



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

---

---

**FACULTAD DE QUÍMICA**

**DETERMINACIÓN DEL PERFIL  
NEUROFARMACOLÓGICO DE COMPUESTOS  
DERIVADOS DIBENZODIACEPÍNICOS.**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:**

**QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA**

**P R E S E N T A :**

**GABRIELA GONZÁLEZ MENDOZA**



**MÉXICO D. F.**

**2008**



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.

## **JURADO ASIGNADO**

**PRESIDENTE: Dra. ELIA BROSLA NARANJO RODRÍGUEZ**

**VOCAL: Dr. ALFONSO LIRA ROCHA**

**SECRETARIO: Dr. FRANCISCO HERNÁNDEZ LUIS**

**SUPLENTE 1: Dra. ELENA GUADALUPE RAMÍREZ LÓPEZ**

**SUPLENTE 2: M en C. ALEJANDRO ORTÍZ OSORNIO**

**SITIO EN DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA: LABORATORIO DE NEUROFARMACOLOGÍA. EDIFICIO A 1/E (ANEXO). DEPARTAMENTO DE FARMACIA. FACULTAD DE QUÍMICA, UNAM. LOS COMPUESTOS EVALUADOS FUERON SINTETIZADOS EN EL LABORATORIO L-121 DE LA SECCIÓN DE QUÍMICA ORGÁNICA DE LA FES-CUATITLÁN-UNAM.**

**ASESOR: DRA. ELIA BROSLA NARANJO RODRÍGUEZ** \_\_\_\_\_

**SUPERVISOR TÉCNICO: DRA. OLIVIA GARCÍA MELLADO** \_\_\_\_\_

**SUSTENTANTE: GABRIELA GONZÁLEZ MENDOZA** \_\_\_\_\_

## **AGRADECIMIENTOS:**

**Proyecto: PAIP-FQ-UNAM6390- 21**

**Programa 127: “Formación básica en investigación”.**

**Congreso Internacional de Farmacología y terapéutica. Habana, Cuba, 2007.**

Agradezco a Dios por haberme dado la vida y la capacidad para pensar, por haberme dado en cada día una enseñanza y un motivo para vivir.

A mi madre por ser la mujer más extraordinaria que conozco. Mamita: este logro es tuyo y me siento inmensamente orgullosa de ti. Gracias a ti comprendí lo que significa la lucha, el sacrificio y el amor. Y pase lo que pase siempre estaremos juntas compartiendo momentos buenos y malos.  
¡Eres mi adoración!

A la Sra. Carmen Tapia que ha sido para mí esa madre tierna y buena que muchos desearían tener, pero para envidia de muchos yo tengo dos, mil gracias. Gracias por sus consejos, por su amor, su apoyo, por ser quien es.

Agradezco al Dr. Antonio Corona por participar en hacer realidad este sueño sin él jamás se hubiera hecho realidad, ya que creyó en mí cuando nadie lo hizo y eso jamás se olvida, mil gracias. Por eso le dedico en gran parte este esfuerzo.

Gracias a la Dra. Elia Naranjo Rodríguez por haberme guiado todo este tiempo, por su inmensa paciencia, por haber sembrado en mí la semilla del entusiasmo y haberme dado las herramientas necesarias para defenderme en la vida, no solo académica. Es una gran mujer y una gran profesionalista. Gracias a usted sé lo que es lealtad, la honestidad y sé que cada esfuerzo es recompensado con la satisfacción.

A la Dra. Olivia García Mellado y al Dr. Eduardo Cortés Cortés por sus consejos, su asesoría y apoyo durante la realización de esta tesis.

A la Familia Velasco Mendoza por su apoyo incondicional, a mamá Leli y a papá Emilio, gracias por darme el calor de hogar que me hacia falta y a ustedes primas les agradezco por el calor que sólo las hermanas saben dar.

A mis hermanos José Antonio Esquivel Delgado, Priscilla Días Vera, Nadia Vera Parrales, Coneti Sánchez Hernández y Luzdei Salazar Franco por ser mis hermanos no de sangre, ya que nos une algo mas allá de lo cual me siento orgullosa y siempre los recordaré con inmenso cariño.

A mis amigos Mónica, Vicente, Paola, Maru, Haydée, Carmen, Edith, Karen, Sara, Fabiola, Denisse, Karla, Kika, Juan, Paco, Rubén, Bernardo, Cyntia, Alejandra, Paulina, Jazmin, Iván, Marcela, Cristi, José Luis, Mago, Mitzi, Francisco, Luz María, Claudia, Alicia, Wilma, Anselmo, mil gracias por permitirme compartir con ustedes momentos de tristeza y de alegría jamás los olvidaré y vayámos a donde vayamos los llevaré en mi corazón. Por cierto, "el orden de los factores no altera el resultado".

Al Dr. José Antonio Roca, por su paciencia, su apoyo y sus consejos. ¡Mil gracias!

A los honorables miembros del jurado por sus observaciones hechas para la mejora de este trabajo, así como su apoyo.

Y sin duda un especial agradecimiento a la Máxima Casa de Estudios, la Universidad Nacional Autónoma de México, sé que pertenezco a la mejor comunidad universitaria, no la defraudaré.

Quiero compartir con ustedes esta tesis por dos razones, la primera, por que es mi trabajo, fruto de mi esfuerzo y, la segunda, por que los amo y este trabajo tiene impreso el nombre de cada uno de ustedes al igual que en mi corazón.

## ÍNDICE

<b>CAPÍTULO</b>	<b>PÁGINAS</b>
Abreviaturas.	vii
I. Introducción.	1
II. Generalidades.	3
1. Perfil neurofarmacológico.	3
Efectos ansiolíticos.	3
Tratamiento de la ansiedad.	4
Modelos animales de ansiedad.	6
Modelos basados en respuestas no condicionadas.	6
Modelos basados en respuestas condicionadas.	8
1.2 Efecto anticonvulsivo.	9
1.2.1 Crisis parciales (focal, local).	10
1.2.2 Crisis parciales simples o complejas que evolucionan a generalizadas tónico clónicas.	11
1.2.3 Tratamiento anticonvulsivo.	11
1.2.4 Modelos animales para evaluar efectos anticonvulsivos.	13
1.3 Efecto relajante muscular.	14
1.3.1 Tratamiento de la tensión muscular.	15
1.3.2 Modelos animales de relajación muscular.	17
1.4 Efecto sedante-hipnótico.	19
1.4.1 Tratamiento sedante-hipnótico.	20
1.4.2 Modelos animales de sedación-hipnosis.	24
2. Benzodiazepinas.	24
2.1 Historia.	24
2.2 Química.	26
2.3 Mecanismo de acción de BZs.	27
2.3.1 Actividad de GABA.	28
2.3.2 Historia de GABA.	28
2.3.3 Biosíntesis de GABA.	29
2.3.4 Receptores a GABA.	31
2.3.4.1 Receptores GABA <sub>A</sub> .	32
2.3.4.2 Receptores GABA <sub>B</sub> .	35
2.3.4.3 Receptores GABA <sub>C</sub> .	35
2.4 Farmacocinética de las BZs.	35
2.5 Farmacodinamia de las BZs.	38
2.5.1 Acción ansiolítica.	38
2.5.2 Acción hipnótica.	38
2.5.3 Acción relajante del músculo esquelético.	38
2.5.4 Acción anticonvulsiva.	39
2.5.5 Acción sobre la memoria.	39
2.6 Efectos indeseados de las BZs.	39
2.7 Diazepam	41
3 Análogos dibenzodiazepínicos.	42
III. Justificación.	45
IV. Hipótesis.	46

V. Objetivos.	47
VI. Metodología.	48
VII. Resultados.	56
VIII. Discusión de resultados.	75
X. Conclusiones.	79
XI. Bibliografía.	80
Anexo 1	86
Anexo 2	88

## ABREVIATURAS

Acetilcolina	Ach
Ácido gama-aminobutírico	GABA
Ácido glutámico descarboxilasa (por sus siglas en inglés)	GAD
Amperes	A
Benzodiazepinas	BZs
Colecistokinina	CCK
Diazepam	DIAZ
Dosis letal 50	DL <sub>50</sub>
Electroencefalograma	EEG
Error estándar de la media	ESM
GABA-Transaminasa (por sus siglas en inglés)	GABA-T
Gastrointestinal	G. I.
5-Hidroxitriptamina (serotonina)	5-HT
Hematoencefálica	HE
Inhibidores de la monoaminoxidasa	IMAO
Intramuscular	I.M.
Intraperitoneal	I.P.
Intravenosa	I.V.
Ión calcio	Ca <sup>2+</sup>
Ión cloruro	Cl <sup>-</sup>
Ión potasio	K <sup>+</sup>
Ión sodio	Na <sup>+</sup>
Laboratorio	Lab.
Logaritmo	Log.
Micromolar	μmol
Nanomolar	nmol
Partes por millón	ppm
Pentilentetrazol	PTZ
Polietilenglicol	PEG
Revoluciones por minuto	Rpm
Semialdehído deshidrogenasa (por sus siglas en inglés)	SSDH
Semialdehído succínico deshidrogenasa (por sus siglas en inglés)	SSDA
Sistema Nervioso Central	SNC
Subcutánea	S.C.
Sueño con movimientos aculares rápidos	MOR
Sueño sin movimientos aculares rápidos	NMOR
Tiempo de vida media	t <sub>1/2</sub>
Unidades de probabilidad	UP



### I. Introducción

Las benzodiazepinas (BZs) son un grupo importante de fármacos que actúan sobre el Sistema Nervioso Central (SNC), y tienen gran uso en el tratamiento de múltiples patologías<sup>1</sup>, produciendo los siguientes efectos: tranquilidad, disminución de la ansiedad, protección convulsiva, relajación muscular y sedación-hipnosis.<sup>1, 2</sup> Lo que se traduce a componentes de un perfil neurofarmacológico.<sup>3</sup>

Sin embargo, a pesar de la eficacia que poseen estos compuestos en el tratamiento de varios trastornos, producen efectos secundarios indeseables, tales como la tolerancia y dependencia física, así como trastornos en la memoria. Actualmente, se realiza la búsqueda y evaluación de nuevos compuestos que presenten efectos similares a las BZs sin que posean tales efectos secundarios.<sup>1</sup> Entonces este trabajo se enfoca en los estudios *in vitro* e *in vivo* de dos series de nuevos compuestos dibenzodiazepínicos.

Para la evaluación de estos compuestos sintéticos se requiere del uso de modelos animales, en los que se puede estudiar cada uno de los efectos que comprenden el perfil neurofarmacológico<sup>3</sup>, mediante la cuantificación de diversos parámetros<sup>4</sup> y comparando su comportamiento con un compuesto prototipo de las BZs, que es el Diazepam (DIAZ).<sup>5</sup>

El nombre de las BZs se debe a su estructura química, compuesta por un anillo de benceno, fusionado con un anillo diazepínico.<sup>2</sup> Estos compuestos actúan selectivamente sobre los receptores del tipo A del ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA)<sup>5</sup>, su efecto consiste en aumentar la respuesta al GABA, facilitando la apertura de los canales del ión cloruro (Cl<sup>-</sup>) activados por el GABA; es decir las BZs se unen específicamente a un lugar regulador del receptor, diferente del lugar de unión del GABA, y funcionan alostéricamente ya que incrementan la afinidad del GABA por el sitio receptor. Esto intensifica la hiperpolarización e

inhibe aún más la actividad neuronal produciendo efectos sobre el SNC tales como el ansiolítico, el anticonvulsivo, el relajante muscular, el sedante y el hipnótico.<sup>3, 6</sup>

## II. Generalidades

### 1. Perfil neurofarmacológico.

Un perfil neurofarmacológico constituye de varios estudios para determinar los siguientes efectos de una sustancia ya sea natural o sintética: ansiedad, efecto anticonvulsivo, relajación muscular y sedación-hipnósis.<sup>3</sup>

Un perfil es un conjunto de rasgos que caracterizan a algo o a alguien,<sup>7</sup> en el caso del perfil neurofarmacológico de un compuesto, las características se basan en el efecto que producen sobre el SNC.<sup>3,7</sup>

La evaluación de un perfil neurofarmacológico incluye la cuantificación de los siguientes efectos: ansiedad, efecto anticonvulsivo, relajación muscular y sedación-hipnósis.<sup>3</sup> Por lo que se describirán a continuación cada uno de estos efectos.

#### 1.1 Efecto Ansiolítico.

La ansiedad es un estado no placentero de respuesta lucha-huída<sup>8</sup>, se caracteriza principalmente por inquietud, agitación, taquicardia, sudoración, llanto, trastornos gastrointestinales, rigidez muscular, sensación de ahogo y alteraciones de sueño.<sup>3, 9, 10</sup> Debido a que interfiere con las actividades productivas normales de los individuos, este padecimiento es preocupante, ya que se estima que dentro de 10 años será la segunda causa de pérdidas económicas a nivel mundial, debido a la incapacidad que produce en las personas jóvenes en el ámbito laboral.<sup>3,11,12</sup> Actualmente, 15 millones de mexicanos padecen de este trastorno.<sup>13</sup>

Debido a los antecedentes de los efectos adversos que producen los fármacos actuales, es importante desarrollar nuevos fármacos ansiolíticos, por lo que es esencial tener como

base los comportamientos animales que sirven de guía para caracterizar la actividad de un compuesto en el hombre. El uso de animales de experimentación se ha considerado de utilidad para desarrollar y validar diversas sustancias.<sup>3,14</sup>

### 1.1.1 Tratamiento de la ansiedad.

Existen varios tipos de tratamientos y terapias que tienen cierta efectividad para las personas que padecen de ansiedad. Ellos incluyen:<sup>9</sup>

**a) Psicoterapia Cognitivo-Conductual (*cognitive-behavioral therapy*):** ésta debe ser dirigida por un psicólogo, mediante técnicas de exposición graduada a los factores ambientales que producen ansiedad al paciente, es decir la confrontación.<sup>9,15</sup> También, en estos tipos de tratamientos se incluyen técnicas de relajación y respiración, mejor manejo del tiempo y ejercicio físico, además de cambios en la alimentación, por ejemplo, eliminación del café u otros estimulantes como chocolate, azúcar, tabaco, alcohol.<sup>16</sup>

**b) Fármacos ansiolíticos:** los ansiolíticos son utilizados para tratar la ansiedad. Estos fármacos, así mismo, son conocidos como tranquilizantes menores. Adicionalmente, los agentes ansiolíticos tienen propiedades sedantes y en ocasiones hipnóticas y también tienen alguna actividad central de relajación del músculo esquelético, además, poseen una cierta labilidad a la habituación y a la dependencia física.<sup>17</sup> Estos fármacos se clasifican de la siguiente forma:<sup>3</sup>

- **Benzodiazepinas:** éste es el grupo más importante; ya que son considerados los fármacos de elección en el tratamiento de la ansiedad debido a su alto índice terapéutico.<sup>17</sup>

- **Agonistas del receptor 5-HT<sub>1A</sub>:** la serotonina (5-hidroxitriptamina, o 5-HT), es una monoamina neurotransmisora sintetizada en las neuronas serotoninérgicas en el SNC y en las células enterocromafines (células de Kulchitsky) en el tracto gastrointestinal (G. I.).<sup>8</sup> Por ejemplo, la Buspirona que es el fármaco representativo de este grupo, actúa como agonista total que es capaz de normalizar tanto el exceso como la deficiencia de 5-HT en diferentes regiones cerebrales. Estos fármacos no producen sedación o incoordinación motora, ni se han descrito síntomas de abstinencia.<sup>3, 18</sup>
- **Barbitúricos:** son fármacos que en la actualidad son obsoletos, ya que fueron superados y desplazados por las BZs. Actualmente su uso se limita a la anestesia y al tratamiento de la epilepsia.<sup>2</sup>
- **Antagonistas de los receptores  $\beta$ -adrenérgicos:** éstos fármacos se usan para tratar algunas formas de ansiedad, especialmente cuando los síntomas físicos como sudoración, temblor y taquicardia son un problema. Su efectividad depende del bloqueo de las respuestas sinápticas periféricas más que cualquier efecto central. En este grupo se encuentra el Propanolol.<sup>3</sup>
- **Antagonistas de Colecistoquinina (CCK):** la CCK es el mayor neuropéptido distribuido tanto en la corteza cerebral como en el cerebro, de éste se han aislado CCK<sub>4</sub> y CCK<sub>8</sub> y se ha demostrado que actúan a través de receptores CCK<sub>A</sub> y CCK<sub>B</sub> y un pequeño fragmento de CCK<sub>4</sub> que tiene mayor afinidad por los receptores CCK<sub>B</sub>.<sup>8,19</sup> Experimentalmente, se ha demostrado que los fármacos agonistas de CCK<sub>A</sub> producen un

aumento de ansiedad, mientras que los antagonistas de  $CCK_B$  producen un efecto ansiolítico.<sup>7, 18</sup>

### 1.1.2 Modelos animales de ansiedad.

Pueden utilizarse varios tipos de comportamiento para cuantificar el efecto ansiolítico<sup>3</sup>, existiendo más de treinta modelos en animales diseñados para determinar la actividad ansiolítica.<sup>10</sup> Tales modelos se dividen en dos grandes grupos: los modelos basados en respuestas no condicionadas y los que se fundamentan en respuestas condicionadas.<sup>15</sup>

#### 1.1.2.1 Modelos basados en respuestas no condicionadas.

Estos modelos se basan principalmente en el comportamiento natural de exploración del animal. Por lo que se pueden subdividir en las siguientes clases:<sup>8, 15</sup>

- **Exploradores:** como ejemplo se tiene el modelo de “Plus-maze” (Figura 1);<sup>20</sup> que consiste en cuatro brazos, dos abiertos y dos cerrados; la ansiedad del animal se determina considerando el tiempo en que éste permanece en los brazos abiertos;<sup>16</sup> la administración de ansiolíticos incrementa el tiempo de permanencia en los brazos abiertos.<sup>3</sup> Otro ejemplo, es el ensayo de Campo abierto con agujeros (Hole-board) (Figura 2), este modelo determina la ansiedad mediante la cuantificación del número de veces que el animal mete la cabeza en las perforaciones u horadaciones.<sup>21</sup>

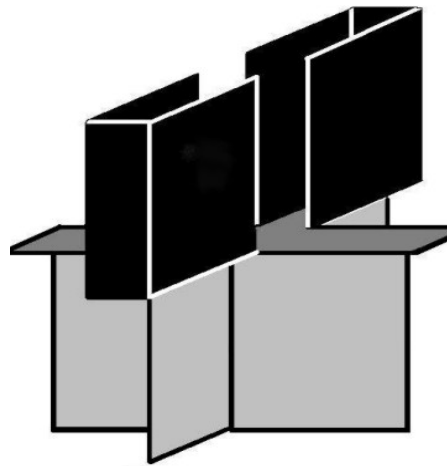


Figura No. 1. Modelo de Plus-maze.<sup>20</sup>

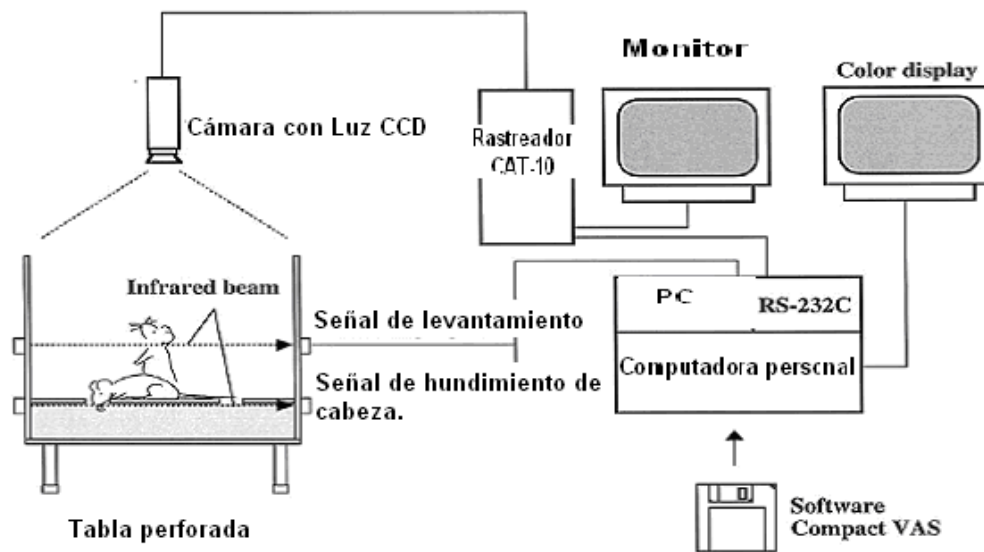


Figura No 2. Modelo automático de hole-board (Modelo-ST1).<sup>21</sup>

- **Respuestas sociales:** un ejemplo de este tipo de modelo es cuando una rata se coloca en un ambiente nuevo y responde con inmovilización, lo que representa ansiedad, debido al ambiente extraño en el que se encuentra, esta inmovilidad tenderá a reducirse si se administran sustancias ansiolíticas.<sup>14, 22</sup>

- **Ansiedad inducida:** como ejemplo tenemos al modelo Rota-Rod, éste es un equipo que **induce** ansiedad en los animales, ya que al someter al animal a un ambiente extraño, tiende a estar ansioso; en este caso se puede determinar la ansiedad mediante la cuantificación de bolos fecales y de la micción que se presenta, ya que cuando se administre un ansiolítico éstos parámetros se verán disminuidos.<sup>8</sup>
- **Misceláneo:** como ejemplo de este tipo de modelos, encontramos el modelo de escondrijo o enterramiento de esferas, donde el animal debido a su ansiedad enterrará esferas en una caja con “viruta” o aserrín, acción que disminuirá bajo el efecto de un ansiolítico.<sup>23</sup>

### 1.1.2.2 Modelos basados en respuestas condicionadas.

Los modelos basados en respuestas condicionadas incluyen los de conflicto como el modelo de Geller-Seifter y el de Vogel (Figura 3).<sup>15</sup> En tales modelos se emplean cajas de experimentación en las que se somete a los animales a la privación de algunos satisfactores, como agua o alimento; los animales, al estar privados de esos satisfactores, los buscan ávidamente. El satisfactor se proporciona, pero asociado a la aplicación de descargas eléctricas, lo que se hace de acuerdo con las reglas éticas para el manejo de animales de laboratorio; cuando el animal de laboratorio llega al satisfactor, recibe una descarga eléctrica de 0.5 mAmperes (A). Esto crea en los animales un conflicto: como acceder al satisfactor, pero, recibiendo una descarga eléctrica que, aunque menor a 1 mA, no deja de incomodarlos. Sin embargo, cuando es administrada una sustancia ansiolítica provoca la disminución de la ansiedad del roedor al acceder al satisfactor a pesar de recibir las descargas eléctricas.<sup>3, 8, 15, 24</sup>





**Figura No. 3.** Modelo de Vogel.<sup>25</sup>

## 1.2 Efecto anticonvulsivo.

Hace más de un siglo, John Hughlings Jackson, revoluciona los conceptos sobre la epilepsia postulando que: “Las convulsiones eran causadas por descargas ocasionales, repentinas, excesivas, rápidas y locales de la sustancia gris”.<sup>26</sup> Posteriormente, con el advenimiento del electroencefalograma (EEG), en el año 1930, permitió el registro de la actividad eléctrica y se demostró que las diversas formas de esta enfermedad eran anomalías de la excitabilidad neuronal. Actualmente, esa idea se preserva, pues la epilepsia es considerada como una enfermedad crónica originada en la sustancia gris cerebral,<sup>27</sup> el acontecimiento característico de la epilepsia es la crisis o la convulsión, éstas pueden ser no epilépticas que es la consecuencia de descargas episódicas de impulsos de alta frecuencia a partir de un grupo de neuronas encefálicas.<sup>2</sup> La naturaleza y distribución de las descargas anómalas permiten distinguir varios tipos de crisis, por lo que se clasifican en crisis parciales y generalizadas:<sup>3</sup>

### 1.2.1 Crisis parciales (focal, local).

Son aquellas en las que las descargas comienzan de manera local y, por lo general, así permanecen. Los síntomas dependen de las regiones encefálicas afectadas, por lo que se pueden subclasificar en:

**a) Crisis parciales simples o jacksonianas:** estas crisis se caracterizan porque no hay pérdida de la conciencia o la orientación, ni afecta la esfera psíquica. Se presentan las siguientes características:<sup>28</sup>

- Síntomas motores (contracción de un grupo muscular, como por ejemplo, los dedos, la mano y los brazos).
- Con síntomas somatosensoriales: parestesias, vértigo, alucinaciones simples auditivas o visuales.
- Con síntomas psíquicos: sensación de haber ya pasado por el momento previo y delirios.<sup>3, 26</sup>

**b) Crisis parciales complejas o del lóbulo temporal (epilepsia psicomotora):** se caracterizan por la pérdida de la conciencia o desorientación. Se presenta una ilusión sensorial (micropsia: objetos más pequeños o macropsia: objetos más grandes). Pueden presentarse automatismos: caminar sin objetivos, chasquear los labios. La persona puede cometer delitos, ejecutar piezas musicales y cuando la crisis termina se presenta un cuadro de amnesia y pueden pasar horas hasta recuperar plenamente la conciencia. En general, estas crisis se originan en lóbulos temporales, principalmente hipocampo y amígdala u otras partes del sistema límbico.<sup>19, 26</sup>

### 1.2.2 Crisis parciales simples o complejas que evolucionan a generalizadas tónico clónicas.

Estas crisis afectan a todo el cerebro, incluido el sistema reticular con una actividad eléctrica anormal de los dos hemisferios. Se caracteriza por la pérdida inmediata de la conciencia. Existen dos subtipos importantes:<sup>3, 19</sup>

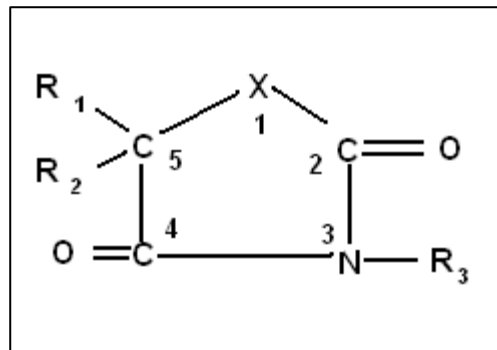
- a) **Crisis tónico-clónicas (Gran mal):** consiste en una fuerte contracción inicial de la totalidad de la musculatura que produce un espasmo rígido en extensión. La respiración se detiene y a menudo el paciente tiende a defecar, orinar y a segregar gran cantidad de saliva.<sup>26</sup> La fase tónica dura aproximadamente unos minutos, tras la cual aparece una serie de sacudidas violentas y sincrónicas que van cediendo de forma gradual en 2 a 4 minutos. El paciente permanece inconsciente durante algunos minutos y después se recupera de forma gradual.<sup>3</sup>
- b) **Crisis de ausencias (“petit”, Pequeño mal):** se caracterizan por el hecho de que el paciente interrumpe bruscamente la actividad que está llevando a cabo, a veces deja de hablar en medio de una frase, y permanece ausente durante algunos segundos, pero con escasas o nulas alteraciones motrices.<sup>27</sup> Generalmente no es consciente de lo que le rodea y se recupera de manera brusca sin efectos posteriores. Este padecimiento tiende a afectar más a los niños.<sup>3, 27</sup>

