



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLÁN

**“Obtención ecológica de una serie de
dihidropirimidin-2(1H)-onas, y su
estudio como anticonvulsionantes”**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO
P R E S E N T A:
VILCHIS ORDOÑEZ ARMANDO

ASESORES:

Dr. René Miranda Ruvalcaba
cDra. Raquel Gómez Pliego



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.

AGRADECIMIENTOS:

A dios por darme la fuerza espiritual que he necesitado para cumplir todos los objetivos y metas, con tu ayuda he podido superar todos los obstáculos que la vida me ha puesto en mi camino.

A mi papá, que pase lo que pase siempre ocuparas un lugar muy especial en mi corazón, recuerda que la vida te dio una oportunidad más, no la desaproveches.

A mi hermano; la vida nos ha puesto obstáculos en el camino y recuerda que solo nosotros, como hermanos podremos superarlas.

Este trabajo esta dedicado especialmente a la persona que me ha forjado completamente como persona, que con su amor y cariño me ha guiado y siempre ha estado a mi lado para levantarme de mis caídas, eres la mejor persona del mundo. Gracias Mamá.

DEDICATORIAS:

Al Dr. René Miranda Ruvalcaba por haber sido la persona más influyente en toda mi trayectoria académica, enseñándome que la humildad y la sabiduría son los principales valores para llegar a ser una persona digna de una sociedad cada vez más confusa. Gracias por haberme aceptado en su grupo de trabajo, personas como usted no se encuentran tan fácilmente.

A la profesora Raquel Gómez, por haberme dedicado todo el tiempo que necesite así como el apoyo ofrecido para la conclusión de este trabajo.

A Roberto Osnaya, gracias por tus asesorías y la valiosa colaboración para este trabajo, fuiste un gran compañero.

A todo el equipo de trabajo de química orgánica; a Conchita a la profesora Inés, a Benjamín que me ayudó mucho en mi trabajo, al profesor Gabriel, a Olivia, a Joel, a la profesora Beatriz, a la profesora Eva, a Boris, al profesor Bernardo y a todos los integrantes que hicieron mi estancia bastante placentera.

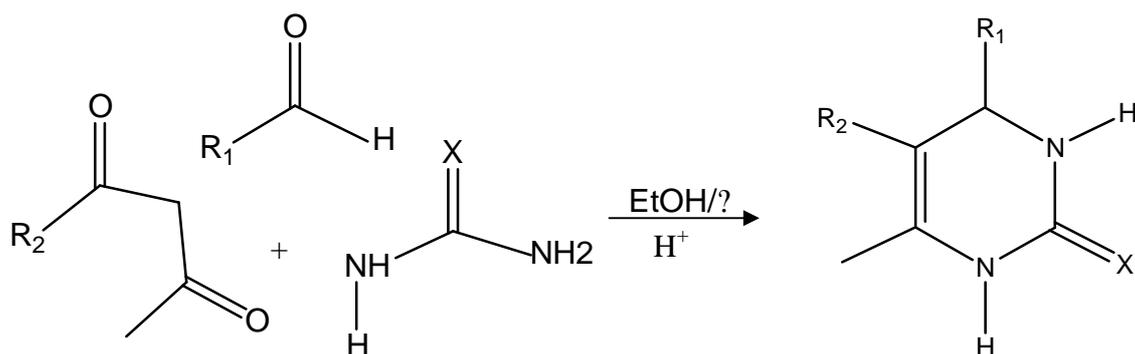
ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	4
GENERALIDADES	8
Ésteres de Biginelli	9
Química verde	15
Principios básicos de epilepsia	19
HIPÓTESIS	33
OBJETIVOS	35
Objetivo general	36
Objetivos particulares	36
EXPERIMENTAL	37
Metodología química	38
Métodos farmacológicos	40
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	43
Obtención química de las DHPMs	44
Toxicidad aguda	49
Efecto anticonvulsionante	49
CONCLUSIONES	66
APÉNDICE	67
☞ Espectros de RMN ¹ H de las DHPMs .	
GLOSARIO	77
REFERENCIAS	78

INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

La síntesis de las 3,4-dihidropirimidin-2(1H)-onas, mejor conocidas como ésteres de Biginelli, fue informada por primera vez en 1893 por el italiano Pietro Biginelli¹, a partir de la condensación en un sólo paso entre un aldehído aromático, urea y un β -cetoéster, utilizando alcohol etílico como disolvente en medio ácido (Esquema 1).



R_1 = Alquilo, arilo, heterociclo, carbohidrato
 R_2 = OMe, OEt, arilo, NH_2
 R_3 = H, Me
 X = O, S

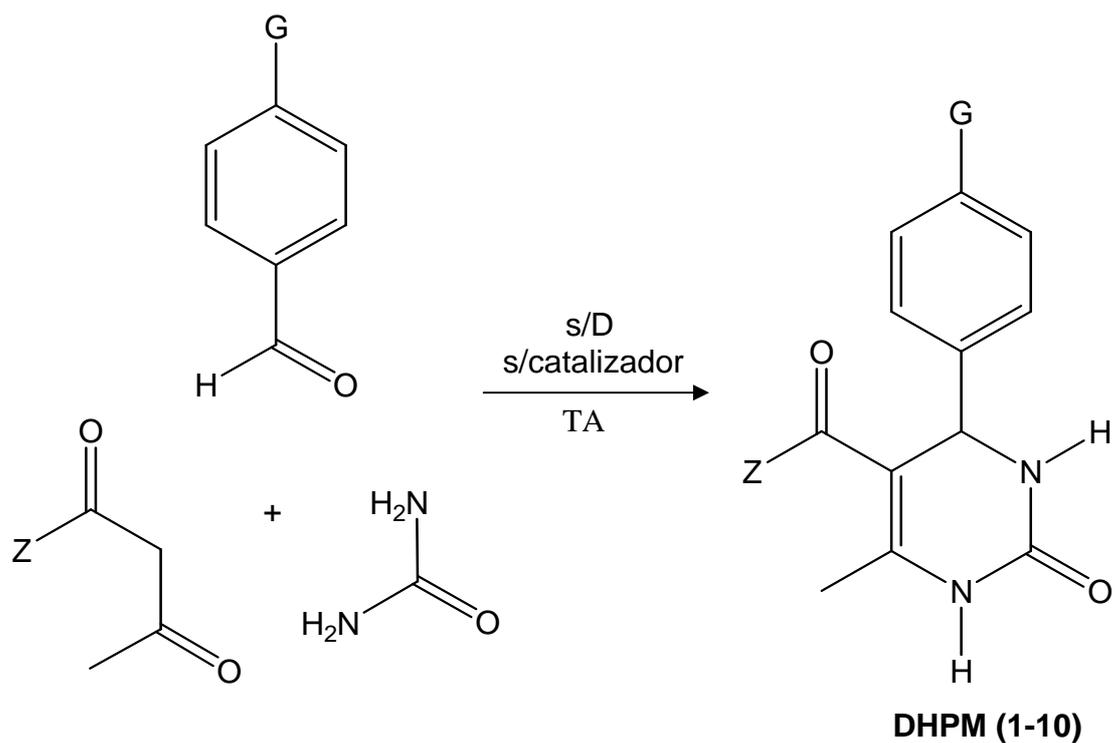
Esquema 1

El alcance de esta ciclocondensación ha sido extendida de forma exitosa en los últimos años mediante la variación de alguno de los tres componentes:^{2,3} aldehídos alifáticos, con sustituyentes de tipo heterocíclico y de derivados de carbohidratos, así como mediante el empleo de toda una variedad de 1,3-dicarbonilos como β -cetoésteres, y el uso de diversas ureas y tioureas. Los compuestos de Biginelli muestran un amplio espectro en cuanto a la actividad biológica se refiere; al respecto, una primer patente registrada de un compuesto de Biginelli se dio en 1930 como agente protector de lana en contra de las polillas,⁴ estos compuestos dieron paso para el desarrollo de la nitracina,⁵ el cual es un agente antiviral del grupo tracoma,^{6,7} sin embargo estos compuestos presentan una moderada actividad antibacterial.⁸ Así mismo, para esta clase de moléculas, se han encontrado propiedades: antitumorales,^{9,10}

anticarcinogénicas,¹¹ actividad antagonista en la activación plaquetaria,¹² antiinflamatoria y analgésica¹³ y probablemente lo más importante es tanto su efecto antihipertensivo¹⁴ como actividad cardiovascular,¹⁵ siendo potentes bloqueadores de los canales de calcio comparables a las 1,4-dihidropiridinas.^{16,17} Últimamente se ha visto que pueden funcionar como agentes en el tratamiento de la ansiedad¹⁸ y disfunción en el nervio óptico.¹⁹

Por otro lado, la epilepsia está descrita como uno de los problemas neurológicos que más afectan a los humanos, se estima que una de cada veinte personas experimentarían una convulsión epiléptica en su vida y la prevalencia de una epilepsia activa es de uno en doscientos.²⁰ La patofisiología de las convulsiones epilépticas es compleja, pero se sabe que los iones Ca^{2+} juegan un papel importante.^{21, 22} Está bien documentado que un incremento de los niveles de Ca^{2+} intracelular o un incremento de la conductancia de Ca^{2+} están relacionados en la actividad epiléptica siendo uno de los factores de muerte por esta causa.²³ De ahí que los antagonistas de los canales de Ca^{2+} poseen actividad anticonvulsiónante en distintos modelos farmacológicos. Según la clasificación internacional existen seis clases de moduladores de Ca^{2+} :²⁴ clase I, las fenilalquilaminas (verapamil); clase II, las dihidropiridinas (nifedipina, nimodipina); clase III, las benzotiazepinas (diltiazem); clase IV, las difenilalquilaminas (flunarizina); clase V, el grupo de la prenilamina; y clase VI, otros (lidoflazina).

En relación a lo antes mencionado, en el presente trabajo se obtuvo una serie de ésteres de Biginelli de acuerdo al protocolo de la química verde (**Esquema 2**), en la **tabla 1** se presentan los compuestos a obtener. Así mismo se procedió a evaluar su actividad anticonvulsiónante en ratones macho; al respecto, es importante resaltar que estas moléculas comparten un perfil farmacológico muy similar con las dihidropiridinas, además de que la literatura no proporciona ningún informe sobre lo antes mencionado.



Esquema 2

Tabla 1. Ésteres de Biginelli **DHPM 1-10**

DHPM	G	Z
1	OMe	EtO
2	Me	EtO
3	H	EtO
4	Cl	EtO
5	F	EtO
6	OMe	MeO
7	Me	MeO
8	H	MeO
9	Cl	MeO
10	F	MeO

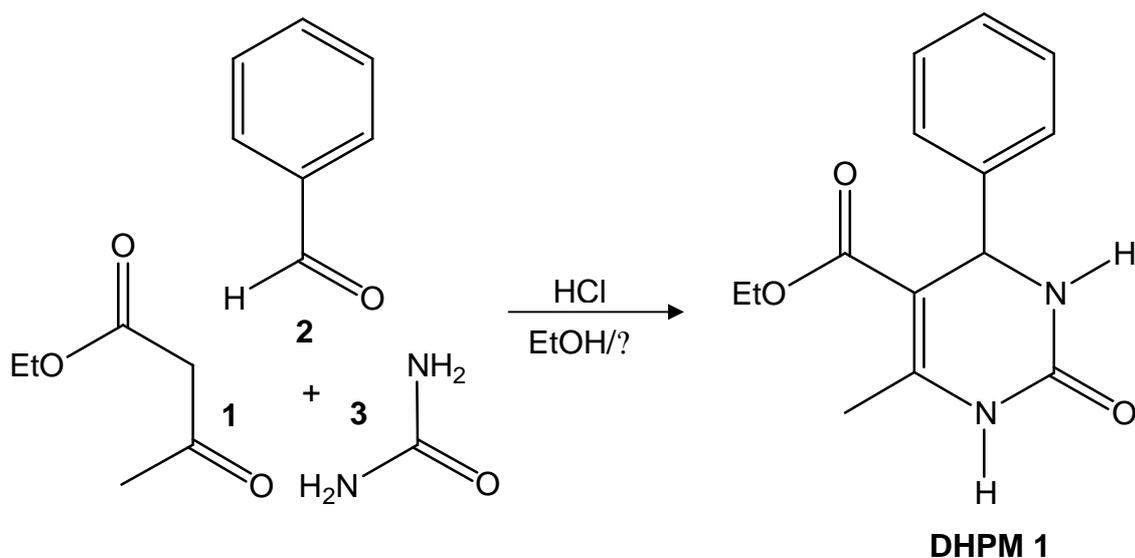
GENERALIDADES

GENERALIDADES

4.1 ÉSTERES DE BIGINELLI

4.1.1 Síntesis

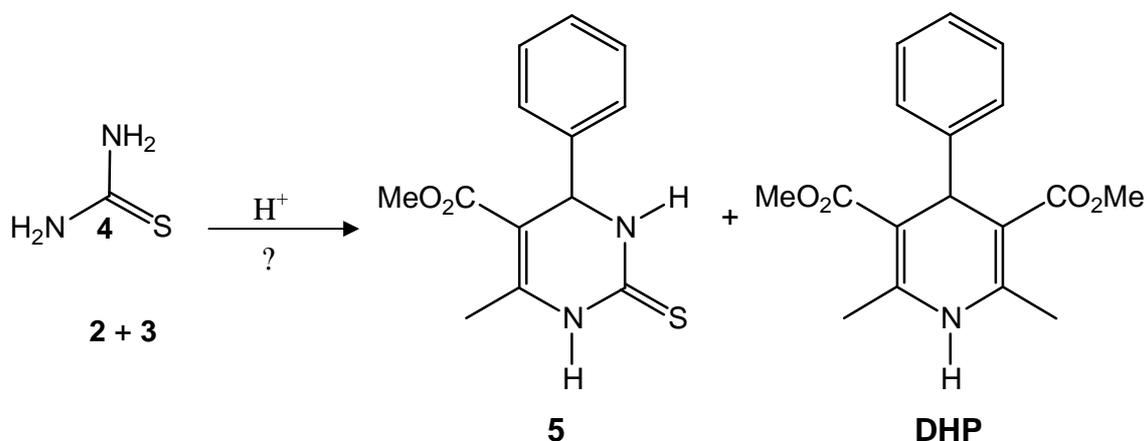
La obtención de las 3,4-dihidropirimidin-2(1*H*)-onas, conocidas como ésteres de Biginelli o mediante su acrónimo **DHPMs**, fue informada por primera vez en 1893 por el italiano Pietro Biginelli,¹ a partir de la condensación en un sólo paso entre un aldehído aromático (**1**), urea (**2**) y un α -cetoéster (**3**), utilizando alcohol etílico como disolvente, a reflujo y empleando ácido clorhídrico como catalizador durante dos a tres horas; el producto formado (**DHPM 1**) precipitó al enfriarse la mezcla de reacción; éste, fue caracterizado correctamente como la 3,4-dihidropirimidin-2(1*H*)-ona, (Esquema 3).



Esquema 3

Sin embargo, durante los treinta y seis años posteriores no se informó nada sobre el tema iniciado por Biginelli; siendo hasta 1929 cuando Hinkel y Hey²⁵ retomaron el estudio de esta reacción, haciendo cambios en uno de los reactivos, sustituyeron a **3** por tiourea (**4**) obteniendo el producto de condensación correspondiente 3,4-dihidropirimidin-2(1*H*)-tiona (**5**); al respecto, es apropiado comentar que detectaron la presencia de una pequeña cantidad

(<10%) de un subproducto identificado como la respectiva 1,4-dihidropiridina (**DHP**), (Esquema 4).



Esquema 4

Tres años después (1932), Folkers, Harwodd y Johnson,²⁶ contribuyeron con la química de las **DHPMs**; un resultado interesante, fue el hecho de que el ácido acético glacial puede ser utilizado para realizar la condensación, aunque es más recomendable el empleo del sistema HCl/EtOH. Otro aspecto interesante fue el uso de otro disolvente, el 1,4-dioxano, mejorándose los correspondientes rendimientos de reacción (46.9%) con respecto a los obtenidos con EtOH (25.8%), utilizando en ambos casos ácido clorhídrico, no se detectó la presencia de ningún subproducto bajo estas condiciones de reacción.

De los aldehídos utilizados, se puede mencionar que algunos fueron de tipo aromático mono- (*orto*, *meta*, *para*), di- (posiciones 3, 4) y tri-sustituidos (posiciones 2, 4, 6 y 3, 4, 5), aunque también se han empleado aldehídos alifáticos y otros más de tipo heterocíclico; de esta manera, ha sido posible obtener una gran diversidad de **DHPMs**.

A principios de la década de los setentas, Mamaev y colaboradores,²⁷ demostraron que a partir de benzalbisurea, es factible llevar a cabo la formación de una variedad considerable de **DHPMs**, mediante el empleo de:

1,3-difenil-1,3-propandiona, β -nitroacetofenona, y 2-cloroacetofenona, estos últimos reactivos análogos al β -cetoéster empleado en la reacción original.

4.1.2 Actividad biológica

Se sabe que algunos ésteres de Biginelli tienen usos farmacológicos; por ejemplo, en el tratamiento de enfermedades cardiovasculares (hipertensión,²⁸ arritmia cardíaca y angina de pecho). Al respecto, es conocido que el mecanismo por el cual actúan es a nivel del canal del calcio,²⁹⁻³³ bloqueando la entrada de este ión en la subunidad α_1 (Figura 1), del canal L en músculo liso vascular y en el miocardio, causando vaso dilatación además de disminuir la resistencia vascular periférica.

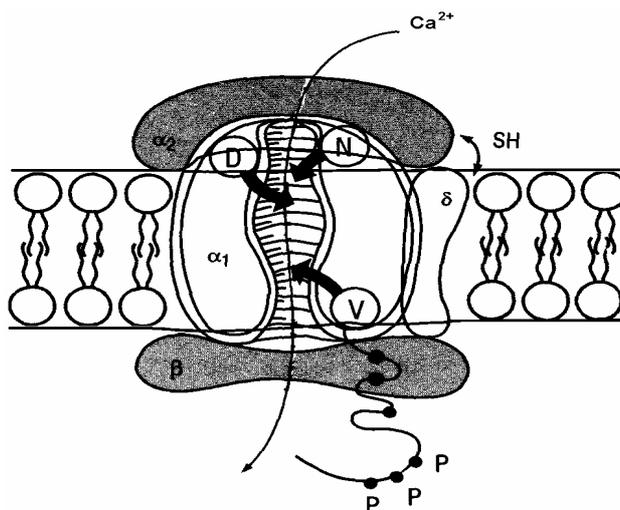
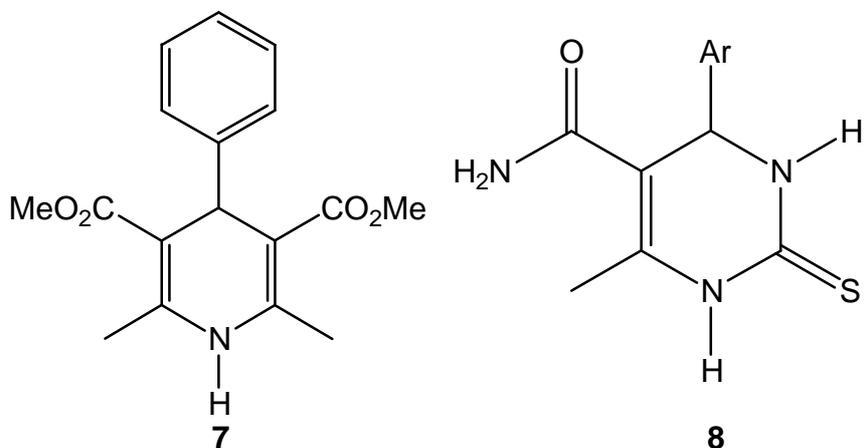


Figura 1. Modelo propuesto para la subunidades del canal de Ca^{2+} con los respectivos sitios de unión para la nifedipina (N). Se considera que muchas **DHPs** y **DHPMs** se unen en el mismo lugar que la nifedipina. La P indica el sitio donde ocurre la fosforilación en respuesta al AMPc, el cual aumenta la probabilidad de apertura del canal de Ca^{2+} .

