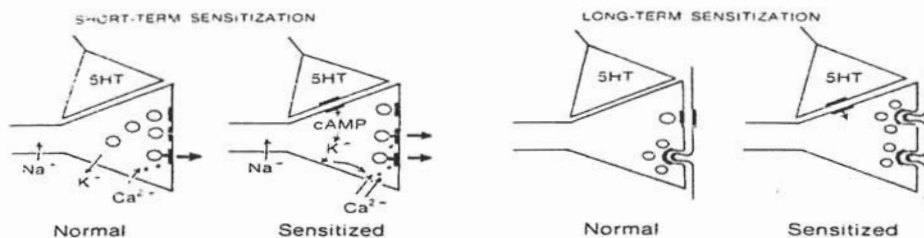


Figura 1. Diferencia entre la sensibilización a corto plazo (izquierda) y a largo plazo (derecha)

### 2.6. Fisiología de la memoria.

El problema más difícil en el estudio de la conciencia, los pensamientos, la memoria y el aprendizaje es que no se conoce los mecanismos neuronales del pensamiento. Se sabe que la destrucción de grandes zonas de la corteza cerebral no impide que se tengan pensamientos, pero sí disminuye el grado de conocimiento del medio (Guyton, 1997). La función de la memoria es un proceso distribuido, y un número de las mismas regiones cerebrales están involucradas en sistemas múltiples (Ghoneim, 2004).

Los experimentos neuropsicológicos llevados a cabo por Lashley (1950), dieron el primer indicio del carácter distribuido de la memoria en la corteza cerebral. Actualmente, existe

## Evaluación de la actividad nootrópica de derivados de arilpiperazinas

una amplia evidencia de que el hipocampo y otras estructuras del lóbulo temporal medio e inferior, juegan un papel muy importante en la formación de memoria a largo plazo, tanto en la formación y expansión de trabajos corticales (Squire y Zola-Morgan, 1988). La formación de memoria está probablemente mediada por las conexiones de las fibras recíprocas entre el hipocampo y las áreas asociadas en la corteza (Amaral, 1987). El mecanismo preciso para la formación de memoria a través de las transacciones entre el hipocampo y la neocorteza no son aún conocidas; pero deberían involucrar, entre otras cosas, ciertos procesos sinápticos locales como la potenciación a largo plazo (PLP) y ciertos receptores glutamérgicos, como los receptores de NMDA. Es posible que en especies pequeñas, como la rata, el hipocampo juegue un papel en la memoria espacial y auditiva, papel que toma la neocorteza en los primates en este tipo de memoria (Fuster, 1998).

Parece claro que el proceso de codificación que convierte a los datos de recuperación inmediata en memoria de largo plazo, en los seres humanos y en otros primates, supone la participación del hipocampo y de las porciones adyacentes endocrinal y parahipocámpica de la corteza temporal media. Las conexiones entre el hipocampo y el diencefalo también participan en la memoria (Figura 2) (Ganong, 1996).

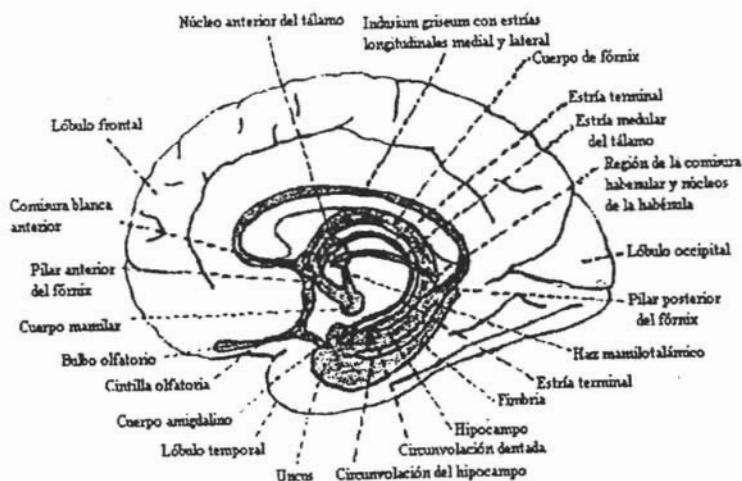


Figura 2. Cara interna del hemisferio cerebral derecho donde se observan las estructuras que forman el Sistema Límbico



## **Evaluación de la actividad nootrópica de derivados de arilpiperazinas**

La estructura cerebral que ha atraído más la atención como un posible responsable de la memoria en vertebrados es el hipocampo. Lo anterior se demostró accidentalmente al remover bilateralmente el hipocampo en las operaciones neuroquirúrgicas, resultaba en casi la pérdida total de la memoria reciente en humanos; lo que se confirmó con el descubrimiento que breves shocks eléctricos aplicados al área del hipocampo exacerbaban las memorias rápidas en pacientes despiertos bajo operaciones neuroquirúrgicas para el alivio de la epilepsia (Gordon, 1988). Las estructuras más estudiadas que se creen están relacionadas con el aprendizaje en los vertebrados son: el cerebelo, hipocampo, amígdala y la corteza cerebral (Gordon, 1988).

### **2.7. Trastornos de la memoria.**

Existen un gran número de enfermedades en las que está involucrado algún trastorno de la memoria; éstos tienen gran importancia clínica, pues a menudo son un signo clínico que indica la existencia de un trastorno cerebral subyacente; de hecho, son uno de los indicadores más sensibles de disfunción o daño cerebral (Lishman, 1992). Para fines prácticos se han diferenciado en tres apartados: **Amnesia, Hipermnesia y Paramnesia.**

**Amnesia:** es la incapacidad de conservar o recuperar información y constituye el trastorno de memoria más importante; puede ser de causa orgánica o afectiva (Bulbena, 1991; Vázquez, 1990; Kaplan y Sadock, 1994; Rojo, 1980).

**Hipermnesia:** es el grado exagerado de retención y recuerdo de la memoria (Bulbena, 1991; Vázquez, 1990).

**Paramnesia:** se refiere a la distorsión o falsificación de la memoria, ya sea por alteración del recuerdo, o bien, del reconocimiento (Bulbena, 1991). En el Cuadro 2, se muestran los principales trastornos asociados con esta clasificación.

De entre las patologías asociadas a trastornos en la memoria, destaca la enfermedad de Alzheimer (EA). Existen alrededor de cuatro millones de americanos con EA, otros 12 millones con una condición denominada empeoramiento moderado cognitivo, el cual regularmente progresa hasta Alzheimer, y aproximadamente 76 millones de americanos mayores de 50 años, muchos de los cuales caen dentro de una nueva definición adoptada por la FDA (Food and Drug Administration, USA), para el empeoramiento de la memoria asociado con la edad (EMAE o AAMI – age- associated memory impairment), que es una forma de olvido moderado progresivo (Stephen, 2003).

La enfermedad de Alzheimer se caracteriza por la pérdida progresiva de la memoria y las funciones cognoscitivas en la edad madura, muerte neuronal selectiva y la formación

## Evaluación de la actividad nootrópica de derivados de arilpiperazinas

**Cuadro 2. Trastornos de la memoria.**

Apartado	Clasificación	Tipo	Definición	Subtipo
Amnesia	Cronológica	Amnesia anterógrada o de fijación	Incapacidad para aprender nueva información. La produce algún daño en el hipocampo.	
		Amnesia retrógrada	Ausencia de memoria para la información o eventos bajo algún daño cerebral, es causada por fármacos. Se produce porque las memorias no migran hacia la neocorteza.	
	Etiológica	Amnesia de causa orgánica (Síndrome amnésico)	Deterioro de la capacidad de aprender nueva información o incapacidad para recordar información previamente aprendida.	Síndrome de Korsakof Blackouts alcohólicos Amnesia postraumática Amnesia global transitoria Terapia electroconvulsiva (TEC) Demencia Delirium Olvidos benignos de la edad
		Amnesia de causa afectiva	Producidas por factores psicológicos emocionales-afectivos.	Amnesia selectiva Amnesia por ansiedad Amnesia disociativa o psicógena
Hiperamnesia		"Idiots Savants" Hiperamnesia ideativa Hiperamnesia afectiva Visiones panorámicas de la existencia Ecmnesia		
Paramnesia		Falso reconocimiento Deja vu/ Jamais vu Agnosias Criptomnesia Alomnesia Confabulación Pseudología fantástica o mitomanía		

Tomado de: Bulbena, 1991; Kaplan y Sadock, 1994; Lishman, 1992; Rojo, 1980; Seva, 1979; Sims, 1991; Vázquez, 1990.

anormal de placas amiloides neuríticas. La pérdida en la memoria es acompañada por la degeneración de las neuronas colinérgicas de la parte cortical basal del cerebro. El sistema neuronal colinérgico, juega un papel muy importante en el aprendizaje y la memoria en humanos y animales (Bartus *et al.*, 1981; Benzi y Morreti, 1998). La EA se caracteriza por la disfunción acetilcolinérgica en la neocorteza e hipocampo, lo cual se relaciona con la disminución severa en el aprendizaje y la memoria en los pacientes con esta enfermedad (Perry *et al.*, 1977; Wilcock *et al.*, 1982).

El deterioro similar en individuos de edad avanzada se denomina demencia senil de tipo Alzheimer y representa 50 a 60% de los casos de demencia senil. Como 10 a 15% de la población por encima de 65 años de edad y casi 50% de la población mayor de 85 años presenta cierto grado de demencia; el trastorno es frecuente y constituye un problema serio (Ganong, 1996).

Existe un considerable interés en la relación de los neurotransmisores centrales con la simpatomatología de la enfermedad de Alzheimer. La identificación de un solo sistema de neurotransmisor de importancia primaria en la enfermedad, podría ser imposible. Los sistemas de catecolaminas, colinérgicos, peptidérgicos y hormonales han sido el foco de mayor atención en los estudios de aprendizaje y memoria (Squire y Davis, 1981).

### **2.8.Tratamientos.**

La evidencia de los estudios realizados en animales y humanos, indica que el aprendizaje y la memoria, pueden ser modificados por fármacos que afectan la función central colinérgica (Bartus *et al.*, 1982; Collerton, 1986; Kopelman y Corn, 1988; Wu *et al.*, 1996). Por ejemplo, los antagonistas muscarínicos como la escopolamina, han demostrado disminuir la memoria; mientras que, los inhibidores de AchE como la fisostigmina, tacrina o velnacrina facilita el proceso cognitivo en animales y seres humanos (Bejar *et al.*, 1999, Braid *et al.*, 1996; Dawson *et al.*, 1991; Rainer, 1997).

Los laboratorios Cortex Pharmaceuticals, ubicados en Irvine, California, han desarrollado una clase de fármacos aumentadores de memoria llamados ampaquinas, los cuales se cree, incrementarán el poder del neurotransmisor glutamato (Stephen, 2003). A continuación, se muestra un cuadro (Cuadro 3) con los fármacos que aumentan la función cognitiva, de los cuales, algunos todavía están bajo investigación, y se enfocan principalmente en el tratamiento de la demencia y otros desórdenes. Algunos de éstos también son utilizados o evaluados para aumentar el desempeño normal, incrementar la

### **Evaluación de la actividad nootrópica de derivados de arilpiperazinas**

falta de sueño en trabajadores de turno o para ayudar a los pilotos bajo condiciones de stress (Stephen, 2003).

<b>Cuadro 3. FÁRMACOS QUE AUMENTAN LA FUNCIÓN COGNITIVA</b>			
<b>Tipo de Fármaco</b>	<b>Compañía</b>	<b>Propósito</b>	<b>Situación</b>
Supresor de CREB	Helicón Therapeutics	Supresión de disturbios en la memoria	Etapa temprana de desarrollo
Realzar CREB	Helicón Therapeutics	Aumento de memoria	Etapa temprana de desarrollo
Realzar CREB (MEM 1414)	Memory Pharmaceuticals y Roche	Aumento de memoria	Fase I (a finales del 2003)
Regulador del flujo de Calcio (MEM 1003)	Memory Pharmaceuticals	Aumento de memoria	Fase I
Ampaquinás	Cortex Pharmaceuticals	Aumento de memoria	Fase II
Fenserina	Axonyx	Tratamiento de Alzheimer de leve a moderado.	Experimentos de Fase II terminados
Modafinil (Provigil)	Cephalon	Tratamiento de narcolepsia	En el mercado
Metilfenidato (Ritalin)	Novartis	Aumento de la atención	En el mercado
Donezepil (Aricept)	Eisai/Pfizer	Tratamiento de Alzheimer de leve a moderado.	En el mercado
Rivastigmina (Exelon)	Novartis	Tratamiento de Alzheimer de leve a moderado.	En el mercado
Galantamina (Reminil)	Janssen	Tratamiento de Alzheimer de leve a moderado.	En el mercado

Tomado de Scientific American, Septiembre 2003.

Un gran número de propuestas han sido investigadas para aumentar las actividades de la vida diaria de los pacientes con EA. Por ejemplo, Ginkgo biloba, tacrina, donezepil (inhibidor de la acetilcolinesteras), nimodipina (bloqueador de los canales de calcio) y el piracetam (agente nootrópico) han sido aprobados para el tratamiento de pacientes con demencias en ciudades europeas (Minueto-Leclercq *et al.*, 2003). Otros investigadores han reportado que la administración de Tacrina mejora el aprendizaje y la memoria en una minoría de pacientes con EA y en ratas adultas en la prueba de evitación pasiva (Freeman y Dawson, 1991; Riekkinen *et al.*, 1991). Además, las investigaciones hechas

## Evaluación de la actividad nootrópica de derivados de arilpiperazinas

por Song y colaboradores (1997), demuestran que el piracetam y particularmente, la tacrina son agentes efectivos en el mejoramiento del aprendizaje y la memoria seguida de trimectomía. Los mecanismos por los cuales el piracetam y la tacrina mejoran el aprendizaje y la memoria podrían involucrar cambios en la función cerebral noradrenérgica (Song *et al.*, 1997).

*Bacopa monniera* y *Ginkgo biloba* son aumentadores cognitivos bien conocidos en la medicina tradicional China e India, respectivamente (Das *et al.*, 2002). *B. monniera* ha sido clasificada dentro de las plantas medicinales que rejuvenecen el intelecto y la memoria. Su declaración como aumentador de la memoria en la medicina tradicional se estableció cuando se reportaron las propiedades de aumentador cognitivo del extracto alcohólico de *B. monniera* en varios modelos experimentales animales de aprendizaje (Das *et al.*, 2002). *Ginkgo biloba* es una de las plantas chinas más comúnmente cultivadas. En experimentos con extracto estandarizado de *G. biloba* se demostró que tiene propiedades neuroprotectoras bajo diversas condiciones como: hipoxia, isquemia, actividades relacionadas con la edad y daños en nervios periféricos (Smith *et al.*, 1996).

Las raíces de la planta de *Angelica gigas*, Nakai, conocida en Korea con el nombre de "Zam Dang Gu", han sido utilizadas en la medicina tradicional Coreana no sólo por el tratamiento de anemia, sino también por sus efectos sedativos o como agente tónico (Han, 1992; Jung *et al.*, 1991). En trabajos realizados por Kang y sus colaboradores (2001) reportaron que un extracto metanólico total de las raíces de esta planta, inhibe significativamente la actividad AchE, dos años después (2003), estos mismo autores publican que el extracto de esta planta disminuye notablemente los efectos amnésicos provocados por la escopolamina, por lo que lo proponen como un alternativa terapéutica en el tratamiento de EA (Kang *et al.*, 2003).

De entre los compuestos sintéticos, se encuentran los resultados reportados por Manetti y sus colegas (2000), los cuáles indican que las 4-sustituidas 1-acilpiperazinas representan una nueva clase de fármacos nootrópicos bastante simples, con un perfil farmacológico muy similar a la del piracetam, demostrando mucha mayor potencia con respecto a éste (Manetti *et al.*, 2000). En los experimentos realizados por Wang y sus colaboradores, (2004), demostraron que el nuevo fármaco anti-demente N-(4-acetil-1-piperazinil)-p-fluorobenzamida monohidratado (FK960) disminuye los déficits de memoria en varios modelos experimentales (Wang *et al.*, 2004). Los experimentos llevados a cabo por Ghelardini y sus colaboradores (2002), indicaron que el compuesto DM235 es un aumentador cognitivo nuevo, química y farmacológicamente parecido a los compuestos

## **Evaluación de la actividad nootrópica de derivados de arilpiperazinas**

del tipo del piracetam, pero demostró una mayor potencia. Estas observaciones, aunadas con la falta de efectos colaterales a una dosis 1,000 veces mayor que la mínima dosis efectiva, sugieren que el DM235 podría ser un compuesto prometedor para el tratamiento de déficits cognitivos en los seres humanos (Ghelardini *et al.*, 2002).

Como se puede observar no existe ningún tipo de fármaco selectivo para tratar algún trastorno de la memoria, de ahí, la importancia de descubrir y/o desarrollar nuevos principios activos, así como, la medición de los efectos terapéuticos y adversos de éstos en la memoria y su modo de acción, como parte de la evaluación de la existencia y nuevo desarrollo de fármacos que tienen como blanco el cerebro (Le Merrer y Nogues, 2000).

### **2.9. Neurotransmisores involucrados en la memoria.**

Las enfermedades neurodegenerativas a menudo afectan el funcionamiento mental, en particular del proceso de memoria. Se han reportado cambios patológicos que ocurren en los sistemas neurotransmisores glutaminérgicos, colinérgicos, noradrenérgicos y serotoninérgicos en los pacientes con AD (Francis *et al.*, 1999). De esta manera, parece que un número de neurotransmisores están de alguna forma involucrados en la formación y recuerdo de trazas de memoria (Myhrer, 2003).

Myhrer (2003) realizó un meta-análisis de los sistemas neurotransmisores involucrados en el aprendizaje y la memoria en la rata, basándose en estudios de cuatro pruebas de comportamiento, sus resultados demostraron que varios sistemas de transmisores están involucrados de diferente manera en el aprendizaje y la memoria. Los neurotransmisores glutamato, GABA, dopamina y acetilcolina tienen más impacto en los procesos cognitivos que los neurotransmisores serotonina y norepinefrina. En general, el glutamato es el transmisor más dominante durante todas las pruebas. Los resultados de este estudio demuestran que los sistemas de transmisores no soportan el aprendizaje y la memoria en una forma prueba-dependiente, pero algunos sistemas son más influenciados que otros independientes de la prueba de funcionamiento (Myhrer, 2003).

#### **2.9.1. Aminoácidos.**

##### **2.9.1.1. GABA**

GABA es el principal neurotransmisor inhibitorio en el cerebro y juega un papel muy importante en el aprendizaje y la memoria. El Hipocampo ha sido estrechamente relacionado en el aprendizaje y la memoria (Fischer *et al.*, 1991), y existe evidencia experimental que la noradrenalina puede aumentar la acción de GABA, así como el

## **Evaluación de la actividad nootrópica de derivados de arilpiperazinas**

aprendizaje en ratas adultas (Bickford, 1993). Se ha reportado que la activación de los receptores GABA<sub>A</sub> y GABA<sub>B</sub> disminuye el funcionamiento de la memoria (Jerusalinsky *et al.*, 1994; Swartzwelder *et al.*, 1987); el aprendizaje y la memoria, pueden ser aminorados por los antagonistas de los receptores GABA<sub>B</sub> (Mondadori *et al.*, 1992).

### **2.9.1.2. Glutamato (NMDA/AMPA)**

La potenciación a largo plazo ha sido propuesta como un candidato principal para el sustrato neurofisiológico del aprendizaje y la memoria (Brown *et al.*, 1988). Los mecanismos de PLP parecen ser dependientes de la actividad de los receptores glutamérgicos (Bekkers y Stevens, 1989). Los receptores de NMDA se requieren para la inducción de PLP, mientras que la expresión de PLP involucra receptores AMPA. De acuerdo con este punto de vista, los antagonistas de los receptores NMDA, disminuyen la adquisición, pero no el recuerdo de la información previamente adquirida en ratas (Morris, 1989). Por el otro lado, los antagonistas de los receptores AMPA, pueden bloquear el recuerdo o la información adquirida (Izquierdo *et al.*, 1993). La PLP puede relacionarse con el incremento de las actividades excitatorias en los sistemas glutamatérgicos y la disminución de la actividad inhibitoria en los sistemas GABAérgicos. Además, PLP puede afectarse por cambios en los sistemas colinérgicos, dopaminérgicos, noradrenérgicos y serotoninérgicos (Centonze *et al.*, 2001; Munro *et al.*, 2001; Ohashi *et al.*, 2002; Yamazaki *et al.*, 2002).

### **2.9.2. Aminas biogénicas.**

También, se ha reportado que las monoaminas forman parte de los mecanismos regulatorios del aprendizaje y la memoria. Más notablemente, la manipulación de la actividad colinérgica influye el funcionamiento cognitivo (Blokland, 1996) y la acetilcolina es particularmente influyente en la interacción con serotonina (Steckler y Sahal, 1995). La Dopamina parece estar involucrada en el aprendizaje espacial, donde, la norepinefrina parece no estarlo (McNamara *et al.*, 1993).

#### **2.9.2.1 Acetilcolina.**

Es bien conocido, que el sistema central acetilcolinérgico, juega un papel importante en el aprendizaje y la memoria (Watts *et al.*, 1981; Bartus *et al.*, 1982; Murray y Fibriger, 1986). Diversos estudios, sugieren que un aumento en la actividad colinérgica mejora la memoria en la prueba de evitación pasiva y una disminución de la actividad colinérgica con baja

## **Evaluación de la actividad nootrópica de derivados de arilpiperazinas**

regulación de los receptores muscarínicos resultada en déficits en la memoria analizada en dicha prueba (Green *et al.*, 1984).

La mayoría de la evidencia acumulada con respecto al sistema colinérgico, sugiere que este sistema participa en diferentes estadios de la formación de la memoria; primero, tiene la función de señalar los nuevos conocimientos que en un segundo estadio, converge con el sistema glutamérgico en la adquisición y estadios asociativos de la memoria. La interacción de los receptores de Ach y glutamato es de gran importancia, considerando que esto podría iniciar una serie de eventos moleculares relacionados con cambios que lleven a la almacenaje de memoria a largo plazo (Miranda *et al.*, 2003).

### **2.9.2.2 Histamina.**

El estudio del sistema histaminérgico ha ganado recientemente una gran importancia, pero se han reportando resultados contradictorios. La inyección intracerebroventricular (i.c.v.) de histamina y su precursor, la histidina, ha resultado en un aumento en la memoria de las ratas (Prast *et al.*, 1999); sin embargo, también se ha reportado que las lesiones en los núcleos tuberomamiliare, la principal fuente de histamina en el sistema nervioso central, provoca una facilitación en el aprendizaje (Aiello *et al.*, 2000). En estudios realizados por Aiello y sus colegas (2000), se concluyo que la habilidad en el aprendizaje y memoria está afectado por moléculas histamínicas; por lo que este sistema juega un importante papel en procesos amnésicos principalmente vía la activación de receptores H<sub>1</sub>, mientras que la implicación eventual de los receptores H<sub>2</sub> debe seguir siendo investigada, principalmente debido a la falta real de agonistas selectivos de H<sub>2</sub>.

Los efectos de la histamina, parecen estar mediados por tres diferentes tipos de receptores, los cuales difieren en farmacología, localización y respuesta intracelular que median (Leurs *et al.*, 1995). Los receptores de histamina incluyen los receptores postsinápticos H<sub>1</sub> y H<sub>2</sub> y los receptores presinápticos H<sub>3</sub>, el cual controla la liberación de histamina neuronal (Prell y Green, 1986; Schwarts *et al.*, 1986); así como de otros neurotransmisores como: noradrenalina, dopamina, serotonina y acetilcolina (Endou *et al.*, 2001; Pollard *et al.*, 1993; Schlicker *et al.*, 1994).

En experimentos realizados por Eidi y colaboradores (2003), sus resultados demuestran que los antagonistas de los receptores de histamina H<sub>1</sub>, y los antagonistas de los receptores de histamina H<sub>2</sub> incrementan la retención de la memoria (Eidi *et al.*, 2003). También demuestran que la escopolamina, un antagonista de los receptores muscarínicos, potencializa la disminución de la retención de memoria inducida por



## Evaluación de la actividad nootrópica de derivados de arilpiperazinas

histamina, mientras que los antagonistas de los receptores de histamina, incrementan el aumento producido por acetilcolina o nicotina, pero atenúa la respuesta inhibitoria inducida por escopolamina. Así, el sistema histaminérgico, podría interactuar con el sistema colinérgico en la retención de memoria. Sus descubrimientos, lo soportan la comprobación de que la estimulación de los receptores muscarínicos por agonistas muscarínicos disminuyen la liberación de histamina en el cerebro de las ratas (Gulat-Murray *et al.*, 1989) y que la histamina regula la actividad de células colinérgicas a través de los receptores de histamina H<sub>1</sub> y H<sub>2</sub> (Khateb *et al.*, 1995).

### 2.9.2.3. Serotonina.

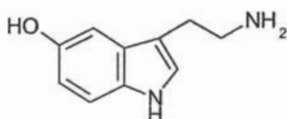


Figura 3. Estructura de la Serotonina (5-hidroxitriptamina)

La serotonina (5-hidroxitriptamina o 5HT; Figura 3) es uno de los temas más atractivos en la medicina química (Debnath *et al.*, 2003). La evidencia encontrada en *Aplysia* y aplicada a seres humanos, indican que el sistema de serotonina media los procesos de aprendizaje y memoria (Barbas *et al.*, 2002). A pesar de que no está muy claro el papel que el sistema 5-HT juega en los procesos cognitivos, el sistema de 5-HT podría representar excelentes oportunidades en la búsqueda de fármacos para el tratamiento de las disfunciones y/o mecanismos del aprendizaje y la memoria (Meneses, 1999). Actualmente, la administración sistémica y central de compuestos de 5-HT ha sido utilizada para el estudio de los mecanismos básicos del aprendizaje y la memoria, bajo condiciones fisiológicas y patofisiológicas (inducidas por la edad y/o por medio de lesiones farmacológicas) (Buhot *et al.*, 2000; Harvey, 1996; Meneses, 1999).

Los receptores que son activados por 5-HT han sido divididos en al menos siete clases: 5-HT<sub>1</sub>, 5-HT<sub>2</sub>, 5-HT<sub>3</sub>, 5-HT<sub>4</sub>, 5-HT<sub>5</sub>, 5-HT<sub>6</sub>, y 5-HT<sub>7</sub> (Zifa y Fillion, 1992; Peroutka, 1993; Plassat *et al.*, 1992; Monsma *et al.*, 1992; Shen *et al.*, 1993) y demuestran una amplia distribución regional en las áreas del cerebro implicadas en el aprendizaje y memoria, como se muestra en el Cuadro 4 (Meneses, 1999; Meneses, 2001).

Con respecto a los mamíferos, la evidencia acumulada demuestra que 5-HT endógena, p. ej. receptores de 5-HT y sitios de recaptura de 5-HT, modula la formación normal de

## **Evaluación de la actividad nootrópica de derivados de arilpiperazinas**

memoria en el aprendizaje asociativo. Es por eso, que parece razonable sugerir que la modulación endógena de 5-HT durante, o al menos, la consolidación del aprendizaje o la formación de la memoria depende del receptor de 5-HT que se esté estimulando o donde están siendo estimulados (Meneses, 2001).

<b>Cuadro 4. Receptores 5-HT o mRNA Localizados en las áreas del cerebro involucrados en el aprendizaje y memoria y los cambios de 5-HT observados durante la enfermedad de Alzheimer (EA) y envejecimiento (E).</b>			
Marcador y Receptor de 5-HT	Área de cerebro	E	EA
Complejo raphe		nd	d
Liberación de 5-HT		d	d
Recaptura/transportación de 5-HT		d	d
5-HT <sub>1A</sub>	Hipocampo, núcleo rafe, amígdala.	d	d
5-HT <sub>1B</sub>	Sustancia nigra, lóbulos temporales.	nd	d
5HT <sub>1D</sub>	Sustancia nigra, corteza frontal, lóbulos temporales.	nd	d
5-HT <sub>2A</sub>	Corteza frontal, neocorteza, núcleo rafe.	nd	d
5-HT <sub>2B</sub>	Corteza, amígdala, hipotálamo.	nd	nd
5-HT <sub>2C</sub>	Sustancia nigra, neocorteza, hipocampo, núcleo rafe, lóbulos temporales.	nd	d
5-HT <sub>3</sub>	Amígdala, corteza entorrinal, hipocampo.	nd	sc
5-HT <sub>3A/3B</sub>	Amígdala, hipocampo.	nd	nd
5-HT <sub>4</sub>	Hipocampo, amígdala.	nd	d
5-HT <sub>5</sub>	Hipocampo.	nd	nd
5-HT <sub>5B</sub>	Hipocampo, núcleo rafe.	nd	nd
5-HT <sub>6</sub>	Corteza prefrontal, hipocampo, amígdala.	nd	nd
5-HT <sub>7A</sub>	Hipocampo, amígdala, corteza, núcleo rafe.	d	nd
5-HT <sub>p</sub>	Hipocampo.	nd	nd

nd=no determinado; d=descenso; sc= sin cambio.

Tomado de Meneses (1999)

## **Evaluación de la actividad nootrópica de derivados de arilpiperazinas**

---

La serotonina y varios agonistas serotoninérgicos, se han encontrado que disminuyen el aprendizaje y la memoria en varios estudios animales diferentes (Ogren, 1982; Robinson, 1983). Además, intervenciones experimentales que disminuyen la actividad de 5-HT (antagonistas, neurotoxinas, lesiones) fueron seguidas de una disminución en el aprendizaje y la memoria en diferentes modelos animales (Altman *et al.*, 1987; Ogren, 1982).

Se ha sugerido que la disminución en la función cognitiva mediada por serotonina, podría deberse a un control inhibitorio serotoninérgico de la liberación de acetilcolina. Específicamente, varios agonistas de los receptores 5-HT [1-(trifluorometilfenil)-piperazina (TFMPP), m-clorofenilpiperazina (m-CPP), 2-metil-5-HT y 5-HT] han demostrado reducir la liberación de acetilcolina en diferentes modelos *in vitro*. Este efecto fue antagonizado por ciertos antagonistas no selectivos y altamente selectivos de 5-HT (Barnes *et al.*, 1989; Bolanos y Fillion, 1989; Harel-Dupas *et al.*, 1991). Se sugiere un papel facilitatorio de los antagonistas de 5-HT<sub>3</sub> en la liberación de acetilcolina (Broocks *et al.*, 1998).

En general, los antagonistas de 5-HT son mayoritariamente no selectivos e interactúan con otros receptores como los receptores de tipo  $\alpha$ 1-adrenérgicos (Debnath *et al.*, 2003).

Existen varios compuestos con amplias diferencias estructurales, que se unen al sitio del receptor de 5-HT<sub>1A</sub>; entre estos compuestos están los derivados de arilpiperazina que representan una de las clases más importantes de ligandos a los receptores de 5-HT<sub>1A</sub>. Por ejemplo, los auto y/o hetero receptores de 5-HT<sub>1A</sub> (Blier *et al.*, 1993; Cassel y Jeltish, 1995; Cole *et al.*, 1994; Fletcher *et al.*, 1996; Francis *et al.*, 1992; Harder *et al.*, 1996; Marrosu *et al.*, 1996; Meneses, 1998; O'Connor *et al.*, 1990; Ramírez y Cenarruzabeitia, 1996; Sirviö *et al.*, 1996; Staubli y Xu, 1995), modulan los sistemas serotoninérgicos, colinérgicos, glutamatérgicos y GABAérgicos en el núcleo rafe, amígdala, septum, hipocampo y neocorteza, áreas cerebrales que están fuertemente implicadas en los procesos cognitivos (Meneses, 1998).

Los fármacos que muestran una afinidad preferencial por los receptores 5-HT<sub>1B/1D</sub>, p. ej., TFMPP, mCPP y 1-NP (1-Naftilpiperazina), producen disminuciones en la adquisición y consolidación del aprendizaje (Hoyer y Martin, 1996; Meneses, 1999). La estimulación presináptica del receptor 5-HT<sub>1B</sub> ó 5-HT<sub>1D</sub>, disminuye la consolidación del aprendizaje, mientras que la estimulación presináptica del receptor 5-HT<sub>1B</sub> parece facilitar este proceso (Hong *et al.*, 1999; Meneses, 1999, Meneses, 1995, Meneses y Hong, 1997). Es importante mencionar que Meneses y Hong, (1997) reportaron que la estimulación

## **Evaluación de la actividad nootrópica de derivados de arilpiperazinas**

presináptica de los receptores 5-HT<sub>1B</sub> disminuye la consolidación del aprendizaje, mientras que la estimulación postsináptica de estos receptores, facilitan este proceso (Meneses, 1999; Meneses y Hong, 1997).

Los receptores de 5-HT<sub>2A</sub> y 5-HT<sub>1C</sub> (ahora 5-HT<sub>2C</sub>), han sido asociados con algunos factores patológicos involucrados en EA (Altman y Normile, 1988; Azmitia y Whitaker, 1997; Gower, 1992; Kennett, 1993; Meneses, 1999). Los experimentos realizados por Meneses (2002), confirman que los receptores de 5-HT<sub>2B/2C</sub>, están involucrados en la consolidación de la memoria en un aprendizaje asociativo, y parecen mediar los efectos supresores en la consolidación del aprendizaje (Meneses, 2002).

El bloqueo de los receptores 5-HT<sub>2A/2C</sub> aumenta el aprendizaje (Altman y Normile, 1988; Harvey, 1996; Kennett, 1993; Meneses, 1998; Stephenson y Andrew, 1994). Así, mientras que la administración de los antagonistas de los receptores 5-HT<sub>2A/2C</sub>, aumentan la discriminación espacial y la consolidación del aprendizaje (Altman y Normile, 1988; Kant *et al.*, 1996), la inyección de agonistas/antagonistas de los receptores 5-HT<sub>2A/2B/2C</sub>, TFMP (N-(3-trifluorometilfenil)piperazina), m-CPP (m-clorofenilpiperazina), 1-NP (1-naftilpiperazina) o mesulergina disminuyen el aprendizaje y memoria (Meneses, 1998) y los agonistas de 5-HT<sub>2A/2B</sub> producen un empeoramiento dependiente de la dosis en la retención en la prueba de evitación pasiva (Meneses, 1999). La administración post-entrenamiento de fármacos con una afinidad moderada a alta a los receptores de 5-HT<sub>2A/2B/2C</sub>, incluyen a: 1-(3-clorofenil)piperazina (mCPP, a dosis de 10mg/kg), mesulergina, 1-(naftil)piperazina (1-NP a dosis de 1mg/Kg), y N-(3-trifluorometilfenil)piperazina (TFMP), que empeoran la consolidación de la memoria, mientras que (±)-2,5-dimetoxi-4-iodoanfetamina (DOI) y Ketanserina la aumentan (Meneses, 1999).