### 1.2.3 Tratamiento anticonvulsivo.

Los fármacos anticonvulsivos se clasifican, teniendo en cuenta dos criterios:<sup>3, 25,26,27, 28, 29.</sup>

- a) Grupo químico.
- c) Mecanismos de acción de los fármacos.

a) Hasta 1990 se disponían aproximadamente de 16 grupos de anticonvulsivos; 13 de ellos pueden clasificarse en cinco grupos químicos muy parecidos, tales como Barbitúricos, Hidantoínas, Oxazolidinedionas, Succinimidias y Acetilureas, estos grupos tienen en común una estructura de anillo heterocíclico similar, con distintos sustituyentes.<sup>25, 26, 27, 30,31</sup> Figura 4.<sup>27</sup>



**Figura No. 4.** Estructura heterocíclica de los anticonvulsivos. La “X” varía como sigue: Derivados de hidantoína: -N-. Barbitúricos: -C-N-. Oxazolidinedionas: -O-. Succinimidias: -C-. Acetilureas: -NH<sub>2</sub> (N, no está unido al C<sub>2</sub>). R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> y R<sub>3</sub> varía dentro de cada subgrupo.<sup>27</sup>

Los fármacos restantes como la Carbamazepina, Ácido Valproico y las BZs son estructuralmente distintos, al igual que los compuestos que se introdujeron después de 1990 tales como Vigabatrina, Oxacarbazepina, Gabapentina y Topiramato.<sup>25,26</sup>

b) En la acción de los anticonvulsivos son importantes tres mecanismos.<sup>31, 34</sup>

- **Potenciación de la acción de GABA:** las BZs son moduladores alostéricos del receptor GABA<sub>A</sub>, esto es, ellas potencian la actividad de GABA, pero carecen de actividad intrínseca, producen un incremento en la afinidad de GABA por su receptor, la activación por GABA abre el canal iónico intrínseco, facilitando el flujo del ión Cl<sup>-</sup> a través del canal dentro de la célula y en consecuencia se produce una hiperpolarización, que aleja al potencial postsináptico de su umbral de emisión e inhibe los potenciales de acción.<sup>6</sup>

Ejemplos de fármacos que actúan mediante este mecanismo son el Fenobarbital y el Diazepam (DIAZ). Sin embargo, al potenciar la actividad de los receptores a GABA<sub>A</sub> no es la única forma de producir un efecto; puesto que existen fármacos como Vigabatrina que actúa inhibiendo la enzima GABA transaminasa (GABA-T), responsable de la inactivación del GABA; o la Tiagabina que inhibe la captación de GABA; por lo tanto ambos fármacos potencian la acción de GABA como transmisor inhibitor.<sup>29</sup>

- **Inhibición de la función del canal de sodio (Na<sup>+</sup>):** estos fármacos alteran la excitabilidad de la membrana a través de su acción sobre los canales de Na<sup>+</sup> dependientes del voltaje; que llevan a la parte interna de la membrana la corriente necesaria para la generación del potencial de acción. Estos fármacos bloquean de forma preferentemente la excitación de las células que emiten impulsos repetidos y, cuanto mayor sea la frecuencia de los impulsos mayor es el bloqueo producido<sup>3, 27, 29</sup>
- **Inhibición de los canales del ión Calcio (Ca<sup>2+</sup>):** existen fármacos antiepilépticos que ejercen efectos menores sobre los canales de Ca<sup>2+</sup>, pero sólo el fármaco Etosuximida bloquea de manera específica el canal de Ca<sup>2+</sup> tipo T que parece intervenir en las descargas rítmicas asociadas a las crisis de ausencia. Cabe señalar que el fármaco Gabapentina es un fármaco que podría actuar sobre los canales de Ca<sup>+</sup> de tipo L.<sup>27, 32</sup>

### 1.2.4 Modelos animales para evaluar el efecto anticonvulsivo.

Dado que en los pacientes epilépticos es difícil realizar estudios detallados, se han desarrollado modelos en animales, además, son útiles para evaluar el efecto anticonvulsivo de diversos compuestos.<sup>32</sup> Entre los modelos animales se incluyen:

- a) **Modelos químicos:** utilizando fármacos convulsivantes, tales como el Pentilentetrazol (PTZ).<sup>32</sup>
- b) **Modelos físicos:** éstos se pueden subclasificar como:
- **Quirúrgicos:** mediante lesiones que se hacen a los animales, tales como la lesión en la amígdala del lóbulo temporal.<sup>33</sup> Otro ejemplo es la lesión cortical local, ésta se puede hacer por la aplicación de pasta de óxido de aluminio o cristales de sales de cobalto.<sup>3</sup> Este tipo de modelos provocan crisis focales.
  - **Genéticos:** recientemente se han descrito varias cepas de ratones transgénicos que sufren crisis espontáneas, ya que muchas de estas cepas son mutadas eliminando varios canales iónicos, receptores y otras proteínas sinápticas.<sup>3</sup>
  - **Eléctricos:** provocando las crisis por estimulaciones eléctricas (electroshock) en la totalidad del encéfalo.<sup>34</sup>

### 1.3 Efecto relajante muscular.

La relajación del músculo esquelético y la parálisis se presentan por interrupción de la función en varios sitios diferentes incluyendo el SNC: nervios somáticos mielinizados, terminaciones nerviosas motoras desmielinizados, receptores nicotínicos de acetilcolina (Ach), la placa motora y la membrana muscular o el mismo aparato contráctil intracelular. (Figura 5).<sup>35</sup> Es importante señalar que la rigidez muscular es un componente de la ansiedad.<sup>8</sup>

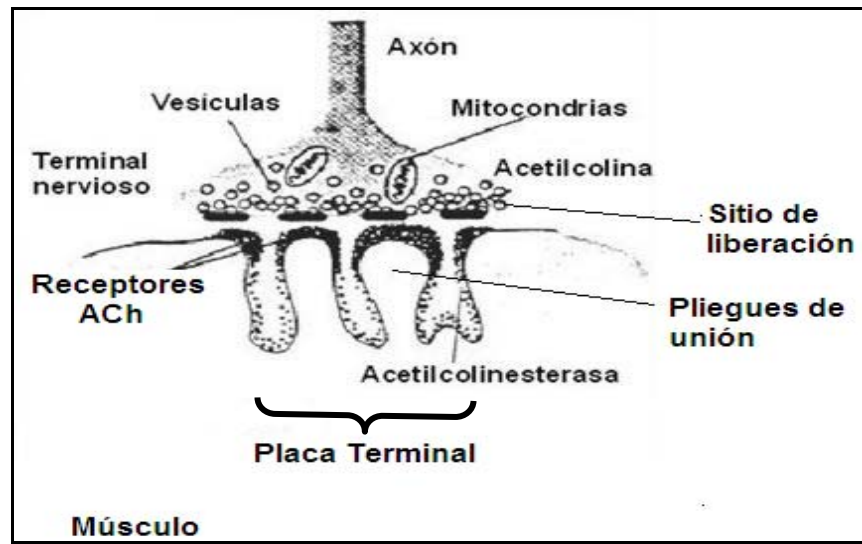


Figura No. 5. Representación esquemática de la unión neuromuscular.<sup>35</sup>

### 1.3.1 Tratamiento de la tensión muscular.

En la práctica, el bloqueo de la función de la placa motora se acompaña de dos mecanismos básicos: el bloqueo farmacológico del agonista fisiológico acetilcolina (ACh) que es característico de medicamentos bloqueadores neuromusculares con acción antagonista.<sup>27</sup> Estos fármacos se caracterizan por prevenir el acceso del transmisor a su receptor y previene la despolarización. El bloqueo de la transmisión también se puede producir por el exceso del agonista despolarizante. Este efecto paradójico de la ACh también se presenta con el receptor nicotínico ganglionar de ACh, en otras palabras estos fármacos se caracterizan por ser despolarizantes. De acuerdo a lo anteriormente descrito se presenta una clasificación de los relajantes musculares:<sup>36</sup>

- Bloqueadores no despolarizantes.
- Agentes despolarizantes
- Agentes espasmolíticos.

- a) **Bloqueadores no despolarizantes:** cuando se administran dosis pequeñas de este tipo de fármacos actúan predominantemente a nivel del sitio receptor nicotínico compitiendo con la ACh; en cambio a dosis altas de estos compuestos, entran en el poro del canal iónico causando mayor bloqueo motor. El fármaco prototipo de este grupo de compuestos es la Tubocurarina.<sup>35</sup>
- b) **Agentes despolarizantes:** el mecanismo de acción de estos fármacos se divide en dos:<sup>35</sup>

**Fase I de bloqueo (despolarización):** inicia con la interacción con el receptor nicotínico para abrir el canal y causar despolarización de la terminal motora, diseminándose hacia las membranas adyacentes y causando contracción de las unidades musculares motoras.<sup>35, 36</sup>

**Fase II de bloqueo (desensibilización):** con la exposición continua a este tipo de compuestos, la despolarización inicial de la membrana se repolariza. A pesar de esta repolarización, la membrana no puede despolarizarse fácilmente otra vez, es decir se desensibiliza. El fármaco representativo de este grupo de compuestos es la Succinilcolina.<sup>29,36,37</sup>

- c) **Agentes espasmolíticos:** la espasticidad se caracteriza por incremento de los reflejos de acortamiento tónico y por espasmo de los músculos flexores, (es decir incrementa el tono muscular basal), junto con debilidad muscular. El mecanismo subyacente a la espasticidad muscular parece no sólo involucrar el arco reflejo de acortamiento, sino también, centros superiores localizados en el SNC, con daño de las vías descendentes de la médula espinal, lo que ocasiona hiperexcitabilidad de las motoneuronas  $\alpha$  de la médula espinal. Sin embargo, el tratamiento farmacológico puede aliviar algunos de los síntomas de espasticidad modificando



los arcos reflejos de acortamiento o por interferencia directa con el músculo esquelético. Los compuestos que modifican este arco reflejo pueden modular las sinapsis inhibitoras o excitadoras.<sup>3, 35, 38</sup> Los compuestos de este tipo se puede subclasificar de la siguiente forma:

- Fármacos que facilitan la acción del GABA en el SNC por medio del receptor GABA<sub>A</sub>. Su acción se debe a la reducción de la espasticidad mediada parcialmente por la médula espinal. Un ejemplo de este tipo de compuestos es el DIAZ.<sup>3</sup>
- Fármacos que actúan sobre el receptor GABA<sub>B</sub>. La actividad de estos receptores en el cerebro ocasiona hiperpolarización, por un incremento de la conductancia de K<sup>+</sup>. El compuesto representativo de este grupo es el Baclofén.<sup>27</sup>
- En los fármacos que actúan como agonistas  $\alpha$ , los fármacos representativos es la Tizanidina y la Clonidina que son fármacos con el grupo imidazol.<sup>35</sup>

### 1.3.2 Modelos animales para evaluar efectos de relajación muscular.

Existen varios modelos para determinar el efecto de relajación muscular, pues son de suma importancia para encontrar nuevos compuestos que posan esta actividad farmacológica. Entre ellos se encuentran los siguientes.<sup>8</sup>

- Cajas de actividad motora (Figura 6).
- Conducta de giro (Figura 7).
- Escalera (Figura 8).
- Cuerda Tirante (Figura 9).
- Plano inclinado.
- Rota- Rod (Figura 10).

En el caso del Rota-Rod, tiene diversas ventajas en comparación del resto de los modelos, ya que su uso es sencillo y rápido, debido a que se puede evaluar la relajación muscular de cuatro ratas simultáneamente tomando como parámetros: número de caídas, tiempo de permanencia, número de bolos fecales y micción. Cabe mencionar, que este modelo fue creado en el año 1957 por N. W. Dunham y T. S. Miya.<sup>39, 40</sup> Figura 10.



**Figura No. 6.** Cajas de actividad motora.<sup>25</sup>



**Figura No. 7.** Conducta de giro de la rata.<sup>25</sup>



**Figura No. 8.** Modelo de la escalera en rata. Este modelo es empleado para evaluar movimientos finos en la rata.<sup>25</sup>



**Figura No. 9.** Modelo Cuerda Tirante para ratones. (Elaborada en el Laboratorio de Neurofarmacología, Facultad de Química, UNAM)



**Figura No. 10.** Modelo de Rota-rod para ratas. Marca Ugo Basile Modelo: 7750. Laboratorio de Neurofarmacología, Facultad de Química, UNAM.

#### 1.4 Efecto sedante-hipnótico.

Un sedante disminuye la actividad electromotriz.<sup>35</sup> Se usa este término para designar la supresión leve de la vigilia y la conducta, con reducción moderada del estado de alerta y de

las respuestas a los estímulos. Por otro lado, la palabra hipnosis se deriva del griego *hypnos* que significa sueño y en los tiempos antiguos se aplicaba este término a las sustancias usadas para inducir el sueño a pacientes no necesariamente ansiosos o agitados.<sup>41,42</sup> Actualmente, se considera que un hipnótico causa efectos de somnolencia y estimula el inicio y mantenimiento de un estado de sueño.<sup>3, 41, 42</sup> Éste consta de dos fases:

- Sueño sin movimientos oculares rápidos (NMOR): consta del 75 al 80% del sueño total. El tono muscular, la presión arterial y la frecuencia cardiaca disminuyen.
- Sueño con movimientos oculares rápidos (MOR): consta del 2 al 5% del sueño total. La frecuencia y la profundidad de la respiración fluctúan y el tono muscular se reduce aún más.<sup>36</sup>

### 1.4.1 Tratamientos sedantes hipnóticos.

Las necesidades de sueño individuales varían ampliamente desde 4 hasta 10 h al día, en el caso de personas sanas.<sup>36</sup> Los trastornos del sueño están divididos en cuatro grandes grupos, según su posible origen:<sup>43, 44</sup>

- **Los trastornos primarios de sueño:** aparecen como consecuencia de alteraciones endógenas en los mecanismos del ciclo sueño-vigilia, que a menudo se ven agravadas por factores de condicionamiento. A su vez, estos trastornos se subdividen en disomnias (caracterizadas por trastornos de la cantidad, la calidad y horario de sueño) y parasomnias (caracterizadas por acontecimientos o conductas anormales asociadas al sueño, a sus fases específicas o a los momentos de transición sueño-vigilia).<sup>43, 44</sup>
- **El trastorno de sueño relacionado con otra enfermedad mental:** consiste en alteraciones del sueño debidas a un trastorno mental diagnosticable (a menudo trastornos

del estado del ánimo o trastornos de ansiedad). Probablemente, los mecanismos fisiopatológicos responsables del trastorno mental también afectan la regulación sueño-vigilia.<sup>43</sup>

- **Trastornos del sueño relacionados con enfermedades médicas:** éstos consisten en alteraciones del sueño como consecuencia de los efectos fisiológicos directos de una enfermedad médica sobre el sueño-vigilia.<sup>43, 44</sup>
- **El trastorno del sueño inducido por sustancias:** se deben a alteraciones del sueño como consecuencias del consumo o supresión de una sustancia.<sup>43, 44</sup>

Para el tratamiento de los trastornos del sueño se han encontrado compuestos hipnóticos sedantes, sin embargo, estos compuestos poseen cierto riesgo de dosificación, habituación, tolerancia, adicción y abstinencia. Además, los hipnóticos tienen efectos sinérgicos con otros depresores del SNC tales como el alcohol etílico, ansiolíticos, opiáceos, antihistamínicos H<sub>1</sub>, timolépticos y neurolépticos. Los hipnóticos se pueden clasificar de la siguiente forma:<sup>36</sup>

**a) Barbitúricos:** Las propiedades de los barbitúricos se descubrieron precozmente en el siglo pasado lo que llevó a los científicos de la época a sintetizar y a estudiar miles de compuestos análogos. Hasta los años sesenta, constituían el grupo más importante de hipnótico-sedantes utilizados en clínica.<sup>3,41</sup> Los barbitúricos son depresores no selectivos del SNC, y son estabilizadores inespecíficos de membrana y facilitan la neurotransmisión mediada por el GABA.<sup>36</sup> Sin embargo, la intoxicación con barbitúricos aguda causa embriaguez, seguida por un coma profundo, relajación muscular, alteraciones reflejas, depresión respiratoria y colapso vasomotor<sup>29</sup>. Ejemplos de este tipo de compuestos es el Fenobarbital y el Pentobarbital.<sup>36, 45</sup>

**b) Quinazolinonas:** estos compuestos son fármacos hipnóticos, además de antihistamínicos  $H_1$ , relajantes musculares del músculo esquelético, antitusígenos, anticonvulsivos y espasmolíticos. Son de acción intermedia, sin embargo, poseen muchos efectos no deseados tales como parestesia, hipotensión, depresión cardíaca, vértigos, sequedad en la boca, anorexia, trastornos cutáneos y fármacodependencia. Los compuestos más representativos de este grupo son la Metacualona y la Meclocualona.<sup>36, 43 44</sup>

**c) Aldehídos:** en la actualidad no se recomienda su uso debido a sus desagradables propiedades organolépticas y sus múltiples efectos adversos, ya que causan depresión del SNC con somnolencia, acidosis metabólica, hepatitis, depresión cardíaca, nefrosis y bloqueo ganglionar. Los compuestos representativos de este grupo son el hidrato de cloral y el paraldehído.<sup>3, 36</sup>

**d) Alcoholes:** su efecto se debe a su acción sobre los canales de iones activados tanto por aminoácidos excitadores como el glutamato y aminoácidos inhibidores como el GABA. De hecho, muchos alcoholes como el Etanol comparten con los barbitúricos la capacidad de incrementar la inhibición sináptica mediada por GABA, lo mismo que el flujo de  $Cl^-$ .<sup>1, 36, 44</sup> Compuestos representativos de este grupo sobresalientes son el Hidrato de amileno, el Metilparafinol, el Etilclorovinol y el Carbamato de metilpentinol.<sup>36</sup>

**e) Benzodiazepinas:** estos compuestos actúan uniéndose a un lugar regulador específico en el receptor  $GABA_A$  y aumentan los efectos inhibidores del GABA. Las BZs son agonistas de este sitio regulador.<sup>3</sup> Estos compuestos alteran la fase MOR, mientras que a dosis medias producen amnesia retrógrada. Las BZs de semivida plasmática corta ( $t_{1/2}$  de 5 a 20 h), como el Midazolam y el Triazolam, son útiles para el insomnio de inicio; las de semivida plasmática intermedia ( $t_{1/2}$  de 20 a 40 h), como el Temazepam y el Estazolam, son

útiles para insomnio de mantenimiento y las semivida plasmática larga ( $t_{1/2}$  mayor a 40h), como el Cuazepam y el Flurazepam, pueden ser eficaces para el despertar precoz, pero pueden interferir con la actividad diaria normal, especialmente en las personas de edad avanzada.<sup>36</sup> Sin embargo los efectos indeseados de estos compuestos son variados, ya que causan somnolencia, confusión, amnesia, alteraciones en la coordinación motora<sup>3</sup>, y alteraciones de memoria.<sup>31</sup>

**f) Ciclopirrolonas:** dentro de este grupo se encuentra la Zopiclona, ésta se une selectivamente al regulador de GABA facilitando el efecto de este neurotransmisor inhibitorio, aunque posee los mismos efectos farmacodinámicos que las BZs. La Zopiclona disminuye el periodo de latencia de sueño y los despertares, aumenta las fases de sueño NMOR. Cabe señalar que la Zopiclona es un fármaco bien tolerado.<sup>36, 43, 44</sup>

**g) Imidazopiridinas:** entre este grupo de fármacos destaca el Zolpidem, éste se absorbe rápidamente tras su administración oral, con una biodisponibilidad del 68%. Este compuesto crece de actividad anticonvulsiva y como relajante muscular. Como efectos adversos pueden presentarse, en estos compuestos, mareos, desvanecimientos, aturdimiento, amnesia, somnolencia, cefálea, trastornos digestivos y caídas.<sup>36</sup>

**h) Pirazolpirimidinas:** dentro de este grupo destaca el Zaleplón, éste fármaco se absorbe rápidamente tras su administración oral. Estos compuestos poseen un efecto GABA mimético similar a la de las BZs. Hasta ahora no se ha encontrado que tenga como efecto adverso la tolerancia ni la dependencia.<sup>3, 36, 42</sup>

**i) Antihistmínicos H<sub>1</sub>:** muchos antihistamínicos H<sub>1</sub> clásicos tales como difenhidramina, mepiramina, doxilamina, entre otros; se comportan como fármacos depresores no selectivos del SNC.<sup>36, 42</sup>

j) **Melatonina:** químicamente se conoce como *N*-acetil-5-metoxitriptamina. Es una hormona íntimamente relacionada con los ritmos circadianos. Se libera normalmente, en la glándula pineal por la noche.<sup>36</sup>

### 1.4.2 Modelos animales de sedación-hipnosis.

Existen modelos animales que ayudan a cuantificar los efectos de sedación e hipnosis de fármacos o sustancias ya sean naturales o sintéticas. Estos modelos recurren a la cuantificación de varios parámetros en los que se ven involucradas la relajación muscular y la reducción de la ansiedad. Un ejemplo de estos modelos es la pérdida del enderezamiento en rata o ratón, el cual se cuantifica por observación.<sup>46</sup>

Por la importancia que representan las BZs en la actualidad para el tratamiento de múltiples padecimientos y debido a que en este trabajo se estudian análogos de este tipo de fármacos a continuación se describirá su historia, química, mecanismo de acción, farmacocinética y farmacodinamia.<sup>3</sup>

## 2 Benzodiazepinas.

Las Benzodiazepinas son un grupo farmacológico relativamente extenso, con variedad de efectos e indicaciones, cuyo auge en el mercado mundial es importante. No sólo son los psicofármacos más utilizados alrededor del mundo, sino son uno de los grupos farmacológicos de mayor venta. Desde que en el año de 1960 se introdujo en el mercado el Clordiazepóxido, y un año después se introdujo el Diazepam (DIAZ) esta gran familia no ha dejado de crecer.<sup>47</sup>

### 2.1 Historia.

Desde la antigüedad se han empleado bebidas alcohólicas y pociones que contenían láudano y diversas hierbas para producir efectos sobre el SNC, tales como la inducción del

---



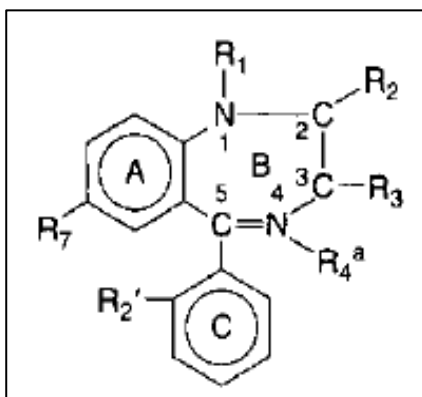
sueño.<sup>1</sup> El primer agente que se introdujo de manera específica como sedante e hipnótico fue el Bromuro de Etilo, a mediados del siglo XIX. Otros compuestos tales como el Hidrato de Cloral, Paraldehído, Uretano y Sulfonal empezaron a usarse antes de la aparición del barbital, en 1903. La eficacia de los barbitúricos dio impulso a la síntesis y ensayo de más de 2500 compuestos de este tipo; por lo que dominaron antes de 1960. Sin embargo, la separación parcial de las propiedades sedante, hipnóticas y anestésicas de las propiedades anticonvulsivas que caracterizaba a estos compuestos, motivó la búsqueda de agentes con efectos más selectivos en las funciones sobre el SNC. En consecuencia, a finales de 1930 y principios de 1940 aparecieron en el comercio anticonvulsivos relativamente no sedantes, tales como Fenilhidantoína y Trimetadiona; posteriormente, en el año 1960 se sintetizó el compuesto denominado Clordiazepóxido por Leo Henryk Sternbach, el cual abrió la era de las benzodiazepinas.<sup>1, 3</sup>

La primera benzodiazepina, denominada inicialmente como Clordiazepóxido, se sintetizó accidentalmente en 1960, en los laboratorios de Hoffman-La Roche. Su inesperada actividad farmacológica se reconoció durante un procedimiento rutinario de ensayos farmacológicos, y las BZs se convirtieron muy pronto en los fármacos más ampliamente prescritos de la farmacopea.<sup>3</sup>

El interés terapéutico del Clordiazepóxido y su novedad estructural, permitieron su rápida introducción en terapéutica bajo el nombre comercial de Librium®; sin embargo, este fármaco presenta una serie de efectos adversos, entre ellos sabor amargo y una escasa estabilidad química debido a su higroscopicidad y a su fácil hidrólisis lo que motivó la búsqueda de análogos.<sup>5, 48</sup>

## 2.2 Química.

El término *benzodiazepina* se refiere a la parte de la estructura, compuesta por un anillo benceno (anillo A) fusionado con un anillo de diazepina (anillo B)<sup>2</sup>, es decir químicamente es un sistema heterocíclico.<sup>19</sup> Sin embargo, como todas las BZs importantes contienen un sustituyente de 5-arilo (anillo C) y un anillo 1,4-diazepina. Figura 11.<sup>2</sup>



**Figura No. 11.** Estructura química general de las benzodiazepinas.<sup>2</sup>

Con la estructura química, se estableció una relación entre ésta y su actividad biológica conocidas como: relaciones estructura-actividad que se describen a continuación.

Las relaciones estructura-actividad más importantes en este grupo de compuestos pueden resumirse:

a) Anillo bencénico fusionado.

- Puede sustituirse por tiofeno, como en el Clotiazepam.
- Los sustituyentes en la posición 7 deben ser aceptores de electrones, aunque no son necesarios para la unión a los receptores. Entre ellos, los sustituyentes nitro, como el Nitrazepam y el Clonazepam, puede potenciar actividades hipnóticas y anticonvulsivas.

- Las sustituciones en otras posiciones del anillo bencénico dan resultados negativos.<sup>48</sup>

### b) Anillo de 1,4-diazepina.

- Es importante la función lactámica, ya que el Medazepam, por ejemplo, es un profármaco que necesita activarse *in vivo*.
- La alquilación en 1, como ocurre en el Diazepam, o Valium®, y en el Prazepam, aumenta la lipofilia y la actividad.
- Las 3-hidroxibenzodiazepinas son metabolitos activos, por lo que hidroxilación en la posición 3 se aplica al diseño de sustancias de rápida eliminación útiles como hipnóticos.