Asimismo, algunas **DHPMs** tienen actividad antiviral³⁴ como la nitracina (**7**), la cual presenta excelente actividad contra el virus del grupo tracomona, este mismo compuesto tiene actividad modesta contra ciertas bacterias.³⁵ Otras **DHPMs** como **14**, son agentes antitumorales,³⁶ en especial contra el carcinosarcoma de Walker en ratas y ratones mientras que en relación con las

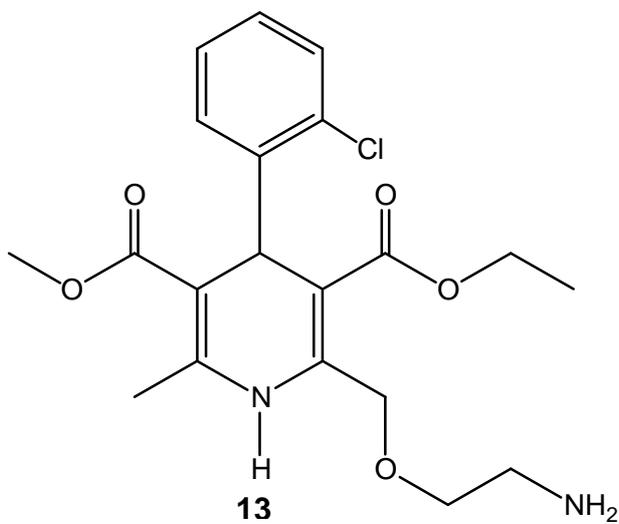
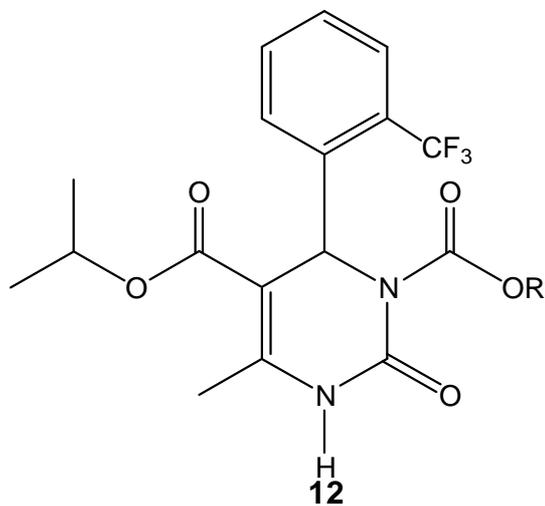
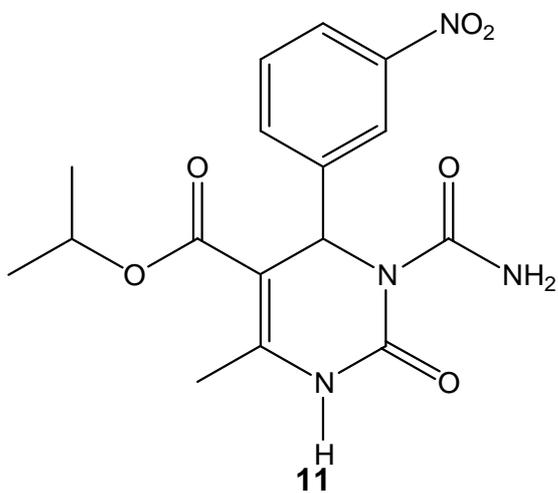
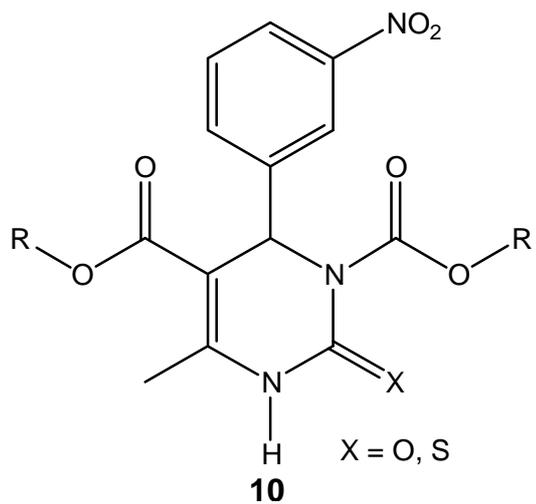
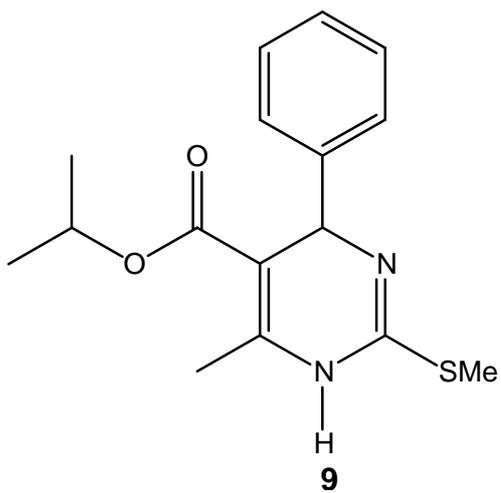
DHPMs 5-carboxamidas como **9**, se ha informado que tienen actividades tanto anticarcinogénica³⁷ como antiinflamatoria,³⁸ además de emplearse como analgésicos e inhibidores de la agregación plaquetaria en la sangre.³⁹

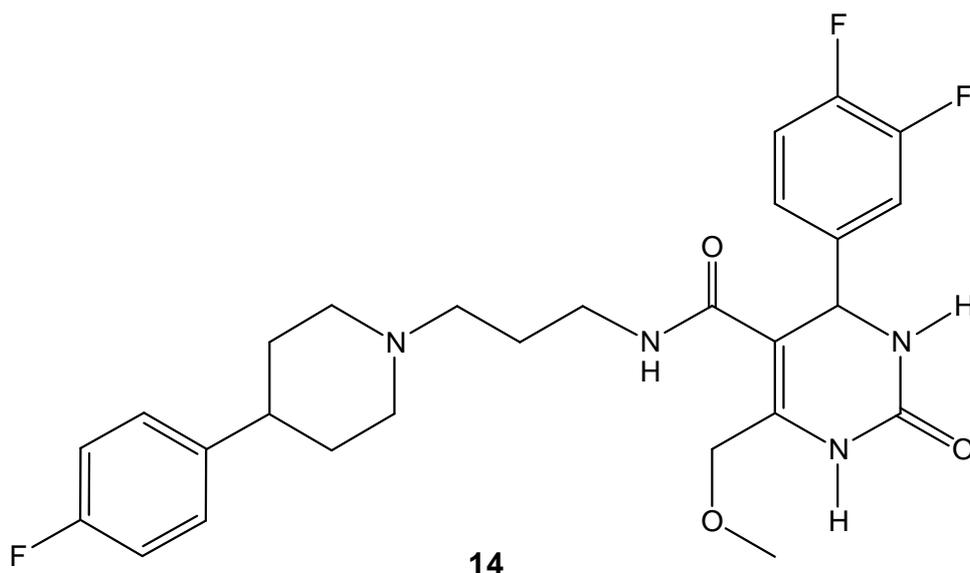


Como se puede apreciar, las **DHPMs** tienen en posición 4 un átomo de carbono que funge como centro estereogénico. En este sentido, es necesario hacer de conocimiento que la separación enantiomérica de **11** y **12** demostró que la actividad biológica, reside en el enantiómero con configuración *R*;⁴⁰ estas dos moléculas tienen una potencia similar a la amlodipina (**13**).

Como complemento de la actividad biológica, es conveniente mencionar que la *S*-alquil-1,4-dihidropirimidina **9**, manifiesta un potente bloqueo en el canal de calcio *in vitro*, pero no muestra actividad antihipertensiva significativa *in vivo*. A su vez, los compuestos de Biginelli que tienen una funcionalidad de uretano en la posición N-3, como **10**, son más potentes para bloquear el canal de calcio.⁴¹

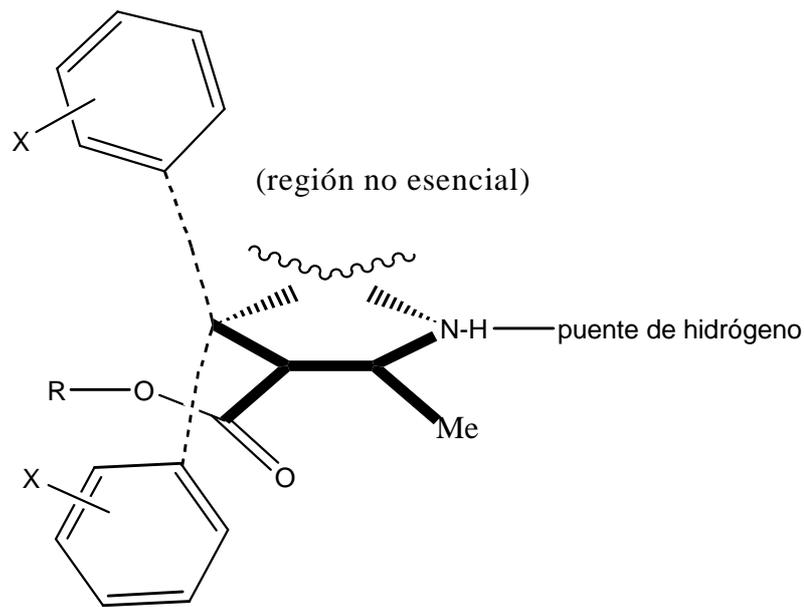
Asimismo, es adecuado mencionar que recientemente, se ha evaluado *in vitro* e *in vivo* a **14**; esto, para el tratamiento de la hiperplasia prostática benigna (HPB), sin afectar la presión sanguínea. Esta molécula también se ha comportado como un antagonista potente y muy selectivo además de ser buen receptor biodisponible de la subunidad??_{1A}.⁴²





En 1995 Rovnyak *et. al.* describieron el perfil farmacológico con relación estructura-actividad de una serie de DHPMs moduladoras de los canales de calcio,⁴³ donde se determinó el modelo de un nuevo sitio de unión para análogos **DHP/DHPM**. De acuerdo con estudios farmacológicos con enantiómeros puros de algunas DHPMs, se estableció que la modulación de los canales de calcio (actividad antagonista *versus* agonista) es dependiente de la configuración absoluta del C4, en donde la orientación del grupo C4-aril (configuración R- ó S-) actúa como interruptor molecular entre la actividad agonista (grupo aril hacia arriba) y la actividad antagonista (grupo arilo hacia abajo) (**Esquema 5**); es importante mencionar que, solo el lado izquierdo de las **DHP/DHPM** ha sido propuesto para la actividad farmacológica.

arilo superior - antagonista



arilo inferior - agonista

Esquema 5. Receptor geométrico propuesto para las DHP/DHPM como moduladores de los canales de calcio.

4.2 Química verde

En el último siglo, la urbanización, el avance tecnológico y la contaminación derivada de la actividad humana han dado como resultado una rápida transformación del planeta, alterando la vida misma. Al respecto, se entiende por contaminación a la introducción de agentes biológicos, químicos o físicos a un medio al que no pertenecen causando una modificación indeseable en la composición natural de éste,⁴⁴ dicha problemática se manifiesta típicamente en tres medios: aire, agua y suelo.

Poco después de haberse aprobado la Ley de Prevención de la Contaminación en 1990, la Oficina de Prevención de la Contaminación y Sustancias Tóxicas de la EPA (OPPT), empezó a explorar la idea de desarrollar productos y procesos químicos nuevos o mejorar a los existentes para reducir el peligro a la salud humana y al medio ambiente. Así, en 1991, la OPPT puso en marcha el programa modelo de subvenciones a la investigación "Rutas Sintéticas,

Alternativas para la Prevención de la Contaminación”. Este programa proporcionó, por primera vez, ayuda para proyectos de investigación que incluyesen la prevención de la contaminación en la síntesis de sustancias químicas. Así nació el concepto de **Química Verde**.

Ésta, en 1991, se integra formalmente a la EPA; su origen como vocablo proviene del idioma Inglés (**Green Chemistry**) siendo su objetivo principal, la prevención de la contaminación.

La **Química Verde**, es el diseño de productos o procesos que reducen o eliminan el uso o la producción de sustancias peligrosas para el humano y el medio ambiente. Al ofrecer alternativas de mayor compatibilidad ambiental, comparadas con los productos o procesos disponibles actualmente cuya peligrosidad es mayor y que son usados tanto por el consumidor como en aplicaciones industriales, ésta promueve la prevención de la contaminación en el ámbito molecular.

Una de las metas principales del programa de **Química Verde** es promover la investigación, el desarrollo y la puesta en práctica de tecnologías químicas innovadoras con buenos fundamentos, tanto científicos como económicos.

Para alcanzar dichos fines, el programa de **Química Verde** otorga reconocimiento y apoyo a tecnologías químicas que reducen o eliminan el uso o producción de sustancias peligrosas en el diseño, preparación y utilización de sustancias y procesos químicos. De manera particular, mediante ella se apoya la investigación básica en el área de química de mayor compatibilidad ambiental, así como toda una gran variedad de actividades educativas, iniciativas internacionales, congresos, conferencias y herramientas de **Química Verde**.

Las tecnologías de **Química Verde** se constituyen del empleo de rutas sintéticas alternativas, uso de condiciones de reacción alternativas y diseño de sustancias químicas menos tóxicas que las disponibles actualmente o inherentemente más seguras respecto a su potencial de accidentes. Éstas

pueden integrarse en cualquiera de las cuatro áreas que comprenden el programa:

Principios básicos de la Química Verde

Son los desarrollados por Anastas y Warner,⁴⁶ y su fundamento es contribuir a valorar cuan verde puede ser un producto químico, una reacción o un proceso; éstos se indican a continuación:

1. Evitar de preferencia la producción de residuos que tratar de limpiarlo una vez formado.
2. Los métodos de síntesis deben diseñarse de manera que se incorporen al máximo, al producto final, todos los materiales usados durante el proceso.
3. Los métodos de síntesis deberán realizarse para utilizar y generar sustancias que presentan poca o ninguna toxicidad, tanto para el hombre como para el medio ambiente.
4. Los productos químicos se diseñarán de manera que mantengan su eficacia y baja toxicidad
5. Evitar, el empleo de sustancias auxiliares como disolventes, reactivos de separación, etc., y en caso de ser empleadas que sea lo más inocuo posible.
6. Los requerimientos energéticos se catalogan por su impacto al medio ambiente y económico reduciéndose todo lo posible. Se sugiere llevar a cabo los métodos de síntesis a temperatura y presión ambiente.
7. La materia prima debe ser preferiblemente renovable en lugar de agotable, siempre que sea técnica y económicamente viable.

8. Evitar la formación de derivados como grupos de bloqueo, de protección-desprotección, modificación temporal de procesos fisicoquímicos.
9. Considerar el empleo de catalizadores, lo más selectivos posible y de preferencia de origen natural.
10. Los productos químicos se diseñarán de tal manera que al finalizar su función no persistan en el medio ambiente y ser preferentemente productos de degradación.
11. Las metodologías analíticas serán desarrolladas posteriormente para permitir una monitorización y control en tiempo real del proceso, previo a la formación de sustancias peligrosas.
12. Es importante elegir las sustancias adecuadas para los procesos químicos y reducir el riesgo de accidentes químicos incluyendo las emanaciones, explosiones e incendios.

La Química Verde en la Química Orgánica

La Química Orgánica es una ciencia que aporta una incuestionable contribución a la mejora de la calidad de vida y al bienestar del hombre, ideando soluciones en campos tan diferentes como la salud, la higiene, o la preparación de nuevos materiales, lo anterior de acuerdo al código de conducta de la ACS:

"Los químicos tienen como responsabilidad profesional servir al interés público, al bienestar y al avance del conocimiento científico, preocuparse de la salud y el bienestar de sus compañeros, consumidores y la comunidad, comprender y anticiparse a las consecuencias medioambientales

de su trabajo, evitar la polución y de proteger el medioambiente" .

Esta preocupación por las cuestiones medioambientales ha hecho que en los últimos años surja todo un enfoque en el campo de la química, particularmente, en química orgánica, donde su objetivo consiste en prevenir o minimizar la contaminación desde su origen, tanto a escala industrial como en los laboratorios de investigación o de carácter docente, dentro del contexto de la **Química Verde**. Esto supone un paso mucho más allá de lo que sería únicamente el hecho de un correcto tratamiento de los residuos potencialmente contaminantes que puedan generarse; es decir, evitar en la medida de lo posible, la formación de desechos contaminantes y propiciar la economía de tiempo y recursos.

Finalmente, es importante señalar que con la aplicación de los doce principios que integran a la **Química Verde** se puede contribuir a la reducción de los productos contaminantes generados durante las reacciones químicas, así como reemplazar reactivos que dañan al medio ambiente, por ejemplo la sustitución de disolventes por agua, su mínimo empleo o su completa eliminación de las reacciones químicas.

4.3 PRINCIPIOS BÁSICOS DE LA EPILEPSIA

4.3.1 Epidemiología

Las epilepsias son trastornos frecuentes, y a menudo devastadores, que afectan a cerca de 2.5 millones de personas, tan sólo en Estados Unidos y cerca de 40 millones alrededor del mundo.⁴⁷ Se han identificado más de 40 formas diferentes de esta enfermedad. Las convulsiones epilépticas suelen generar alteración transitoria del conocimiento, dejan al individuo en riesgo de lesión corporal y a menudo obstaculizan las actividades de estudio y trabajo de éste. El tratamiento es sintomático, puesto que, si bien los fármacos

disponibles inhiben las convulsiones, no se cuenta con profilaxia eficaz ni con métodos de curación

Los estudios epidemiológicos realizados en población urbana, suburbana y rural de la República Mexicana han demostrado que la prevalencia de esta enfermedad crónica y recurrente afecta a más de un millón de mexicanos,⁴⁸ particularmente de la población infantil. Se ha detectado que el 76% de los enfermos inician la epilepsia, en cualquiera de sus variedades, antes de la adolescencia.

4.3.2 Terminología y clasificación de las convulsiones epilépticas

La *epilepsia* es una enfermedad crónica que se caracteriza por la presencia de episodios críticos recurrentes denominados *crisis epilépticas* o *convulsiones*.⁴⁹ La *convulsión* se produce por una descarga paroxística, hipsíncrona, excesiva e incontrolada de gran número de neuronas. Las convulsiones pueden ser no epilépticas, cuando se evocan en un encéfalo normal mediante recursos electrochoque o agentes convulsivos químicos, o epilépticas, cuando ocurren sin provocación manifiesta.

Se considera que las convulsiones se originan en la corteza cerebral y no en otras estructuras del sistema nervioso central (SNC) como tálamo, tallo encefálico o cerebelo. Las crisis epilépticas se han clasificado en *convulsiones parciales*, que se inician de manera focal en un sitio cortical, y generalizadas, que abarcan ambos hemisferios desde el principio. Las manifestaciones de las crisis convulsivas dependen de las funciones que ejerza normalmente el sitio de la corteza donde se originan las convulsiones. Por ejemplo, la crisis convulsiva que afecta la corteza motora se relaciona con sacudidas crónicas de la parte del cuerpo controlada por esa región de la corteza. Una convulsión parcial simple se vincula con la preservación del conocimiento o estado de conciencia. Una convulsión parcial compleja conlleva a un trastorno del conocimiento. La mayor parte de las convulsiones parciales complejas se originan en el lóbulo temporal. Son ejemplos de convulsiones generalizadas las

epilepsias de ausencia, las mioclónicas y las tonicoclónicas. En la **tabla 2** se ofrece información más detallada.⁵⁰ La epileptogénesis es el proceso por el que una estructura nerviosa normal se vuelve hiperexcitable hasta el punto de producir espontáneamente crisis epilépticas, puede incluirse en el término epileptogénesis las causas de las epilepsias tanto *genéticas* como *adquiridas*.

Las epilepsias primarias o idiopáticas, tanto generalizadas como localizadas, parecen tener un sustrato *genético* monogénico o poligénico relacionado con canalopatías, es decir, con alteraciones en los canales iónicos dependientes de voltaje o ligados a receptores de neurotransmisores.⁵¹

Las *epilepsias adquiridas* se producen por lesiones mayores del SNC, como las lesiones prenatales graves (hemorragia periventricular, traumatismos perinatales), los traumatismos craneoencefálicos penetrantes con coma, la encefalitis, la meningitis bacteriana, tumores, y otros factores etiológicos de menor gravedad que no suelen provocar epilepsia por sí mismos, pero pueden contribuir a la aparición de epilepsia en pacientes genéticamente predispuestos.

Tabla 2. Clasificación de las convulsiones epilépticas.

TIPO DE CONVULSIÓN	CARACTERÍSTICAS
Convulsiones parciales	
Parciales simples	Diversas manifestaciones que dependen de la región de la corteza activada por la crisis convulsiva (p. ej., si la corteza motora expresa al pulgar izquierdo, se producen sacudidas de dicho dedo; si la corteza somatosensitiva expresa al pulgar izquierdo se generarán parestesias del pulgar izquierdo) que duran aproximadamente 20 a 60 seg. El aspecto clave es la preservación del conocimiento.
Parciales complejas	Pérdida del conocimiento que dura 30 seg. a 2 min., en muchos casos aunada a movimientos propositivos, como chasquear los labios o agitar la mano.
Parciales con convulsiones tonicoclónicas generalizadas de manera consecutiva	La convulsión simple o parcial compleja evoluciona hasta convulsión tonicoclónica, con pérdida del conocimiento y contracciones sostenidas (tónicas) de los músculos de todo el cuerpo, a lo que siguen periodos de contracción muscular alternada con periodos de relajación (convulsiones clónicas), que en su forma característica duran uno a dos minutos.
Convulsiones generalizadas	
Crisis de ausencia	Inicio repentino de pérdida del conocimiento, aunado a una mirada fija e interrupción de las actividades que se estaban efectuando, y que duran de manera característica menos de 30 seg.
Convulsión mioclónica	Contracción muscular breve (quizá de un segundo de duración) de tipo choque eléctrico, ya sea circunscrita a parte de una extremidad, o generalizada.
Convulsión tonicoclónica	Lo mismo que en el caso de las convulsiones tonicoclónicas generalizadas de manera consecutiva, salvo que van precedidas por una convulsión parcial.

4.3.3 Génesis y propagación de las crisis

En el inicio y propagación de una descarga paroxística intervienen: a) la capacidad de un grupo de neuronas para generar la descarga; b) la capacidad del sistema excitador glutamérgico, en especial de los receptores N-metil-DL-aspartato (NMDA), para amplificar la señal, generándola y propagándola, y c) el fracaso del sistema inhibitor GABAérgico (ácido gamma-amino- butírico) para regular la activación de los receptores NMDA, para impedir la génesis de la descarga y para controlar su propagación intracerebral.⁵²

a) Inicio de la actividad epiléptica. Son característicos del inicio de la actividad epiléptica los cambios paroxísticos de despolarización (PDS, del inglés paroxysmal depolarization shifts). El inicio de los PDS se atribuye a la activación de los receptores glutamérgicos para el ácido γ -amino-3-hidroxi-5-metil-4-soxazol-propiónico (AMPA), que permite una rápida entrada de sodio; la despolarización mantenida de la neurona, y la salva de potenciales de acción de alta frecuencia que la acompaña, se atribuyen a una lenta entrada de calcio producida por la estimulación de receptores NMDA, por activación de canales de calcio dependientes de voltaje y, en algunos casos, por anomalías en los receptores AMPA y KA que permiten la entrada de calcio; la repolarización de la neurona se atribuye a la salida de potasio por activación de canales de potasio dependientes de voltaje. La hiperpolarización que suele seguir al PDS (que limita la extensión de la descarga) parece deberse a la entrada de cloro por la activación de los receptores GABA_A y la salida de potasio por activación de receptores GABA_B y de canales de potasio dependientes de voltaje.

b) Sincronización de la descarga. Para que una descarga paroxística se propague se necesita un elevado número de neuronas normales vecinas que descarguen simultáneamente de forma sincronizada para formar una punta intercrítica en un EEG. Esta sincronización requiere de una amplificación anómala y/o un fracaso de la inhibición GABAérgica en el neocortex o el hipocampo.