Entre la amplia variedad de receptores de serotonina que han sido identificados, los del subtipo 5-HT<sub>3</sub> permanecen solos. Este receptor está ligado a un canal de iones que median la respuesta rápida de despolarización y aparentemente es selectivo para los cationes monovalentes de Na<sup>+</sup> y K<sup>+</sup> (Jackson y Yakel, 1995). Un grupo que ha sido involucrado por varios años en el desarrollo de ligandos para los receptores de 5-HT<sub>3</sub>, lo constituyen los compuestos basados en la estructura de arilpiperazinas, y Cappelli y sus colaboradores (2002), han propuesto un modelo farmacofórico para la interacción de la arilpiperazina con su receptor (Cappelli *et al.*, 2002), el cual consiste en: (1) un hidrógeno cargado unido a un átomo de nitrógeno y un residuo de aminoácido carboxílico cargado negativamente en el receptor, (2) un enlace de hidrógeno entre un ligando aceptor de

## **Evaluación de la actividad nootrópica de derivados de arilpiperazinas**

átomos y una adecuado donador de protones en el receptor. (3) una interacción específica entre un anillo aromático y el residuo de aminoácido adecuado en el receptor, y (4) una zona en la que un rango corto (p.ej. van der Waals) de interacciones se lleven a cabo (Cappelli *et al.*, 2002). Los antagonistas altamente selectivos de 5-HT<sub>3</sub> aumentan el funcionamiento basal en el aprendizaje y previenen los déficits de aprendizaje producidos por la escopolamina y electrolesiones del núcleo basal en ratas, aun más que los agonistas directos colinérgicos (Barnes *et al.*, 1989).

Aparentemente, los receptores 5-HT<sub>3</sub> se conservan en EA (Costall y Naylor, 1997; Meneses, 1998; Meneses 1999) y estudios preliminares indican que en algunos pacientes con EA los antagonistas de 5-HT<sub>3</sub> revierten los empeoramientos en las mediciones cognitivas inducidas por escopolamina y la edad (Costall y Naylor, 1997; Pitsikas y Algeri, 1992). La activación y bloqueo de los receptores de 5-HT<sub>3</sub> deberían estar involucrados en el empeoramiento del aprendizaje y su aumento, respectivamente (Hong *et al.*, 1999).

Existe evidencia indicando que el número de receptores 5-HT<sub>4</sub> disminuyen en EA. Estudios autoradiográficos indican que los receptores 5-HT<sub>4</sub> están localizados en el hipocampo y amígdala (Eglen *et al.*, 1995; Meneses, 1998, Meneses y Hong, 1997) y estudios electrofisiológicos han demostrado que los receptores 5-HT<sub>4</sub> median una respuesta excitatoria baja en el hipocampo (Aghajanian y Andrade, 1997, Eglen *et al.*, 1995; Barnes y Sharp, 1999). Los agonistas de los receptores 5-HT<sub>4</sub> aumentan el aprendizaje, previenen la amnesia y revierten los déficits en el aprendizaje y memoria seguido de una hipercapnia e hipoxia (Galeotti *et al.*, 1998; Letty *et al.*, 1997; Marchetti-Gauthier *et al.*, 1997).

Los receptores de 5-HT<sub>1E</sub>, 5-HT<sub>1F</sub>, 5-HT<sub>5A/5B</sub>, 5-HT<sub>6</sub>, 5-HT<sub>7A</sub> y 5-HT<sub>8</sub> están localizados en las estructuras cerebrales involucradas en los procesos cognitivos (Meneses, 1999).

El agotamiento serotoninérgico inducido por p-clorofenilalanina (pCPA) o 5,7-dihidroxitriptamina (5,7-DHT) ha producido resultados inconsistentes en las pruebas de aprendizaje y memoria (Altman *et al.*, 1987; Gower, 1992; Meneses, 1998). Estas inconsistencias, deben ser atribuidas a las diferencias en edad, pruebas de comportamiento, dosis de fármacos y los tiempos farmacológicos utilizados en cada estudio (Meneses, 1998, Meneses y Hong, 1997).

El complejo de recaptura sitio/transportador de 5-HT (Figura 4) es responsable de la liberación y recaptura de 5-HT (Meltzer *et al.*, 1998). La inhibición o facilitación de la recaptura de 5-HT podría esperarse que aumente la entrada de 5-HT a las neuronas en las áreas del cerebro involucradas en los procesos cognitivos (Jacobs y Azmitia, 1992) y

## Evaluación de la actividad nootrópica de derivados de arilpiperazinas

esta afirmación se soporta por el descubrimiento que los receptores postsinápticos 5-HT median un efecto facilitador en la consolidación del aprendizaje inducido por los inhibidores de la recaptura de 5-HT (SSRIs) (Altman y Normile, 1988; Gower, 1992; Kennett, 1993; Meneses, 1998, Meneses, 1995). Aparentemente algunos SSRIs aumentan el proceso de información per se en pacientes con EA (Hasbroucq *et al.*, 1997). El papel del sistema de 5-HT en el aprendizaje y la memoria necesita aún ser establecido y, la evidencia disponible indica fuertemente que los receptores presinápticos 5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>1B</sub>, 5-HT<sub>2A/2C</sub> y 5-HT<sub>3</sub>, los receptores postsinápticos 5-HT<sub>2B/2C</sub> y 5-HT<sub>4</sub> y los sitios de recaptura/transportación de 5-HT están involucrados en estos procesos. El descubrimiento de que un incremento en los niveles de 5-HT provoca la activación múltiple de los receptores postsinápticos de 5-HT, como ocurre con los facilitadores e inhibidores de la recaptura de 5-HT, aumenta el aprendizaje, sugiere que el papel de 5-HT en los procesos cognitivos es más complejo que un desequilibrio. Los descubrimientos de que los antagonistas de los receptores 5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>2A</sub>, 5-HT<sub>2B/2C</sub> y 5-HT<sub>4</sub> no alteran el aprendizaje y la memoria podría implicar una reformulación de la noción que la activación del sistema 5-HT empeora el aprendizaje y la memoria, mientras que una reducción en la función serotoninérgica debería aumentar este proceso. La evidencia disponible sugiere fuertemente, que el papel del sistema 5-HT deberían ser importante en la función normal, tratamiento y/o patogénesis de los desórdenes cognitivos (Meneses, 1999).

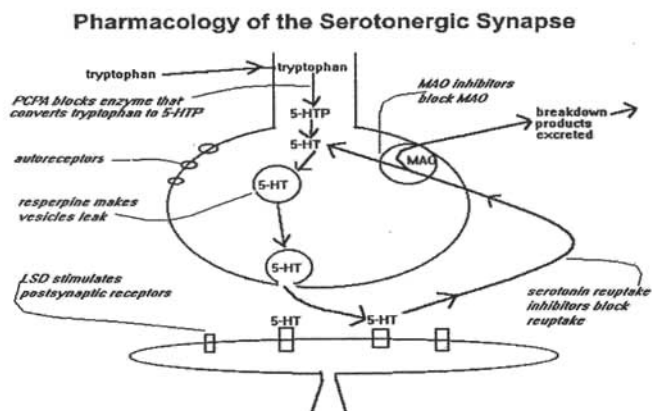


Figura 4. Sinapsis serotoninérgica.

### **2.10. Pruebas para el estudio de la Memoria.**

La mayoría de los experimentos de memoria consisten en tres fases: (1) Un estudio de la fase de codificación en la cual el material es presentado; (2) Un Intervalo de retención y (3) Una prueba o fase de evocación (Ghoneim, 2004). De los modelos de memoria más utilizados los que destacan son:

#### **2.10.1. Evitación pasiva (*passive avoidance*)**

Una de las modificaciones más comunes de la experiencia en el comportamiento es la inhibición de actividades innatas o hábitos aprendidos, los cuales permiten observar consecuencias adversas. El término "*passive avoidance*" es usualmente utilizado para describir aquellos experimentos en los cuales los animales aprenden a evitar algún evento nocivo al suprimir un comportamiento en particular. Las características básicas de los cuatro tipos de reacciones en la prueba de evitación pasiva se describen en el Cuadro 5 (Buresova y Bures, 1983).

##### **2.10.1.1. Paso a lo largo (*Step-through*)**

Ratones y ratas evitan la luz intensa y prefieren una iluminación tenue, cuando son colocados dentro de un espacio fuertemente iluminado conectado a un recinto oscuro, por lo que tienden a entrar rápidamente al compartimiento oscuro y permanecer ahí. El tiempo de escape de animal para pasar dentro del compartimiento oscuro puede ser medido exactamente. Tan pronto como la parte oscura del aparato es alcanzada por las cuatro patas, un fuerte shock eléctrico es aplicado y el animal se regresa a su caja. La retención se evalúa al colocar al animal en la parte iluminada del aparato y medir de nuevo el paso a lo largo del aparato, cuando se coloca nuevamente dentro del compartimiento iluminado a las 24 o 48 horas después, la rata evitará ir dentro del compartimiento oscuro a pesar de su preferencial natural por la oscuridad. La técnica estándar para ratones fue desarrollada por Jarvik y Kopp (1967) y fue modificada para ratas por King y Glasser (1970) El experimento usual consiste en tres fases: **1. Familiarización; 2. Aprendizaje. y 3. Prueba de retención.**

**Interpretación.** En la tarea de pasar a largo del aparato, al animal se les permite entrar al compartimiento oscuro no sólo por el manejo explorador, sino también por una fofobia innata. La presencia de un gradiente abrupto de luz-oscuridad hace posible comprobar de una manera específica la experiencia adquirida. Los animales entrenados permanecen en

## **Evaluación de la actividad nootrópica de derivados de arilpiperazinas**

el compartimiento de inicio debido a que la preferencia usual por la oscuridad está revertida (Buresova y Bures, 1983).

Los fármacos que inducen amnesia (benzodicepinas, anticolinérgicos, antagonistas de NMDA), administrados antes de la primera exposición, atenuarán la memoria de los animales del shock, como se demuestra al disminuir el tiempo de latencia para entrar al compartimiento oscuro en el día de prueba (Porsolt *et al.*, 2002).

**Cuadro 5. Estudio de los comportamientos observados en el Aparato de Evitación Pasiva**

<b>Prueba</b>	<b>Estímulo provocado</b>	<b>Comportamiento emitido</b>	<b>Variable medida</b>	<b>Estímulo incondicionado</b>	<b>Prueba de retención</b>
Paso –abajo (rata)	Posición en una plataforma elevada pequeña en el centro de un campo abierto.	Descenso a través del piso de rejilla.	Tiempo de descenso.	Shocks a las patas aplicados inmediatamente después del descenso.	Tiempo de descenso bajo las condiciones iniciales.
Paso- a lo largo (rata)	Posición al final iluminado de una pendiente empinada e iluminada.	La entrada al compartimiento oscuro.	Tiempo de entrada.	Shocks a las patas aplicados inmediatamente después de la entrada.	Tiempo de paso a lo largo bajo las condiciones iniciales.
Dos compartimentos (rata)	Pendientes de espacio e iluminadas (largas, caja bien iluminada conectada a una cámara pequeña oscura).	Exploración del aparato por 3 minutos.	Porcentaje de tiempo pasado en el compartimiento pequeño. Tiempo de la primera entrada, número de cruces entre compartimentos.	Un minuto de shocks a los pies interrumpiéndose sin escape en el compartimiento pequeño.	Exploración del aparato bajo las condiciones iniciales.
Supresión de picotazos (pollos adultos)	Presentación de un pequeño e iluminado señuelo (1 cm) en frente de los picos.	Picotazo al señuelo.	Porcentaje de pollos que picotean durante 10 segundos de exposición, latencia del primer picotazo.	Gusto adverso de la metiltranilato con que fue recubierto el señuelo.	Porcentaje de pollos que picotean el señuelo seco bajo condiciones iniciales.

Tomado de Buresova, 1983.

La prueba de evitación pasiva es un proceso muy simple y rápido, debido a que involucra el aprendizaje obtenido en un solo entrenamiento. Constituye por lo tanto, un apropiado



## **Evaluación de la actividad nootrópica de derivados de arilpiperazinas**

primer escaneo para discernir un potencial de actividad de empeoramiento en la memoria (Porsolt *et al.*, 2002). El neurotransmisor más influyente en esta prueba es la dopamina de acuerdo con los resultados de Myhrer (2003), seguido del glutamato. Los fármacos con efectos en actividades GABAérgicas o colinérgicas parecen tener un impacto más débil. La mitad de los agentes evaluados en la neurotransmisión por serotonina fueron efectivos; se ha sugerido que la facilitación de la neurotransmisión serotoninérgica disminuye el miedo (Hashimoto *et al.*, 1999), mientras que los agentes noradrenérgicos tienen un rango más débil de influencia en el comportamiento de esta prueba (Myhrer, 2003).

### **2.10.2. Laberinto de Morris (*Morris maze*).**

Otro procedimiento muy simple, el cual permite una mayor grado de interpretación, es la prueba del Laberinto de agua de Morris (*Morris water maze*) (Morris, 1983). En esta prueba una rata o ratón se coloca dentro de un tanque circular, que contiene agua opaca, y tiene que encontrar una plataforma de escape en un lugar arreglado justo debajo de la superficie del agua y por lo tanto, invisible al animal. Después de nadar alrededor por un cierto tiempo (usualmente limitado en 2 minutos) el animal eventualmente, encontrará la plataforma escondida y subirá a ella para escapar del agua. Cuando se coloca de nuevo en el agua en las ocasiones subsecuentes, el animal generalmente, encontrará la plataforma cada vez más rápido, lo cual indicará que ha aprendido la posición de la plataforma (Porsolt *et al.*, 2002).

El aprendizaje en la prueba de Morris, claramente involucra la navegación espacial y la capacidad del animal para atender a señales extra-laberintos. Además, este procedimiento puede estar modulado para examinar los efectos de los fármacos en la memoria a corto y largo plazo (Porsolt *et al.*, 2002). Todos los sistemas de transmisores analizados en el meta-análisis de Myhrer, parecen estar involucrados en el aprendizaje y memoria del laberinto de agua, siendo los más críticos el glutamato, GABA o dopamina (Myhrer, 2003).

### **2.10.3. Laberinto Radial (*Radial maze*).**

Otra prueba en la cual se puede diferenciar la memoria a corto plazo de la memoria a largo plazo es la prueba del Laberinto radial (Olton, 1983). Este aparato consiste en una plataforma central con brazos radiales simulando los rayos de una rueda. Una rata o un ratón hambriento se colocan en el centro del laberinto y puede encontrar alimento al final de cada brazo. Un comportamiento ideal durante el trabajo de entrenamiento, podría ser

## **Evaluación de la actividad nootrópica de derivados de arilpiperazinas**

---

que el animal visitará cada brazo una sola vez para coleccionar la comida, por lo tanto, esta prueba requiere que, durante un entrenamiento, el animal recuerde los brazos que ya ha visitado (MCP o de "trabajo"). La memoria a largo plazo puede también ser investigada al disponer que sólo algunos de los brazos tengan el señuelo, pero siempre los mismos, en entrenamientos repetidos. En este caso, el animal, en adición siempre escogerá un brazo nuevo (memoria de "trabajo"), deberá visitar solamente los brazos previamente asociados con la comida (MLP o de "referencia") (Porsolt *et al.*, 2002).

Esta prueba mide los efectos en la interferencia neuroquímica en la memoria de trabajo, memoria de referencia o ambas. El grado de interés de los neurotransmisores están en orden decreciente: glutamato, dopamina, serotonina, norepinefrina y GABA (Myhrer, 2003).

### **2.10.4. Tareas de comportamiento operante (*Operant behaviour tasks*).**

Comportamiento operante, se refiere en particular al comportamiento aprendido, donde un animal obtiene como premio comida o evita un dolor al presionar una llave o una palanca en una caja entrenadora. Esta técnica permite estudiar un rango amplio de efectos psicofarmacológicos (por ejemplo, antipsicóticos, ansiolíticos, antidepresivos, analgésicos) de una forma cuantificable, cuando se utiliza un ambiente estandarizado con un alto grado de automatización. La técnica, también permite, por sí misma, el estudio de funciones cognitivas (Porsolt *et al.*, 2002).

Los modelos de fármacos tienen dos debilidades principales: (1) contaminación de los efectos en la memoria de los fármacos con sus efectos sedantes, lo cual es un factor importante porque los pacientes con amnesias orgánicas, usualmente no presentan sedación o somnolencia; y (2) Limitaciones en el perfil del déficit de memoria producido por los fármacos comparado con el espectro de disfunción más amplio causado por las enfermedades (Ghoneim, 2004).

### **2.11. Agentes nootrópicos.**

Los compuestos nootrópicos son un grupo de derivados pirrolidonas farmacológicamente activos, que ocupan una posición especial en la farmacología del sistema nervioso central (SNC) (Ghelardini *et al.*, 2002); son agentes que mejoran la memoria al aumentar la concentración, retención de memoria y la habilidad para resolver problemas (Fletcher, 1997); estos compuestos, supuestamente aumentan el funcionamiento cognitivo sin o con poca estimulación central. Su mecanismo de acción incluye la interferencia con el

---

## **Evaluación de la actividad nootrópica de derivados de arilpiperazinas**

---

metabolismo en el cerebro al incrementar el metabolismo de glucosa o la activación de nucleótido, metabolismo de fosfolípidos y/o proteínas. Los fármacos en este grupo son: *piritinol*, *piracetam* y *meclofenoxato* (Mutschler, 1995).

Los fármacos nootrópicos, también facilitan la transferencia de información interhemisférica y transcalosal (Okumaya y Aihara, 1988) y aumentan la potenciación a largo plazo (PLP) en el hipocampo (Sato *et al.*, 1986; Pugliese *et al.*, 1989). Los miembros de esta clase muestran muy baja toxicidad, no tienen efectos sedantes o estimulantes y no presentan los efectos colaterales de los psicoestimulantes (Heise, 1987). Este perfil farmacológico favorable ha estimulado la investigación de la actividad potencial antiamnésica de los nootrópicos en las condiciones neurodegenerativas humanas (Ghelardini *et al.*, 2002).

Una falta de afinidad por el receptor, también es característica de los compuestos nootrópicos típicos, ya que no parecen actuar en ningún sistema de receptores bien caracterizado (Goulliaev y Sening, 1994).

Los nootrópicos "genuinos" incluyen los derivados de pirrolidona como el Piracetam y el Oxiracetam, los cuales parece que actúan al aumentar el riego sanguíneo en el cerebro (Fletcher, 1997). Los derivados pirrolidónicos no sólo revierten la amnesia inducida por decaimiento del sistema colinérgico en la prueba de evitación pasiva (Verloes *et al.*, 1988), pero los compuestos nootrópicos, como el nefiracetam y oxiracetam, también contrarrestan los déficits cognitivos en la prueba de laberinto de agua de Morria (Pitsikas y Algeri, 1992; Fordyce *et al.*, 1995; DeFord *et al.*, 2001).

Algunos derivados pirrolidónicos, como el piracetam, aniracetam, y oxiracetam, disminuyen la condición de pacientes mayores que sufren de deterioración mental de leve a moderada (Chouinard *et al.*, 1983; Maina *et al.*, 1989; Nicholson, 1990; Vernon y Sorkin 1991; Lee y Benfield, 1994), o de pacientes geriátricos con insuficiencia cerebrovascular (Foltyn *et al.*, 1983) en EA (Senin *et al.*, 1991; Croisile *et al.*, 1993; Parnetti *et al.*, 1997) y son útiles en el tratamiento de déficits cognitivos en el parkinsonismo temprano (Oepen *et al.*, 1985).

Estudios clínicos de los agentes nootrópicos han demostrado que:

1. Tratamientos largos y con dosis altas de Piracetam, podrían disminuir el avance de síntomas clínicos severos de EA.
2. Los agentes nootrópicos tienen una eficacia comparable a los inhibidores de acetilcolinesterasa.

## **Evaluación de la actividad nootrópica de derivados de arilpiperazinas**

---

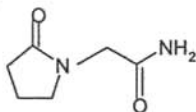
3. La recaída cognitiva después de discontinuar con la terapia farmacológica es menos pronunciada con los agentes nootrópicos que con los inhibidores de acetilcolinesterasa.

Los estudios llevados a cabo por Mondadori y sus colegas, en ratones han establecido una propiedad en común entre acetaminas y algunos nootrópicos, que es la dependencia de su efecto cognitivo con los niveles endógenos de corticosteroides. Se ha visto, que niveles elevados de corticosteroides bloquean el efecto de aumento de memoria de los nootrópicos (Mondadori *et al.*, 1992).

### **2.11.1. Piracetam.**

La primera pirrolidona en llamar la atención de los clínicos fue el Piracetam (Figura 5). Este compuesto fue desarrollado a finales de 1960 después de la búsqueda pionera de Giurgea (1973) que también adoptó el término de "nootrópico" (Ghelardini *et al.*, 2002).

El piracetam (2-oxo-1-pirrolidoneacetamida, 2-pirolidoneacetamida, 2-pirrolidinoneacetamida, 2-cetopirrolidina-1-ilacetamida, 1-acetamido-2-pirrolidinona) es similar en su estructura molecular con el aminoácido piroglutamato; los dos tienen la misma estructura base química, el 2-oxo-pirrolidina, pero difieren en una cadena lateral; el piroglutamato tiene un ácido carboxílico en su cadena lateral, mientras que el piracetam contiene una acetamida (Ghoneim, 2004).



**Figura 5. Estructura del Piracetam**

Un gran número de fármacos han sido relacionados con el piracetam, y éstos incluyen: oxiracetam, pramiracetam, etiracetam, nefiracetam, aniracetam y roziracetam, los cuales tienen análogos estructurales que se comportan de manera similar (Ghoneim, 2004).

Los reportes del Piracetam, citan su vida media en plasma de 1.15 horas (Lapka *et al.* 1990) y la ausencia de cantidades detectables de éste en el organismo después de 30 horas de su administración (Gouliayev y Senning, 1994); su farmacocinética, mostró un pico de concentración en el cerebro de 3 – 4 horas después de su administración (Tacconi

## **Evaluación de la actividad nootrópica de derivados de arilpiperazinas**

y Wurtman, 1986; Lapka *et al.*, 1990). Se ha reportado un tiempo de vida media de 7.7 para el piracetam en el SNC en mamíferos (Gouliarov y Senning, 1994).

Otro típico efecto observado por los nootrópicos del tipo de Piracetam y de otros tipos es el retraso en sus efectos de aumento de la memoria, los cuales no son evidentes hasta las 16-24 horas después de la prueba (Mondadori, 1994).

El tratamiento crónico con piracetam ha demostrado mejorar significativamente el aprendizaje y la memoria en las pruebas de evitación pasiva, condicionamiento pasivo (*conditioned avoidance*), laberinto de agua y laberinto-T (Vernon y Sorkin, 1991). El piracetam es ampliamente utilizado como fármaco de referencia en las pruebas de comportamiento cognitivo; la comparación entre los tiempos de latencia de los animales tratados con solución salina con aquellos ratones que reciben el fármaco amnésico y el compuesto a probar da una medida de actividad cognitiva de los compuestos evaluados (Manetti *et al.*, 2000).

Existe evidencia inherente de que el Piracetam antagoniza potencialmente varias formas de experimentación que inducen pérdida en la memoria. Igualmente, aún en animales normales se ha encontrado que el Piracetam también aumenta la retención de memoria (Christoffersen *et al.*, 1998). Las investigaciones llevadas a cabo por Mondadori y Petschke (1987) demuestran que la administración aguda de piracetam a ratones machos antes del entrenamiento en la prueba de evitación pasiva provocó un incremento significativo en el tiempo de latencia durante la etapa de retención a las 24 horas después (Christoffersen *et al.*, 1998); por otro lado, las investigaciones de los efectos del piracetam después de una administración crónica en animales normales, ha demostrado un aumento en la memoria después de una administración diaria durante una semana durante 20 meses en ratas adultas (Bartus *et al.*, 1981), o durante dos semanas en ratas jóvenes (2-3 meses) (Nalini *et al.*, 1992) en dicha prueba.

Los posibles efectos de los nootrópicos del tipo de Piracetam, fueron evaluados en modelos de memoria en pollos por Loscertales y sus colegas (1998), los cuales demostraron que este fármaco exagera la acción de facilitar la memoria en el modelo de evitación pasiva. Sus investigaciones, demostraron que la inyección post-entrenamiento pero no pre-entrenamiento, facilitan de una manera dosis dependiente, la memoria después de 24 horas del entrenamiento. El piracetam, también incrementó los niveles plasmáticos de corticosteroides, y aumentó el efecto de retención, dicho efecto en la retención fue prevenido por la anterior administración intracerebral de antagonistas de receptores de corticosteroides (p.ej. RU28318 y RU38486), indicando que la acción

## **Evaluación de la actividad nootrópica de derivados de arilpiperazinas**

---

facilitadora en la memoria del piracetam requiere la acción central de corticosteroides en sitios de acción específicos (Loscertales *et al.*, 1998). La falta del efecto facilitador con inyecciones pre-entrenamiento del piracetam contrasta con reportes previos, que demuestran el aumento de memoria a largo plazo en roedores tratados con este nootrópico antes del entrenamiento (Mondadori y Petschke, 1987).

De cualquier forma, un patrón similar de respuesta dependiente de la dosis, fue descrito en un estudio de los efectos revertidos del Piracetam en amnesia inducida por escopolamina en ratas, en dicho estudio, dosis más altas del nootrópico (300 mg/Kg) que la dosis efectiva (100 mg/Kg), fallaron al exhibir propiedades antiamnésicas (Piercey *et al.*, 1987). De hecho, se debe tener mucha precaución al generalizar los efectos cognitivos de los nootrópicos, ya que como algunos estudios han demostrado varios ejemplos de sustancias que pueden exhibir tanto efectos positivos como negativos, dependiendo del modelo de aprendizaje utilizado (Mondadori y Weiskrantz, 1993). La dosis de 30mg/Kg (i.p.) de Piracetam, administrado 20 minutos antes de sesión se entrenamiento, fue suficiente para prevenir completamente el descenso de la memoria inducido por la escopolamina en la prueba de paso a lo largo (*step through*) (Aiello *et al.*, 2000).

A pesar de que el mecanismo de acción de los compuestos nootrópicos del tipo del piracetam, no está aún identificado (Mondadori, 1994; Muller *et al.*, 1999), éstos actúan al incrementar la sensibilidad neuronal hacia la estimulación (Manetti *et al.*, 2000). El mecanismo de acción del piracetam se cree que involucra cambios en los sistemas colinérgicos, dopaminérgicos, noradrenérgicos y serotoninérgicos (Ennaceur y Delacour, 1987; Felinska y Bien, 1991; Rago *et al.*, 1981). Además, la administración crónica de piracetam también demostró una reducción significativa en la concentración de noradrenalina en ratas tratadas con trimectomía (Song *et al.*, 1997).

La literatura citada anteriormente, se ha concentrado en paradigmas de memoria a largo plazo. Los efectos del piracetam en memoria a corto plazo han sido fuertemente descuidados, sólomente, una investigación llevada a cabo por Means y colaboradores (1991), demostraron una mejora en la memoria en ratas en prueba después de una administración aguda de Piracetam (Christoffersen *et al.*, 1998). Los resultados reportados por estos investigadores, describen que el piracetam, específicamente afecta los parámetros directamente asociados con el mecanismo en la memoria, mientras ningún efecto secundario fue observado (Christoffersen *et al.*, 1998).

Un estudio extenso de los modos de acción de los derivados pirrolidónicos ha revelado varios efectos farmacológicos, con diferencias sorprendentes entre los fármacos, lo que

---

sugiere que un solo modo de acción predominante no participa en toda la clase amplia de fármacos. La mayoría, de cualquier forma, influye en la función cognitiva. En particular, el piracetam parece alterar la función colinérgica presináptica, posiblemente al aumentar la alta afinidad neuronal de la recaptura de colina (Pedata *et al.*, 1984), pero estos datos son controversiales (Franklin *et al.*, 1986). Plich y Müller (1988), demostraron que el piracetam eleva la densidad de los receptores muscarínicos en la corteza frontal de ratones adultos pero no en los jóvenes. Se ha demostrado que el piracetam incrementa la liberación de acetilcolina (Hitzenberger *et al.*, 1998).

Se sabe que el piracetam aumenta la glicólisis oxidativa, incrementa la liberación de acetilcolina, la síntesis de citocromo *h5* (Hitzenberger *et al.*, 1998), disminuye la deformación de eritrocitos *in vitro* (Gini y Sonet, 1987) y presenta efectos benéficos en la enfermedad de Alzheimer, aunque las bases moleculares de éstos últimos se desconocen.

Una de las señales neuropatológicas más característica de la EA es la formación de placas neuríticas amiloides formadas por proteínas A $\beta$  (fragmento proteolítico de 40/42 residuos de la proteína precursora de amiloides), lo cual altera las estructuras intramembranas, incrementa la permeabilidad de las membranas e induce al estrés oxidativo (Selkoe, 1997; Selkoe 2001). Las investigaciones llevadas a cabo por Mingeot-Leclercq y colaboradores (2003), demuestran que el Piracetam disminuye significativamente el efecto desestabilizador de las placas neuríticas; lo que podría explicar los efectos benéficos del Piracetam en la EA (Mingeot-Leclercq *et al.*, 2003).

A pesar de que ha habido reportes indicando que el Piracetam y sus análogos podrían afectar el mecanismo de algunos neurotransmisores, incluyendo la captura de alta afinidad de acetilcolina (Shih y Pugsley, 1985), la densidad de receptores muscarínicos (Plich y Müller, 1988), y el glutamato y aminas biogénicas (Petkov *et al.*, 1984); el mecanismo de acción por el cual estos agentes exacerbaban las propiedades de aumento de la cognición es aún muy controversial (Loscertales *et al.*, 1998).

### **2.12. Escopolamina.**

La escopolamina (Figura 6), ó [7(S)-(1- $\alpha$ ,2 $\beta$ ,4 $\beta$ , 5 $\alpha$ ,7 $\beta$ )]-  $\alpha$ -(hidroximetil) ácido bencenoacético 9-metil-3-oxa-9-azatriciclo[3.3.1.0]non-7-il éster; 6 $\beta$ ,7 $\beta$ -epoxi-1 $\alpha$ H,5 $\alpha$ H-tropan-3 $\alpha$ -ol (-)tropato; 6 $\beta$ ,7 $\beta$ -epoxi-3 $\alpha$ -tropanil S(-)tropato; 6,7-epoxitropina tropato, es un agente anticolinérgico y se utiliza en enfermedades emocionales. En veterinaria, se ha

## Evaluación de la actividad nootrópica de derivados de arilpiperazinas

utilizado como sedante, preanestésico y para el control de enfermedades emocionales (Merck index, 1996). La administración de escopolamina, un antagonista no selectivo del receptor muscarínico Ach, disminuye el aprendizaje y memoria en seres humanos (Frumier *et al.*, 1976) y animales (Levin y Bowman, 1986).

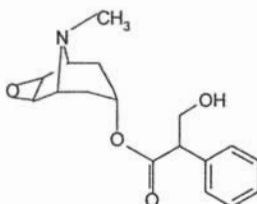


Figura 6. Estructura de la Escopolamina

La escopolamina, empeora el aprendizaje y la memoria en roedores y seres humanos, especialmente, en el proceso de adquisición del aprendizaje y en la memoria a corto plazo (Beatty *et al.*, 1986; Collerton, 1986; Kopelman y Corn, 1988). Es por esto, que la escopolamina ha sido usada como un modelo en la búsqueda de fármacos anti-amnésicos (Kang *et al.*, 2003).

La escopolamina, interfiere con la función cognitiva y la memoria en humanos y animales experimentales al bloquear los receptores muscarínicos (Beatty *et al.*, 1986; Collerton, 1986; Kopelman y Corn, 1988), también actúa en los sitios de control autónomo y motor centrales y periféricos. Además, también afecta el comportamiento en las pruebas que típicamente se usan para analizar memoria (Kang *et al.*, 2003).

Entre los efectos terapéuticos principales de la escopolamina intervienen actividades, **antimuscarínica** (inhibe las acciones muscarínicas de la acetilcolina sobre los efectos autónomos, produciendo disminución de secreciones y motilidad); **antiemética** (puede afectar las vías nerviosas de ingreso vestibular al SNC que se originan en el laberinto del oído, y así inhiben las náuseas y los vómitos en pacientes con mareo por movimiento); **antiparkinsoniana** (bloquea los receptores colinérgicos centrales, ayudando a equilibrar la actividad colinérgica en los ganglios basales; puede bloquear los efectos de la dopamina bloqueando la recaptura y el almacenamiento de dopamina en los sitios receptores centrales y **midriática** (bloquea por competencia a la acetilcolina en los sitios neuroefectores colinérgicos, antagonizando los efectos de la acetilcolina sobre el músculo del esfínter y el cuerpo ciliar y así produce midriasis y cicloplejia)(Mc Vann, 1995).



## **Evaluación de la actividad nootrópica de derivados de arilpiperazinas**

La escopolamina, se absorbe bien desde vías GI, sus efectos se presentan de 15 a 30 minutos después de administración i.m., s.c. o bucal. Se distribuye ampliamente en todos los tejidos del cuerpo, cruza la placenta y probablemente la barrera hematoencefálica. En los casos raros de intoxicación por escopolamina, existen síntomas típicos de bloqueo parasimpático (dilatación de la pupila, sequedad de mucosas, etc.) y pueden llegar a un coma profundo. La muerte ocurre debido a una depresión respiratoria. El promedio de una dosis única está entre 0.5-1 mg (Mutschler, 1995). Debido a las dificultades para medir las bajas concentraciones de escopolamina en suero, los reportes de la vida media de escopolamina son densos. De cualquier forma, los resultados reportados por Nakashima y colaboradores (1993), indican una vida media en ratas jóvenes de 25 minutos (Christoffersen *et al.*, 1998).

Las diversas acciones de la escopolamina, se deben considerar al intentar interpretar sus efectos conductuales (Fibiger, 1991). Es importante destacar que la hiperactividad y la dilatación de las pupilas causadas por la escopolamina; pueden influenciar en la interpretación de los datos de comportamiento (O'Neill *et al.*, 1994). Las observaciones hechas por Kang y sus colegas (2003), sugieren que a pesar que existe la posibilidad de que la escopolamina induce hiperactividad o sensibilización hacia la luz a dosis de 1 mg/Kg, el efecto principal es de naturaleza amnésica y se observa después de una administración sistemática (Kang *et al.*, 2003).

Reportes clínicos de Dundee y sus colaboradores, (1962) y Anger (1963) de las propiedades amnésicas de diferentes profármacos, identificaron las benzodiazepinas y la escopolamina, los cuales después llegaron a ser los fármacos más ampliamente investigados en relación con la memoria (Ghoneim, 2004). El hecho de la disminución en la memoria producida por la escopolamina ha sido sugerido que es similar al observado en EA, y los efectos inducidos por benzodiazepinas han sido ligados a aquéllos observados en la enfermedad de Korsakoff, amnesia postencefálica, y amnesias debidas a daño en el lóbulo temporal (Weingartner, 1985; Rammsayer *et al.*, 2000).