### c) Grupo fenilo en la posición 5.

- Puede sustituirse por 1-ciclohexilo, como el Tetrazepam, o 2-piridinil, como en el Bromazepam.
- La halogenación en la posición 2 favorece una conformación y lipofilia adecuadas para una mejor actividad biológica.<sup>5</sup>

## 2.3 Mecanismos de acción de BZs.

Cuando las BZs se unen, en una neurona postsináptica, al receptor GABA<sub>A</sub> (que es un canal iónico controlado por ligando), éste permite la entrada de mayor cantidad del ión Cl<sup>-</sup>, a la célula, ésta se hiperpolariza (el potencial de membrana se vuelve más negativo) y se aleja de la carga que necesita para poder comenzar su actividad eléctrica para llevar la información hacia la siguiente sinápsis. Otra manera de expresarlo es que la hiperpolarización aleja a la neurona de su umbral de disparo. Así se inhibe la descarga

eléctrica de la neurona postsináptica.<sup>19</sup> Sin embargo, ésta es una breve reseña del mecanismo de acción de las BZs sobre GABA, ya que para que se comprenda de una manera integral a continuación se explicará sobre GABA.

### **2.3.1 Actividad de GABA.**

Algunos aminoácidos actúan en el SNC como neurotransmisores; éstos pueden ser de tipo neutro, como el GABA, la glicina y la taurina; o de tipo ácido como el ácido glutámico y el ácido aspártico.<sup>5</sup> El primer grupo tiene una acción inhibitoria sobre el SNC, como una consecuencia de la hiperpolarización y una disminución de la excitabilidad neuronal. Los del segundo grupo, por el contrario, actúan de forma excitadora, ejerciendo una acción despolarizante de la membrana postsináptica.<sup>1</sup>

Entre estos aminoácidos, GABA es considerado como el mejor inhibidor del SNC.<sup>50</sup> En los mamíferos, el GABA se encuentra en altas concentraciones en el cerebro y en la médula espinal, y sólo trazas en el tejido nervioso periférico, como el nervio ciático, nervio esplénico, ganglios simpáticos o cualquier otro tejido periférico como el hígado, el bazo o el corazón. Al igual que las monoaminas, el GABA también parece tener distribución diferente dentro del SNC. Sin embargo, a diferencia de las monoaminas, la concentración del GABA en el SNC es del orden de micromoles por gramo ( $\mu\text{M}$ ); en lugar de nanogramos por gramo (nM). Cabe señalar que el cerebro tiene grandes cantidades de ácido glutámico (8 a 13  $\mu\text{moles/g}$ ) que es el precursor más importante del GABA en el SNC.<sup>44, 45</sup>

### **2.3.2 Historia de GABA.**

El GABA fue sintetizado y caracterizado en 1883, éste fue considerado por muchos años como un catabolito de los microorganismos y de plantas. Sin embargo, no fue sino hasta 1950 que los investigadores Eugene Roberts y Jorge Awapara identificaron al GABA como

un constituyente normal del SNC de los mamíferos<sup>44, 45, 49, 38</sup>, pero es hasta 1960 que fue aceptado por su característica de neurotransmisor y fue Ernst Florey quien estudia sobre el GABA descubriendo su capacidad inhibitoria sobre el SNC.<sup>42, 44</sup>

### 2.3.3 Biosíntesis de GABA.

El GABA se sintetiza en la terminación axonal y se almacena al igual que otros neurotransmisores en “pools” o vesículas sinápticas.<sup>19</sup>

Hay tres enzimas primarias que intervienen en el metabolismo de GABA antes de la entrada al ciclo de Krebs, tales como la ácido glutámico descarboxilasa (GAD), GABA-transaminasa (GABA-T) y semialdehído succinodeshidrogenasa (SSDA). GABA se forma por la  $\alpha$ -descarboxilación del ácido L-glutámico; reacción que es catalizada por la GAD, enzima que sólo se encuentra en el SNC de los mamíferos y en el tejido retiniano. El ácido L-glutámico, precursor del GABA, puede ser formado por la transaminación de  $\alpha$ -oxoglutarato o reacción con amoníaco. El GABA está relacionada íntimamente con el metabolismo oxidativo de los carbohidratos en el SNC por medio de una derivación que implica su producción a partir de glutamato, su transaminación con  $\alpha$ -oxoglutarato por la GABA  $\alpha$ -oxoglutarato transaminasa (GABA-T) que produce aldehído succínico y regenera el glutamato, y su entrada al ciclo de Krebs como ácido succínico por medio de la vía de oxidación del semialdehído succínico por la semialdehído succinodeshidrogenasa (SSDA) Figura 12.<sup>36, 43, 44, 50, 51</sup>

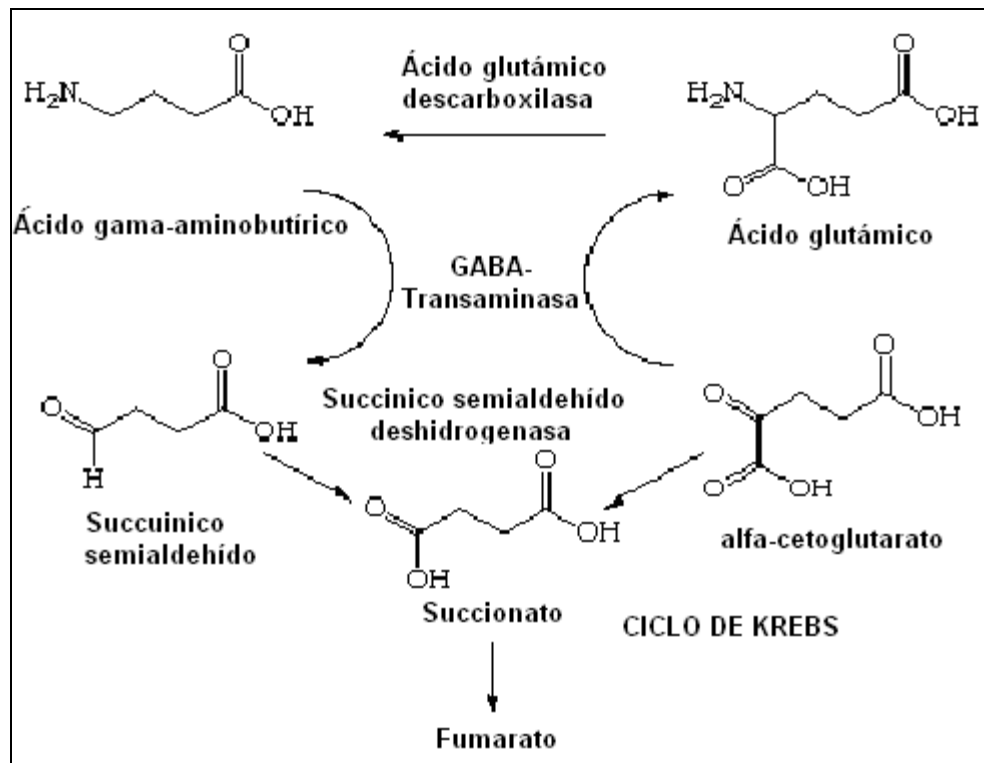
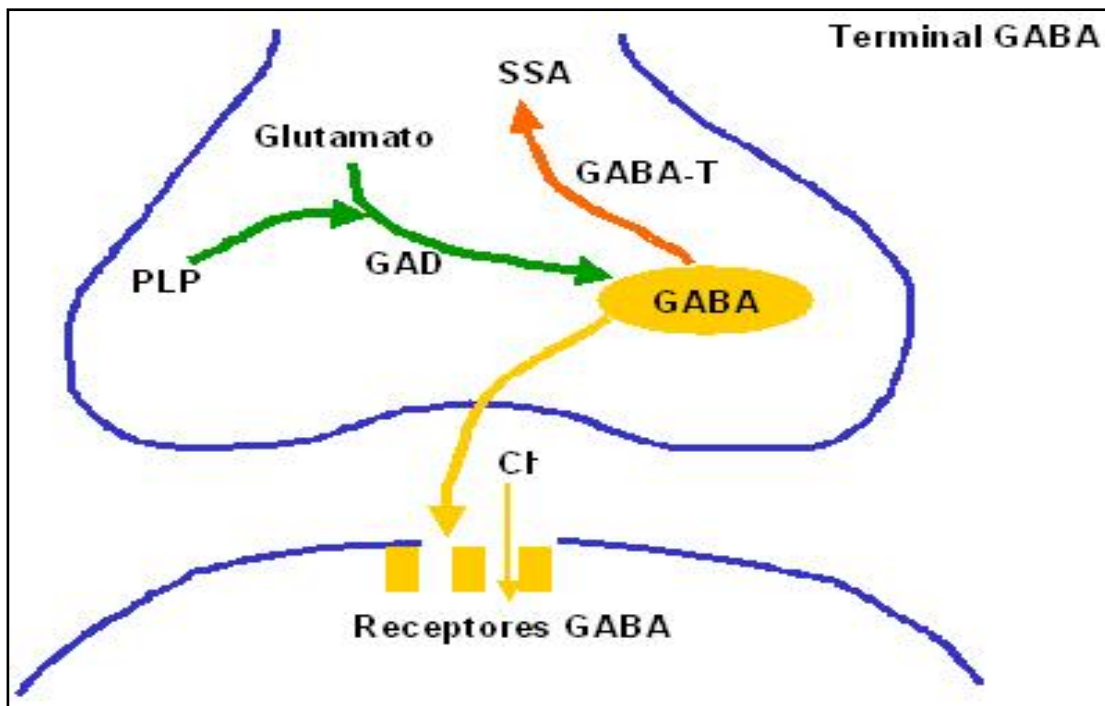


Figura No. 12. Metabolismo de GABA.<sup>51</sup>

Una vez formado el GABA se almacena en vesículas sinápticas axoplasmáticas, de donde se libera al espacio intersináptico por un proceso de exocitosis. El GABA interacciona con receptores específicos en la membrana neuronal postsináptica. Luego de interactuar con el receptor, la mayor parte de las moléculas de GABA sufren un proceso de recaptación activa en las terminales gabaérgicas y gliales (recaptación axonal y glial). El GABA recaptado por las terminaciones nerviosas puede ser reutilizado incorporándose a las vesículas sinápticas o metabolizado. El GABA es sustrato de la enzima GABA transaminasa (GABA-T) que por transaminación lo transforma en ácido succínico semialdehído (SSA). Este sufre oxidación por medio de la enzima semialdehído succinico deshidrogenasa (SSDH) y se transforma en ácido succínico. El ácido succínico en la mitocondria reingresa al ciclo de Krebs, siendo posible, por esta vía contribuir a la síntesis de nuevo neurotransmisor.<sup>38,51</sup>

### 2.3.4 Receptores a GABA

El GABA en el espacio intersináptico interacciona con sus receptores específicos. Han sido identificados por lo menos tres receptores con propiedades diferentes.<sup>19, 52</sup> Figura 13:<sup>53</sup>



**Figura No. 13.** Unión sináptica de un terminal GABA. El GABA es sintetizado a partir del glutamato por la enzima glutamato decarboxilasa (GAD) y utilizando como cofactor al piridoxal fosfato (PLP) o vitamina B6. El GABA actúa sobre los receptores postsinápticos aumentando el ingreso del cloro iónico. El exceso de GABA es eliminado a través de la enzima GABA-aminotransferasa (GABA-T), formando semialdehído succínico (SSA) que ingresa al ciclo de Krebs. En el ciclo de Krebs se forma alfa cetoglutarato que luego participa en la síntesis del glutamato.<sup>53</sup>

### 2.3.4.1 Receptores GABA<sub>A</sub>

Estos receptores están asociados directamente con un canal de iones Cl<sup>-</sup>, éstos son los más importantes, son postsinápticos y predominan a nivel cerebral supraespinal. Cuando se activan estos receptores se desencadenan efectos inhibitorios por hiperpolarización.<sup>19</sup> Los receptores GABA<sub>A</sub> son receptores ensamblados por subunidades pentaméricas, estas subunidades ( $\alpha$ 1-6,  $\beta$ 1-3,  $\gamma$ 1-3,  $\delta$ ,  $\epsilon$ ,  $\theta$  y  $\pi$ ) están codificadas por genes con diferentes patrones de expresión.<sup>52, 54, 55</sup>

Los estudios sobre receptores expresados evidencian que la unión de GABA requieren la presencia de las subunidades  $\alpha$  y  $\beta$ , mientras que la unión a BZs, requieren la presencia de las subunidades  $\alpha$  y  $\gamma$ .<sup>54, 55, 56</sup>

Los receptores GABA<sub>A</sub> se han dividido en varios subtipos basándose en las subunidades que los conforman, las isoformas de éstas y los perfiles farmacológicos de varios compuestos.<sup>52, 54, 55, 56</sup>

- a) Los receptores benzodiazepínicos **tipo I**:  $\alpha$ 1  $\beta$ x  $\gamma$ 2. Implicados en la sedación y la amnesia enterógrada. Tienen gran afinidad por el Zolpidem, y algunos derivados  $\beta$ -carbolinas.<sup>1</sup>
- b) Los receptores benzodiazepínicos **tipo II**:  $\alpha$ 2  $\beta$ x  $\gamma$ 2,  $\alpha$ 3  $\beta$ x  $\gamma$ 2 o  $\alpha$ 5  $\beta$ x  $\gamma$ 2. Implicados en la actividad ansiolítica. Tienen baja afinidad por los compuestos anteriormente mencionados.<sup>1</sup>

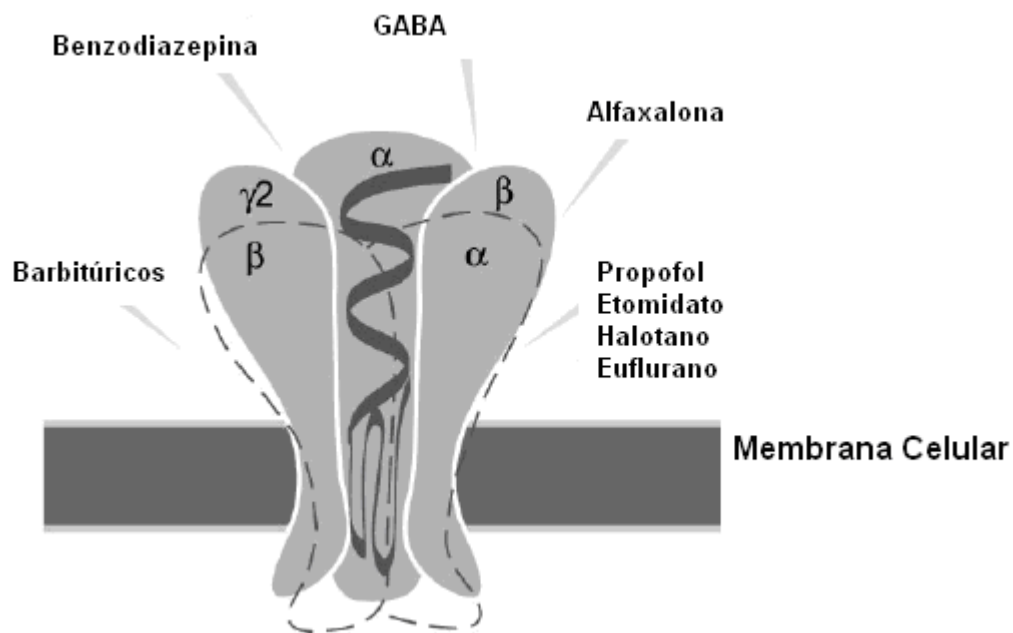
Este receptor (GABA<sub>A</sub>), es una molécula compleja formada por cinco monómeros y cada uno de estos monómeros posee a su vez tres subunidades:



1. Un sitio receptor específico para el GABA.
2. Un sitio receptor o aceptor para BZs.
3. Un ionóforo de Cl<sup>-</sup> (canal iónico).

El ionóforo de Cl<sup>-</sup> sería también el receptor para barbitúricos, picrotoxina y el etanol<sup>27</sup>.

Figura 14.<sup>54</sup>

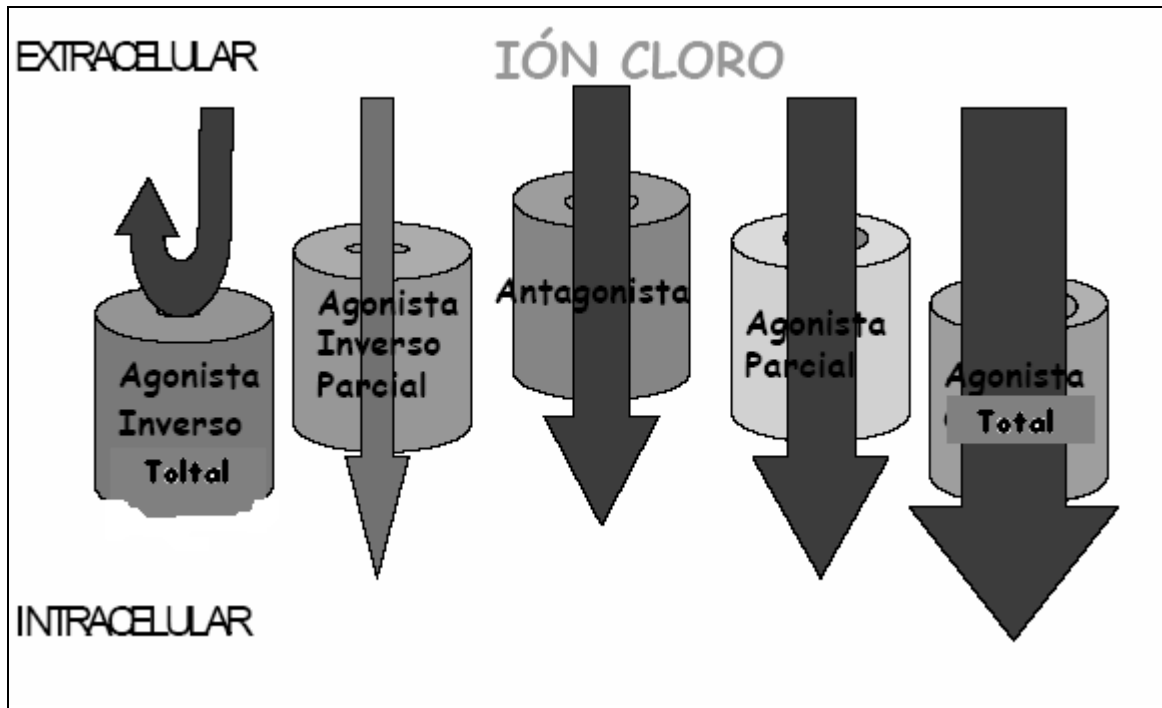


**Figura No. 14.** Estructura del receptor GABA<sub>A</sub> y sus sitios ligandos para diferentes sustancias que actúan sobre este receptor de GABA.<sup>54</sup>

Cuando un compuesto tiene afinidad por el receptor GABA<sub>A</sub> y se une a él, puede provocar varios efectos. Estos efectos serán distintos según la actividad intrínseca (eficacia) del compuesto sobre ese receptor y de que manera module al mismo. Así nos vamos a encontrar con compuestos que se comportan como: Figura 15.<sup>47, 55</sup>

- a) Agonistas totales.
- b) Agonistas parciales.

- c) Antagonistas.
- d) Agonistas inversos parciales.
- e) Agonistas inversos totales.<sup>47</sup>



**Figura No. 15.** Flujo de  $Cl^-$  hacia las neuronas en las interacciones de fármacos con los receptores  $GABA_A$ .<sup>47</sup>

Para todos estos tipos de interacciones los compuestos deben tener afinidad por el receptor, pero, sólo los agonistas tienen actividad intrínseca y provocan una respuesta biológica, es decir, van a provocar por sí mismos un cambio en la estructura sobre la que actúen. Los antagonistas, en cambio, sin actividad intrínseca, funcionan impidiendo la acción de alguna molécula agonista.<sup>47, 50, 55</sup>

Cabe señalar que las BZs son agonistas totales del receptor  $GABA_A$ . Esto quiere decir que tienen afinidad por él y que tienen actividad intrínseca sobre ese receptor. A la vez, son moduladores alostéricos positivos, estimulando la unión del neurotransmisor GABA sobre el

receptor, aumentando la frecuencia de aperturas del canal iónico, lo que produce el incremento de la entrada de  $\text{Cl}^-$  a la célula.<sup>47</sup>

**2.3.4.2 Receptores  $\text{GABA}_B$ :** suelen ser receptores presinápticos asociados a proteínas G que regulan la liberación de neurotransmisores a través de la regulación de canales de  $\text{Ca}^{2+}$  o  $\text{K}^+$  por un segundo mensajero.

**2.3.4.3 Receptores  $\text{GABA}_C$ :** asociados a canales de  $\text{Cl}^-$  y se relacionan estructuralmente con los  $\text{GABA}_A$ .<sup>52</sup>

## 2.4 Farmacocinética de las BZs.

Los perfiles farmacocinéticos diferencian unas BZs de otras, sobre todo en su tiempo de vida media ( $t_{1/2}$ ), (Tabla 1) puesto que sus acciones farmacológicas son básicamente las mismas. Presentan una variación en su farmacocinética dependiente del individuo al que se le administran, esto dependiendo del paciente y de los hábitos del mismo.<sup>57</sup>

Estos compuestos son muy liposolubles, característica fisicoquímica que les permite atravesar las membranas biológicas con facilidad. Estos compuestos tienen buena absorción por vía oral cuando se administran con el estómago vacío, sin embargo, la absorción se puede retardar por preparados farmacéuticos de liberación prolongada, así como la presencia de alimento en el estómago, la ingesta continua de BZs y la administración de otras sustancias tales como antiácidos, antidepresivos, inhibidores de la monoaminoxidasa (IMAO) y anticolinérgicos. Su biodisponibilidad es casi completa pues es entre 78% (Nitrazepam) y el 100% (para el Clordiazepóxido).<sup>3,38,47</sup> El momento en que se alcanza la concentración plasmática, cuando la administración es vía oral, dependerá de la rapidez con que se absorba y, para el DIAZ (fármaco de referencia) dicha concentración se alcanza de 30 a 90 min.<sup>52, 58</sup> Existe la presencia de metabolitos activos en algunas BZs, cuando ocurre una

transformación química por el metabolismo, como se muestra en la Tabla 1. Por vía intramuscular (I.M.), la absorción es lenta y errática, salvo Midazolam, Clonacepam y Loracepam. La vía intravenosa (I.V.) se usa, principalmente, para la sedación prequirúrgica, para el tratamiento de las convulsiones y, en psiquiatría sólo en situaciones de urgencia tales como la privación de alcohol.<sup>38, 47</sup>

**Tabla. No. 1** Datos farmacocinéticas de las principales BZs.<sup>36, 38</sup>

<b>Fármaco</b>	<b>Tiempo ½ (h)</b>	<b>Metabolitos activos</b>	<b>Volumen de distribución (L/Kg)</b>	<b>Unión a proteínas (%)</b>
Alprazolam	12-15	No significativos	---	80
Bentacepam	4-5	No	---	
Bromacepam	7.9-19.3	Sí	---	74
Clonacepam	18-39	No	2.1-4.3	47
Cloracepato	1-2	Sí	0.93-1.27	82
Clordiacepóxido	5-30	Sí	0.26-0.58	94-97
Diacepam	20-70	Sí	0.95-2	96.8
Flunitracepam	15-68	No	---	77-88
Fluracepam	2.3	Sí	3.4	97
Halacepam	15-35	Sí	---	98
Ketazolam	30-100	Sí	---	96
Loracepam	10-15	No	0.70-1	85
Lormetacepam	9-15	No	---	85
Medacepam	1-2	Sí	---	99-99.5
Midazolam	1.5-3	Sí	---	0.8-2
Nitracepam	26-33	No	---	87
Oxacepam	5-15	No	0.6	87-90
Triazolam	1.5-5	No	0.8	78-85

Las BZs son muy liposolubles y presentan un elevado volumen de distribución; éstas atraviesan la barrera hematoencefálica (HE), alcanzan el tejido cerebral y poseen un alto grado de unión a proteínas plasmáticas (85 al 100%). En cuanto a su metabolismo, se puede agregar que las BZs son metabolizadas en gran o menor medida por el sistema microsomal hepático, pueden ser varias las reacciones de biotransformación que tienen lugar: oxidación, N-desmetilación, desalquilación, hidroxilación, y posteriormente la conjugación con ácido glucurónico. Una de las particularidades de la biotransformación de las BZs, como se mencionó anteriormente, es que la mayor parte de ellas originan metabolitos activos. En algunos casos el  $t_{1/2}$  plasmático de eliminación de estos metabolitos es relativamente igual al del fármaco original y por ello carece de trascendencia clínica. Sin embargo, en otros casos, los metabolitos presentan un  $t_{1/2}$  plasmática de eliminación sensiblemente mayor a la del fármaco original; en este caso, dichos metabolitos sí tienen trascendencia clínica.<sup>38, 49,59</sup>

Las BZs, se eliminan por el riñón, generalmente, en forma de metabolitos inactivos. Una pequeña parte puede eliminarse por vía rectal. Según su  $t_{1/2}$  de eliminación se pueden distinguir cuatro tipos de BZs:<sup>36</sup>

- **BZs de acción prolongada:** éstas por sí mismas o por su metabolitos tienen un  $t_{1/2}$  plasmático de eliminación superior a 40h, tales como el Clobazam, Clorazepato, Clordiacepóxido, DIAZ, Flurazepam.
- **BZs de acción intermedia:** éstas tienen un  $t_{1/2}$  plasmático de eliminación entre 20 y 40h. En este grupo encontramos al Bromazepam, Clonacepam, Flunitrazepam, Nitrazepam.
- **BZs de acción corta:** éstas tienen un  $t_{1/2}$  plasmática de eliminación entre 5 y 20h. Como Alprazolam, Lormetazepam, Lorazepam, Oxazepam, Temazepam.

