



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO

**PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS
QUÍMICAS**

**SÍNTESIS DE Y VALORACIÓN LA 1-(2-METIL-4-METOXIFENIL)PIPERAZINA EN LA
ADQUISICIÓN, CONSOLIDACIÓN Y FORMACIÓN DE LA MEMORIA.**

TESIS

PARA OPTAR POR EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA

FRANCISCO XAVIER FLORES MACHORRO



TUTOR: Andrés Navarrete Castro AÑO: 2009



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Agradecimientos

El presente trabajo fue realizado gracias a la beca otorgada por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) bajo el Programa de Maestría en Ciencias Químicas. Registro Número **230141**.

Se agradece de igual forma al Programa de Apoyo a la Investigación y al Posgrado (PAIP No.6390-18) y a la Dirección General de Asuntos del Personal Académico (DGAPA) con el proyecto **IN205008-2**.

Al personal analítico del Instituto de Química y a la Q. Georgina Lisci del USAI, Facultad de Química, UNAM, por el registro de los espectros de Resonancia Magnética Nuclear y Espectroscopía de Masas.

A la Maestra en Ciencias Ruth Olvera por el apoyo otorgado en la realización de éste proyecto.

A todo el equipo de Trabajo del Laboratorio 126 por su apoyo, camaradería y comprensión durante mi estancia.

Al Dr. José Fausto Rivera por su apoyo en mi estancia en el Laboratorio 126.

Al Dr. Andrés Navarrete Castro por su perseverancia y dirección sin las cuales éste proyecto no podría realizarse.

A los miembros del jurado, por los conocimientos impartidos en la elaboración de este trabajo.

A mi familia, que me ha apoyado tanto.

A mis amigos Daniel Rosas, Space, PsyraX, Cerexita , Dolci, Gabriel y Clow, Erik por su amistad sincera.

**No es de dónde tomas las cosas,
Es, hacia dónde las llevas!..
*Jean Luc Godard***

Listado de Abreviaturas.

5-HT	Serotonina, 5-Hidroxitriptamina
8-OH-DPAT	8-Hidroxi-N,N-dipropil-2-aminotetralina
α	alfa, referido a la subunidad del receptor adrenérgico
AMPA	α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazol-propionato
BZP	Bencilpiperazina
Ca^{2+}	Ión Cálxico
cm	Centímetros
D	Dopamina
EA	Enfermedad de Alzheimer
EP	Evitación Pasiva
EPS	Efectos Secundarios Extrapiramidales
<i>et al.</i>	Y otros autores
GABA	Ácido gama-aminobutírico
<i>icv</i>	Intracerebroventricular
<i>ip.</i>	Intraperitoneal
K^{+}	Ión potásico
MCP	Memoria a Corto Plazo
<i>m</i> -CPP	Meta-clorofenilpiperazina
Kg	Kilogramo
mA	miliAmpere
MHz	Megahertz
mg	Miligramo
Mg^{2+}	Ión magnésico
MK-212	6-Cloro-2-(1-piperazinil)pirazina, clorhidrato
MK-801	Dizocilpina, maleato
MLP	Memoria a Largo Plazo
MMFP	1-(2-metil-4-metoxifenil)piperazina
MPI	Memoria a plazo intermedio
Na^{+}	Ión Sódico
NMDA	N-metil-D-aspartato
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
PLP	Potenciación a Largo Plazo
SB- 616234	Triclorhidrato de (N-[2-[4-(2-metoxifenil)-1-piperazinil]etil-N-(2-piridinil)ciclohexanocarboxamida
SNC	Sistema Nervioso Central
TFMPP	1-(trifluorometilfenil)piperazina
WAY-100635	Triclorhidrato de (N-[2-[4-(2-metoxifenil)-1-piperazinil]etil-N-(2-piridinil)ciclohexanocarboxamida

Indice

	Hoja
Resumen	9
Abstract.....	10
I. Introducción.....	11
1.1. Antecedentes.....	11
1.1. Arilpiperazinas.....	11
1.2. Memoria.....	14
1.3. Sistemas de neurotransmission involucrados en la Memoria	15
1.3.1. Sistema colinérgico.....	16
1.3.2. Sistema dopaminérgico	17
1.3.3. Sistema del Ácido γ -aminobutírico (GABA).....	18
1.3.4. Sistema Glutamatérgico	19
1.3.5. Sistema Histaminérgico.....	20
1.3.5. Sistema Serotonérgico	21
1.4. Patologías de la memoria	23
1.4.1. Demencia	23
1.4.2. Amnesia	23
1.4.3. Enfermedad de Alzheimer	24
1.4.4. Esquizofrenia.....	24
1.4.5. Enfermedad de Huntington	25
1.4.6. Síndrome de Wernicke-Korsakoff.....	26
1.4.7. Enfermedad de Parkinson	26
1.5. Experimentos de Evaluación de la Memoria.....	27
1.5.1. Prueba de Evitación Pasiva.....	27

1.6. Modelos de trastornos de memoria	30
1.7. Fármacos nootrópicos.....	31
1.7.1. Racetams	31
II. Justificación del Proyecto	33
III. Hipótesis	34
IV. Objetivos.....	34
V. Materiales y Métodos.....	35
5. Procedimientos generales.....	35
5.1. Aparatos	35
5.2. Síntesis de la 1-(2-metil-4-metoxifenil)piperazina	35
5.2.1. Procedimiento	35
5.3. Evaluación Farmacológica	36
5.3.1. Fármacos y sustancias	36
5.3.2. Animales	36
5.3.3. Dosificación	37
5.3.4. Experimentos de Memoria.....	38
5.3.4.1. Aparato de Evitación Pasiva	38
5.3.4.1.1. Entrenamiento	38
5.3.4.1.2. Protocolo de evaluación inicial.....	39
5.3.4.1.3. Adquisición de la Memoria	39
5.3.4.1.4. Formación de la Memoria	40
5.3.4.1.5. Consolidación de la Memoria.....	40
5.3.4.2. Experimentos de deterioro de la memoria.....	40
5.3.4.2.1. Tratamiento con escopolamina.....	40
5.3.4.2.2. Tratamiento con dizocilpina	40
5.3.4.2.3. Tratamiento con buspirona	41
5.3.5. Perfil neurofarmacológico	41

5.3.5.1. Efecto anticonvulsivante	41
5.3.5.2. Efecto sedante	41
5.3.5.3. Efecto miorelajante	42
5.3.5.4. Efecto sobre la coordinación motora	42
5.4. Tratamiento estadístico	42
VI. Resultados y Discusión.....	44
6.1. Síntesis de la 1-(2-metil-4-metoxifenil)piperazina	44
6.2. Evaluación Biológica	45
VII. Conclusiones	62
VIII. Perspectivas	63
IX. Referencias.....	64

Listado de Tablas

Tabla I. Resultados de actividad anticonvulsiva de MMFP frente a dosis aguda (120 mg/kg <i>i.p</i>) de PTZ.....	53
Tabla II. Levantamientos promedio en el cilindro de exploración después de la administración de MMFP.....	56

Listado de Gráficos y Figuras

Figura 1. Estructura de WAY-100636.....	4
Figura 2. Estructura de SB-6162234.....	5
Figura 3. Estructura de algunas 1-Arilpiperazinas.....	5
Figura 4. Estructura de la Dopamina.....	10
Figura 5. Estructura de el NMDA.....	12
Figura 6. Estructura de la Histamina.....	13
Figura 7. Estructura de la Serotonina.....	14
Figura 8. Estructura del Piracetam.....	26
Figura 9. Estructura de la 1-(2-metil-4-metoxifenil)piperazina	38
Imagen I. Equipo de Evitación Pasiva.....	32

Listado de Gráficos

Gráfico I. Actividad nootrópica de 1-arilpiperazinas con diferentes sustituyentes en el anillo aromático.....	39
Gráfico II. Curva dosis-respuesta de MMFP, evaluación inicial en EP.....	40
Gráfico III. Adquisición de la Memoria de MMFP y Piracetam en EP.....	41
Gráfico IV. Formación de la Memoria de MMFP y Piracetam en EP.....	43
Gráfico V. Consolidación de la Memoria de MMFP y Piracetam en EP.....	46
Gráfico VI. Evaluación de la Adquisición de la Memoria, previa administración de escopolamina.....	48
Gráfico VII. Evaluación de la Formación de la Memoria, previa administración de escopolamina.....	49
Gráfico VIII. Evaluación de la Adquisición de la Memoria, previa administración de dizocilpina.....	50
Gráfico IX. Evaluación de la Formación de la Memoria, previa administración de dizocilpina.....	52
Gráfico X. Evaluación de la Adquisición de la Memoria, previa administración de buspirona.....	54
Gráfico XII. XII. Evaluación de MMFP en Alambre de Tensión, evaluación de la miorelajación.....	57
Gráfico XIII. Evaluación de MMFP en RotaRod por 2h.....	57
Anexo 1. Espectro Infrarrojo de la 1-(2-metil-4-metoxifenil)piperazina	
Anexo 2. Espectro de RMC¹³C de la 1-(2-metil-4-metoxifenil)piperazina	
Anexo 3. Espectro de RMC¹H de la 1-(2-metil-4-metoxifenil)piperazina	
Anexo 4. Espectro de MS/IE de la 1-(2-metil-4-metoxifenil)piperazina	

Resumen

Las arilpiperazinas son compuestos sintéticos con actividad biológica muy diversa. En estudios previos se ha encontrado que algunas 1-arilpiperazinas mostraron actividad nootrópica en el modelo de evitación pasiva en ratones *ICR*. En el presente trabajo se realizó la investigación de una de las arilpiperazinas con mayor efecto nootrópico, la 1-(2-metil-4-metoxifenil)piperazina (MMFP).

Se realizó la síntesis a partir de la 2-metil-4-metoxianilina y la bis (2-cloroetil)-amina con un rendimiento de 69.4% y se realizó la evaluación en las pruebas de Adquisición (administración del compuesto antes del entrenamiento), Formación (administración del compuesto después del entrenamiento) y Consolidación (administración del compuesto antes de la prueba a 24 h) de la memoria en ratones *ICR*.

La MMFP presentó una mejora en la latencia, a dosis de 0.56 mg/kg, en el protocolo de Formación, y Adquisición de la memoria comparable con Piracetam (100 mg/kg *i.p*) pero no en la Consolidación de la memoria tanto en MCP (1.5 h) como en MLP (24 h). Además, se estudió la actividad de este compuesto frente a diferentes fármacos que producen un deterioro de la memoria; por la acción antagonista colinérgica de escopolamina (0.1 mg/kg *i.p*), por la activación de los receptores serotoninérgico 5HT_{1A} de la buspirona (0.1 mg/kg *i.p*) y por la activación de los receptores NMDA-glutamato de la dizocilpina (0.003 mg/kg *i.p*) en los protocolos de Formación y Adquisición de la memoria. Se encontró que la escopolamina, buspirona y dizocilpina disminuían notablemente el aumento en las latencias obtenido por la MMFP en la Adquisición y de manera parcial en la Formación de la memoria. Esto sugiere que los sistemas implicados en la actividad de la MMFP son el colinérgico, glutamatérgico y serotoninérgico.

Siguiendo con la investigación de la MMFP, se exploró su actividad sedante, su efecto en la coordinación motora y en la miorelajación y su actividad anticonvulsiva contra pentilentetrazol. A las dosis administradas no mostró actividad sedante, anticonvulsiva o en la coordinación motora, y una ligera actividad miorelajante a las dosis estudiadas.

En conclusión, se realizó la síntesis de la 1-(2-metil-4-metoxifenil)piperazina con rendimiento aceptable, dada su potencia frente a Piracetam a dosis más bajas, su actividad sobre la Formación y Adquisición de la memoria y su bajo perfil de reacciones secundarias, le hacen un buen candidato para el desarrollo de un fármaco que mejore la memoria.

Abstract

The arylpiperazines are a group of synthetic compounds with a vast range of biological activities. Previous studies demonstrated that some 1-arylpiperazines showed nootropic activity in the passive avoidance protocol in ICR mice. The present work continues the research of the 1-(4-methoxy-2-methylphenyl)piperazine (**MMP_hP**), since this compound showed the best activity in this protocol. Thus, the synthesis of this compound was done and its participation in the Acquisition (administration before training), Formation (administration after training) and Consolidation (administration 24 h post-training) of memory was analyzed. This compound showed sensible avoidance modifications in the Acquisition and Formation of memory protocols but not in the Consolidation protocol. Further research was made using compounds that produce memory impairment given by their selective cholinergic (scopolamine 0.1 mg/kg *i.p.*), serotonergic (buspirone 0.1 mg/kg *i.p.*) and NMDA-glutamate (dizocilpine 0.003 mg/kg *i.p.*) systems in the Formation and Acquisition protocols. The results showed that scopolamine, buspirone and dizocilpine did sensibly modify the latencies improvement given by MMP_hP in the Acquisition protocol, and partially in the Formation protocol. These results express that the MMP_hP requires its action in this three receptor systems for producing its nootropic like activity.

Further investigation about the neuropharmacological properties of the MMP_hP was done evaluating its possible sedative, motor impairment, miorelaxant, and anticonvulsive (in penthylenetetrazol induced seizures) properties. The MMP_hP showed mild miorelaxant properties, but not sedative, nor anticonvulsive or motor impairment properties.

In conclusion, the acceptable yield synthesis, its relative higher potency compared to piracetam and the effects in the Formation and Acquisition protocol and low side effects profile, make the 1-(4-methyl-2-methoxyphenyl)piperazine a good candidate for further drug development studies.

I. Introducción

1. Antecedentes

1.1 Arilpiperazinas

Las arilpiperazinas son una familia de compuestos heterocíclicos sintéticos con actividad biológica diversa (Mull. 1965).