Una demencia retrógrada se induce al administrar escopolamina (3mg/kg, i.p.) 5 minutos antes del primer entrenamiento en la prueba de evitación pasiva, en experimentos realizados con los extractos de *Ginkgo biloba* y *B. monniera* (Das *et al.*, 2002). Al administrar escopolamina (1mg/Kg) inmediatamente después de la sesión de entrenamiento, se acorta significativamente la latencia de paso a lo largo (*step through*) en la prueba de retención llevada a cabo 24 horas después, en comparación con el grupo control tratado con solución salina. La escopolamina claramente exacerba los efectos

## **Evaluación de la actividad nootrópica de derivados de arilpiperazinas**

cognitivos en la lista de aprendizaje y procesos rápidos pero no en la memoria semántica o búsqueda léxica (memoria episódica) (Broocks *et al.*, 1998).

La escopolamina a 1mg/Kg, una dosis amnésica, disminuye el metabolismo de la glucosa en varias áreas de la corteza cerebral, tálamo e hipocampo; la corteza es de singular importancia en procesos de cognición y memoria, y muchos investigadores han sugerido que el hipocampo es crítico en los procesos de aprendizaje (Douglas, 1967; Green, 1964; Isaacson, 1982). Además, una gran variedad de estudios clínicos, farmacológicos, neuroquímicos y de comportamiento, implican al sistema colinérgico con particular importancia en el aprendizaje y la memoria (Blaker *et al.*, 1983; Coyle *et al.*, 1983; Davies *et al.*, 1982; Meyers y Domino, 1964; Whitehouse *et al.*, 1982). Los resultados presentados por Piercey y sus colegas (1987), identifican al hipocampo y la corteza cerebral (por autoradiografía 2G) como los sitios donde la escopolamina induce sus mayores déficits, provocando amnesia. Sus experimentos proveen un soporte significativo a la hipótesis de Meyers y Domino, quienes en 1964 sugirieron que los efectos amnésicos provocados por la escopolamina podrían deberse a la interrupción de la actividad colinérgica en el hipocampo. Además, todas las áreas donde se detectó una disminución inducida por escopolamina fueron áreas donde se sabe existen receptores colinérgicos; la escopolamina no disminuyó el metabolismo de energía en todas las regiones en donde se sabe existen receptores colinérgicos (Piercey *et al.*, 1987)

### **3. JUSTIFICACIÓN.**

Durante la década de los ochenta, se había demostrado que las fenilpiperazinas poseían actividad *in vivo* e *in vitro*. Además, de que algunos de sus derivados (2-metoxifenilpiperazina y m-clorofenilpiperazina) habían sido probados en la clínica para el tratamiento de la hipertensión y ansiedad, respectivamente. Algunos datos presentados por Martín y colaboradores (1989), demuestran que las fenilpiperazinas de este tipo, que no muestran afinidad de unión a sitios de dopamina y poseen actividad en sitios de unión a serotonina, podrían ejercer actividad en modelos animales que indicaban que estos compuestos podrían ser potenciales antipsicóticos en seres humanos o dar falsos positivos en respuestas condicionadas de comportamiento (Martín *et al.*, 1989).

Casi diez años después, la búsqueda de antagonistas de los receptores 5-HT<sub>3</sub> continuaba, siendo las fenilpiperazinas potenciales candidatos de este tipo de comportamiento. Es en el año de 1998 cuando Morreale y colaboradores proponen a los antagonistas de dichos receptores como compuestos potenciales para el uso de psicosis, ansiedad, migraña, esquizofrenia, dolor, abuso de sustancias y deterioro de la memoria (Morreale *et al.*, 1998). En 1999, Meneses publica que los receptores de 5-HT están involucrados en el proceso de mejoramiento/empeoramiento de la memoria. Sugiere que la m-clorofenilpiperazina (m-CPP), 1-naftilpiperazina (1-NP) y N-(3-trifluometilfenil)piperazina (TFMPP) producen un empeoramiento en la memoria.

En el año 2000, Manetti y colaboradores, publican los resultados de una serie de derivados de piperazina (1,4-diazabicyclo[4.3.0]nonan-9-onas) que muestran una alta actividad nootrópica en el modelo de evitación pasiva, siendo el más potente de la serie el DM232, con una potencia 1000 veces mayor que el Piracetam, compuesto de referencia. Sus resultados indican que las 1-acilpiperazinas-4-sustituidas representaban una nueva clase de fármacos nootrópicos bastante simple, con un comportamiento muy similar al Piracetam, mostrando mucho mayor potencia que éste (Manetti *et al.*, 2000).

Por lo anterior, se decidió realizar la síntesis de varios derivados de arilpiperazina (fenilpiperazina), con la esperanza de que presentaran actividad nootrópica. Y que, como se mencionó con anterioridad, puedan representar alternativas para el desarrollo de nuevos agentes terapéuticos para el tratamiento de desórdenes asociados con la memoria. Este padecimiento constituye una problemática actual y es urgente, debido en parte al incremento en la expectativa de vida de los seres humanos y a que actualmente no existe en el mercado ningún fármaco con actividad óptima para este tipo de afecciones.

---

#### **4. HIPÓTESIS.**

La hipótesis bajo la cual se desarrolló el presente trabajo fue:

Considerando que existe una evidencia creciente que indica que los antagonistas de los receptores de serotonina (5-HT) están implicados en los procesos de aprendizaje y memoria y que algunas arilpiperazinas actúan como antagonistas de los receptores de serotonina, se espera que la síntesis de arilpiperazinas nuevas presenten actividad nootrópica en los animales de laboratorio a los que se les administren.

## Evaluación de la actividad nootrópica de derivados de arilpiperazinas

### 5. OBJETIVO GENERAL.

- Realizar la síntesis y evaluar la actividad nootrópica de una serie de derivados de arilpiperazinas, en ratones ICR utilizando la prueba de evitación pasiva.

### 6. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

1. Sintetizar y caracterizar los compuestos de estructura general:

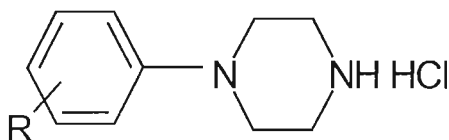


Figura 7. Estructura general de arilpiperazinas.

Cuyos sustituyentes son:

Compuesto Número	R	Compuesto
1	4-Br	p-bromofenilpiperazina
2	3-Cl	m-clorofenilpiperazina
3	4-Cl	p-clorofenilpiperazina
4	3-Cl; 5-Cl	3,5-diclorofenilpiperazina
5	3,4-(metilendioxi)-	3,4-(metilendioxi)fenilpiperazina
6	4-OCH <sub>3</sub> ; 2-CH <sub>3</sub>	4-metoxi-2-metilfenilpiperazina
7	1-naftil-	1-naftilpiperazina
8	3-NO <sub>2</sub>	3-nitrofenilpiperazina

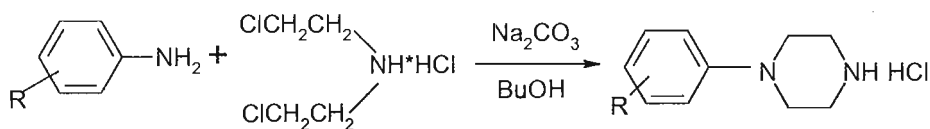
2. Evaluar la actividad nootrópica de las arilpiperazinas sintetizadas comparándolas con el Piracetam, en el modelo de Evitación Pasiva en ratones ICR.

## 7. MATERIAL Y MÉTODO.

### 7. 1. Formación de la R-Arilpiperazina.

**Medio de reacción: n-butanol (Prelog y Blazer, 1934).**

En un matraz redondo, provisto con un refrigerante y equipado con agitación magnética y canastilla de calentamiento, se colocan por cada mol de anilina sustituida una mol de bis-(2-cloroetil)-amina en aproximadamente 15 mL de butanol o el disolvente necesario para cubrir los componentes de la reacción; la mezcla se calienta a 50°C durante 48 horas. Transcurrido este tiempo, se adicionan 0.527 moles de carbonato de sodio por cada mol de anilina (estequiometría 1:1:0.527) y se somete nuevamente a reflujo por otras 48 horas. El avance de la reacción se sigue por cromatografía en capa delgada y una vez, transcurrido el tiempo de reacción o bien, cuando en la cromatoplaça ya no se observa presencia de materia prima, se adiciona metanol y se filtra en caliente para eliminar el carbonato de sodio. El alcohol de la reacción se elimina a presión reducida en un evaporador rotatorio; obteniéndose la R-arilpiperazina en forma de clorhidrato, la cual se recrystaliza usando metanol. El método de síntesis se muestra en el esquema I.



**Esquema 1. Método de Síntesis de Arilpiperazinas.**  
medio de reacción n-butanol.

### 7.2. Animales.

Se emplearon ratones macho de la cepa ICR, de un peso comprendido entre 25-30 g., adquiridos de la Compañía Harlan de México S.A. de C.V. Los compuestos de prueba se administraron por vía intraperitoneal (i.p.), ajustando las concentraciones de manera que por cada 10 g de peso corporal se administraran 0.1 mL.

## **Evaluación de la actividad nootrópica de derivados de arilpiperazinas**

Durante el desarrollo del experimento, los animales se mantuvieron con libre acceso al agua y alimento, en un ciclo de luz-oscuridad de 12h/12h y a una temperatura ambiental de  $22^{\circ}\pm 2^{\circ}\text{C}$ . En todos los procedimientos en los que se utilizaron animales de laboratorio se siguieron los lineamientos internacionales del uso y manejo de animales de laboratorio y las reglas marcadas en la norma oficial mexicana NOM-062-ZOO-1999.

### **7.3. Fármacos y Dosis.**

#### **Piracetam**

El piracetam (Sigma, a dosis de 1, 10, 30, 56 y 100mg/Kg) se disolvió en solución salina (0.9%); el fármaco se inyectó vía i.p. 20 minutos antes de iniciar la prueba.

#### **Escopolamina**

La Escopolamina (Fluka, a dosis de 1, 3, 5.6 y 10mg/Kg) se disolvió en solución salina (0.9%); el fármaco se inyectó vía i.p. inmediatamente después de recibir el estímulo.

#### **R-arilfenilpiperazinas.**

La mayoría de las arilpiperazinas sintetizadas se disolvieron en solución salina (0.9%); inicialmente, se probaron a dosis de 10, 30 y 100mg/Kg para obtener la ventana de actividad biológica y dependiendo de su actividad, se definieron las dosis subsecuentes. En el caso de las arilpiperazinas que no se solubilizan en solución salina (4-etilfenilpiperazina, 4-metoxi-2-metilfenilpiperazina y 1-naftilpiperazina), éstas se suspendieron con una gota de tween 80 en solución salina (0.9%). Para los controles se utilizó el vehículo correspondiente.

### **7.4. Evaluación del efecto nootrópico.**

#### **7.4.1. Aparato de Evitación Pasiva (*Passive Avoidance Apparatus*)**

El aparato de Evitación Pasiva (*Passive Avoidance Apparatus*, Ugo Basile 7550), (Figura 7) consiste en dos compartimentos, el de entrada y el de escape. El primero, es un compartimiento blanco e iluminado (18 x 9.5 x 16cm) y, el segundo, es un compartimiento oscuro (18 x 9.5 x 16cm), separados por una puerta corrediza. El piso del compartimiento oscuro está hecho con una rejilla con barras de acero de 0.3 cm de diámetro, separadas a una distancia de 1.2 cm (Prathiba y Karant, 1996; Eidi *et al.*, 2003).

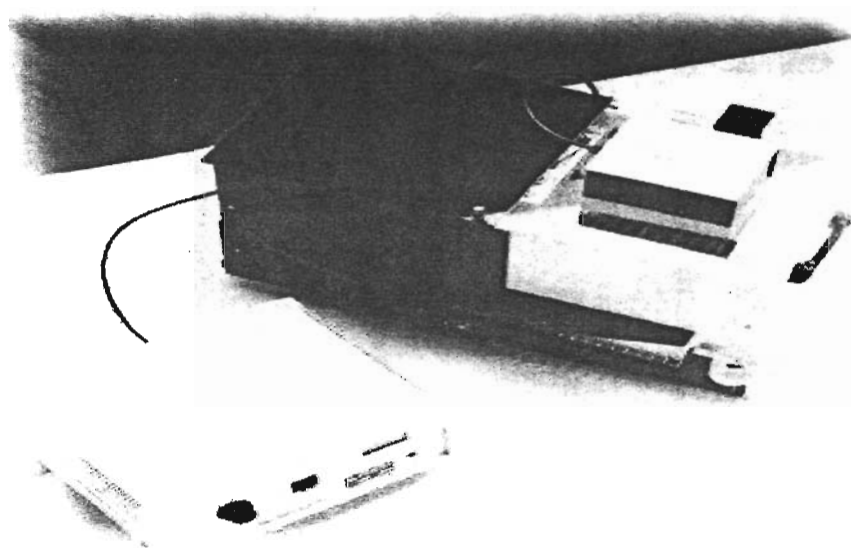


Figura 8. Aparato de Evitación Pasiva.

### 7.4.2. Fase de Entrenamiento.

Inicialmente, se administran a los ratones por vía i.p. el compuesto a probar 20 minutos antes de colocar a los animales en el compartimiento iluminado.

La prueba comienza al colocar al ratón en el compartimiento iluminado, al pasar 10 segundos, la puerta corrediza entre los dos compartimientos se abre, dejando libre acceso al compartimiento oscuro. Al momento de entrar el ratón al compartimiento oscuro, la puerta se cierra automáticamente y se les aplica un choque eléctrico (0.3mA, 2 segundos de duración). Se mide el tiempo que tarda el ratón en pasar del compartimiento iluminado al oscuro (Tiempo de latencia inicial)

Para determinar la intensidad adecuada del choque eléctrico con el que se trabajaría durante el experimento, se estandarizó el método. Se realizaron varios experimentos para determinar la duración del choque eléctrico, el gráfico obtenido se muestra a continuación (Figura 9). En esta figura, se puede apreciar que la intensidad del choque con el cual se aprecia mejor el efecto es a 0.3mA, por lo que se decidió trabajar con esta intensidad.



## Evaluación de la actividad nootrópica de derivados de arilpiperazinas

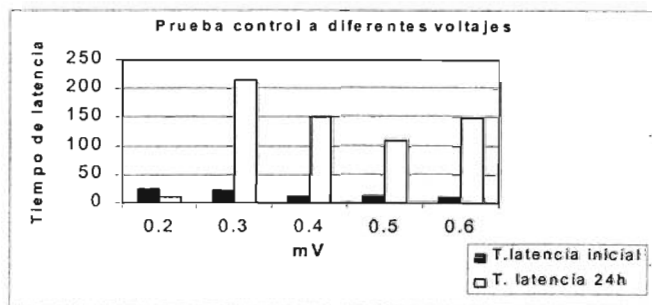


Figura 9. Gráfico a diferentes voltajes.

### 7.4.3. Actividad amnésica.

Inmediatamente después de haber recibido el estímulo, los animales son retirados del compartimiento oscuro y se les administra Escopolamina (1 mg/Kg; i.p.), con el propósito de producirles amnesia. Los animales que tardan más de 100s en entrar al compartimiento oscuro, son eliminados de la prueba (Malmberg-Aiello *et al.*, 2000).

### 7.4.4. Prueba de retención.

Al día siguiente (24h después), se lleva a cabo la prueba de retención para determinar memoria a largo plazo. Cada animal se coloca en el compartimiento iluminado durante 10 segundos, la puerta se abre, y se mide el tiempo de latencia que tardan en entrar al compartimiento oscuro. La sesión de prueba se termina cuando el animal entra al compartimiento oscuro, o bien, permanece en el compartimiento iluminado por más de 420s (criterio de retención). Durante esta etapa de la prueba, no se aplica el choque eléctrico.

### 7.5 Análisis estadístico.

Para corroborar si existe una diferencia significativa entre el primer y segundo día de prueba, se realizó el análisis estadístico por medio de la prueba de "t" de student para datos pareados; en los datos en donde no sigue una distribución normal, se utilizó la prueba no paramétrica de Wilcoxon para poder considerar una diferencia significativa. Para corroborar si había diferencia estadísticamente significativa entre dosis se realizó un Análisis de Varianza de una vía, en caso de que existiera una diferencia estadística, se procedió a realizar un análisis de mínima diferencia significativa (*Fisher's least significance difference test*). Se consideraron diferencias significativas para una  $p < 0.05$ .

## 8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

### 8.1. Parte química.

Se sintetizaron ocho compuestos, la estructura general se muestra en la Figura 9 y los sustituyentes de la estructura de cada compuesto se muestra en el Cuadro 6.

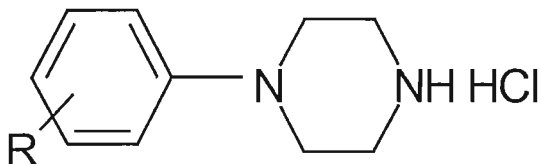


Figura 10. Estructura general de arilpiperazinas.

Cuadro 6. Estructura de los compuestos sintetizados	
Compuesto	R
1	4-Br
2	3-Cl
3	4-Cl
4	3-Cl; 5-Cl
5	3,4-(metilendioxi)-
6	4-OCH <sub>3</sub> ; 2-CH <sub>3</sub>
7	1-naftil-
8	3-NO <sub>2</sub>

## Evaluación de la actividad nootrópica de derivados de arilpiperazinas

La identidad de los compuestos se determinó por métodos físicos: punto de fusión, espectroscopía de Infrarrojo, espectrometría de masas y Resonancia magnética nuclear de protones (RMN  $^1\text{H}$ ). En el Cuadro 7 se resumen los resultados obtenidos de espectrometría de masas, rendimiento y punto de fusión. En general, el rendimiento de la reacción es muy bueno entre 50 – 80%.

Compuesto	Peso Molecular (uma)**	Punto de fusión (°C)	Rendimiento (%)
1	242	242.1-245.8	80
2	196	212.4-213.6	70
3	196	255-256.6	50
4	230	227.1-229.1	80
5	206	252.3-254.5	80
6	206	242.7 – 244.3	69
7	212	210.6-213.7	50
8	207	243 – 245	80

\*\*uma: unidad de masa atómica

Los espectros de infrarrojo, resonancia magnética nuclear de hidrógeno y masas para cada compuesto se muestran en el apéndice.

Los datos espectroscópicos para cada compuesto se dan a continuación:

**p-bromofenilpiperazina:** punto de fusión 242.1-245.8; IR (KBr)  $\nu$ : 3500-3400 ( $\text{NH}_2$ ), 2960-2850 (CH), 2000-1600 (Ar.), 840-790 (1,4-disustitución para), 600-500 (CBr)  $\text{cm}^{-1}$ ;  $^1\text{HNMR}$  (DMSO/ $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 3.1-3.4 ppm (8H, anillo de piperazina), 6.9-7.3 ppm (4H, aromático), 9.7 ppm ( $\text{NH}_2$ ); EM ( $\text{IE}^+$ )  $m/z$ : 240 uma ( $\text{M}^+$ ;  $\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{N}_2\text{Br}$ ) 242 ( $\text{M}^+ + 2$ , 1:1).

**m-clorofenilpiperazina:** punto de fusión 212.4-213.6; IR (KBr)  $\nu$ : 3500-3400 ( $\text{NH}_2$ ), 2960-2850 (CH), 2000-1600 (Ar.), 810-750 (1,3-disustitución meta), 800-600 (CCl)  $\text{cm}^{-1}$ ;  $^1\text{HNMR}$  (DMSO/ $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 3.1-3.4 ppm (8H, anillo de piperazina), 6.9-7.2 ppm (4H, aromático), 9.6 ppm ( $\text{NH}_2$ ); EM ( $\text{IE}^+$ )  $m/z$ : 196 uma ( $\text{M}^+$ ,  $\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{N}_2\text{Cl}$ ) 198 ( $\text{M}^+ + 2$ ; 1:3).

## **Evaluación de la actividad nootrópica de derivados de arilpiperazinas**

**p-clorofenilpiperazina:** punto de fusión 255-256.6; IR (KBr)  $\nu$  3500-3400 (NH<sub>2</sub>), 2960-2850 (CH), 2000-1600 (Ar.), 840-790 (1,4-disustitución para), 800-600 (CCl) cm<sup>-1</sup>; <sup>1</sup>HNMR (DMSO/CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 3.1-3.7 ppm (8H, anillo de piperazina), 6.9-7.3 ppm (4H, aromático), 9.7 ppm (NH<sub>2</sub>); EM (IE<sup>+</sup>) m/z: 196 uma (M<sup>+</sup>, C<sub>10</sub>H<sub>13</sub>N<sub>2</sub>Cl) 198 (M<sup>+</sup> + 2; 1:3).

**3,5-diclorofenilpiperazina:** punto de fusión 227.-229.1; IR (KBr)  $\nu$  :3500-3400 (NH<sub>2</sub>), 3030 (Ar.), 2960-2850 (CH), 2000-1600 (Ar.), 865-810 (1,3,5-trisustitución) cm<sup>-1</sup>; <sup>1</sup>HNMR (DMSO/CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 3.0-3.8 ppm (8H, anillo de piperazina), 6.8-7.1ppm (3H, aromático), 9.7 ppm (NH<sub>2</sub>); EM (IE<sup>+</sup>) m/z: 230 uma (M<sup>+</sup>, C<sub>10</sub> H<sub>12</sub>N<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>).

**3,4-(metilendioxi)fenilpiperazina:** punto de fusión 252.3-254.5; IR (KBr)  $\nu$ : 3500-3400 (NH<sub>2</sub>), 2960-2850 (CH), 2000-1600 (Ar.), 1115-1050 (C-O) cm<sup>-1</sup>; <sup>1</sup>HNMR (DMSO/CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 3.4 ppm (8H, anillo de piperazina), 5.9 ppm (2H, metilendioxi), 6.4- 6.9 ppm (3H, aromático), 9.3 ppm(NH<sub>2</sub>); EM (IE<sup>+</sup>) m/z: 206 uma (M<sup>+</sup>, C<sub>11</sub> H<sub>14</sub>O<sub>2</sub>N<sub>2</sub>).

**4-metoxi-2-metilfenilpiperazina:** punto de fusión 242.7-244.3; IR (KBr)  $\nu$  3500-3400 (NH<sub>2</sub>), 2960-2870 (CH<sub>3</sub>), 2925-2850 (CH<sub>2</sub>), 2820 (CH<sub>3</sub>O), 2000-1600 (Ar.), 825-805 (1,2,4-trisustitución), cm<sup>-1</sup>; <sup>1</sup>HNMR (DMSO/CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 2.2 ppm (CH<sub>3</sub>-Ar), 2.9-3.2 ppm (8H, anillo de piperazina), 3.7 ppm(CH<sub>3</sub>O-), 6.7-7.0 ppm (3H, aromático), 9.6 ppm (NH<sub>2</sub>); EM (IE<sup>+</sup>) m/z: 206 uma (M<sup>+</sup>, C<sub>12</sub>H<sub>18</sub>ON<sub>2</sub>).

**1-naftilpiperazina:** punto de fusión 210.6-213.7; IR (KBr)  $\nu$ : 3500-3400 (NH<sub>2</sub>), 3030 (Ar.), 2960-2850 (CH), 2000-1600 (Ar.), 1600-1450 (CH), 800-770 (1,5,6-trisustitución) cm<sup>-1</sup>; <sup>1</sup>HNMR (DMSO/CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 3.2-3.4 ppm (8H, anillo de piperazina), 7.0-8.3 ppm (7H,aromático), 9.5 ppm (NH<sub>2</sub>); EM (IE<sup>+</sup>) m/z: 212 uma (M<sup>+</sup>, C<sub>14</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>).

**3-nitrofenilpiperazina:** punto de fusión 243-245; IR (KBr)  $\nu$  3500-3400 (NH<sub>2</sub>), 2960-2850 (CH), 2000-1600 (Ar.), 810-750 (1,3-disustitución meta), 1525-1345 (ArNO<sub>2</sub>) cm<sup>-1</sup>; <sup>1</sup>HNMR (DMSO/CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 3.2-3.4 ppm (8H, anillo de piperazina), 7.3-7.8 ppm (4H, aromático), 9.5 ppm (NH<sub>2</sub>); EM (IE<sup>+</sup>) m/z: 207 uma (M<sup>+</sup>, C<sub>10</sub>H<sub>13</sub>O<sub>2</sub>N<sub>3</sub>).

## **Evaluación de la actividad nootrópica de derivados de arilpiperazinas**

Cabe mencionar, que la síntesis que se llevó a cabo, está basada en una reacción de sustitución nucleofílica  $SN_2$ , debido al par de electrones no compartido del nitrógeno, lo que le da un comportamiento básico que reacciona con compuestos electrofílicos.

Para aumentar la reactividad y basicidad de la arilpiperazina, así como evitar la formación de algún subproducto y que el medio no fuera lo suficientemente básico, que el medio original de la reacción (diglima) se modificó a n-butanol, con el fin de obtener las condiciones óptimas en la mezcla de reacción. También, se aumentó el tiempo de reflujo de 72 a 96 horas, ya que al seguir la reacción por cromatografía en capa fina, se observó que aún existía materia prima en la mezcla de reacción lo que disminuía apreciablemente el rendimiento.

### **8.2. Parte farmacológica.**

Se evaluó el efecto nootrópico de los compuestos sintetizados, los cuales, fueron evaluados inicialmente a dosis de 10, 30 y 100mg/Kg para obtener la ventana de actividad biológica y dependiendo de su actividad, se definieron las dosis subsecuentes. Se usó el programa Sigma Plot y Sigma Stat para comparar cada grupo experimental y los controles respectivos.

En la Figura 11 se muestra la gráfica de los controles utilizados en el experimento, en ésta se puede encontrar que el Piracetam (a dosis de 1, 10, 30, 56 y 100mg/Kg) tiene un efecto dosis dependiente ya que al aumentar la dosis su efecto nootrópico se incrementa sin mostrar algún efecto inmediato por el fármaco. En lo que respecta al control se observa que si existe una diferencia significativa entre el primer y el segundo día de prueba, por lo que se confirma que es una conducta normal que los ratones recuerden el estímulo. En el control + escopolamina (a dosis de 1 mg/Kg), se comprueba que efectivamente, la escopolamina produce un efecto amnésico en los ratones administrados, ya que no existe ninguna diferencia significativa entre los dos días de prueba; además, de demostrar que los ratones están bajo un efecto amnésico durante el desarrollo de la prueba.

En la Figura 12 se muestra la curva del efecto amnésico de la Escopolamina (a dosis de 1, 3, 5.6 y 10 mg/Kg), esto se realizó con la finalidad de probar que la dosis utilizada para provocar algún efecto amnésico con los ratones tratados era la adecuada. En dicha curva, podemos observar que a ninguna dosis probada existe una diferencia significativa

## Piracetam

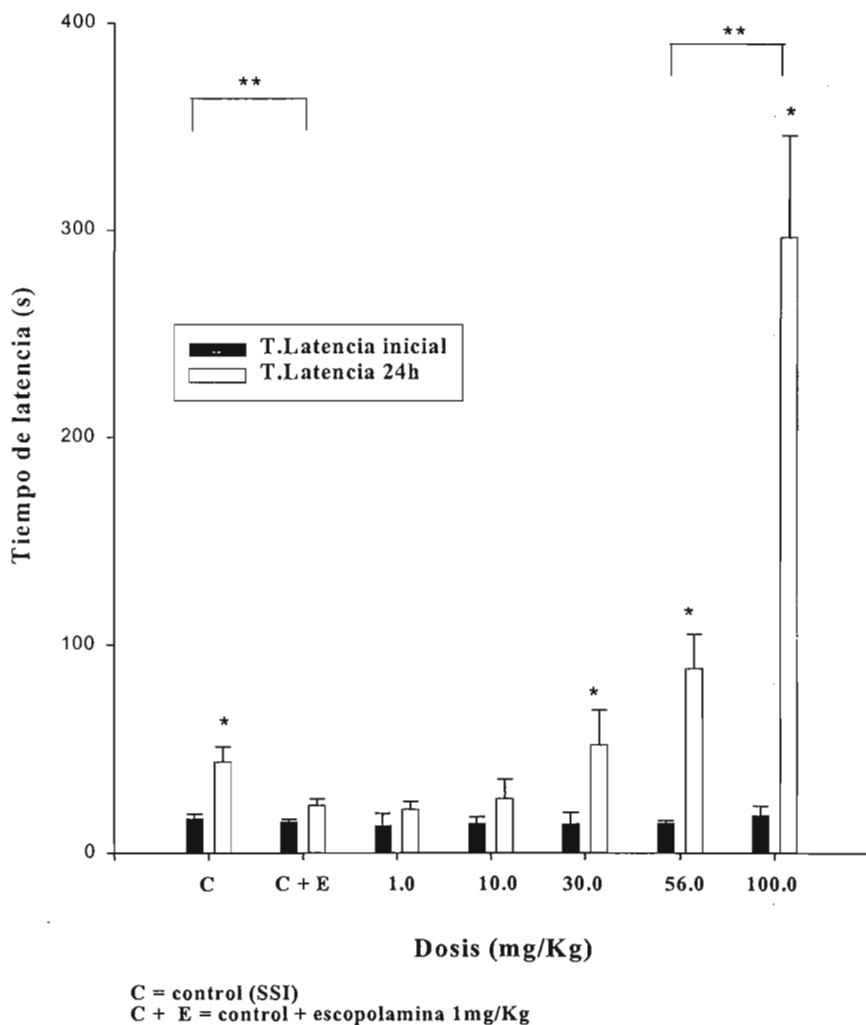
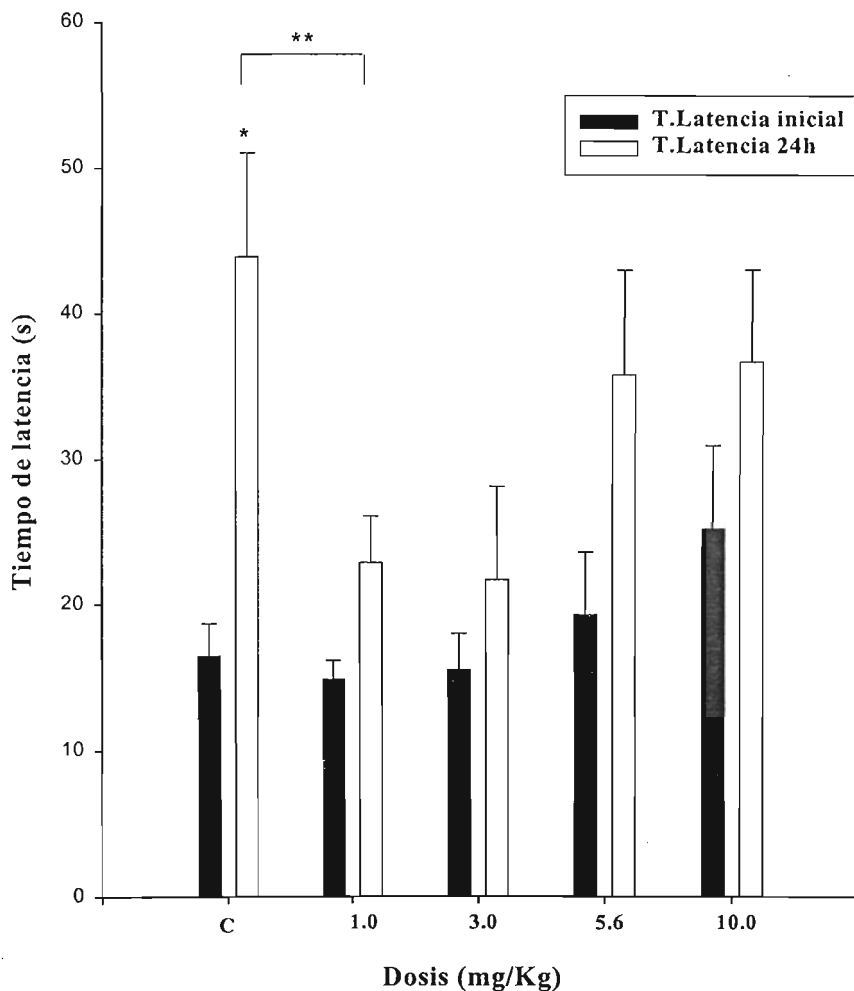


Figura 11. Efecto Nootrópico del Piracetam y los controles utilizados. Cada barra es la media  $\pm$  EEM de 10 determinaciones. \* $p < 0.05$  entre días; \*\* $p < 0.05$  entre dosis.

## Escopolamina



C = Control (SSI)

**Figura 12.** Curva del efecto amnésico de la Escopolamina. Cada barra es la media  $\pm$  EEM de 10 determinaciones. \* $p < 0.05$  entre días; \*\* $p < 0.05$  entre dosis.

## **Evaluación de la actividad nootrópica de derivados de arilpiperazinas**

entre los dos días de prueba, ni se observa ningún efecto dosis dependiente, por lo que se vuelve a confirmar que se está provocando un efecto amnésico en los animales tratados con dicho compuesto y que la dosis administrada es la adecuada.

La Figura 13 muestra la curva del Efecto nootrópico obtenido para la p-bromofenilpiperazina (a dosis de 1, 3, 5.6, 10, 17 y 30 mg/Kg), como se puede observar existe un efecto dosis dependiente obteniendo un máximo de efecto a una dosis de 10mg/kg, después de la cual, se observa un efecto totalmente distinto, ya que el tiempo de latencia del primer día de prueba empieza a incrementar, mientras que el tiempo de latencia del segundo día de prueba disminuye considerablemente, inversamente a lo que se esperaba. En este mismo gráfico podemos observar que existe un efecto inmediato debido al compuesto administrado, ya que el tiempo de latencia de la fase de entrenamiento va aumentado ligeramente conforme se aumenta la dosis, lo que demuestra que tiene algún efecto inmediato sobre los animales.

La Figura 14 muestra los resultados obtenidos para la m-clorofenilpiperazina (a dosis de 1, 1.7, 3, 5.6 y 10 mg/Kg), en este gráfico, se observa que sólo a una dosis intermedia de 1.7mg/Kg existe una diferencia significativa entre los días de prueba y en las dosis vecinas no se observa ningún efecto; por lo que no se puede afirmar que este compuesto presente algún efecto nootrópico. En este mismo compuesto se observa que conforme se incrementa la dosis el tiempo de latencia del primer día de prueba se va incrementando y el tiempo de latencia del segundo día va disminuyendo, efecto contrario al que se esperaba; cabe mencionar que este compuesto alteró significativamente la actividad motora de los animales y en algunos provocó catalepsia, que es característica de los fármacos antipsicóticos (Rang *et al.*, 1995), lo que podría explicar el comportamiento de los animales, ya que presentaron efectos inmediatos del fármaco en el día de entrenamiento y el día de prueba no recordaban ningún estímulo.

La Figura 15 muestra los resultados para la p-clorofenilpiperazina (a dosis de 0.3, 1, 5.6, 10, 30 y 100mg/Kg), en la cual se observa un efecto dosis dependiente, llegando a su máximo a una dosis de 10 mg/Kg, después de la cual se observan algunos efectos tóxicos del compuesto, ya que los ratones administrados a dosis mayores mostraban pérdida en la actividad motora e incluso hubo ratones muertos. También, se observa un efecto inmediato del fármaco ya que el tiempo de latencia de la fase de entrenamiento también se ve ligeramente incrementado.