- **BZs de acción ultracorta:** éstas tienen un  $t_{1/2}$  plasmático de eliminación inferior a 5h. Como Brotizolam, Midazolam, Triazolam.<sup>36</sup>

## 2.5 Farmacodinamia de las BZs.

Las BZs, son fármacos depresores del SNC, con efecto selectivo sobre algunas estructuras como el sistema límbico sin afectar a otras tales como la corteza cerebral. Destacan los siguientes efectos:<sup>36, 47</sup>

**2.5.1 Acción ansiolítica:** las BZs se comportan como sustancias ansiolíticas, éstas ejercen su efecto terapéutico potencializando la actividad del receptor GABA<sub>A</sub>.<sup>60</sup> Éstas son las más utilizadas para el tratamiento de la ansiedad, debido a que poseen un alto nivel terapéutico.<sup>13</sup> A la acción ansiolítica contribuye su efecto anticonflicto y antiagresivo, por lo que en los modelos de conflicto las BZs reducen la evitación. En la especie humana éste efecto anticonflicto (desinhibidor) se relaciona con la reducción de las consecuencias de la frustración y el miedo.<sup>36, 43</sup>

**2.5.2 Acción hipnótica:** todas las BZs producen sedación e inducción del sueño dependiendo de la dosis. Este efecto se relaciona con la reducción de la actividad psicomotora y cognoscitiva, con la cual están relacionadas otras acciones (efecto relajante del músculo esquelético y sobre la memoria). Las BZs, aún cuando pase el efecto hipnótico, no corrigen las alteraciones del ritmo del sueño de estos pacientes, sino que además puede alterarlo, aumentando el tiempo total de sueño y disminuyendo el número de veces que el paciente despierta.<sup>17, 29,47</sup>

**2.5.3 Acción relajante del músculo esquelético:** las BZs relajan la musculatura estriada esquelética al facilitar la acción de las interneuronas inhibitoras en el tronco encefálico y la

médula espinal interfiriendo con los reflejos mono y polisinápticos. Con esta acción miorrelajante se relaciona la descoordinación motora que producen las BZs.<sup>36, 47</sup>

**2.5.4 Acción anticonvulsiva:** aparte del valor de estos agentes como sedantes-hipnóticos, ansiolíticos y relajantes musculares, algunos son efectivos en el control de las convulsiones. Las BZs aumentan una gran variedad de sistemas sinápticos mediados por el GABA, incluyendo inhibiciones presinápticas y postsinápticas. El DIAZ, por vía intravenosa, es considerado el fármaco de elección para el estado epiléptico en adultos. Debe ser utilizado con precaución en pacientes que han recibido barbitúricos. Es también, efectivo contra todos los tipos de crisis, particularmente pequeño mal y otros ataques motores menores. Su utilización a largo plazo, como agente antiepiléptico, se limita por el desarrollo de tolerancia y dependencia al tratamiento en corto tiempo. El Clonazepam es utilizado en el tratamiento de las crisis de ausencia y en las crisis mioclónicas en niños. Su limitación terapéutica se debe al desarrollo de tolerancia, que puede sobrellevarse aumentando las dosis. Sin embargo, a dosis altas se induce sedación.<sup>28, 37, 60</sup>

**2.5.5 Acción sobre la memoria:** las BZs interfieren la transferencia de información de la memoria inmediata a la memoria a largo plazo, por lo cual se produce un déficit temporal de la memoria, lo que se conoce como amnesia enterógrada.<sup>36</sup>

## **2.6 Efectos indeseados de las BZs.**

Hay autores que dicen que las BZs son fármacos bien tolerados y que sus efectos adversos son poco frecuente y de poca importancia.<sup>36</sup> Sin embargo, otros, mencionan que sí se debe dar suma importancia a estos efectos adversos por la gravedad que producen. Éstos efectos indeseados de las BZs se pueden dividir de la siguiente forma:<sup>3, 17, 36</sup>

**a) Efectos tóxicos secundarios a sobredosis aguda.** la sobredosis de las BZs es considerablemente menos peligrosa que la de otros sedante-hipnóticos. Una sobredosis de BZs produce sueño prolongado sin depresión cardiorrespiratoria grave. Sin embargo, el uso de otros agentes como el alcohol combinado con estos fármacos sí pueden causar depresión cardiorrespiratoria, incluso puede provocar la muerte. La disponibilidad de un antagonista eficaz como el Flumazenilo, permite neutralizar los efectos de sobredosis aguda.<sup>3, 17, 28, 36</sup>

**b) Efectos adversos durante su uso terapéutico:** los principales efectos adversos de las BZs son la somnolencia, confusión, amnesia y alteraciones de la coordinación motora, que afectan considerablemente algunas habilidades manuales como la capacidad de conducir. Además una concentración plasmática baja de cualquier BZs puede aumentar los efectos depresores del alcohol de forma aditiva debido a la interacción de las BZs y el alcohol, por lo que la duración de la acción de éstos fármacos son importantes respecto a los efectos adversos. En la actualidad ya no se usan hipnóticos de acción prolongada como el Nitrazepam, pero, incluso los compuestos de acción corta como el Loracepam puede producir al día siguiente alteración sustancial de la actividad laboral y en la capacidad de conducir.<sup>3, 36, 47</sup>

**c) Tolerancia y dependencia:** la tolerancia se produce con todas las BZs que actualmente se comercializan, al igual que la dependencia; éste es su inconveniente principal para su uso terapéutico. La tolerancia es menos marcada en los barbitúricos, los cuales producen tolerancia farmacocinética debido a la inducción de enzimas hepáticas metabolizadoras del fármaco, esto no ocurre con las BZs. Tal y como se produce dicha tolerancia, podría representar un cambio en el receptor. En voluntarios y pacientes, la



interrupción del tratamiento con BZs después de semanas o meses aumenta los síntomas de ansiedad, además de temblor y vértigo. El síndrome de abstinencia se inicia lentamente y es menos intenso que con el uso de barbitúricos, debido al largo  $t_{1/2}$  que tienen las BZs. Las BZs de acción corta producen síntomas de abstinencia más repentinos. Por lo que los síntomas de abstinencia física (aumento de ansiedad, irritabilidad, insomnio, crisis de angustia, palpitaciones, temblor y cefálea) dificultan la retirada de las BZs, sin embargo, la dependencia psicológica se considera un problema poco importante.<sup>3, 33, 42</sup>

### 2.7 Diazepam.

Su estructura (Figura 16) y nombre químico es 7-cloro-1,3-dihidro-1-metil-5-fenil-2H-1,4-benzodiazepin-2-ona, es un polvo cristalino ligeramente amarillento, su punto de fusión esta reportado como 131.4 a 134.5°C y su masa molecular es de 284.7 g/mol. Se encuentra en el mercado con los nombres: Ortopsique® (tabletas de 5 y 10mg, laboratorio Psicofarma), Valium® (comprimidos de 5 y 10 mg; solución inyectable 10 mg/2 mL). DIAZ es el compuesto de referencia entre las BZs, debido a su gran comercialización en el mundo.<sup>33, 59, 61</sup> Este fármaco tiene efectos farmacológicos como ansiolítico, sedante hipnótico, relajante muscular y anticonvulsivo. El DIAZ por vía oral se absorbe rápida y completamente del tracto gastrointestinal, alcanzando concentraciones plasmáticas máximas en 30 a 90 min. Éste y sus metabolitos se une en gran medida a las proteínas plasmáticas. Atraviesa las barreras HE y placentaria, su volumen de distribución es de 0.8 a 1L/Kg y su  $t_{1/2}$  de distribución es de hasta 3 h. Éste se metaboliza principalmente a metabolitos activos tales como N-des-metil-diacepam, Temacepam y Oxacepam. Tiene una vida media de 48 h y de sus metabolitos es de hasta 100 h y se secreta principalmente en la orina predominando sus formas conjugadas. Está contraindicado en pacientes con hipersensibilidad a la BZs, insuficiencia respiratoria y

hepática severa y a los que dependen de otras sustancias como el alcohol. Los efectos no deseados reportados frecuentemente son: fatiga, somnolencia y debilidad muscular. Estos síntomas ocurren al principio de la terapia y usualmente desaparecen con la administración prolongada. También se puede presentar ataxia, estado de alerta reducido, confusión, estriñimiento, depresión, alteraciones gastrointestinales, dolor de cabeza, alteraciones en el líbido, náuseas, boca seca o hipersalivación, habla incorrecta, retención urinaria, sin embargo, estos síntomas se han reportado en menor frecuencia. No se recomienda el uso de DIAZ con otro fármaco que actúe a nivel del SNC.<sup>36, 38, 58, 59, 61</sup>

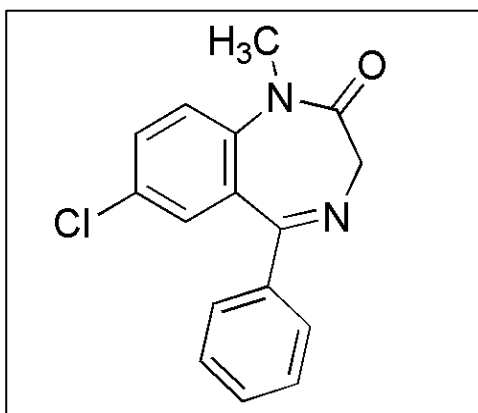


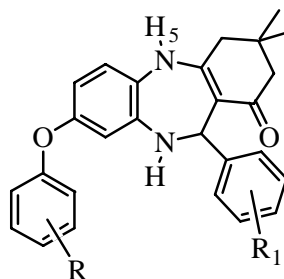
Figura No. 16. Estructura química del DIAZ, fármaco prototipo de BZs.<sup>9</sup>

### 3. Análogos dibenzodiazepínicos.

Debido a los antecedentes sobre los efectos secundarios de las BZs, tales como la tolerancia, y la dependencia física, así como trastornos en la memoria, entre otros,<sup>1</sup> es necesaria la búsqueda de nuevos compuestos que puedan sustituir a este grupo de fármacos, cuyos efectos sean similares pero con efectos secundarios disminuidos. Por lo que se evaluaron *in vivo* e *in vitro* 24 compuestos análogos dibenzodiazepínicos obtenidos en el laboratorio L-121 investigación en Química Orgánica de la FES Cuatitlán-UNAM, bajo la

dirección de la Dra. Olivia García Mellado.<sup>62, 63,64</sup> Se sintetizaron dos series de compuestos designados como la serie OG-IV-1 al 12 y la serie EO-IV-1 al 12, listados en las Tablas 2 y 3, indicando sus propiedades físicas:<sup>62, 63,64</sup>

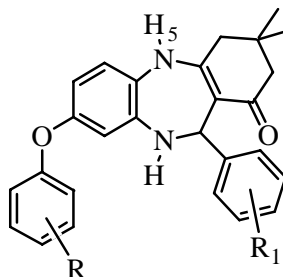
**Tabla No. 2.** Serie de análogos dibenzodiacépinicos OG-IV-1 al 12 con sus características químicas y físicas.<sup>62, 63,64</sup>



IV, 1-12

Compuesto	R	R <sub>1</sub>	Peso Molecular (g/mol)	Rendimiento (%)	Apariencia	P.f. (°C)
OG-IV-1	<i>o</i> -OCH <sub>3</sub>	<i>o</i> -CH <sub>3</sub>	454	90	Sólido color café-rojizo	106-108
OG-IV-2	<i>o</i> -OCH <sub>3</sub>	<i>p</i> -CH <sub>3</sub>	454	93	Sólido color café-rojizo	101-103
OG-IV-3	<i>o</i> -OCH <sub>3</sub>	<i>o</i> -Cl	474	91	Sólido color café-rojizo	115-116
OG-IV-4	<i>o</i> -OCH <sub>3</sub>	<i>p</i> -Cl	474	90	Sólido color Naranja	112-114
OG-IV-5	<i>o</i> -OCH <sub>3</sub>	<i>o</i> -OCH <sub>3</sub>	470	87	Sólido color Café rojizo	77-79
OG-IV-6	<i>o</i> -OCH <sub>3</sub>	<i>p</i> -OCH <sub>3</sub>	470	79	Sólido color café-rojizo	82-84
OG-IV-7	<i>p</i> -OCH <sub>3</sub>	<i>o</i> -CH <sub>3</sub>	454	98	Sólido color café-rojizo	80-82
OG-IV-8	<i>p</i> -OCH <sub>3</sub>	<i>p</i> -CH <sub>3</sub>	454	91	Sólido color café-rojizo	118-120
OG-IV-9	<i>p</i> -OCH <sub>3</sub>	<i>o</i> -Cl	474	98	Sólido color café-rojizo	94-96
OG-IV-10	<i>p</i> -OCH <sub>3</sub>	<i>p</i> -Cl	474	82	Sólido color café-rojizo	131-133
OG-IV-11	<i>p</i> -OCH <sub>3</sub>	<i>o</i> -OCH <sub>3</sub>	470	76	Sólido color Amarillo	194-196
OG-IV-12	<i>p</i> -OCH <sub>3</sub>	<i>p</i> -OCH <sub>3</sub>	470	78	Sólido color café-rojizo	126-128

Tabla No. 3. Serie de análogos dibenzodiazepínicos EO-IV-1 al 12 con sus características químicas y físicas. <sup>62, 63,64</sup>



IV, 1-12

Compuesto	R	R <sub>1</sub>	Peso Molecular (g/mol)	Rendimiento (%)	Apariencia	Punto de Fusión (C°)
EO-IV-1	<i>o</i> -CH <sub>3</sub>	<i>o</i> -CH <sub>3</sub>	438	70	Sólido Naranja	135-136
EO-IV-2	<i>o</i> -CH <sub>3</sub>	<i>p</i> -CH <sub>3</sub>	438	70	Sólido Naranja	240
EO-IV-3	<i>o</i> -CH <sub>3</sub>	<i>p</i> -Cl	458	75	Sólido Naranja	105-107
EO-IV-4	<i>o</i> -CH <sub>3</sub>	<i>p</i> -Cl	458	70	Sólido Amarillo	220-222
EO-IV-5	<i>o</i> -CH <sub>3</sub>	<i>o</i> -Br	502	60	Sólido Naranja	72-74
EO-IV-6	<i>o</i> -CH <sub>3</sub>	<i>p</i> -Br	502	73	Sólido Beige	208-210
EO-IV-7	<i>p</i> -CH <sub>3</sub>	<i>o</i> -CH <sub>3</sub>	438	51	Sólido Amarillo	102-104
EO-IV-8	<i>p</i> -CH <sub>3</sub>	<i>p</i> -CH <sub>3</sub>	438	54	Sólido Amarillo	46-49
EO-IV-9	<i>p</i> -CH <sub>3</sub>	<i>o</i> -Cl	458	70	Sólido Amarillo	42-44
EO-IV-10	<i>p</i> -CH <sub>3</sub>	<i>p</i> -Cl	458	54	Sólido Naranja	77-88
EO-IV-11	<i>p</i> -CH <sub>3</sub>	<i>o</i> -Br	502	68	Sólido Naranja	98-101
EO-IV-12	<i>p</i> -CH <sub>3</sub>	<i>p</i> -Br	502	52	Sólido Café	172

### III. Justificación

Las BZs y sus análogos dibenzodiazepínicos son útiles para el tratamiento de diversas patologías, tales como convulsiones, insomnio, trastornos de ansiedad y tensión muscular, entre otras; sin embargo, se necesitan fármacos que posean los mismos efectos farmacológicos que el grupo de las BZs, pero que carezcan de efectos adversos,<sup>3, 36, 42</sup> como la dependencia y la tolerancia, por lo que es necesario la síntesis y evaluación de nuevos compuestos. Por lo tanto este trabajo se concreta, en la evaluación farmacológica de 24 nuevos compuestos análogos dibenzodiazepínicos sintetizados en el laboratorio de investigación de Química Orgánica de FES Cuatitlán-UNAM, bajo la dirección de la Dra. Olivia García Mellado.<sup>62, 63, 64</sup> El estudio de estos compuestos análogos dibenzodiazepínicos se realizaron tanto *in vitro* como *in vivo*.

Esta tesis se divide en dos partes, en la primera se realizó el estudio de toxicidad, "*In Vitro*", con 12 primeros compuestos (serie OG-IV) y además se realizó un estudio piloto neurofarmacológico, con el cual se determinó las dosis a utilizar en la serie EO-IV. En la segunda parte, se determinó el perfil neurofarmacológico y a los datos obtenidos se les realizó un estudio estadístico.

## IV. Hipótesis

Se conoce que las benzodiazepinas son útiles en el tratamiento de diversas patologías por sus múltiples efectos farmacológicos tales como ansiolíticos, relajantes musculares, anticonvulsivos y sedantes-hipnóticos; por lo que se espera que los análogos dibenzodiazepínicos (OG-IV y EO-IV) tengan estos efectos farmacológicos similares a ellas, ya que éstos análogos presentan un núcleo diazepínico similar a las BZs que se usan en la clínica.

## V. Objetivos

### Objetivo general:

Evaluar de forma *in vitro* e *in vivo* 24 compuestos derivados dibenzodiazepínicos determinando su perfil neurofarmacológico, comparándolos con una BZs de referencia (DIAZ).

### Objetivos particulares:

- Realizar pruebas de solubilidad para administrar los compuestos sin que el estudio se vea alterado por el disolvente usado.
- Evaluar *in vitro*, mediante el ensayo de *Artemia salina*, la letalidad de 12 compuestos derivados dibenzodiazepínicos.
- Realizar una prueba piloto para determinar solubilidad, toxicidad y dosis en las que se presenta un efecto farmacológico.
- Determinar el efecto ansiolítico en ratas con el modelo de Rota-Rod.
- Determinar el efecto relajante muscular en ratas mediante el modelo de Rota-Rod.
- Determinar el efecto de sedación-hipnósis en ratones mediante el modelo de enderezamiento.
- Determinar el efecto de relajación muscular en ratones mediante el modelo de la Cuerda Tirante.
- Determinar el efecto anticonvulsivo en ratones mediante el modelo químico con PTZ.

## VI. Metodología

Este estudio se realizó en dos partes: en la primera se analizaron 12 compuestos (serie OG-IV) para realizar pruebas de solubilidad, los estudios *in vitro* con *Artemia salina* y los estudios piloto para determinar las dosis ansiolítica, anticonvulsiva, relajante muscular, sedante e hipnótica; posteriormente, se les realizó estudios a los otros 12 compuestos (EO-IV) para determinar las dosis aproximadas en la que se presentaba un efecto farmacológico.

### 1. Parte Experimental 1 (Estudio piloto):

#### 1.1 Material de laboratorio

- Cajas de acrílico y/o borosilicato con tapa de acero inoxidable.
- Rejilla.
- Jeringas hipodérmicas con aguja de 1mL (marca Plastipak).
- Micropipetas de 1000  $\mu$ L (Trassferpette).
- Vasos de precipitados de 50 mL (Schott-Durán).
- Matraces volumétricos de 10 mL (Pyrex).
- Matraces volumétricos de 100 mL (Pyrex).
- Pipetas Pasteur.
- Espátula Cromo-Níquel.
- Placa de porcelana con horadaciones.
- Piseta.

#### 1.2 Equipo

- Balanza granataria (Casa Vales S.A de C.V.)
- Balanza analítica (AG204 Mettler Toledo)



- Rota-rod Modelo 750 (Ugo Basile)
- Vortex (IKA MS1 S1)
- Cuerda tirante: 20 cm de alto, diámetro=1 mm (alambre); 15 cm de longitud en base de madera. Elaborada en el laboratorio de Neurofarmacología. Facultad de Química-UNAM.

### 1.3 Reactivos

- Pentilentetrazol (Lab SIGMA Lot. 101H0046).
- Diazepam ampolleta inyectable (Valium® 10mg/2ml, Lab. Roche; Lot.RJ0023).
- Polietilenglicol 200 (Lab. Merck).
- Solución salina Isotónica 0.9% p/v (Lab. Abbott).
- Solución amortiguadora pH=7.3 (Lab. Merck).
- Tween 80 (Lab. Merck). Lot. B221371000.

### 1.4 Reactivos biológicos

- 66 ratones machos cepa ICR (Harlan, México S.A. de C.V.).
- 3 ratones machos cepa CFW (Bioterio Fac. de Química UNAM) de aprox. 20-30 g.
- 32 ratas machos Wistar (Harlan, México S.A. de C.V.).
- 10 hembras cepa Wistar (Bioterio Fac. de Química UNAM) de aprox. 200-300 g.

### 1.5 Estudios de vehículo.

Inicialmente, se determinó la solubilidad de los compuestos análogos dibenzodiazepínicos, utilizando los vehículos reportados en la Tabla 4. Como se observa, se utilizó polietilenglicol 200 (PEG) (Lab. Merck) al 30% para realizar la prueba de toxicidad

aguda con el crustáceo *Artemia salina*, y los siguientes tres vehículos (Acetona, Acetato de etilo y Tween 80) para ratón. Los vehículos utilizados se enlistan a continuación. Tabla 4.

**Tabla No. 4.** Vehículos utilizados para disolver y administrar a los animales los compuestos derivados dibenzodiazepínicos.

<b>Vehículo</b>	<b>No. De Ratones Tratados</b>
Polietilenglicol 200 al 30% Este vehículo se usó para el ensayo con <i>Artemia salina</i> .	0
Acetona al 30 %	6
Acetato de etilo al 10%	4
Tween 80 al 10 %	6
Tween 80 al 5 %	6

### 1.6 Ensayo con *Artemia salina* (CL<sub>50</sub> “*in vitro*”).

El bioensayo de toxicidad con el crustáceo *Artemia salina*, permite el fraccionamiento biodirigido que conduce a la evaluación del grado de toxicidad de compuestos citotóxicos, debido a que posee una buena correlación con los ensayos de citotoxicidad a diferentes concentraciones. Este ensayo se realizó para escalar dosis o concentraciones que no sean tóxicas, cuando se administren a animales y seres humanos.<sup>65</sup>

Los huevecillos del crustáceo *Artemia salina* se incuban por 48 h en una solución salina artificial estéril, con luz continua con un foco de 60 Watts (W) oxigenando el medio durante todo el tiempo; de ahí se toman 10 crustáceos y se colocan en frascos viales, los cuales contienen las soluciones a las concentraciones de 5, 50 y 500 ppm del compuesto en

estudio, previamente preparadas. Cada concentración se evaluó por triplicado; los crustáceos se incuban con el compuesto en estudio por 24 horas, transcurrido este período se procede a contar el número de crustáceos sobrevivientes, para calcular la concentración tóxica letal.<sup>65</sup>

### **1.7 Estudios de Sedación-Hipnosis, Relajación Muscular y Anticonvulsivo en ratón.**

Para evaluar los efectos sedación-hipnosis, relajación muscular y anticonvulsivo se usó un solo ratón para cada dosis, este procedimiento se siguió debido a que la cantidad de compuesto era poco. Señalando que las dosis administradas (40, 80 y 160 mg/kg) fueron designadas esperando encontrar la dosis a la cual se presentará actividad farmacológica. Cabe señalar que de los compuestos 11 y 12, se probaron dosis de 3, 5, 10 y 20 mg/kg. La metodología a seguir para la evaluación para cada caso fue la siguiente:<sup>4, 66, 67, 68, 69, 70,71</sup>

#### **1.7.1 Sedación-Hipnosis.**

Se administró el compuesto por vía intraperitoneal (I.P.); se observó durante 15 min postadministración en una caja de borosilicato esperando un posible efecto farmacológico.<sup>66</sup>

#### **1.7.2 Relajación muscular.**

Quince min postadministración se colocó el ratón en el modelo de la cuerda tirante registrando el número de caídas, siendo el tiempo de permanencia 5 min.

#### **1.7.3 Efecto Anticonvulsivo.**

Después de los 5 min en el modelo de la cuerda tirante, el ratón se colocó en una caja de borosilicato durante 10 min; transcurrido dicho tiempo, se administró pentilentetrazol (PTZ, Lab. Sigma) a una dosis de 110 mg/kg por vía subcutánea (S.C.), registrando el tiempo y los tipos de convulsiones presentadas durante una hora.<sup>4</sup>

#### **1.7.4 Estudio de Ansiedad en Ratas (Rota-Rod).**

Para evaluar la ansiedad en ratas, se administró vía I.P. a la dosis de 10 mg/kg el compuesto a estudiar, se colocó el animal en una caja de borosilicato durante 25 min, posteriormente, se observó durante 5 min, registrando micción, piloerección, mordisqueo y número de bolos fecales. Trascurridos los 5 min de observación se colocó a la rata sin previo entrenamiento en el equipo de Rota-Rod el cual tenía como condiciones rotatorias 8 rpm,<sup>60</sup> registrando nuevamente micción, piloerección, la presencia de mordisqueos, número de bolos fecales, número de caídas y tiempo de permanencia. Cabe señalar que, de los compuestos con los que se contaba suficiente cantidad se decidió probar dosis de 20 mg/kg siguiendo el mismo procedimiento anteriormente descrito.

#### **1.7.5 Estudio de Relajación Muscular en Ratas (Rota-Rod).**

En esta prueba se administró a una dosis de 10 mg/kg (se utilizó una rata por dosis) vía I.P. Cabe aclarar que se administró en esta prueba 8 de los doce compuestos (1, 3, 5, 7, 8, 9, 11 y 12), posteriormente se dejó pasar 50 min en una caja de borosilicato, transcurrido el tiempo, se colocó a la rata con previo entrenamiento en el modelo Rota-Rod ajustado a 15 rpm<sup>61</sup> durante 10 min, registrando el tiempo de permanencia, número de caídas, micción y número de bolos fecales.

## **2. Parte Experimental 2.**

En esta parte se estudiaron los compuestos de la serie EO-IV.

### **2.1 Material de laboratorio.**

- Cajas de acrílico y/o borosilicato con tapa de acero inoxidable.
- Rejilla.

- Jeringas hipodérmicas con aguja de 1 mL(marca Plastipak).
- Micropipetas de 1000  $\mu$ L (Trassferpette).
- Vasos de precipitados de 50 mL (Schott-Durán).
- Vasos de precipitados de 100 mL (Schott-Durán).
- Matraces volumétricos de 10 mL (Pyrex).
- Matraces volumétricos de 100 mL (Pyrex).
- Matraces volumétricos de 500 mL (Pyrex).
- Tubos de ensayo de 12 y 150 mm.
- Gradilla.
- Pipetas pasteur.
- Espátula Cromo-Níquel.
- Piseta.

## 2.2 Equipo.

- Balanza granataria (Casa Vales S.A de C.V.).
- Balanza analítica (AG204 Mettler Toledo).
- Rota-Rod Modelo 750 (Ugo Basile).
- Vortex (IKA MS1 S1).
- Cuerda tirante: 20 cm de alto, diámetro=1 mm (alambre); 15 cm de longitud en base de madera. Elaborada en el laboratorio de Neurofarmacología. Facultad de Química-UNAM.

## 2.3 Reactivos.

- Pentilentetrazol (*Lab SIGMA* Lot. 101H0046).

- Diazepam ampolleta inyectable (Valium® 10 mg/2 ml, *Lab. Roche*; Lot. RJ0354).
- Solución salina Isotónica 0.9% p/v (*Lab. Abbott*).
- Solución amortiguadora pH=7.3 (*Lab. Merck*).
- Tween 80 (*Lab. Merck*). Lot. B221371000.