Por lo tanto, aun asumiendo que una lesión local puede ser suficientemente intensa como para provocar crisis epilépticas por si misma, debe aceptarse que en muchos casos se requiere de un sustrato epiléptico genético o adquirido en otras estructuras aparentemente normales que permita la sincronización y propagación de la descarga.⁵³

c) propagación de la descarga. El tercer requisito para la aparición de una crisis es la propagación de la descarga a otras estructuras del SNC, cuya activación provoca las alteraciones EEG críticas y las manifestaciones clínicas. En las crisis focales, el impulso iniciado en el neocortex se propaga a otras áreas corticales de éste y del otro hemisferio, así como a los núcleos subcorticales (tálamo y ganglios basales), al bulbo y a la médula. En las crisis hipocámpicas, la crisis se propaga a subtálamo, tálamo y ganglios basales. El tálamo desempeña un papel importante tanto en las crisis parciales como en las ausencias.⁵⁴

4.3.4 Principales fármacos anticonvulsivos y su mecanismo de acción

Los antiepilépticos producen una gran variedad de efectos directos y compensatorios que hacen difícil identificar cuales son los responsables de su acción antiepiléptica. Los posibles mecanismos de acción de los antiepilépticos van adaptándose a los avances en la epileptogénesis. La mayoría de los antiepilépticos clásicos tienen un efecto estabilizador de la membrana (**figura 2**), por inhibición de los canales de sodio. La demostración de que un exceso glutamérgico y/o una deficiencia GABAérgica esta implicada en la génesis y en la propagación de la descarga sugirió la posibilidad de corregir de forma específica la anomalía que causa la epilepsia con fármacos GABAérgicos y antiglutamérgicos. Sin embargo la acción de los antiepilépticos es bastante inespecífica, ya que su efecto estabilizador de la membrana y modificador del tono neurotransmisor tienen poco efecto sobre el foco y, en realidad, protegen frente a las crisis impidiendo la propagación de la descarga a estructuras normales vecinas. El descubrimiento de que algunas epilepsias se deben a

mutaciones en canales iónicos, ha abierto nuevas perspectivas de tratamiento más específico, con activadores de canales de potasio y antagonistas de receptores de AMPA o KA anómalos.^{55, 56}

a) *Inhibición de los canales de sodio.* Este canal es el lugar de acción de la mayoría de los antiepilépticos clásicos y nuevos (**tabla 3**). Los fármacos como la carbamazepina o la fenitoína, que actúan por este mecanismo, se fijan a la forma inactiva del canal de sodio dependiente de voltaje, lo que requiere que se active previamente el canal; cuantos más canales se abran, mayor será la posibilidad de que el antiepiléptico se fije a su lugar de acción y lo bloquee; por lo tanto, se unen más al canal cuando la neurona está despolarizada que cuando está hiperpolarizada. Este bloqueo dependiente de voltaje es también dependiente del uso (ya que los potenciales de acción que siguen al primero disminuyen en intensidad hasta desaparecer) y dependiente del tiempo, ya que tras la primera descarga hay una continuidad en el que nuevos estímulos provocan potenciales de menor frecuencia. Esto produce un bloqueo selectivo que afecta más a las descargas paroxísticas que a la transmisión normal. Se intenta desarrollar antiepilépticos más específicos para los canales que tienen mutaciones que producen epilepsia.⁵⁷

b) *Potenciación de la inhibición GABAérgica.* El GABA activa el canal de cloro del receptor GABA_A dejando entrar el cloro e hiperpolarizando la membrana. Su efecto puede potenciarse aumentando la concentración de GABA o facilitando su acción sobre el receptor. La concentración de GABA puede aumentarse estimulando la síntesis (valproato), inhibiendo la recaptación (tiagabina, estiripentol) o inhibiendo la degradación (vigabatrina). Las benzodiazepinas facilitan la unión del GABA al receptor GABA_A y aumentan la frecuencia con que se abre el canal de cloro, mientras que el fenobarbital actúa directamente sobre el canal de cloro prolongando el tiempo de apertura. La estimulación del receptor GABA_B puede ser anticonvulsivo por inhibir la entrada de calcio presináptica (lo que reduce la liberación de glutámico) y por activar canales de potasio postsinápticos que hiperpolarizan la membrana, pero pueden empeorar las ausencias por hiperpolarización de las células talamocorticales.⁵⁸

Tabla 3. Espectro y mecanismo de acción de los principales compuestos anticonvulsivos.

	Clásicos						Nuevos							
	BZD	CBZ	ESM	PB	PHT	VPA	FBM	GBP	LEV	LTG	OXC	TGB	TPM	VGB
Eficacia por tipo de crisis														
Generalizadas														
Ausencias	?	?	+	?	?	+	+	?	¿?	+	?	?	+	?
Atónicas	?	?	?	?	?	?	+	?	?	+	?	?	+	??
Mioclónicas	?	?	?	?	?	+	?	?	¿?	?	?	?	?	??
Espasmos infantiles	?	?	?	?	?	+	??	?	?	?	?	?	?	+
Tonicoclónicas	?	+	?			+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Parciales</i>														
Simple y compleja	?	+	?	?	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Secundaria generalizada	?	+	?	?	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Eficacia por tipo de epilepsia														
Generalizada														
<i>Idiopática</i>														
Ausencias	?	?	+	?	?	+	?	?	?	+?	?	?	?	?
Mioclónicas	?	?	?	?	?	+	?	?	¿?	+?	?	?	?	?
Tonicoclónicas	?	?	?	+	+	+	?	?	?	+?	?	?	+?	?
<i>Secundaria</i>														
Síndrome de Lenox	?	?	?	?	?	+	+	+	?	+?	?	?	+	??
Síndrome de West	?	?	?	?	?	+	?	?	?	?	?	?	?	+
Mioclónia progresiva	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	??	?
<i>Parcial</i>														
	?	+	?	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Mecanismo de acción														
Inhibición de los canales de sodio	?	+	?	?	+	+	+	+?	?	+	+	?	+	?
Facilitación GABAérgica	+	?	?	+	?	+	?	??	+?	?	?	+	+	+
Inhibición glutamérgica	?	?	?	?	?	?	+	??	?	+	?	?	+	?
Inhibición de los canales T de calcio	?	?	+	?	?	+	?	?	?	?	?	?	?	?
No bien conocida	?	?	?	?	?	+	?	+	+	+	?	?	?	?

+ : eficacia demostrada; ? : eficacia dudosa; +? : eficacia no demostrada o variable dependiendo del tipo de epilepsia. Las BZD pueden tener una eficacia inicial mayor, pero desarrollan tolerancia. El mecanismo de acción de la GBP y del LEV no se conoce; para VPA y LTG no se conoce el mecanismo de su efecto antiausencias. BZD: benzodiazepinas, CBZ: carbamazepina, CLB: clobazam, CZP: clonazepam, ESM: etosuximida, FBM: felbamato, GBP: gabapentina, HOXC: hidroxicarbazepina, LEV: levetiracetam, LTG: lamotrigina, OXC: oxcarbazepina, PB: fenobarbital, PHT: fenitoína, TGB: tiagabina, TPM: topiramato, VGB: vigabatrina, VPA: valproato.

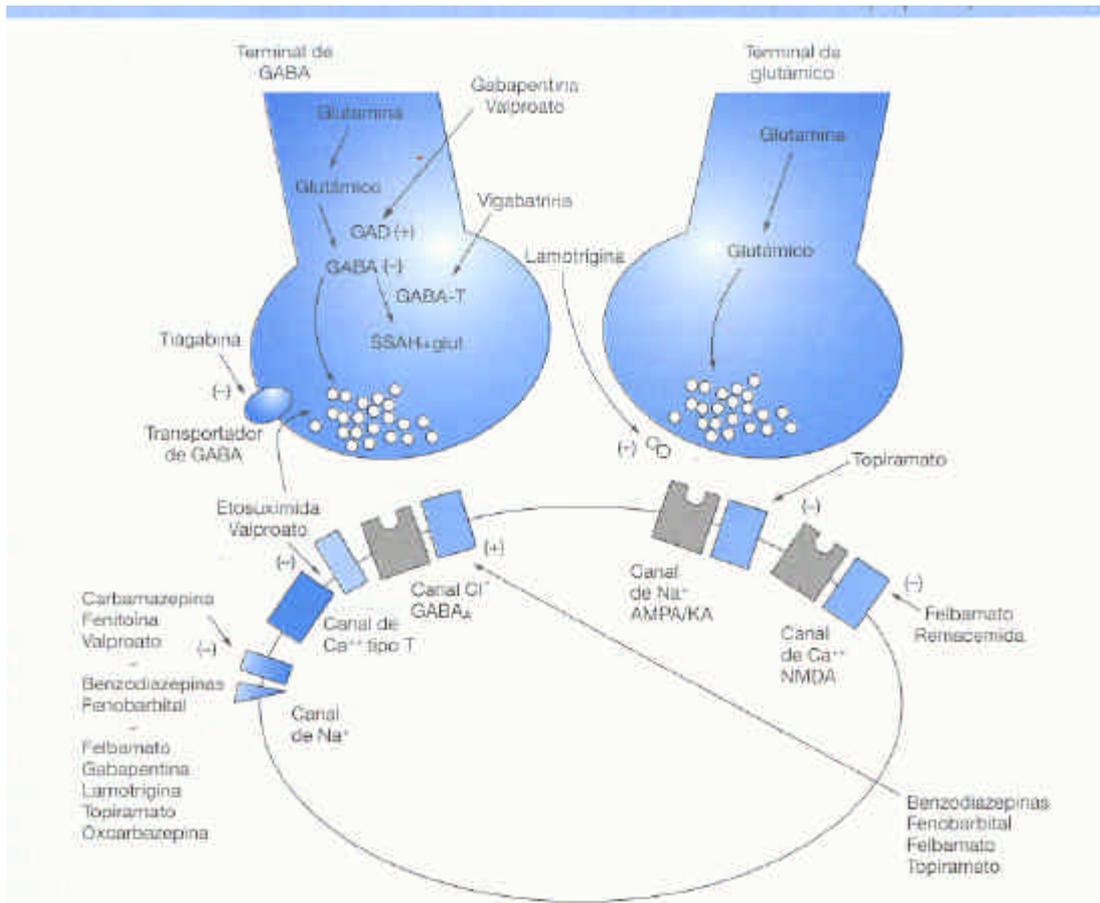
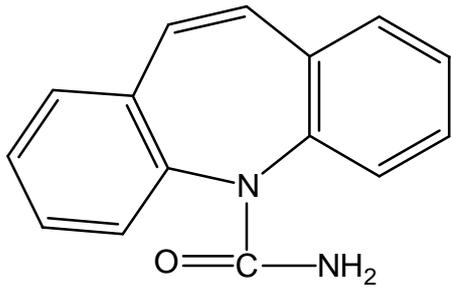
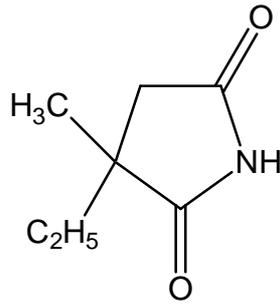


Figura 2. Esquema de los principales mecanismos de acción de los antiepilépticos donde se indica la acción activadora (+) o inhibitoria (-) de los antiepilépticos sobre terminaciones GABAérgica y glutamérgica, así como sobre el receptor GABA_A, los receptores NMDA junto con los AMPA/KA, además de los canales de sodio y calcio dependientes de voltaje.

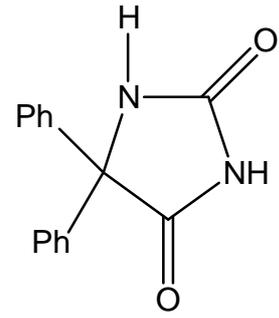
c) Inhibición de la excitación glutamérgica. Puede conseguirse reduciendo su liberación y antagonizando su efecto sobre receptores NMDA y no-NMDA. La liberación es reducida por antiepilépticos que inhiben los canales de sodio (fenitoína, carbamazepina y lamotrigina), que inhiben los canales de calcio (fenobarbital), que activan receptores GABA_B presinápticos (vigabatrina) y por la dinorfina, pero no está claro en qué cantidad contribuye este efecto a su acción anticonvulsiva. El ácido glutámico actúa sobre diversos tipos de receptores. El receptor NMDA suele estar inactivado por iones de magnesio y solo se activa si existe despolarización de la membrana que desplace al magnesio, permitiendo la entrada no sólo de sodio, si no también de calcio; por ello se le considera un receptor amplificador que reexcita neuronas que ya han



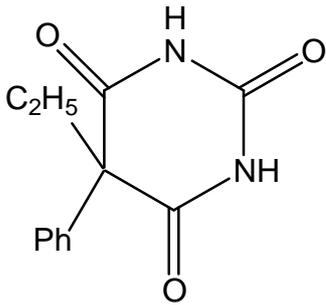
Carbamazepina



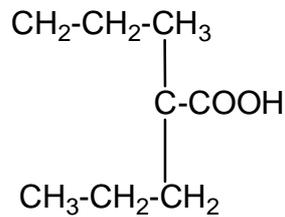
Etosuximida



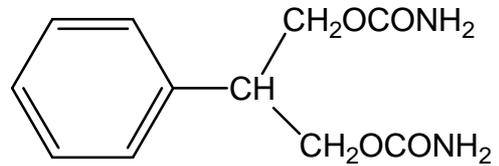
Fenitoína



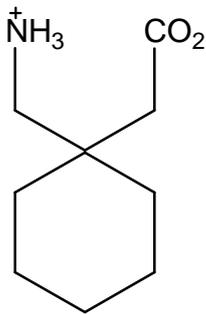
Fenobarbital



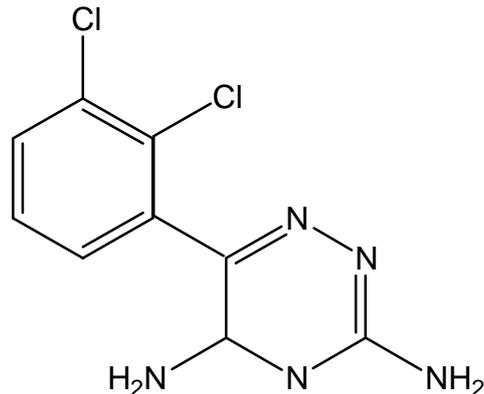
Ácido valproico



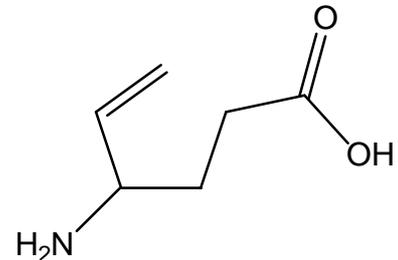
Felbamato



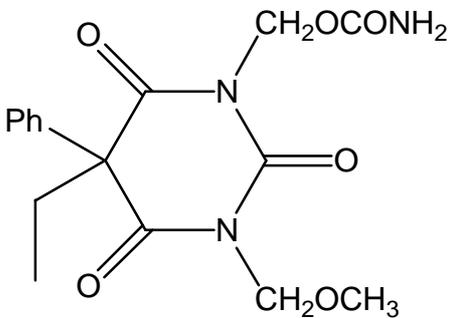
Gabapentina



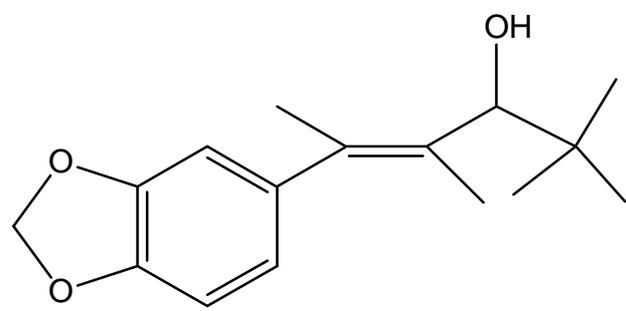
Lamotrigina



Vigabatrina

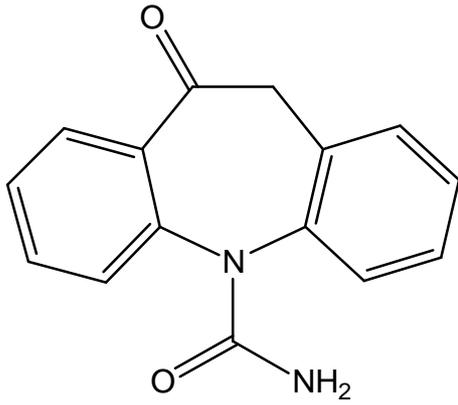


Esterobarbo

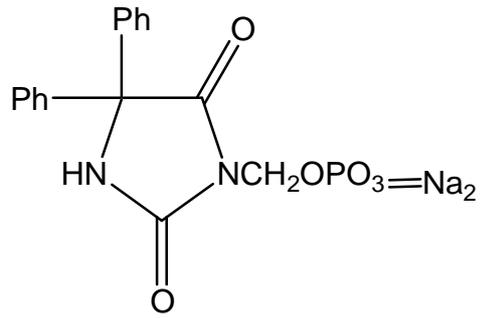


Estiripentol

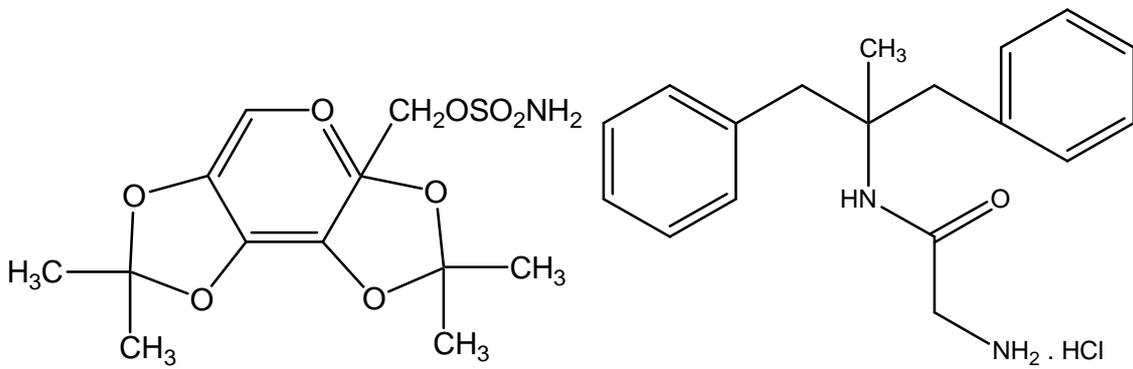
Esquema 6



Oxcarbazequina

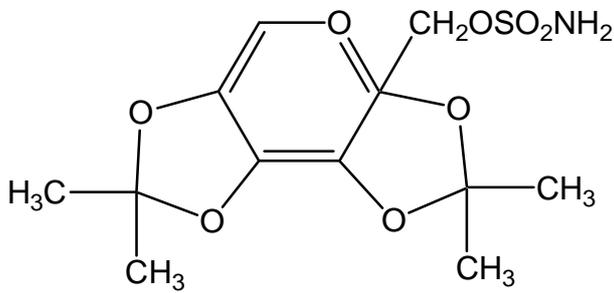


Fosfofenitoína

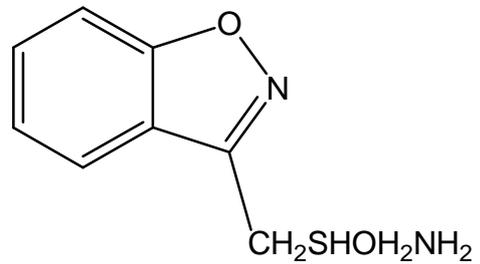


Oxcarbazequina

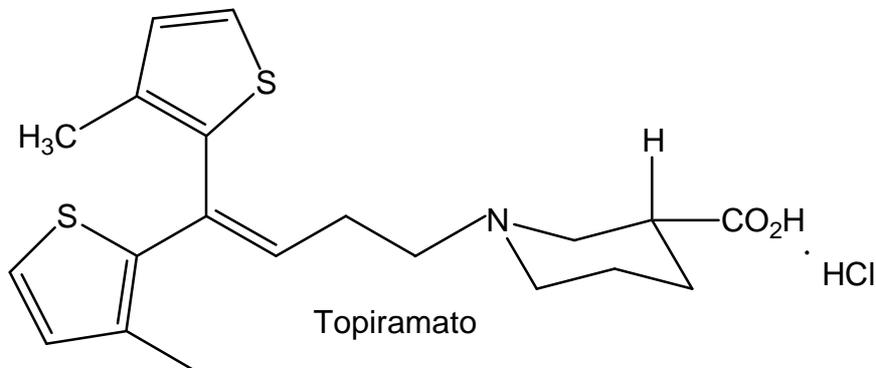
Remacemida



Topiramato



Zonisamida



Topiramato

Cont. Esquema 6

sido despolarizadas y su antagonismo suele producir efectos anticonvulsivos; el receptor NMDA tiene varios sitios que modulan la acción del ácido glutámico, como el sitio fenciclidina que es inhibido por la dizocilpina y el sitio glicina (equivalente al sitio benzodiazepínico GABAérgico) que es inhibido por el felbamato.

Los canales de sodio de los receptores AMPA y KA participan en la transmisión normal del estímulo excitador, distribuyéndose principalmente en su extensión cerebral. Estos receptores tienen subunidades específicas (GluR2 del AMPA, GluR5 y GluR6 del KA) que sólo dejan pasar sodio pero se han descrito cambios y mutaciones de estas subunidades que permiten entrar calcio, transformándolos en receptores paroxísticos similares al NMDA. Los barbitúricos antagonizan los receptores AMPA y el topiramato el receptor KA.

d) Inhibición de los canales de calcio. La entrada de calcio en la terminación presináptica facilita la liberación de neurotransmisores como el ácido glutámico, que da lugar a la despolarización mantenida que se observa en los cambios paroxísticos de despolarización, por lo menos hay cinco canales de calcio, que se diferencian en sus características bioeléctricas. Los canales N participan en la liberación de monoaminas y de algunos péptidos; los canales P, en la liberación de monoaminas, ácido glutámico y de GABA; los canales T postsinápticos del núcleo intralaminar del tálamo se han relacionado con la actividad marcapasos que provoca los ritmos de 3 ciclos/seg que se observan en el EEG de los pacientes con ausencias. El fenobarbital, la fenitoína, la carbamazepina y la lamotrigina bloquean la subunidad α_1 (ver figura 1) y la gabapentina la subunidad α_2/β reguladora de los canales de calcio presinápticos L, N y P, reduciendo la entrada de calcio y la liberación de neurotransmisores; por un mecanismo similar actúan los antagonistas de calcio como la flunarizina. Otros antiepilépticos, como la etosuximida, la dimetadona y la zonizamida, inhiben canales T postsinápticos talámicos, lo que parece ser el principal mecanismo antiausencias. El valproato, a concentraciones altas, inhibe las corrientes T de calcio en neuronas aferentes primarias.⁵⁹

e) *Activación de los canales de potasio.* Los canales de potasio KCNQ2 y KCNQ3 actúan sinérgicamente para formar corrientes M que se activan cuando la neurona esta despolarizada, repolarizando la membrana y frenando el tren rápido de descargas cuando se mantiene el estímulo. En la epilepsia temporal se han descrito alteraciones de estas corrientes de potasio, y la mutaciones en los canales KCNQ se asocian con la convulsiones familiares benignas y podrían ser el sustrato de epilepsias idiopáticas con ausencias y convulsiones tonicoclónicas. La carbamazepina y la losigamona pueden actuar, al menos en parte, activando canales de potasio y la retigabina activa los canales KCNQ, mejorando la corriente M.

4.3.5 Las 1,4-dihidropiridinas como agentes anticonvulsionantes

Como se menciona anteriormente el calcio juega un papel importantes en la epileptogénesis. Se sabe que durante un ataque convulsivo las concentraciones de calcio intracelular se incrementa y las concentraciones de calcio extracelular disminuye. Por lo que suena lógico que los fármacos que bloquean el flujo de calcio (bloqueadores o antagonistas) posean propiedades anticonvulsionantes.⁶⁰ Aunque las 1,4 dihidropiridinas no se encuentran en el cuadro básico de fármacos antiepilépticos, estas se encuentran clasificadas dentro de los fármacos antagonistas de calcio,²⁴ de los cuales existen 6 clases de antagonistas de calcio: clase I, las fenilalquilaminas (verapamil); clase II, las 1,4-dihidropiridinas (nifedipina); clase III, las benzotiazepinas (diltiazem); clase IV, las difenil alquilaminas (flunarizina); clase V, el grupo de la fenilamina; y clase VI, como otros (lidoflazina). Se han realizado numerosos experimentos que comprueban la eficacia de estas moléculas como agentes anticonvulsionantes en diferentes modelos farmacológicos, como el MES (maximal electroshock seizures), convulsiones producidas por alta presión ambiental, convulsiones producidas por distintas sustancias químicas como el PTZ (pentilentetrazol), KA (ácido caínico) ó NMDA (N-metil-dl-aspartato), por mencionar los principales modelos farmacológicos.