Las 1-fenilpiperazinas pueden ser obtenidas a partir del calentamiento de una mezcla de anilina y clorhidrato de dietanolamina (Pollard y MacDowell. 1934; Bain y Pollard.1939). Este compuesto puede ser obtenido también mediante el calentamiento fuerte (220-240 °C por 6-8 h) de la mezcla 2:1 de la anilina correspondiente y el bis 2-cloretilamina, registrándose rendimientos abajo del 50%. Se han propuesto modificaciones para esta síntesis. En solución, utilizando diferentes tipos de alcoholes primarios o diglima como disolventes. En estado sólido, utilizando un soporte adsorbente de gel de sílice o alúmina básica. Como medio de reacción se ha recomendado el uso de alcoholes de bajo peso molecular o diglima (Mishani *et al.* 1996).

El rango de actividades de este tipo de compuestos va desde actividad antidepresiva -quipazina y derivados- (Fray *et al.* 2006), antifúngica -ketoconazol y derivados-, antihelmíntica -dietilcarbamazina-, antihistamínica -cinnarizina, ciclizina-, antimicrobiana -cetirizina-, antirretroviral -delavirdine-, estimulante respiratoria -almitrina-, antihipertensiva (Quesnel *et al.*1960), antiinflamatoria (Kiritsy *et al.* 1978), entre otras (Murphy *et al.* 1991). Algunos de estos compuestos se unen con gran afinidad a los receptores de serotonina, dopamina y sistemas adrenérgicos (Fray *et al.* 2006).

El mecanismo de acción farmacológica de las arilpiperazinas antihelmínticas se fundamenta en sus efectos agonistas del receptor inhibitor GABA (ácido γ -aminobutírico), siendo su acción selectiva a los parásitos por las diferencias entre el receptor GABAérgico parasitario con el de los mamíferos, incluyéndose el de los seres humanos (Squire y Saederup. 1993).

Por otro lado, una serie de derivados de piperazina fenilsustituidos tienen actividad como antagonistas selectivos de los receptores de dopamina; por lo cual se han propuesto para el tratamiento de la esquizofrenia como es el RWJ-37796, con alta afinidad de unión por los receptores dopaminérgicos D₂ y D₃, por los receptores serotoninérgicos 5-HT_{1A} y α_{1A} -adrenérgicos (Reitz *et al.* 1994; Boyfield *et al.* 1996).

Algunas arilpiperazinas 1-monosustituidas, como la 1-(*o*-metoxifenil)piperazina y la 1-(*m*-clorofenil)piperazina bloquean la respuesta condicionada de evitación en rata. La *o*-metoxifenilpiperazina, es un ligando de los receptores 5-HT_{1A}, pero no de los receptores 5-HT₂ (Mokorsz *et al.*1996). La 1-(*m*-trifluorometilfenil)piperazina (TFMPP) se ha identificado como agonista serotoninérgico con mayor afinidad que la quipazina y el MK-212 (Fuller *et al.*, 1978).

Otros estudios han encontrado que tanto el TFMPP, el *m*-CPP y otros compuestos relacionados con la serotonina, no poseen afinidad específica a algún receptor y que incluso pueden comportarse como agonistas o antagonistas en diferentes subsitios del receptor de serotonina (Grotewiel *et al.* 1994).

Otro compuesto relacionado con las piperazinas, el WAY-100635, es un antagonista selectivo a los receptores 5-HT_{1A} (Fornal.1996).

. Además, se ha comprobado que este compuesto y su metabolito WAY-100634 tienen gran afinidad por los receptores de Dopamina D₄-D₂ (Chemel *et al.* 2006).

Figura 1. Estructura de WAY-100635

Se ha reportado la actividad de una serie de piperazinas, por ejemplo el SB-616234, como antagonistas selectivos del receptor 5-HT_{1B}, donde el núcleo de piperazina participa activamente en la selectividad de este grupo de fármacos evaluados (Ward *et al.* 2009).

Figura 2. Estructura de SB-616234

Por otro lado, algunas 1-arilpiperazinas, incluida la 1-(2-metil-4-metoxifenil)piperazina (MMFP) mostraron gran afinidad por el receptor 5HT₃ (Dukat *et al.* 1996).

Se sabe, en general, que los antagonistas de los receptores 5-HT tienden a no ser selectivos y tienden a interactuar con otros receptores, como el α 1-adrenérgico (Debnath *et al.* 2003).

En años recientes se ha introducido al mercado ilícito de sustancias psicoactivas un número importante de productos derivados de las piperazinas como adulterantes de anfetaminas, siendo la bencilpiperazina (BZP), la 1-(3-trifluorofenil)piperazina (TFMPP) los principales compuestos usados para este fin (US DEA., 2003). La Unión Europea a través del Centro de Vigilancia para las Drogas y Adicción a Drogas (EMCDDA, por sus siglas en inglés) ha realizado la evaluación del riesgo y decidido que las **bencilpiperazinas**, incluida la 1-(*m*-clorofenil)piperazina, presentan un riesgo suficiente para requerir control legal en todos los países miembros.

Figura 3. Estructura de algunas 1-Ariltiperazinas

Asimismo se puede encontrar fácilmente información acerca de algunos derivados, como el BZP, TFMPP y m-CPP en páginas electrónicas especializadas en dar información de drogas de abuso, como es el caso de www.erowid.org y www.lycaeum.org, donde incluso se puede encontrar información acerca de la experiencia de algunos usuarios.

Así, se encontró que el BZP sustituía de manera dosis dependiente en ratas al S(+)-MDMA en la respuesta condicionada a estímulo discriminativo. En este mismo estudio se encontró que el BZP aumenta la actividad locomotora en ratones en una forma dosis dependiente en la prueba de campo abierto (Yarosh *et al.* 2007).

1.2. Memoria

La **memoria** se define como el proceso de almacenar y recordar información que producirá un cambio en el comportamiento. Constituye una función crucial del cerebro y es cotidiana en nuestra existencia (Ghoneim. 2004; Gordon. 1988).

El **aprendizaje** se define como el proceso que convierte a la experiencia, o estímulo sensorial, en una forma en la que se pueda almacenar la memoria (Gordon. 1988; Okano *et al.* 2000). La memoria puede clasificarse de acuerdo a su contenido, en relación con el tiempo o por sus bases neurobiológicas.

Cuando la memoria se clasifica de acuerdo a su contenido puede ser llamada **memoria declarativa o explícita**, mediada principalmente por el hipocampo, y está relacionada con hechos o eventos; y, la **memoria no-declarativa (implícita) o de procedimiento**, regulada principalmente por el estriado, que se ha considerado que no requiere tener conciencia de que se está recordando y es necesaria para realizar una habilidad previamente aprendida. Se ha definido que la memoria explícita e implícita pueden ser independientes. Dado que se han denotado casos en los que los individuos pueden tener afectada la memoria explícita teniendo la memoria implícita intacta. De este hecho se cree que hay mecanismos diferentes que regulen estos dos tipos de memoria.

La memoria explícita puede ser clasificada a su vez en **episódica y semántica**. La memoria episódica permite recordar experiencias y eventos. Esto permite encadenar lo que somos y lo que hemos hecho dando a cada persona un sentido de individualidad. La memoria semántica está enfocada a hechos o nociones que no dependen del individuo en sí y tienden a ser sucesos públicos.

Si la memoria es clasificada de acuerdo con el tiempo ésta puede ser:

- **Memoria a corto plazo (MCP)**, que puede durar de segundos a horas e involucra la fosforilación de proteínas, este tipo de memoria puede ser alterada fácilmente por traumatismos encefálicos y por algunos fármacos (Carpenter. 1986; Meneses. 2003; Téllez. 2008). En el presente trabajo se referirá **MCP** a la memoria medible una hora y media después del entrenamiento.
- **Memoria de plazo intermedio (MPI)**, que puede durar horas y es soportada por la traducción de proteínas sin transcripción de genes. (Rosenzweig *et al.* 1993; Smyth *et al.* 2002).

- **Memoria a largo plazo (MLP)** es considerado el almacén permanente de la memoria aunque se cree que está sujeta a disminución autónoma (Ghoneim. 2004; Cammarota *et al.* 2005). Este tipo de memoria requiere de cambios a nivel génico al igual que todos los procesos referidos en la MCP y MPI (Marinesco y Carew. 2002; Meneses. 2003).

En el presente trabajo se referirá a la **MLP** como la memoria que dura más allá de las 24 h.

En relación a ésta clasificación, se ha encontrado que la MCP y MLP son procesos independientes y no son fases secuenciales de un mismo fenómeno ya que son adquiridas por vías moleculares independientes (Izquierdo *et al.*, 1998; Cammarota *et al.*, 2005). Es así como algunos procedimientos experimentales pueden bloquear a la MCP, dejando sin modificación a la MLP para la misma prueba en el mismo animal (Davis y Squire. 1984; Izquierdo *et al.* 1998, 1999, 2006).

De acuerdo al procesamiento de la memoria, que lejos de ser un proceso único e instantáneo es un proceso gradual, se pueden diferenciar las siguientes fases principales:

1. **Estado de adquisición:** Etapa de aprendizaje, es decir, cuando la información es codificada en circuitos centrales que incluyen microcircuitos en regiones localizadas del cerebro. En este estado, la memoria puede formarse al ocuparse de un objeto o para desarrollar una acción, lo cual lleva a la formación de una representación del objeto o la acción dentro del cerebro (Gordon. 1988; Walter y Stickgold. 2004; Okano *et al.* 2000).

Después de la adquisición, de acuerdo a su relevancia o repetición, la memoria continúa a las siguientes etapas:

2. **Consolidación:** se refiere al proceso en donde una memoria se vuelve resistente a la interferencia de factores competitivos o de interrupción en la ausencia de práctica a través del tiempo (McGaugh. 2000). En otras palabras el proceso de consolidación de la memoria se refiere a la transformación de una nueva memoria a una de largo plazo, o cuando una memoria "lábil" se convierte a una memoria "no lábil" o estable (Tsien. 2006).

3. **Almacenamiento:** en esta etapa la información se retiene en los circuitos centrales dependientes (Gordon. 1988).
4. **Recuperación:** en esta etapa, la información se recuerda al producir una respuesta conductual o motora (Gordon. 1988).

De cualquier modo, se entiende como **Adquisición** de la memoria al conjunto de procesos neurológicos que son desencadenados al momento de recibir un estímulo o información; **Formación** de la memoria al conjunto de procesos que siguen a la presentación de un estímulo o información asignándole un valor prioritario dependiente de su trascendencia y/o repetición; y, **Consolidación** de la memoria a un conjunto de procesos en los cuales una representación inicial e inestable de memoria, es convertida a una forma más estable y eficiente. En el sueño son llevados a cabo la mayoría de los procesos en cascada para llevar a la consolidación (Stickgold y Walker. 2007).

Se ha propuesto a la potenciación a largo plazo (**PLP**) como un mecanismo de almacenamiento de información en el SNC muy importante en el proceso de memoria (Caramos y Shapiro. 1994).

1.3 Sistemas de neurotransmisión involucrados en la memoria

Entre los sistemas de neurotransmisión involucrados íntimamente en la memoria se encuentran los aminoácidos: el ácido γ -aminobutírico (GABA) y el glutamato, y las aminas biogénicas como la acetilcolina, dopamina, noradrenalina, histamina y serotonina.

Cabe recalcar que tanto el estudio del estado normal de memoria como el de los estados patológicos, depende del funcionamiento en conjunto de estos sistemas. Así, el estudio de un neurotransmisor no puede ser separado de otros neurotransmisores. De cualquier modo, las aproximaciones hechas para la descripción de la función de los diferentes neurotransmisores son los siguientes:

1.3.1. Sistema Colinérgico

Se ha encontrado que el sistema colinérgico tiene un papel importante en el aprendizaje y la memoria, así como en las patologías referentes a ambos procesos. Así, se ha referido que un aumento en la actividad colinérgica tiende a mejorar el desempeño en varias

tareas conductuales. De manera análoga, una disminución de la actividad colinérgica, debida al bloqueo o baja regulación (*down regulation*) de los receptores muscarínicos da como resultado déficits en la memoria (Watts *et al.* 1981; Bartus *et al.* 1982; Murray y Fibriger. 1986; Green *et al.* 1988; Heinenger. 1999; Hasselmo. 2006).

La neurotransmisión colinérgica es también el sistema de neurotransmisión central que sirve para el mantenimiento de la cognición (Stewart *et al.*, 2007).

De hecho, la escopolamina, antagonista de los receptores muscarínicos, deteriora la memoria en sus etapas tempranas (Aigner y Mishkin. 1986) y es el modelo de amnesia más utilizado en animales. La mayoría de la evidencia acumulada sugiere que este sistema participa en diferentes etapas de la formación de la memoria y que la interacción de los receptores de acetilcolina y glutamato es de gran importancia, considerando que esto podría iniciar una serie de eventos moleculares relacionados con cambios que lleven al almacenamiento de la memoria a largo plazo (Miranda *et al.* 2003). Se ha demostrado en experimentos con agonistas y antagonistas colinérgicos-muscarínicos, que estos receptores participan en la regulación de la memoria de trabajo (Beninger. 2001; Barros *et al.* 2002).

Con respecto a los receptores nicotínicos, se ha reportado que los agonistas de dichos receptores aumentan la cognición en modelos animales, mejoran la memoria en pacientes con Alzheimer y promueven la liberación de acetilcolina y otros neurotransmisores en el cerebro; por lo que constituyen un potencial terapéutico atractivo para esa patología (Gatto *et al.* 2004).

1.3.2. Sistema dopaminérgico

El sistema dopaminérgico ha sido implicado en la depresión, agitación y comportamientos psicóticos en pacientes no dementes (Lanctôt *et al.* 2001).

La dopamina es un neurotransmisor encontrado en una amplia variedad de animales, tanto vertebrados como invertebrados. Es una fenetilamina que actúa activando los 5 tipos de receptores dopaminérgicos D₁, D₂, D₃, D₄ y D₅.