La Figura 16 nos muestra los resultados obtenidos para la 3,5-diclorofenilpiperazina (a dosis de 1, 1.7, 2.4 3, 5.6, 10, 30 y 100mg/Kg), este compuesto también muestra un



## p-bromofenilpiperazina

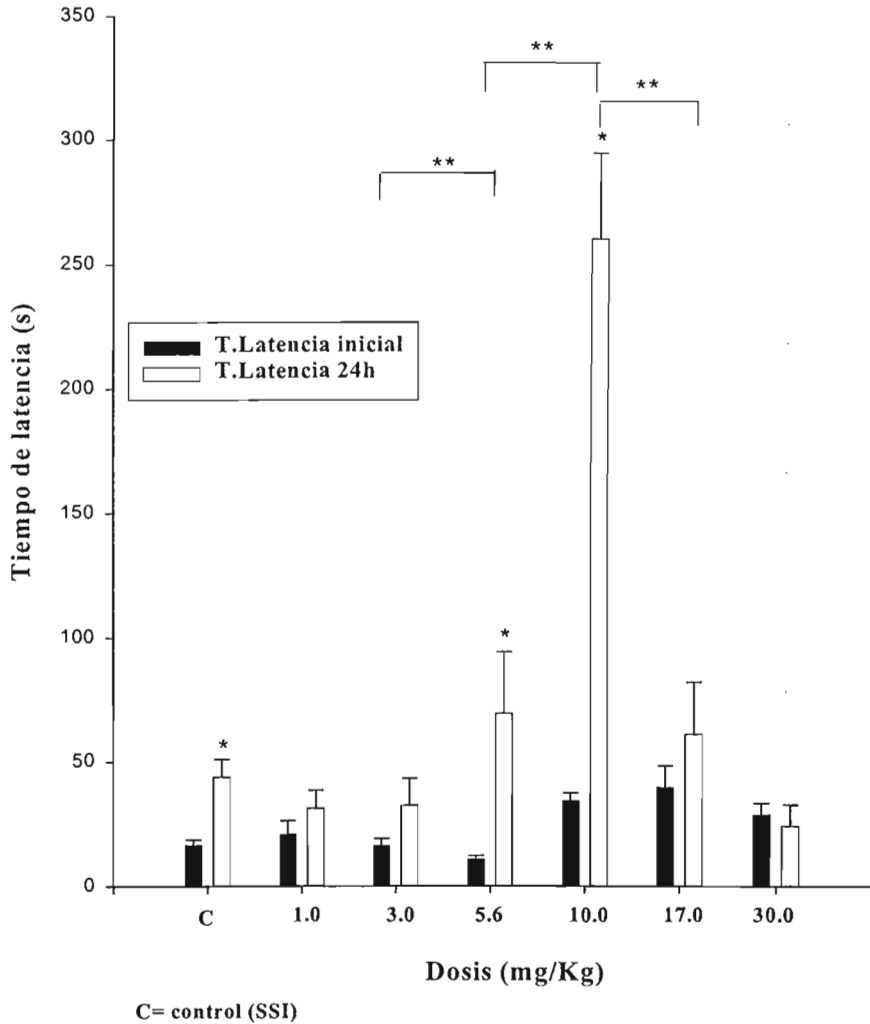


Figura 13. Efecto Nootrópico de p-bromofenilpiperazina. Cada barra es la media  $\pm$  EEM de 10 determinaciones. \* $p < 0.05$  entre días; \*\* $p < 0.05$  entre dosis.

## m-clorofenilpiperazina

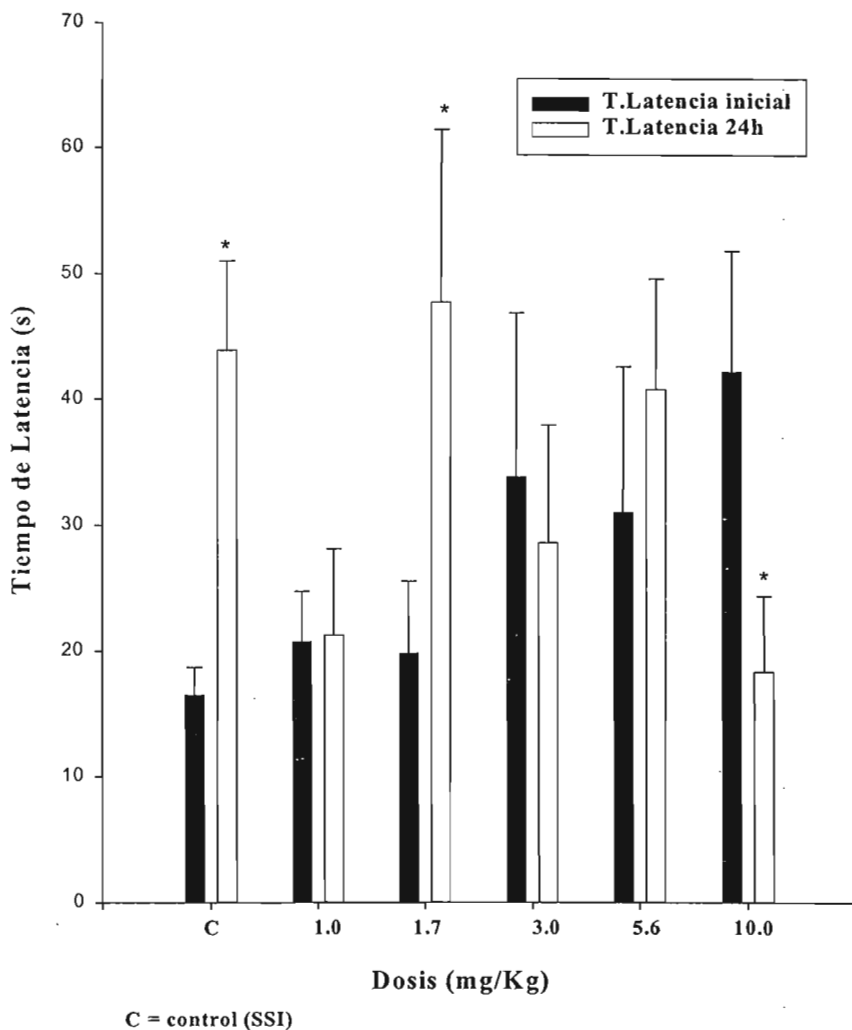


Figura 14. Efecto Nootrópico de m-clorofenilpiperazina. Cada barra es la media  $\pm$  EEM de 10 determinaciones. \* $p < 0.05$  entre días.

### p-clorofenilpiperazina

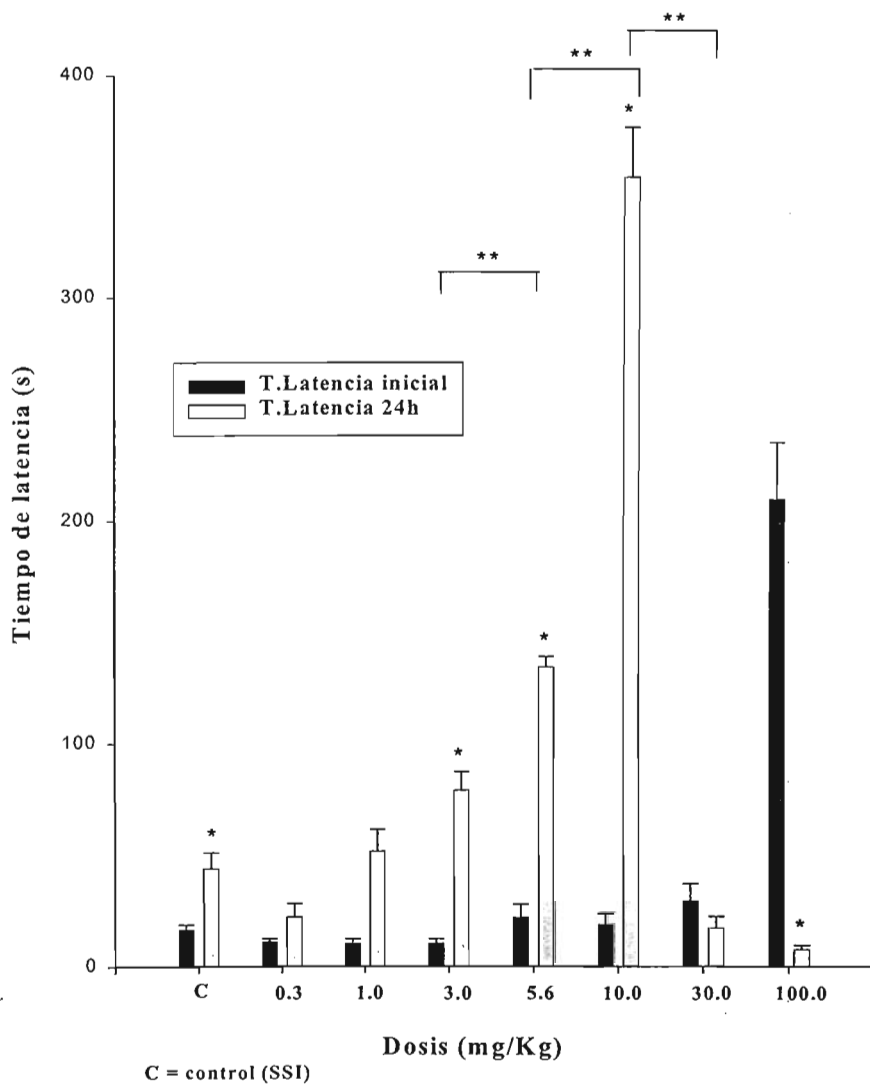


Figura 15. Efecto Nootrópico de p-clorofenilpiperazina. Cada barra es la media  $\pm$  EEM de 10 determinaciones. \* $p < 0.05$  entre días; \*\* $p <$  entre dosis.

### 3,5-diclorofenilpiperazina

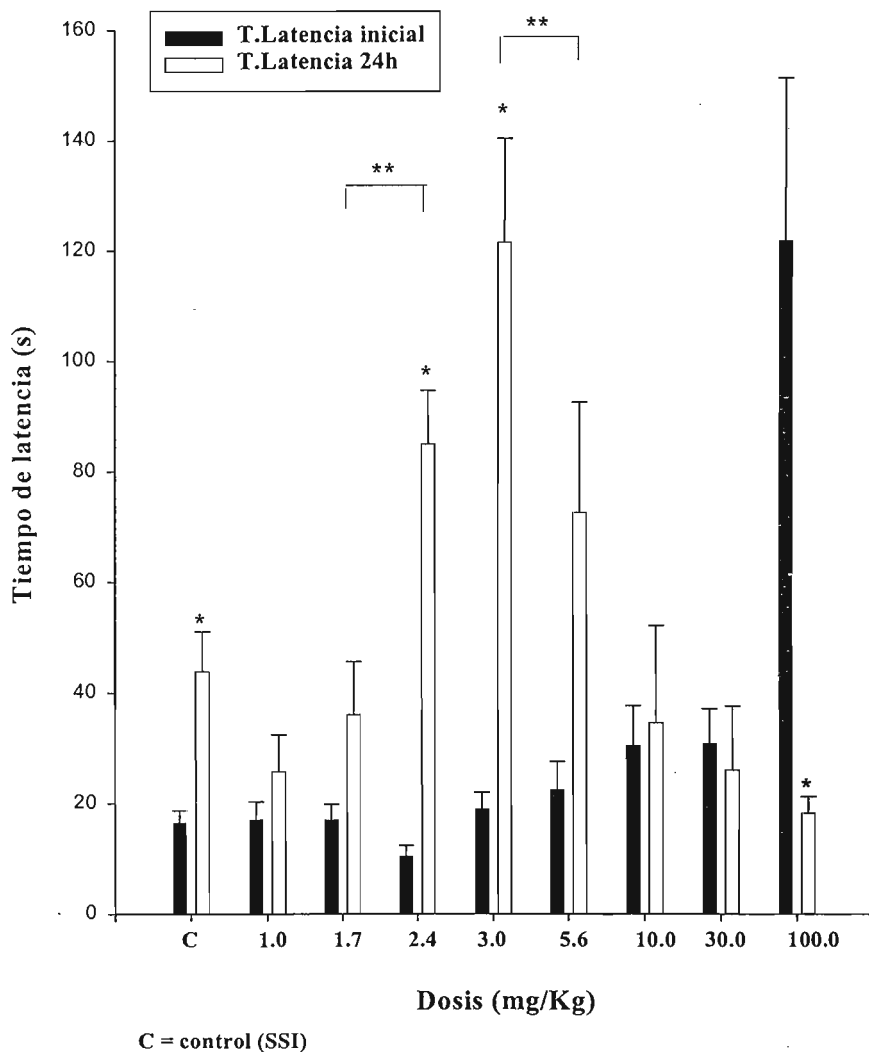


Figura 16. Efecto Nootrópico de 3,5-diclorofenilpiperazina. Cada barra es la media  $\pm$  EEM de 10 determinaciones. \* $p < 0.05$  entre días; \*\* $p <$  entre dosis.

## **Evaluación de la actividad nootrópica de derivados de arilpiperazinas**

efecto dosis dependiente llegando a su máximo a una dosis de 3 mg/Kg, después de la cual el efecto va disminuyendo y se empiezan a notar efectos tóxicos a dosis de 10 mg/kg. Este compuesto muestra una respuesta inmediata del fármaco considerable, ya que el tiempo de latencia del primer día de prueba se ve considerablemente aumentado conforme se incrementa la dosis.

En la Figura 17, observamos los resultados obtenidos para la 3,4-(metilendioxi)fenilpiperazina (a dosis de 0.1, 0.3, 1, 3, 10 y 30mg/Kg), este compuesto no mostró ningún efecto nootrópico, pero sí efectos tóxicos a partir de dosis mayores a 30mg/Kg, en esta dosis 4 de 10 ratones a los que se les administro murieron y a una dosis de 100mg/Kg 4 de los 4 ratones a los que se administro murieron. Este compuesto también muestra una respuesta inmediata del fármaco, ya que altera el comportamiento de los ratones, comparados con el grupo control, mostrando una hiperactividad en éstos.

La Figura 18 nos muestra la curva del efecto nootrópico presentado por la 4-metoxi-2-metilfenilpiperazina (a dosis de 0.1, 0.17, 0.3, 0.56, 0.75, 1, 1.7, 3, 10 y 30 mg/Kg), este compuesto obtuvo su mayor efecto a una dosis de 0.56mg/Kg, a partir de la cual dicho efecto va disminuyendo; también, empezó a mostrar efectos tóxicos a una dosis de 30 mg/Kg y en dosis de 100mg/Kg los ratones que fueron administrados murieron; y muestra un ligero efecto inmediato del fármaco en el primer día de prueba.

La Figura 19 representa los resultados obtenidos con la 1-Naftilpiperazina (a dosis de 0.1, 0.3, 0.56, 1, 3 y 10 mg/Kg), este compuesto tiene su mayor efecto a una dosis de 1mg/Kg y presenta efectos tóxicos a partir de dosis de 10mg/Kg. En esta curva se puede apreciar un efecto inmediato de fármaco el primer día de prueba, ya que el tiempo de latencia se ve considerablemente incrementado dicho día.

La Figura 20 muestra los resultados obtenidos para la 3-Nitrofenilpiperazina (a dosis de 1, 3, 5.6, 10 y 30 mg/Kg), en dicho gráfico se puede observar que no existe ninguna diferencia significativa entre los dos días de prueba, por lo que este compuesto no presenta efecto nootrópico alguno. Sin embargo, se puede observar claramente que existe un efecto inmediato de fármaco el primer día de prueba ya que las latencias correspondientes a esta fase se incrementan considerablemente.

Así, se puede observar que cinco de los compuestos sintetizados muestran un efecto nootrópico apreciablemente mayor que el Piracetam, así como el control (SSI) utilizado en la prueba. Los gráficos presentan un comportamiento bifásico, lo cual concuerda con los resultados encontrados por Piercey y sus colaboradores (1987) y por Mondadori y Weiskrantz (1993). El primero, encontró que a dosis mayores de 100mg/Kg de

### 3,4-(metilendioxi)fenilpiperazina

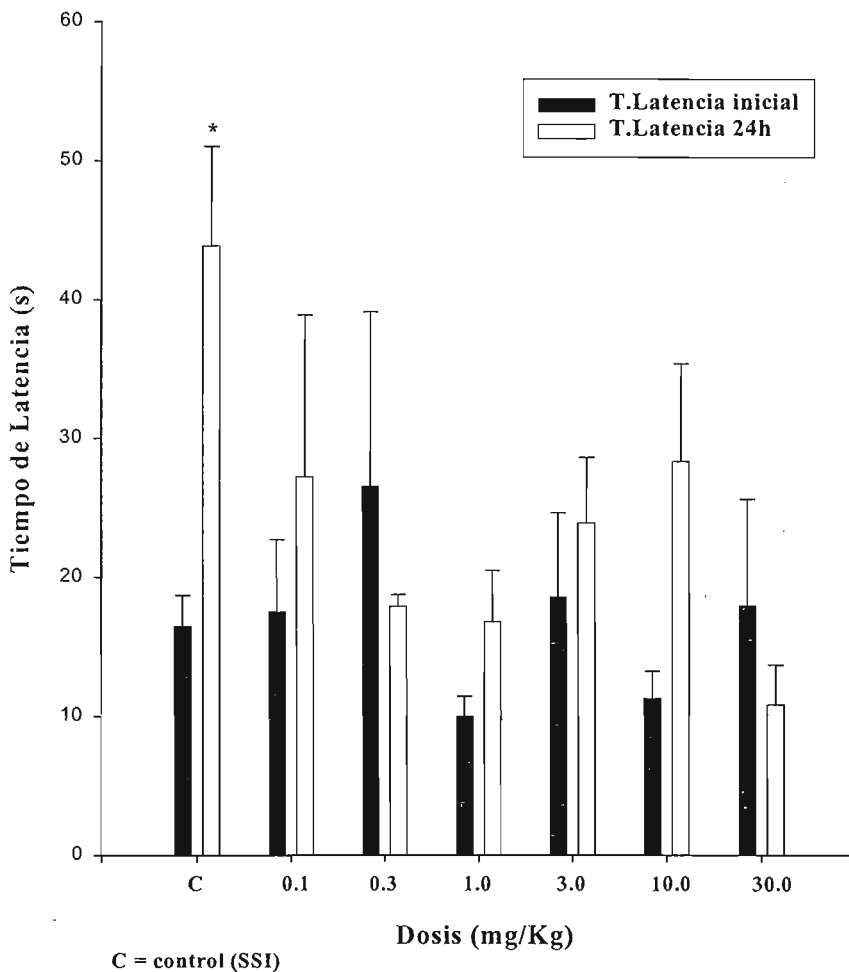
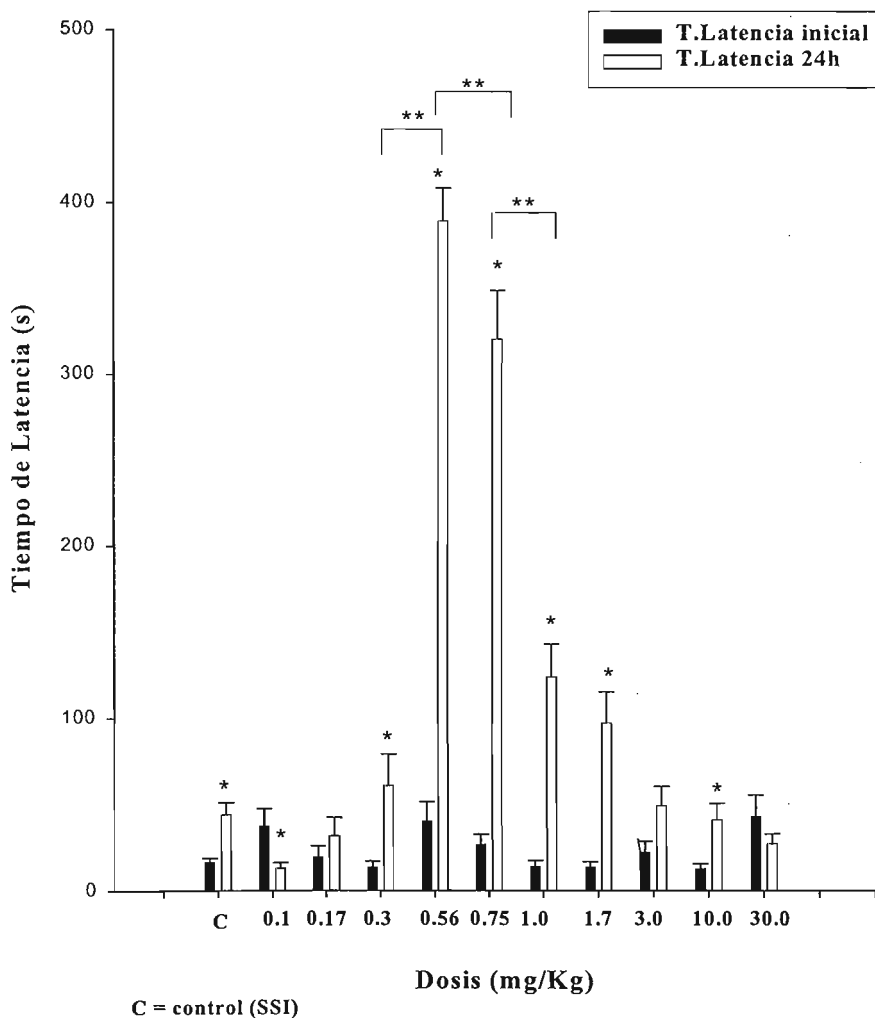


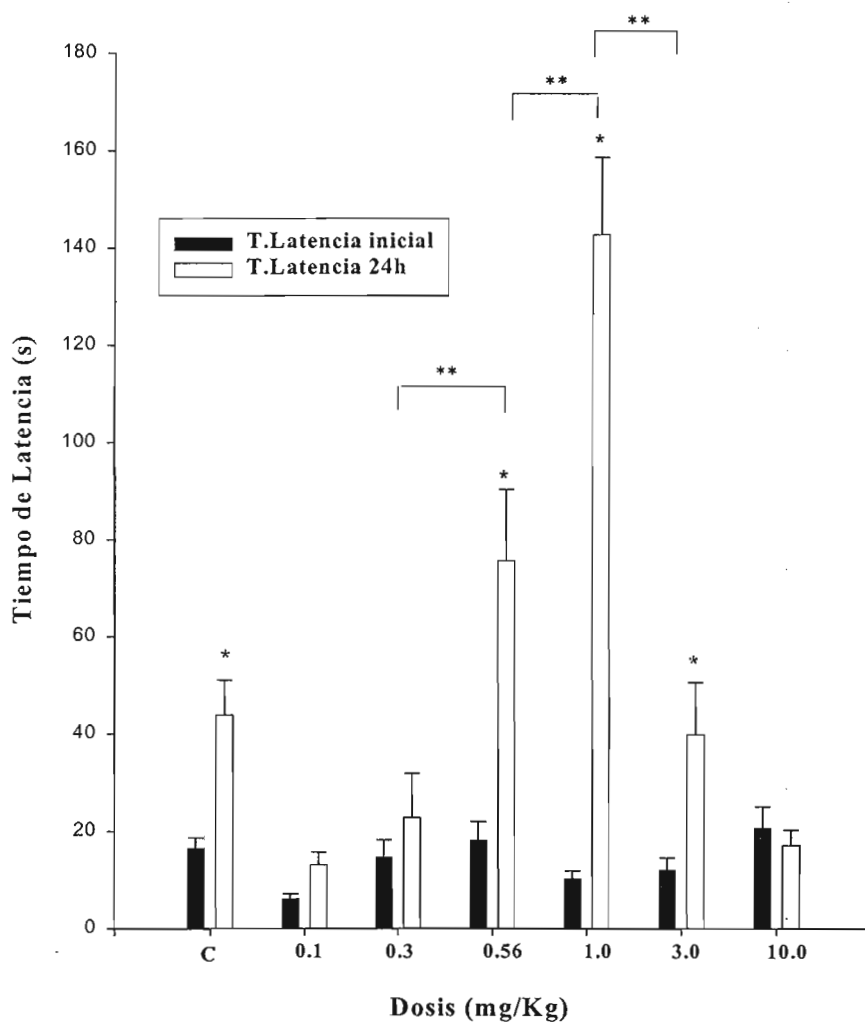
Figura 17. Efecto Nootrópico de 3,4-(metilendioxi)fenilpiperazina. Cada barra es la media  $\pm$  EEM de 10 determinaciones. \* $p < 0.05$  entre días.

## 4-metoxi-2-metilfenilpiperazina



**Figura 18.** Efecto Nootrópico de 4-metoxi-2-metilfenilpiperazina. Cada barra es la media  $\pm$  EEM de 10 determinaciones. \* $p < 0.05$  entre días; \*\* $p < 0.05$  entre dosis.

## 1-naftilpiperazina



C = control (SSI)

**Figura 19.** Efecto Nootrópico de 1-naftilpiperazina. Cada barra es la media  $\pm$  EEM de 10 determinaciones. \* $p < 0.05$  entre días; \*\* $p < 0.05$  entre dosis.



### 3-nitrofenilpiperazina

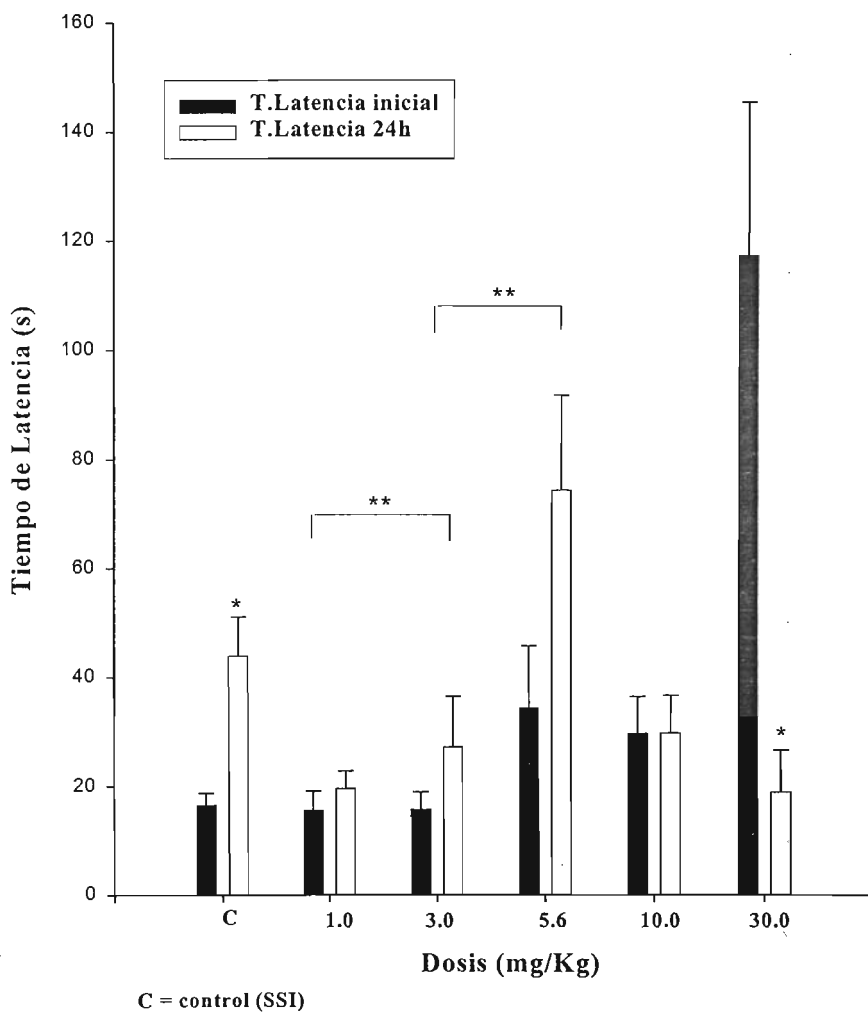


Figura 20. Efecto Nootrópico de 3-nitrofenilpiperazina. Cada barra es la media  $\pm$  EEM de 10 determinaciones. \* $p < 0.05$  entre días; \*\* $p < 0.05$  entre dosis.

## **Evaluación de la actividad nootrópica de derivados de arilpiperazinas**

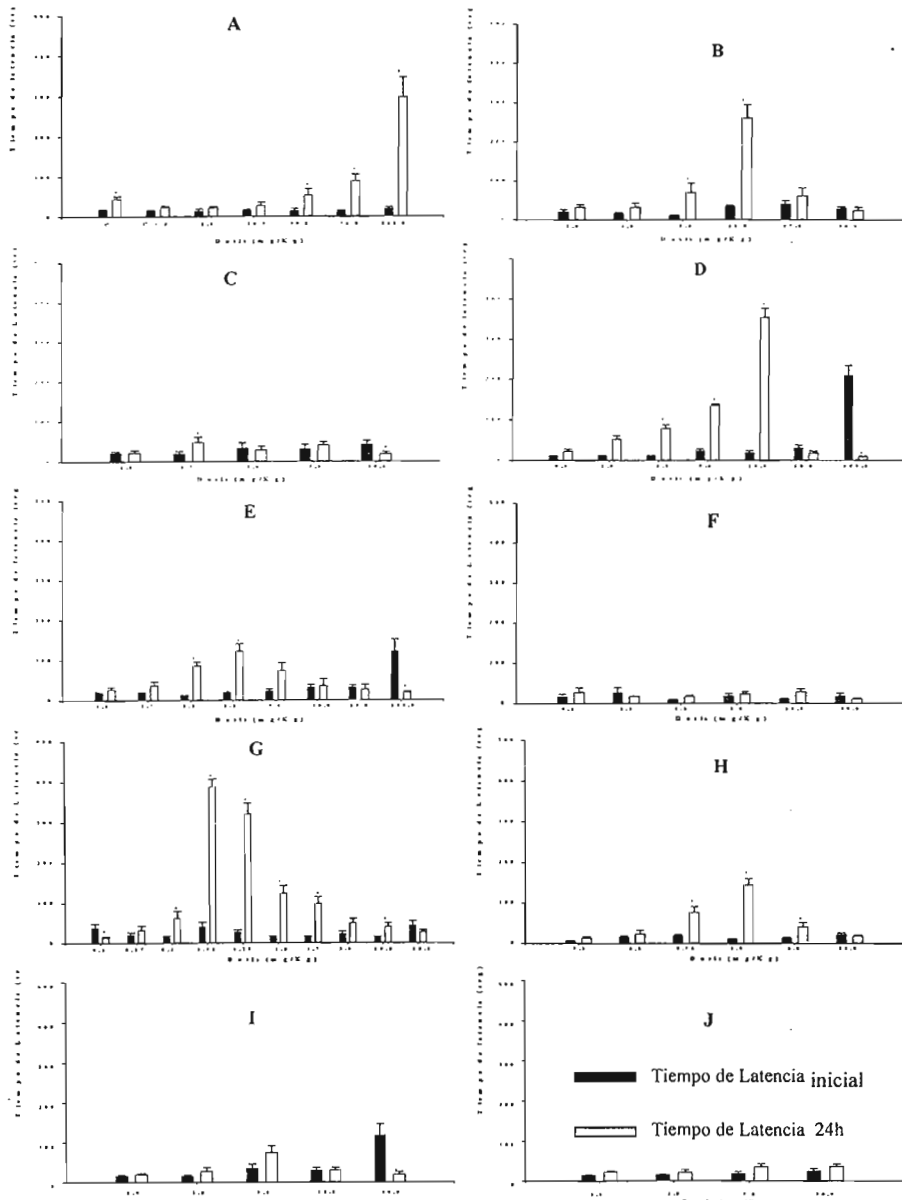
Piracetam, éste no inhibía la amnesia producida por Escopolamina a 3 mg/Kg, mostrando una relación dosis bifásica o en forma de U invertida. Mondadori, señala que el Piracetam y el Aniracetam sólo presentaban un rango de dosis con actividad y que en dosis mayores o menores a este rango dichos compuestos eran inactivos; esto puede ser debido a que estos compuestos no son ligandos específicos para los receptores en los que actúan y puedan estar interactuando con otro tipo de receptores a dosis mayores. Además, a dosis altas ( $\geq 30\text{mg/Kg}$ ) los compuestos sintetizados ya empiezan a mostrar notables efectos tóxicos en los animales tratados. Es importante señalar que algunos compuestos muestran efectos inmediatos en los animales, por lo que hace falta realizar algunos experimentos para confirmar que tanto afectan en el comportamiento normal de los animales y realizar una evaluación de los compuestos post-entrenamiento para cuantificar que tanto afecta este efecto inmediato a los compuestos en la realización de la prueba.

En la Figura 21, se muestran todos los compuestos juntos con el fin de realizar una mejor comparación de los efectos obtenidos, en esta claramente se muestra que el compuesto con mayor efecto es el 4-metoxi-2-metilfenilpiperazina, seguido de los compuestos: 3,1,7 y por último, el compuesto 4. Mientras que, los compuestos: 2, 5 y 8 no muestran ningún efecto nootrópico. En este gráfico se puede hacer una mejor comparación con los controles utilizados y se puede apreciar mejor que los efectos inmediatos de los compuestos no son tan significativos; a excepción de dosis altas donde si se observa un efecto tóxico considerable.

En un estudio realizado por Kuipers y colaboradores (1995), sus resultados demuestran que la sustitución de 2- o 3-metoxi en la estructura de fenilpiperazina incrementa la afinidad por el receptor 5-HT<sub>1A</sub>, siendo dos veces mayor en la posición 2. La adición de un grupo metoxi en la posición 4 es perjudicial para la afinidad del receptor 5-HT<sub>1A</sub>, indicando un severo impedimento estérico en esta posición. El análogo 2,3-dimetoxi es menos activo que el correspondiente a los compuestos monometoxi. Esta disminución puede explicarse por el impedimento estérico de los grupos CH<sub>3</sub> con algún sustituyente metoxi o el receptor (Kuipers *et al.*, 1995). Si asumimos que las fenilpiperazinas, son antagonistas de los receptores 5-HT y en base a los resultados de Kuipers, si la sustitución en 4 de un metoxi tiene menor afinidad por el receptor, explicaría que sea el compuesto con mayor actividad.

En un estudio realizado por Manetti y sus colaboradores (2000), encontró que al ir aumentando la cadena en la posición 4 del anillo de la fenilpiperazina aumenta la

## Evaluación de la actividad nootrópica de derivados de arilpiperazinas



A= Piracetam; B= p-bromofenilpiperazina; C= m-clorofenilpiperazina; D= p-clorofenilpiperazina; E= 3,5-diclorofenil piperazina; F= 3,4-(metilendioxi)fenilpiperazina; G= 4-metoxi-2-metilfenilpiperazina; H=1-naftilpiperazina; I= 3-nitrofenilpiperazina; J= Escopolamina.

**Figura 21. Comparación del efecto nootrópico entre compuestos.**

## **Evaluación de la actividad nootrópica de derivados de arilpiperazinas**

actividad de los compuestos, haciendo énfasis que al aumentar un metoxi en dicha posición se incrementaba notablemente la actividad.