Por mencionar, algunas de las **DHPs** en las cuales se encontró actividad anticonvulsionante son la nifedipina, nitrendipina, nimodipina, nicardipina, etc.⁶¹ Se ha observado que ciertas **DHPs** incrementan la actividad convulsionante de algunos inductores, por ejemplo la nitrendipina potencializa el efecto del NMDA.⁶² También se ha demostrado que algunas otras **DHPs** incrementan el efecto antiepiléptico de los fármacos clásicos utilizados como anticonvulsionantes, tal es el caso de la amlodipina que incrementa la actividad anticonvulsionante de la etosuximida, el valproato, y el fenobarbital.

Finalmente, es interesante indicar que recientes descubrimientos han demostrado que las **DHPs** bloquean la entrada de calcio por antagonismo de los canales L de calcio. Siendo efectivas contra las ausencias y las convulsiones tónico-clónicas.⁶²

HIPÓTESIS

HIPÓTESIS

Dada la relación estructural de las 3,4-DHPMs con las 1,4-DHPs, las cuales presentan actividad anticonvulsionante, es de esperar que las 3,4-DHPMs presenten un perfil farmacológico similar o mejor, a los ésteres de Hantzsch conocidos.

OBJETIVOS

OBJETIVOS

3.1 Objetivo General

Llevar a cabo la preparación de una serie de 3,4-dihidropirimidin-2(1*H*)-onas, mediante el contexto de la química verde, a efecto de evaluar su actividad anticonvulsionante.

3.2 Objetivos Particulares

- ✍ Obtener una serie de diez compuestos de la clase de los ésteres de Biginelli, (3,4 –dihidropirimidin-2(1*H*)-onas), en un contexto ecológico.
- ✍ Separar y purificar las moléculas obtenidas, a través de métodos convencionales en química orgánica.
- ✍ Caracterizar por métodos físicos (pf) y espectroscópicos (RMN ¹H) las moléculas obtenidas.
- ✍ Determinar en ratones de la cepa CF1 exogénica, la toxicidad aguda (DL₅₀) de los productos antes mencionados.
- ✍ Evaluar la actividad anticonvulsionante de las moléculas de interés, mediante el método del PTZ en ratones.

EXPERIMENTAL

EXPERIMENTAL

5.1 Metodología química

Todos los aldehídos se adquirieron comercialmente (Aldrich Chemical Co.), fueron empleados sin purificación adicional; los puntos de fusión se determinaron en un aparato Fisher-Johns y no están corregidos. Los productos fueron identificados por medio de sus datos espectroscopicos de Resonancia Magnética Nuclear de H^1 (300 MHz), en un aparato Varian Gemini 300 utilizando como disolvente al DMSO deuterado y TMS como referencia interna. Así mismo RMN y la *ccf* proporciono información para determinar la pureza de cada una de las moléculas objetivo.

Ejemplo típico:

En un matraz Erlen Meyer de 50ml, se coloca la mezcla de benzaldehído (18.75 mm), urea (18.75 mm) y acetoacetato de metilo (18.75mm) en proporción 1:1:1, en ausencia de disolvente. Se sello el matraz con algodón, sin protección a la luz y se dejo a temperatura ambiente alrededor de 15 días (**Esquema 2**). Posteriormente se procedió a la purificación con lavados continuos de hexano, acetona y finalmente con etanol, para obtener la **DHPM 8**. En la **tabla 4**, se muestran todos los reactivos utilizados para la obtención de las diez moléculas de interés.

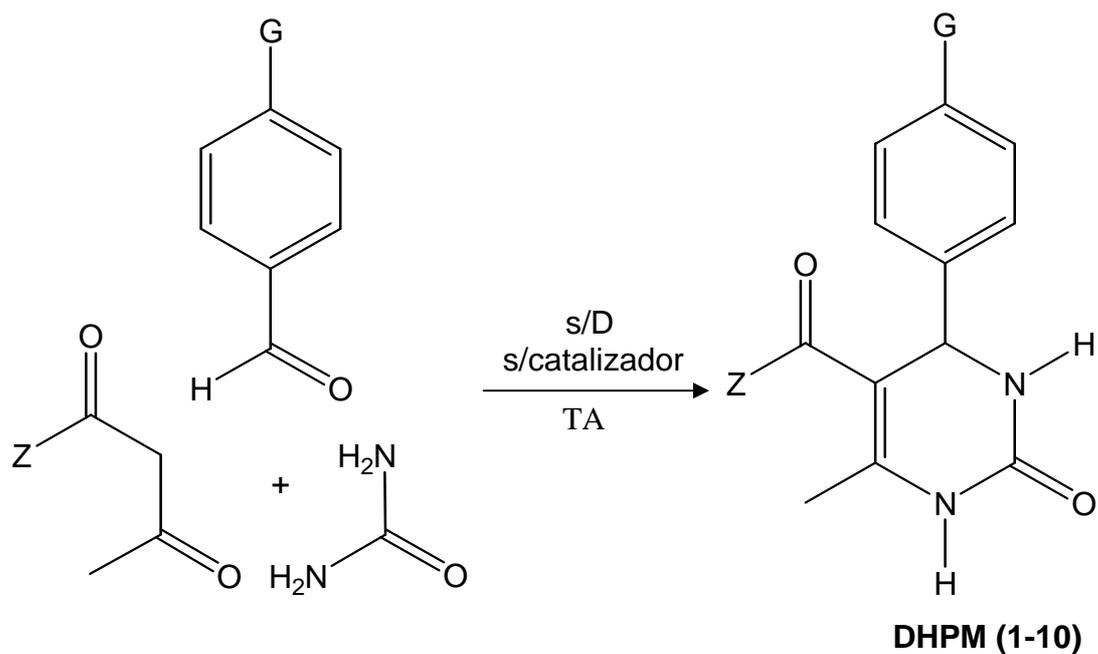


Tabla 4. Reactivos utilizados para la obtención de las diez **DHPMs**.

DHPM	Aldehído	G	Z (?-cetoéster)
1	<i>p</i> -metoxibenzaldehído	OMe	EtO
2	<i>p</i> -metilbenzaldehído	Me	EtO
3	Benzaldehído	H	EtO
4	<i>p</i> -clorobenzaldehído	Cl	EtO
5	<i>p</i> -fluorbenzaldehído	F	EtO
6	<i>p</i> -metoxibenzaldehído	OMe	MeO
7	<i>p</i> -metilbenzaldehído	Me	MeO
8	Benzaldehído	H	MeO
9	<i>p</i> -clorobenzaldehído	Cl	MeO
10	<i>p</i> -fluorbenzaldehído	F	MeO

5.2 Métodos farmacológicos:

5.2.1 Toxicidad aguda.

El protocolo empleado para determinar la dosis letal 50 (DL₅₀) de las diez **DHPMs** sintetizadas fue el propuesto por Lorke.⁶³ Para lo cual se emplearon ratones macho de la cepa CF1 con un peso aproximado de 25-30 g y de seis a ocho semanas de edad. Los animales se mantuvieron en un cuarto bajo temperatura regulada de 22 ± 2 °C, humedad relativa de 50 ± 10 % y ciclos de luz/oscuridad de 12 horas cada uno, con agua y alimento *ad libitum*.

Se agruparon los ratones en 5 lotes y posteriormente se privó a los animales de alimento por 12 h (aproximadamente) antes del estudio. Se administraron las **DHPMs (1-10)** por vía intraperitoneal a diferentes dosis (10, 31.6, 100, 316, 1000) mg/Kg; se observaron durante 3 horas y 24 horas posteriores a la administración de la correspondiente **DHPM** y se cuantificó la mortalidad.

Los animales se distribuyeron aleatoriamente formando 5 lotes experimentales, con tres animales cada uno.

Lote 1: **DHPM** (10 mg/Kg)

Lote 2: **DHPM** (31.6 mg/kg)

Lote 3: **DHPM** (100 mg/Kg)

Lote 4: **DHPM** (316 mg/Kg)

Lote 5: **DHPM** (1000 mg/Kg)

5.2.2 Actividad anticonvulsinante por el método del pentilenotetrazol (PTZ).

Se utilizaron ratones macho de la cepa CF1 con un peso aproximado de 25-30 g y seis a ocho semanas de edad; se aclimataron en un local bajo temperatura regulada de 22 ± 2 °C, humedad relativa de 50 ± 10 % y ciclos de luz/oscuridad de 12 horas cada uno, con agua y alimento *ad libitum*.

El pentilentetrazol se obtuvo de forma comercial 98% (Aldrich Chemical Co.), este se disolvió en agua destilada y se administró por vía intraperitoneal (i.p.) en un volumen equivalente a la centésima parte del peso del ratón. Se utilizó la dosis letal DL_{90} (90 mg/Kg) del PTZ; los animales se observaron 30 minutos después de la administración del mismo

Las **DHPMs (1-10)** se disolvieron en DMSO al 3% aforándose con solución salina fisiológica. La administración de los fármacos se realizó por vía intraperitoneal (i.p.) 30 minutos antes del convulsinante (PTZ) a dosis de 90 mg/Kg. Los animales se distribuyeron aleatoriamente en lotes de 15 para cada **DHPM**:

Lote 1: Testigo (PTZ + agua destilada)

Lote 2: DMSO 3% + agua destilada

Lote 3: Compuesto **(1-10)** 10 mg/Kg

Lote 4: Compuesto **(1-10)** 31.6 mg/Kg

Lote 5: Compuesto **(1-10)** 100 mg/Kg

Lote 6 Compuesto **(1-10)** 316 mg/Kg

Los animales se observaron 30 minutos después de la administración del PTZ, evaluándose los siguientes parámetros:

- ☞ % de ratones muertos
- ☞ Tiempo de latencia (TL min.).
- ☞ Duración de cada convulsión (Dc min.)
- ☞ Índice de convulsión(Ic); se asigno un valor dependiendo del tipo de convulsión. Ic; (1) temblor ligero que dure mas de 3 s, (2) extensión de las patas delanteras y dorsiflexión, (3) salto con o sin chillido acompañado de convulsiones clónicas y (4) extensión tónica de las patas traseras con duración no menor a 3 s.
- ☞ Promedio de la severidad de la convulsión ?(Ic * Dc)
- ☞ Número total de convulsiones en cada grupo (Nc)
- ☞ Número de ratones con convulsiones en cada reacción (NRc)
- ☞ Factor de protección calculado de acuerdo a la siguiente formula:

$$P = \frac{TL}{\frac{?(Ic * Dc)}{Nc}} = \frac{TL * NTA}{\frac{Nc}{NRc} * \frac{NRc}{NTA} * ?(Ic * Dc)}$$

Formula 1

Con los datos obtenidos se realizo el análisis estadístico correspondiente, utilizando las pruebas de Fisher exacta para el para la determinación del porcentaje de ratones muertos y ANOVA unifactorial para los parámetros de: factor de protección (P), promedio de la severidad de las convulsiones [?(IcDc)] y número de convulsiones.

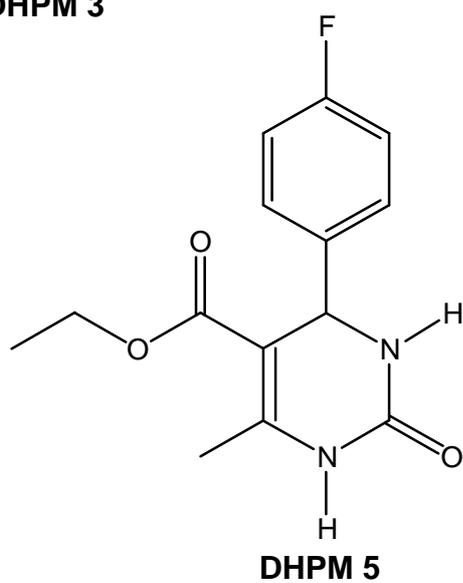
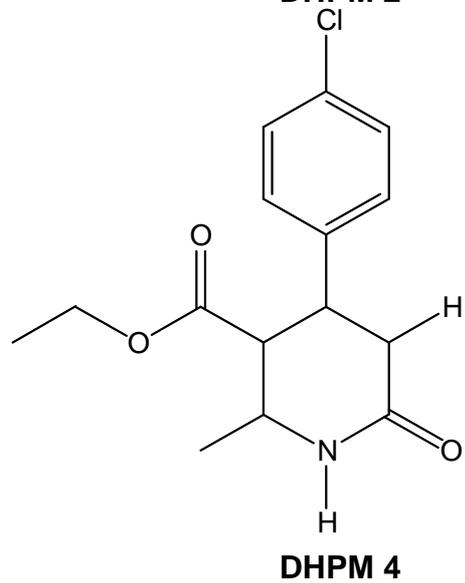
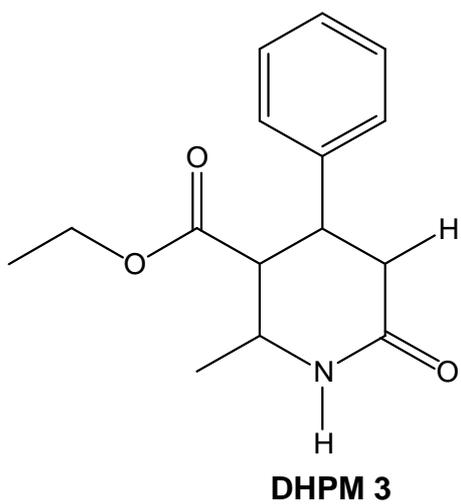
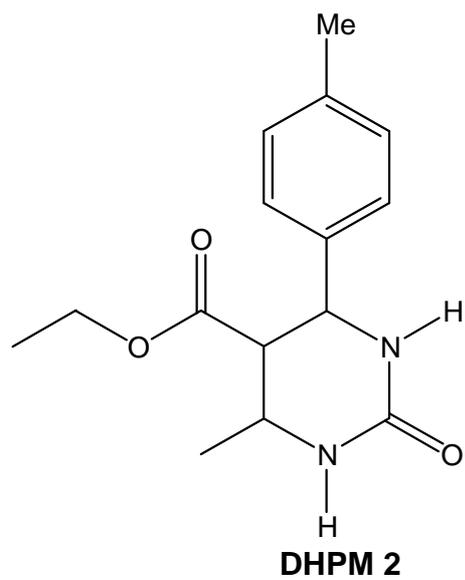
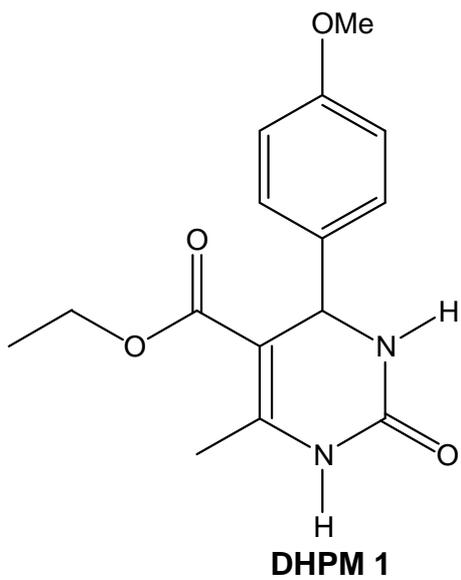
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

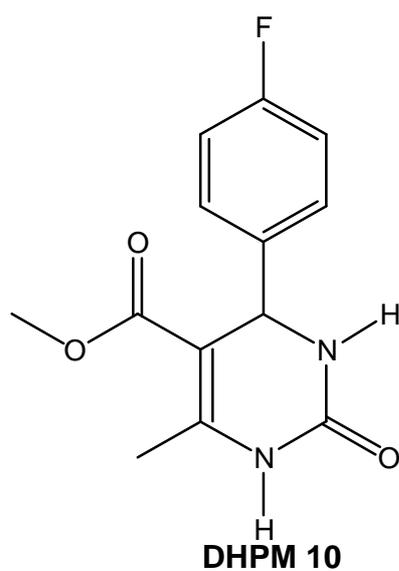
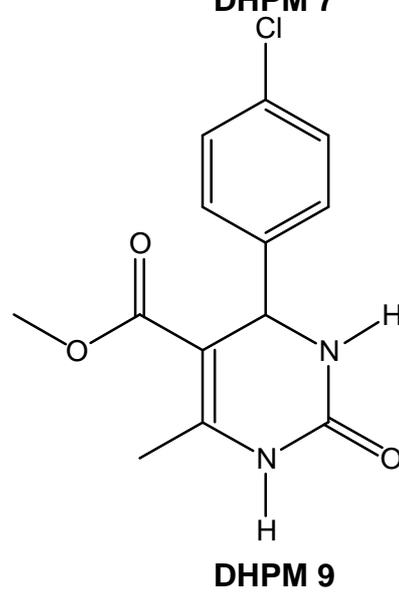
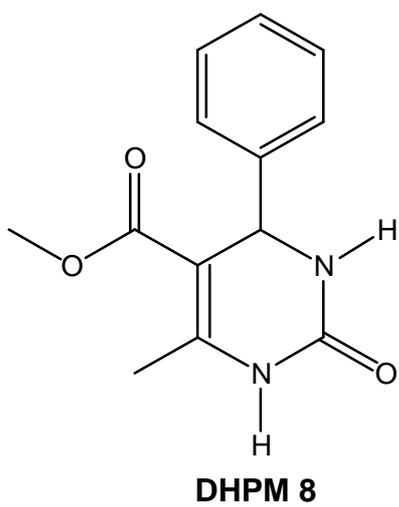
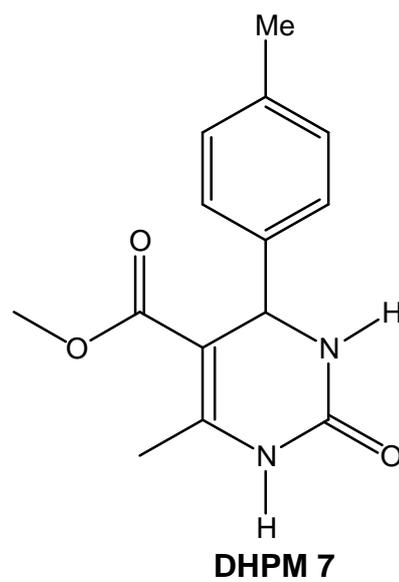
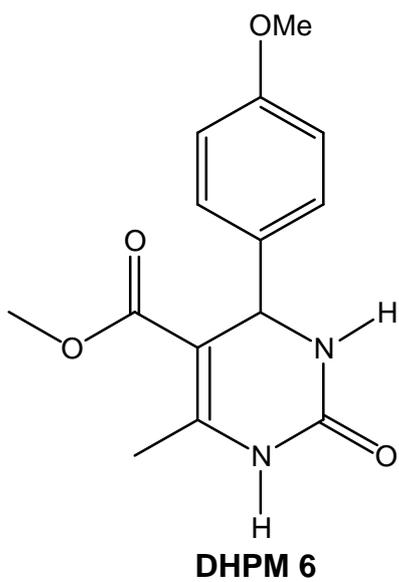
6.1 Obtención química de las 3,4-DHPMs

En el Esquema 7, se muestra la estructura de cada una de las diez **DHPMs** obtenidas mediante el protocolo de la síntesis modificada de Biginelli¹ y de acuerdo a los principios de la química verde.⁴⁵ La variación de la metodología implica realizar la reacción en condiciones estáticas, a temperatura ambiente y sin protección de la luz⁶⁴; al respecto en la **Tabla 4** se presentan de manera resumida los datos experimentales correspondientes. Es necesario mencionar, que como son moléculas que han sido previamente sintetizadas, en esta ocasión fueron identificadas por correlación de sus datos de RMN ¹H con los publicados en la literatura. Como complemento, en el apéndice de esta tesis, se presentan los espectros correspondientes de las diez moléculas con sus respectivas asignaciones. En este contexto, y a manera de ejemplo se presenta la discusión del espectro de RMN ¹H para la 4-(4'-metoxifenil)-5-carbometoxi-6-metil-3, 4-dihidro-1*H*-pirimidin-2-ona (**Figura 3**).

Empezando, por campo bajo, se observa una señal simple en 9.19 ppm y que integra para un protón la cual corresponde al hidrógeno base de nitrógeno de la posición 1; acto seguido hay una señal doble en 7.70 ppm, la cual también integra para un protón, ésta es asignada al hidrógeno base de nitrógeno en la posición 3, la cual presenta acoplamiento con el hidrógeno de la posición 4; posteriormente se aprecia un sistema A A' - B B' entre 7.15 y 6.86 ppm el cuál corresponde al sistema de protones aromáticos *para* disustituidos; a su vez en 5.08 ppm se encuentra una señal doble correspondiente al hidrógeno de la posición 4; continuando a campo alto en 3.71 ppm se presenta una señal simple que integra para tres protones, correspondientes a los hidrógenos del metoxilo en posición 4', complementariamente 3.52 ppm hay otra señal que también integra para tres hidrógenos, correspondiente al metilo de la función éster; y finalmente a 2.24 ppm se localiza otra señal simple que pertenece metilo en posición 6.