Figura 4. Estructura de la Dopamina

La acción de la dopamina en los diferentes receptores, del D₁ al D₅, desencadena una serie de respuestas, incluso contrarias, dependiendo del tipo de receptor implicado. Es así como el sistema dopaminérgico puede afectar:

- Movimiento corporal. La activación del sistema dopaminérgico es necesaria para el desarrollo de las habilidades motoras.
- Cognición y memoria. La dopamina está íntimamente relacionada con fenómenos de atención y resolución de problemas (Reitz *et al.* 1994; Ellis y Nathan. 2001; Sherry *et al.* 2002; Gibbs *et al.* 2007)
- Regulación de secreción de prolactina
- Motivación, placer y adicciones (Sokoloff *et al.* 1992; Reitz *et al.* 1994; Leff y Antón. 2004).

1.3.3. Sistema del Ácido γ -aminobutírico (GABA)

El GABA es el principal neurotransmisor inhibitorio del SNC. El sistema GABA está íntimamente asociado con el serotoninérgico. Así, los agonistas a GABA pueden alterar la función de diferentes receptores 5-HT. El sistema GABA está referido como implicado en influir en muchas funciones psicobiológicas como el comportamiento. Por ejemplo, un aumento en el GABA ha sido asociado con una disminución en la agresión (Guidotti *et al.* 1983; Grahame-Smith. 1992; Lanctôt *et al.* 2001).

La investigación acerca de este neurotransmisor y su relación con diferentes patologías de la memoria, como la Enfermedad de Alzheimer (EA), ha dado resultados que limitan concluir su participación específica en estos procesos patológicos, ya que mientras alguno autores concluyen que se observa un desbalance en los niveles de receptores GABA o subsitios de este receptor; otros autores proponen que no hay cambios significativos en los mismos (Shimohama. 1987; Carlson *et al.* 1993; Lanctôt *et al.* 2001).

1.3.4. Sistema Glutamatérgico

El Glutamato es el principal neurotransmisor excitatorio del SNC. Sus receptores pueden ser divididos en dos amplias categorías: los receptores ionotrópicos y los metabotrópicos.

Así, hay tres tipos de receptores ionotrópicos: AMPA, kainato (siendo los últimos dos llamados receptores no-NMDA) y NMDA, llamados de acuerdo a los agonistas que los activan (Kandel *et al.* 2001).

El receptor NMDA (N-metil-D-aspartato) ha sido implicado en los procesos de formación de la memoria sobre todo en los fenómenos de plasticidad neuronal como la PLP y en algunos procesos que desencadenan la Enfermedad de Alzheimer. Se encuentra altamente concentrado en la corteza y en el hipocampo (Heininger. 1999; Rudolph y Moler. 2006).

Figura 5. Estructura de NMDA

Se ha observado que la administración de antagonistas a NMDA bloquean la PLP y por tanto empeoran la adquisición de la información de la memoria mucho más que la retención, efecto similar al observado con el fármaco anticolinérgico escopolamina (Aigner y Mishkin. 1986; Redolat *et al.* 1998). Así mismo, diversos estudios han mostrado que la administración de antagonistas de los receptores NMDA en animales jóvenes, induce déficits cognitivos similares a los observados en animales viejos (Pelleymounter *et al.*, 1990; Spangler *et al.* 1991; Redolat *et al.* 1998). Es así como se ha propuesto a este tipo de compuestos como modelo para estudiar pérdidas cognitivas asociadas con la edad en animales (Pelleymounter *et al.*, 1990) y en sujetos humanos (Palmer y Gershon. 1990).

También se ha visto que los ratones que no contienen la subunidad NR1 (receptor 1 NMDA) en las células piramidales del área CA1 del hipocampo muestran déficit en la memoria espacial y temporal (Rudolph y Moler. 2006).

Convencionalmente, el efecto del bloqueo de los receptores NMDA produce amnesia del aprendizaje asociativo (Tronel y Sara, 2003); sin embargo, los aspectos precisos de la consolidación de la memoria que son bloqueados por inhibidores del receptor NMDA siguen siendo desconocidos (Izquierdo *et al.* 2004).

Aún así, se ha observado una relación significativa entre los receptores NMDA y la capacidad de aprendizaje, donde una reducción en la ejecución cognitiva en animales viejos podría deberse, al menos en parte, a una disminución (entre el 20-30%) del número de receptores NMDA corticales e hipocampales. (Pelleymounter *et al.* 1990; Sheuner *et al.* 1995).

Se cree que el efecto del sistema NMDA en el proceso de memoria requiere de un equilibrio específico en este sistema de neurotransmisión. Es así como el antagonista no competitivo a NMDA, la memantina ha sido propuesto como una alternativa al tratamiento de Alzheimer (Molinuevo y Lladó. 2005), aunque no se ha demostrado su eficacia en voluntarios sanos. Sin embargo, otros antagonistas no competitivos como la ketamina o la dizocilpina son agentes amnésicos (Redolat *et al.* 1998). Además, se ha demostrado que la adquisición de una respuesta de evitación pasiva en ratas y ratones puede verse alterada por la administración de antagonistas NMDA antes del primer ensayo (Bevenga y Spaulding. 1998; Danysz *et al.* 1988; Venable y Kelly. 1990).

1.3.5. Sistema histaminérgico

La histamina es una amina que funge como neurotransmisor regulando algunas funciones neurobiológicas y de comportamiento como el ciclo de sueño-vigilia, consumo de agua, actividad motora y nocicepción (Hass y Panula. 2003). Aunque también está asociada a respuestas inmunes locales, en la regulación de las funciones fisiológicas del estómago y en la quimiotaxis leucocitaria.

Figura 6. Estructura de la Histamina

De los subtipos de receptores H₁, H₂, H₃ y H₄ que se han identificado en mamíferos, sólo los H₁, H₂ y H₃ están expresados en el sistema nervioso central, mientras que el H₄ es encontrado sólo en la periferia.

Se han realizado estudios acerca de la participación de la histamina en pruebas como la evitación pasiva en ratas, encontrándose que la infusión intracerebroventricular (*icv.*) de histamina no sólo aumenta el aprendizaje sino además la retención de memoria (Almeida e Izquierdo. 1988), aunque contrariamente después se reportó que la

administración *icv.* e *ip.* disminuía la latencia en el protocolo de evitación activa, que puede entenderse en un decremento en la memoria (Kamei *et al.* 1992). Por lo que se puede decir que esta sustancia tiene una importante colaboración en el proceso de memoria aunque no está bien definido su rol fisiológico en la modulación de la misma.

1.3.6. Sistema Serotoninérgico

La Serotonina o 5-Hidroxitriptamina (5-HT) es uno de los neurotransmisores más importante en la neurotransmisión y ha sido, por mucho, uno de los sistemas con mayor investigación en su relación con los procesos de memoria y cognición.

Las vías de distribución de la serotonina, en los mamíferos, se originan en los núcleos de raphé y de éstos ascienden fibras que inervan a las diferentes áreas del cerebro que están involucradas en el aprendizaje y la memoria (Barnes y Sharp. 1999).

Figura 7. Serotonina

Actualmente, el desarrollo de la clonación y los sistemas *in vitro* ha permitido avanzar en la clasificación de los diferentes subsistemas de 5-HT, 5-HT₁-5-HT₇. Siendo en su mayoría receptores acoplados a proteína G, exceptuando a la familia de receptores 5-HT₃ –que son canales iónicos ligando dependientes. Se ha demostrado electrofisiológicamente que la subfamilia de receptores 5-HT₁, en su mayoría, produce hiperpolarización de membrana, mientras que las subfamilias de receptores 5-HT_{2A/2B/2C}, 5-HT_{3/3B}, 5-HT₄ y 5-HT₇ producen despolarización (Hoyer *et al.* 2002; Meneses y Pérez-García. 2007).

Se sabe que el sistema serotoninérgico interactúa extensivamente con el sistema colinérgico (Cassel y Jeltsch. 1995; Steckler y Sahgal. 1995), noradrenérgico, GABAérgico y dopaminérgico (Lanctôt *et al.* 2001).

Diversos estudios sugieren que la facilitación o inhibición de mecanismos serotoninérgicos modifica la formación de la memoria, la cognición e incluso el aprendizaje espacial, tomando como ejemplo la investigación concerniente al receptor 5-HT_{1A} (Buhot. 1997; Meneses. 1999; Meneses y Perez-García. 2007); lo cual es

consistente con el hecho de que la Enfermedad de Alzheimer parece estar asociada con una disminución del número de transportadores serotoninérgicos en varias áreas cerebrales como lo son el raphe dorsal, hipocampo y corteza entorrhinal (Arnsten y van Dyck. 1997; Azmitia y Whitaker-Azmitia. 1997; Solodkin y Hoesen. 1997).

Otros estudios, tanto en animales como en seres humanos, demuestran que los mecanismos del transportador de serotonina (5-HT_T) representan un blanco terapéutico para el tratamiento de disfunciones cognitivas (Meneses, 2007). De hecho, los sitios de recaptura de 5-HT han sido implicados en el aprendizaje y la memoria (Meneses. 2002; Téllez. 2008). Así, la administración post- pero no pre-entrenamiento de inhibidores de la recaptura de serotonina, como la fluoxetina, facilitan la consolidación de la memoria (Meneses, 2002; Téllez. 2008) e incluso la memoria a corto y largo plazo.

Además, se ha encontrado que la administración sistémica de antagonistas a receptores 5-HT_{1A} pueden facilitar el rendimiento cognitivo, esto debido a un mejoramiento de las neurotransmisiones colinérgicas y glutamatérgicas hipocampales/corticales (Madjid *et al.* 2006).

Por otra parte, se ha demostrado que una concentración elevada en los niveles de serotonina cerebral, aumenta la cognición en animales y seres humanos; mientras que la disminución de estos niveles, posiblemente debido a una depleción aguda de triptófano, empeora dicha cognición (Haider *et al.* 2006., Sambeth *et al.* 2007) lo cual probablemente involucra los sitios de recaptura de 5-HT y algunos de los receptores de este neurotransmisor (Meneses, 2007).

En las patologías de memoria, como la Enfermedad de Alzheimer los niveles corticales, la recaptura y la liberación estimulada de 5-HT se encuentran reducidos (Palmer y DeKosky. 1993).

1.4. Patologías de la memoria

Durante la historia del hombre se han descrito diferentes enfermedades concernientes a la cognición y memoria. Es así como se ha tratado de entender los mecanismos por los cuales se almacena la memoria dentro del cerebro o si hay regiones específicas para el desarrollo de la misma y poder definir un tratamiento eficaz a dichas patologías.

Se sabe que existen diferentes condiciones orgánicas que pueden afectar la memoria, tanto provocadas por algún accidente o ablación quirúrgica que afecte ciertas zonas cerebrales, trastornos agudos producidos por interferencias con la actividad cerebral como la encefalitis, la isquemia, terapia electroconvulsiva y toxemias, o patologías degenerativas crónicas clásicamente, aunque no exclusivamente, asociadas en pacientes de edad avanzada, como el Alzheimer, y que pueden ser producidas por tumores o el abuso crónico de sustancias como el alcohol o sustancias de abuso.

A continuación se enlistan algunas de las patologías clásicas de la memoria y cognición.

1.4.1. Demencia

La demencia se ha descrito como una disminución crónica de las habilidades cognoscitivas no asociadas al envejecimiento normal. Ésta patología es resultado de una degeneración de las funciones corticales y subcorticales que pueden ser asociadas a diversas causas (Gotz *et al.* 2006).

1.4.2. Amnesia

La amnesia, que es considerada un tipo de demencia, está definida como la deficiencia en la capacidad de aprender nuevos hechos y eventos (amnesia anterógrada), que ocurre en condiciones en las que se mantienen intactas las habilidades intelectuales como leer, hablar o escribir. Esta deficiencia se puede extender para la información verbal como la no verbal y/o para cualquier material presentado de manera sensorial.

También se puede citar la amnesia retrógrada que es referida a la pérdida de la memoria de hechos y eventos de periodos previos al surgimiento de la amnesia.

Cabe resaltar que muchos de los pacientes amnésicos son capaces de realizar tareas de memoria de manera normal, recordando cierta información inmediata. La dificultad para estos pacientes es el almacenaje de memoria a largo plazo (MLP) que es el tipo de memoria que comúnmente se daña con la amnesia y que depende íntimamente de los sistemas cerebrales alterados (Bermúdez y Prado, 2001).

1.4.3. Enfermedad de Alzheimer

La enfermedad de Alzheimer (**EA**), también denominada mal de Alzheimer o Alzhéimer es una enfermedad neurodegenerativa descrita por Emil Kraepelin y observada de manera inicial por Alois Alzheimer en 1906. Esta enfermedad se manifiesta como deterioro cognitivo y por trastornos conductuales dado por la pérdida progresiva y selectiva de neuronas, y por la formación anormal de placas amiloides neuríticas en la edad madura. Esta degeneración progresiva resulta en una atrofia de las regiones cerebrales afectadas. La enfermedad suele tener una duración media aproximada de 10-12 años, aunque esto puede variar. La EA resulta ser un desorden multisistémico neuronal en donde el sistema colinérgico, monoaminérgico y de neurotransmisión peptídica resultan afectados (Cacabelos. 1988; De Onodera. 1994).

Aunque en realidad no existe un tratamiento efectivo contra los trastornos de memoria, se han sugerido varios tratamientos para aminorar los efectos de la falta de memoria. Los agentes del grupo de anticolinesterasas forman un soporte estándar para la terapéutica de la EA (Lleo *et al.* 2006; Trinh *et al.* 2003). Esto es porque el bloqueo de la acción de la acetilcolinesterasa, permite el mantenimiento de la actividad colinérgica y así, su interacción con los receptores sinápticos.

1.4.4. Esquizofrenia

La esquizofrenia (del griego, *schizo* (σχίζω): "escisión" y *phrenos* (φρήν, φρεν-): "mente") es un diagnóstico psiquiátrico de tipo crónico y severo que describe un grupo de trastornos mentales, en personas con alteraciones en la percepción o la expresión de la realidad; afecta aproximadamente al 1% de la población (Reitz *et al.* 1994; Bhugra D., 2006).