## 2.4 Reactivos biológicos.

- 78 Ratones machos (20 a 30 g) cepa ICR (Harlan, México S.A. de C.V.).
- 72 Ratas machos (200 a 300 g) Wistar (Harlan, México S.A. de C.V.).

## 2.5 Estudio de Sedación-Hipnosis, Relajación Muscular y Anticonvulsivo en ratón.

### 2.5.1 Sedación-Hipnosis.

Se administró al ratón el compuesto dibenzodiazepínico correspondiente (dosis: 40 y 80 mg/Kg) por vía (I.P.); se observó durante 15 min postadministración en una caja de borosilicato y se cuantificaron las latencias para sedación, hipnosis y recuperación.

### 2.5.2 Relajación muscular.

Quince min postadministración del compuesto dibenzodiazepínico (dosis: 40 y 80 mg/Kg) se colocó al ratón en el modelo de la cuerda tirante (donde se observa mediante el tiempo de permanencia y el número de caídas el efecto de relajación muscular). Se registró el número de caídas siendo el tiempo de permanencia de 5 min.

### 2.5.3 Efecto Anticonvulsivo.

Treinta min postadministración del compuesto dibenzodiazepínico (dosis: 40 y 80 mg/Kg) correspondiente se administró Pentilentetrazol (PTZ, *Lab. Sigma*) (dosis de 110 mg/kg) por vía (S.C.) 30 min postadministración de la sustancia a estudiar y se registró el tiempo y los tipos de convulsiones presentadas durante una hora.<sup>67</sup>

## **2.6 Estudios de Ansiedad en Ratas (Rota-Rod).**

Se administró el compuesto dibenzodiazepínico correspondiente (dosis: 10 y 20 mg/Kg) vía I.P., se colocó por 25 min en una caja de borosilicato registrando micción, piloerección, mordisqueo y número de bolos fecales, posteriormente se colocó a la rata sin previo entrenamiento en el modelo Rota-Rod (condiciones rotatorias 8 rpm),<sup>67</sup> registrando nuevamente micción, piloerección, de mordisqueo, número de bolos fecales, número de caídas y tiempo de permanencia.

## **2.7. Relajación muscular en Ratas (Rota-Rod).**

Se administró el compuesto dibenzodiazepínico correspondiente (dosis: 10 y 20 mg/Kg) vía I.P., se colocó por 25 min en una caja de borosilicato registrando micción, piloerección, mordisqueo y número de bolos fecales, posteriormente se colocó a la rata con previo entrenamiento en el modelo Rota-Rod (condiciones rotatorias 15 rpm),<sup>58</sup> registrando nuevamente micción, piloerección, de mordisqueo, número de bolos fecales, número de caídas y tiempo de permanencia. Cabe señalar que el compuesto de referencia fue el DIAZ, para sedación-hipnósis a una dosis de 33 mg/Kg; como relajante muscular, ansiolítico y anticolvulsivo a una dosis de 1 mg/Kg.<sup>1, 22, 68</sup>

## **3. Estadística.**

Los resultados obtenidos se analizaron mediante una ANOVA y la prueba estadística de “t de Student”, con una probabilidad de  $p < 0.05$  y el error estándar de la media (ESM); además con los promedios se realizaron las gráficas presentadas.<sup>72</sup>

## VII. Resultados

Los resultados obtenidos se dividen en dos partes, la primera parte comprende la serie OG-IV y la segunda, comprende la serie de compuestos EO-IV.

### 1. Parte Experimental 1.

#### 1.1 Estudios de vehículo.

**Tabla. No. 5.** Resultados de los vehículos estudiados.

Vehículo	No de Ratones Tratados	Solubilidad	Observaciones	Adecuado
1. Polietilenglicol 200 al 30%	0	✓	Este vehículo se utilizó sólo para el ensayo con <i>Artemia salina</i> .	Si
2. Acetona al 30 %	6	✓	Interfiere para evaluar efecto anticonvulsivo, sedación y ansiedad.	No
3. Acetato de etilo al 10%	4	✓	Disolvente tóxico. Convulsivo.	No
4. Tween 80 al 10 %	6	✓	Interfiere para evaluar el efecto anticonvulsivo.	No
5. Tween 80 al 5 %	6	✓	<b>En este porcentaje se tiene resultados adecuados para evaluar todas las pruebas.</b>	Sí

(✓) Soluble

Se observa que el vehículo más adecuado es el Tween 80 al 5% v/v en agua.

#### 1.2 Resultados de los ensayos *in vitro* con *Artemia salina*. (CL<sub>50</sub> “*in vitro*”).

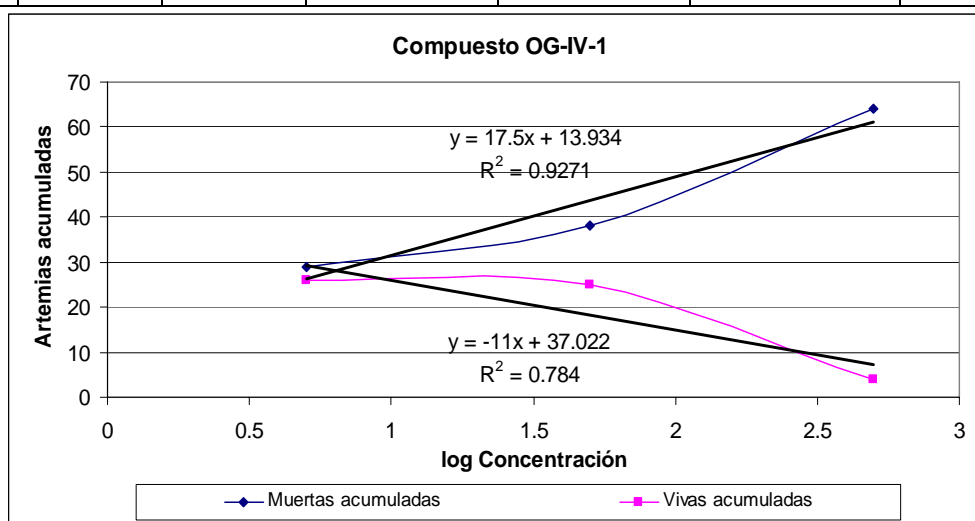
**Tabla. No. 6.** Resultados del ensayo de *Artemia salina* con el vehículo (PEG en agua al 30%).

Concentración (PEG en agua)	log C	Artemias muertas	Artemias vivas	Muertas acumuladas	Vivas acumuladas
30%	5.478	0	30	0	30

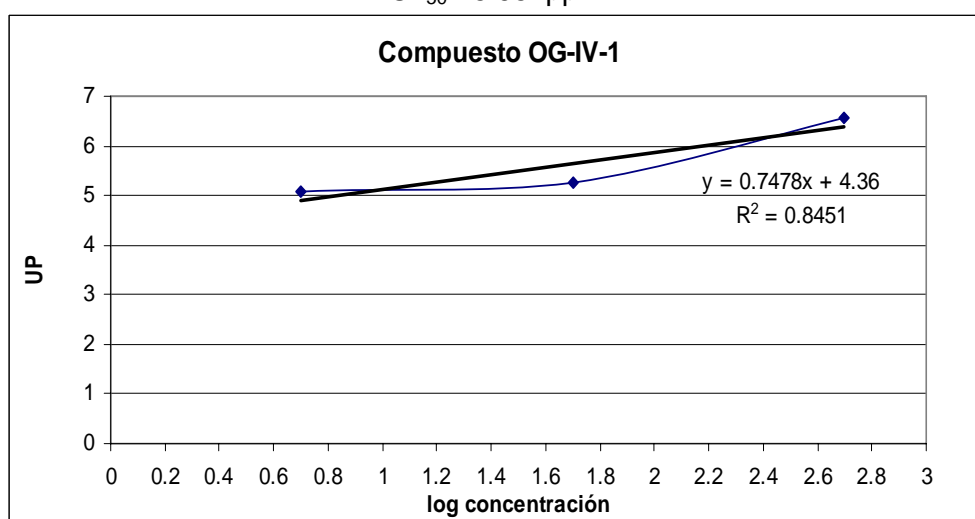


Tabla. No. 7. Resultados del ensayo de *Artemia salina* del compuesto OG-IV-1.

Conc. (ppm)	log C	Artemias muertas	Artemias vivas	Muertas acumuladas	Vivas acumuladas	Proporción Muertas/total	Mortalidad %	UP (probits)
5	0.699	29	1	29	26	29/55	52.7	5.0675
50	1.699	9	21	38	25	38/63	60.32	5.2608
500	2.699	26	4	64	4	64/68	94.11	6.563



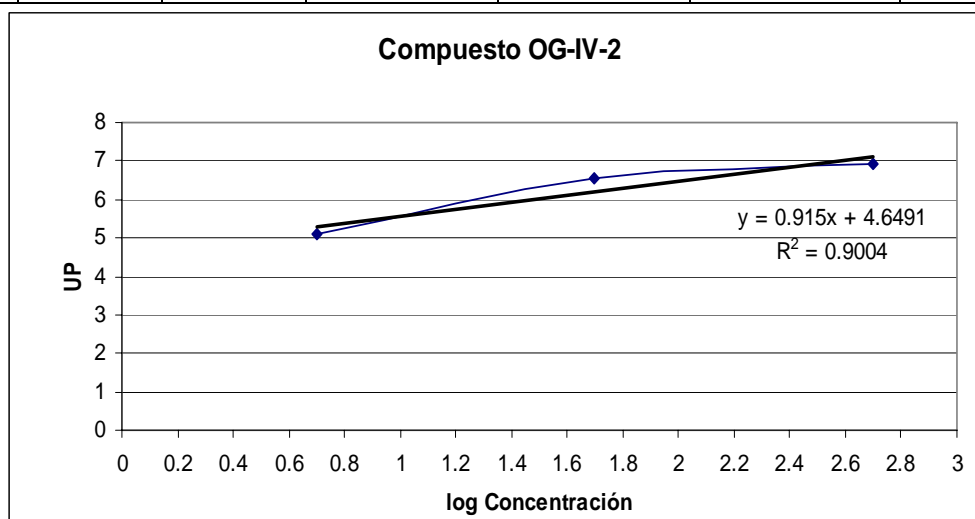
Gráfica No. 1. Concentración letal 50 con *Artemia salina* para el Compuesto OG-IV-1.  $CL_{50} = 5.957\text{ppm}$ .



Gráfica No. 2. Concentración letal 50 con *Artemia salina* para el Compuesto OG-IV-1. Método de probits.  $CL_{50} = 5.011\text{ppm}$ .

**Tabla. No. 8.** Resultados del ensayo de *Artemia salina* del compuesto OG-IV-2.

Conc. (ppm)	log C	Artemias muertas	Artemias vivas	Muertas acumuladas	Vivas acumuladas	Proporción Muertas/total	Mortalidad %	UP (probits)
5	0.699	18	12	18	15	18/33	54.54	5.1130
50	1.699	29	1	47	3	47/50	94	6.555
500	2.699	28	2	75	2	75/77	97.40	6.943



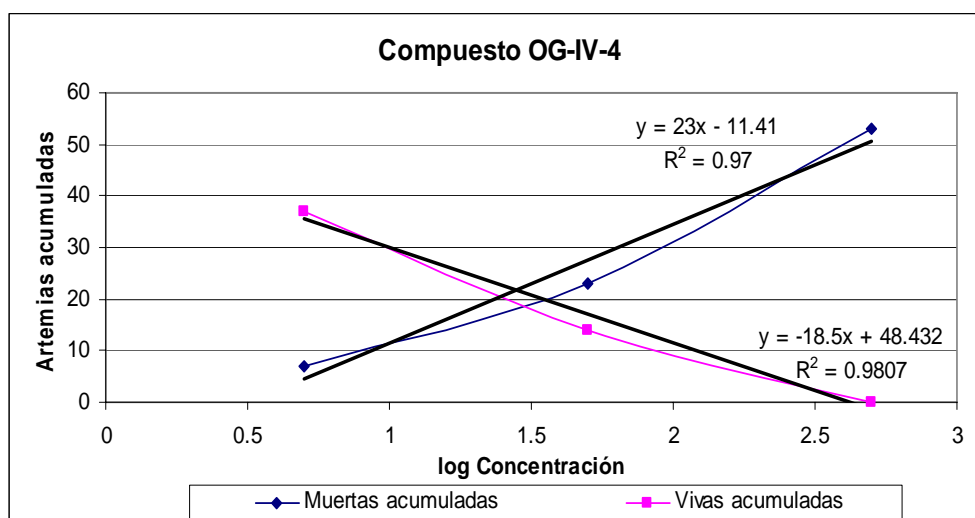
**Gráfica No. 3.** Concentración letal 50 con *Artemias salinas* para el Compuesto OG-IV-2. Método de probits.  $CL_{50} = 3.9810$  ppm.

**Tabla. No. 9.** Resultados del ensayo de *Artemia salina* del compuesto OG-IV-3.

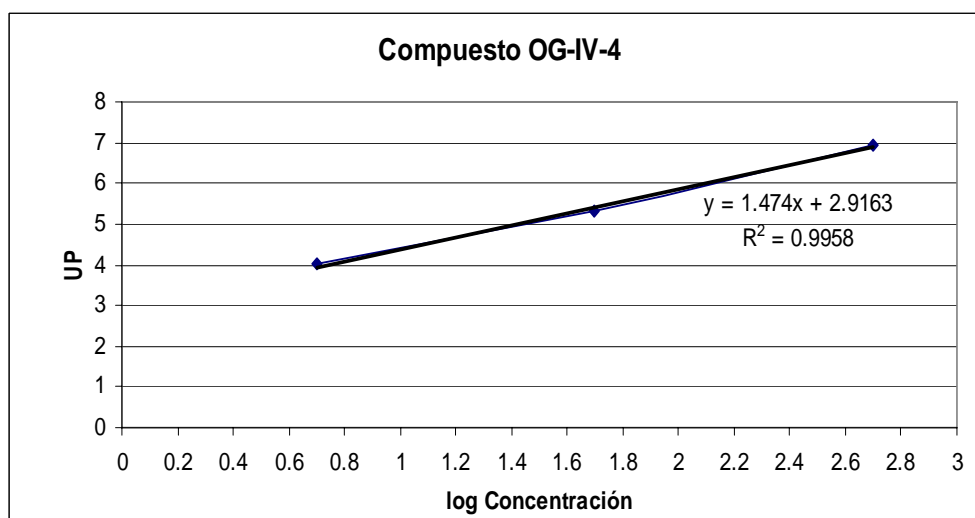
Conc. (ppm)	log C	Artemias muertas	Artemias vivas	Muertas acumuladas	Vivas acumuladas	Proporción Muertas/total	Mortalidad %	UP (probits)
5	0.699	24	6	24	10	24/34	70.59	5.5414
50	1.699	28	2	52	4	52/56	92.857	6.468
500	2.699	28	2	80	2	80/82	97.561	6.971

**Tabla. No. 10.** Resultados del ensayo de artemia salina del compuesto OG-IV-4.

Conc. (ppm)	log C	Artemias muertas	Artemias vivas	Muertas acumuladas	Vivas acumuladas	Proporción Muertas/total	Mortalidad %	UP (probits)
5	0.699	7	23	7	37	7/44	15.901	4.002
50	1.699	16	14	23	14	23/37	62.162	5.310
500	2.699	30	0	53	0	53/53	100	6.950



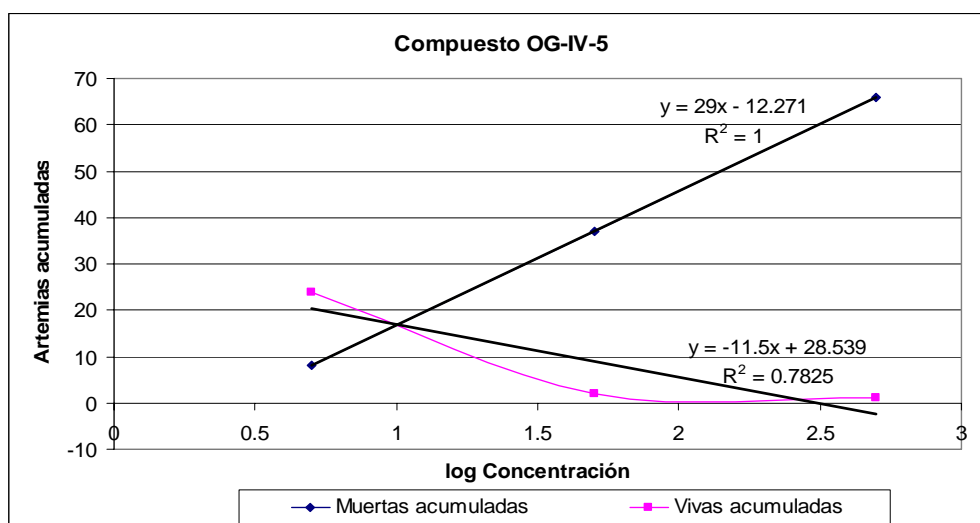
Gráfica No. 4. Concentración letal 50 con *Artemias salinas* para el Compuesto OG-IV-4.  $CL_{50} = 18.763$  ppm



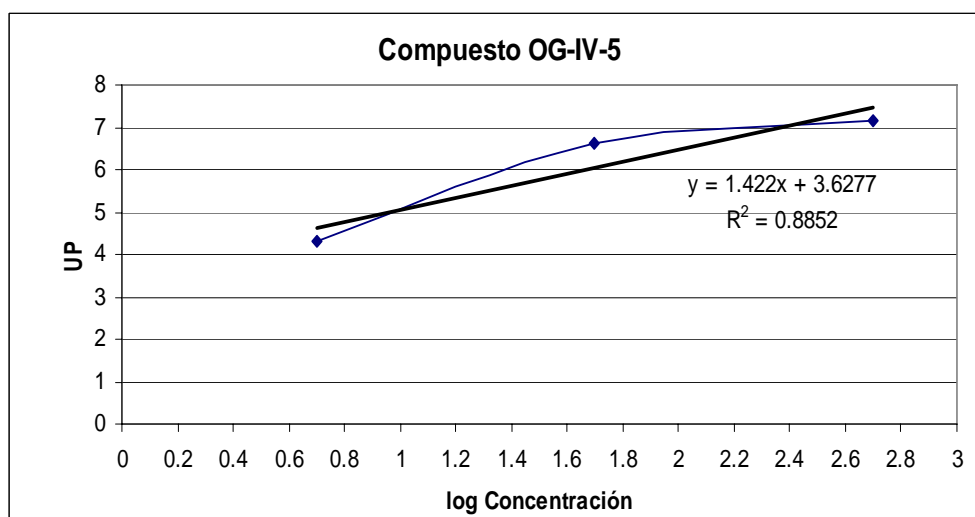
Gráfica No. 5. Concentración letal 50 con *Artemias salinas* para el Compuesto OG-IV-4. Método de probits.  $CL_{50} = 22.3878$  ppm.

Tabla. No. 11. Resultados del ensayo de *Artemia salina* del compuesto OG-IV-5.

Conc. (ppm)	log C	Artemias muertas	Artemias vivas	Muertas acumuladas	Vivas acumuladas	Proporción Muertas/total	Mortalidad %	UP (probits)
5	0.699	8	22	8	24	8/32	25	4.326
50	1.699	29	1	37	2	37/39	94.872	6.635
500	2.699	29	1	66	1	66/67	98.507	7.170



Gráfica No. 6. Concentración letal 50 con *Artemias salinas* para el Compuesto OG-IV-5.  $CL_{50} = 10.178$  ppm.



Gráfica No. 7. Concentración letal 50 con *Artemias salinas* para el Compuesto OG-IV-5. Método de probits.  $CL_{50} = 8.9125$  ppm.

Tabla. No. 12. Resultados del ensayo de *Artemia salina* del compuesto OG-IV-6.

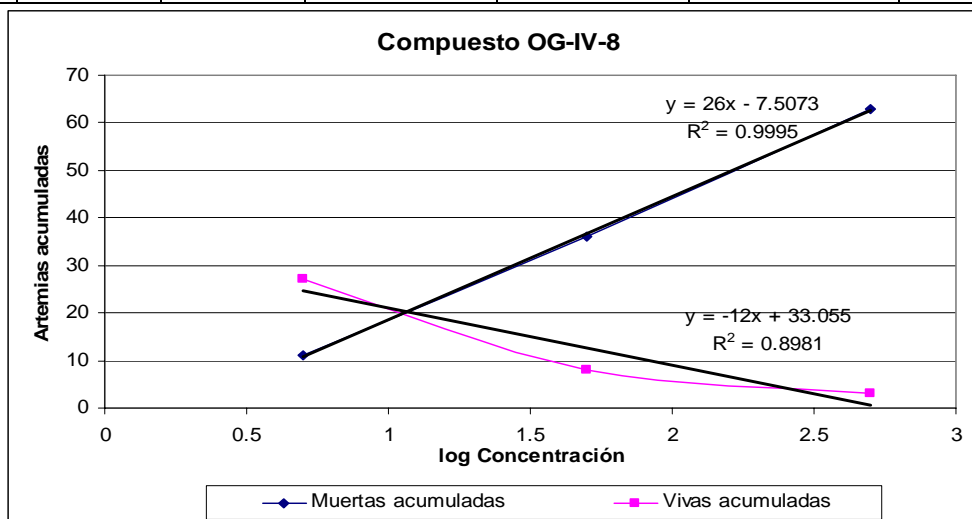
Conc. (ppm)	log C	Artemias muertas	Artemias vivas	Muertas acumuladas	Vivas acumuladas	Proporción Muertas/total	Mortalidad %	UP (probits)
5	0.699	26	4	26	19	26/45	57.778	5.1968
50	1.699	24	6	50	15	50/65	76.923	5.736
500	2.699	21	9	71	9	71/80	88.75	6.222

**Tabla No. 13.** Resultados del ensayo de *Artemia salina* del compuesto OG-IV-7.

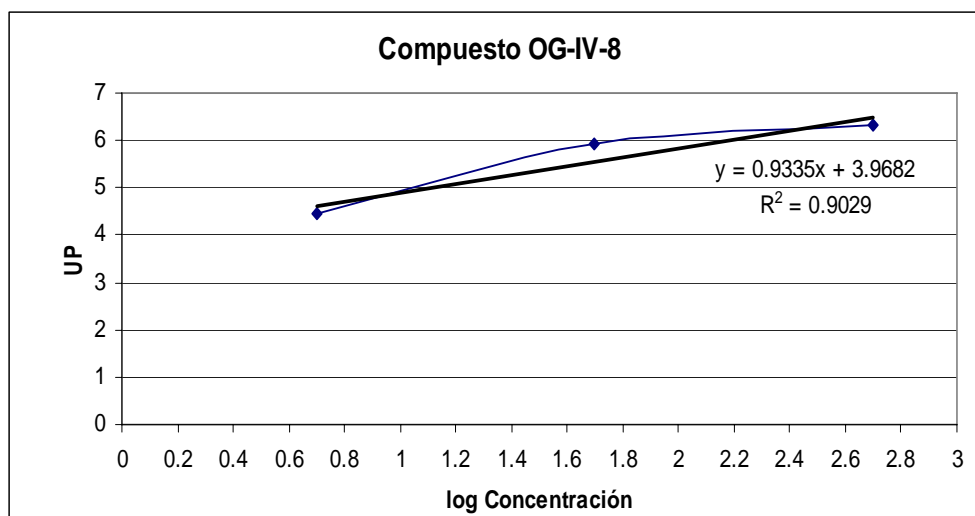
Conc. (ppm)	log C	Artemias muertas	Artemias vivas	Muertas acumuladas	Vivas acumuladas	Proporción Muertas/total	Mortalidad %	UP (probits)
5	0.699	23	7	23	12	23/35	65.714	5.4046
50	1.699	26	4	49	5	49/54	90.741	6.323
500	2.699	29	1	78	1	78/79	98.7342	7.226

**Tabla No. 14.** Resultados del ensayo de artemia salina del compuesto OG-IV-8.

Conc. (ppm)	log C	Artemias muertas	Artemias vivas	Muertas acumuladas	Vivas acumuladas	Proporción Muertas/total	Mortalidad %	UP (probits)
5	0.699	11	19	11	27	11/38	28.947	4.444
50	1.699	25	5	36	8	36/44	81.818	5.9076
500	2.699	27	3	63	3	63/66	95.455	6.311



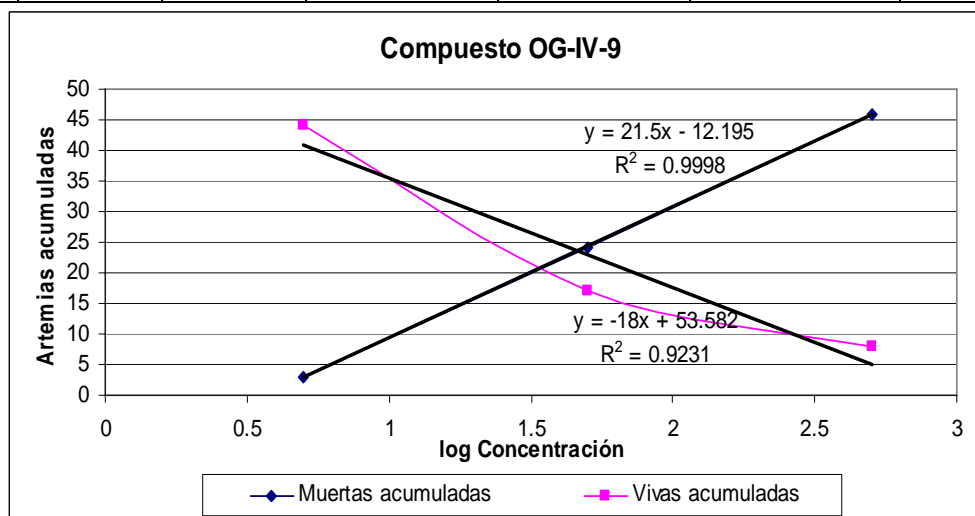
**Gráfica No. 8.** Concentración letal 50 con *Artemias salinas* para el Compuesto OG-IV-8.  
 $CL_{50} = 11.68$  ppm.