Esquema 7



Cont. Esquema 7

Tabla 4. Datos generales, obtenidos y teóricos para las DHPM's ⁶⁵

DHPM	P.f. publicado	P.f. experimental	Rendimiento %	Nombre
1	205-207	202-204	95	4-(4'-metoxifenil)-5-carboetoxi-6-metil-3,4-dihidro-1 <i>H</i> -pirimidin-2-ona
2	214-215	213-216	95	4-(4'-metilfenil)-5-carboetoxi-6-metil-3,4-dihidro-1 <i>H</i> -pirimidin-2-ona
3	202-204	206-207	98	4-fenil-5-carboetoxi-6-metil-3,4-dihidro-1 <i>H</i> -pirimidin-2-ona
4	213-215	210-212	89	4-(4'-clorofenil)-5-carboetoxi-6-metil-3,4-dihidro-1 <i>H</i> -pirimidin-2-ona
5	185-186	183-185	89	4-(4'-fluorofenil)-5-carboetoxi-6-metil-3,4-dihidro-1 <i>H</i> -pirimidin-2-ona
6	192-194	198-201	98	4-(4'-metoxifenil)-5-carbometoxi-6-metil-3,4-dihidro-1 <i>H</i> -pirimidin-2-ona
7	213-216	215-218	94	4-(4'-metilfenil)-5-carbometoxi-6-metil-3,4-dihidro-1 <i>H</i> -pirimidin-2-ona
8	233-236	235-238	96	4-fenil-5-carbometoxi-6-metil-3,4-dihidro-1 <i>H</i> -pirimidin-2-ona
9	204-207	208-210	90	4-(4'-clorofenil)-5-carbometoxi-6-metil-3,4-dihidro-1 <i>H</i> -pirimidin-2-ona
10	192-194	193-196	91	4-(4'-fluorometil)-5-carbometoxi-6-metil-3,4-dihidro-1 <i>H</i> -pirimidin-2-ona

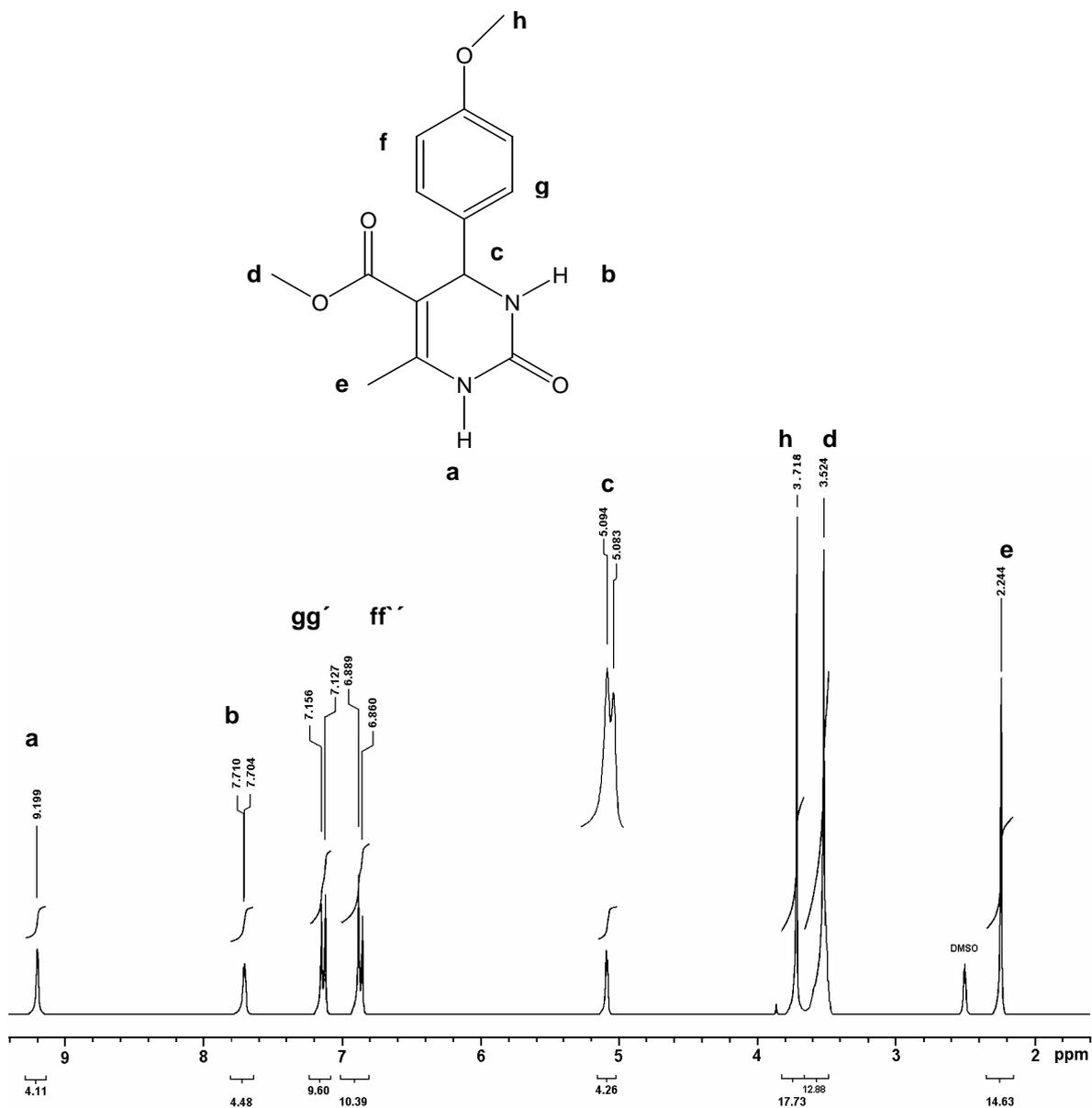


Figura 3: RMN ^1H (DMSO- D_6 /TMS), para la **DHPM 6**; 4-(4'-metoxifenil)-5-carbometoxi-6-metil-3, 4-dihidro-1H-pirimidin-2-ona.

6.2 Toxicidad aguda

A partir del análisis de los datos obtenidos de la prueba de toxicidad aguda, la DL_{50} fue mayor de 1000 mg/kg de peso, por lo que se concluye que los compuestos evaluados (**DHPM 1-10**) son poco tóxicos de acuerdo a la clasificación de la OMS.⁴⁷

6.3 Efecto anticonvulsionante

En las gráficas (1-10) se presenta el efecto protector contra la muerte de las diez **DHPMS**. A su vez en la **Tabla 5** se muestran las dosis en donde se encuentra el mayor efecto farmacológico para cada una de las moléculas

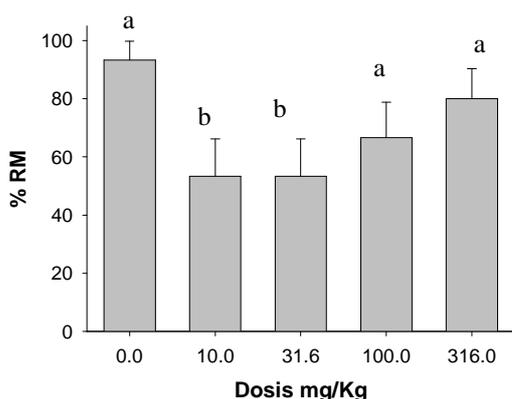
Tabla 5: Resumen de los datos obtenidos para el efecto protector contra la muerte.

DHPM	G	Z	Ratones vivos (%)	Dosis mg/Kg
1	OMe	EtO	46.67	31.6
2	Me	EtO	80	316
3	H	EtO	93.34	316
4	Cl	EtO	53.34	316
5	F	EtO	73.34	316
6	OMe	MeO	40	31.6
7	Me	MeO	73.34	316
8	H	MeO	100	316
9	Cl	MeO	96.67	316
10	F	MeO	86.667	316

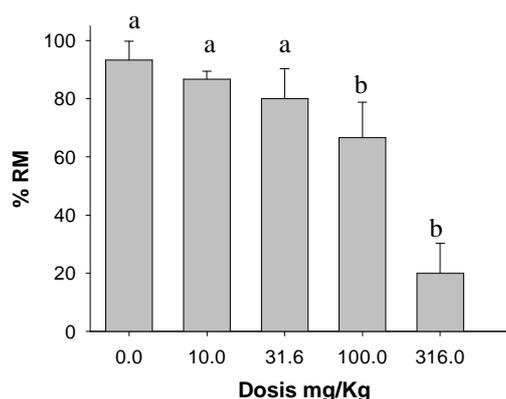
Como se puede apreciar todas las moléculas tuvieron efecto protector contra la muerte producido por el PTZ, donde las **DHPMs 2, 3, 8, 9 y 10** tuvieron un porcentaje de supervivencia superior del 80% hasta el 100%.

Es de importancia mencionar, que con excepción de las **DHPMs 1** y **6** todas las **DHPMs** restantes presentaron un efecto dependiente de la dosis, estas tuvieron el máximo efecto protector a la dosis de 316 mg/Kg. Nótese que las **DHPMs 1** y **6** tienen cierta analogía ya que el sustituyente en **G** (OMe) es el mismo, las cuales presentaron una actividad protectora moderada en donde el mayor porcentaje de ratones vivos se encuentra a la dosis de 10 mg/Kg, como se puede observar en las gráficas 1 y 6 a medida que se incrementa la dosis el número de ratones muertos aumenta de manera progresiva.

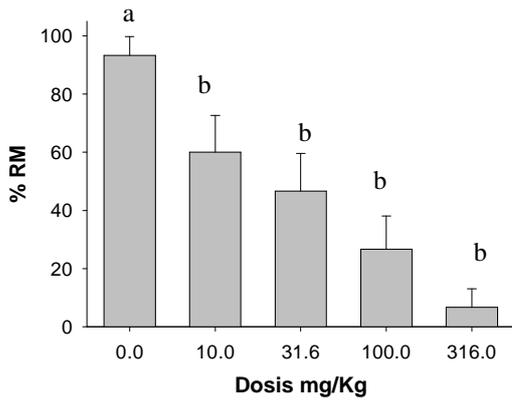
El orden de potencia aparente, de los compuestos para este parámetros evaluado fue: **DHPM 8>DHPM 9>DHPM 3>DHPM 10>DHPM 2>DHPM 5>DHPM 7>DHPM 4>DHPM 1>DHPM 6**.



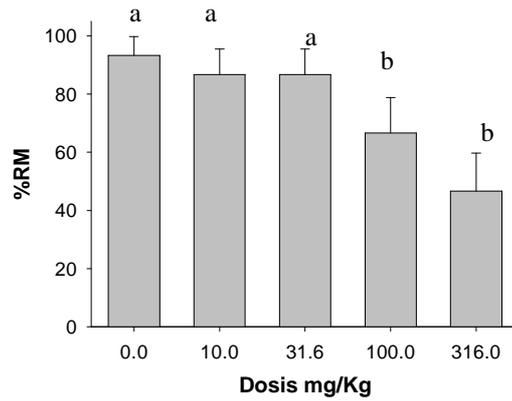
Gráfica 1. Efecto protector contra la muerte de la **DHPM 1**. Cada punto representa la media de $n = 15 \pm SEM$. Literales diferentes $p < 0.05$ por prueba de fisher exacta.



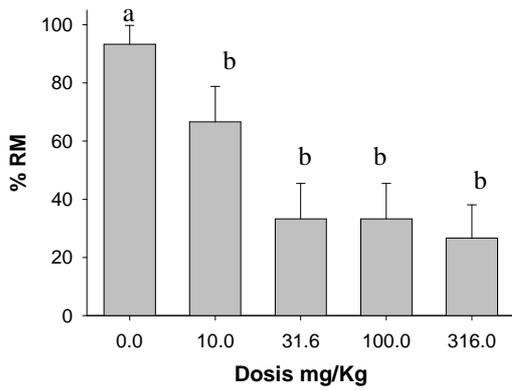
Gráfica 2 Efecto protector contra la muerte de la **DHPM 2**. Cada punto representa la media de $n = 15 \pm SEM$. Literales diferentes $p < 0.05$ por prueba de fisher exacta.



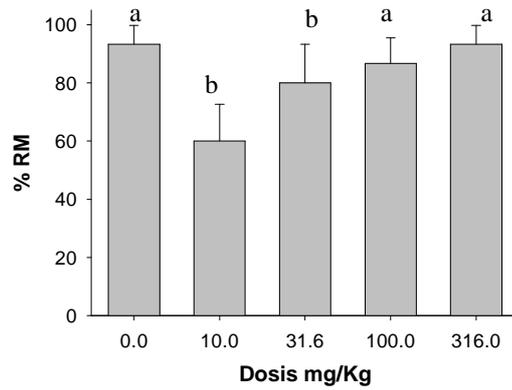
Gráfica 3. Efecto protector contra la muerte de la **DHPM 3**. Cada punto representa la media de $n = 15 \pm \text{SEM}$. Literales diferentes $p < 0.05$ por prueba de fisher exacta.



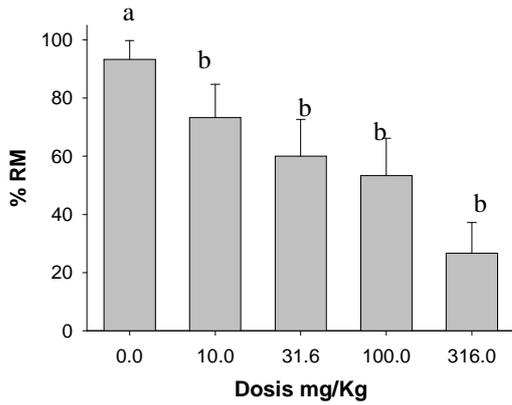
Gráfica 4. Efecto protector contra la muerte de la **DHPM 4**. Cada punto representa la media de $n = 15 \pm \text{SEM}$. Literales diferentes $p < 0.05$ por prueba de fisher exacta.



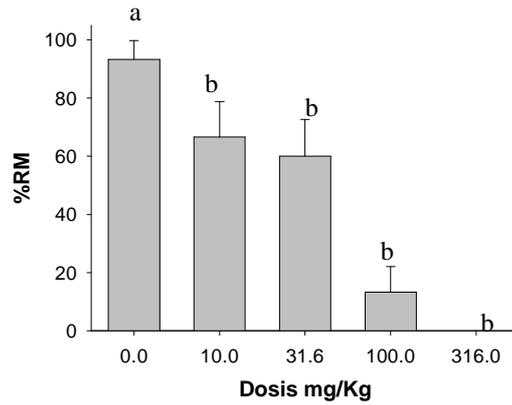
Gráfica 5. Efecto protector contra la muerte de la **DHPM 5**. Cada punto representa la media de $n = 15 \pm \text{SEM}$. Literales diferentes $p < 0.05$ por prueba de fisher exacta.



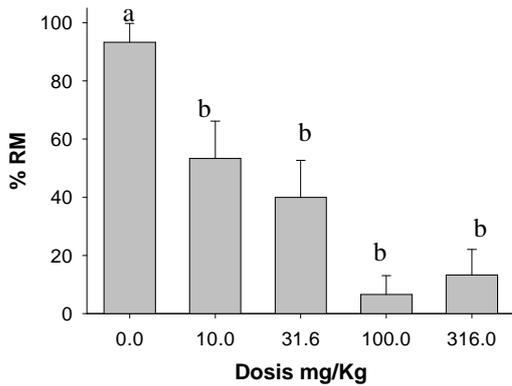
Gráfica 6. Efecto protector contra la muerte de la **DHPM 6**. Cada punto representa la media de $n = 15 \pm \text{SEM}$. Literales diferentes $p < 0.05$ por prueba de fisher exacta.



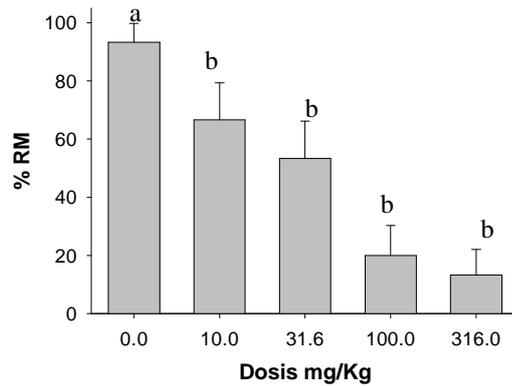
Gráfica 7. Efecto protector contra la muerte de la **DHPM 7**. Cada punto representa la media de $n = 15 \pm SEM$. Literales diferentes $p < 0.05$ por prueba de fisher exacta.



Gráfica 8. Efecto protector contra la muerte de la **DHPM 8**. Cada punto representa la media de $n = 15 \pm SEM$. Literales diferentes $p < 0.05$ por prueba de fisher exacta.



Gráfica 9. Efecto protector contra la muerte de la **DHPM 9**. Cada punto representa la media de $n = 15 \pm SEM$. Literales diferentes $p < 0.05$ por prueba de fisher exacta.

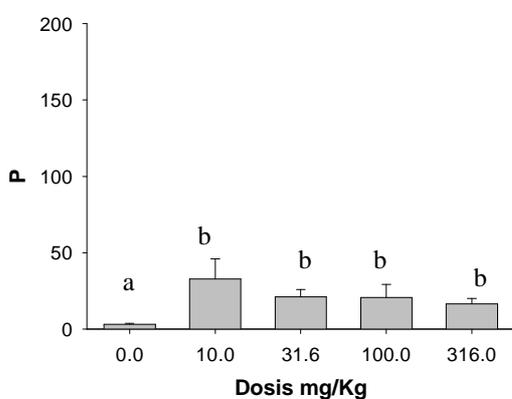


Gráfica 10. Efecto protector contra la muerte de la **DHPM 10**. Cada punto representa la media de $n = 15 \pm SEM$. Literales diferentes $p < 0.05$ por prueba de fisher exacta.

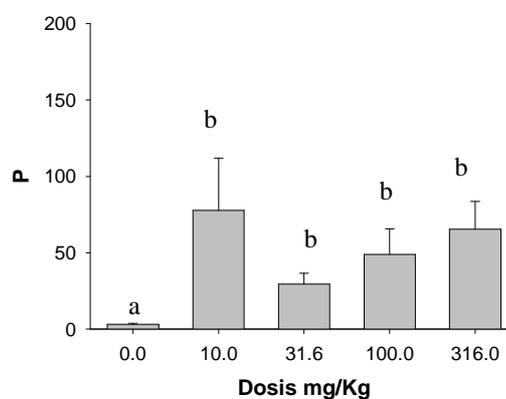
En general todas las **DHPMs** tuvieron un efecto protector contra la muerte significativamente diferente con respecto al testigo.

Posteriormente se calculo un parámetro que se denomino factor de protección (P) (ver **formula 1**). El factor de protección nos da un panorama general de la actividad anticonvulsionante de las moléculas obtenidas, abarcando distintos parámetros para visualizar la actividad general de las moléculas de interés.

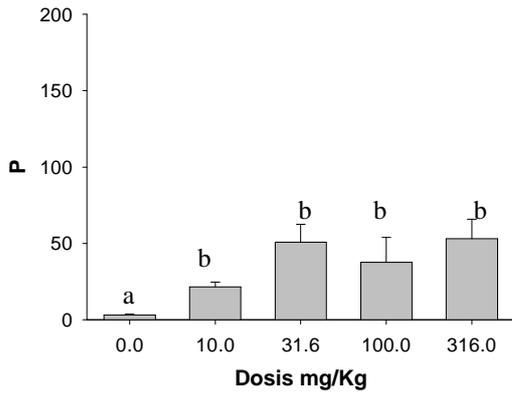
En las gráficas (11-20), se presenta el factor de protección calculado para cada una de las **DHPMs** a las diferentes dosis administradas.



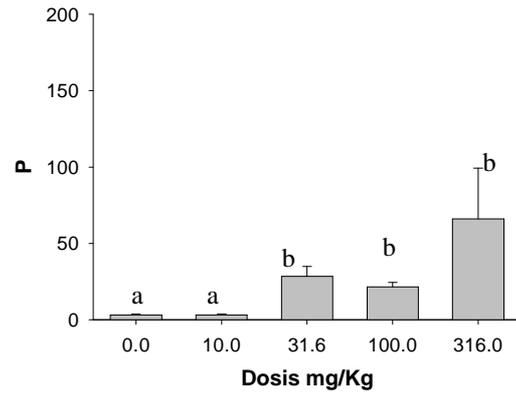
Gráfica 11. Factor de protección calculado para la **DHPM 1**. Cada punto representa la media de $n = 15 \pm \text{SEM}$ Literales diferentes $p < 0.05$ por ANOVA unifactorial



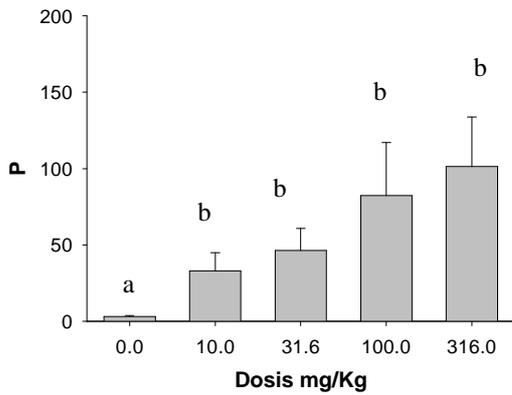
Gráfica 12. Factor de protección calculado para la **DHPM 2**. Cada punto representa la media de $n = 15 \pm \text{SEM}$ Literales diferentes $p < 0.05$ por ANOVA unifactorial



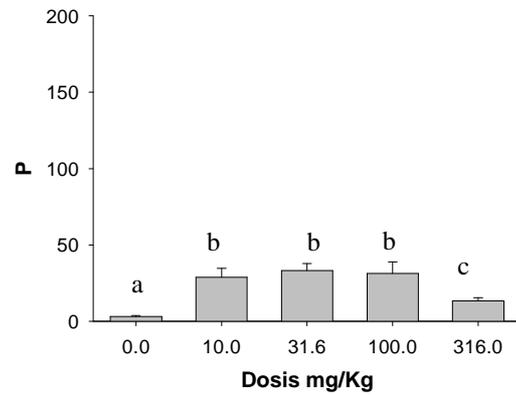
Gráfica 13. Factor de protección calculado para la **DHPM 3**. Cada punto representa la media de $n = 15 \pm SEM$. Literales diferentes $p < 0.05$ por ANOVA unifactorial



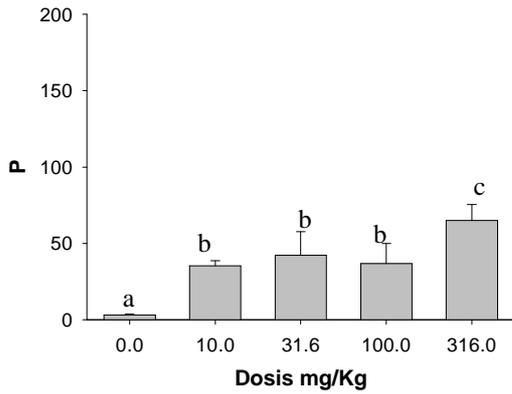
Gráfica 14. Factor de protección calculado para la **DHPM 4**. Cada punto representa la media de $n = 15 \pm SEM$. Literales diferentes $p < 0.05$ por ANOVA unifactorial



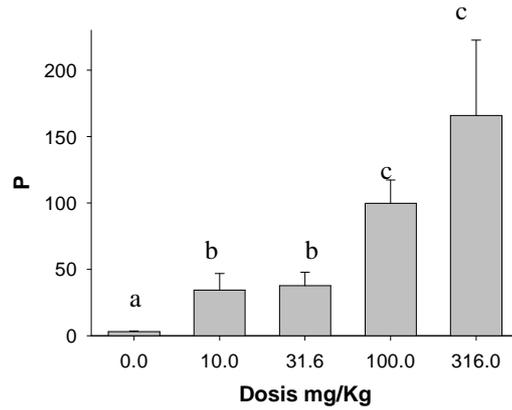
Gráfica 15. Factor de protección calculado para la **DHPM 5**. Cada punto representa la media de $n = 15 \pm SEM$. Literales diferentes $p < 0.05$ por ANOVA unifactorial



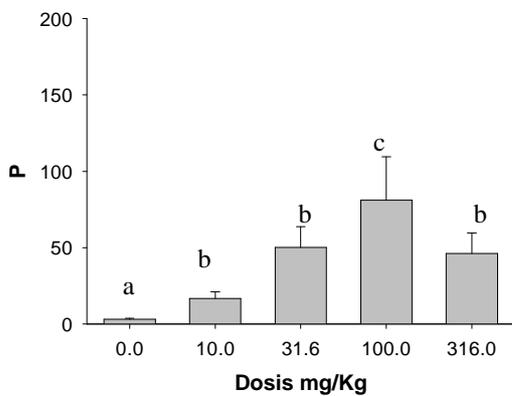
Gráfica 16. Factor de protección calculado para la **DHPM 6**. Cada punto representa la media de $n = 15 \pm SEM$. Literales diferentes $p < 0.05$ por ANOVA unifactorial



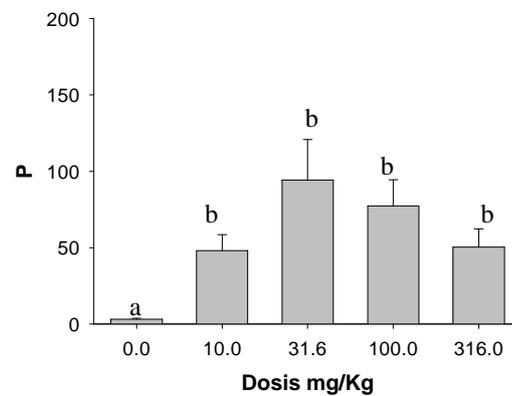
Gráfica 17. Factor de protección calculado para la **DHPM 7**. Cada punto representa la media de $n = 15 \pm SEM$ Literales diferentes $p < 0.05$ por ANOVA unifactorial



Gráfica 18. Factor de protección calculado para la **DHPM 8**. Cada punto representa la media de $n = 15 \pm SEM$ Literales diferentes $p < 0.05$ por ANOVA unifactorial



Gráfica 19. Factor de protección calculado para la **DHPM 9**. Cada punto representa la media de $n = 15 \pm SEM$. Literales diferentes $p < 0.05$ por ANOVA unifactorial



Gráfica 20. Factor de protección calculado para la **DHPM 20**. Cada punto representa la media de $n = 15 \pm SEM$. Literales diferentes $p < 0.05$ por ANOVA unifactorial

En la **Tabla 6** se muestran los valores de P para cada una de las **DHPMs** a la dosis en que P se encuentra mas alto, indicando un mayor efecto anticonvulsivo.