La esquizofrenia se caracteriza por una mutación sostenida de varios aspectos del funcionamiento psíquico del individuo, principalmente de la conciencia de realidad, y una desorganización neuropsicológica (laxitud asociativa) más o menos compleja, en especial

de las funciones ejecutivas, todo esto lleva a una dificultad para mantener conductas motivadas y dirigidas a metas, alteraciones afectivas, del lenguaje y conductuales que llevan a una disfunción social significativa.

Los síntomas suelen presentarse en adultos jóvenes y el diagnóstico, aunque complicado ya que ninguno de los síntomas es patognomónico a ésta condición, inherente a esta patología, suele estar basado en las experiencias reportadas por el mismo paciente o su comportamiento frente al examinador (Bermudez y Prado 2001).

Los fármacos que se utilizan para el tratamiento de la esquizofrenia son el haloperidol, la clozapina y la risperidona (Reitz *et al.* 1994). El haloperidol tiene eficacia parcial. Entre sus efectos secundarios más importantes están los trastornos mayores de movimiento, llamados efectos secundarios extrapiramidales (EPS, por sus siglas en inglés). La clozapina, que se une a los receptores D₄ y 5-HT₂ de serotonina, por el contrario, ha mostrado no tener estos EPS. Sin embargo causa una baja incidencia de agranulocitosis y requiere de evaluaciones sanguíneas periódicas en la terapia continua. En tanto que la risperidona antagoniza tanto a los receptores D₂ y 5-HT₂ y muestra menores EPS (Reitz *et al.* 1994).

Es así como una alternativa para disminuir este tipo de efectos es el uso de agentes que bloqueen la regulación a la alta del sistema dopaminérgico, en específico de los receptores tipo D₂ que han sido asociados con la esquizofrenia (Reitz *et al.* 1994; Boyfield *et al.* 1996) aunque algunos autores proponen que puede haber ventajas en el uso de compuestos con afinidad a múltiples receptores.

1.4.5. Enfermedad de Huntington

Enfermedad hereditaria autosómica dominante neurodegenerativa de ganglios basales cerebrales, que conlleva irremediablemente a la muerte (Bird., 1986; Browne., 1997).

Esta enfermedad se presenta entre los 30 y 50 años de edad, aunque esto puede variar. Produce una alteración cognoscitiva, psiquiátrica y motora, de lenta progresión durante un periodo de 15-20 años. Uno de los rasgos más extremos de esta enfermedad es el movimiento exagerado de las extremidades y la aparición de muecas repentinas. Además, se hace progresivamente difícil el hablar y el tragar.

En etapas finales de la enfermedad, la duración de los movimientos se alarga, manteniendo los miembros en posiciones complicadas y dolorosas durante tiempos que

pueden prolongarse a horas. Las facultades cognitivas disminuyen, así como la memoria y la capacidad de concentración empeora.

La enfermedad termina en una demencia fuerte, que puede llevar al suicidio. Se sabe que este mal está caracterizado por una reducción profunda de las células neuronales que conforman el estriado y el *globus pallidus* (Enna *et al.* 1977). Actualmente no existe cura para revertir los efectos de esta enfermedad (Deus-Yela *et al.* 1997).

1.4.6. Síndrome de Wernicke-Korsakoff

Descrito en 1888 por S. Korsakoff, es un desorden nemónico acompañado por daño cerebral, en el cual se pierde la memoria anterógrada reciente en mayor proporción. Algunos pacientes pueden denotar pérdidas en la memoria remota. Este tipo de mal está asociado a deficiencias en Vitamina B1 (tiamina) por desnutrición, por ejemplo en el alcoholismo crónico. Siendo así, el grupo de pacientes con lesiones en la región diencefálica más estudiados. Es así como se conoce que este trastorno puede ser debido a lesiones en el hipotálamo y lóbulo frontal. Este tipo de pacientes se presentan apáticos o planos y tienden a la confabulación, que es el llenado de lagunas nemónicas con historias inventadas (Kopelman. 1995; Bermudez y Prado 2001).

1.4.7. Enfermedad de Parkinson

La enfermedad de Parkinson es una enfermedad degenerativa del sistema nervioso central, caracterizada por una gama de rasgos motores y no motores que pueden impactar en la función normal del individuo en diferentes grados de intensidad. Es producida por la pérdida de neuronas en la *substancia nigra* y la disfunción de los circuitos neuronales relacionados con el control de los movimientos corporales.

Es un trastorno propio de personas de edad avanzada, mayores de 60 años, aunque existen formas de inicio juvenil, donde se han reportado casos desde los 35 años. Su evolución es lenta y varía entre los 10 a 25 años. Los factores de riesgo para su desarrollo y evolución comprenden: antecedentes familiares, sexo masculino, exposición a plaguicidas, consumo de agua no procesada y habitar en medio rural (Jankovic. 2008).

1.5. Experimentos para la Evaluación de la Memoria

Se han propuesto diferentes modelos para la evaluación de nuevas sustancias con posible actividad en procesos de memoria. Entre ellas destacan:

- **Automoldeamiento (*Autoshaping*)** (Barret y Vanover. 2003).
- **Aversión condicionada al sabor** (Didai. 1989).
- **Reconocimiento de objeto novedoso** (Ennanceur y Delacour. 1988).
- **Laberinto de Agua de Morris** (Morris. 1984).
- **Pruebas de evitación activa y pasiva** (Cammarota. *et al.* 2005).

1.5.1. Prueba de evitación pasiva

En el protocolo de evitación pasiva (EP), también llamado evitación inhibitoria de un solo proceso, los animales aprenden a no pasar a una plataforma para prevenir así un shock ligero en sus patas. Esto puede ser tomado como parte de la memoria explícita. Este modelo será el utilizado en las pruebas de memoria del presente trabajo.

El aparato consiste en una caja de acrílico de dos compartimentos, un compartimento de luz y otro oscurecido (de color negro); entre ellos hay una puerta de guillotina. El animal en estudio, generalmente un roedor, es colocado en el compartimento de luz de manera que éste quede viendo a la pared opuesta a la puerta de guillotina. Esta puerta se abre automáticamente, después de un tiempo definido, permitiendo al animal pasar al compartimento oscurecido. En el momento en que el animal cruza al compartimento oscurecido la puerta se cierra y, sólo durante el entrenamiento, se le castiga con cierto estímulo negativo; por ejemplo: una descarga eléctrica por cierto tiempo, empaparle con agua fría (Sakaguchi. 2006). Inmediatamente después de esto, el animal es sacado del compartimento oscurecido (Jarvik y Kropp. 1967; Vogel *et al.* 2002).

La adquisición rápida de los datos facilita el análisis de los eventos bioquímicos envueltos en la formación de la memoria. En las condiciones óptimas, el experimento no puede ser alterado por otros factores externos o modificado por otros experimentos o ensayos.

El experimento depende de la actividad integral del hipocampo (específicamente en el CA1), la corteza entorhinal y posterior parietal; es modulado inicialmente por la amígdala y el séptum medial e indirectamente por las hormonas del estrés. Además, no

es un experimento modelo de memoria implícita, ya que el animal no está realizando un hábito.

Así, la evitación pasiva es un tipo de aprendizaje donde participan diferentes tipos de estímulos incluyendo la percepción espacial y visual, sensibilidad al dolor, y los componentes emocionales referentes al miedo. Por lo tanto, éste envuelve una represión específica de la tendencia natural del animal al reconocimiento de un ambiente nuevo, sin afectar el rendimiento de su comportamiento mientras se encuentra seguro, que es la parte no adversa de la caja (Cammarota *et al.* 2005).

Se ha propuesto que la administración de fármacos que afecten rápida, específica y reversiblemente los eventos bioquímicos que se desencadenan en el proceso de memoria, es una forma adecuada para poder abordar el estudio en la prueba de evitación pasiva, ya que el uso de lesiones o modificaciones genéticas podría llevar a consecuencias duraderas y/o permanentes que podrían afectar significativamente el estudio (Cammarota *et al.* 2005).

Además, se ha propuesto la evaluación de los efectos de los fármacos manteniendo constante la prueba de comportamiento, el sitio de infusión y la especie animal constante mientras se varía la dosis o el tipo de fármaco usado. Puede ser un protocolo factible para la evaluación de un compuesto en el proceso de memoria (Meneses. 1999, 2003).

Es así como cada uno de los protocolos de administración expuestos en el presente trabajo estarán enfocados a la investigación de las diferentes fases de la memoria. De tal manera se puede explorar la Adquisición, la Consolidación y la Formación de la memoria (McGaugh. 1989; Meneses. 1999, 2003; Meneses y Hong. 1997). Los resultados dependerán de los receptores implicados en la memoria, afectados (Meneses. 1999).

Se ha propuesto que la administración previa al entrenamiento podría afectar la **Adquisición** y/o reflejar cambios no específicos (por ejemplo, motivación, percepción, actividad motora).

En la administración después del entrenamiento se obtendrán cambios de comportamiento y/o neurobiológicos que pueden ser atribuidos a mecanismos relacionados con la memoria, dado que la información ya ha sido adquirida y almacenada.

Se ha encontrado que algunos fármacos, particularmente antagonistas muscarínicos y glutamatérgicos, bloquean tanto la Memoria a Corto Plazo como la Memoria a Largo Plazo (Cammarota *et al.* 2005).

Se conoce también que la administración pre-entrenamiento de antagonistas del receptor 5-HT_{1A}, aumentan la latencia en la prueba de EP. Además, ligandos de los receptor 5-HT_{1A} administrados post-entrenamiento no producen cambios sensibles en la latencia en esta prueba.

Estos resultados sugieren que en la prueba de EP hay un tono serotoninérgico que envuelve a los receptores 5-HT_{1A} y que el efecto facilitador de los antagonistas de los receptores 5-HT_{1A} es dependiente de las áreas del cerebro y de la fase de memoria (Izquierdo *et al.* 2006).

Notablemente, se ha reportado que la administración pre-entrenamiento sistémica (subcutánea) de la 8-OH-DPAT facilita el aumento en la latencia en la prueba de EP a dosis bajas (0.01 y 0.03 mg/kg) en ratones, pero daña la retención en esta prueba a dosis altas (0.1–1.0 mg/kg) (Madjid *et al.* 2006).

Ciertamente, algunos de estos efectos son mediados por la amígdala y/o por el hipocampo. Por ejemplo, la administración sistémica o intraamígdala de agonistas parciales 5-HT_{1A}, como la buspirona, o totales como el 8-OH-DPAT modifican la latencia en esta tarea (Liang. 1999).

1.6. Modelos de trastornos de memoria (Amnésia)

Se ha demostrado que en tareas cognitivas con sujetos humanos y no humanos que se encuentran en un contexto que ha sido alterado después del entrenamiento, resulta en déficits de recuperación de la memoria (Smith. 1979; Spear *et al.* 1980; Kissinger y Riccio. 1995).

Se ha propuesto también que el tipo de entrada contextual de la información puede mediar la expresión de la memoria. Así, se puede decir que una respuesta condicionada tiene mayor probabilidad de ser obtenida en presencia de entradas contextuales específicas, es decir, aquellas que estuvieron presentes durante la sesión de entrenamiento. Así como sucede con los cambios contextuales externos, entradas de información con cambios internos o interoceptivos pueden llevar también a alteraciones profundas de la recuperación de la memoria.

Se han estudiado diferentes agentes farmacológicos que producen alteraciones en la memoria, al igual que condiciones hipo- o hipertérmicas, o con el uso de choques electroconvulsivo antes o durante el entrenamiento. Es por esto que una pérdida de la memoria, en individuos que tienen un estado interno alterado durante el entrenamiento, es considerado como una pérdida en la capacidad de recuperar esta información (Bouton. 1994; Spear y Ricco. 1994).

Los modelos de trastornos de memoria expuestos en este trabajo estarán enfocados en tres sistemas de neurotransmisión: colinérgico, NMDA-glutamatérgico y serotoninérgico.

1.7. Fármacos Nootrópicos

La palabra nootrópico está formada por *νοοσ* (*noos*), mente y *τροπος* (*tropos*) vuelta, encender, por lo que un fármaco nootrópico es aquella sustancia que ayuda a (Giurgea. 1980, 1982):

- Aumentar la memoria y el aprendizaje
- Facilitar el flujo de la información en el cerebro entre sus hemisferios.
- Aumenta la resistencia cerebral a daño químico y físico.
- Mejorar la falta o incrementa la poca actividad psicológica y cardiovascular.

Son compuestos originalmente de origen sintético, aunque se ha asociado esta actividad a productos naturales. Se utilizan para mejorar la capacidad cognitiva y/o mejorar la capacidad de retención de memoria tanto en sujetos sanos como en los sujetos con diferentes trastornos de memoria (Goulijev y Senning. 1994).

1.7.1. Racetams

Los derivados de pirrolidona, también llamados Racetams, son los fármacos que ocupan un lugar importante como parte de la posología típica para el tratamiento de trastornos como el Alzheimer y la demencia senil (Gheraldini *et al.* 2002).

Éstos compuestos son utilizados para aumentar la concentración, el funcionamiento cognitivo, la retención de la memoria y la capacidad para resolver problemas con poca o nula estimulación central (Fletcher. 1997). Se han encontrado reportes que, además, aumentan la Potenciación a Largo Plazo en el hipocampo (Sato *et al.* 1986; Pugliese *et al.* 1990). Un perfil farmacológico favorable, es decir, baja toxicidad, efecto sedante o estimulante despreciable y baja incidencia a otro tipo de efecto secundario o colateral con el uso de psicoestimulantes, conlleva al interés en la investigación de la acción de estos agentes nootrópicos, en modelos de condiciones neurodegenerativas e incluso en etapas avanzadas de investigación, en condiciones neurodegenerativas humanas (Gheraldini *et al.* 2002).