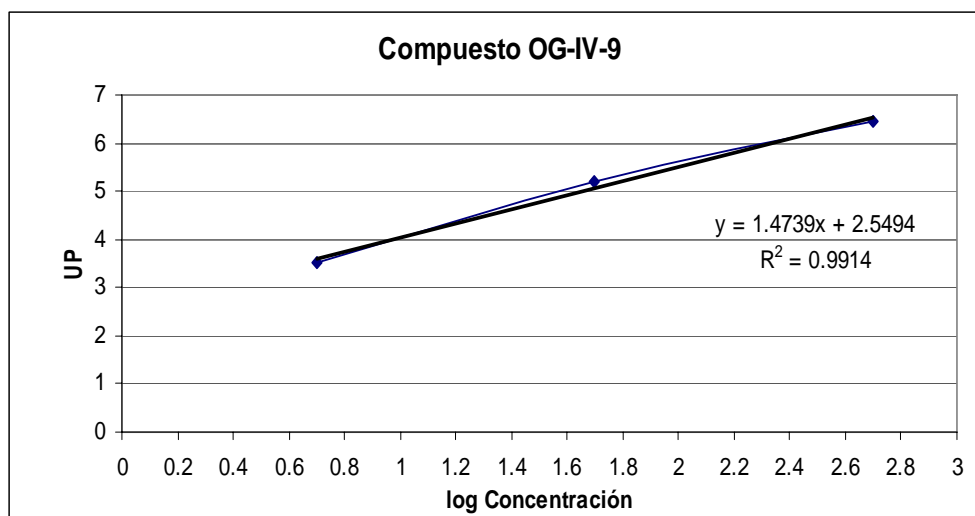
Gráfica No. 9. Concentración letal 50 con *Artemias salinas* para el Compuesto OG-IV-8. Método de probits.  $CL_{50} = 12.5892$  ppm.

Tabla No. 15. Resultados del ensayo de *Artemia salina* del compuesto OG-IV-9.

Conc. (ppm)	Log C	Artemias muertas	Artemias vivas	Muertas acumuladas	Vivas acumuladas	Proporción Muertas/total	Mortalidad %	UP (probits)
5	0.699	3	27	3	44	3/47	6.383	3.5003
50	1.699	21	9	24	17	24/47	58.537	5.212
500	2.699	22	9	46	8	46/54	85.185	6.448



Gráfica No. 10. Concentración letal 50 con *Artemias salinas* para el Compuesto OG-IV-9.  $CL_{50} = 43.644$  ppm.



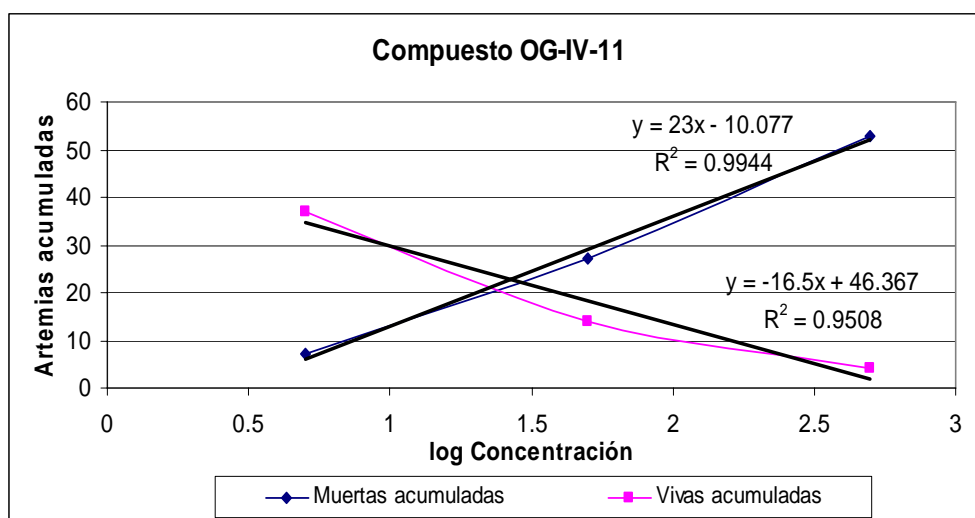
Gráfica No. 11. Concentración letal 50 con *Artemias salinas* para el Compuesto OG-IV-9. Método de probits.  $CL_{50} = 44.6684$  ppm.

Tabla. No. 16. Resultados del ensayo de *Artemia salina* del compuesto OG-IV-10.

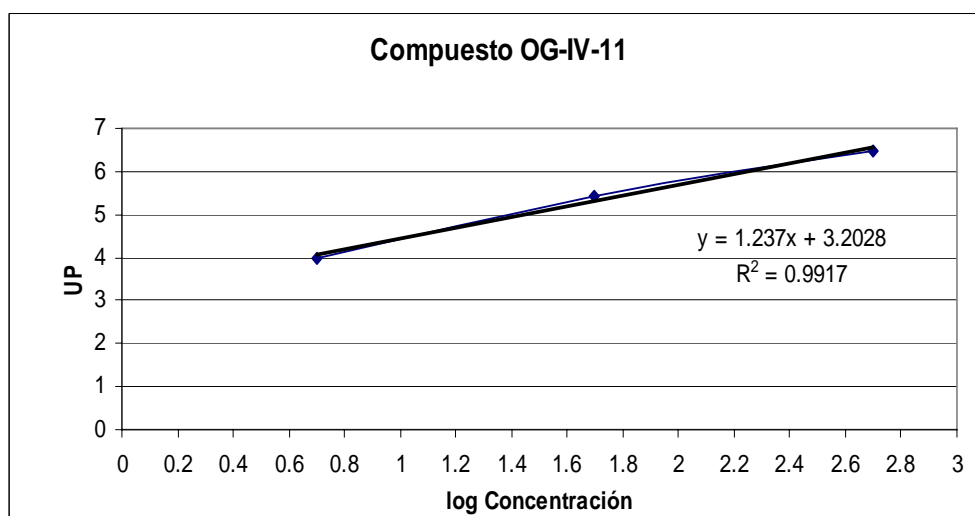
Conc. (ppm)	Log C	Artemias muertas	Artemias vivas	Muertas acumuladas	Vivas acumuladas	Proporción Muertas/total	Mortalidad %	UP (probits)
5	0.699	24	6	24	9	24/33	72.723	5.604
50	1.699	27	3	51	3	51/54	94.444	6.589
500	2.699	30	0	81	0	81/81	100	6.950

Tabla. No. 17. Resultados del ensayo de *Artemia salina* del compuesto OG-IV-11.

Conc. (ppm)	Log C	Artemias muertas	Artemias vivas	Muertas acumuladas	Vivas acumuladas	Proporción Muertas/total	Mortalidad %	UP (probits)
5	0.699	7	23	7	37	7/44	15.909	4.002
50	1.699	20	10	27	14	27/41	65.854	5.4354
500	2.699	26	4	53	4	53/57	92.982	6.476



Gráfica No. 12. Concentración letal 50 con *Artemias salinas* para el Compuesto OG-IV-11.  $CL_{50} = 26.851$  ppm.



Gráfica No. 13. Concentración letal 50 con *Artemias salinas* para el Compuesto OG-IV-11. Método de probits.  $CL_{50} = 25.1189$  ppm.

Tabla. No. 18. Resultados del ensayo de *Artemia salina* del compuesto OG-IV-12.

Conc. (ppm)	log C	Artemias muertas	Artemias vivas	Muertas acumuladas	Vivas acumuladas	Proporción Muertas/total	Mortalidad %	UP (probits)
5	0.699	21	9	21	12	21/33	63.634	5.3476
50	1.699	28	2	49	3	49/52	94.231	6.572
500	2.699	29	1	78	1	78/79	98.7341	7.226



### 1.3 Estudios de Sedación-Hipnosis, Relajación Muscular y Anticonvulsivo en ratón.

**Tabla No. 19.** Resultados de los estudios de sedación-hipnósis, relajación muscular y efecto anticonvulsivo.

Compuesto	Efecto sedante-hipnótico			Relajación Muscular			Efecto anticonvulsivo		
	Dosis mg/Kg			Dosis mg/Kg			Dosis mg/Kg		
	40	80	160	40	80	160	40	80	160
OG-IV-1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
OG-IV-3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
OG-IV-5	-	-	-	-	-	-	-	-	-
OG-IV-7	-	-	-	-	-	-	-	-	-
OG-IV-8	-	-	-	-	-	-	-	-	-
OG-IV-9	-	-	-	-	-	✓	-	-	-
OG-IV-10	-	-	-	-	-	-	-	-	-
OG-IV-11	-	-	-	-	-	-	-	-	-
OG-IV-12	-	-	-	-	-	-	-	-	-

(-) No presenta actividad Farmacológica.

(✓) Sí presenta actividad Farmacológica.

### 1.4 Estudio de Ansiedad en Ratas (Rota-Rod).

**Tabla. No. 20.** Resultados del estudio de ansiedad en ratas (Rota-rod).

Compuesto	Dosis 10mg/Kg					Dosis 20 mg/Kg				
	MIC	PIL	MOR	No Bolos	Efecto Ansiolítico	MIC	PIL	MOR	No Bolos	Efecto Ansiolítico
OG-IV-1	✓	✓	✓	5	No	✓	-	-	1	No
OG-IV-2	-	✓	✓	0	Si	-	-	-	-	No
OG-IV-3	-	-	-	1	No	-	-	-	3	No
OG-IV-4	✓	✓	✓	1	No	-	-	-	-	No
OG-IV-5	✓	✓	✓	1	No	-	✓	-	3	No
OG-IV-6	✓	-	-	1	No	-	-	-	-	No
OG-IV-7	✓	✓	✓	0	Si	✓	-	-	1	Si
OG-IV-8	-	-	-	1	No	✓	-	-	2	No
OG-IV-9	-	✓	✓	3	No	-	-	-	1	No
OG-IV-10	-	✓	✓	0	Si	-	-	-	-	No
OG-IV-11	-	✓	✓	3	No	-	-	-	0	Si
OG-IV-12	-	-	-	0	Si	-	-	-	1	Si

**MIC=** Micción. **PIL=** Piloerección. **MOR=**Mordisqueo. **BOLOS=** No de Bolos Fecales.

(-) No presenta actividad farmacológica.

(✓) Sí presenta actividad farmacológica.

## 1.5 Estudio de Relajación Muscular en Rata (Rota-rod).

**Tabla No. 21.** Resultados del estudio de relajación muscular en ratas. (Rota-Rod).

Compuesto	Dosis 10mg/Kg				
	No. de Caídas	Tiempo de permanencia	No. de bolos fecales	Micción	Relajación muscular
OG-IV-1	2	9.55	2	-	No
OG-IV-3	5	9.4	0	-	Si
OG-IV-5	3	8.92	0	-	No
OG-IV-7	1	9.8	1	-	No
OG-IV-8	1	9.7	1	-	No
OG-IV-9	9	8.53	1	-	Si
OG-IV-11	3	9.83	3	-	Si
OG-IV-12	0	10	1	✓	No

(-) No presenta actividad farmacológica.

(✓) Sí presenta actividad farmacológica.

## 2. Parte Experimental 2.

En esta parte se llevaron a cabo los estudios con la serie de compuestos EO-IV.

### 2.1 Sedación-hipnosis:

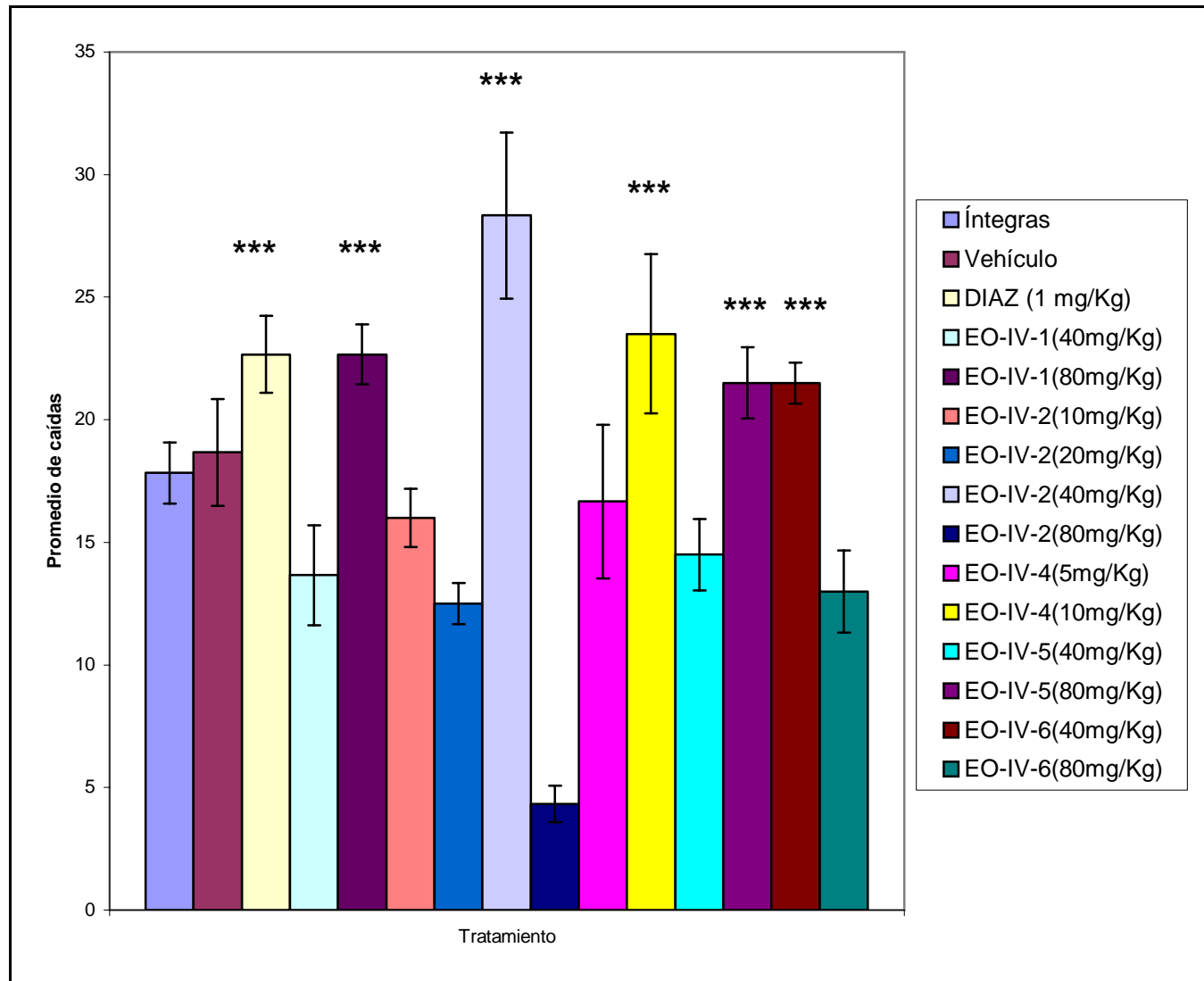
**Tabla. No. 22.** Resultados del estudio sedación-hipnosis.

Compuesto	Efecto sedante-hipnótico	
	40mg/Kg	80mg/Kg
1	x	x
2	x	x
4	x	x
5	x	x
6	x	x
7	x	No se estudió
8	x	x
9	x	x
11	x	x
12	x	x

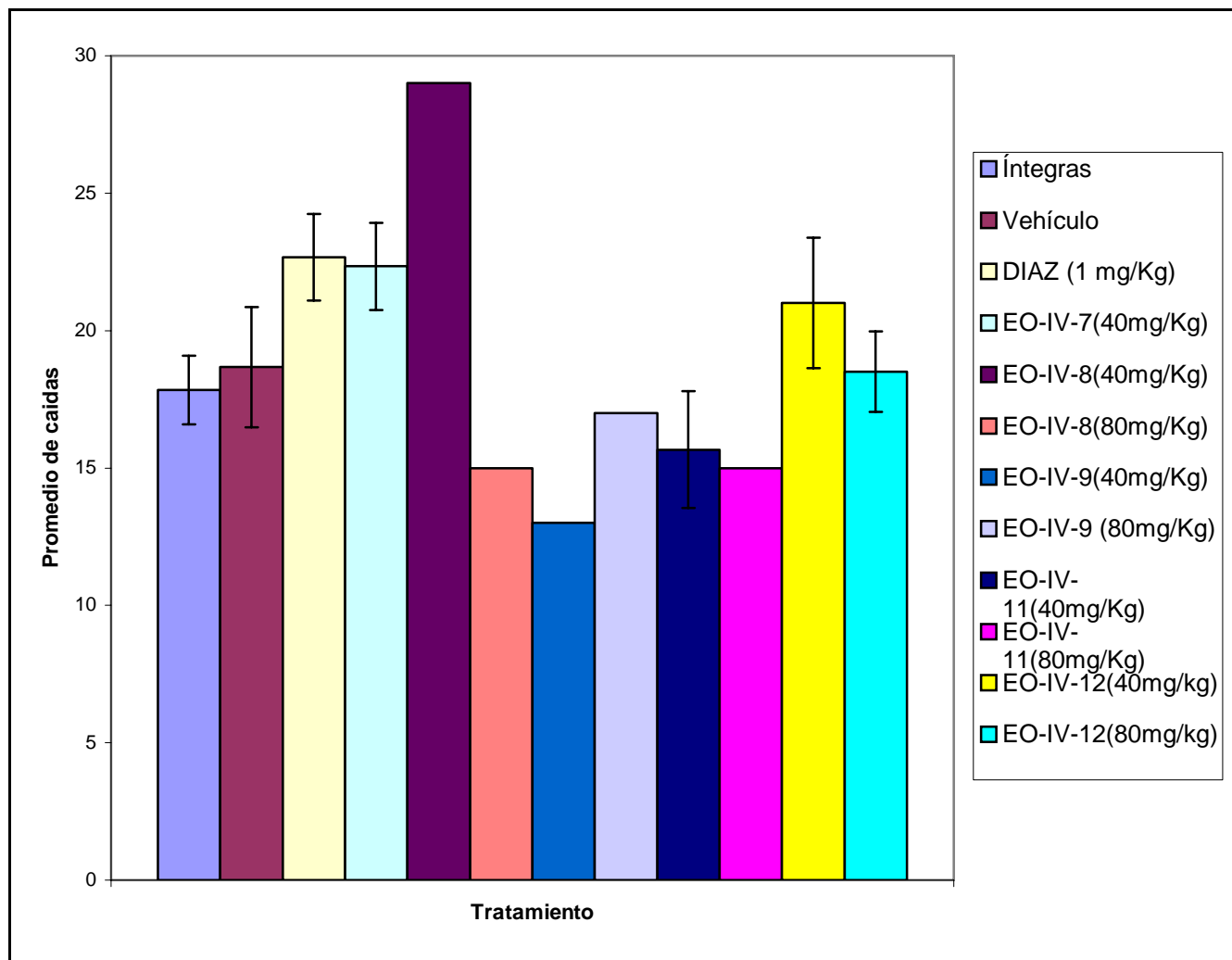
(\*) = No presentó efecto

Ningún compuesto resultó con efectos sedantes-hipnóticos a las dosis estudiadas, por lo que los resultados se presentan en tablas.

2.2 Estudio de relajación muscular en ratones (Modelo de cuerda tirante).

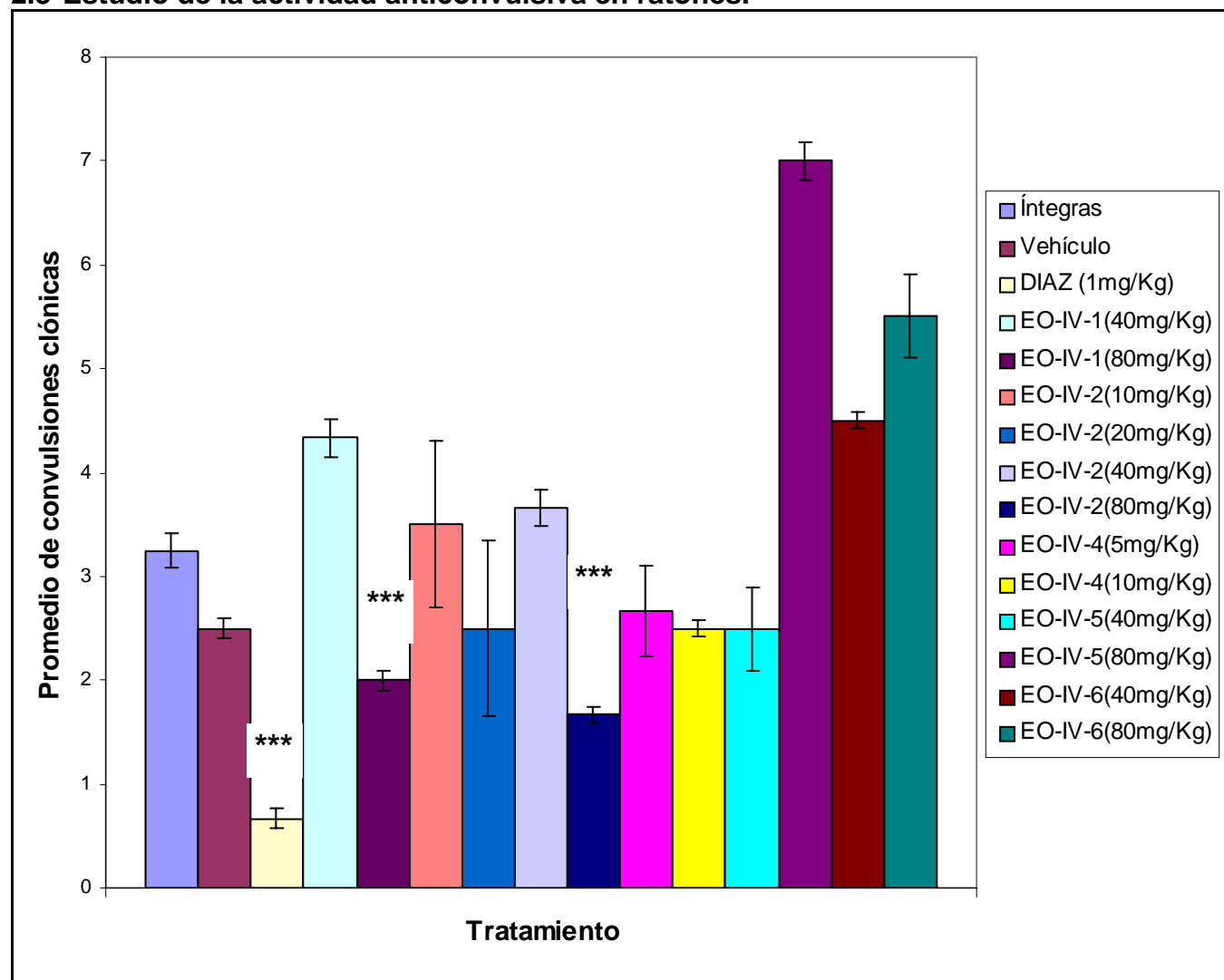


**Gráfica No. 14.** Las barras de los compuestos EO-IV-1 (80 mg/Kg), EO-IV-2 (40mg/Kg), EO-IV-4 (10mg/Kg), EO-IV-5 (80mg/Kg) y EO-IV-6 (80 mg/Kg), presentan un promedio mayor de número de caídas respecto a los grupos controles.  $P < 0.05$  (Prueba t de Student). (Se muestran los resultados de los compuestos del 1 al 6).

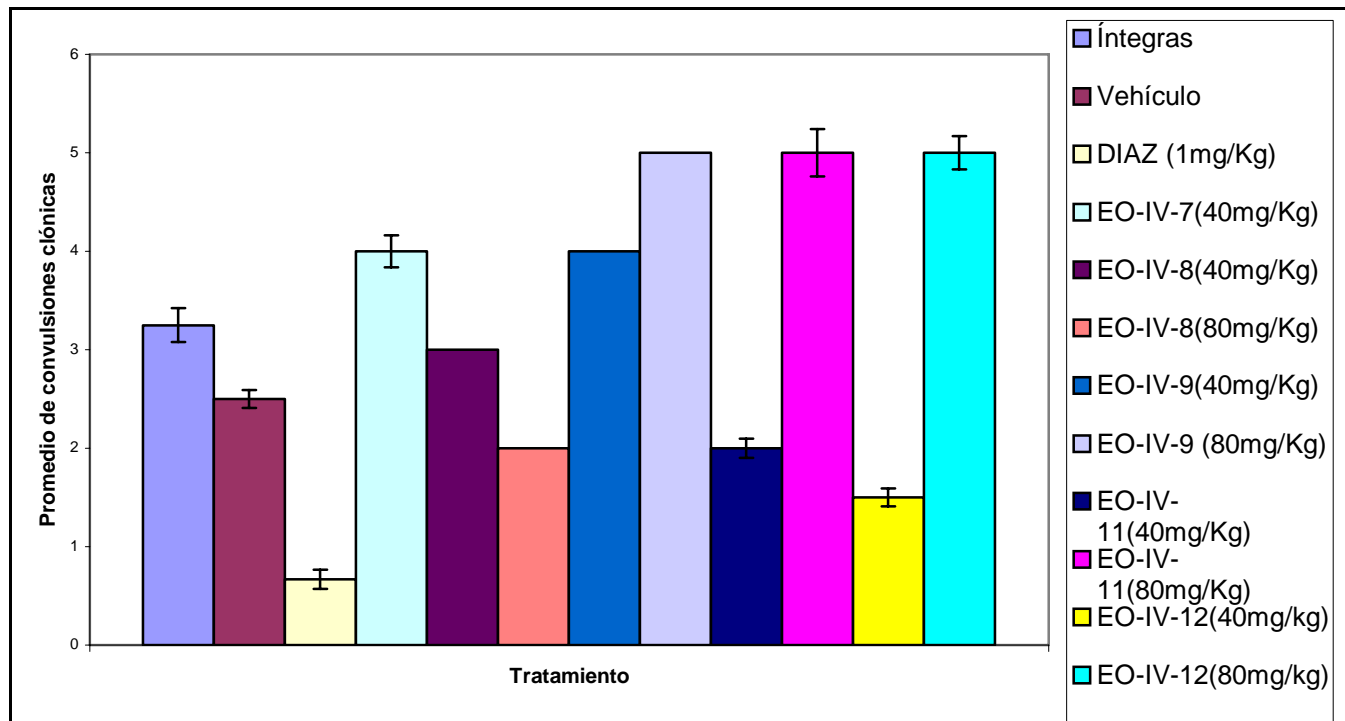


**Gráfica No. 15** Las barras de los compuestos EO-IV-7 (40 mg/Kg), EO-IV-8 (80mg/Kg) y EO-IV-12 (40mg/Kg). Presentan un promedio mayor de número de caídas respecto a los grupos controles.  $P < 0.05$  (Prueba t de Student). (Se muestran los resultados de los compuestos del 7 al 12).