Tabla 6. Resumen de los datos obtenidos para el índice de protección.

DHPM	G	Z	P	Dosis mg/Kg
1	OMe	EtO	32.92	10
2	Me	EtO	77.73	10
3	H	EtO	53.17	316
4	Cl	EtO	66.05	316
5	F	EtO	101.34	316
6	OMe	MeO	33.35	31.6
7	Me	MeO	65	316
8	H	MeO	165	316
9	Cl	MeO	81.14	100
10	F	MeO	26.41	31.6

El valor de P para el testigo fue de 3.16, como se puede apreciar todas las **DHPMs** tuvieron efecto protector contra las convulsiones producidas por el PTZ, donde destacan las **DHPMs 2, 5, 9 y 8** con un índice de P superior a 80.

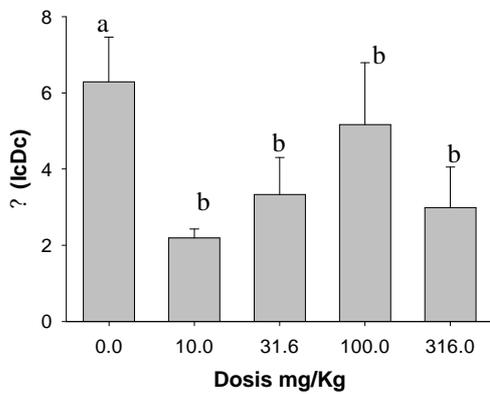
En cuanto a potencia se refiere la **DHPM 2** presento el mejor efecto protector contra las convulsiones producidas por el PTZ, el cual fue de 80 a la dosis de 10 mg/Kg, nótese que precisamente este fue uno de los compuestos que tuvo el mayor efecto protector contra la muerte.

Todas las dosis probadas fueron significativamente diferentes con respecto al testigo, aunque entre dosis no se encontró diferencia significativa.

Es conveniente mencionar que todos los compuestos protegen contra las convulsiones inducidas por PTZ; aunque no todos guardan relación dosis respuesta entre la protección contra la muerte y el factor de protección.

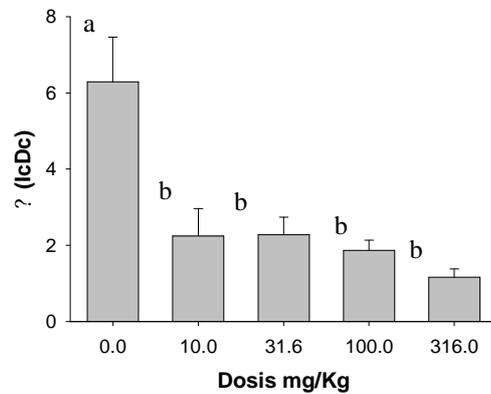
En las gráficas 21 a 30 se presentan los resultados correspondientes al promedio de la severidad de las convulsiones θ (IcDc).

El θ (IcDc) nos indica la severidad de las convulsiones inducidas por PTZ, la disminución en el valor de θ (IcDc) indica que las convulsiones desaparecen o por lo menos disminuyen, incluyendo a las convulsiones tónicas, que en la mayoría de los casos producen la muerte en los ratones, también nos indica la duración de cada convulsión.



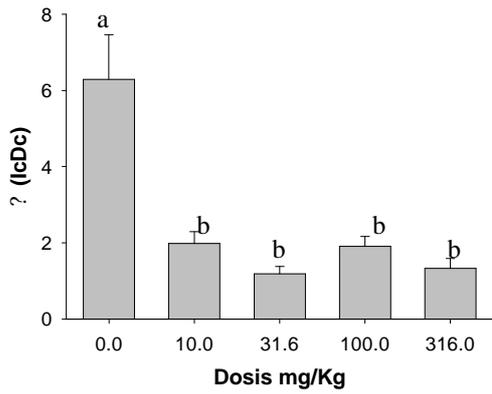
Gráfica 21. θ (IcDc) calculado para la **DHPM**

1. Cada punto representa la media de $n = 15 \pm$

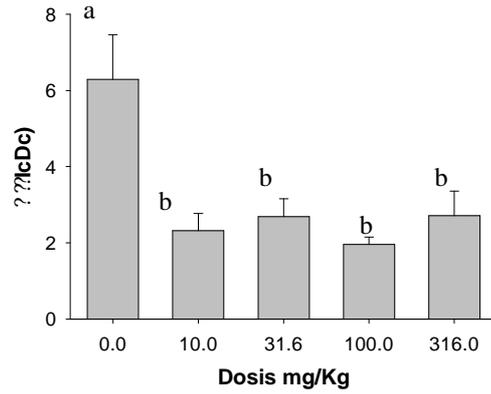


Gráfica 22. θ (IcDc) calculado para la **DHPM**

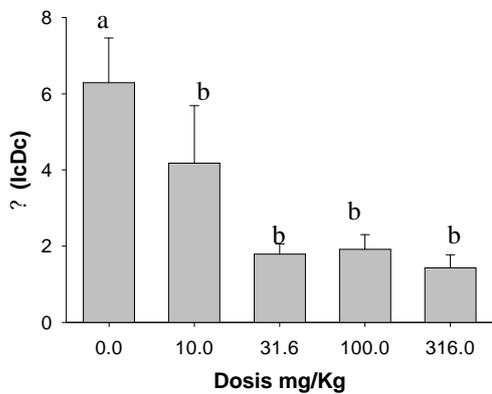
2. Cada punto representa la media de $n = 15 \pm$ SEM Literales diferentes $p < 0.05$ por ANOVA unifactorial



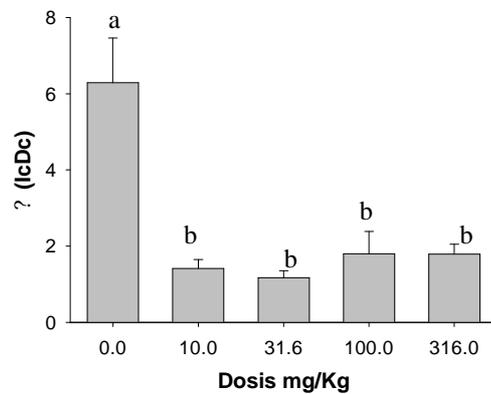
Gráfica 23. ? (IcDc) calculado para la **DHPM 3**. Cada punto representa la media de $n = 15 \pm$ SEM Literales diferentes $p < 0.05$ por ANOVA unifactorial



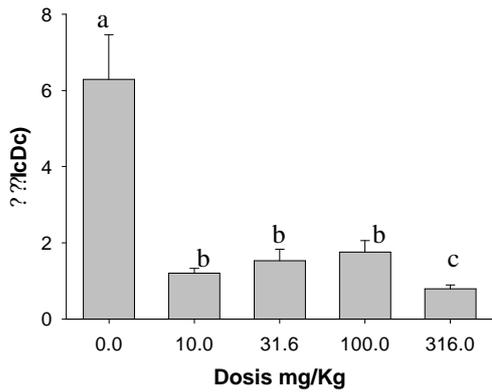
Gráfica 24. ? (IcDc) calculado para la **DHPM 4**. Cada punto representa la media de $n = 15 \pm$ SEM Literales diferentes $p < 0.05$ por ANOVA unifactorial



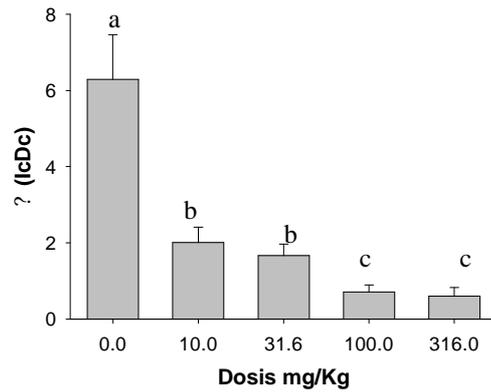
Gráfica 25. ? (IcDc) calculado para la **DHPM 5**. Cada punto representa la media de $n = 15 \pm$ SEM Literales diferentes $p < 0.05$ por ANOVA unifactorial



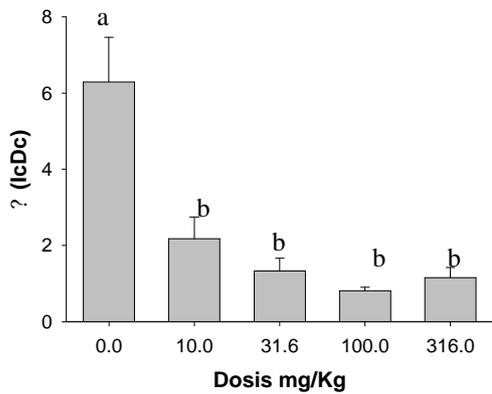
Gráfica 26. ? (IcDc) calculado para la **DHPM 6**. Cada punto representa la media de $n = 15 \pm$ SEM Literales diferentes $p < 0.05$ por ANOVA unifactorial



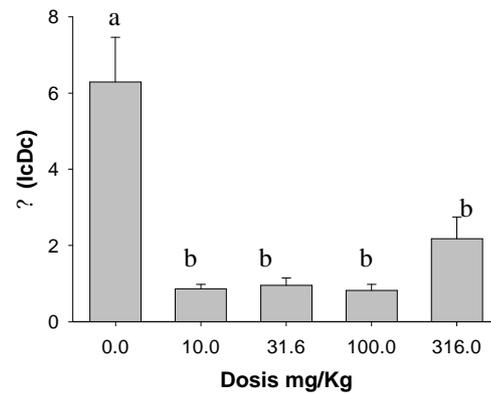
Gráfica 27. ? (IcDc) calculado para la **DHPM 7**. Cada punto representa la media de $n = 15 \pm$ SEM Literales diferentes $p < 0.05$ por ANOVA unifactorial



Gráfica 28. ? (IcDc) calculado para la **DHPM 8**. Cada punto representa la media de $n = 15 \pm$ SEM Literales diferentes $p < 0.05$ por ANOVA unifactorial



Gráfica 29. ? (IcDc) calculado para la **DHPM 9**. Cada punto representa la media de $n = 15 \pm$ SEM Literales diferentes $p < 0.05$ por ANOVA unifactorial



Gráfica 30. ? (IcDc) calculado para la **DHPM 10**. Cada punto representa la media de $n = 15 \pm$ SEM Literales diferentes $p < 0.05$ por ANOVA unifactorial

En la **Tabla 7** se muestran los valores de λ (IcDc) para cada una de las **DHPMs** y la dosis en el que se obtuvo el menor promedio de severidad de las convulsiones producidas por el PTZ.

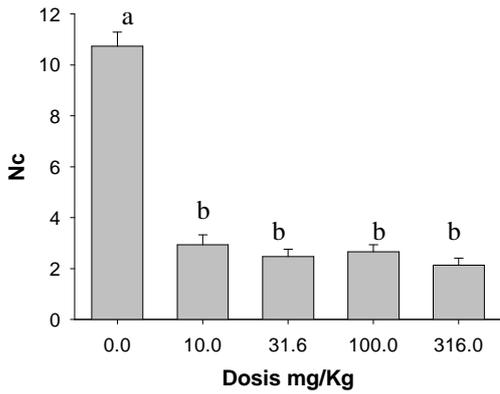
Tabla 7. Resumen de los datos obtenidos para el λ (IcDc).

DHPM	G	Z	λ (IcDc)	Dosis mg/Kg
1	OMe	EtO	2.2	10
2	Me	EtO	1.15	316
3	H	EtO	1.33	316
4	Cl	EtO	2.0	100
5	F	EtO	1.4	316
6	OMe	MeO	1.4	10
7	Me	MeO	0.8	316
8	H	MeO	0.6	316
9	Cl	MeO	0.8	100
10	F	MeO	0.8	100

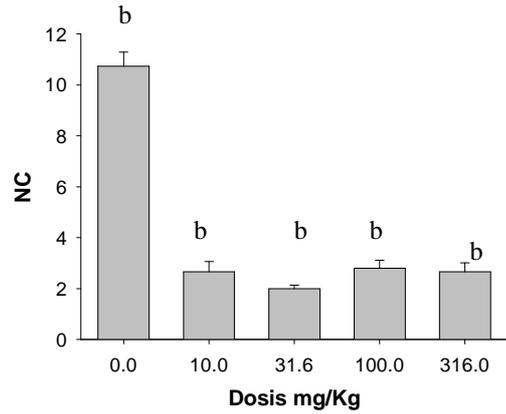
Todos los compuestos disminuyeron el valor de λ (IcDc) de forma significativa con respecto al testigo cuyo valor fue de 5.5, así mismo se puede observar que las respuestas no fueron dependientes de la dosis. Donde la **DHPM 8** presentó el mayor efecto promedio de severidad de las convulsiones (0.6) a una dosis de 316 mg/kg.

El orden de potencia aparente para el λ (IcDc) fue: **DHPM 8>DHPM 10>DHPM 9>DHPM 7>DHPM 5>DHPM 2>DHPM 3>DHPM 6>DHPM 1>DHPM 4.**

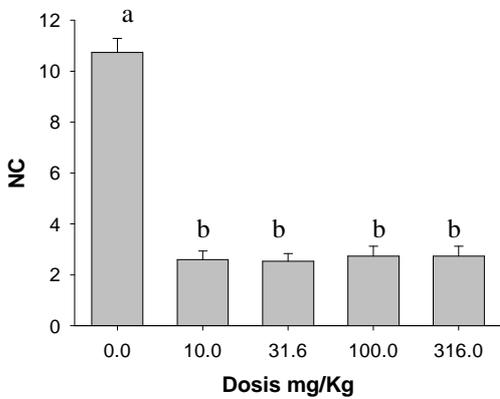
En las siguientes gráficas (31-40) se presentan los resultados correspondientes al número total de convulsiones para cada compuesto.



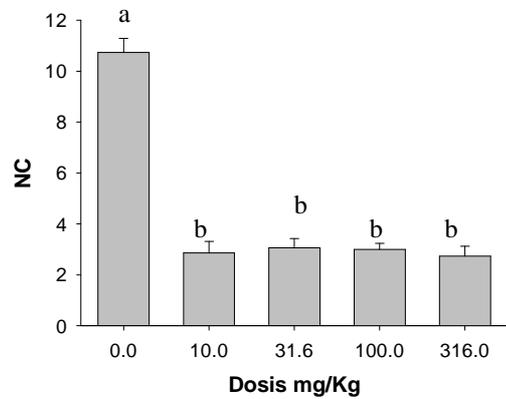
Gráfica 31. Número total de convulsiones para la **DHPM 1**. Cada punto representa la media de $n = 15 \pm SEM$ Literales diferentes $p < 0.05$ por ANOVA unifactorial



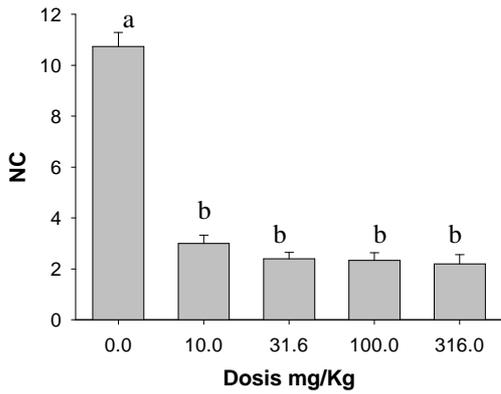
Gráfica 32. Número total de convulsiones para la **DHPM 2**. Cada punto representa la media de $n = 15 \pm SEM$ Literales diferentes $p < 0.05$ por ANOVA unifactorial



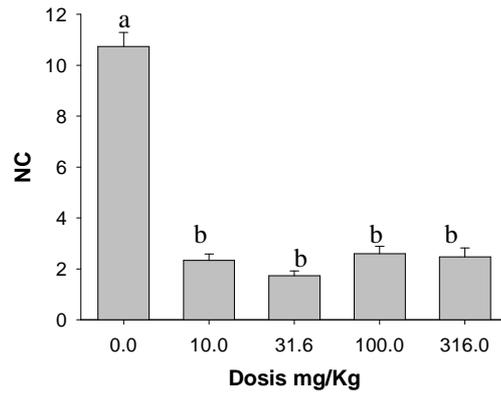
Gráfica 33. Número total de convulsiones para la **DHPM 3**. Cada punto representa la media de $n = 15 \pm SEM$ Literales diferentes $p < 0.05$ por ANOVA unifactorial



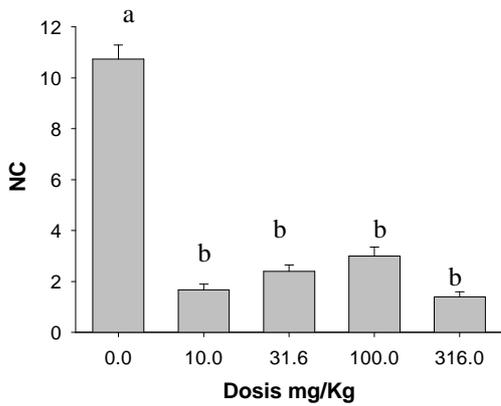
Gráfica 34. Número total de convulsiones para la **DHPM 4**. Cada punto representa la media de $n = 15 \pm SEM$ Literales diferentes $p < 0.05$ por ANOVA unifactorial



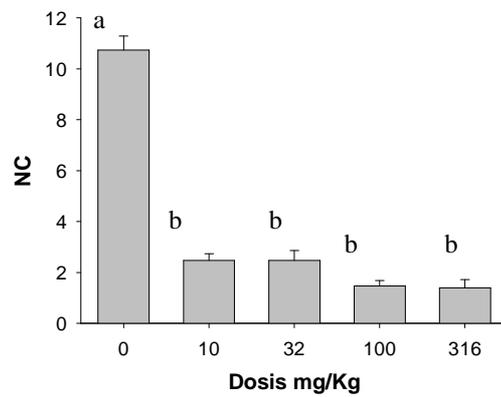
Gráfica 35. Número total de convulsiones para la **DHPM 5**. Cada punto representa la media de $n = 15 \pm SEM$ Literales diferentes $p < 0.05$ por ANOVA unifactorial



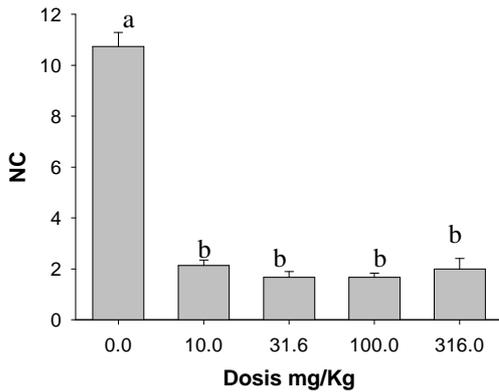
Gráfica 36. Número total de convulsiones para la **DHPM 6**. Cada punto representa la media de $n = 15 \pm SEM$ Literales diferentes $p < 0.05$ por ANOVA unifactorial



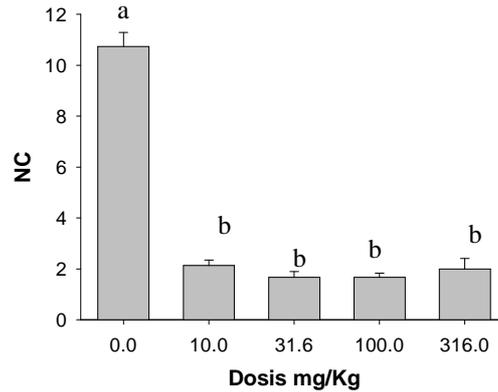
Gráfica 37. Número total de convulsiones para la **DHPM 7**. Cada punto representa la media de $n = 15 \pm SEM$ Literales diferentes $p < 0.05$ por ANOVA unifactorial



Gráfica 38. Número total de convulsiones para la **DHPM 8**. Cada punto representa la media de $n = 15 \pm SEM$ Literales diferentes $p < 0.05$ por ANOVA unifactorial



Gráfica 39. Número total de convulsiones para la **DHPM 9**. Cada punto representa la media de $n = 15 \pm \text{SEM}$ Literales diferentes $p < 0.05$ por ANOVA unifactorial



Gráfica 40. Número total de convulsiones para la **DHPM 10**. Cada punto representa la media de $n = 15 \pm \text{SEM}$ Literales diferentes $p < 0.05$ por ANOVA unifactorial

Nótese que todos los compuestos en estudio, fueron significativamente diferentes con respecto al testigo; el número promedio de convulsiones fue de 1 a 2, a las diferentes dosis probadas, mientras que para el testigo fue de 11, sin embargo, entre dosis las **DHPMs** no fueron significativamente diferentes. En esta mismas gráficas también se puede observar que a la dosis de 10 mg/kg de peso todas las **DHPMs** disminuyeron el número de convulsiones con respecto al testigo aunque la respuesta no fue dependiente de la dosis.

Es importante resaltar que las **DHPMs 1 y 6** tuvieron el menor efecto anticonvulsionante y protector contra la muerte durante las convulsiones inducidas por PTZ ya que los animales murieron durante la segunda convulsión.