El Piracetam (2-pirrolidoneacetamida) es un fármaco que ha demostrado ser eficaz para revertir la amnesia inducida, ya sea por el pretratamiento de Escopolamina,

Diacepam, shock eléctrico o hipoxia en pruebas de memoria en ratones (Lenègre. 1988). También se le atribuyen propiedades protectoras contra la intoxicación con barbitúricos e incluso se ha encontrado benéfico en pacientes con demencia menor o moderada (Herrmann *et al.* 1991). Sin embargo, no se ha encontrado afinidad del piracetam o de sus derivados hacia los receptores α_1 , α_2 , β (adrenérgicos), muscarínicos, dopamina, adenosina, μ -opioides, GABA (con excepción del nefiracetam), benzodiazepínicos ni glutamato. Aún así, varios estudios han revelado cambios significativos en la actividad de algunos neurotransmisores aunque no se ha propuesto una teoría aceptable de su mecanismo de acción farmacológica.

Algunos autores proponen que el efecto de los racetams, es debida a una potenciación de la neurotransmisión, siendo clara una modulación del influjo de iones. Ya sea, por ejemplo, por una potenciación del flujo de sodio mediante canales diferentes al tipo L voltaje dependientes, potenciación del flujo de sodio por receptores del ácido alfa-amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolepropiónico operados por canales o canales voltaje-dependientes, o por una disminución en el flujo de potasio. Se ha sugerido también que su actividad puede estar dada por efecto en el transporte de iones mediado por acarreadores.

Estudios clínicos del piracetam han demostrado que los tratamientos largos y a dosis elevadas ayudan a disminuir los síntomas clínicos severos de la enfermedad del Alzheimer y que tienen una eficacia comparable con la terapia con inhibidores de acetilcolinesterasa (Goulijev y Senning. 1996).

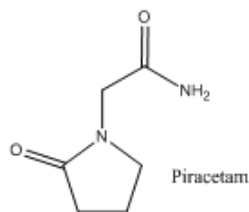


Figura 8. Estructura del Piracetam

II. Justificación

Los desordenes asociados con la memoria y cognición constituyen un problema de salud actual, por lo que es de vital importancia encontrar nuevas alternativas terapéuticas con la capacidad de facilitar las habilidades de atención, adquisición, almacenamiento y recuperación de la información, además de atenuar el deterioro de la memoria asociadas con la edad (Gualtieri *et al.*, 2002). Considerando que algunas arilpiperazinas han constituido un grupo de compuestos activos en el sistema nervioso central, en particular sus propiedades sobre el sistema serotoninérgico y su participación en procesos de aprendizaje (Meneses, 2003), así como que algunas arilpiperazinas 1-monosustituidas, como la 1-(*o*-metoxifenil)piperazina y la 1-(*m*-clorofenil)piperazina bloquean la respuesta condicionada de evitación en rata; que la 1-(*o*-metoxifenil)piperazina es un ligando de los receptores 5-HT_{1A}, (Mokorsz *et al.* 1994) y que la 1-(*m*-trifluorometilfenil)piperazina (TFMPP) se ha identificado como agonista serotoninérgico, en un trabajo anterior realizado en la Facultad de Química (Téllez, 2005) en el que se evaluó la actividad nootrópica de una serie de 1-arilpiperazinas, el compuesto 1-(2-metil-4-metoxifenil)piperazina (MMFP) resultó con la mayor actividad. Por lo que se pensó en sintetizar este compuesto para valorar el efecto que podría tener sobre la memoria, así como también se consideró pertinente determinar si este compuesto tiene actividad en la Adquisición, Formación y Consolidación de la memoria y a su vez determinar si en su mecanismo de acción participan el sistema colinérgico, el sistema serotoninérgico y/o el sistema glutamatérgico.

III. Hipótesis

La 1-(2-metil-4-metoxifenil)piperazina (MMFP) se sintetizará en rendimientos adecuados a partir de la 2-metil-4-metoxianilina y la bis 2-cloroetilamina. La MMFP mejorará los procesos de memoria a corto plazo (MCP), memoria a largo plazo (MLP) en la Formación, Adquisición y Consolidación de la Memoria. La actividad de la MMFP estará dada ya sea favoreciendo la actividad colinérgica, reduciendo la actividad dopaminérgica sobre los receptores NMDA o reduciendo la actividad serotoninérgica sobre los receptores 5-HT_{1A}. Así mismo, la MMFP no presentará otros efectos neurofarmacológicos como sedación, miorrelajación, anticonvulsivante y sobre la coordinación motora, para sustentar mejor su efecto sobre la memoria en el modelo conductual de evitación pasiva.

IV. Objetivos

- Realizar la síntesis de la 1-(2-metil-4-metoxifenil)piperazina (MMFP) a partir de la 2-metil-4-metoxianilina y la bis 2-cloroetilamina.
- Realizar la evaluación farmacológica *in vivo* de la MMFP sobre procesos de memoria a corto plazo, memoria a largo plazo en los procesos de adquisición, consolidación y formación de la misma, así como realizar la exploración de la participación de los sistemas colinérgico, dopaminérgico y serotoninérgico en tales procesos en ratones ICR, utilizando el modelo de evitación pasiva.
- Realizar la evaluación de los efectos neurofarmacológicos: sedante, miorrelajante, anticonvulsivante y sobre la coordinación motora.

V. Materiales y Métodos

5.1. Procedimientos generales

5.1.1. Aparatos

El punto de fusión se determinó en un Aparato Fisher-Johns. El espectro de IR fue obtenido en pastilla de KBr en el equipo FT/IR modelo Spectrum RXI Perkin Elmer con resolución de 4 cm^{-1} . Rango de $4000\text{-}400\text{ cm}^{-1}$. El espectro de Masas fue obtenido por impacto electrónico positivo en un equipo JEOL JMS-AX505 HA Mass Spectrometer IE a 70eV , filamento de 100 mA . Los espectros de RMN ^1H y RMN ^{13}C fueron obtenidos de un aparato Varian Gemini 200MHz, versión 2000 utilizando como disolvente D_2O . La prueba de RotaRod fue realizada en un RotaRod Ugo Basile Treadmill Modelo 47600. Para la prueba de evitación pasiva se utilizó un aparato Passive Avoidance Apparatus, Ugo Basile 7550.

5.2. Síntesis de la 1-(2-metil-4-metoxifenil)piperazina

Esquema de Reacción. El esquema de reacción seguido fue el siguiente:

5.2.1. Procedimiento

En un matraz redondo de 50 mL se agregó 1 mol de la 2-metil-4-metoxianilina, disuelta con 20 mL de butanol y posteriormente, con agitación moderada y continua, se agregó 1 mol de bis (2-cloroetil)amina. Se calentó a reflujo moderado por 48 h ; posteriormente, se determinó el avance de reacción por cromatografía en capa fina. Se agregaron 0.4 moles de carbonato de sodio; la reacción se calentó a reflujo moderado por 48 h más. El final de la reacción se determinó por cromatografía en capa fina. La mezcla de reacción se filtró al vacío, efectuando lavados con 3 porciones de 10 mL de metanol caliente, posteriormente

el disolvente se evaporó al vacío. El sólido obtenido se recristalizó con metanol y se guardó en un frasco ámbar.

5.3. Evaluación farmacológica

5.3.1. Fármacos y Sustancias

Los compuestos 2-metil-4-metoxianilina, buspirona, clorhidrato de escopolamina, maleato de dizocilpina, pentilene-tetrazol, clorhidrato de bis (2-cloroetil)amina, y piracetam fueron adquiridos de Sigma Aldrich. El clorhidrato de escopolamina fue adquirido de Fluka Biochemika. Los compuestos derivados de las 1-arilpiperazinas fueron sintetizados previamente en el Laboratorio 126 de la Facultad de Química, Edificio de Bioquímica y Farmacia.

5.3.2. Animales

En este estudio se utilizaron ratones ICR Macho 25-30 g, adquiridos en el Centro UNAM-Harlan (Harlan de México S.A de C.V) y mantenidos a una temperatura constante de $22 \pm 1^\circ\text{C}$, con ciclos de luz/oscuridad de 12 horas y con acceso a la comida y al agua *ab libitum* antes, durante y después de cada experimento.

El manejo, mantenimiento y experimentación con los animales fueron realizados en concordancia con la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999.

Se trabajó entre las 9:00 y 15:00 h para experimentos de comportamiento. Para los experimentos de evitación pasiva los ratones fueron habituados por 15 minutos a la oscuridad disminuyendo, lo más posible, la luz del cuarto y manteniéndolos sin estrés antes de empezar cualquier experimento. Los experimentos se realizaron con el menor ruido posible. Todos los experimentos se realizaron en lotes de 6 a 10 animales por grupo.

5.3.3. Dosificación

Los fármacos y compuestos puros se disolvieron en solución salina, agitados en un vórtex (Thermoline MAXI MIX Plus) hasta su completa disolución. Los fármacos fueron preparados minutos antes de realizar los experimentos y fueron administrados por vía intraperitoneal. El diazepam (Roche) fue disuelto primero en alcohol etílico y después se hizo la solución agregando lentamente solución salina de tal manera que la concentración de alcohol en la solución fuera de 10%. Todos los tratamientos se administraron en un volumen constante de 0.1 mL/10 g de peso corporal.

5.3.4. Experimentos de memoria

5.3.4.1. Aparato de Evitación Pasiva

El aparato de Evitación pasiva consiste de dos compartimientos. El primero, es un compartimiento blanco e iluminado (18 x 9.5 x 16 cm), y el segundo es un compartimiento oscuro (18 x 9.5 x 16 cm), separados por una puerta de guillotina. El piso del compartimiento oscuro está hecho con una rejilla con barras de acero de 0.3 cm de diámetro, separadas a una distancia de 1.2 cm (Eidi *et al.*, 2003).



Imagen I. Equipo de Evitación Pasiva

5.3.4.1.1. Entrenamiento

La prueba se inicia colocando al animal en el compartimiento iluminado, al transcurrir 10 segundos la puerta corrediza que se encuentra entre ambos compartimientos se abrió, dejando el libre acceso al compartimiento oscuro, una vez que el ratón entró a dicho compartimiento, se cerró la puerta automáticamente y también automáticamente se le aplicó un estímulo por medio de un choque eléctrico de 0.3 mA de intensidad durante 2 segundos. Se midió el tiempo de latencia inicial, que es el tiempo que tardó el ratón en pasar del compartimiento iluminado al oscuro una vez que se abrió la puerta. Los

animales que tardaron más de 100 segundos en entrar al compartimiento oscuro, fueron eliminados de la prueba. (Mainberg-Aiello *et al.*, 2000). Después de la aplicación del estímulo (choque eléctrico), se retiró al animal del compartimiento oscuro y se regresó a su jaula habitación.

5.3.4.1.2. Protocolo de evaluación inicial

En la evaluación inicial se determinó la actividad nootrópica de diversas aril-piperazinas sintetizadas con diferentes sustituyentes en el anillo aromático: *p*-bromofenilpiperazina (*p*-BPP), *m*-clorofenilpiperazina (*m*-CPP), *p*-clorofenilpiperazina (*p*-CPP), 3,5-diclorofenilpiperazina (3,5-DCPP), 3,4-(metilendioxi)fenilpiperazina (3,4-MDXPP), 1-(2-metil-4-metoxifenil)piperazina (MMPP), 1-naftilpiperazina (1-NPP) y 3-nitrofenilpiperazina (3-NPP), en ratones macho de la cepa ICR. Los compuestos se administraron por vía intraperitoneal (*i.p.*, 0.1 mg/10 g peso) y se utilizaron dosis en incrementos logarítmicos (0.1-100 mg/kg, *n*=10 por dosis); como fármaco de referencia se utilizó piracetam y como control se utilizó solución salina 0.9%.

En este protocolo el compuesto a estudiar o el vehículo se administraron en el lado derecho del peritoneo 30 minutos antes del **Entrenamiento** y se realizó la administración post-entrenamiento de Escopolamina (0.1 mg/kg; *i.p.*) con la finalidad de producir amnesia en los ratones utilizados. Al día siguiente (24 h después) se llevó a cabo la sesión de retención para evaluar memoria a largo plazo y se cuantificó el tiempo de latencia. Durante esta sesión de prueba no se aplicó el choque eléctrico.

5.3.4.1.3. Adquisición de la Memoria

Con base en los resultados de la evaluación inicial, en este protocolo la **1-(2-metil-4-metoxifenil)piperazina** se administró por vía *i.p.* a la dosis de 0.56 mg/kg 30 minutos antes del entrenamiento. Después de una hora y media del entrenamiento cada uno de los animales de prueba se metió nuevamente en el aparato para evaluar la memoria a corto plazo y veinticuatro horas después para evaluar la memoria a largo plazo. Como fármaco de referencia se utilizó piracetam a la dosis de 100 mg/kg y se incluyó un grupo control tratado con el vehículo, siguiéndose el mismo protocolo para ambos. En las evaluaciones de la memoria a corto plazo y la memoria a largo plazo ya no se aplicó electrochoque, se tomó como tiempo máximo de evitación siete minutos.

5.3.4.1.4. Formación de la Memoria

En este protocolo la **1-(2-metil-4metoxi-fenil)piperazina** se administró a la dosis de 0.56 mg/kg justo después del entrenamiento al sacar a los animales del aparato de evitación pasiva después de aplicar el electrochoque. Posteriormente se midió la memoria a corto plazo y la memoria a largo plazo en la forma como se describió antes. También se utilizó como fármaco de referencia el Piracetam a la dosis de 100 mg/kg y el grupo control fue tratado con el vehículo.

5.3.4.1.5. Consolidación de la Memoria

En este protocolo los animales se entrenaron como se describió antes, se midió la memoria a corto plazo y 30 minutos antes de medir la memoria a largo plazo se administró la **1-(2-metil-4metoxi-fenil)piperazina**. Después de esto se midió la memoria a largo plazo. El piracetam se administró bajo el mismo protocolo a la dosis de 100 mg/kg.