Kuipers et al.,(1995), también encontró que la introducción de un grupo metilo o un átomo de Bromo en la posición 3 del compuesto disminuye la afinidad, en la posición 4, sólo un átomo pequeño como el Fluor se tolera. Como con la fenilpiperazinas no-sustituidas, la sustitución en 4-metoxi disminuye marcadamente la afinidad por el receptor 5-HT<sub>1A</sub>. Un grupo metilo o un átomo de bromo no es favorable en la posición 4 perdiendo la afinidad del receptor de 5-HT<sub>1A</sub>. Y volviendo a considerar lo anterior, también explicaría una respuesta positiva del compuesto con sustitución de Br en posición 4.

Los resultados obtenidos para la m-clorofenilpiperazina y 1-naftilpiperazina, son contradictorios a los reportados por Meneses (1998), en los que marca al primer compuesto como un atenuador de la memoria; sin embargo, en este trabajo se encontró que a pesar que no presenta efecto nootrópico, tampoco se puede afirmar que disminuya la retención de memoria, simplemente no presento efecto. En lo que respecta a la 1-Naftilpiperaziina dicho autor también la señala como un atenuador de la memoria a dosis de 1mg/Kg, encontrándose en este trabajo como el cuarto compuesto con mayor efecto a dicha dosis. Lo anterior puede deberse a que se utilizaron diferentes condiciones de prueba así como diferentes tiempos de administración de los compuestos, lo que puede dar resultados diferentes.

Cabe señalar que en los distintos resultados obtenidos para la meta y para-clorofenilpiperazina se puede observar cómo la misma molécula pero el radical cloruro en diferente posición de sustitución puede afectar la actividad tan notablemente; ya que una sustitución en posición 3 no muestra ninguna actividad pero si efectos tóxicos y la sustitución en posición 4 resulta en el segundo compuesto con mayor actividad nootrópica.

En el Cuadro 8 se presentan los dosis mínimas efectivas evaluadas en los experimentos (dosis más pequeña en la que se presenta el efecto), de los compuestos sintetizados y claramente se observa que el más potente corresponde al compuesto 6, ya a menor dosis 10 veces menor que el Piracetam, presento un efecto nootrópico 10 veces mayor; siendo el orden de potencia de los compuestos el siguiente: 6, 8, 4, 3 y por último; el compuesto 2, todos los compuestos anteriores presentaron efecto nootrópico a dosis 10 veces menores que la dosis mínima efectiva del Piracetam.

## Evaluación de la actividad nootrópica de derivados de arilpiperazinas

**Cuadro 8 Dosis Mínima Efectiva (MED)**

para las arilpiperazinas sintetizadas.

Compuesto	Dosis (mg/Kg)	Tiempo de Latencia inicial (s)	Tiempo de Latencia 24h (s)	Δ de latencia (s)
Piracetam	30	14 ± 5.44	51.95 ± 16.58	37.95
p-bromofenilpiperazina	5.6	10.8 ± 1.43	69.61 ± 24.74	58.81
m-clorofenilpiperazina	na	na	na	na
p-clorofenilpiperazina	3	10.36 ± 1.99	78.95 ± 8.44	68.59
3,5-diclorofenilpiperazina	2.4	10.44 ± 1.93	84.95 ± 9.70	74.51
3,4-(metilendioxi)fenilpiperazina	na	na	na	na
4-metoxi-2-metilfenilpiperazina	0.3	13.53 ± 3.39	60.77 ± 18.07	47.24
1-Naftilpiperazina	0.56	18.25 ± 3.82	75.69 ± 14.72	57.44
3-nitrofenilpiperazina	na	na	na	na

Nota: Δ de latencia: T. Latencia 24h-T.latencia inicial; na=no activo.

En el Cuadro 9 se presenta la dosis evaluada en el experimento en que los compuestos presentaron el mayor efecto y en ésta, se observa que el compuesto más potente y eficaz es el compuesto 6 ya que muestra el mayor efecto nootrópico obtenido a la dosis más pequeña. También, se puede observar que las dosis con mayor efecto de los compuestos sintetizados, son aproximadamente 10 veces menores que la dosis con mayor efecto del Piracetam y que a pesar de que no todos los compuestos presentan el mismo efecto o mayor a dichas dosis, los compuestos p-clorofenilpiperazina y 4-metoxi-2-metilfenilpiperazina superan la actividad del Piracetam.

En la Figura 22, se hace una comparación entre las Dosis mínimas efectivas y la dosis con mayor efecto obtenidas para las arilpiperazinas con efecto nootrópico, y se comparan con el Piracetam.

En este gráfico, podemos observar que todos los compuestos con actividad muestran mayor potencia que el piracetam a dosis al menos 10 veces menores que la DEM del Piracetam, y a pesar que no todos los compuestos muestran un efecto mayor obtenido con el Piracetam a su mayor dosis con efecto, tienen el mayor efecto obtenido a dosis 10 veces menor o menos.

**Evaluación de la actividad nootrópica de derivados de arilpiperazinas**

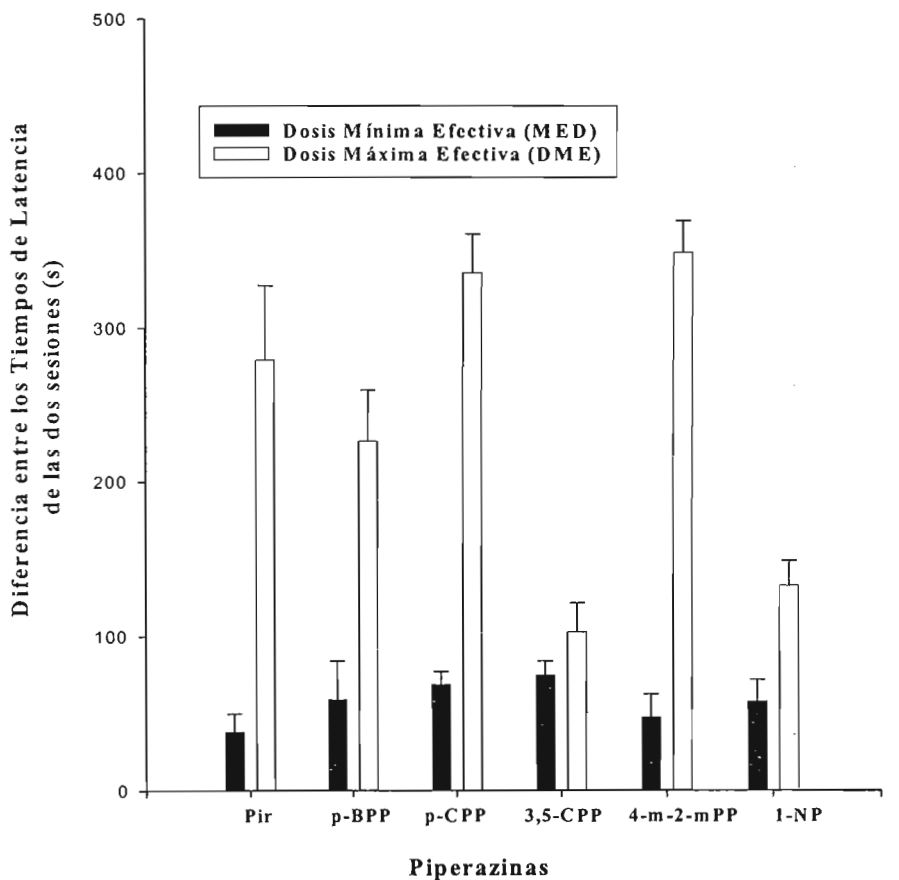
**Cuadro 9. Dosis con mayor efecto  
para las arilpiperazinas sintetizadas.**

Compuesto	Dosis (mg/Kg)	Tiempo de Latencia inicial (s)	Tiempo de Latencia 24h (s)	Δ de latencia (s)
Piracetam	100	17.94 ± 4.72	296.81 ± 49.38	278.87
p-bromofenilpiperazina	10	34.23 ± 3.11	260.37 ± 34.39	226.14
m-clorofenilpiperazina	na	Na	na	na
p-clorofenilpiperazina	10	18.76 ± 5.11	354 ± 22.23	335.24
3,5-diclorofenilpiperazina	3	18.96 ± 3.02	121.49 ± 18.86	102.53
3,4-(metilendioxi)fenilpiperazina	na	Na	na	na
4-metoxi-2-metilfenilpiperazina	0.56	40.23 ± 11.18	388.29 ± 19.22	348.06
1-Naftilpiperazina	1	10.3 ± 1.56	142.86 ± 15.81	132.56
3-nitrofenilpiperazina	na	Na	na	na

Nota: Δ de latencia: T. Latencia 24h-T.latencia inicial; na=no activo.

Por todo lo anterior, las arilpiperazinas sintetizadas muestran ser candidatos potenciales como compuestos nootrópicos en el aparato de evitación pasiva a las condiciones de trabajo empleadas en este experimento, por lo que se sugiere se prueben en otros modelos de memoria, así como obtener su perfil neurofarmacológico.

### Dosis Mínima Efectiva y Máxima Efectiva con Efecto Nootrópico



**Piperazinas**  
 Pir = Piracetam; MED= 30mg/Kg, DME=100mg/Kg  
 p-BPP = p-Bromofenilpiperazina; MED= 5.6mg/Kg, DME= 10mg/Kg  
 p-CPP = p-Clorofenilpiperazina; MED=3mg/Kg, DME=10mg/Kg  
 3,5-CPP = 3,5-diclorofenilpiperazina; MED=2.4mg/Kg, DME=3mg/Kg  
 4-m-2-mPP=4-metoxi-2-metilfenilpiperazina; MED=0.3mg/Kg; DME=0.56mg/Kg  
 1-NP = 1-naftilpiperazina; MED = 0.56mg/Kg, DME= 1mg/Kg

**Figura No. 22** Comparación de las Dosis Mínimas Efectivas y Máximas efectivas de las arilpiperazinas con efecto nootrópico.

## 9. CONCLUSIONES.

De este trabajo se desprenden las siguientes conclusiones:

1. De los compuestos sintetizados cinco presentaron efecto nootrópico: p-bromofenilpiperazina, p-clorofenilpiperazina, 3,5-diclorofenilpiperazina, 4-metoxi-2-metilfenilpiperazina y 1-naftilpiperazina; siendo el más activo el compuesto 4-metoxi-2-metilfenilpiperazina.
2. Los compuestos 2 (m-clorofenilpiperazina), 5 (3,4-(metilendioxi)fenilpiperazina) y 8 (3-nitrofenilpiperazina) no presentaron efecto nootrópico, pero sí mostraron efectos tóxicos considerables en dosis mayores a 30 mg/Kg.
3. Los compuestos con actividad nootrópica: p-bromofenilpiperazina, p-clorofenilpiperazina, 3,5-diclorofenilpiperazina, 4-metoxi-2-metilfenilpiperazina y 1-naftilpiperazina, mostraron mayor potencia que el control utilizado: el Piracetam y los compuestos: p-clorofenilpiperazina y 4-metoxi-2-metilfenilpiperazina mostraron una mayor eficacia.



## **Evaluación de la actividad nootrópica de derivados de arilpiperazinas**

---

### **10. B I B L I O G R A F Í A.**

- Aghajanian G, Andrade R(1997). Electrophysiology of 5-HT receptors. In: Baumgarten HG, Göther M, editors. *Serotonergic neurons and 5-HT receptors in the CNS*, Berlin: Springer, pp. 499-535.
- Aiello P, Ipponi A, Bartolini A, Schunack W(2000). Antiamnesic effect of metoprine and of selective histamine H<sub>1</sub> receptor agonists in a modified mouse passive avoidance test. *Neurosci. Lett.* 288, 1-4.
- Altman H, Normile H(1988). What is the nature of the role of the serotonergic nervous system in learning and memory? Prospects for development of an effective strategy for senile dementia. *Neurobiol. Aging.* 9, 627-38.
- Altman H, Stone W, Ögren S(1987). Evidence for a possible functional interaction between serotonergic and cholinergic mechanisms in memory retrieval. *Behav. Neural Biol.* 48, 49-62.
- Amaral D(1987). Memory: Anatomical organization of candidate brain regions. In *Handbook of Physiology: Nervous System.* Vol. V. *Higher functions of the brain* (Part. 1) Am Physiol Soc., Bethesda, MD. pp. 211-294.
- Anger D(1963). The role of temporal discrimination in the reinforcement of Sidman avoidance behavior. *J. Exp. Anal. Behav.* 6, 477-506.
- Ardila A (1985). Aspectos biológicos de la memoria y el aprendizaje. Ed. Trillas. México, pp 34-38.
- Azmitia E, Whitaker P(1997). Development and adult plasticity of 5-HT neurons and their target cell. In: Baumgarten H, ed. *5-HT neurons and 5-HT receptors in the CNS*, Berlin. p. 1-39, 49.
- Bailey C, Kandel E (1993). Structural changes accompanying memory storage. *Annu. Rev. Physiol.* 55, 397-426.
- Barbas D, Zappulla J, Angers S, Bourier M, Castellucci V, DesGroseillers L(2002). Functional characterization of a novel serotonin receptor (5-HT<sub>ap2</sub>) expressed in the CNS of *Aplysia Californica*. *J. Neurochem.* 80, 335-345.
- Barnes J, Barnes N, Costall B, Naylor R, Tyers M (1989). 5-HT<sub>3</sub> receptors mediate inhibition of acetylcholine release in cortical tissue. *Nature.* 338, 762-763.
- Barnes N, Sharp T(1999). A review of central 5-HT receptors and their functions. *Neuropharmacology.* 38, 1083-152.
- Bartus R, Dean III R, Beer B, Lippa A (1982). The cholinergic hypothesis of geriatric memory dysfunction. *Science.* 217, 408-414.
- Bartus R, Dean III, Sherman K, Friedman E, Beer B(1981). Profound effects of combining choline and piracetam on memory enhancement and cholinergic function in aged rats. *Neurobiol. Aging.* 2, 105-11.
- Baudry M (1998). Synaptic Plasticity and Learning and Memory: 15 Years of Progress. *Neurobiol. Learn. Mem.* 70, 113-118.
- Beatty W, Butters N, Janowsky D (1986). Memory failure after scopolamine treatment: implications for cholinergic hypothesis of dementia. *Behav. Neural Biol.* 45, 196-211.
-

## **Evaluación de la actividad nootrópica de derivados de arilpiperazinas**

---

- Bejar C, Wang R, Weinstock M (1999). Effect of rivastigmine on scopolamine-induced memory impairment in rats. *Eur. J. Pharmacol.* 383, 231-240.
- Bekkers J, Stevens C (1989). NMDA and non-NMDA receptors are co-localized at individual excitatory synapses in cultured rat hippocampus. *Nature.* 341, 230-233.
- Benzi G, Morreti A (1998). Is there a rationale for the use of acetylcholinesterase inhibitors in the therapy of Alzheimer's disease? *Eur. J. Pharmacol.* 346, 1-13.
- Bickford P (1993). Motor learning-deficits in aged rats are correlated with loss of cerebellar noradrenergic function. *Brain Res.* 620, 133-138.
- Blaker W, Cheney D, Gandolfi O, Costa E (1983) Simultaneous modulation of hippocampal cholinergic activity and extinction by intraseptal muscimol. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 225, 361-365.
- Blier, Lista, De Monigny (1993). Differential properties of pre- and postsynaptic 5-HT<sub>1A</sub> receptors in the dorsal raphe and hippocampus. 1. Effect of spiperone. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 265, 7-15.
- Bliss T, Collingridge G(1993). A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus. *Nature.* 378, 31-39.
- Blokland A(1996). Acetylcholine: a neurotransmitter for learning and memory? *Brain Res. Rev.* 21, 285-300.
- Bolanos F, Fillion G (1989). Minaprine antagonizes the serotonergic inhibitory effect of trifluoromethylpiperazine (TFMPP) on acetylcholine release. *Eur. J. Pharmacol.* 168, 87-92.
- Braida D, Paladini E, Griffini P, Lamperti M, Maggi A, Sala M(1996). An inverted U-shape curve for heptylphosphostigmine on radial maze performance in rats:comparison with other cholinesterase inhibitors. *Eur.J.Pharmacol.* 302, 13-20.
- Brooks A, Little J, Martin A, Minichiello M, Dubberts B, Mack C, Tune L, Murphy D, Sunderland T (1998).The Influence of Ondansetron and m-cpp on scopolamine-induced cognitive, behavioral and physiological responses in young healthy controls. *Soc. Biol. Psychiatry.* 43, 408-416.
- Brown T, Chapman P, Kairiss W, Keenan C (1988). Long-term synaptic potentiation. *Science.* 242, 724-728.
- Buhot M, Martin S, Segu L(2000). Role of serotonin in memory impairment. *Ann Med.* 32, 210-21.
- Bulbena A(1991). *Psicopatología de la memoria: Introducción a la psicopatología y la psiquiatría.* Vallejo Ruiloba J. Ed. Salvat., 3ra. Edición., Barcelona, pp 143-163.
- Buresova O, Bures J (1983). Learning and Memory. In: Bures, Buresova, Houston eds *Techniques and basic experiments for the study of brain and behaviour.* New York: Elsevier, 155-6.
- Cappelli A, Anzini M, Vomero S, Mennuni L, Makovec F, Doucet E, Hamon M, Menzini M, De Benedetti P, Giorgi G, Ghelardini C, Collina S(2002). Novel potent 5-HT<sub>3</sub> receptor ligands based on the pyrrolidone structure: Synthesis, biological evaluation and computational rationalization of the ligand-receptor interaction modalities. *Bioorg. Med. Chem.* 10, 779-801.

## **Evaluación de la actividad nootrópica de derivados de arilpiperazinas**

---

- Carpenter R (1986). *Neurofisiología*. Ed. El Manuel Moderno, S. A. de C. V.. México, D. F., pp. 361-366.
- Cassel J, Jeltisch H (1995). Serotonergic modulation of cholinergic function in the central nervous system: cognitive implications. *Neuroscience*. 69, 1-41.
- Centonze D, Picconi B, Gubellini P, Calabresi P (2001). Dopaminergic control of synaptic plasticity in the dorsal striatum. *Eur. J. Neurosci*. 13, 107-1077.
- Charney D, Woods S, Goodman W, Henninger G (1987). *Psychopharmacology*. 92,14.
- Chouinard G, Annable L, Ross-Chouinard A, Olivier M, Fontaine F(1983). Piracetam in elderly psychiatric patients with mild diffuse cerebral impairment. *Psychopharmacology*. 81, 100-106.
- Christoffersen G, Von Linstow E, Sandager K (1998). Effects of piracetam on the performance of rats in a delayed match-to-position task. *Prog. Neuro-Psychopharmacol. Biol. Psychiat*. 22, 211-228.
- Cohen M, Mason N, Schenck K (1986) *Life Sci*. 39, 2441.
- Cole B, Jones G, Turner J (1994). 5-HT<sub>1A</sub> receptor agonists improve the performance of normal and scopolamine-impaired rats in an operant delayed matching to position task. *Psychopharmacology*. 116, 135-42.
- Collerton D(1986). Cholinergic function and intellectual decline in Alzheimer's disease. *Neuroscience*. 19, 1-28.
- Costall B, Naylor R(1997). Neurophar. of 5-HT<sub>3</sub> receptors ligands. In: Baumgarten HG, Gother M, editors. *Serotonergic neurons and 5-HT receptors in the CNS*, Berlin: Springer, p. 409-38.
- Coyle J, Price D, DeLong M (1983) Alzheimer's disease: a disorder of central cholinergic innervation, *Science*. 219, 1184-1190.
- Croisile B, Trillet V, Ondarai J, Laurent B, Manguiere F, Billardon M (1993). Long-term and high dose piracetam treatment of Alzheimer's disease. *Neurology*. 43, 301-305.
- Das A, Shanker G, Nath C, Pal R, Sinah S, Singh H(2002). A comparative study in rodents of extracts of *B. monniera* and *G. biloba* anticholinesterase and cognitive enhancing activities. *Pharmacol. Biochem. Behav*. 73, 893-900.
- Dash P, Hochner B, Kandel E (1990). Injection of the cAMP-responsive element into the nucleus of *Aplysia* sensory neurons blocks long-term facilitation. *Nature*. 345, 718-721.
- Davidof F(1989). *Introducción a la psicología*, Editorial Mc Graw-Hill, México, pp, 30-45.
- Davies P (1981) Theoretical treatment possibilities for dementia of the Alzheimer types: the cholinergic hypothesis. In T.Crook and S. Gershon Ed. *Strategies for the Development of an effective treatment for senile dementia*, Mark Powley, New Caanan, C, pp, 19-32.
- Dávila E(2000)*Contexto educativo*. Revista General de educación y nuevas tecnologías, Costa Rica. pp. 50-67.
- Davis H, Squire L (1984). Protein synthesis and memory: A review. *Psychol. Bull*. 96, 518-559.

## **Evaluación de la actividad nootrópica de derivados de arilpiperazinas**

---

- Dawson G, Bentley G, Drapper F, Rycroft M, Iversen S, Pagella P(1991). The behavioral effects of heptylphosphostigmine, a new cholinesterase inhibitor, in tests of long-term and working memory in rodents. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 39, 865-871.
- Debnath B, Samanta S, Naskar S, Roy K , Jha T(2003). QSAR study of the affinity of some arylpiperazines towards the 5-HT<sub>1A/α1</sub>-adrenergic receptor using the E-state Index. *Bioorg. Med. chem. lett.* 13, 2837-2842.
- DeFord S, Wilson M, Gibson C, Baranova A, Hamm R(2001). Nefiracetam improves Morris water maze performance following traumatic brain injury in rats. *Pharmacol Biochem Behav.* 69, 611-616.
- Dijkstra G(1993). Conformational Análisis of 1-Arylpiperazines and 4-Arylpiperidines. *Recl. Trav. Chim. Pays- Bas*; 112, 151-160.
- Douglas R (1967) The hippocampus and behavior. *Psychol. Bull.* 67 416-422.
- Dundee J, Moore J, Nicholl R(1962). Studies of drugs given before anaesthesia: A method of preoperative assessment. *Br. J. Anaesth.* 34, 458-63.
- Eglen R, Wong E, Dumuis A, Bockaert J (1995). Central 5-HT<sub>4</sub> receptors. *TIPS* 16, 391-8.
- Eidi M, Zarrindast M, Eidi A, Oryan S, Parivar K(2003). Effects of histamine and cholinergic systems on memory retention of passive avoidance learning in rats. *Eur.J. Pharmacol.* 465, 91-96.
- Endou M, Kazuhiko Y, Sakurai E, Fukudo S, Hongo M, Watanabe T(2001). Food-deprive activity stress decreased the activity of the histaminergic neuron system in rats. *Brain Res.* 981, 32-41.
- Ennaceur A, Delacour J(1987). Effect of combined or separate administration of piracetam and choline on learning and memory in the rat. *Psychopharmacology.* 92, 58-67.
- Felinska W, Bien E (1991). Central pharmacological effects of long-term application of piracetam in rats. *Pol. J. Pharmacol. Pharm.* 43, 7-13.
- Figiber H (1991). Cholinergic mechanisms in learning, memory, and dementia: A review of recent evidence. *Trends Neurosci.* 14, 220-223.
- Fischer M, Nilsson O, Bjorklund A (1991).In vivo acetylcholinesterase as measured by microdialysis is unaltered in the hippocampus of cognitively impaired aged rats with degenerative changes in the basal forbrain *Brain Res.* 556, 44-52.
- Fletcher A, Forster E, Bill D, Brown G, Cliffe I, Hartley J, Jones D, Mclenacnan A, Stanhope K, Critchley D, Childs K, Middlefell V, Lanfumey L, Corradetti R, Laporte A, Gozlan H, Hamon M, Dourish C(1996). Electrophysiological, biochemical, neurohormonal and behavioral studies with WAY-100635, a potent selective and silent 5-HT<sub>1A</sub> receptor antagonist. *Behav. Brain Res.* 73, 337-53.
- Fletcher L(1997). Memories are made of this: the genetic basis of memory. *Mol. Med. T.* 429-434.
- Foltyn P, Lucker P, Schnitker J, Wetzelsberger N (1983). A test model for cerebrally active drugs as demonstrated by the example of the new substance aniracetam. *Arzneimittelforschung/Drug Res.* 33, 865-867.
-

## **Evaluación de la actividad nootrópica de derivados de arilpiperazinas**

---

- Fordyce D, Clark V, Paylor R, Wehner J (1995). Enhancement of hippocampally-mediated learning and protein kinase C activity by oxiracetam in learning-impaired DBA/2 mice. *Brain Res*: 672, 170-176.
- Francis P, Palmer A, Snape M, Wilcock G(1999). The cholinergic hypothesis of Alzheimer's disease: a review of progress. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*. 66, 137-147.
- Francis P, Pangalos M, Pearson R(1992). 5-HT<sub>1A</sub> but not 5-HT<sub>2</sub> recep. are enriched on neocortical pyramidal neurons destroyed by intrastriatal volkensin. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 261, 1273-81.
- Franklin S, Sethy V, Tang A(1986). Amnesia produced by icv injections of hemicolinium-3 in mice was prevented by pretreatment with piracetam-like compounds. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 25, 925-927.
- Freeman S, Dawson R (1991). Tacrine: A pharmacological review. *Prog. Neurobiol.* 36, 257-277.
- Frumier M, Herckar V, Jarvik M (1976). Amnesic actions of diazepam and scopolamine in man. *Anesthesiology*. 45, 406-410.
- Fuller R, Mason N, Molloy B (1980). *Biochem. Pharmacol*, 29, 833.
- Fuster J (1998). Distributed Memory for Both Short and Long Term. *Neurobiol. Learn. Mem.* 70, 268-274.
- Galeotti N, Ghelardini C, Bartolini A (1998). Role of 5-HT<sub>4</sub> receptors in the mouse passive avoidance test. *J Pharmacol Exp Ther.* 286, 1115-21.
- Ganong W (1996). *Fisiología Médica*, Ed. El manual Moderno, S. A. de C. V., 14 edición, México D. F., pp. 288-292.
- Ghelardini C, Galeotti N, Guallieri F, Romanelli M, Bucherelli C, Baldi E, Bartolini A (2002). DM235 (sunifram): a novel nootropic with potential as a cognitive enhancer. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol.* 365, 419-426.
- Ghoneim M (2004). Drugs and Human Memory (Part 1). *Anesthesiology*. 100: 987-1002.
- Gilli G, Bartolasi(1979).Crystal and molecular structures of 2,6,-*cis*-dimethylpiperidyl-*N*-phenylacetamide and 2,6-*cis*-dimethylpiperidyl-*N*-phenyl-2,2-dimethylpropionamide. An x-ray crystallographic investigation of the C(sp<sup>2</sup>)-N(piperidyl)bond. *J. Am. Chem. Soc.* 101, 7704-7711.
- Gini E, Sonnet J (1987) *Clin. Pathol.* 40, 99-102.
- Glennon R(1987).Central serotonin receptors as targets for drug research. *J. Med. Chem.*, 30, 1-12.
- Glennon R(1992). Concepts for the Design of 5-HT<sub>1A</sub> Serotonin Agonists and Antagonist. *Drug Dev. Res.*, 26, 251-274.
- Glennon R, Naiman A, Pierson M, Smith J, Ismarel A, Titeler M, Lyon R (1989). *N*-(Phthalimidoalkyl) derivatives of serotonergic agents: A common interaction at 5-HT<sub>1A</sub> serotonin binding sites? *J. Med. Chem.*, 32, 1921-1926.
- Gordon S (1988). *Neurobiology*, Oxford University Press, 2da. Edición, USA., pp. 584-610.
- Gouvaliev A, Senning A (1994). Piracetam and other structurally related nootropics. *Brain Res Rev.* 19, 180-222.
-

## **Evaluación de la actividad nootrópica de derivados de arilpiperazinas**

---

- Gower A (1992). 5-HT receptors and cognitive function. In: Marsden, ed. *Central 5-HT receptors and psychotropic drugs*, Oxford: Blackwell Scientific-Publications. p.239-59.
- Green J (1964) The hippocampus. *Physiol Rev.* 44, 561-608.
- Gross R (1998). *Psicología, la ciencia de la mente y la conducta*. Ed. Populares, México. pp.45-67.
- Gulat-Murray C, Lafitte A, Arrang J, Schwartz J (1989). Regulation of histamine release and synthesis in the brain by muscarinic receptors. *J. Neurochem.* 52, 248-254.
- Guy A, Gardner C, Green A (1984). The behavioral effects of RU24969, a suggested 5-HT<sub>1</sub> receptor agonist in rodents and the effect on the behaviour of treatment with antidepressants. *Neuropharmacol.* 23, 655-661.
- Guyton A (1997). *Tratado de Fisiología Médica*. Inter. Mc Graw-Hill, 9na. Ed. México. pp.654-657.
- Habib M (1994). *Bases del estudio neurológico*. Editorial Masson, Madrid. pp. 94-105.
- Han D (1992). *Pharmacognosy* 4th ed. Seoul: Dongmyungsa Press.pp. 34-36.
- Harder J, Kelly M, Cheng C, Costall B (1996). Combined pCPA and muscarinic antagonist treatment produces a deficit in rat water maze acquisition. *Pharmacol Biochem Behav.* 55, 61-5.
- Harel-Dupas C, Cloez I, Fillion G (1991). The inhibitory effect of TFMP on [<sup>3</sup>H] acetylcholine release in guinea pig hippocampal synaptosomes is mediated by a 5-HT<sub>1</sub> receptor distinct form 1A, 1B, and 1C subtypes. *J. Neurochem.* 56, 221-227.
- Hartikainen P, Soininen H, Reinikainen K, Sirvio J, Soikkeli R, Riekkinen P(1990). Neurot. markers in the cerebrospinal fluid of normal subjects. Effects of aging and other confounding factors. *J. Neural Transm. Gen Sect.* 84, 103-117.
- Harvey J (1996). Serotonergic regulation of associative learning. *Behav. Brain. Res.* 73, 47-50.
- Hasbroucq T, Rihet P, Blin O, Possamai C (1997). Serotonin and human information processing: fluoxetine can improve reaction time performance. *Neurosci Lett.* 229, 204-8.
- Hashimoto S, Inoue T, Koyama T (1999). Effects of conditioned fear stress on serotonin neurotransmission and freezing behavior in rats. *Eur J Pharmacol.* 378, 23-30.
- Heise G (1987). Facilitation of memory and cognition by drugs. *Trends Pharmacol Sci.* 8, 65-69.
- Hibert M, Middlemiss D, Fozard J (1987). The central 5-HT<sub>1A</sub> receptor: graphics computer-aided mapping of the agonist binding site. In *Brain 5-HT<sub>1A</sub> Receptors*, 1<sup>st</sup> ed.; Dourish, C., Ahlenius, S., Hutson, P., Eds.; Ellis Horwood Ltd.: Chichester, England, 1987; pp 27-33.
- Hinrichs J (1995). *Human learning, Experimental Psychology: Contemporary Methods and Applications*. By Levin I, Hinrichs J. Dubuque W. C. Brown Communications. pp 166-7.
- Hitzenberger G, Rameis H, Manigley C (1998). *CNS Drugs* 9 (Suppl. 1) 19-27.
- Hong E, Orozco G, Meneses A, Fillion G (1999). Effect of 5-HT-moduline, an endogenous peptide in associative learning. *Proc West Pharmacol.* 42, 37-38.
- Hoyer D, Martin G (1996). Classification and nomenclature of 5-HT receptors: a comment on current issues. *Behav Brain Res.* 73, 263-8.

## **Evaluación de la actividad nootrópica de derivados de arilpiperazinas**

---

- Huff J, King S, Saari W, Springer J, Martin G, Williams M (1985). Bioactive conformation of 1-aryl piperazines at central serotonin receptors. *J. Med. Chem.*, 28, 945-948.
- Isaacson R (1982) *The Limbic System*, Plenum. New York, pp, 327.
- Izquierdo I, Da-Silva R, Bueno M, Quillfeldt J, Medina J(1993). Memory expression of habituation and of inhibitory avoidance is blocked by CNQX infused into the entorhinal cortex. *Behav. Neural Biol.* 60, 5-8.
- Jackson M, Yakel J (1995). The 5-HT<sub>3</sub> receptor channels. *Annu. Rev. Physiol.* 57, 447-468.
- Jacobs B, Azmitia E(1992). Structure and function of the brain 5-HT system. *Physiol Rev.* 72, 1652-29.
- Jarvik M, Kopp R (1967). An improved one-trial passive avoidance learning situation. *Psychol. Rep.* 21, 221-224.
- Jerusalinsky D, Quillfeldt J, Walz R, Da Silva R, Silva M, Bianchin M, Schmitz P, Zanatta M, Ruschel A, Paezko N, Medina J, Izquierdo I (1994). Effect of the infusion of the GABA<sub>A</sub> receptor agonist, muscimol, on the role of the entorhinal cortex, amygdala, and hippocampus in memory processes. *Behav Neural Biol.* 61, 132-138.
- Jung D, Porzel A, Huneck S, (1991). Gigasol and other coumarins from *Angelica gigas*. *Phytochemistry.* 30, 710-712.
- Kang S, Lee K, Park M, Kim Y, Markelonis G, Oh T, Kim Y (2003). Decursin from *Angelica gigas* mitigates amnesia induced by scopolamine in mice. *Neurobiol. Learn. Mem.* 79, 11-18.
- Kang S, Lee K, Sung S, Park M, Kim Y (2001). Coumarins isolated from *Angelica gigas* inhibit acetylcholinesterase: structure-activity relationships. *J. Nat. Prod.* 64, 683-685.
- Kant J, Meininger G, Maughan K, Wright W(1996). Effects of the 5-HT receptor agonist 8-OH-DPAT and TFMPP on learning using a novel water maze. *Pharmacol Biochem Behav.* 53, 385-90.
- Kaplan, Sadock(1994). *Amnesic Disorders: Kaplan and Sadock's Synopsis of Psychiatry: Behavioral Sciences Clinical Psychiatry.* Published by Williams and Wilkins., Baltimore USA 7ta. Ed. pp 357-361.
- Kennett G (1993). 5-HT<sub>1C</sub> receptors and their therapeutic relevance. *Curr Opin Invest Drugs.* 2, 317-62.
- Khateb A, Fort P, Pegna A, Jones B, Mühlethaler M (1995). Cholinergic nucleus basalis neurons are excited by histamine in vitro. *Neuroscience.* 69, 495-506.
- King R, Glasser R (1970). Duration of electroconvulsive shock-induced retrograde amnesia in rats. *Psychol. Behav.* 5, 335-339,
- Kopelman M, Corn T (1988). Cholinergic blockade as a model of cholinergic depletion. *Brain.* 111, 1079-1110.
- Kuipers W, van Wijngaarden I, Kruse C, Amstei M, Tulp M, Ijzerman A. (1995). N<sup>1</sup>-Unsubstituted N<sup>1</sup>-Arylpiperazines as high-affinity 5-HT<sub>1A</sub> receptor ligands. *J. Med. Chem.*, 38, 1942-1954.
- Lapka R, Rejholec V, Smolid S (1990). Pharmacokinetics of piracetam in plasma and brain. *Activ. Nerv. Super.* 32, 58-59.
-

## **Evaluación de la actividad nootrópica de derivados de arilpiperazinas**

---

- Lashley K (1950). In search of the engram *Symp. Soc. Exp. Biol.* 4, 454-482.
- Le Merrer J, Nogues X. (2000). Cognitive neuropharmacology: New perspectives for the pharmacology of cognition. *Pharmacol Res.* 41, 503-14.
- Lechner H, Squire L, Byrne J (1999). One-hundred years of consolidation – remembering Muller and Pilzecker. *Learn. Mem.* 6, 77-87.
- Lee C, Benfield P(1994). Aniracetam: an overview of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and a review of its therapeutic potential in senile cognitive disorders. *Drugs Aging.* 4,257-273.
- Letty S, Child A, Dumuis A, Pantaloni A, Bockaert J, Rondouin G (1997). 5-HT<sub>4</sub> receptors improve social olfactory memory in the rat. *Neuropharmacol.* 36, 681-7.
- Leurs R, Smit M, Timmerman H (1995). Molecular pharmacological aspects of histamine receptors. *Pharmacol. Ther.* 66, 413-463.
- Levin E, Bowman R (1986). Scopolamine effects on Hamilton search task performance in monkeys. *Pharmacol Biochem Behav.* 24, 819-821.
- Lishman W(1992).Symptoms and syndromes with regional affiliations: Organic Psychiatry. *The Psychological consequences of cerebral disorder.* Ed. Blackwell S.P, 2da. Ed., Oxford, pp 26-36.
- Loscertales M, Rose S, Daisley J, Sandi C(1998).Piracetam facilitates LTM for a p.a. task in chicks through a mechanism that requires a brain corticosteroid action. *Eur. J Neurosci.* 10,2238-2243.
- Maina G, Fiori L, Torta R, Fagiani M, Ravizza L, Bonavita E, Ghiazza B, Teruzzi F, Zagnoni P, Ferano E (1989). Oxiracetam in the treatment of primary degenerative and multi-infarct dementia: a double-blind, placebo-controlled study. *Neuropsychobiology.* 21, 141-145.
- Malmberg-Aiello P, Ipponi A, Bartolini A, Schunack W (2000) Anti-amnesic effect of metoprine and of selective histamine H<sub>1</sub> receptor agonists in a modified mouse passive avoidance test. *Neurosci. Lett.* 288, 1-4.
- Manetti D, Ghelardini C, Bartolini A, Dei S, Galeotti N, Gualteri F, Romanelli M, Teodori E (2000). Molecular simplification of 1,4-diazabicyclo [4.3.0]nonan-9-ones gives piperazine derivatives that maintain high nootropic activity.*J. Med. Chem.*,43,4499-4507.
- Marchetti-Gauthier E, Roman F, Dumuis A, Bockaert J, Soumireu-Mourat B (1997). BIMU1 increase memory in rats by activating 5-HT<sub>4</sub> receptors. *Neuropharmacol.* 36, 697-706.
- Marrós F, Fornal C, Metzler C, Jacobs B (1996). 5-HT<sub>1A</sub> agonist induced hippocampal activity in freely moving cats: role of presynaptic 5-HT<sub>1A</sub> receptors. *Brain Res.* 739, 192-200.
- Martin G, Eglen R, Hamblin M, Hoyer D, Yocca F (1998). The structure and signaling properties of 5-HT receptors: and endless diversity? *Trends Pharmacol. Sci.* 19, 2-4.
- Martin G, Elgin R, Mathiasen R, Davis B, Kesslick M, Baldy J, Shanji P, DiEstefano L, Fedde L, Scott M (1989). Activity of aromatic substituted phenylpiperazines lacking affinity for DOP binding sites in a preclinical test of antipsychotic efficacy; *J. Med. Chem.*, 32, 1052-1056.