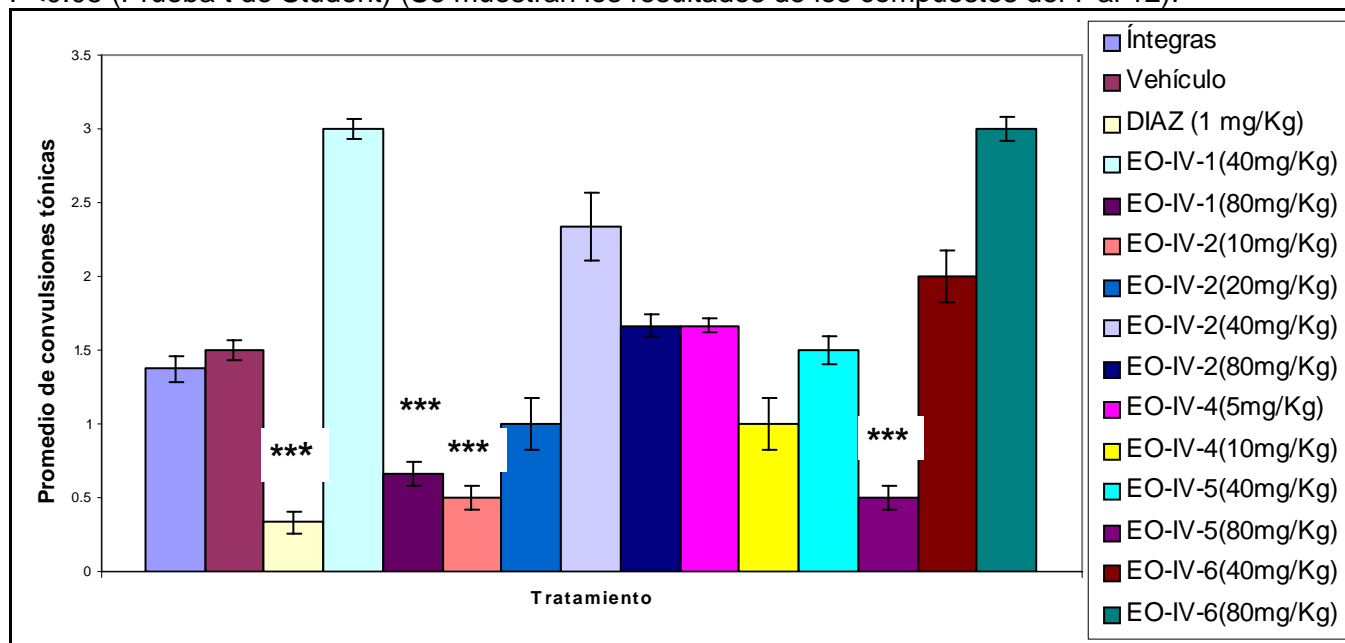
## 2.3 Estudio de la actividad anticonvulsiva en ratones.



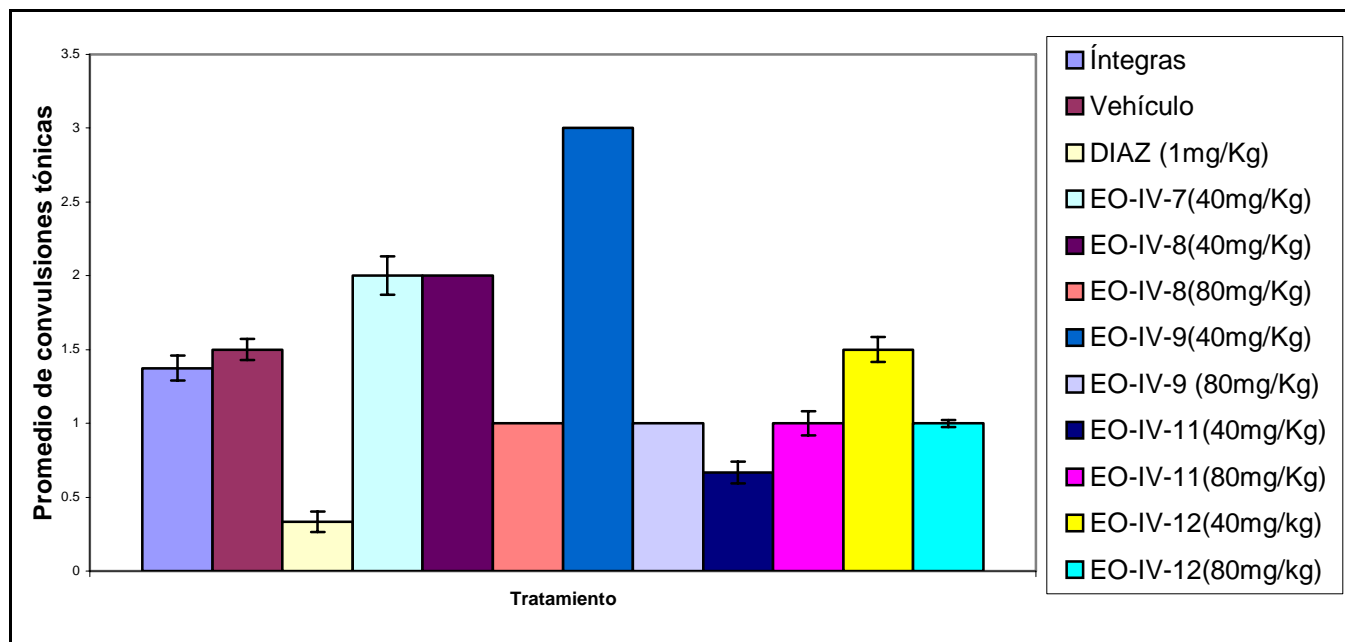
**Gráfica No. 16.** Las barras de los compuestos EO-IV-1 (80 mg/Kg) y EO-IV-2 (80mg/Kg) representan un promedio de convulsiones clónicas menor respecto a los grupos controles.  $P < 0.05$  (Prueba t de Student). (Se muestran los resultados de los compuestos del 1 al 6).



**Gráfica No. 17.** Las barras de los compuestos EO-IV-8 (80 mg/Kg), EO-IV-11 (40mg/Kg) y EO-IV-12 (40 mg/Kg) representan un promedio de convulsiones clónicas menor respecto a los grupos controles.  $P < 0.05$  (Prueba t de Student) (Se muestran los resultados de los compuestos del 7 al 12).

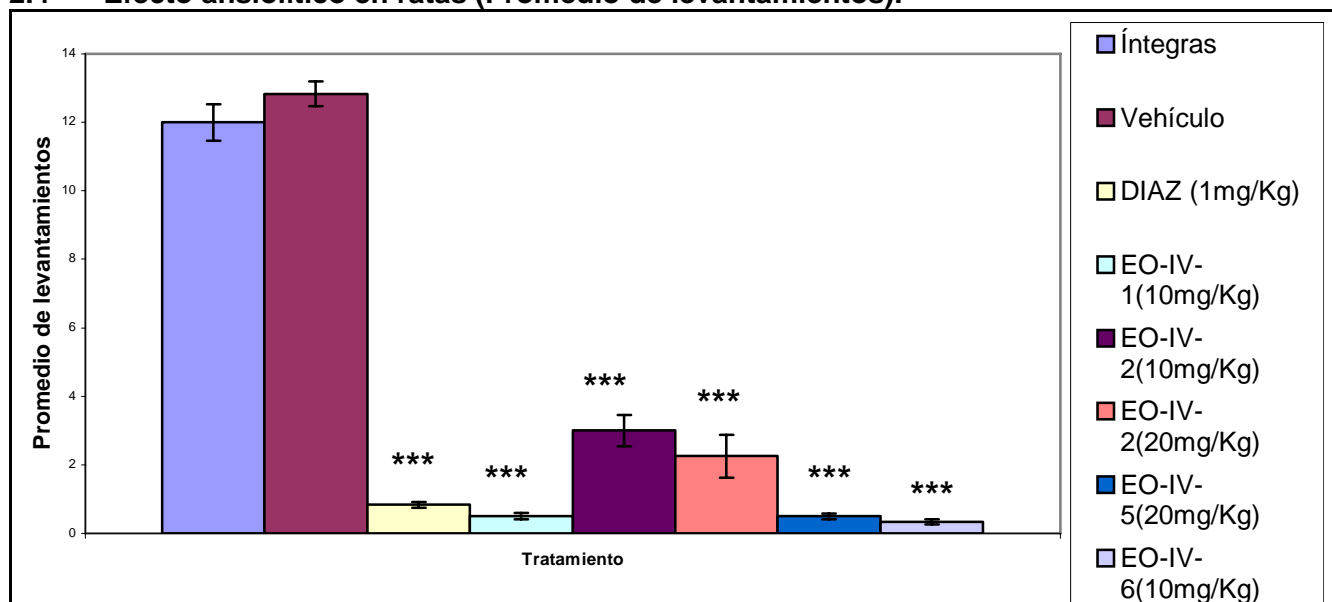


**Gráfica No. 18.** Las barras de los compuestos EO-IV-1 (80 mg/Kg), EO-IV-2 (10mg/Kg) y EO-IV-5 (80 mg/Kg) representan un promedio de convulsiones tónicas menor respecto a los grupos controles.  $P < 0.05$  (Prueba t de Student). (Se muestran los resultados de los compuestos del 7 al 12).

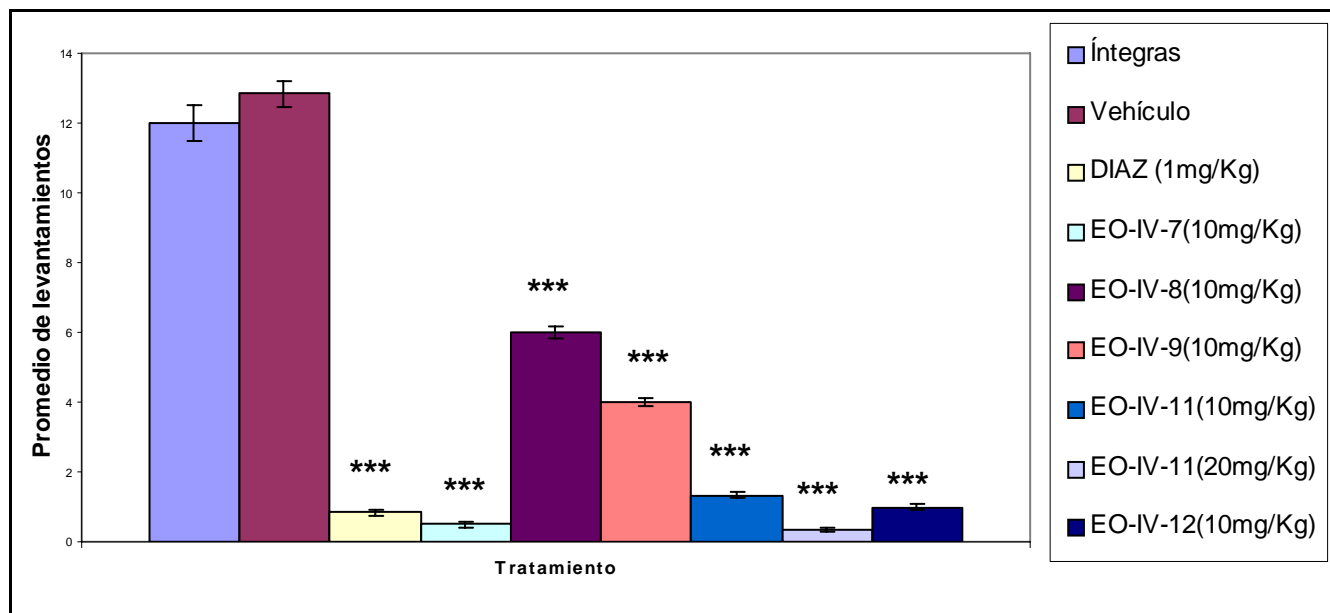


**Gráfica No. 19.** Las barras del compuesto EO-IV-11 (40 mg/Kg) representa un promedio de convulsiones tónicas menor respecto a los grupos controles.  $P < 0.05$  (Prueba t de Student). (Se muestran los resultados de los compuestos del 7 al 12).

#### 2.4 Efecto ansiolítico en ratas (Promedio de levantamientos).

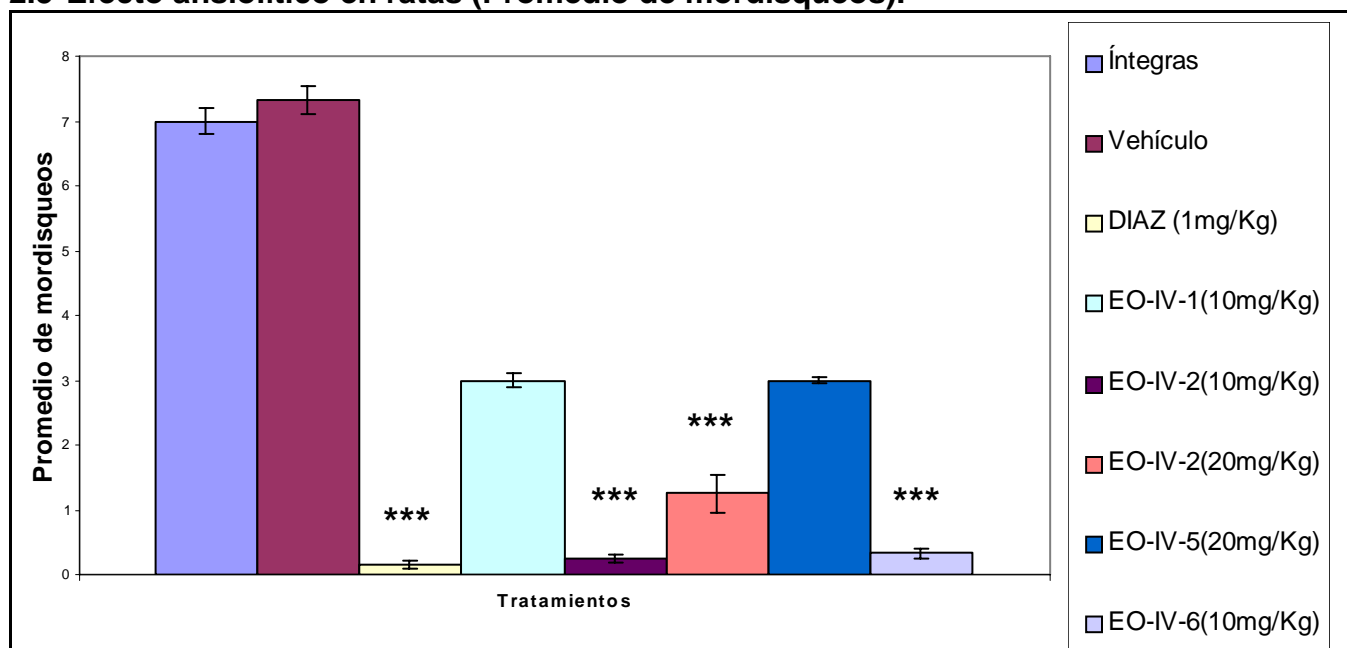


**Gráfica No. 20.** Las barras de los compuestos EO-IV-1 (10 mg/Kg), EO-IV-2 (10 mg/Kg), EO-IV-2 (20 mg/Kg), EO-IV-5 (20 mg/Kg) y EO-IV-6 (10 mg/Kg) representa un promedio menor de número de levantamientos respecto a los grupos controles.  $P < 0.05$  (Prueba t de Student). (Se muestran los resultados de los compuestos del 1 al 6).



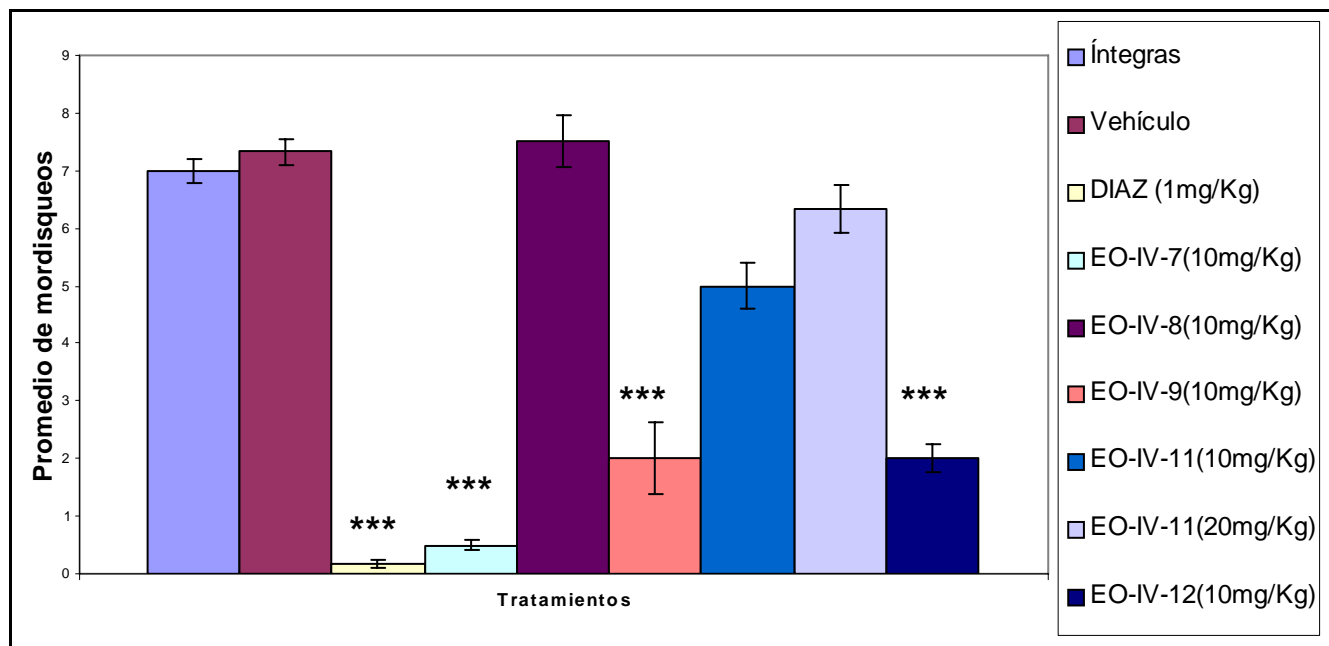
**Gráfica No. 21.** Las barras de los compuestos EO-IV-7 (10 mg/Kg), EO-IV-8 (10 mg/Kg), EO-IV-9 (10 mg/Kg), EO-IV-11 (10 mg/Kg), EO-IV-11 (20 mg/Kg) y EO-IV-12 (10 mg/Kg) representa un promedio menor de número de levantamientos respecto a los grupos controles.  $P < 0.05$  (Prueba t de Student). (Se muestran los resultados de los compuestos del 7 al 12).

### 2.5 Efecto ansiolítico en ratas (Promedio de mordisqueos).



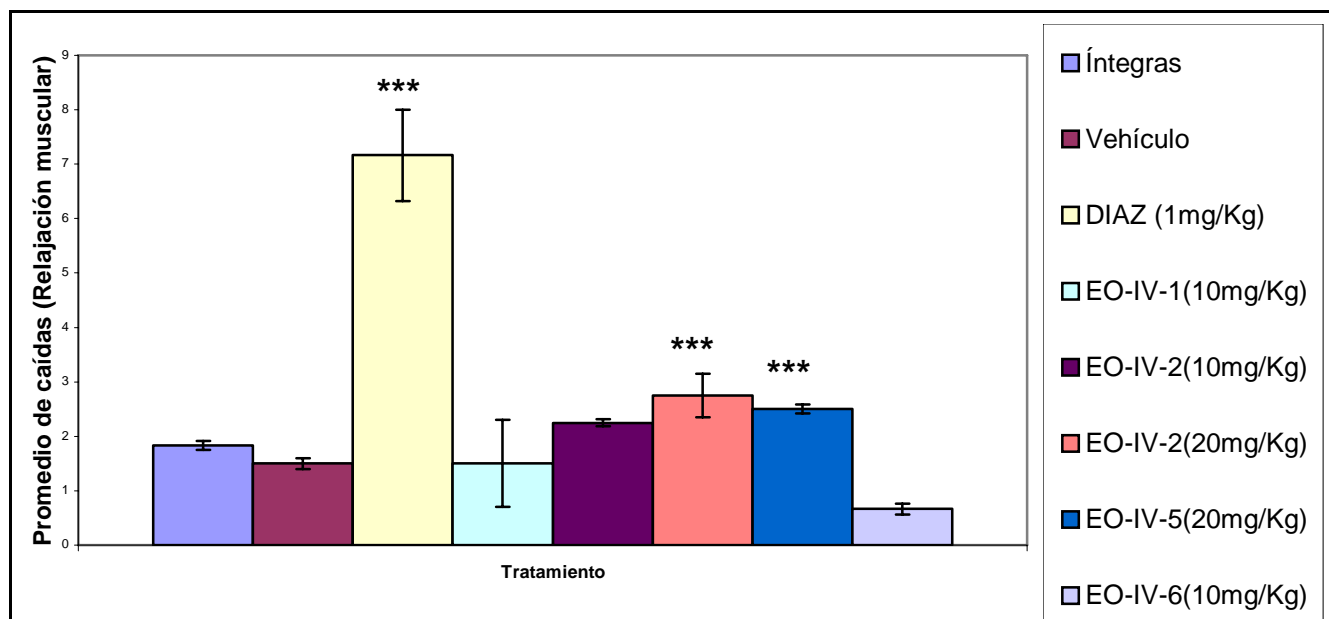
**Gráfica No. 22.** Las barras de los compuestos EO-IV-2 (10 mg/Kg), EO-IV-2 (20 mg/Kg) y EO-IV-6 (10 mg/Kg) representa un promedio menor de número de mordisqueos respecto a los grupos controles.  $P < 0.05$  (Prueba t de Student). (Se muestran los resultados de los compuestos del 1 al 6).



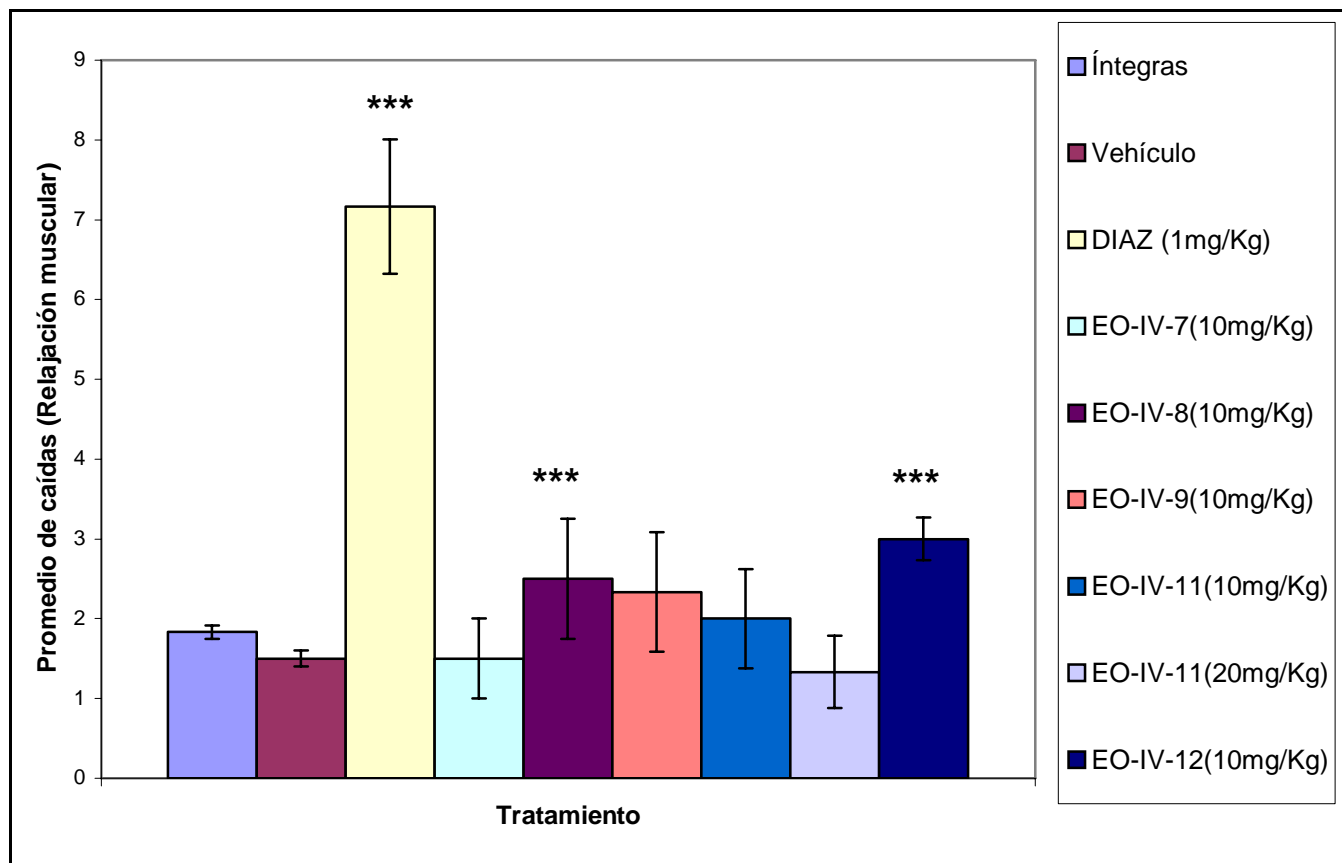


**Gráfica No. 23.** Las barras de los compuestos EO-IV-7 (10 mg/Kg), EO-IV-9 (10 mg/Kg) y EO-IV-12 (10 mg/Kg) representa un promedio menor de número de mordisqueos respecto a los grupos controles.  $P < 0.05$  (Prueba t de Student). (Se muestran los resultados de los compuestos del 7 al 12).

## 2.6 Efecto de relajación muscular en ratas (Promedio de caídas).



**Gráfica No. 24.** Las barras de los compuestos EO-IV-2 (20 mg/Kg) y EO-IV-5 (20 mg/Kg) representa un promedio mayor de número de caídas respecto a los grupos controles.  $P < 0.05$  (Prueba t de Student). (Se muestran los resultados de los compuestos del 1 al 6).



**Gráfica No. 25.** Las barras de los compuestos EO-IV-8 (10 mg/Kg) y EO-IV-12 (10 mg/Kg) representa un promedio mayor número de caídas respecto a los grupos controles.  $P < 0.05$  (Prueba t de Student). (Se muestran los resultados de los compuestos del 7 al 12).

## VIII. Discusión de resultados

### Elección del vehículo:

Después de estudiar varios vehículos como PEG al 30%, acetona al 30%, acetato de etilo al 10% y Tween al 10 y 5 %, se determinó que el Tween 80 al 5% fue el mejor vehículo para realizar los ensayos *in vivo* de los análogos dibenzodiazepínicos. El Tween 80 es un agente tensoactivo no iónico, posee varios nombres químicos como Polisorbato 80, éster de sorbitán, derivado de poli(oxi-1,2-etanodil); posee una densidad de 1.09 g/mL y es un líquido oleoso color limón a ámbar con un olor suave y sabor amargo. La dosis letal 50 (DL<sub>50</sub>) en ratones y ratas oscila entre 6.3 a 7.5 mg/Kg, respectivamente, por vía I.P. Su uso es amplio, ya que es un buen emulsificante y un buen agente dispersante en productos medicinales,<sup>58, 73</sup> por lo que éste vehículo fue utilizado en todo el estudio *in vivo*, tanto en los compuestos de la serie OG-IV como en los compuestos de la serie EO-IV.