El PTZ actúa en todo el SNC, pero es particularmente activo en regiones sensitivo motoras en la corteza cerebral del mamífero. El sitio de acción es a nivel de la sinapsis y particularmente en sinapsis excitadora.⁶⁶ Es ampliamente utilizado como modelo farmacológico para evaluar propiedades anticonvulsivas de los fármacos, principalmente en ausencias. El PTZ tiene la propiedad de producir convulsiones tónico-clónicas, por lo que también se ha usado para evaluar fármacos que funcionen en epilepsias mioclónicas.⁶⁷

El mecanismo de acción convulsionante del PTZ no se conoce con precisión aunque existen trabajos que muestran una interacción con los receptores GABAérgicos, bloqueando el sitio de unión a picrotoxina en el complejo benzodiazepina-GABA. De igual forma se acepta como hipótesis que el PTZ produce cambios en la permeabilidad del SNC elevando el K^+ extraneuronal, que despolarizaría parcialmente las membranas neuronales, aumentando así su excitabilidad.⁶⁸

Como se menciono anteriormente, las DHPs actúan como bloqueadores de canales de Ca^{2+} , siendo eficaces como agentes anticonvulsiantes en varios modelos farmacológicos incluyendo el modelo del PTZ. Se sabe que las regiones CA3 y CA1 en el hipocampo contienen la mayor densidad de receptores para las DHPs en el cerebro.⁶⁹

El mecanismo de acción de los bloqueadores de los canales de Ca^{2+} dependerá de la interacción electrofisiológica, farmacológica y biofísica con cualquiera de los canales ya mencionados: L, N, P, Q Y T. También se menciono que las DHPs generalmente actúan en los canales L y T.

Se sugiere que las **DHPs** pueden tener algunas interacciones con los receptores excitatorios para aminoácidos, así como la regulación en la liberación de aminoácidos excitatorios y ácido glutámico regulado por Ca^{2+} .⁶⁰ Es aceptado que las neuronas GABA son inhibidas a través de la modulación de los canales L de Ca^{2+} con ayuda en el incremento en la conductancia de Cl^- , previendo un sitio donde el Ca^{2+} endógeno antagoniza a la adenosina ejerciendo propiedades anticonvulsivas en presencia del PTZ.⁶¹

Debido a que no se encontraron informes de actividad anticonvulsante de las **DHPMs**, se puede sugerir que el mecanismo de acción de las moléculas presentadas en este trabajo (**DHPM 1-10**) puede ser semejante a la de las **DHPs**, esto por la gran similitud estructural y perfil farmacológico que presentan.⁷⁰

Con los resultados obtenidos se puede inferir que la administración de los compuestos (**DHPM 1-10**) presentan un efecto anticonvulsiónante por el método del PTZ, ya que disminuyen la intensidad de las convulsiones, el número de convulsiones y una clara protección contra el número de muertes en los animales, sin embargo no suprimen totalmente las convulsiones.

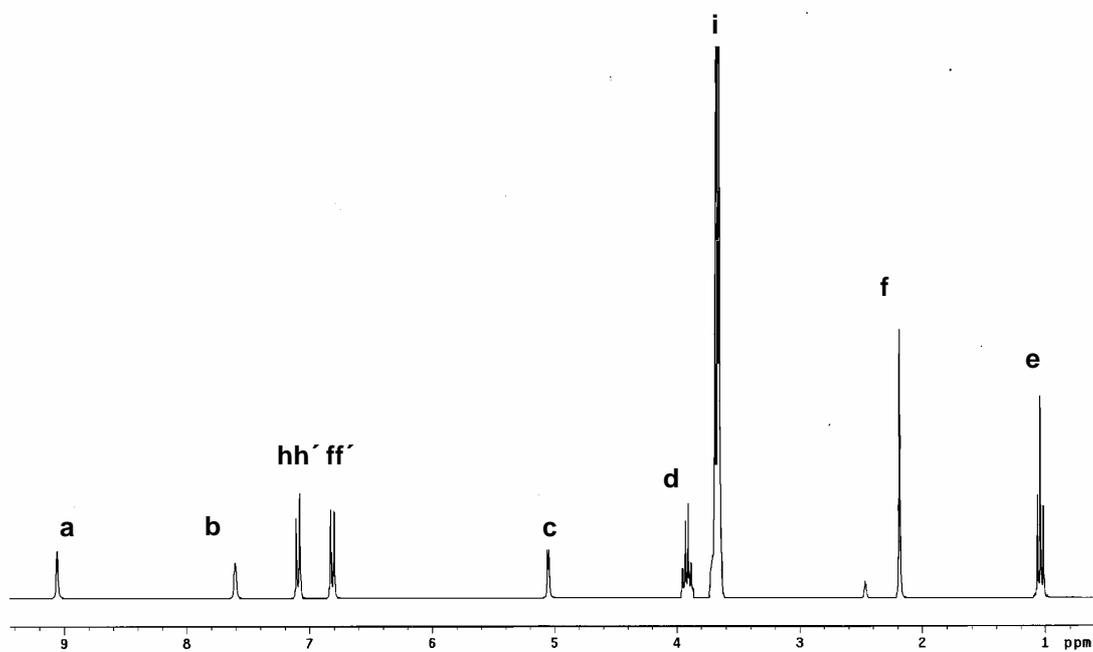
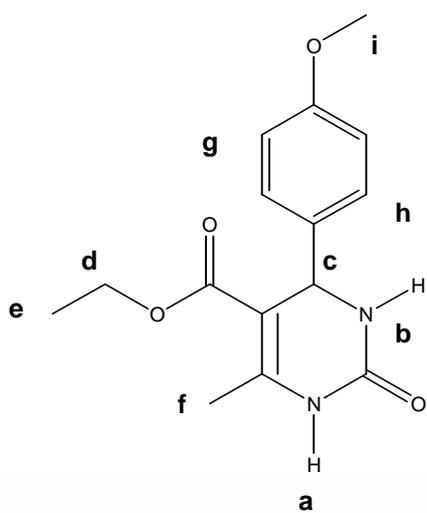
Swinyard, (1982) evaluó los modelos de E-CH y PTZ ⁷¹ y concluyó que estos presentan resultados contrastantes entre si, ya que algunos antiepilépticos de uso clínico resultan ser muy eficaces para evitar las convulsiones en uno de los modelos y no en el otro, y viceversa (aunque algunos compuestos son eficaces contra ambos). En general, las investigaciones indican que los fármacos efectivos contra el E-CH tienen efecto contra la epilepsia generalizada, mientras que los efectivos contra PTZ actúan mejor contra las epilepsia que involucran ausencias.⁷²

CONCLUSIONES

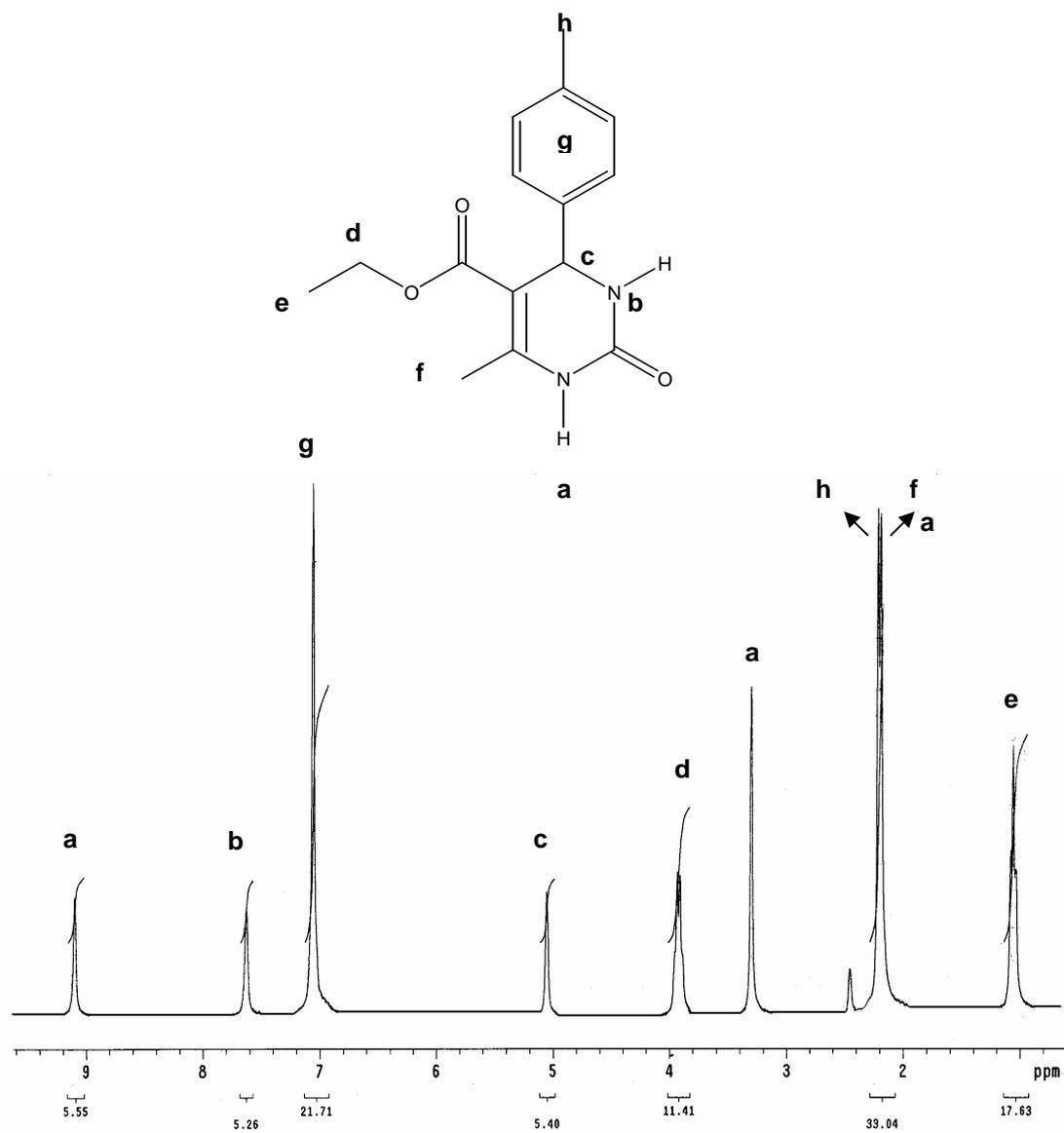
CONCLUSIONES

- ✍ Se obtuvieron satisfactoriamente diez dihidropirimidin-2(1*H*)-onas en base a los principios de la química verde, con buenos rendimientos (89 - 98%).
- ✍ Todas las moléculas fueron identificadas por su espectro de RMN ¹H así como por correlación de su p.f., mediante comparación de los datos publicados en la literatura.
- ✍ Los compuestos tuvieron una DL₅₀ mayor a 1000 mg/Kg, por lo resultaron ser seguros, de acuerdo a la clasificación de la OMS.
- ✍ Disminuyeron significativamente el número de convulsiones, la intensidad de las convulsiones y mostrando un efecto protector contra la muerte producido por el PTZ.
- ✍ Las **DHPMs** estudiadas presentaron a diferentes niveles actividad anticonvulsionante contra el PTZ.

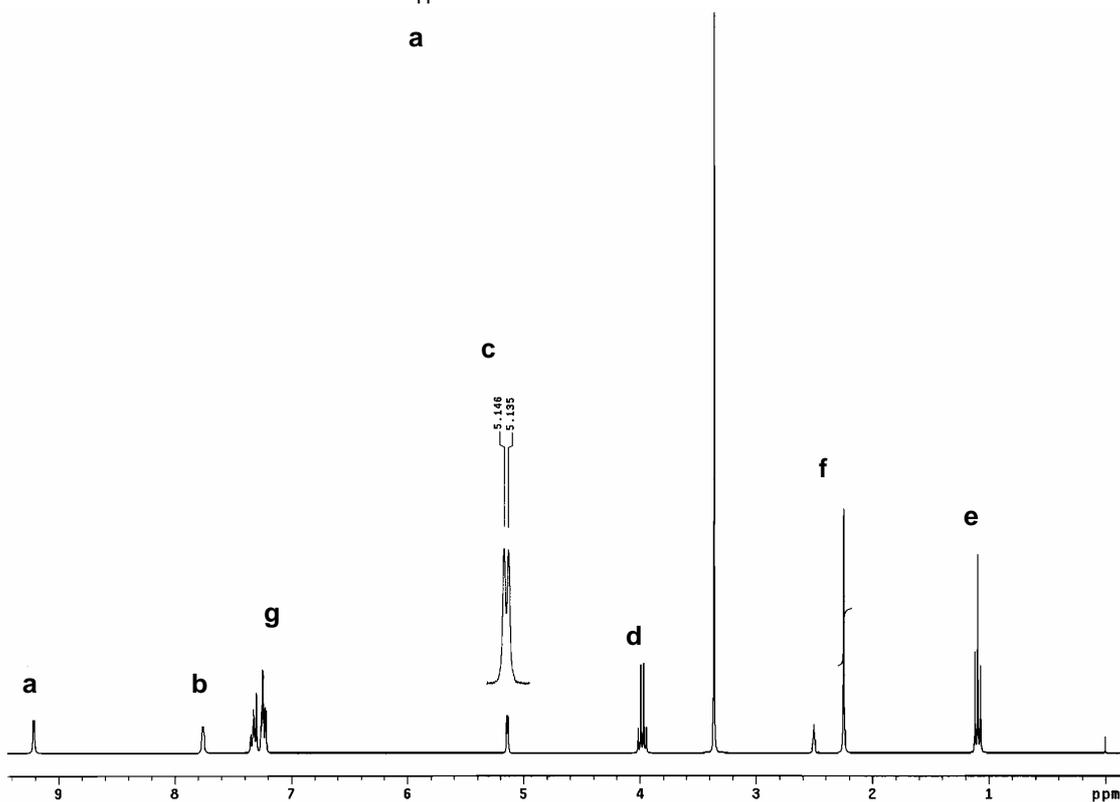
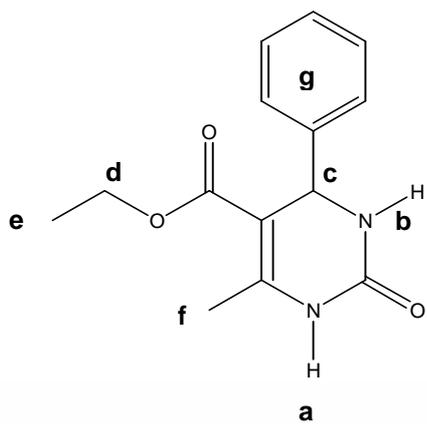
APÉNDICE



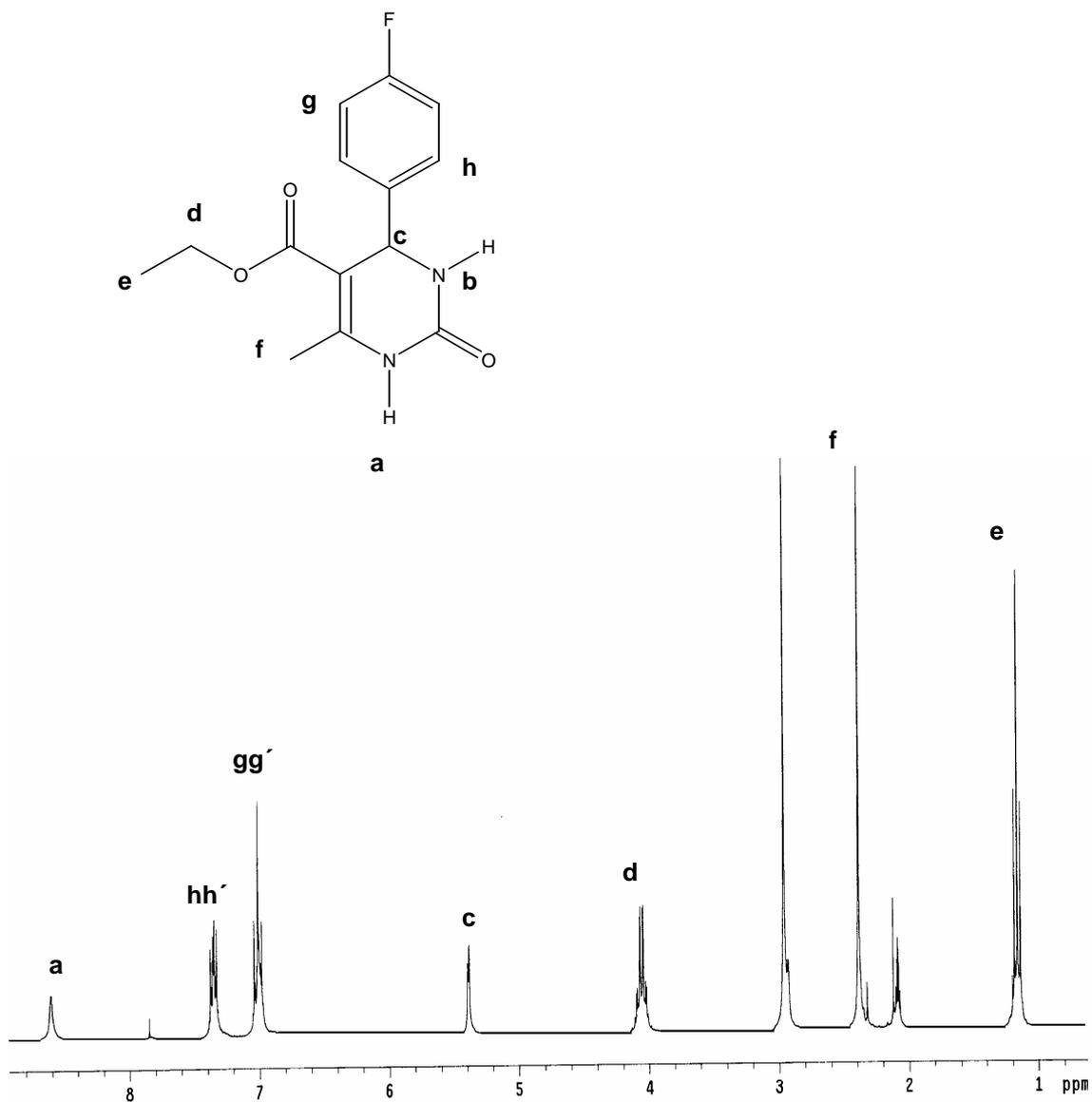
Espectro 1: RMN ¹H (DMSO-d₆/TMS); 4-(4'-metoxifenil)-5-carboetoxi-6-metil-3,4-dihidro-1H-pirimidin-2-ona



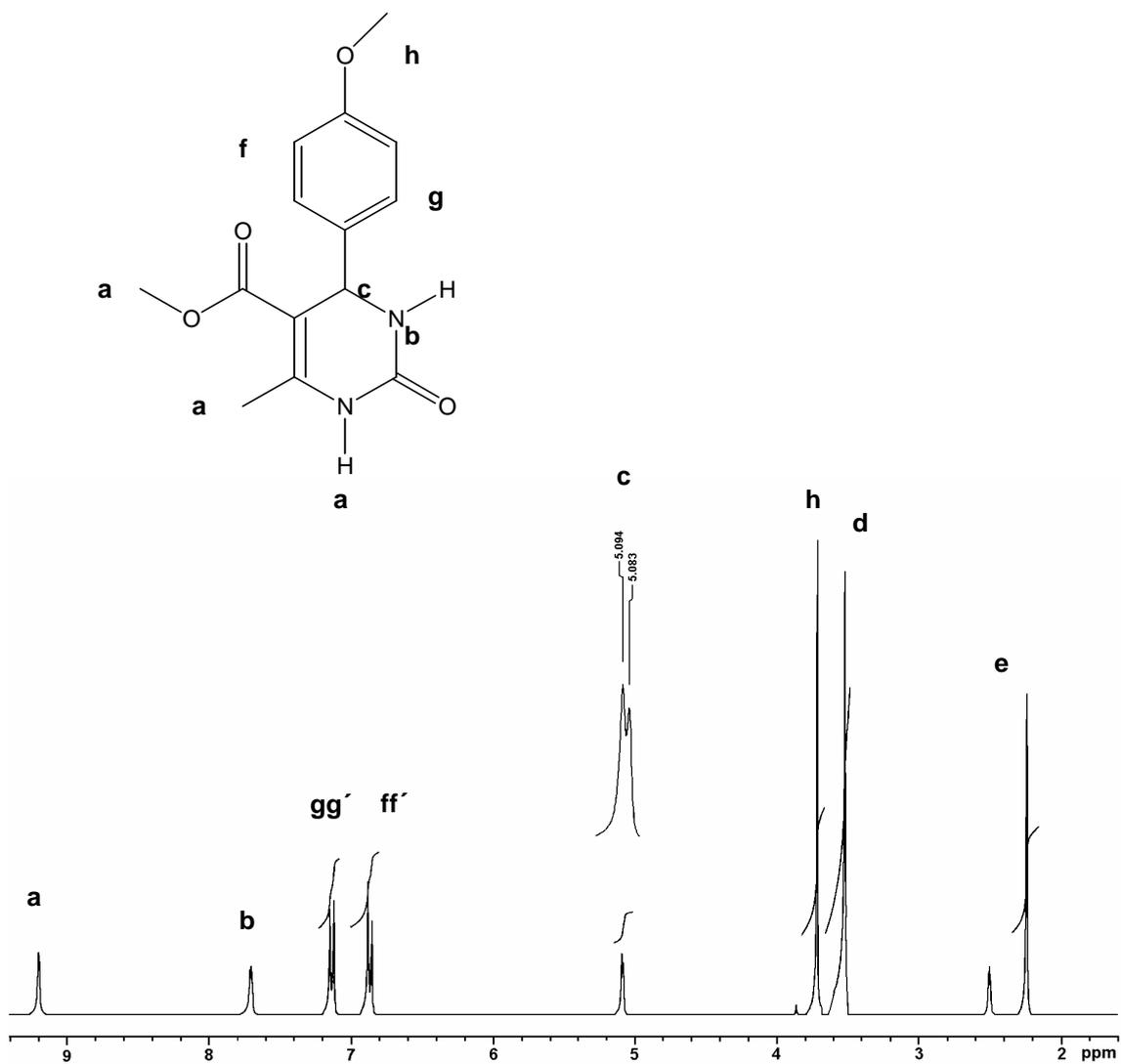
Espectro 2: RMN ¹H (DMSO-d₆/TMS); 4-(4'-metilfenil)-5-carboetoxi-6-metil-3,4-dihidro-1H-pirimidin-2-ona