## **Evaluación de la actividad nootrópica de derivados de arilpiperazinas**

- Martin S, Grimwood P, Morris R (2000). Synaptic plasticity and memory: An evaluation of the hypothesis. *Annu. Rev. Neurosci.* 23, 649-711.
- Mayford M, Kandel E (1999). Genetic approaches to memory storage. *Trends Genet.* 15, 463-470.
- Mc Van B (1995) *Referencias Farmacéuticas*. Ed. El Manual Moderno, S.A. de C. V., México, D. F. pp 704-706.
- McNamara R, DePape G, Skelton R(1993). Differential effects of benzodiazepine receptor agonist on hippocampal long-term potentiation and spatial learning in the MWM. *Brain Res.* 62, 63-70.
- Means L, Comer T, Moore R (1991). BMY21502 and piracetam facilitate performance of two-choice win-stay water-escape in normal rats. *J. Neur. Transm.* 85, 109-116.
- Meltzer C, Smith G, Dekosky S, Pollock B, Mathis C, Moore R, Kupfer D, Reynolds C (1998). Serotonin in aging, late-life, depression and Alzheimer's disease: the emerging role of functional imaging. *Neropsychopharmacol.* 18, 407-30.
- Meneses A (1995). 5-HT receptors as targets for drugs in the treatment of learning and memory dysfunctions. *Curr Res Serotonin.* 3,214-35.
- Meneses A (1998). Physiological, pathophysiological and therapeutics roles of 5-HT systems in learning and memory. *Rev.Neurosci.* 9, 1-13.
- Meneses A (1999). 5-HT system and cognition, *Neurosci. Biobehav. Rev.* 23, 1111-1125.
- Meneses A (2001). Could the 5-HT<sub>1B</sub> receptor inverse agonism affect learning consolidation? *Neurosci. Biobehav. Rev.* 25, 191-201.
- Meneses A (2002). Involvement of 5-HT<sub>2A/2B/2C</sub> Receptors on Memory Formation: Simple Agonism, Antagonism, or Inverse Agonism? *Cel. Mol. Neurobiol.* 22, 675-688.
- Meneses A, Hong E (1997). A pharmacological analysis of serotonergic receptors: effects of their activation or blockade in learning. *Prog Neuropsychopharmacol Biol psychiatry.* 21, 273-296.
- Meyers B, Domino E (1964) The effect of cholinergic blocking drugs on spontaneous alternation in rats. *Arch. Int. Pharmacodyn.* 150, 525-529.
- Milner B, Corkin S, Teuber H(1998). Further analysis of the hippocampal amnesic syndrome: Fourteen year follow-up study of H. M. *Neuropsychologia.* 6; 215-34.
- Mingeot-Leclercq M, Lins L, Bensliman M, Thomas A, Bambeke K, Deuvot J, Schanck A, Brasseur R (2003). Piracetam inhibits the lipid-destabilising effect of the amyloid peptide A $\beta$  C-terminal fragment. *Biochim. Biophys. Acta.* 1609, 28-38.
- Miranda I, Ferreira G, Ramírez L, Bermudez F (2003) Role of cholinergic system on the construction of memories: Taste memory encoding. *Neurobiol. Learn. Mem.* 80, 211-222.
- Mokrosz J, Pietrasiewicz M, Duszynska B, Cegla M (1992). QSAR studies of CNS agents. Effect of the hydrocarbon chain on the affinity of 4-substituted 1-(3-chlorophenyl) pip. for 5-HT<sub>1A</sub> receptor site. *J. Med.Chem.*, 35, 2369-2374.
- Mondadori C (1994). In search of the mechanism of action of the nootropics: new insights and potential clinical implications. *Life Sci.* 55, 2171-2178.

## **Evaluación de la actividad nootrópica de derivados de arilpiperazinas**

---

- Mondadori C, Weiskrantz L (1993). NMDA receptor blockers facilitate and impair learning via different mechanisms. *Behav. Neural Biol.* 60, 205-210.
- Mondadori C, Ducret T, Häusler A (1992). Elevated corticosteroid levels block the memory-improving effects of nootropics and cholinomimetics. *Psychopharmacol.* 108, 11-15.
- Mondadori C, Petschke F (1987). Do piracetam-like compounds act centrally or via peripheral mechanisms? *Brain Res.* 435, 310-314.
- Monsma F, Yong Shen J, Ward R, Hamblini, Sibley D(1992). Cloning and expression of a novel serotonin receptor with high affinity for tricyclic psychotropic drugs. *Mol. Pharmacol.* 43, 320-327.
- Morreale A, Gálvez-R, Iriepa-C, Boyd B (1998). Arylpiperazines with serotonin-3- antagonist activity: A comparative molecular field analysis, *J. Med. Chem.* 41, 2029-2039.
- Morris R (1989). Synaptic plasticity and learning: selective impairment of learning in rats and blockade of LTP *in vivo* by an NMDA receptor antagonist AP5. *J. Neurosci.* 9, 3040-3057.
- Morris R (1983). Modelling amnesia and the study of memory in animals. *Trends Neurosci.* 6, 479-483.
- Muller W, Eckert G, Eckert A (1999). Piracetam: novelty in a unique mode of action. *Pharmacopsychiatry.* 32, 2-9.
- Munro C, Walling S, Evans J, Hartley C(2001). $\beta$ -adrenergic blockade in the dentate gyrus *in vivo* prevents high frequency-induced LTP of EPSP slope by not LTP of population spike amplitude.*Hippocampus.*11,322-328.
- Murray C, Fibriger H (1986). Pilocarpine and physostigmine attenuate spatial memory impairments produced by lesions of the nucleus basalis magnocellularis. *Behav. Neurosci.* 100, 23-32.
- Mutschler E (1995). *Drug Actions, Basic principles and therapeutic aspects*; Medpharm Scientific Publishers Stuttgart, Germany., pp. 141,246, 248,580.
- Myhrer T (2003). Neurotransmitter systems involved in learning and memory in the rat: a meta-analysis based on studies of four behavioral tasks. *Brain Res. Rev.* 41, 268-287.
- Nakashima E, Ishizaki J, Tadeka M, Matsushita R, Yokogawa K, Ichimura F (1993). Pharmacokinetics of anticholinergic drugs and brain muscarinic receptor alterations in streptozotocin diabetic rats. *Biopharm. Drug. Disp.* 14, 673-684.
- Nalini K, Karanth K, Rao A, Aroor A (1992). Effects of piracetam on retention and biogenic amine turnover in albino rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 42, 859-864.
- Nelson D (1991). Structure-Activity relationships at 5-HT<sub>1A</sub> receptors: binding profiles and intrinsic activity. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 40, 1041-1051.
- Nicholson C (1990). Pharmacology of nootropics and metabolically active compounds in relation to their use in dementia. *Psychopharmacology.* 101, 147-159.
- O'connor J, Rowan M, Anwyl R (1990). Actions of 5-HT<sub>1</sub> ligands on excitatory synaptic transmission in the hippocampus of alert rats. *Br. J Pharmacol.* 101, 171-7.

## **Evaluación de la actividad nootrópica de derivados de arilpiperazinas**

---

- O'Neill M, Fernandez A, Gristwood R, Palacios J (1994). Mecamylamine reverses physostigmine-induced attenuation of scopolamine-induced hyperactivity. *J Neural Trans.* 96, 9-18.
- Oepen G, Eisele K, Thoden U, Birg W (1985). Piracetam improves visuo-motor and cognitive deficits in early Parkinsonism – a pilot study. *Pharmacopsychiatry.* 18, 343-346.
- Ogren S (1982). Central serotonin neurons and learning in the rat. In: Osborne N, editor. *Biol. Serotonergic. Trans.* New York: Wiley, pp 317-334.
- Ohashi S, Matsumoto M, Otani H, Mori K, Togashi K, Veno K, Kaku A, Yoshioka M (2002). Changes in synaptic plasticity in the rat hippocampal-medial prefrontal cortex pathway induced by repeated treatments with fluvoxamine. *Brain Res.* 949,131.
- Okuyama S, Aihara H (1988). Action of nootropic drugs on transcallosal responses in rats. *Neuropharmacol.* 27, 67-72.
- Olton D (1983). Memory functions and the hippocampus, in: W. Seifer (Ed.), *Neurobiology of the Hippocampus*, Academic Press, New York. pp. 335-373.
- Page I, Wolford W, Corcoran A (1959). *Arch. Int. Pharmacodyn.* 119,214.
- Parnetti L, Senin U, Mecocci P (1997). Cognitive enhancement therapy for Alzheimer's disease. *Drugs.* 53, 752-768,
- Pedata F, Moroni F, Pepeu G (1984). Effect of nootropic agents on brain cholinergic mechanism. *Clin Neuropharmacol.* 7 (suppl. 1) 5416.
- Peroutka S (1993). 5-Hydroxytryptamina Receptors. *J. Neurochem.* 60, 408-416.
- Perrone P, Berardi F, Coalbufo N, Tortorella V, Olgiati V, Vanott E, Govoni S (1994). Mixed 5-HT<sub>1A</sub>/D-2 activity a new model of arilpiperazines. 1-aryl-4-(1,2-dihydronaphthalen-4-yl)-n-propylpiperazines.1.Synthesis and QSAR. 37, 99-104.
- Perry E, Perry R, Blessed G, Tomlinson B (1977). Necropsy evidence in cerebral cholinergic deficits in senile dementia. *Lancet.* 1, 189.
- Petkov V, Grahoska T, Petkov V, Kostantinova E, Stanchera S (1984). Changes in the brain biogenic monoamines of rats, induced by piracetam and aniracetam. *Acta Pysiol. Pharmacol. Bulg.* 10, 6-15.
- Piercey M, Vogelsang G, Franklin S, Tang A(1987). Reversal of scopolamine-induced amnesia and alterations in energy metabolism by the nootropic piracetam: implications regarding identification of brain structures involved in consolidation of memory traces. *Brain Res.* 424, 1-9.
- Pitsikas N, Algeri S (1992). Effect of oxiracetam on scopolamine-induced amnesia in the rat in a spatial learning task. *Pharmacol Biochem Behav.* 43, 949-951.
- Plasat J, Boschert U, Amlaiky N, Hen R (1992). The Mouse 5-HT<sub>5</sub> Receptor Reveals a Remarkable Heterogeneity within the 5-HT<sub>1D</sub> Receptor Family. *EMBO J.* 11, 4779-4786.
- Plich H, Müller W (1988). Piracetam elevates muscarinic cholinergic receptor density in the frontal cortex of aged but not of young mice. *Psychopharmacol.* 94, 74-78.
-

## **Evaluación de la actividad nootrópica de derivados de arilpiperazinas**

---

- Pollard H, Moreau J, Arrang J, Schwartz J (1993). A detailed autoradiographic mapping of histamine H<sub>3</sub> receptors in rat brain areas. *Neurosci.* 52, 169-189.
- Porsolt R, Lemaire M, Dürmüller N, Roux S (2002). New perspectives in CNS safety pharmacology. *Sci. Fundam. Clin. Pharmacol.* 16, 197-207.
- Prathiba J, Karanth D (1996) Effects of isolation-rearing on cholinergic receptor sensitivity and passive avoidance behavior in adult rats. *J Pharmacol.* 28, 261-264.
- Prast H, Tran M, Lamberti C, Fischer H, Kraus M, Grass K, Philippu A (1999). Histaminergic neurons modulate acetylcholine release in the ventral striatum: role of H<sub>1</sub> and H<sub>2</sub> receptors. *Naunyn. Schmiedeberg's. Arch. Pharmacol.* 360, 552-557.
- Prell C, Green J (1986). Histamine as a neuroregulator. *Annu. Rev. Neurosci.* 9, 209-254.
- Prelog V, Blazek Z (1934). Sur les pipérazines N-monoaryléées et leurs dérivés. *Collec. Czechoslov. Chem. Commun.*, 6, 211-224.
- Pugliese A, Corradetti R, Pepeu G (1989). Effect of the cognition enhancing agent oxiracetam on electrical activity of hippocampal slices (abstract). *Br J. Pharmacol.* 96, 80P.
- Rago L, Allikmets L, Zarkovsky A (1981). Effects of piracetam on the central dopaminergic transmission. *Arch. Pharmacol.* 318, 36-37.
- Rainer M (1997). Galanthamine in AD. A new alternative to tacrine? *CNS Drugs.* 7, 89-97.
- Ramirez M, Cenarruzabeitia E (1996). Involvement of GABA systems in acetylcholine release induced by 5-HT<sub>3</sub> receptor blockade in slices from rat entorhinal cortex. *Brain Res.* 712, 274-80.
- Rammsayer T, Rodewald S, Groh D (2000). Dopamine-antagonistic, anticholinergic, and GABAergic effects on declarative and procedural memory functions. *Cogn Brain Res.* 9, 61-71.
- Rang H, Dale M, Ritter J, Gardner P (1995) Neuroleptic Drugs. In: *Pharmacology* ed. Churchill Livingstone, USA, pp. 569.
- Riekkinen P, Riekkinen M, Lahtinen H, Sirvio A, Valjakka A, Riekkinen P(1991).Tetrahydro-aminoacridine improves passive avoidance retention defects induced by aging and medial septal lesion but not fimbria-fornix. lesion. *Brain Res. Bull.* 27, 587-594.
- Robinson S(1983). Effect of specific serotonergic lesions on cholinergic neurons in the hippocampus, cortex and striatum. *Life Sci.* 32, 345-353.
- Rojo M (1980). *Psicología y psicopatología de la percepción, memoria y fantasía.* Ed. Universitaria de Barcelona, EUNIBAR. Barcelona. Pp. 29-37.
- Rosenzweig M, Bennett E, Colombo P, Serrano P (1993). Short-term, intermediate-term and long-term memories. *Behav. Brain Res.* 57, 193-198.
- Satoh M, Ishihara K, Iwana T, Takagi H (1986). Aniracetam augments, and midazolam inhibits, the long-term potentiation in guinea-pig hippocampal slices. *Neurosci Lett.* 68, 216-220.
- Schlicker E, Malinowska B, Kathman M, Gothert M (1994). Modulation of neurotransmitter release via histamine H<sub>3</sub> heteroreceptors. *Fundam. Clin. Pharmacol.* 8, 128-137.
-

## **Evaluación de la actividad nootrópica de derivados de arilpiperazinas**

- Schwartz J, Arrang J, Garbarg M (1986). Three classes of histamine receptor in brain. *Trends Pharmacol. Sci.* 7, 24-28.
- Selkoe D (1997) *Science.* 275, 630-631.
- Selkoe D (2001) *Clin. Neurosc. Res.* 1, 91-103.
- Senin U, Abate G, Fieschi C, Gori G, Guala A, Marini G, Villardita C, Parnetti L (1991). Aniracetam (Ro 13-5057) in the treatment of senile dementia of Alzheimer type (SDAT): results of a placebo controlled multicentre clinical study. *Eur. Neuropsychopharmacology.* 1,511-517.
- Seva A (1979) *Psicología y Trastornos de Memoria: Psiquiatría Clínica.* Ed. Espaxs, Barcelona, pp 181-187.
- Shen Y, Monsma F, Metcalf M, Jose P, Hamblin M, Sibley D (1993). Molecular Cloning and Expression of a 5-HT<sub>7</sub> Serotonin Receptor Subtype. *J. Biol. Chem.*, 24, 18200-18204.
- Shih Y, Pugsley T (1985). The effects of various cognition-enhancing drugs on *in vitro* rat hippocampal synaptosomal sodium-dependent high affinity choline uptake. *Life Sci.* 36, 2145-2152.
- Silva A, Kogan J, Frankland P, Kida S (1998). CREB and memory. *Annu. Rev. Neurosci.* 21, 127-148.
- Sims A (1991) *Disturbance of Memory: Symptoms in the mind. An introduction to Descriptive Psychopathology.* Ed. Bailliere Tindall, London, pp. 11-17.
- Sirviö J, Riekkinen P, Jäkälä P, Riekkinen P (1996). Experimental studies on the role of serotonin in cognition. *Prog Neurobiol.* 43, 363-79.
- Smith P, MacLennan K, Darlington C (1996). The neuroprotective properties of the *G. biloba* leaf: a review of the possible relationship to platelet-activating factor. *J. Ethnopharmacol.* 50, 131-9.
- Smyth K, Sangha S, Lukowiak K (2002). Gone but not forgotten: the lingering effects of ITM on the persistence of long-term memory. *J. Exp. Biol.* 205, 131-140.
- Song C, Earley B, Leonard B (1997). Effect of chronic treatment with piracetam and tacrine on some changes caused by thymectomy in the rat Brain. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 56, 697-704
- Squire L, Davis H (1981). The pharmacology of memory: a neurobiological perspective. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 21, 323-356.
- Squire L, Kandel E (2000). *Memory: From Mind to Molecules.* New York, Scientific American Library, pp. 83-107.
- Squire L, Zola-Morgan S (1988). Memory: Brain systems and behavior. *Trends Neurosci.* 11, 170-175.
- Staubli U, Xu F (1995). Effects of 5-HT<sub>3</sub> receptor antagonism on hippocampal theta rhythm, memory and LTP induction in the freely moving rat. *J. Neurosci.* 15, 2445-52.
- Steckler T, Sahal A (1995). The role of serotonergic-cholinergic interactions in the mediation of cognitive behavior. *Behav Brain Res.* 67, 165-99.

## **Evaluación de la actividad nootrópica de derivados de arilpiperazinas**

---

- Stephen S (2003). The Quest for a Smart Pill. *Sci. Am.* 36-43.
- Stephenson R, Andrew R(1994). The effects of 5-HT receptor blockade on memory formation in chick. *Pharmacol Biochem Behav.* 48, 971-5.
- SUN (2004). *Avances en el IPN sobre el Alzheimer podrían controlar el mal*; El Nacional, Septiembre. pp 23B.
- Swartzwelder H, Tilson H, McLamb R, Wilson W (1987). Baclofen disrupts passive avoidance retention in rats. *Psychopharmacol.* 92, 398-401.
- Tacconi M, Wurtman R (1986). Piracetam: Physiological disposition and mechanism of action. *Adv. Neurobiol.* 43, 675-685.
- The Merck Index, an encyclopedia of chemicals, drugs, and biologicals. 12 ed. Merck Research Laboratories Division of Merck and Co., Inc, Whitehouse Station, NJ. 1996. pp. 1288,1444-1445.
- Tully T (1998). Toward a molecular biology of memory. The light's coming on. *Nature Neurosci.* 1, 543-545.
- Van Steen B, Wijngaarden I, Tulp M, Soudijin W (1993). QSAR studies on 5-HT<sub>1A</sub> receptor ligands heterobicyclic phenylpiperazines with N4-alkyl substituents. *J. Med. Chem.*, 36, 2751-2760.
- Van Wijngaarden I, Kruse C, van der Heyden J, Tulp M (1988). 2-Phenylpyrroles as conformationally restricted benzamide analogues. A new class of potential antipsychotics. *J. Med. Chem.*, 31, 1934-1940.
- Vázquez C (1990). Psicopatología de la memoria: *Psicología Médica, Psicopatología, y Psiquiatría*. Editores Fuentenebro F. y Vázquez C. Ed. Interamericana, Madrid, pp 507-535.
- Verloes R, Scotto A, Gobert J, Wulfert E (1988). Effects of nootropic drugs in scopolamine-induced amnesia model in mice. *Psychopharmacol.* 95, 226-230.
- Vernon N, Sorkin E (1991). Piracetam. An overview of its pharmacological properties and a review of its therapeutic use in senile cognitive disorders. *Drug. Aging.* 1,17-35.
- Wang F, Matsuoka N, Mutoh S, Kaneko S (2004). Modulation of Ca<sup>2+</sup> channel currents by a novel antidementia drug *N*-(4-Acetyl-1-piperazinyl)-*p*-fluorobenzamide monohydrate (FK960) in rat hippocampal neurons. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 308, 120-126.
- Watts J, Stevens R, Robinson C (1981). Effects of scopolamine on radial maze performance in rats. *Physiol. Behav.* 26, 845-851.
- Weingartner H (1985). Models of memory dysfunctions. *Ann N Y Acad Sci.* 444, 359-69.
- Weksler M, Tsuda T, Kim Y, Siskind G (1990). Immunobiology of aging and cancer. *Cancer Detect. Prev.* 14, 609-611.
- Whitehouse p, Price D, Struble R, Clark A, Coyle J, DeLong M. (1982) Alzheimer's disease and senile dementia: loss of neurons in the basal forebrain. *Science.* 215, 1237-1239.
- Wilcock G, Esiri M, Bowen D, Smith C (1982). AD: correlation of cortical choline acetyltransferase activity with the severity of dementia and histological abnormalities. *J. Neurol. Sci.* 57, 407-417.

## **Evaluación de la actividad nootrópica de derivados de arilpiperazinas**

---

- Wu C, Hsieh M, Huang S, Peng W, Chang Y, Chen C (1996). Effects of *Gastrodia elata* and its active constituents on scopolamine-induced amnesia in rats. *Plant Med.* 62, 317-321.
- Yamazaki Y, Hamaue N, Sumikawa K (2002). Nicotine compensates for the loss of cholinergic function to enhance long-term potentiation induction. *Brain Res.* 946, 148-152.
- Yin J, Del Vecchio M, Zhou H, Tully T (1995). CREB as a memory modulator: induced expression of a dCREB2 activator isoform enhances long-term memory in *Drosophila*. *Cell.* 81, 107-115.
- Zifa E, Fillion G (1992). 5-Hydroxytryptamine receptors. *Pharmacol Rev.* 40, 401-58.

# **APÉNDICE 1**

**Certificado de Salud de los Ratones ICR**



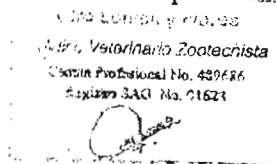
## CERTIFICADO DE SALUD

En cumplimiento de la normatividad vigente, por este conducto certifico que los animales aquí descritos se encontraron sanos, libres de enfermedades infectocontagiosas y de ectoparásitos.

Estos animales fueron producidos y mantenidos en el Centro UNAM-Harlan de Producción de Animales de Laboratorio, un Sistema de Barrera que brinda las condiciones técnica y científicamente óptimas, para la crianza de animales de laboratorio Libres de Patógenos Específicos (SPF). Los animales de cada una de las Barreras Harlan, se evalúan periódicamente en la Missouri University y los resultados son publicados periódicamente. Se anexa Reporte de Constatación del Estado de Salud.

Especie	Cantidad	Cepa	Edad/Peso	Sexo
Ratón	70	Hsd: ICR	25-30g	Machos

Veterinario Responsable:



Fecha: 21 de septiembre de 2005

Dr. Ciro Lomeli y Flores  
Director General

## Reporte de constatación del estado de salud

Ubicación: Harlan México, Barrera 655  
 Fecha de emisión del reporte: Junio.

Especie: Ratón  
 Cepas: Hsd:ICR (CD-1); BALB/cAnNHsd;  
 C57BL/6NHsd; CB6F1/Hsd

Referencia No.	Frecuencia de la prueba	Prueba más reciente		Diagnóstico		Resultado últimos 18 meses
		Fecha	Resultado <sup>(a)</sup>	Laboratorio	Método	
<b>SEROLOGÍA</b>						
Virus de la Hepatitis del Ratón (MHV)	Bimestral	mar-05	0/11	MURADIL	ELISA	0/99
Mycoplasma pulmonis	Bimestral	mar-05	0/11	MURADIL	ELISA	0/99
Virus Sendai	Bimestral	mar-05	0/11	MURADIL	ELISA	0/99
Virus de la Neumonía del Ratón (PVM)	Bimestral	mar-05	0/11	MURADIL	ELISA	0/99
Virus Diminuto del Ratón (MVM) MMV	Bimestral	mar-05	0/11	MURADIL	ELISA	0/99
Parvovirus del Ratón (MPV)	Bimestral	mar-05	0/11	MURADIL	ELISA	0/99
Virus de la Encefalomielitis de Theiler (TMEV)	Bimestral	mar-05	0/11	MURADIL	ELISA	0/99
Reovirus 3 (REO-3)	Bimestral	mar-05	0/11	MURADIL	ELISA	0/99
Rotavirus del Ratón (EDiM)	Bimestral	mar-05	0/11	MURADIL	ELISA	0/99
Virus de la Viruela del Ratón (Ectromelia)	Bimestral	mar-05	0/11	MURADIL	ELISA	0/99
Virus de la Coriomeningitis Linfocítica (LCM)	Bimestral	mar-05	0/11	MURADIL	ELISA	0/99
Adenovirus Murino (MAo)	Bimestral	mar-05	0/11	MURADIL	ELISA	0/99
Polyomavirus del Ratón	Cuatrimestre	mar-05	0/11	MURADIL	ELISA	0/66
Cytomegalovirus del Ratón (MCMV)	Cuatrimestre	mar-05	0/11	MURADIL	ELISA	0/66
Virus Hantaan	Cuatrimestre	mar-05	0/11	MURADIL	ELISA	0/66
Encefalitozoon cuniculi	Cuatrimestre	mar-05	0/11	MURADIL	ELISA	0/66
Clostridium pillforme (Tyzzer's)	Cuatrimestre	mar-05	0/11	MURADIL	ELISA	0/66
Virus K	Cuatrimestre	mar-05	0/11	MURADIL	ELISA	0/66
Virus incrementador de la Deshidrogenasa Láctica (LDEV)	Cuatrimestre	mar-05	0/11	MURADIL	ELISA	0/66
Virus del Timo del Ratón (MTV)	Cuatrimestre	mar-05	0/11	MURADIL	ELISA	0/66
<b>PCR</b>						
Mycoplasma pulmonis	Cuatrimestre	mar-05	0/11	MURADIL	PCR	0/66
Helicobacter spp <sup>(b)</sup>	Bimestral	mar-05	0/11	MURADIL	PCR	0/99
<b>MICROBIOLOGÍA</b>						
Salmonella sp	Bimestral	mar-05	0/11	MURADIL	Cult Aer y 7% CO2	0/99
Corynebacterium kutscheri	Bimestral	mar-05	0/11	MURADIL	Cult Aer y 7% CO2	0/99
Bordetella bronchiseptica	Bimestral	mar-05	0/11	MURADIL	Cult Aer y 7% CO2	0/99
Streptococcus zooepidemicus	Bimestral	mar-05	0/11	MURADIL	Cult Aer y 7% CO2	0/99
Streptococcus moniliformis	Bimestral	mar-05	0/11	MURADIL	Cult Aer y 7% CO2	0/99
Streptococcus sp Grupo B Beta	Bimestral	mar-05	0/11	MURADIL	Cult Aer y 7% CO2	0/99
Streptococcus pneumoniae	Bimestral	mar-05	0/11	MURADIL	Cult Aer y 7% CO2	0/99
Pasteurella pneumotropica	Bimestral	mar-05	0/11	MURADIL	Cult Aer y 7% CO2	0/99
Citobacter rodentium (Biotipo 4280)	Bimestral	mar-05	0/11	MURADIL	Cult Aer y 7% CO2	0/99
Pseudomonas aeruginosa	Bimestral	mar-05	0/11	MURADIL	Cult Aer y 7% CO2	0/99
<b>PARASITOLOGÍA</b>						
Ectoparásitos	Bimestral	mar-05	0/11	MURADIL	Micros.	0/99
Endoparásitos	Bimestral	mar-05	0/11	MURADIL	Micros.	0/99
<b>HISTOPATOLOGÍA</b>						
Ciego	Cuatrimestre	mar-05	0/11	MURADIL	Patología	0/66
Colon	Cuatrimestre	mar-05	0/11	MURADIL	Patología	0/66
Hígado	Bimestral	mar-05	0/11	MURADIL	Patología	0/99
Pulmón	Cuatrimestre	mar-05	0/11	MURADIL	Patología	0/66
Lesiones	Bimestral	mar-05	0/11	MURADIL	Patología	0/99

(a) Incluye animales adultos y recién destetados

(b) Incluyendo: H. hepaticus; H. bilis; H. rodentium; H. typhlonius; H.sp

MURADIL = Missouri University Research Animal Diagnostic Laboratory, Saint Louis, MO.