### Ensayo con *Artemia salina*:

En este ensayo se determinó la toxicidad *in vitro* de los compuestos dibenzodiazepínicos del grupo OG-IV del 1 al 12, y se puede decir que el compuesto menos letales es el compuesto OG-IV-9, ya que se necesita una mayor concentración (CL<sub>50</sub> de 43.644 ppm y 44.668 ppm, métodos de número *Artemias* acumuladas y de probits respectivamente) para producir toxicidad en *Artemia salina*. Le sigue, el compuesto OG-IV-11 (con una CL<sub>50</sub> de 26.851 ppm o 25.119 ppm métodos de número *Artemias* acumuladas y de probits respectivamente). Sin embargo, hubo compuestos en esta serie, que no fue posible calcular la CL<sub>50</sub> pues al parecer, las concentraciones letales eran menores a 5 ppm (concentración mínima que se utilizó en este estudio).

### **Pruebas piloto:**

Estas pruebas nos permitieron seleccionar las dosis adecuadas de cada compuesto y en cada modelo. De los 12 compuestos de la serie OG-IV, el compuesto OG-IV-3 (10 mg/Kg en rata), el compuesto OG-IV-9 (en rata 10 mg/Kg y en ratón 160 mg/Kg) y el compuesto OG-IV-11 (10 mg/Kg en rata) presentan relajación muscular. Ninguno de los compuestos de este grupo presenta sedación-hipnósis o actividad anticonvulsiva. Sin embargo, los compuestos OG-IV-2 (20 mg/Kg en rata), OG-IV-7 (10 y 20 mg/Kg en rata), OG-IV-10 (10 mg/Kg en rata), OG-IV-11 (20 mg/Kg en rata) y OG-IV-12 (10 y 20 mg/Kg en rata) presentan actividad ansiolítica.

De este conjunto resalta el compuesto OG-IV-11, porque presenta efectos tanto de relajación muscular como de actividad ansiolítica con dosis de 10 y 20 mg/Kg respectivamente; sin embargo, es menos potente que el DIAZ, porque este último presenta los mismos efectos pero a una dosis de 1 mg/Kg.<sup>67, 69</sup>

### **Pruebas experimentales (serie EO-IV):**

En estos ensayos se observó que ninguno de los compuestos presentan sedación-hipnósis, pero los compuestos EO-IV-1 (80 mg/Kg en ratón), EO-IV-2 (40 mg/Kg en ratón y 20 mg/Kg en rata), EO-IV-4 (10 mg/Kg en ratón), EO-IV-5 (80 mg/Kg para ratón y 20 mg/Kg para rata), EO-IV-6 (80 mg/Kg en ratón), EO-IV-7 (40 mg/Kg en ratón), EO-IV-8 (10 mg/Kg en rata y 80 mg/Kg en ratón) y EO-IV-12 (10 mg/Kg en rata y 40 mg/Kg en ratón) presentan relajación muscular; sin embargo, es importante hacer notar que los compuestos EO-IV-2 y EO-IV-8, presentan un mejor efecto que el DIAZ como relajante muscular, es decir, estos compuestos son candidatos para ser relajantes musculares ya que son mejores que el fármaco de referencia, sin embargo, el DIAZ sigue siendo más potente, pues este efecto se

---

alcanza a menor dosis que los compuestos dibenzodizepínicos, pero esto representa una ventaja de seguridad para el paciente.

También, es importante señalar que los compuestos EO-IV-2, EO-IV-6, EO-IV-8 y EO-IV-12 presentan un efecto bifásico, ya que al aumentar la dosis disminuye el efecto relajante muscular, este efecto bifásico es similar al producido por el DIAZ.<sup>14</sup>

Los compuestos que presentan actividad anticonvulsiva son: EO-IV-1 (80 mg/Kg), EO-IV-2 (80 mg/Kg), EO-IV-8 (80 mg/Kg), EO-IV-11 (40 mg/Kg) y EO-IV-12 (40 mg/Kg), pero ninguno es mejor anticonvulsivo que el DIAZ. Los compuestos EO-IV-11 y EO-IV-12 presentan un efecto bifásico, ya que a mayor dosis se presentan como convulsivantes y a una menor dosis se presentan una actividad anticonvulsiva.

Ahora bien, los compuestos que presentan actividad ansiolítica son: EO-IV-1 (10 mg/Kg), EO-IV-2 (10 y 20 mg/Kg), EO-IV-5 (20 mg/Kg), EO-IV-6 (10 mg/Kg), EO-IV-7 (10 mg/Kg), EO-IV-8 (10 mg/Kg), EO-IV-9 (10mg/Kg), EO-IV-11 (10 y 20mg/Kg) y EO-IV-12 (10 mg/Kg), señalando que el mejor efecto lo tuvo el compuesto EO-IV-6, aún superando al DIAZ a una dosis de 1 mg/Kg, lo que lo hace ser un compuesto menos potente frente al compuesto prototipo de las BZs, pero más seguro para el paciente.<sup>69, 70</sup>

De los compuestos que se estudiaron podemos decir que resulta un buen compuesto el análogo EO-IV-2, porque presenta efectos ansiolítico, anticonvulsivo y relajante muscular, incluso a las dosis estudiadas supera los efectos del DIAZ, sin embargo, cómo se administraron dosis altas, se puede decir que el DIAZ sigue siendo un compuesto potente.

En cuanto a la estructura de las moléculas estudiadas y a la actividad farmacológica que presentan, podemos mencionar que de la serie OG-IV, el compuesto 11, que es el que mejor actividad tuvo, presenta una estructura cuyos sustituyentes es el grupo metóxi en

posiciones *para* y *orto* para R y R<sub>1</sub>, respectivamente, por lo que se puede suponer que este grupo electrodonador en dichas posiciones mejora la actividad farmacológica. En cuanto a la especificidad de la estructura y el efecto que se presenta, no se puede apreciar en este estudio, tal parece que un radical sustituyente no es específico para determinado efecto farmacológico.

En el caso de la serie EO-IV, el compuesto 2 presenta efectos como ansiolítico, relajante muscular y anticonvulsivo, el cambio que se observa en dicha molécula es la introducción de dos radicales metilo en posiciones *orto* y *para* en R y R<sub>1</sub> respectivamente. El hecho que presente un mejor efecto sobre el resto de los compuestos es probablemente a que aumenta la propiedad lipofílica de la molécula; sin embargo esta idea es contradictoria, ya que los compuestos EO-IV-1, EO-IV-7 y EO-IV-8 también presentan en su estructura grupos metilos como radicales, no se comportan de la misma manera (que el compuesto EO-IV-2), por lo que puede que no sea este motivo por el cual se produce un mayor efecto, sino tal vez una mejor interacción con los receptores. Independiente a lo anterior y de acuerdo a los resultados, no se observa que guarde ninguna relación específica entre la estructura y la actividad que presentan los diferentes compuestos.

## IX. Conclusiones

- El mejor vehículo para las pruebas *in vivo* fue Tween 80 al 5 %, ya que no interfiere en la actividad del SNC.
- Los compuestos OG-IV 9 y 11 producen un menor número de muertes de *Artemias salina* que le resto de los compuestos.
- De la serie OG-IV el análogo dibenzodiazepínico con mejor actividad farmacológica es el 11, porque presenta tanto relajación muscular como actividad ansiolítica.
- De la serie EO-IV el análogo dibenzodiazepínico con mejor actividad farmacológica es el 2, ya que presenta actividad como relajante muscular, ansiolítico y anticonvulsivo.
- Ninguno de los animales estudiados, con los 24 compuestos presentó sedación-hipnosis.
- Los compuestos 11 y 12 de la serie EO-IV presentan un efecto bifásico como anticonvulsivo.
- Los compuestos 2, 6, 8 y 12 de la serie EO-IV presenta un efecto bifásico como relajante muscular.
- Todos los compuestos presentaron al menos un efecto en ratas o ratones, debido a que presentan un núcleo diazepínico similar a las BZs que se usan en la clínica.
- Se sugiere que el compuesto EO-IV-2 debe someterse a estudios adicionales, ya que parece ser un buen candidato para uso terapéutico.

**X. Bibliografía**

1. Kralic J. E. O'Buckley T.K. Khisti R. T. Hodge C. W. Homanics G. E. Morrow A. L. GABA<sub>A</sub> receptor alpha-1 subunit deletion alters receptor subtype assembly, pharmacological and behavior responses to benzodizepines and zolpidem. *Neuropharmacol.* 2002, 43, 685-694.
2. Hobbs R. William, Theodore W. Rall y Todd A. Verdoorn. Hipnóticos y sedantes; etanol. 9a Ed. Goodman & Gilman. Ed. Interamericana Mc Graw Hill. México D.F. 2000, 386-420pp.
3. Rang H. P.; Dale M. M.; Ritter; P. K. Moore. Farmacología. 5ª Edic. España, Madrid. Edit. Elsevier. 2004. 462, 470-473, 515-524, 550-561pp.
4. Fidecka Sylwia. Study on the Influence of Potent Inhibitors of Neuronal Nitric Oxide Synthase on the the Antinociceptive and Anticonvulsant Activity of Benzodizepines in Mice. *Polish. J. Pharmacol.* 2003, 55, 193-201.
5. Söllhuber M. Avendaño C. Diseño de Fármacos que actúan sobre receptores de membrana (III), receptores de aminoácidos y péptidos. Introducción a la Química Farmacéutica. Avendaño Carmen. Mc Graw Hill / Interamericana de España. 2a Edición. 421-434 pp.
6. Whiting Paul J. GABA-A receptor: viable target for novel anxiolytics? *Current Opinion in Pharmacology.* 2006, 6, 24-29.
7. Real Academia Española. 2008. Diccionario.
8. Pineda Carrillo Mirza. Tesis: Evaluación de los efectos ansiolíticos y sobre la coordinación motora en ratas y ratones producidos por el Diazepam, Melatonina y Buspirona. UNAM, México D.F. 2005.
9. [www.wikipedia.com](http://www.wikipedia.com). 2008
10. Gómez C. Saldivar-González J.A. Rodriguez R. Modelos animales para el estudio de la ansiedad: Una aproximación crítica. *Salud mental.* 2002, 25, 14-24.
11. Domínguez J. L. Conferencia: "Psicofármacos, reflexiones basadas en la evidencia". Ciudad de la Habana, Cuba 2007.
12. Zarragoita I. Conferencia: "Antidepresivos en el siglo XXI". Hospital Clínico Quirúrgico Hermanos Ameijeras. Ciudad de la Habana, Cuba 2007.
13. [www.esmas.com/noticierostelevisa](http://www.esmas.com/noticierostelevisa). Betaza P. Noticieros Televisa. 2003.
14. Crawley J. N. Neuropharmacologic Specificity of Simple Animal Model of the Behavioral Actions of Benzodiazepines. *Pharmacol. Biol Behav.* 1981, 15, 695-699.
15. Molina Hernández Miguel; Téllez Alcántara N. P. Manzo Denes J. y Carrillo Castilla. Estudio experimental de la ansiedad. *Ciencia y el hombre.* Vol. XVIII. No. 2005.



16. Mora.S; Diaz-Veliz G; Lungenstrass H; García-González M; Coto-Morales T; Poletti C; De Limac, M. Herrera-Ruiz; J. Tortoriello. Central nervous system activity of the hydroalcoholic extract of *Casimiroa edulis* in rats and mice. *J. Ethnopharmacol.* 2004, 97, 191–197.
17. Álvarez Rueda M. Las Benzodiazepinas como hipnóticos. *Benzodiazepinas.* 2007. 6-8pp.
18. Bonet R. C. Mencías E. Cabrera J. Mosby. *Toxicología de los psicofármacos.* Libros de España, Madrid 1994. 53-73pp.
19. Valsencia M. Malgor L. *Farmacología de las Benzodiazepinas y de la transmisión Gabaérgica.* Psicofarmacología. 2006. 3-23pp.
20. Ortiz- Osornio, A. Tesis. 2004.
21. Hiroshi Takeda; Minoru Tsuji y Teruhiko Matsumiya. Changes in head-dipping behavior in the hole-board test reflect the anxiogenic and/or anxiolytic state in mice. *Eur. J. Pharmacol.* 1998, 350, 21–29.
22. Kalueff V. Allan, Keisala T. Minasyan A. Tuohimaa. Pharmacological modulation of anxiety-related behaviors in the murine Suok test. *Brain Res. Bull.* 2007, 74, 45-50.
23. Naranjo R. E. Vázquez A. A., Gómez M. A. Herrera R. M. Pérez S. Relación entre estructura química y el efecto farmacológico. Un interesante contenido farmacológico para sesiones experimentales. Facultad de Química Departamento de farmacia, sección de farmacología. 2ª edición. 2004.
24. Lisboa Sabrina F. Resstel Leonardo B.M.; Aguiar Daniele C., Guimarães Francisco S. Activation of cannabinoid CB1 receptors in the dorsolateral periaqueductal gray induces anxiolytic effects in rats submitted to the Vogel conflict test. *Eur. J. Pharmacol.* Manuscrito aceptado. 2008.
25. Limón Pérez León. Laboratorio de Neurofarmacología. Universidad Autónoma de Puebla. Puebla <http://www.buap.mx/investigacion/neurofarma/modelos.htm>.
26. Mc Namaya. Fármacos eficaces para el tratamiento de la epilepsia. 9a Ed. Goodman & Gilman (Eds). Interamericana Mc Graw Hill. México D.F. 2000. 491-519pp.
27. Porter Roger J. Brian Meldrum. Anticonvulsivos. *Farmacología Básica y Clínica.* Bertram G. Katzung. 9ª Edición. Manual Moderno de México. 2005. 381-400pp.
28. Peña Ortega J. A. Las benzodiazepinas como anticonvulsivantes. *Benzodiazepinas.* 2007. 4 y 5pp.
29. Álvarez Adolfo, Medina-Malo Carlos. Guía de manejo del estado de mal epiléptico en pediatría. 2003. 275-289pp.
30. Burnham W. Anticonvulsivos. *Principios de Farmacología Médica.* 6ª Edic. Kalant Harold y Roschlau W. Edit. Oxford University Press. México 2003. 250-261pp.

31. Goyenechea Gutierrez Francisco; Ramiro García. Tratamiento quirúrgico de la epilepsia. <http://www2.compendium.com.ar/neuroc99/text/ttoepilepsia.htm>. Hospital Pediátrico "Juan Manuel Márquez" Servicio de Neurocirugía. Ciudad de La Habana. Cuba.
32. Basra Deniz Obay; Ezel Tasdemir; Cemil Tümer; Hakkı Murat Bilgin y Abdurrahman Sermet. Antiepileptic effects of ghrelin on pentylenetetrazole-induced seizures in rats. *Peptides*. 2007, 28, 1214-1219.
33. Martínez A.; López-Ruiz E.; Vega-Flores G.; Fernández- Mas R.; Fernández Guardiola A. Efecto de la estimulación del nervio vago sobre la epilepsia focal. Amigdalina en la rata. *Salud Mental*. Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente. 2004, 5, 62-72.
34. Kinga K. Borowicz; Robert Malek; Jarogniew J. Luszczki; Neville Ratnaraj; Philip N. Patsalos y Stanislaw J. Czuczwar. Isobolographic analysis of interactions between remacemide and conventional antiepileptic drugs in the mouse model of maximal electroshock. *Epilepsy & Behav.* 2007, 11, 6-12.
35. White P. Bertram. Katzung. Katzung Bertrán G. MD, Ph. D. *Farmacología básica y clínica*. 9ª edición. Manual Moderno. México D. F. 2005. 381-400 y 429-443pp.
36. Cooper J. R. Edom F. Roth R. H. *Bases bioquímicas de la neurofarmacología*. Manual Moderno. México D.F. 1984. 200-237pp.
37. Mondragón M. Egueña, Etchebarría A. Madrazo Maza. *Agonistas y antagonistas del receptor de Benzodicepinas*. Tratado de psicofarmacología, bases y aplicación clínica. Edit. Panamericana. Madrid España, 2002. 306-325pp.
38. Stanley Joanna L; Rachael J. Lincoln; Terry A. Brown; McDonald M. L.; Dawson G.; Reynolds S. R. G. The mouse beam walking assay offers improved sensitivity over the mouse rotarod in determining motor coordination deficits induced by benzodiazepines. *J. Psych.* 2005, 19, 201-207.
39. [www.ugobasile.com](http://www.ugobasile.com). Julio, 2008.
40. Sellers E; Khanna J. y Romach M. ansiolíticos e hipnóticos. *Principios de Farmacología Médica*. 6ª Edic. Kalant Harold y Roschlau W.. Edit. Oxford University Press. México 2003. 317-330pp.
41. Trevor A; Way W. Sedantes-hipnóticos. Katzung Bertrán G. MD, Ph. D. *Farmacología básica y clínica*. 9ª edición. Manual Moderno. México D. F. 2005. 356-366pp.
42. Trevor A; Way W. Sedantes-hipnóticos. Katzung Bertrán G. MD, Ph. D. *Farmacología básica y clínica*. 9ª edición. Manual Moderno. México D. F. 2005. 356-366pp.
43. López J. J. Alino I. Miyar M. V. *Manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales*. Measson. Barcelona, España 2005. 477-543pp.

44. Kander E. R. Schwartz Jessell T. M. Principios de Neurociencia Mc. Graw Hill. Interamericana. Madrid, España 2000. 937-947pp.
45. Krupp. P. Bianchi C. Suárez- Kurtz. On the local anesthetic effect of barbiturates. J. Pharmac. 1967, 21, 763-768.
46. García-González M; Bach Coto-Morales, González-Camacho S. y Pazos L. Toxicidad subcrónica del extracto acuoso de las hojas y los brotes florales de *Stachytarpheta jamaicensis* (L.) Vahl. (Verbenaceae). Rev Cubana Plant Med. 2002.
47. Martínez Glattli H. Benzodizepinas. Hojas Clínicas de Salud Mental N°2. Facultad de Psicología Universidad de Buenos Aires. Argentina. 2006.
48. Tornberg J. Segerstrale M. Kuleskaya N. Voikar V. Taira T. Airaksinen M. KCC2-Deficient Mice Show Reduced Sensitivity to Diazepam, but Normal Alcohol-Induced Motor Impairment, Gaboxadol-Induced Sedation, and Neurosteroid-Induced Hypnosis. Neuropharmacol. 2006, 1-8.
49. Carling R. Madin A. Guiblin A. Rusell M. Moore K. Mitchinson A. Sohal B. Pike A. Cook S. Ragan I. McKernan R. Quirk K. Ferris P. Marshall G. Thompson S. Wafford K. Dawson G. Atack J. Harrison T. Castro J. Street L. 7-(1,1-Dimethylethyl)-6-(2-ethyl-2H-1,2,4-triazol-3-ylmethoxy)-3-(2-fluorophenil)-1,2,4-triazolo[4,3-b]pyridazine: A Functionally Selective  $\gamma$ -Aminobutyric Acid<sub>A</sub> (GABA<sub>A</sub>)  $\alpha$ 2/ $\alpha$ 3.Subtype Selective Agonist That Exhibits Potent Anxiolytic Activity but Is Not Sedating in Animal Models. J. Med. Chem. 2005, 34, 7089-7092.
50. Hartmut Lüddens y Esa R. Corp.. Biological Function of GABA<sub>A</sub>/Benzodizepine Receptor Heterogen. J. Psychiat Res. 1995, 29, 77-94.
51. [www.neurosci.pharm.utoledo.edu/MBC3320/GABA.htm](http://www.neurosci.pharm.utoledo.edu/MBC3320/GABA.htm). Julio 2008.
52. Lager E. Andersson P. Nilson J. pettersson I. Østergaard N. Mogens N. Olev S. Liljefors. T. 4-Quinolone Derivates: High Affinity Ligans at the Benzodizepine Site of Brain GABA<sub>A</sub> Receptors. Synthesis, Pharmacolophore Modeling. J. Med. Chem. 2006, 49, 2526-2533.
53. Klitgaard H. Agentes epilépticos: lecciones del pasado y desafíos futuros. 2006. [www.intramed.net/actualidad/art](http://www.intramed.net/actualidad/art).
54. Uwe Rudolph y Hanns Möller. Análisis of GABA<sub>A</sub> Receptor Function and Dissection of the Pharmacology of Bezodizepines and General Anesthetics Through Mouse Genetics. Annu Rev. Pharmacol. Toxicol. 2004, 44, 475-496.
55. Warner Sieghart. Pharmacology of Benzodizepine Receptors: An Update. J. Psychiatr. Neurosci. 1993, 19, 24-29.
56. Jardim M.C. y Guimaraes F.S. Role of glutamate ionotropic receptors in the dorsomedial hypothalamic nucleus on anxiety and locomotor behavior. Pharmacol. Biochem. Behav. 2004, 79, 541-546.

57. Mycek M. Harvey R. Champe P. Farmacología. 2a. Edic. Mc. Graw Hill. México D. F. 2007. 105-108.
58. Hawley. G.G. Diccionario de Química y de Productos Químicos. 9ª edición. Ed. Omega. Barcelona España 1992. 233pp.
59. Diccionario de Especialidades Farmacéuticas. DEF, 2005.
60. Ping Mu y Long-Chuan Yu. Valproic acid sodium inhibits the morphine-induced conditioned place preference in the central nervous system of rats. *Neurosc. Lett.* 2007, 426, 135–138.
61. [www.cnacedrogas.cl/iniciopdf.historia](http://www.cnacedrogas.cl/iniciopdf.historia). Julio 2008.
62. Cortés Cortés Eduardo, Valencia Cornejo Ana L. y García-Mellado de Cortés Olivia. New derivatives of dibenzo[b,e][1,4]diazepin-1-ones by an efficient synthesis and spectroscopy. *J. Heterocyclic Chem.* 2007, 44, 183-187.
63. Andrade Meneses Ociel Esaú. “Síntesis y Espectrometría de Masas de derivados de la 3,3-dimetil-2,3,4,5,10,11-hexahidro-8-[(o-; p-metil)fenil]-11-[(o-; p-)R1-fenil]-1H- dibenzo-[b,e][1,4]-diazepin-1-ona”. FES-Cuautitlán 2003.
64. Valecia Cornejo Ana Lilia “Síntesis y Espectrometría de Masas de derivados de la 3,3-dimetil-2,3,4,5,10,11-hexahidro-8-[(o-; p-metoxi)fenil]-11-[(o-; p-)R-fenil]-1H-dibenzo-[b,e][1,4]-diazepin-1-ona”. FES-Cuautitlán, UNAM 2003.
65. Teng Wah Sam. Toxicity Testing Using teh Brine Shrimp. *Artemia salina*. Cap. 18. 1993, 441-454.
66. González-Trujano M. E.; Carrera D.; Ventura-Martinez R.; Cedillo-Portugal E.; Navarrete A. Neuropharmacological profile of an ethanol extract of *Ruta chalepensis* L. in mice. *J. Ethnopharmacol.* 2006, 106, 129–135.
67. Lepicard M. Eve, Joubert C. Hagneau I. Perez-Diaz F. Chapouthier G. Differences in Anxiety-related Behavior and Response to Diazepam in BALB/c and C57BL/6J Strains of Mice. *Pharmacol Biol. Behav.* 2000, 67, 739-748.
68. Masaomi Miyamoto. Effect of ramelteon (TAK-375), a selective MT1/MT2 receptor agonist, on motor performance in mice. *Neuroscience Letters.* 2008, 402, 201–204.
69. Viswanatha Swamy A.H.M; Thippeswamy A.H.; Manjula D. y Mahendra Kumar. Some Neuropharmacological Effects of the Methanolic Root Extract of *CissusQuadrangularis* in Mice. *African J. of Biom. Res.* 2006, 9, 69 – 75.
70. Yukio Ago, Keiko Takahashi, Shigeo Nakamura, Hitoshi Hashimoto, Akemichi Baba. Anxiety-Like and Exploratory Behaviors of Isolation-Reared Mice in the Staircase Test. *J. Pharmacol Sci.* 2007, 104, 153-158.

71. Aguirre-Hernández E.; Martínez A. L.; González-Trujano M. E.; Moreno J.; Vibrans H.; Soto-Hernández M. Pharmacological evaluation of the anxiolytic and sedative effects of *Tilia americana* L. var. *mexicana* in mice. *Journal of Ethnopharmacology*. 2007, 109, 140–145.
72. Marqués de Cantú, M.J. Probabilidad y estadística para ciencias químico-biológicas. Mc graw Hill. México D. F. 1991. 195, 233, 361-371, 558 y 569-570pp.
73. Index Merck 2001. 1362pp.

# **Anexo 1**

## **Tablas de los compuestos con actividad.**

---



---

## Anexo 1

**Tabla. No. 23** Análogos que presentan efecto farmacológico como relajante muscular.

<b>Compuesto</b>	<b>Dosis</b>	<b>Cepa</b>
EO-IV-1	80 mg/Kg	Ratón
EO-IV-2	40 mg/Kg	Ratón
EO-IV-2	20 mg/Kg	Rata
EO-IV-4	10 mg/Kg	Ratón
EO-IV-5	80 mg/Kg	Ratón
EO-IV-5	20 mg/Kg	Rata
EO-IV-6	80 mg/Kg	Ratón
EO-IV-7	40 mg/Kg	Ratón
EO-IV-8	10 mg/Kg	Rata
EO-IV-8	80 mg/Kg	Ratón
EO-IV-12	10 mg/Kg	Rata
EO-IV-12	40 mg/Kg	Ratón

**Tabla. No. 24** Análogos que presentan efecto farmacológico como anticonvulsivo.

<b>Compuesto</b>	<b>Dosis</b>
EO-IV-1	80 mg/Kg
EO-IV-2	80 mg/Kg
EO-IV-8	80 mg/Kg
EO-IV-11	40 mg/Kg
EO-IV-12	40 mg/Kg

**Tabla. No. 25** Análogos que presentan efecto farmacológico como ansiolíticos.

<b>Compuesto</b>	<b>Dosis</b>
EO-IV-1	10 mg/Kg
EO-IV-2	10 y 20 mg/Kg
EO-IV-5	20 mg/Kg
EO-IV-6	10 mg/Kg
EO-IV-7	10 mg/Kg
EO-IV-8	10 mg/Kg
EO-IV-9	10 mg/Kg
EO-IV-11	10 y 20 mg/Kg
EO-IV-12	10 mg/Kg

## **Anexo 2**

# **Certificado de calidad de los animales.**