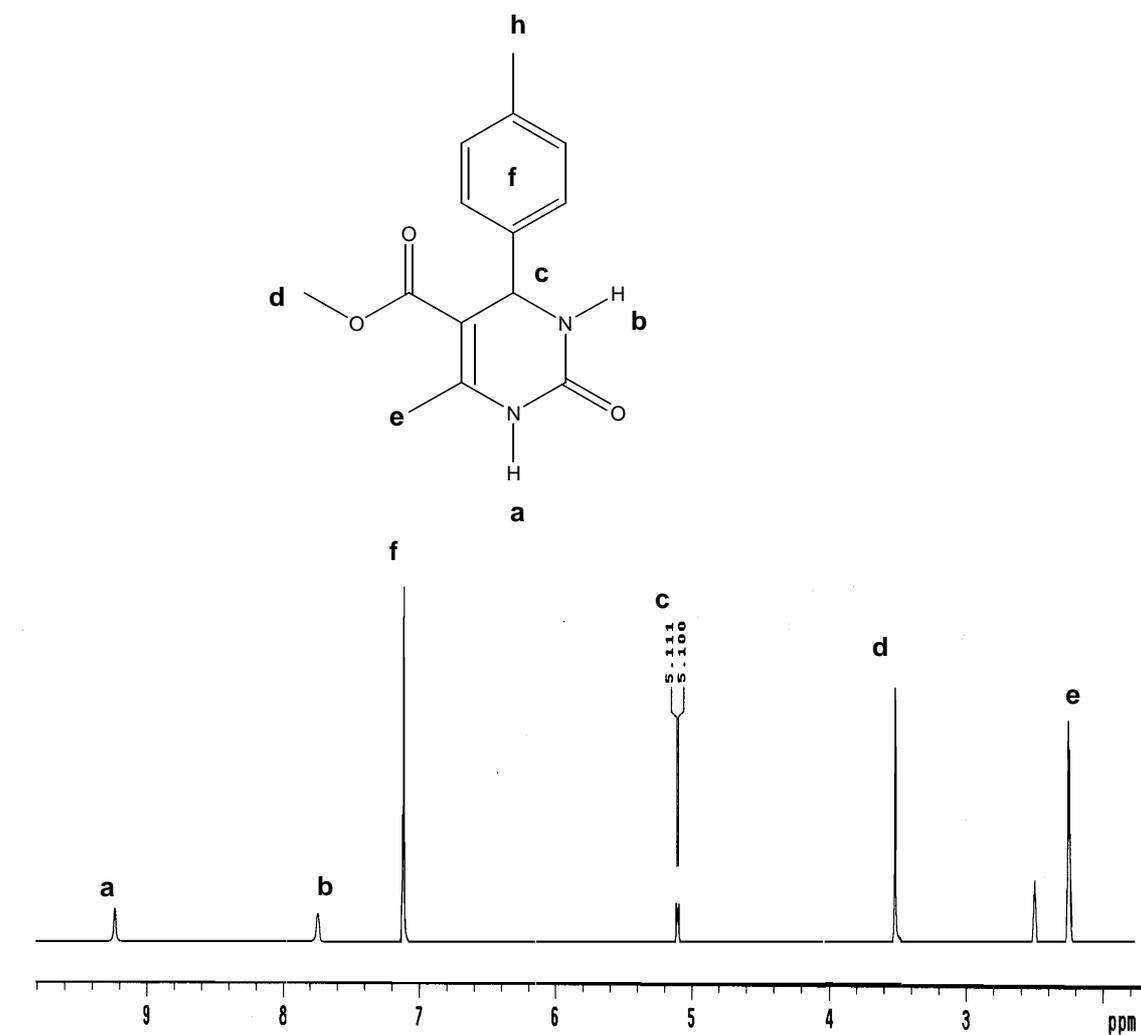
Espectro 3: RMN ¹H (DMSO-d₆/TMS); 4-fenil-5-carboetoxi-6-metil-3,4-dihidro-1H-pirimidin-2-ona



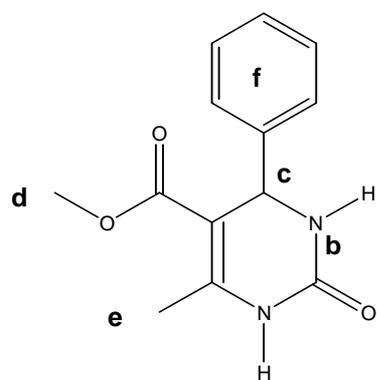
Espectro 5: RMN ¹H (acetona-d₆/TMS); 4-(4'-fluorofenil)-5-carboetoxi-6-metil-3,4-dihidro-1H-pirimidin-2-ona

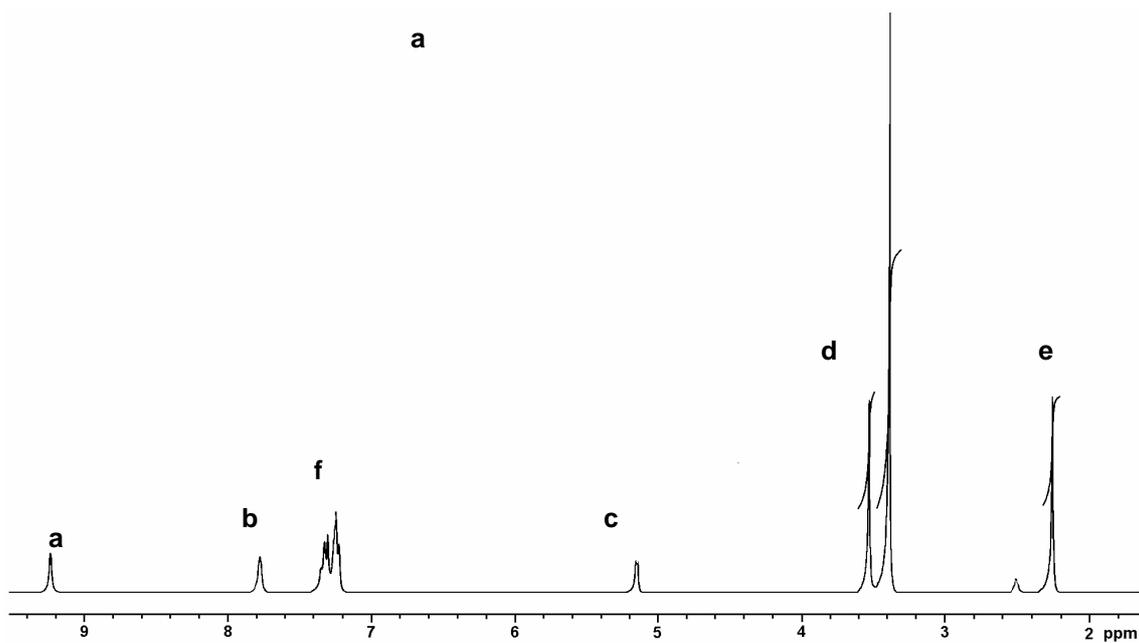


Espectro 6: RMN ^1H (DMSO- D_6 /TMS); 4-(4'-metoxifenil)-5-carbometoxi-6-metil-3, 4-dihidro- *1H*-pirimidin-2-ona.

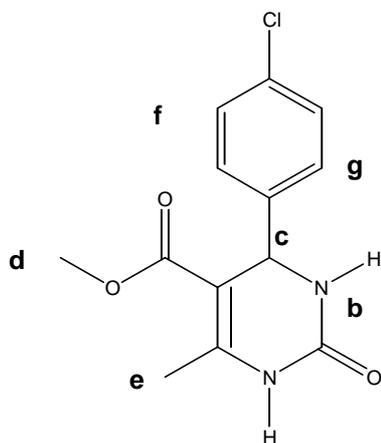


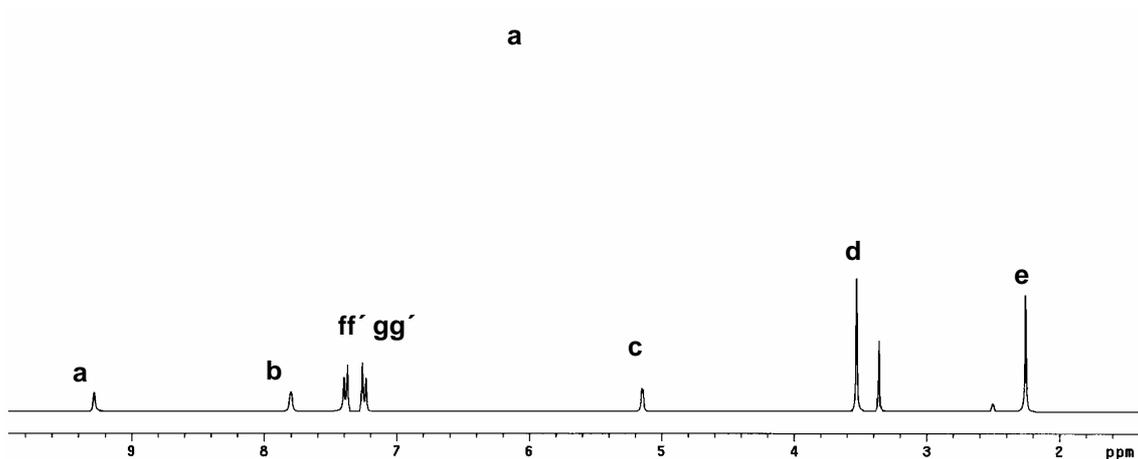
Espectro 7: RMN ¹H (DMSO-d₆/TMS); 4-(4'-metilfenil)-5-carbametoxi-6-metil-3,4-dihidro-1H-pirimidin-2-ona



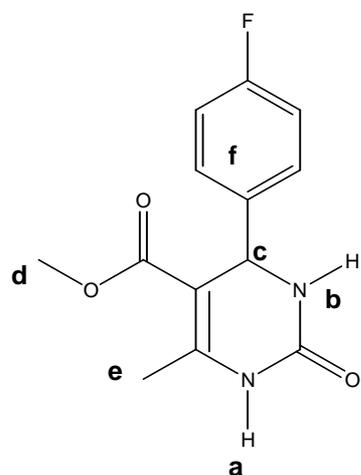


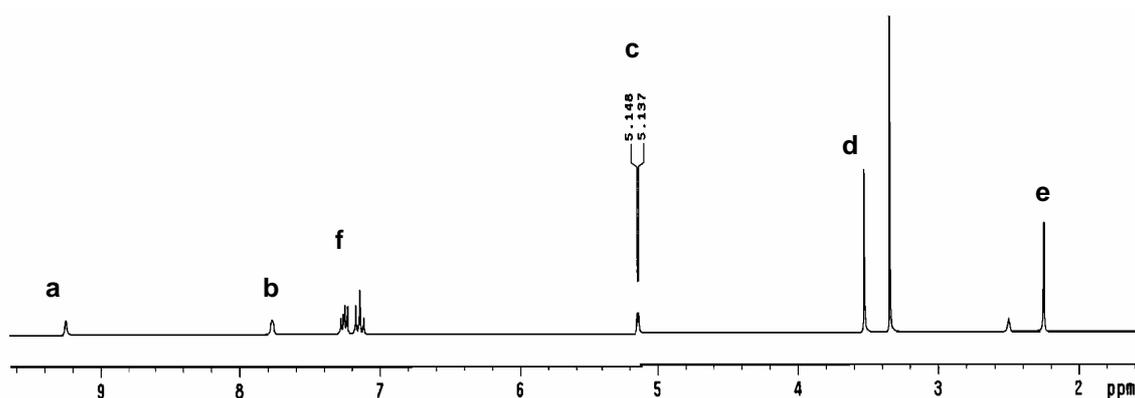
Espectro 8: RMN ^1H (DMSO- d_6 /TMS); 4-fenil-5-carbometoxi-6-metil-3,4-dihidro-1H-pirimidin-2-ona





Espectro 9: RMN ^1H (DMSO- d_6 /TMS); 4-(4'-clorofenil)-5-carbometoxi-6-metil-3,4-dihidro-1H-pirimidin-2-ona





Espectro 10: RMN ^1H (DMSO- d_6 /TMS); 4-(4'-fluorometil)-5-carbometoxi-5-metil-3,4-dihidro-1H-pirimidin-2-ona

GLOSARIO

?	Condiciones térmicas de reacción
?(Ic * Dc)	Promedio de la severidad de la convulsión
AAEt	Aceto acetato de etilo
AAMe	Aceto acetato de metilo
AMPA	Ácido ? -amino-3-hidroxi-5-metil-4-oxiazol-propiónico
BZH	Benzaldehído
ccf	Cromatografía en capa fina
Dc	Duración de cada convulsión (minutos)
DHPMs	Dihidropirimidinonas
DHPs	Dihidropiridinas
DL _{50, 90}	Dosis letal 50, 90
DMSO	Dimetil sulfóxido
E-CH	Electrochoque
EEG	Electro encefalograma

EPA	Agencia de Protección al Medio Ambiente - USA
Et	Etilo
EtO	Etoxilo
EtOH	Etanol
GABA	Ácido gamma-amino-butírico
H ⁺	Condiciones ácidas de reacción
HCl	Ácido clorhídrico
HPB	Hiperplasia prostática benigna
i.p.	Vía intraperitoneal
Ic	Índice de convulsión
KA	Ácido caínico
Me	Metilo
MeO	Metoxilo
MES	Maximal electroshock seizures
MHz	Mega Hertz
Nc	Número total de convulsiones en cada grupo
NMDA	N-metil-D-aspartato
NRc	Número de ratones con convulsiones en cada reacción
OPTT	Oficina de Prevención de la Contaminación y Sustancias Tóxicas
p.f.	Punto de fusión
PDS	Cambios paroxísticos de depolarización
PM	Peso molecular
PTZ	Pentilenotetrazol
RMN ¹³ C	Resonancia magnética nuclear de carbono 13
RMN ¹ H	Resonancia magnética nuclear de protón
SD	Sin disolvente
SNC	Sistema nervioso central
±S.E.M.	Media del error estándar
ssf	Solución salina fisiológica
TA	Temperatura ambiente
TL	Tiempo de latencia (minutos)
TMS	Tetrametilsilano

REFERENCIAS

REFERENCIAS

1. Biginelli, P. *Gazz. Chim. Ital.* **23**, 360-416, 1893.
2. Folkers, K.; Harwood, H. J.; Johnson, T. B. *J. Am. Chem. Soc.* **54**, 3751-3758, 1932.
3. Folkers, K.; Johnson, T. B. *J. Am. Chem. Soc.* **55**, 3784-3791, 1933.
4. Hentrich, W.; Schepss, W. (I.G. Farbenind) D.R.P. *Dtsch. Chem. Ges.* **66**, 547-057, 1930.
5. McKinstry, D. W.; Reading, E. H. *J. Franklin Institute.* **237**, 422-431, 1944.
6. Hurst, E. W.; Hull, R. *J. Med. Pharm. Chem.* **3**, 215-229, 1961.
7. Hurst, E. W.; *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **98**, 275-286, 1962.
8. Matsuda, T.; Hihao, I.; Nipón, K. *J. Med. Chem.* **86**, 1195-1197, 1965.
9. Zidermane, A.; Duburs, K. *Zinat. Akad. Vestis.* **77**, 1971.
10. Kumsars, K.; Velená, A.; Duburs, G.; Uldrikis, J.; Zidermane, A. *J. Am. Chem. Soc.* **35**, 1201-1206, 1971.
11. Kato, T., *Japn. Kokai.* **59**, 1974-1981, 1984.
12. Ertan, M.; Balkan, A.; Srac, S.; Uma, S. *J. F. Arzneim-Forsch.* **41**, 725-727, 1991.
13. Sadanan, Y. S.; Shetty, M. *Eur. J. Med. Chem.* **27**, 87-92, 1992
14. Godfraind, T.; Miller, R. *Pharmacol. Rev.* **38**, 321, 1986.
15. Khanina, E. L.; Siliniece, O.; Ozols, J.; Duburs, G.; Kimenis, A. *Khim-Farm. Zh.* **12**, 72-78, 1978.
16. Kurono, M.; Hayashi, M.; Miura, K.; Isogawa, Y.; Sawai, K. *Jpn. Kokai Tokio Koho JP.* **62**, 267-272, 1987.
17. Takatani, T. *Jpn. Kokai Tokio Koho JP.* **62**, 252-257, 1987
18. Regina, E.; Prato, A. *Brain Research*, **977**, 97-102, 2003.
19. Crosson, C. E. *Int. Appl. WO*, **06**, 15-34, 1990.
20. McNamara, J. O. *TINS.* **15**, No 10, 1992.
21. Kaminski, M. R. *Pharm. Bioch. Beh.* **68**, 661-668. 2001
22. Schwartzkroin. The treatment of epilepsy: principles and practice. Philadelphia. Lea & Febiger, pp. 83-89, 1993.
23. Tsakiridou, E. *J. Neurosci.* **15**, 3110-3117, 1995;
24. Vanhouette P. M.; Paoletti, R. *Trends Pharmacol. Sci.* **8**, 4-5, 1987

25. Hinkel L.; Hey, D. *Rec. Trav. Chim.* **48**, 1280-1286, 1929.
26. Folkers, K.; Harwood, H. J.; Johnson, T. B. *J. Am. Chem. Soc.* **54**, 3751-3758, 1932.
27. Mamaev, P.; Dubovenko, D. *Khim. Geterotsykl. Soedin.* **115**, 541-545 1970.
28. Atwal, K. S.; Rovnyak, G. C.; Schwartz J.; Moreland, S.; Hedberg, A.; Gougoutas, J. Z.; Malley, M. F.; Floyd, D. M. *J. Med. Chem.* **33**, 1510-1121, 1991.
29. Goldman, S.; Stoltefuss, J. *Angew. Chem, Int. Ed. Engl.* **30**, 1559-1565, 1991.
30. Atwal, K. S.; Swanson, B. N.; Unger, S. E.; Floyd, D. M.; Moreland, S.; Hedberg, A.; O'Reilly, B. C. *J. Med. Chem.* **34**, 806-811, 1991.
31. Rovnyak, G. C.; Atwal, K. S.; Hedberg, A.; Kimball, S. D.; Moreland, S.; Gougoutas, J. Z.; O'Reilly, B. C.; Schwartz, J.; Malley, M. F. *J. Med. Chem.* **35**, 3254-3261, 1992.
32. Opie, H.; Gersh, B. J. *Drug for the Heart*. Philadelphia, Saunders Company, 211-249, 2001.
33. Hurst, E. W.; Hull, R. *J. Med. Pharm. Chem.* **3**, 215, 1961.
34. Hurst, E. W. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **98**, 275, 1962.
35. Matsuda, T.; Hirao, I. *Nippon Kagaku Zasshi*, **86**, 1195, 1965.
36. Kumsars, K.; Velena, A.; Duburs, G.; Uldriks, J.; Zidermane, A. *Biokhimiya.* **36**, 1201, 1971.
37. Kato, T. *Japn. Kokai Tokio Koho JP.* **59**, 190-197, 1984.
38. Sadanandam, Y. S.; Shetty, M. M.; Diwan, P. V. *Eur. J. Med. Chem.* **27**, 87-93, 1992.
39. Ertan, M.; Balkan, A.; Sarac, S.; Uma, S.; Ruebseman, K.; Renaud, J. F. *Arzneim. Forsch.* **41**, 725-731, 1991.
40. Rovniak, G. C.; Kimball, S. D.; Beyer, B.; Cucinota. G.; DiMarco, J. D.; Gougoutas, J.; Hrdberg, A.; Malley, M.; McCarthy, J. P.; Zhang, R.; Moreland, S. *J. Med. Chem.* **38**, 119-121, 1995.
41. Barrow, J. C.; Nantermet, P. G.; Selnick, H. G.; Glass, K. L.; Rittle, K. E.; Gilbert, K. F.; Steele, T. G.; Homnick, C. F.; Freidinger, R. M.; Ransom, R.

- W.; Kling, P.; Reiss, D.; Broten, T. P.; Schorn, T. W. *J. Med. Chem.* **324**, 847-852, 1993.
42. Atwal, K. S.; Rovnyak, G. C.; Kimball, S. D.; Floyd, D. M.; Moreland, S.; Swanson, B. N.; Gougoutas, J. Z.; Schwartz, J.; Smillie, K. M.; Malley, M. F. *J. Med. Chem.* **33**, 2629-2635, 1990.
43. Albert L .A.; López, J. F., Diccionario de la Contaminación. México, Centro de Ecología y Desarrollo (CECODES), 1472-1473, 1994.
44. Anastas, P. T., Warner J. C. *Green Chemistry: Theory and Practice*, New York, Oxford University Press, 1998.
45. <http://www.ugr.es/~quiores/qverde/intro.htm>
46. Kirchof M; Ryan M. A. *Química Verde: Experimentos de Laboratorio para un Curso Universitario de Química*, USA, American Chemical Society, Green Chemistry Institute, 2003.
47. www.who.com
48. <http://www.salud.gob.mx>
49. Goodman, A. G. *Las bases Farmacológicas de la Terapéutica*, 10ª edición, volumen 1, Méx. DF, McGraw Hill, 2003.
50. Jesús F., *Farmacología Humana*, España, Masson, 2003.
51. Robert, L.; Martín, J.; Hua-Jun, F. *Bioch. Pharm.* **68**, 1497-1506, 2004.
52. Löscher, W. *Eu. J. Pharm.* **342**, 1-13, 1998.
53. Asla, P. *Epilepsy Research.* **50**, 141-160, 2002.
54. Rosa, C.; Christophe, B. *TRENDS in Neurosciences.* **28**, 2-18, 2005.
55. Owen, T. *Eu. J. Pharm.* **447**, 211-225, 2002.
56. Luijtelaar, N.; Coenen, A. M. *Epilepsia.* **36**, 86-92 1995.
57. Simon, J.; Anthony, B. *Eu. J. Pharm.*, **152**, 19-27, 1998.
58. Gilles, C.; Luijtelaar, N. *Eu. J. Pharm.* **406**, 114-121, 2002.
59. Jasna, K.; Gordana, Z. *Epilepsy Research*, **52**, 1-9, 2003.
60. Gene, C.P.; Stagnitto, R. K.; Knowels, M. A. *Epilepsia*, **34**, 1243-1251, 1993.
61. Fredric, B.; Anderson, R. E.; Sundt, T. M. *Epilepsia*, **28**, 409-414, 1997
62. Rafal, M.; Marcin, M. *Pharm. Bioch. Beh.* **68**, 75-83, 2001.
63. Lorke, D *Arch. Toxicol.*, **54**, 275-287, 1983.

64. Osnaya, C. M.; Ríos, H. Miranda, R. M. *Rev. Soc. Quím. Méx.*, **48**, 201-202, 2004.
65. Kappe, O. *Acc. Chem. Res.* **33**, 879-888, 2000.
66. Solís, O.; Arauz, C. Modelos experimentales de epilepsia: Epilepsia: un enfoque multidisciplinario. México, Trillas, 315-346.1986.
67. Löscher, W.; Frederic, B. M. *Epilepsy Res.* **2**, 145-181, 1988.
68. Piredda, S.; Yonekawa, W.; Whittinham, S.; Kupferberg, *Epilepsia*, **26**, 167-164, 1985.
69. Cortés, R.; Supavilai, P.; Karobath, M. *J. neural Transmission*, **60**, 169-197, 1984.
70. Kappe, O. *Molecules rev.* **3**, 1-9, 1998.
71. Swinyard, E. International Encyclopedia of Pharmacology and Therapeutics. USA, 1-7, 1973.
72. Krall, R.; Penry, J.; White, B. *Epilepsia*, **19**, 409-428, 1978.