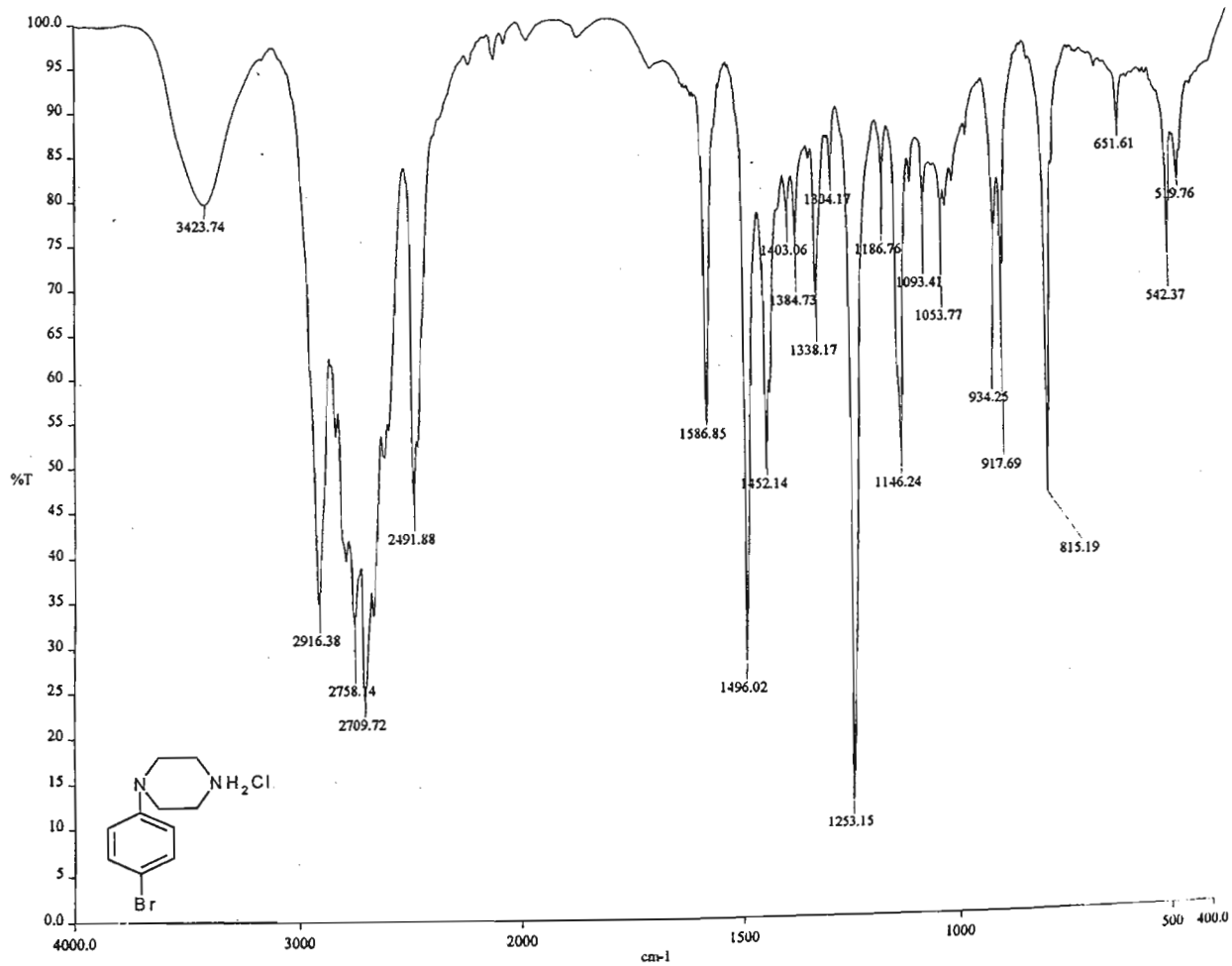
ELISA = Enzyme Linked Immunosorbent Assay

PCR = Polymerase Chain Reaction

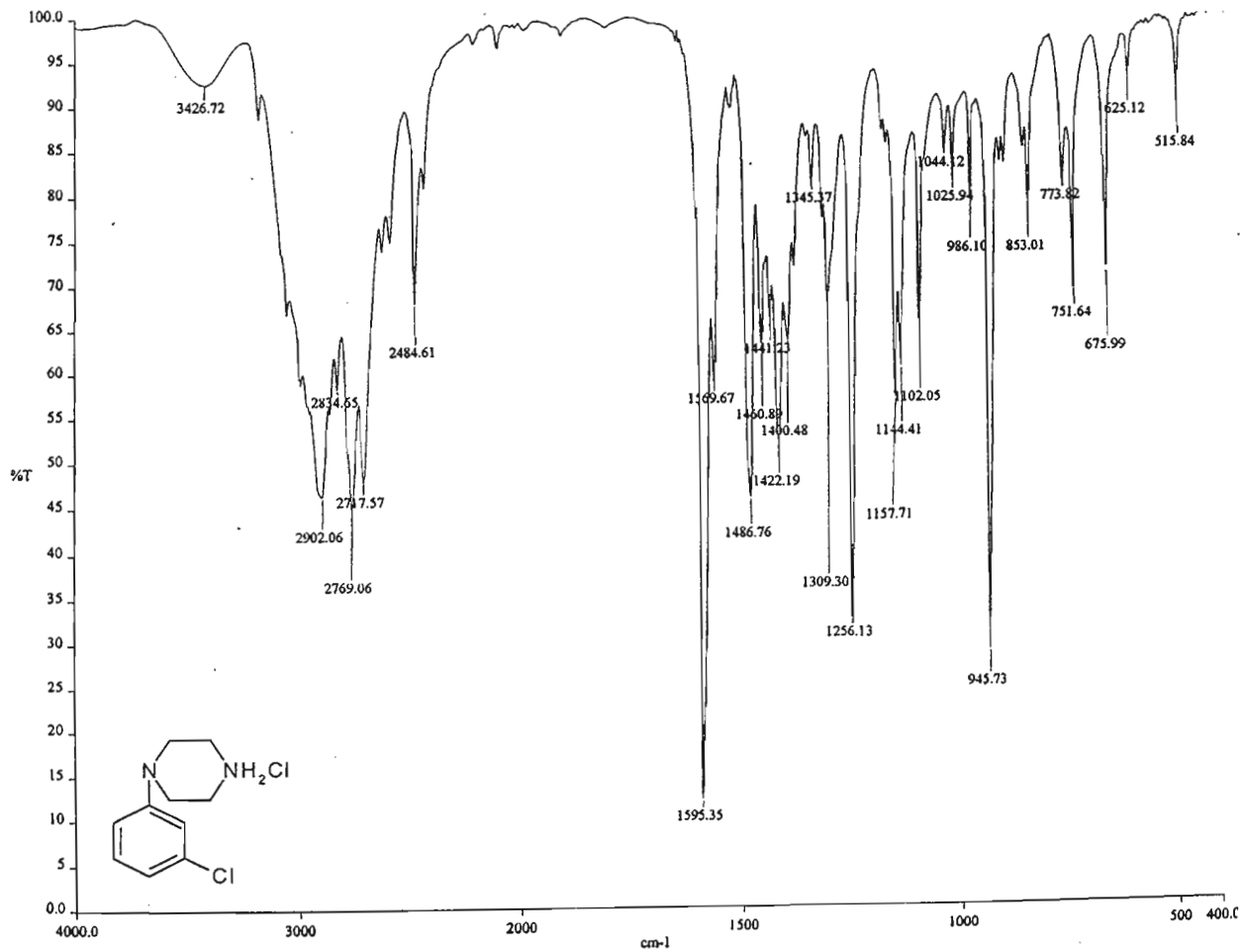
Microscopia = Examen del pelaje; de los contenidos duodenal y cecal; impresiones perianales en cinta de celofán.

# **APÉNDICE 2**

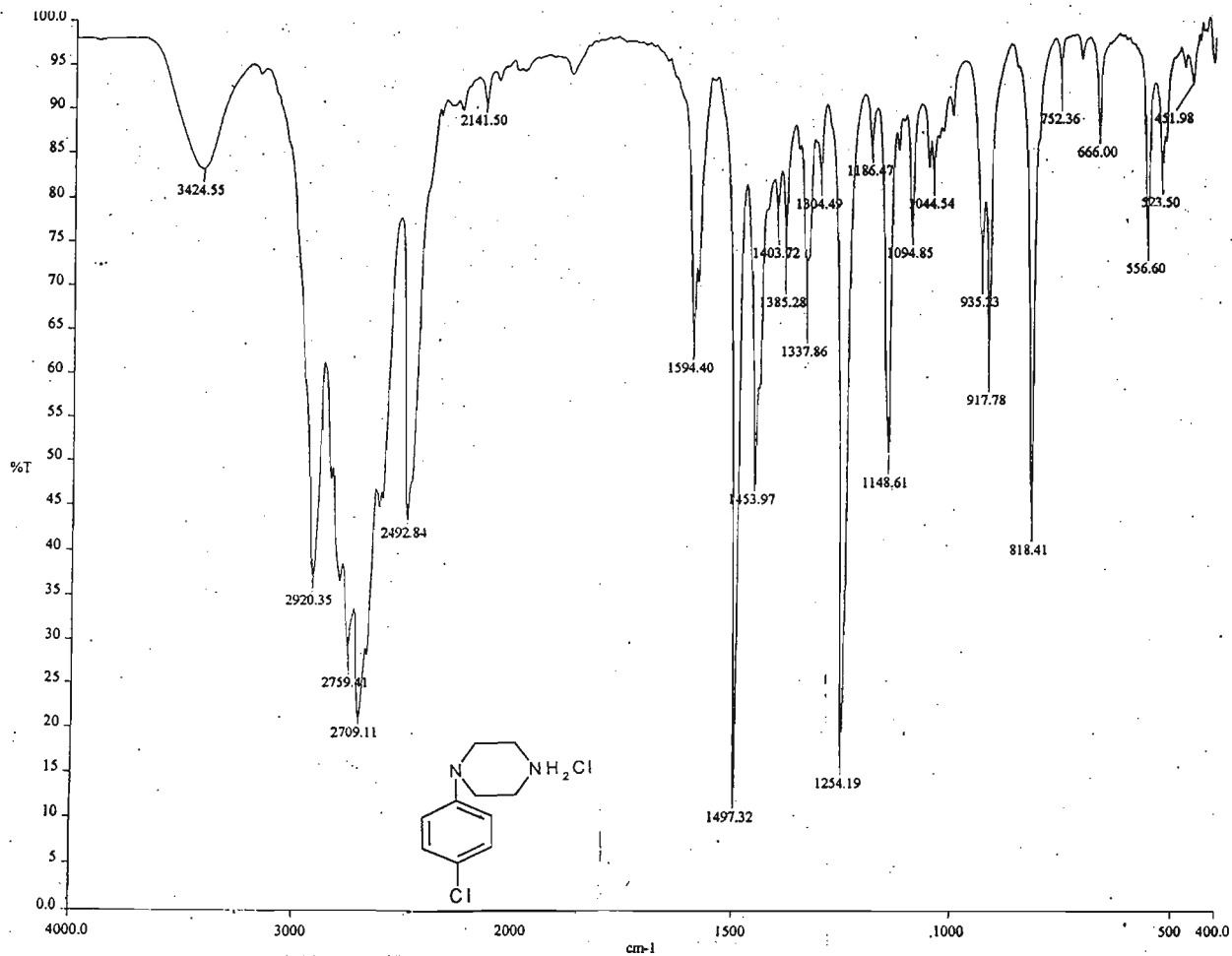
## **Espectros de Arilpiperazinas**



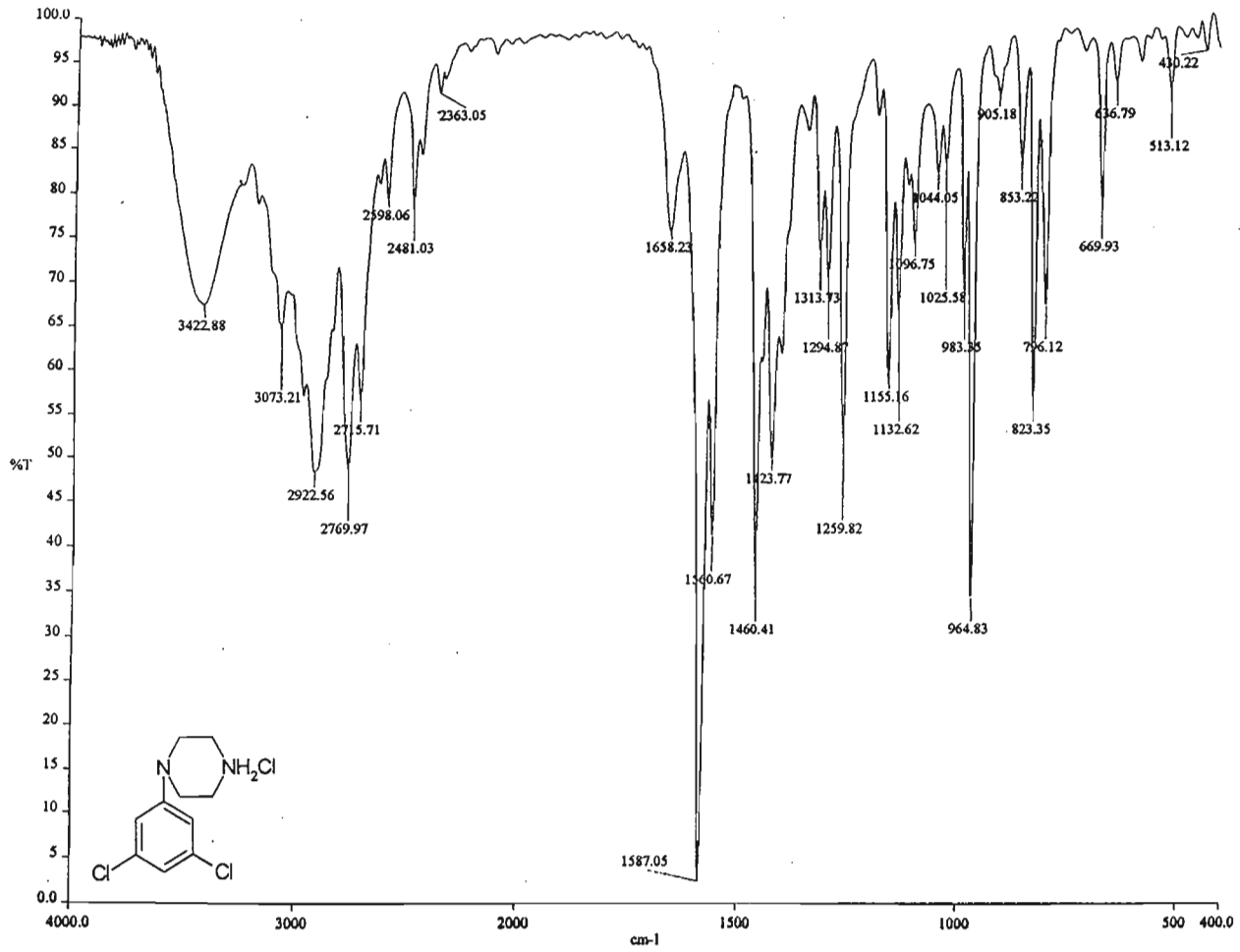
Espectro IR (pastilla de KBr) de p-bromofenilpiperazina



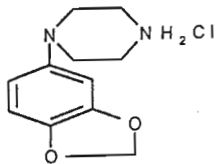
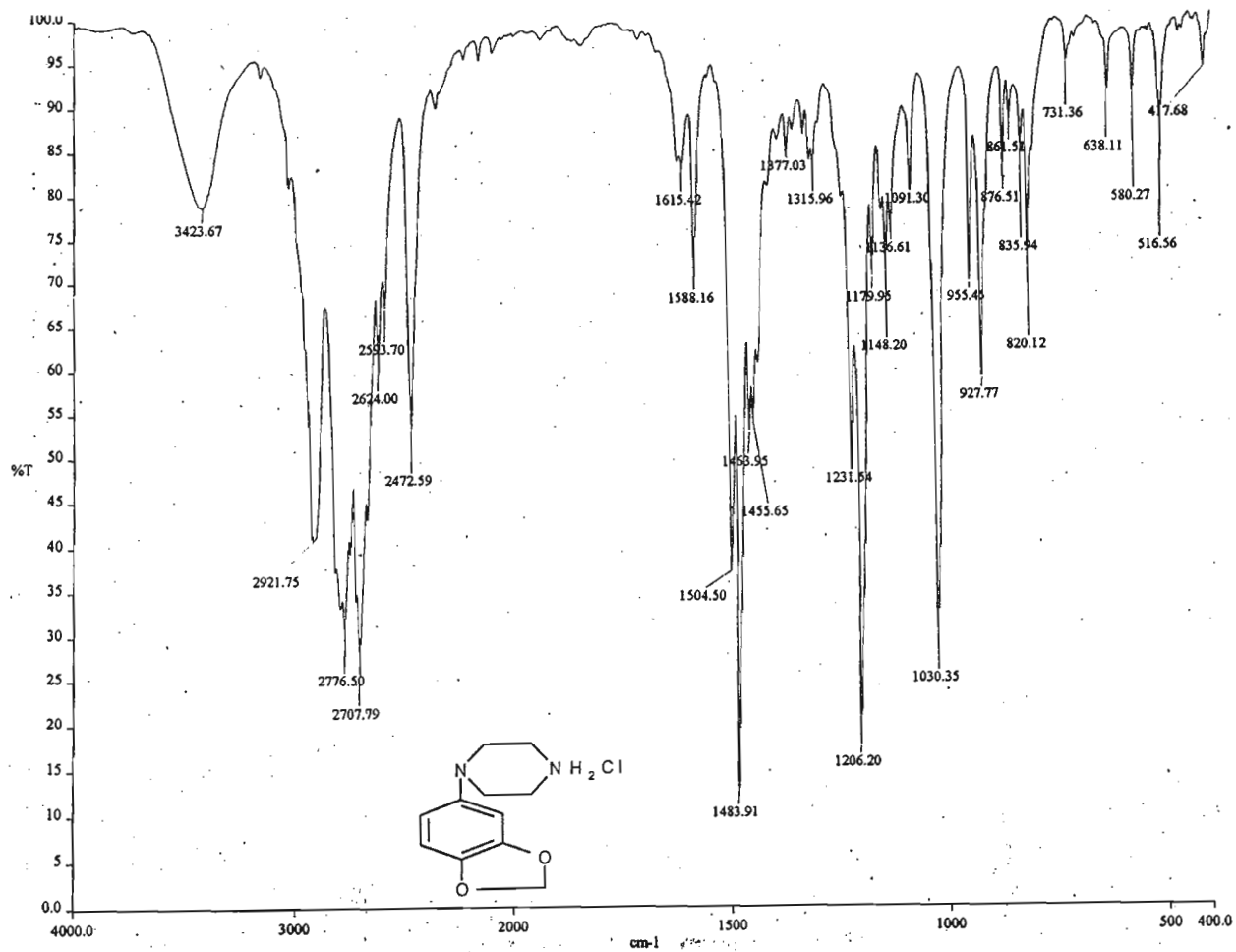
Espectro IR (pastilla de KBr) de m-clorofenilpiperazina



Espectro IR (pastilla de KBr) de p-clorofenilpiperazina

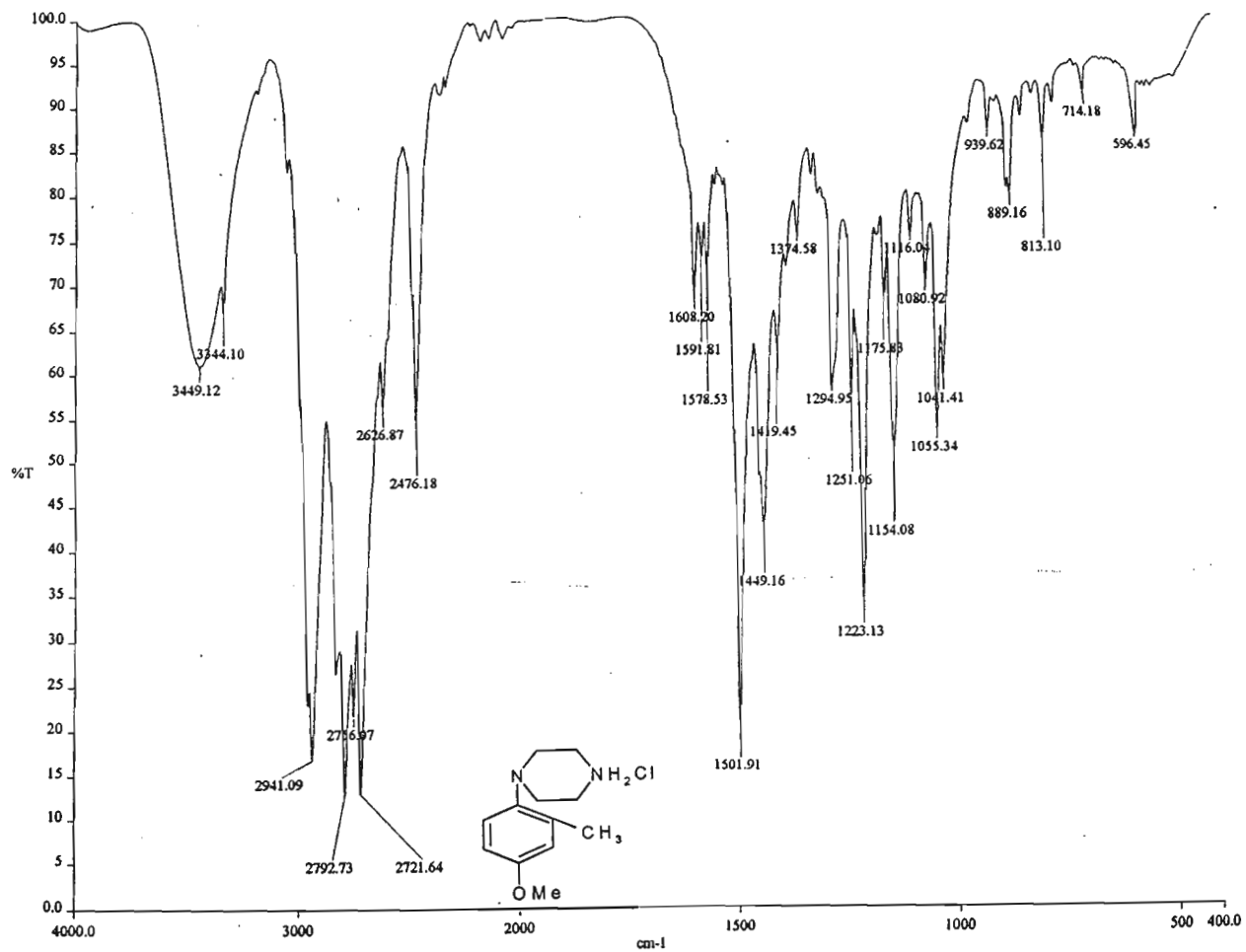


Espectro IR (pastilla de KBr) de 3,5-diclorofenilpiperazina

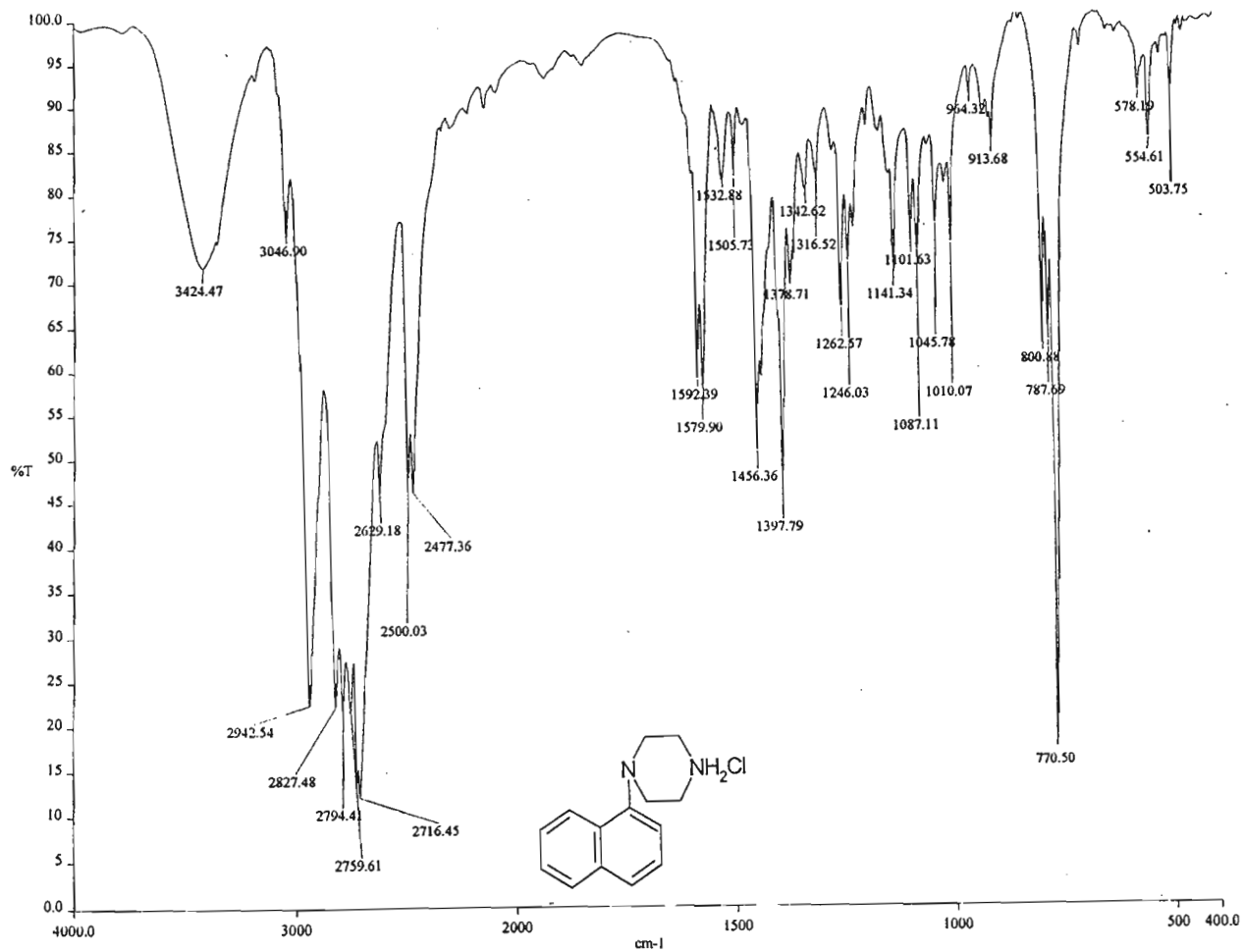


Espectro IR (pastilla de KBr) de 3,4-(metilendioxi)fenilpiperazina

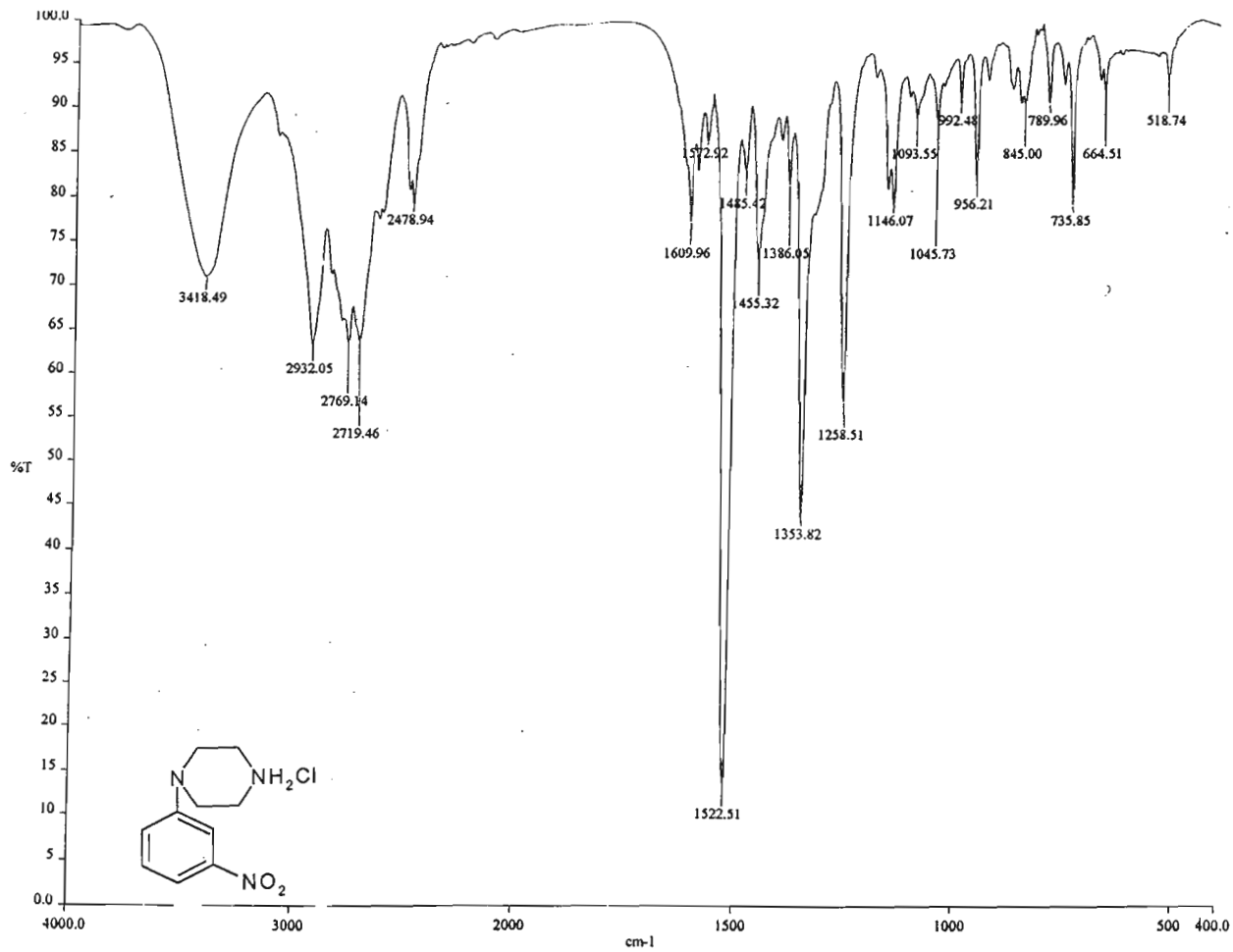




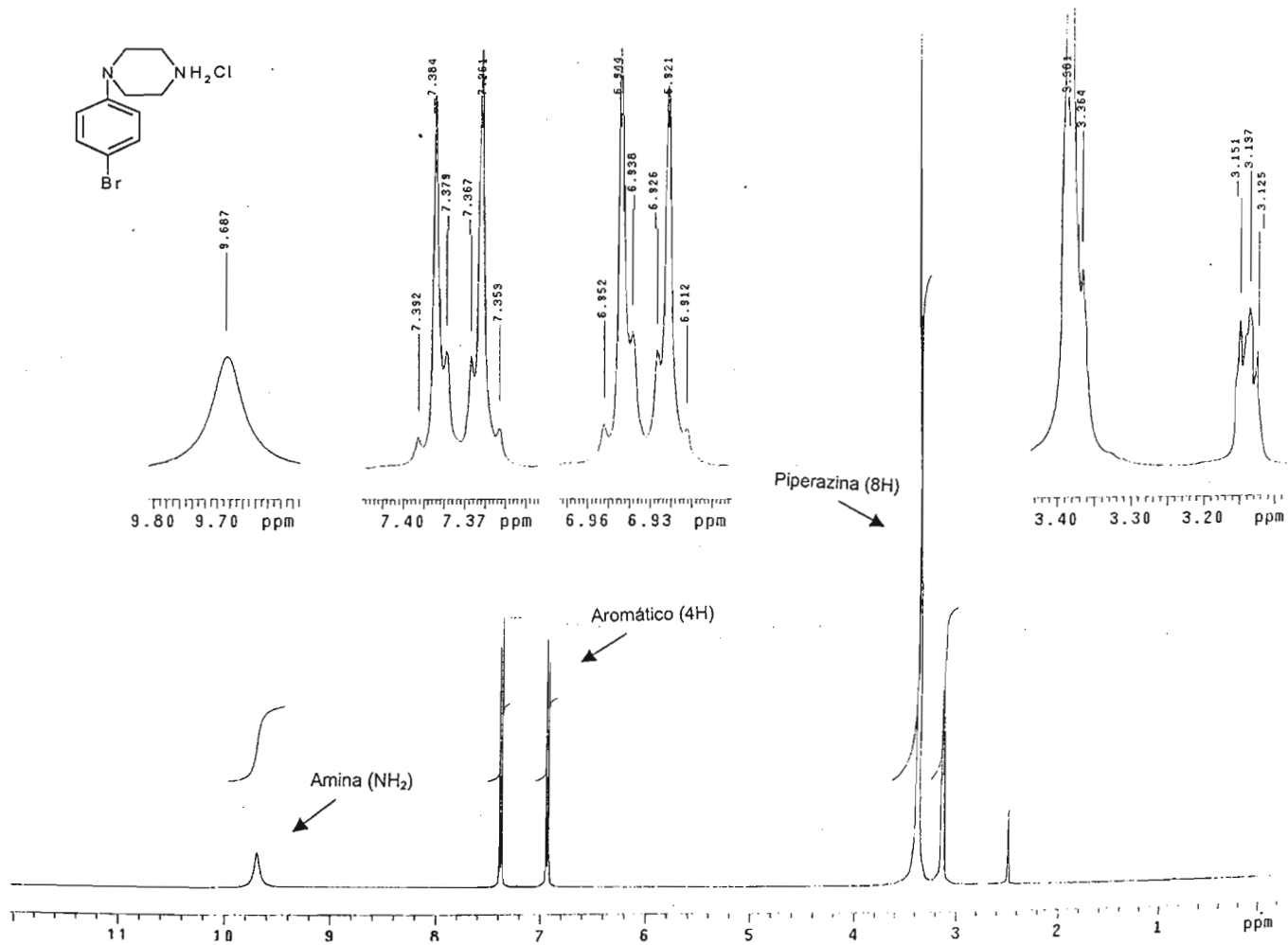
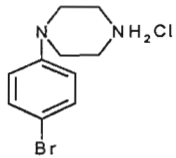
Espectro IR (pastilla de KBr) de 4-metoxi-2-metilfenilpiperazina



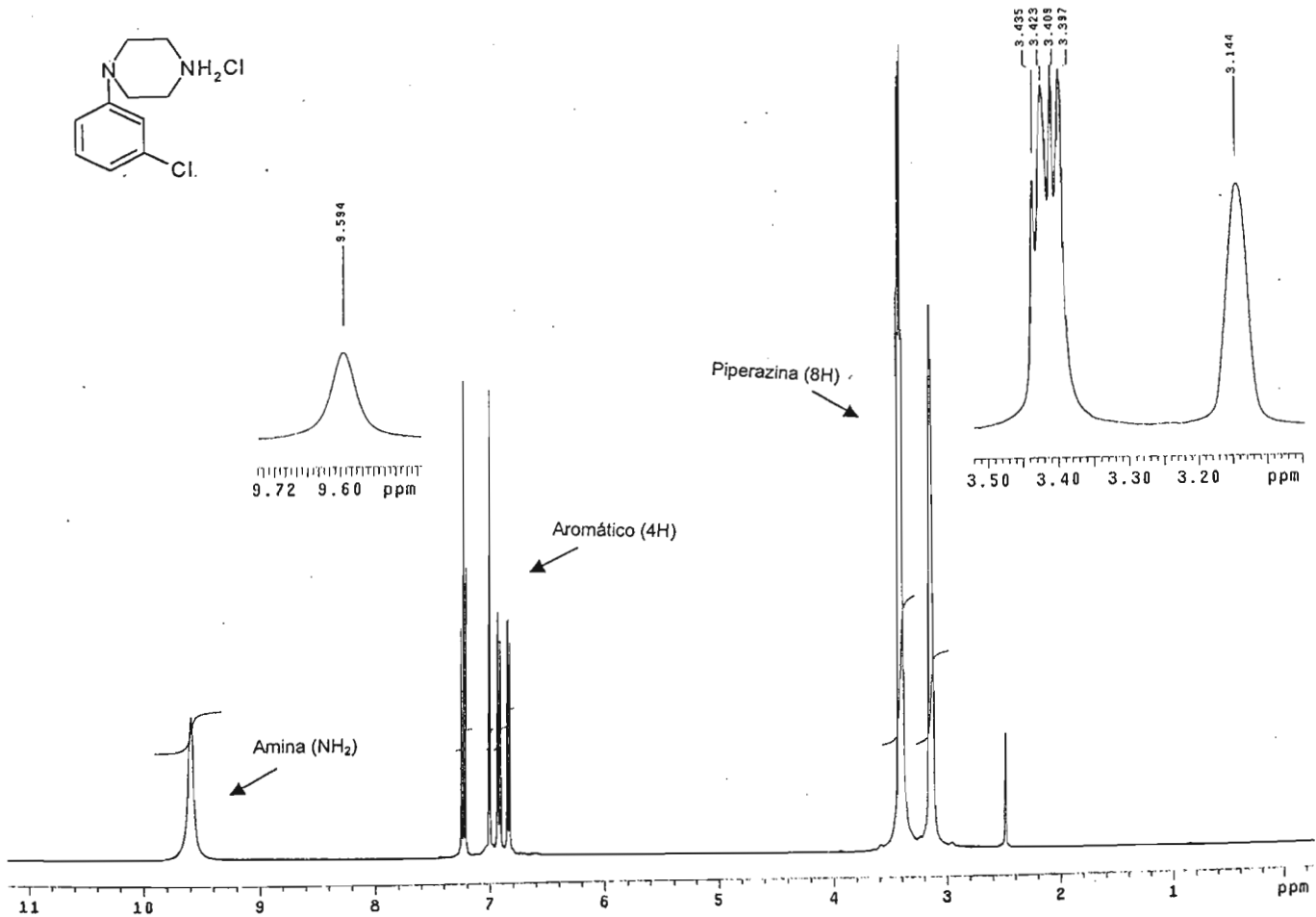
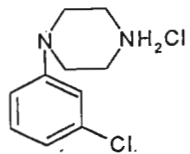
Espectro IR (pastilla de KBr) de 1-naftilpiperazina