5.3.4.2. Experimentos de deterioro de memoria

5.3.4.2.1. Tratamiento con escopolamina

Siguiendo el protocolo de Adquisición y Formación de la memoria, la escopolamina se administró a la dosis de 0.1 mg/kg 5 minutos antes de la administración de la MMFP a la dosis de 0.56 mg/kg, ambos por vía intraperitoneal. Asimismo, se administró solución salina 5 minutos después de la administración de escopolamina, en el grupo control de escopolamina. La evaluación del efecto de la escopolamina no se realizó en el protocolo de consolidación de la memoria ya que la MMFP no presentó efecto.

5.3.4.2.2. Tratamiento con dizocilpina

La dizocilpina a la dosis de 0.003 mg/kg se administró 5 minutos antes de la administración de la MMFP a la dosis de 0.56 mg/kg, ambos por vía intraperitoneal, siguiendo el protocolo de Adquisición y Formación de la memoria en la forma antes

descrita. Asimismo, se administró solución salina 5 minutos después de la administración de dizocilpina, en el grupo control de dizocilpina.

5.3.4.2.3. Tratamiento con buspirona

La Buspirona a la dosis de 0.1 mg/kg se administró 5 minutos antes de la administración de la MMFP a la dosis de 0.56 mg/kg, ambos por vía intraperitoneal, siguiendo el protocolo de de Adquisición y Formación de la memoria en la forma antes descrita. Asimismo, se administró solución salina 5 minutos después de la administración de buspirona, en el grupo control de buspirona.

5.3.5. Perfil neurofarmacológico

5.3.5.1. Efecto anticonvulsivante

Se formaron grupos de 6 animales por dosis. El experimento se inició administrando el compuesto a evaluar a los ratones por vía *i.p.* 30 minutos antes de administrar por la misma vía, del lado contrario, a una dosis de 120 mg/kg de pentilentetrazol (PTZ) en un volumen de 0.1 ml/10g de peso de ratón. Los animales se colocaron en una caja de plástico para determinar la ocurrencia de la convulsión clónica, tónica y muerte. Se registró el tiempo en que se presenta cada uno de estos eventos (González-Trujano *et al.*, 2001). La MMFP se evaluó a las dosis de 0.1, 0.3, 0.56, 0.75 y 1 mg/kg, todas administradas por vía intraperitoneal.

5.3.5.2. Efecto sedante

La actividad sedante se evaluó utilizando el modelo de cilindro de exploración. Consistente en un cilindro de vidrio de 11 cm de diámetro y 30 cm de alto. La MMFP se administró por vía intraperitoneal 30 minutos antes de realizar la prueba a las dosis de 0.1, 0.3, 0.56, 0.75 y 1 mg/kg. Después de administrar el fármaco el ratón se colocó dentro del cilindro de vidrio y se registró el número de levantamientos realizados durante un periodo de 5 minutos. El aparato se limpió con un trapo impregnado con una solución hidroalcohólica (Alcohol etílico al 10%) después de la sesión individual de cada ratón.

Como fármaco de referencia se utilizó diacepam a la dosis de 2.5 mg/kg administrado *i.p.* (Balderas *et al.* 2008).

5.3.5.3. Efecto miorrelajante

Para esta prueba se realizó una preselección de animales, que consistió en colocar a los ratones sujetos con sus patas delanteras a una barra de acero inoxidable de 2 mm de diámetro, colocada a una altura de 40 cm. Sólo se seleccionaron los animales que lograron sostenerse durante 30 segundos a la barra. Se evaluó la actividad miorrelajante de la MMFP a las dosis de 0.1, 0.3, 0.56, 0.75 y 1 mg/kg *i.p.* (n=6). Esta prueba se realizó 30 minutos después de la administración del fármaco. La prueba se repitió cada 10 minutos por 2 horas. Se utilizó Diazepam (2.5 mg/kg) como control positivo y solución salina como control negativo.

5.3.5.4. Efectos sobre la coordinación motora

Al igual que la prueba anterior se realizó una preselección de animales que consistió en colocar a los ratones en el Rota-Rod. Aquellos ratones que no completaron los dos minutos de entrenamiento se descartaron. Después de la administración *i.p.* del MMFP (n=6; 0.1, 0.3, 0.56, 0.75 y 1 mg/kg) se evaluó la coordinación motora de los mismos cada 10 minutos por 2 h. Como control positivo se utilizó diacepam a la dosis de 2.5 mg/kg *i.p.*

5.4. Tratamiento estadístico

Los resultados de las evaluaciones de memoria se representan como la Media Error \pm estándar de la Media para los 10 ratones por grupo. Todos los datos se analizaron por Análisis de Varianza de una o dos vías comparando Tipo de protocolo, tratamientos y tipos de memoria analizada con los valores de solución salina, fármacos perturbadores del proceso de memoria o controles positivos, en caso de que hubiese. Las pruebas se siguieron por la prueba de *Bonferroni*.

Los resultados de las demás evaluaciones se expresaron como la Media \pm Error estándar de la Media para los 6 ratones por grupo. En estos estudios todos los datos se

analizaron por Análisis de Varianza de una sola vía seguido por una prueba de *Tukey*, comparando con los valores de solución salina, o controles positivos, en caso de que hubiese.

En todas las pruebas estadísticas, valores *de* $P < 0.05$ se consideraron como significativos.

VI. Resultados y Discusión

6.1. Síntesis de la 1-(2-metil-4-metoxifenil)piperazina

Se obtuvo la 1-(2-metil-4-metoxifenil)piperazina (MMFP), que tiene la siguiente estructura:

Figura 9. Estructura de la 1-(2-metil-4-metoxifenil)piperazina.

La MMFP se obtuvo como cristales blancos ligeramente coloridos. El rendimiento de la reacción, después de que la MMFP se recrystalizó de metanol fue de 69%. El punto de fusión obtenido fue de 241 °C. Los espectros de IR, masas, ^1H RMN y ^{13}C RMN se muestran en los Anexos correspondientes, los datos espectroscópicos obtenidos fueron los siguientes:

EM-IE m/z (%): M^+ 206 ($\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{ON}_2$) (43), 164 [M-42] (PB), 149 [M-42-15] (8), 134 [M-42-15-15](30), 91(4), 77(4) (Anexo 2).

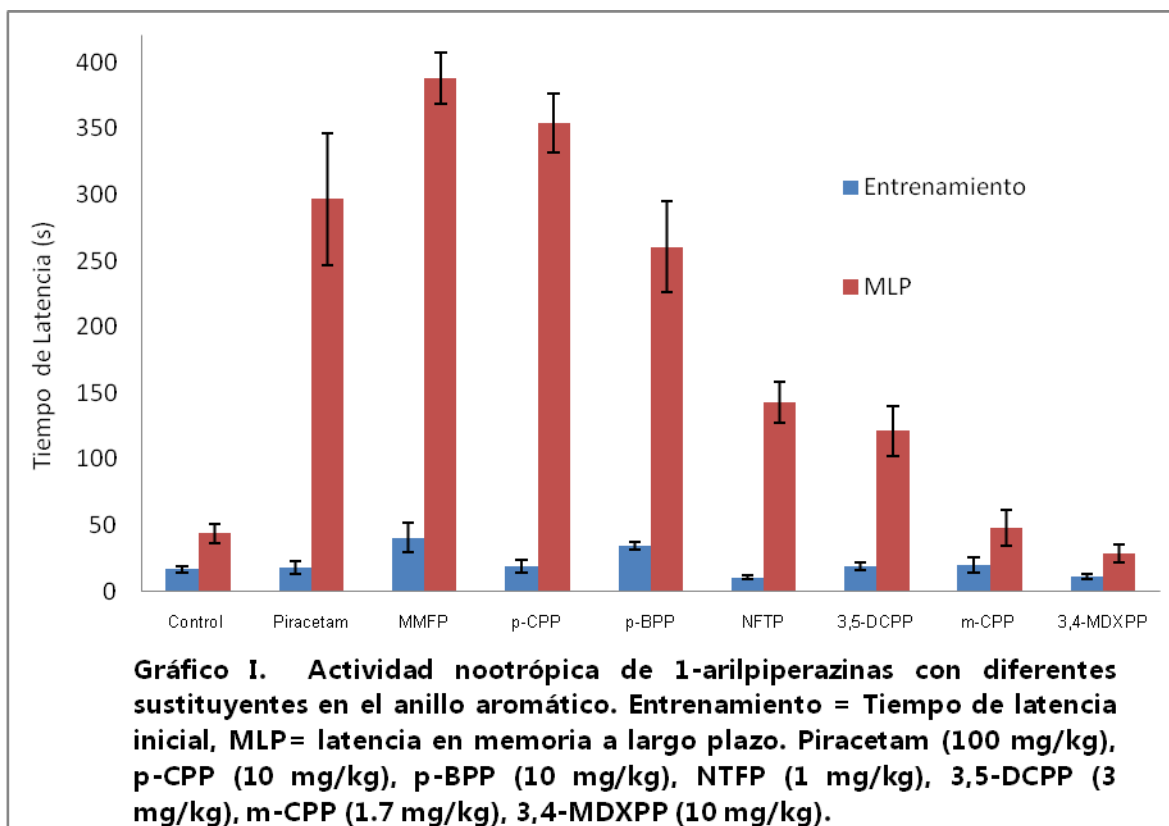
RMN ^{13}C δ ppm: 17.710 ($\underline{\text{C}}\text{H}_3\text{-Ar}$), 44.763($\underline{\text{C}}_3$, $\underline{\text{C}}_5$), 49.678 ($\underline{\text{C}}_2$, $\underline{\text{C}}_6$), 56.309 ($\underline{\text{C}}\text{H}_3\text{-O-Ar}$), 112.569 ($\text{C}6'$), 117.667 ($\text{C}5$), 121.384 ($\text{C}3'$), 135.661 ($\text{C}2'$), 144.249 ($\text{C}1'$), 156.342 ($\text{C}4'$) (Anexo 3).

RMN ^1H (200MHz). 6.96 (H-6', d, J=8.8); 6.74 (H-3', d, J=3); 6.67 (H-5', dd, J=8.8, 3); 3.62 (-O- CH_3 , s); 3.25 (H-2,H-6, m); 2.95 (H-3,H-5, m), 2.124 ($\text{CH}_3\text{-Ar}$, s) (Anexo 4).

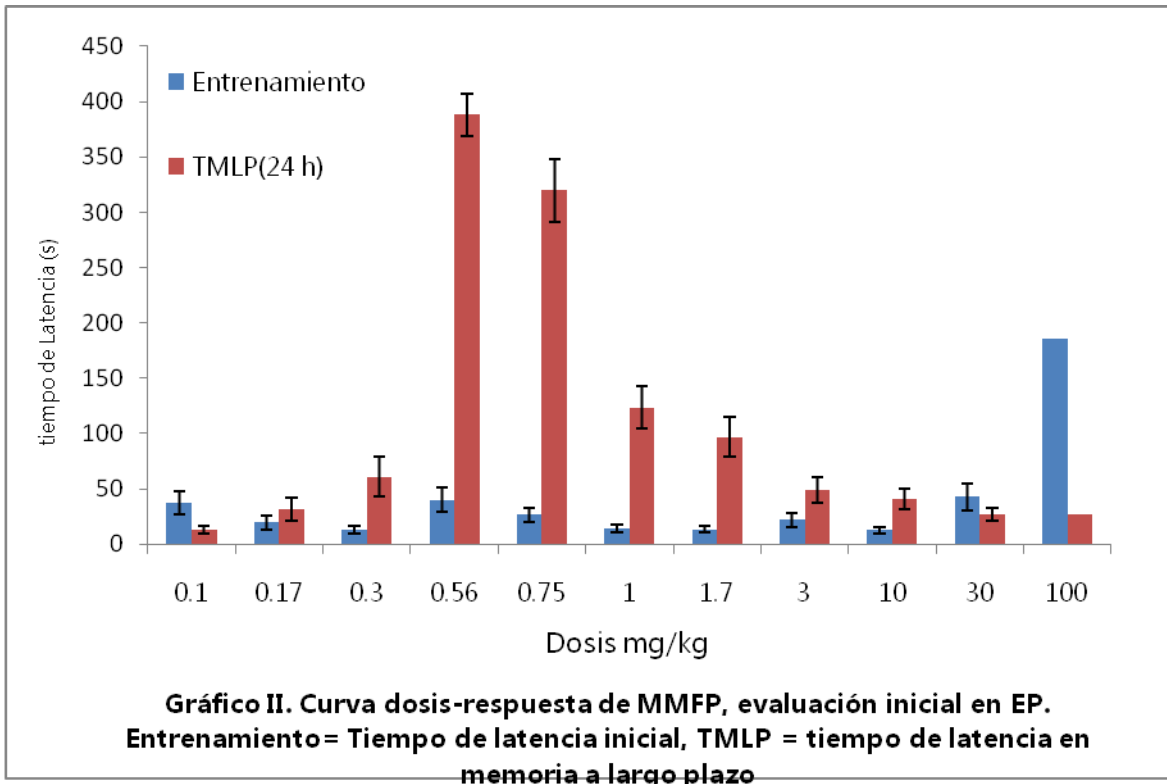
La síntesis de la piperazina obtenida consiste en una reacción de sustitución nucleofílica $\text{S}_{\text{N}}2$. El nitrógeno de la anilina sustituida actúa como nucleófilo al tener un par de electrones no compartido, y, por tanto, tiene la capacidad de reaccionar con compuestos electrófilos, en este caso la bis (2-cloroetil)amina. Así, los dos átomos de Cl presentes en la bis (2-cloroetil)amina le confieren una carga parcial positiva a los átomos de carbono dando lugar a la formación del anillo de piperazina.

6.2 Evaluación biológica

En experimentos previos en el laboratorio 126 de la Facultad de Química, se evaluó la actividad nootrópica de una batería de compuestos derivados de la 1- arilpiperazina. Los resultados del efecto nootrópico máximo obtenido para cada compuesto evaluado se presentan en el Gráfico I.

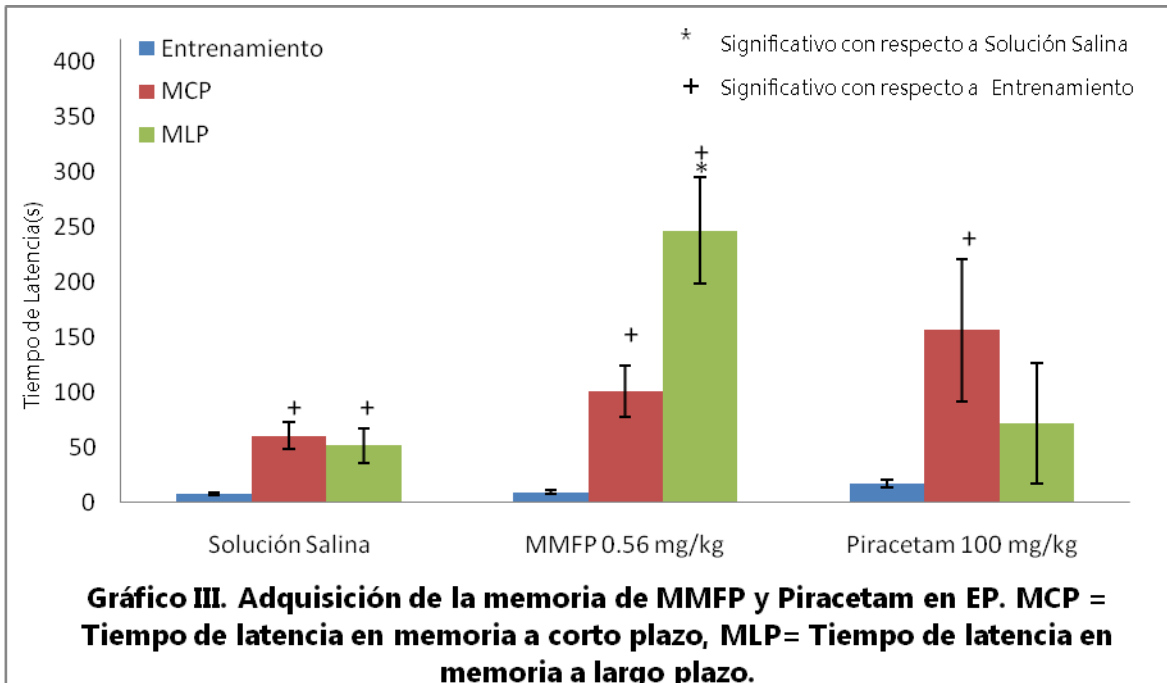


Como se puede observar en el Gráfico I el derivado de arilpiperazina que presenta una mayor eficacia y potencia es la 1-(2-metil-4-metoxifenil)piperazina (MMFP).



En el Gráfico II, se puede apreciar que la MMFP presenta una relación dosis respuesta bifásica de U invertida. A dosis altas (mayores a 30 mg/kg) se encontraron efectos no deseados de la arilpiperazina y el efecto no otrópico máximo se obtuvo a una dosis de 0.56 mg/kg. Por lo anterior, se eligió esta dosis de la MMFP para realizar la investigación de su efecto en la adquisición, formación y formación de la memoria.

El protocolo de Adquisición de la memoria se realizó con la finalidad de evaluar de qué manera se puede modificar la memoria administrando un fármaco antes de que el animal reciba la información a retener. En el caso del modelo utilizado, la prueba consiste en evitar el estímulo negativo del choque eléctrico. Como se muestra en el Gráfico III, en el grupo control el tiempo de latencia aumenta del entrenamiento a la MCP y la MLP, existe una diferencia significativa en los diferentes tiempos de evaluación (Entrenamiento contra MCP y Entrenamiento contra MLP, lo cual indica que los animales aprenden a evitar el estímulo no civo y retienen la información hasta las 24 horas de prueba.



En este mismo grupo se puede apreciar que el tiempo de latencia disminuye a las 24 horas de prueba sin llegar al valor del entrenamiento. Lo anterior muestra que al no recibir un reforzamiento del estímulo los animales presentan el fenómeno de extinción (una forma de aprendizaje, en donde el animal se expone al mismo ambiente en donde recibe el estímulo nocivo sin la aplicación de éste) (Garelick y Storm. 2005).

Sin embargo, aún existe diferencia significativa entre el Entrenamiento y la MLP en el grupo control, lo cual indica que a pesar de presentarse la extinción los animales aún pueden retener parte de la información aprendida. Lo anterior se confirma al no haber diferencia significativa entre la MCP y la MLP, por lo que el nivel de información retenida aunque muestra una tendencia a disminuir en la MLP no llega a ser diferente significativamente con la MCP.

Además, la falta de significancia da un indicativo de que el proceso de memoria durante este período de prueba y en el modelo conductual utilizado se lleva a cabo de forma lineal, es decir, para que se adquiriera la MLP primero se debe adquirir la MCP y la adquisición de la memoria no se lleva a cabo mediante procesos independientes.

En este mismo Gráfico III se puede observar que con la MMFP el tiempo de latencia aumenta tanto en la MCP como en la MLP comparándose con el entrenamiento,

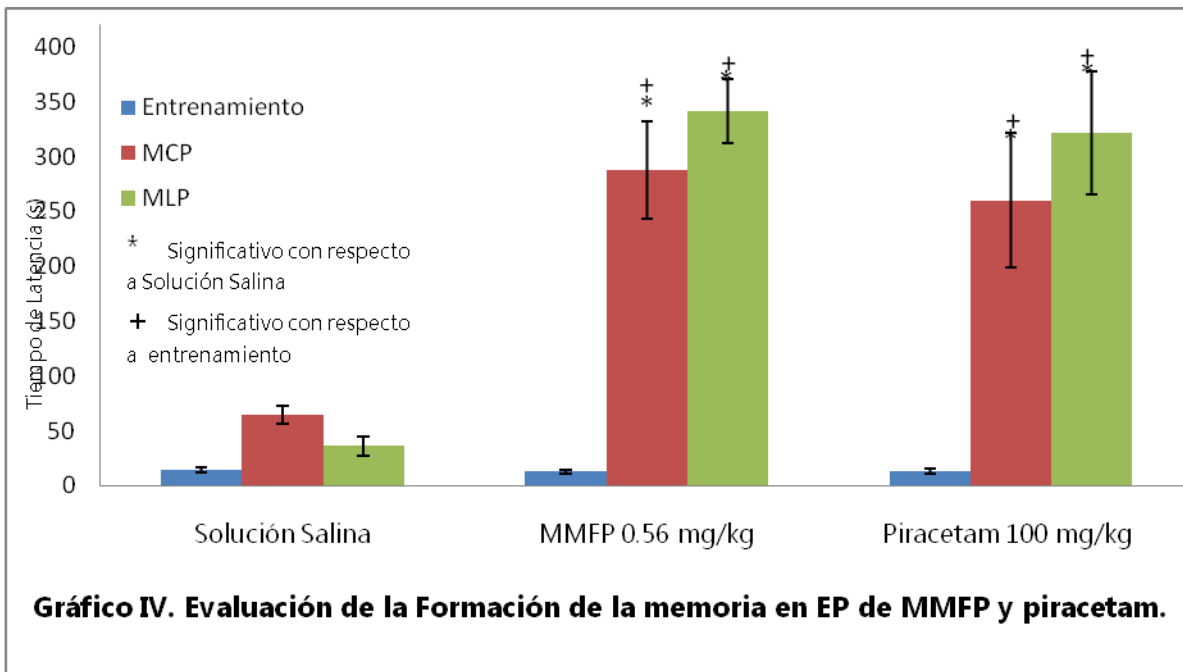
lo cual indica que los animales adquieren la información y la retienen hasta las 24 horas de prueba.

Además, se puede observar que la administración pre-entrenamiento de MMFP en este protocolo evita el fenómeno de extinción observado en la MLP con el grupo control, por lo que facilita la adquisición y retención de la información. El aumento en el tiempo de latencia tanto en MCP como en MLP producido por la MMFP puede ser referido a un antagonismo al sistema serotoninérgico 5-HT_{1A}, que se ha descrito que los antagonistas de este receptor aumentan la latencia en esta prueba en la administración previa al entrenamiento (Meneses y Pérez-García, 2007).

Con respecto al grupo tratado con Piracetam, el fármaco nootrópico de referencia, en el Gráfico III se puede observar que éste exhibe una tendencia a aumentar el tiempo de latencia en la MCP y en la MLP. Sin embargo, sólo existe significancia estadística entre la MCP con entrenamiento.

El protocolo de Formación de la memoria se realizó con la finalidad de determinar cómo se puede afectar el proceso de memoria al interferir en la formación de ésta, realizando una administración post-entrenamiento, es decir, la administración de los compuestos de prueba se realizó inmediatamente después de que los animales recibieron el estímulo nocivo.

En el Gráfico IV, se muestran los resultados obtenidos para este protocolo y se puede observar que en el grupo control el tiempo de latencia tanto en la MCP y en la MLP incrementa con respecto al entrenamiento, aunque en la MLP se observa la tendencia a disminuir. El análisis estadístico demuestra diferencia significativa entre el entrenamiento y la MCP, lo cual es indicativo de que los animales en condiciones normales retienen la información presentada hasta la 1.5 h de prueba. Sin embargo, al no tener reforzamiento del estímulo nocivo se presenta la extinción de la información, lo cual se observa con la disminución del tiempo de latencia en la MLP que a pesar de no llegar a valores del entrenamiento no hay significancia entre dichos valores pero sí entre la MCP y la MLP.



Con respecto a los resultados obtenidos con la MMFP en este protocolo, el Gráfico IV muestra que el tiempo de latencia en la MCP y en la MLP aumenta considerablemente respecto al entrenamiento, obteniéndose valores equiparables en los dos tipos de memoria. El análisis estadístico muestra diferencia significativa entre el entrenamiento vs la MCP y la MLP pero no entre la MCP y la MLP; esta diferencia nos indica que la administración post-entrenamiento de la MMFP facilita la formación de la memoria a corto y largo plazo, y favorece para que se retenga hasta las 24 h.

Los aumentos en las latencias en esta prueba indican que la MMFP no se comporta como un ligando específico a 5-HT_{1A} ya que se ha estipulado que este tipo de compuestos no modifica los valores obtenidos en esta prueba en la administración post-entrenamiento (Meneses y Pérez-García, 2007).

El Gráfico IV muestra también los resultados obtenidos con la administración post-entrenamiento de piracetam y se puede observar que se obtuvo un incremento considerable y significativo del tiempo de latencia en la MCP y en la MLP con respecto al entrenamiento, es decir, los animales retienen la información presentada; sin embargo, los tiempos de latencia son equiparables para la MCP y la MLP. El análisis estadístico arroja los mismos resultados que los obtenidos para la MMFP, lo cual no indica que el piracetam al igual que la MMFP facilita la formación de la memoria a corto y a largo plazo.

En este período de prueba, tanto los ratones administrados con MMFP como con piracetam mostraban una evitación pronunciada al cuarto oscuro, explorando el compartimento iluminado por mucho más tiempo para después asomar sólo la cabeza al compartimento oscuro.

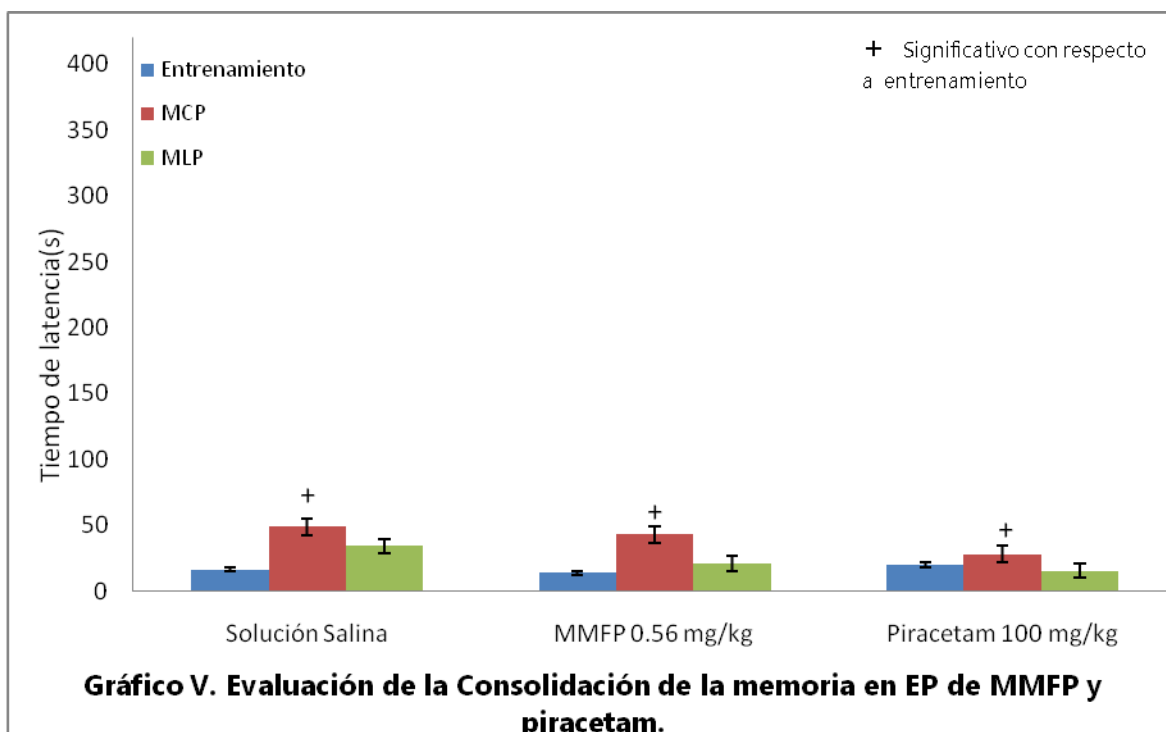
Cabe mencionar que los resultados obtenidos bajo este protocolo fueron ciertamente más sólidos y reproducibles para el caso de MMFP y piracetam, en los dos períodos de prueba evaluados (MCP y MLP), con respecto al protocolo de Adquisición de la memoria. Ninguno de los animales administrados con MMFP o con piracetam mostró algún comportamiento inusual, como parálisis exacerbada ante el miedo después de abrirse la puerta, simplemente se mantenían más tiempo explorando el compartimento iluminado y evitaban la entrada al compartimento oscuro, lo cual es un reflejo claro de retención de la información y de una formación sólida de la memoria.