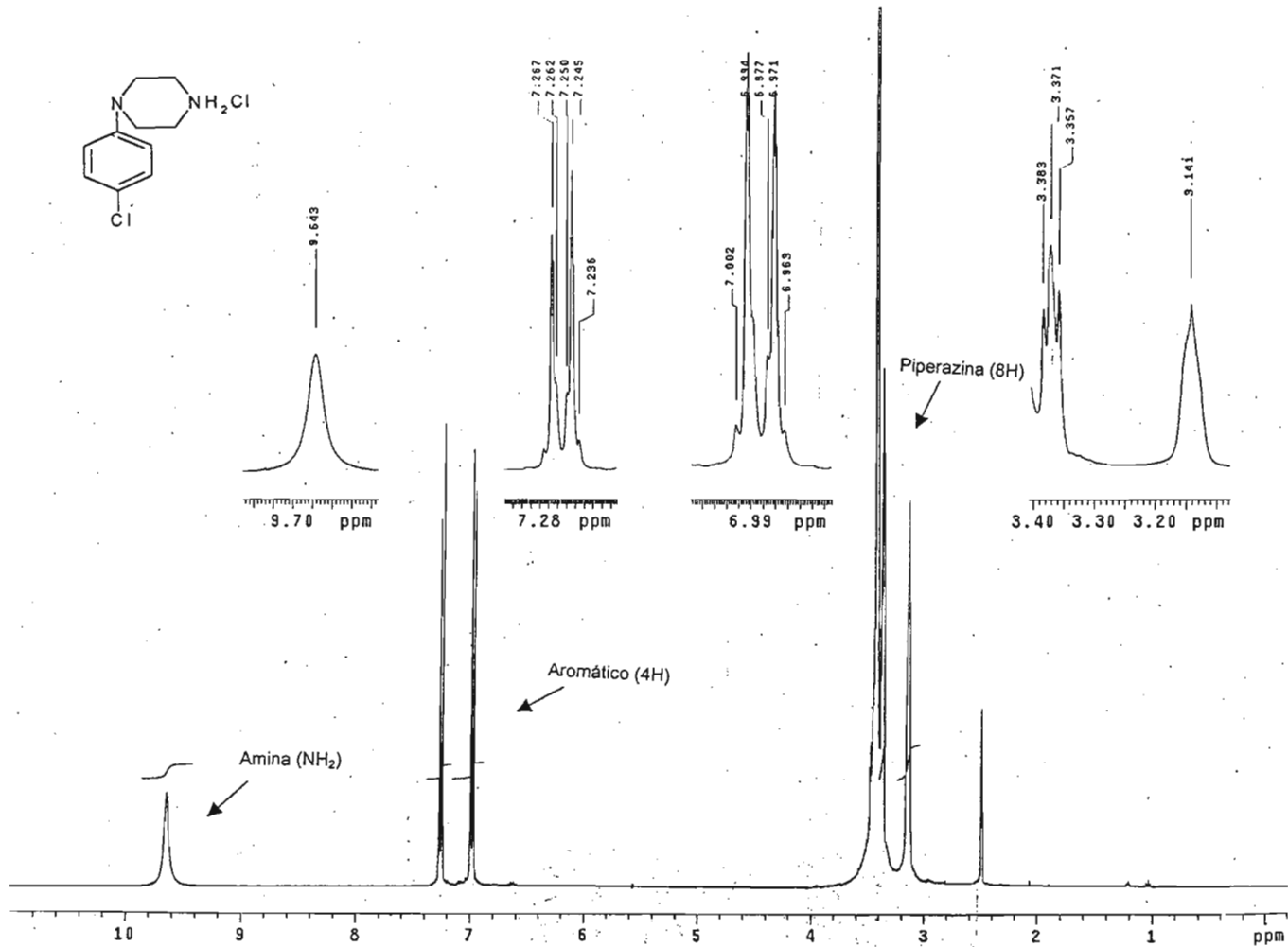
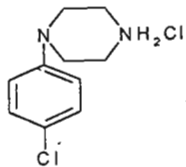
Espectro IR (pastilla de KBr) de 3-nitrofenilpiperazina



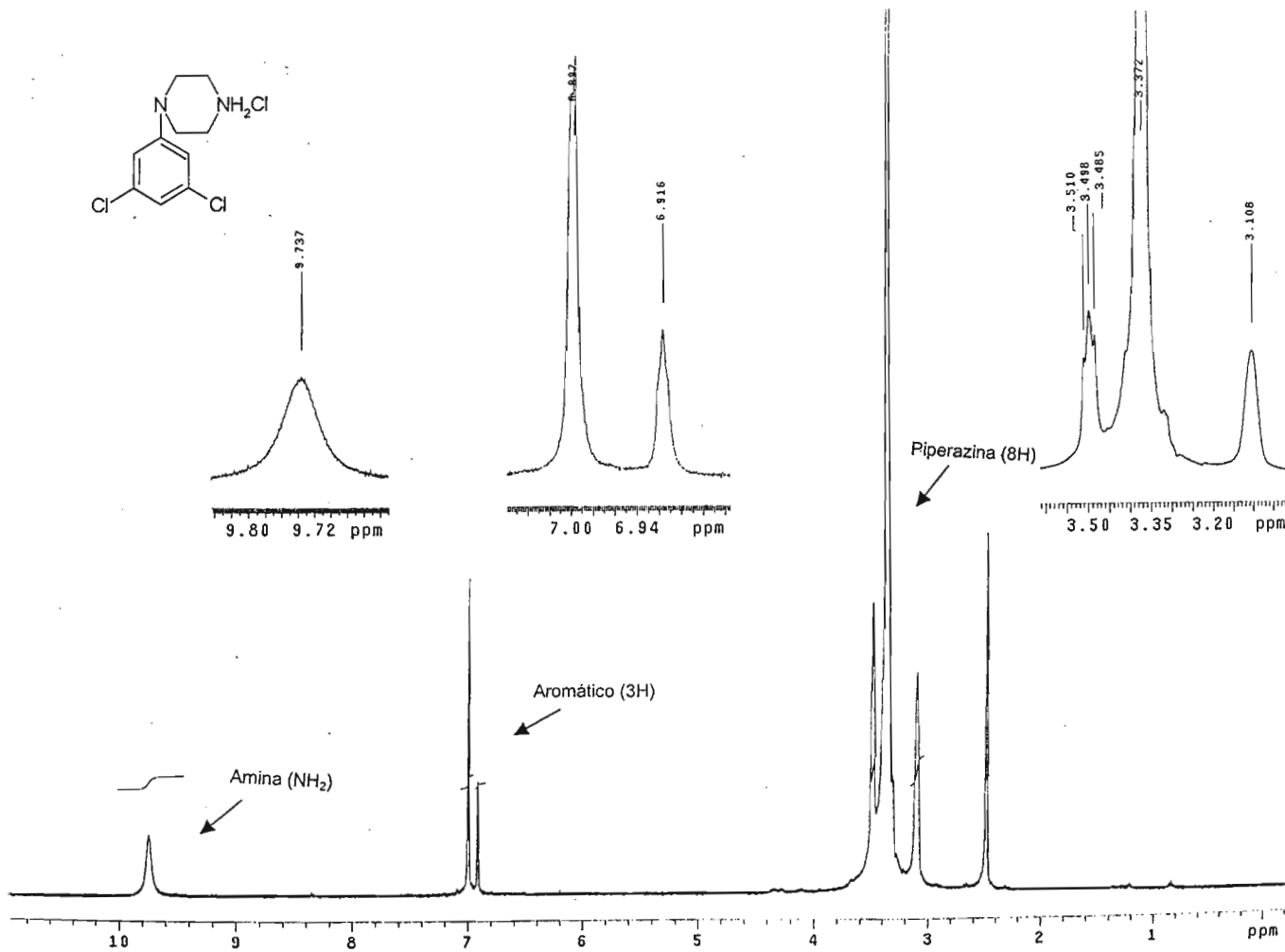
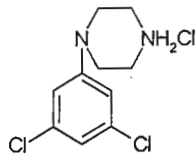
Espectro de RMN<sup>1</sup>H (400MHz, DMSO) de p-bromofenilpiperazina



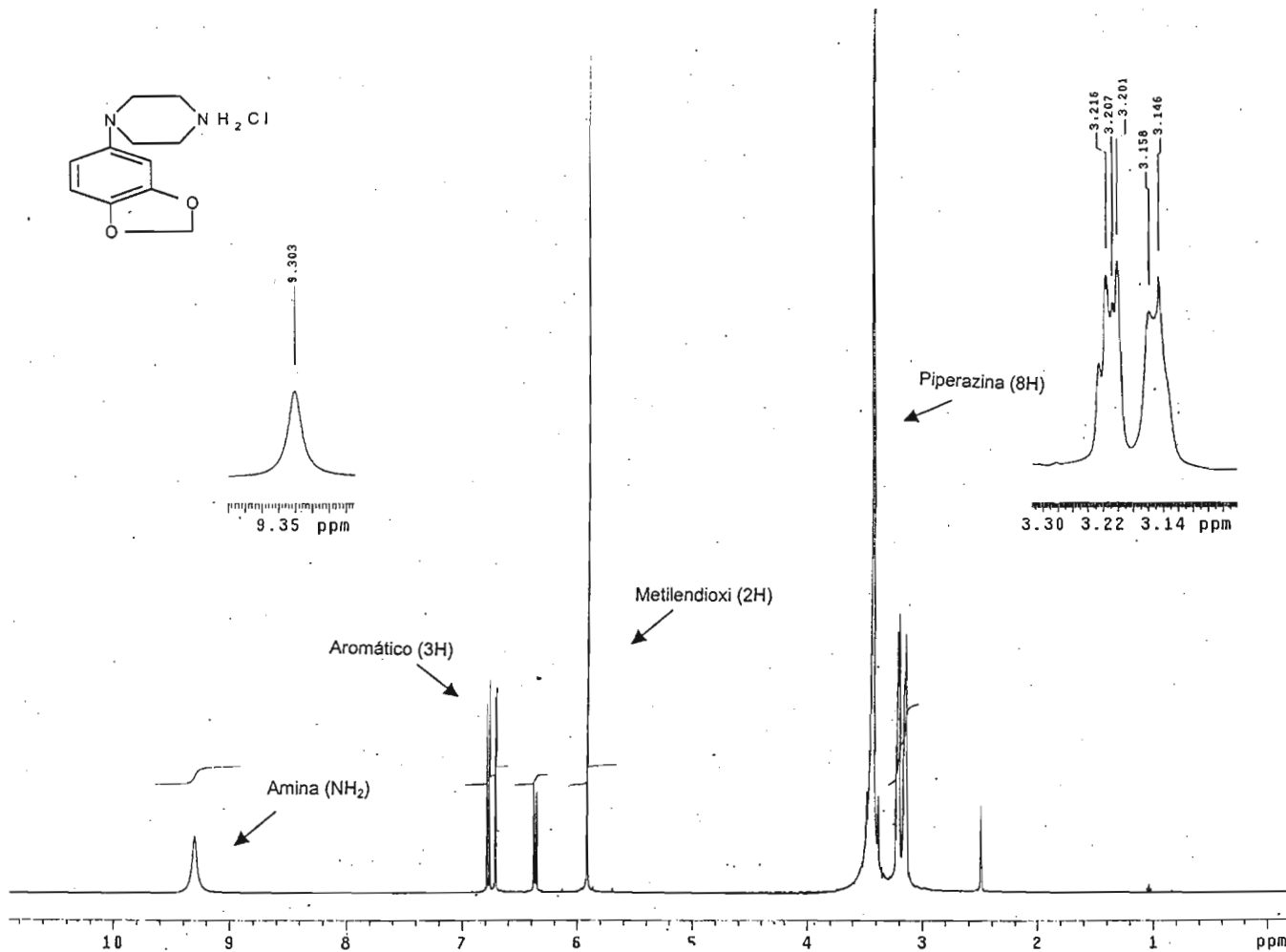
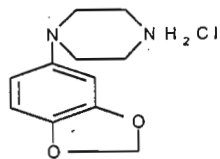
Espectro de RMN<sup>1</sup>H (400MHz, DMSO) de m-clorofenilpiperazina



Espectro de  $\text{RMN}^1\text{H}$  (400MHz, DMSO) de p-clorofenilpiperazina

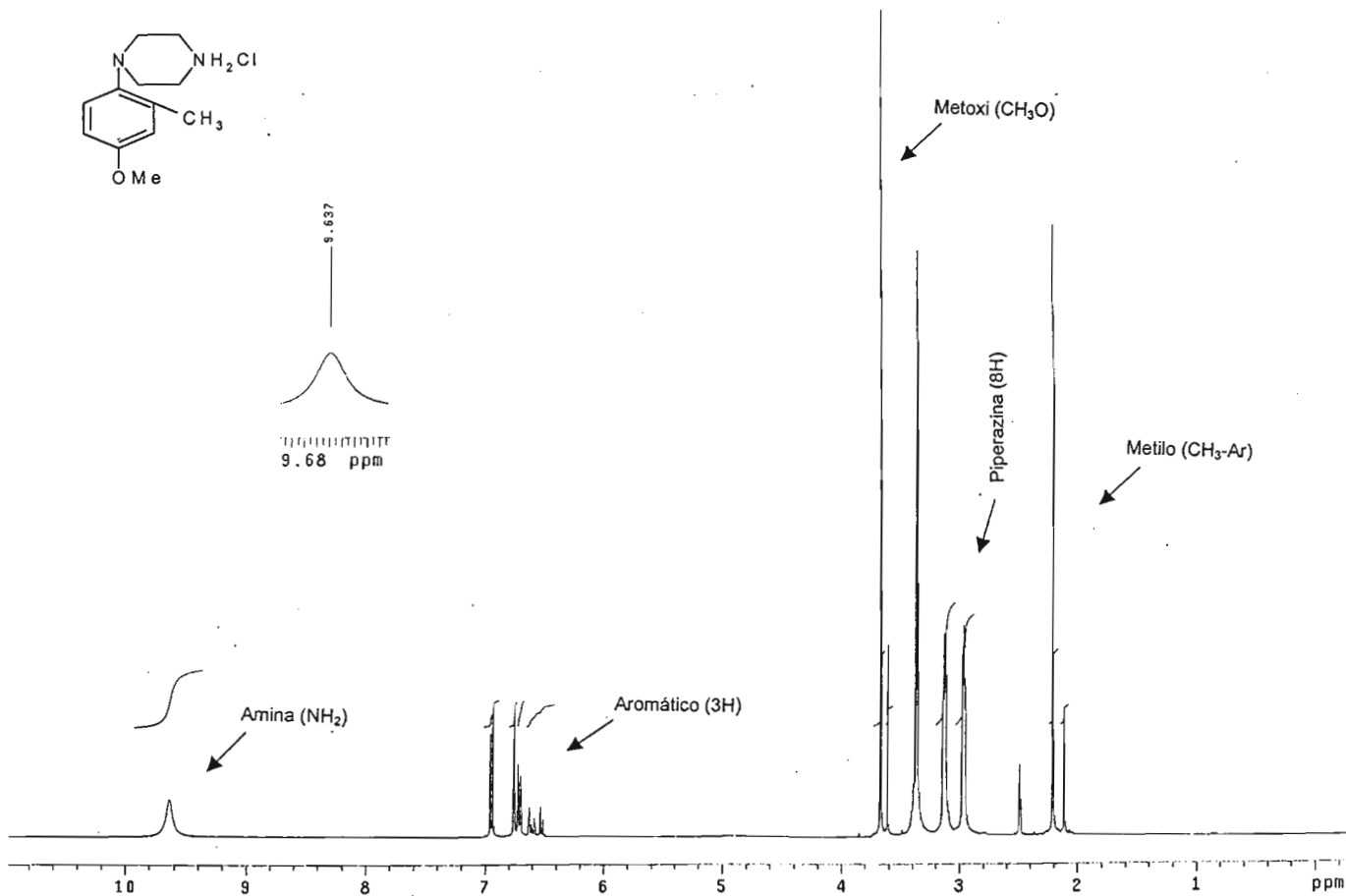
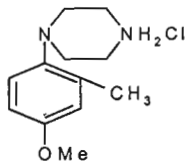


Espectro de RMN<sup>1</sup>H (400MHz, DMSO) de 3,5-diclorofenilpiperazina

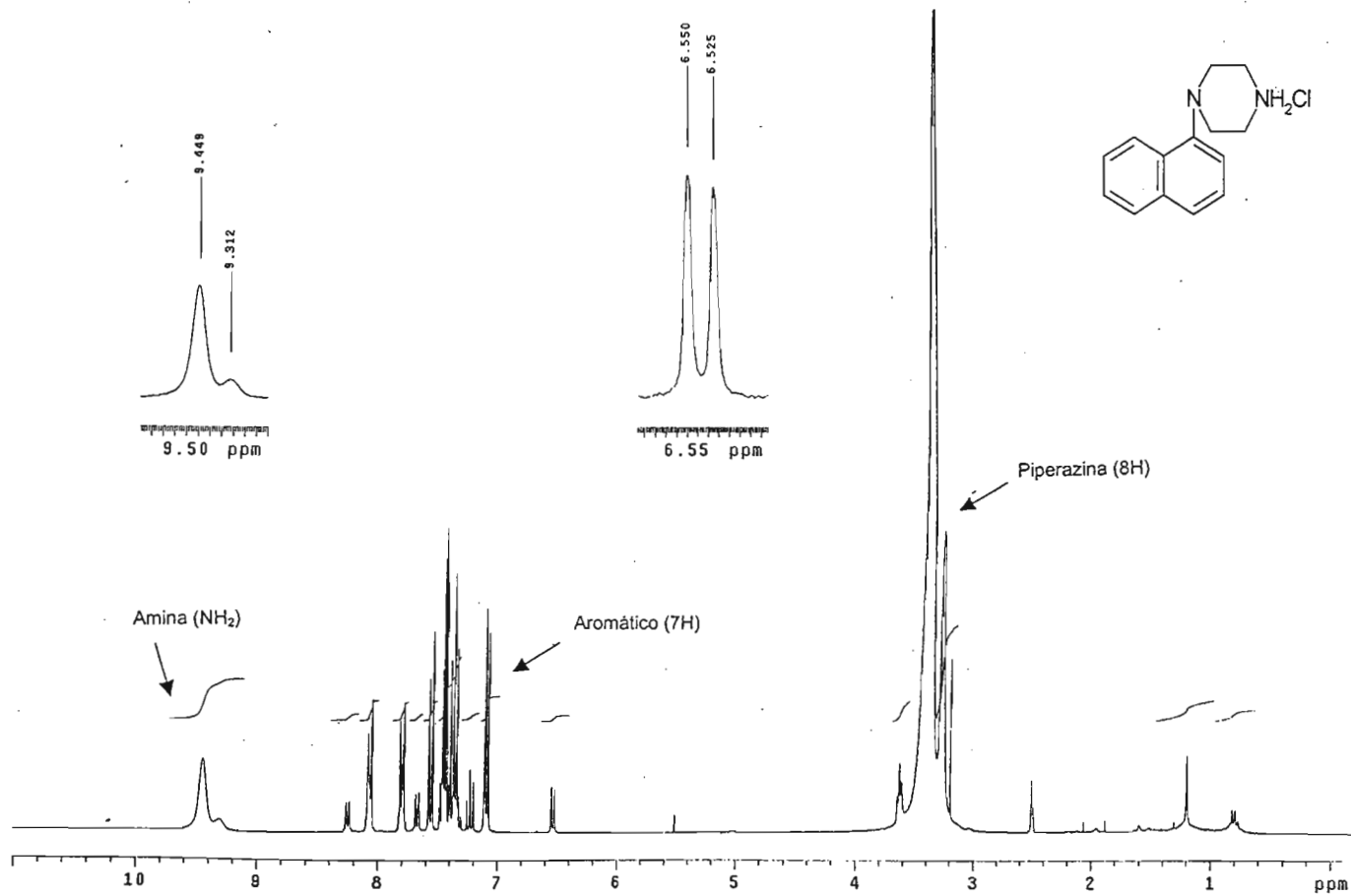


Espectro de  $\text{RMN}^1\text{H}$  (400MHz, DMSO) de 3,4-(metilendioxi)fenilpiperazina

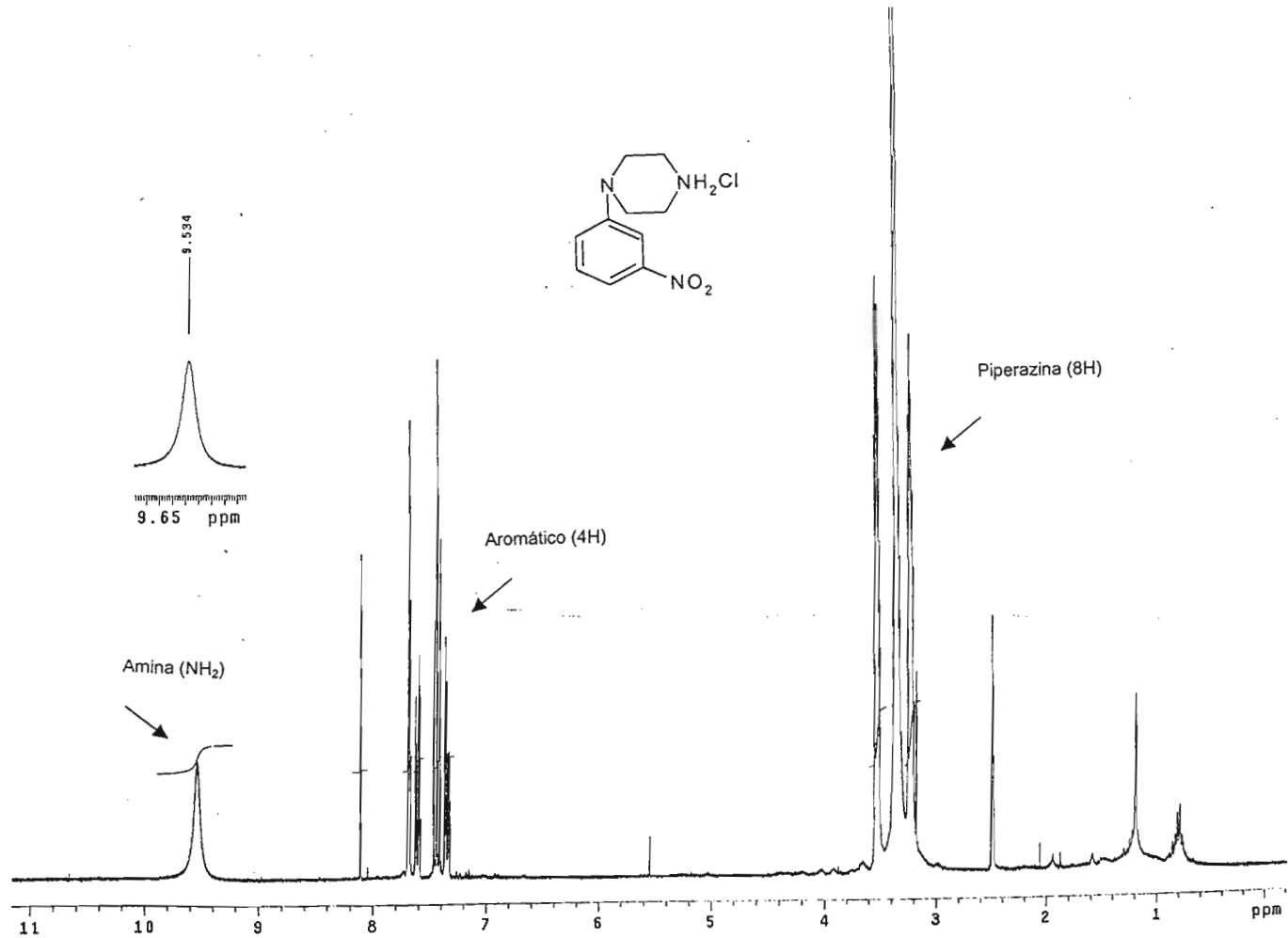




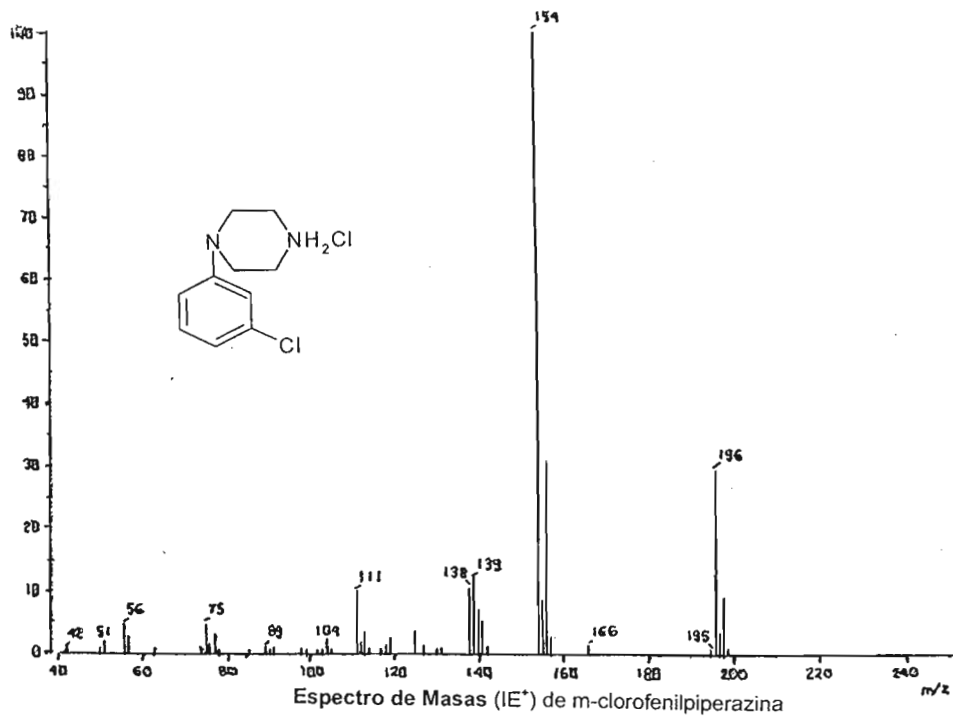
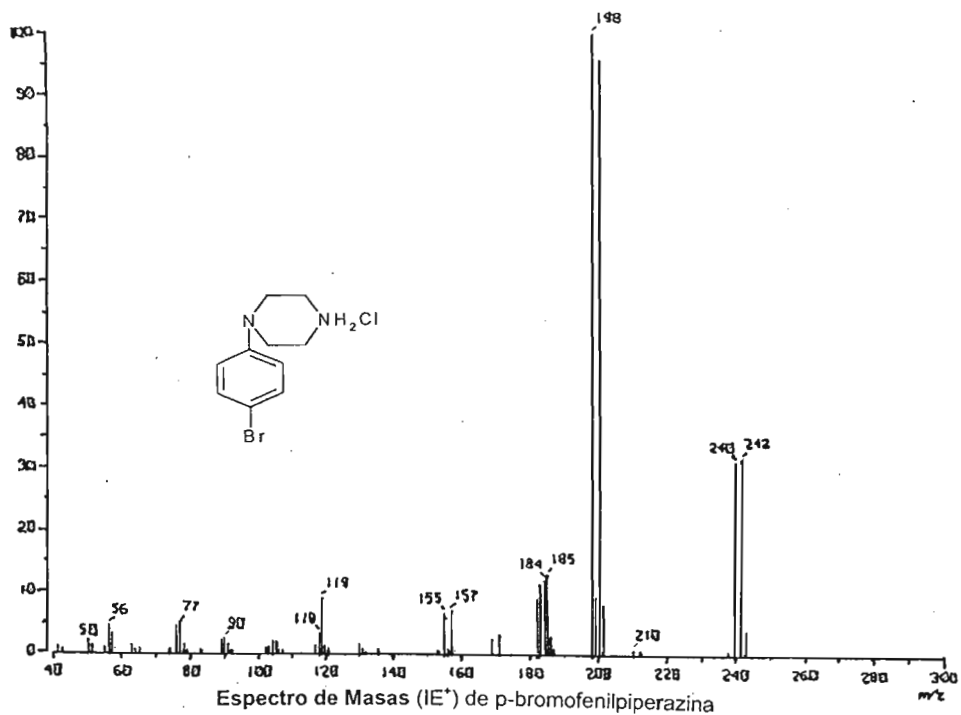
Espectro de RMN<sup>1</sup>H (400MHz, DMSO) de 4-metoxi-2-metilfenilpiperazina

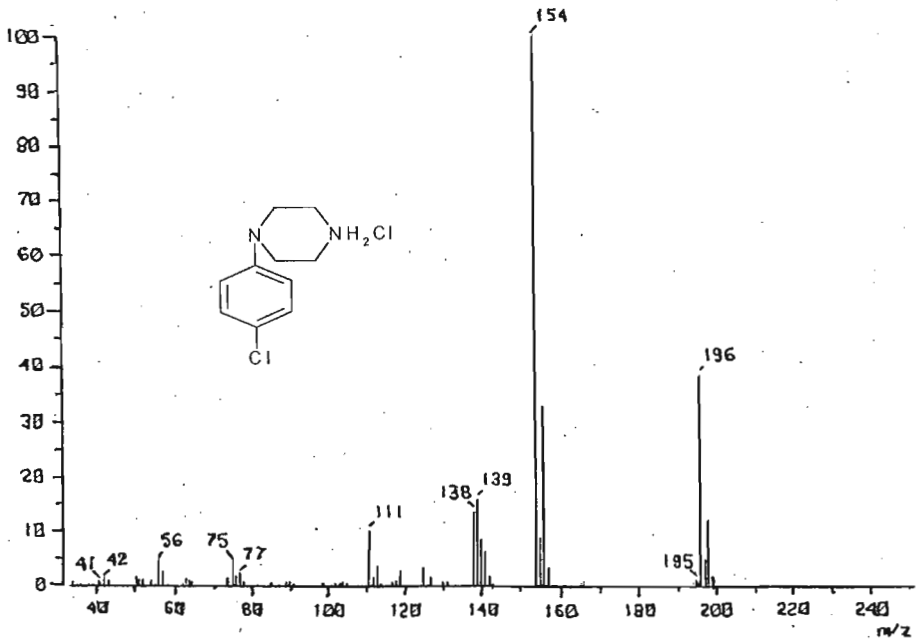


Espectro de RMN<sup>1</sup>H (300MHz, DMSO/CDC<sub>3</sub>) de 1-naftilpiperazina

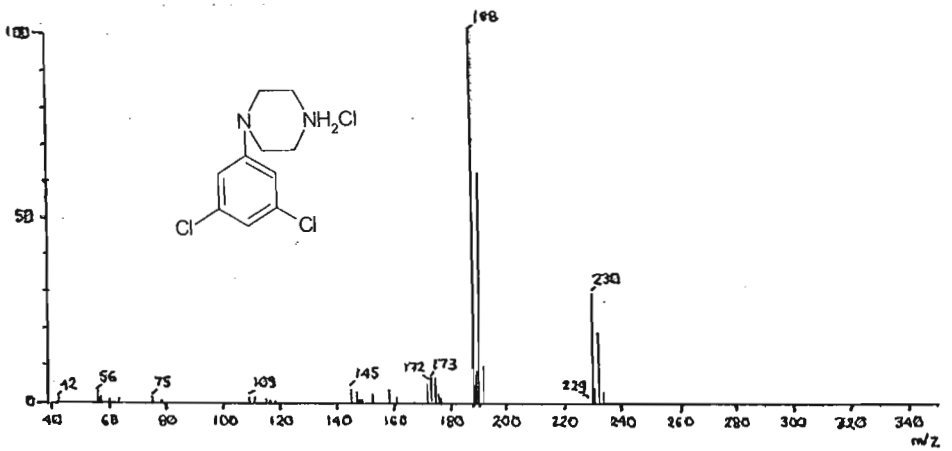


Espectro de RMN<sup>1</sup>H (300MHz, DMSO) de 3-nitrofenilpiperazina

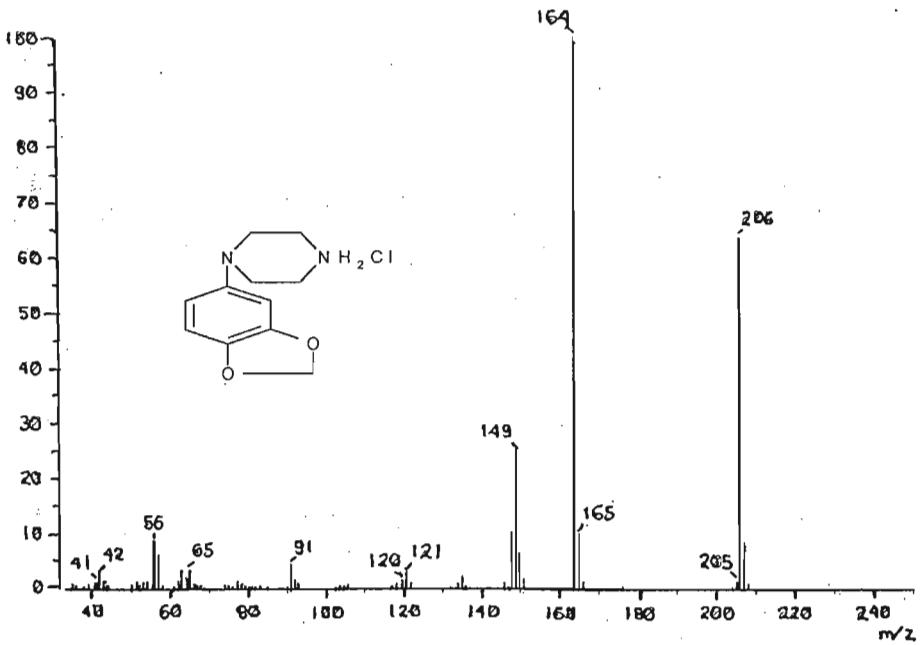




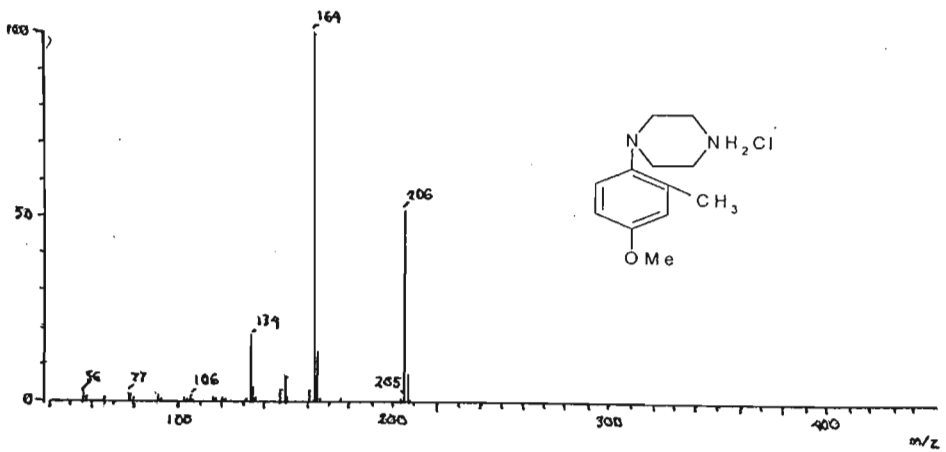
Espectro de Masas ( $IE^+$ ) de p-clorofenilpiperazina



Espectro de Masas ( $IE^+$ ) de 3,5-diclorofenilpiperazina



Espectro de Masas ( $IE^+$ ) de 3,4-(metilendioxi)fenilpiperazina



Espectro de Masas ( $IE^+$ ) de 4-metoxi-2-metilfenilpiperazina