El protocolo de Consolidación de la memoria se realizó con la finalidad de evaluar cómo se puede afectar el proceso de memoria al determinar la consolidación de la información, es decir, se realizó la administración pre-prueba (30 min antes de la sesión de prueba de MLP) para analizar si la consolidación se podría modificar con los diferentes tratamientos.

En el Gráfico V se muestran los resultados obtenidos para el protocolo de Consolidación de la memoria. Como se puede apreciar en este gráfico todos los tratamientos analizados (grupo control, grupo tratado con MMFP y grupo tratado con piracetam) muestran la misma tendencia en los resultados, es decir, un aumento en el tiempo de latencia para la MCP y la MLP con respecto al entrenamiento. Aunque en la MLP se observa nuevamente la disminución en el tiempo de latencia lo que nos indica de nuevo la extinción de la información al no tener los animales un reforzamiento del estímulo.

Al aplicar las pruebas estadísticas correspondientes a cada uno de los grupos, se encontró que hay diferencia significativa entre el entrenamiento y la MCP para cada grupo. Esto era lo esperado ya que durante estos períodos de evaluación no hubo ningún tipo de intervención e indica que el proceso de memoria se está llevando a cabo de una manera normal y los animales recuerdan el estímulo nocivo, es decir adquieren y forman la MCP.

Sin embargo, no existe significancia entre el entrenamiento y MLP ni entre la MCP y la MLP, lo cual indica que al igual que en los protocolos anteriores se presenta la extinción de la información pero en este protocolo para todos los tratamientos evaluados.



Lo anterior indica que la administración pre-prueba de la MMFP y del Piracetam no modifica la memoria una vez que ha sido consolidada la información.

Con respecto a la MLP entre tratamientos, no se observaron diferencias en comportamiento de los animales con los diferentes tratamientos. Esto indica que, aunque se observa una tendencia a la extinción de la información en los diferentes tratamientos utilizados, podría haber un aumento en la extinción de la información por parte de la MMFP y el piracetam. El hecho de que no existiese diferencia significativa de los tratamientos con el grupo control es un indicativo de que ninguno de los tratamientos utilizados puede modificar la memoria una vez que la información ha sido consolidada.

Con la finalidad de realizar un análisis más fino, se determinaron las diferencias entre cada etapa de la memoria evaluada en los diferentes protocolos para cada tratamiento. En el grupo control no mostraron diferencias significativas al comparar los diferentes procesos de memoria analizados (Adquisición, Formación y Consolidación de la memoria). Lo anterior era lo esperado ya que en cada proceso se obtiene una tendencia

equiparable y la administración de solución salina no debía de producir algún cambio en el proceso de la memoria.

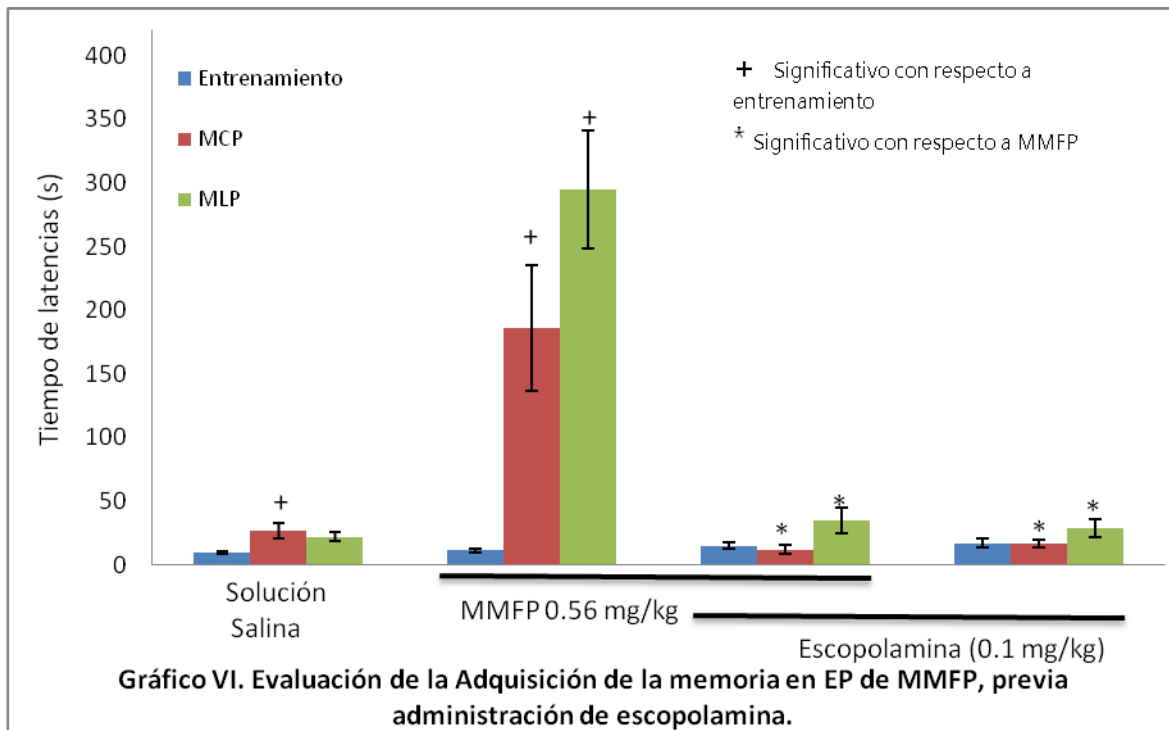
En el grupo tratado con la MMFP se encontraron diferencias significativas entre todos procesos analizados: Adquisición vs Formación, Adquisición vs Consolidación y Formación vs Consolidación de la memoria. Lo anterior indica que el proceso de memoria se puede modificar en cada una de las etapas analizadas con la administración de la MMFP, y que dependiendo del tiempo de administración de dicha piperazina se obtienen diferentes resultados en el proceso de la memoria. Así, la administración pre-entrenamiento (Adquisición de la información) facilita la memoria. La administración post-entrenamiento (Formación de la información) facilita considerablemente la memoria. Por último, la administración pre-prueba de MLP (Consolidación de la memoria) muestra una tendencia a extinción de la información,

En el grupo tratado con Piracetam (100 mg/kg), se encontraron diferencias significativas al comparar la Formación vs Adquisición y Consolidación de la memoria, pero no entre la Adquisición y Consolidación de la memoria. Lo anterior es un indicativo de que la administración aguda de Piracetam sólo es efectiva para mejorar la Formación de la memoria, ya que tanto en la Adquisición como en la Consolidación no se obtuvieron resultados significativos favorables.

Cabe resaltar la importancia y trascendencia de la arilpiperazina sintetizada, ya que ha demostrado ser un compuesto que modifica positivamente la adquisición y la formación de la memoria, pero no la consolidación de la misma.

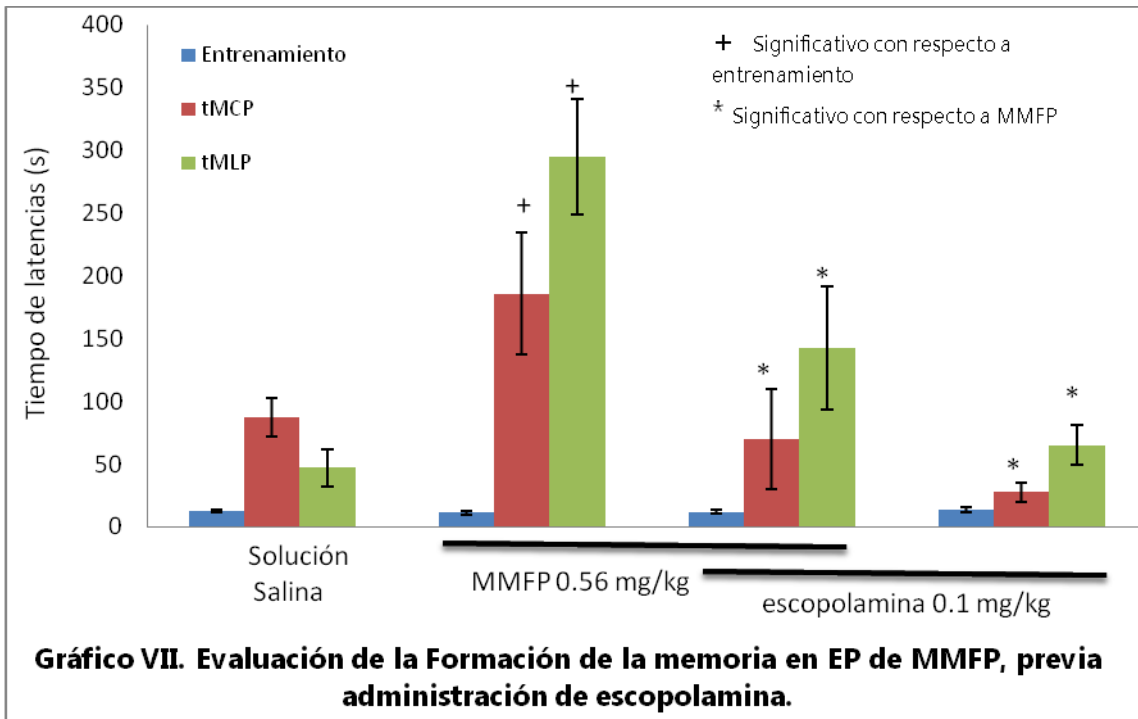
En el caso de los experimentos con agentes perturbadores de memoria; los objetivos específicos de estos experimentos fueron evaluar si la administración de la MMFP podría evitar dicho deterioro y, por otro lado, para elucidar de entre los principales sistemas de neurotransmisión involucrados en la memoria, cuál de ellos participa en los efectos observados para MMFP. Para esta parte del proyecto sólo se consideraron los protocolos de Adquisición y Formación de la memoria ya que, el efecto de la MMFP no es apreciable en el protocolo de Consolidación de la memoria.

En el Gráfico VI se ilustran los resultados obtenidos del efecto de escopolamina en el protocolo de Adquisición de la memoria para la MMFP. La escopolamina anuló el efecto mejorador de MMFP en la adquisición de la memoria. En el grupo tratado con la misma dosis de escopolamina, se aprecia el efecto amnésico en la MCP y para la MLP los resultados son similares a los obtenidos en el grupo tratado con solución salina.

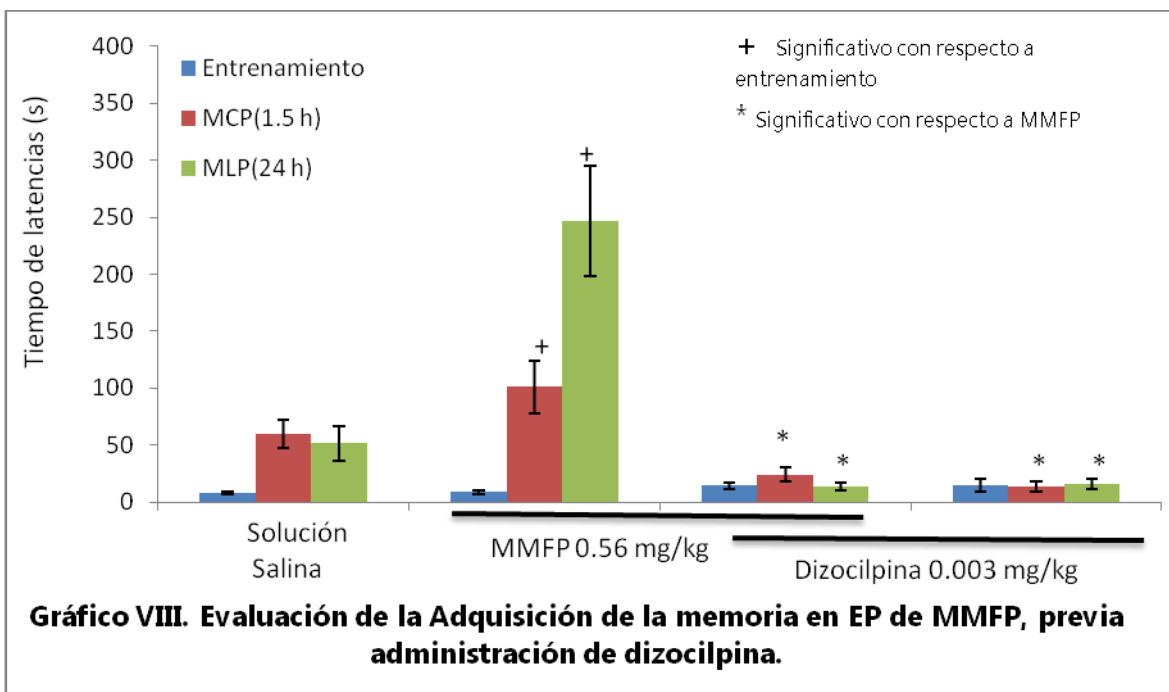


El tratamiento con escopolamina (0.1 mg/kg), también redujo de manera significativa el efecto de la MMFP en la formación de la memoria tanto en la MCP como en la MLP, a pesar de que la escopolamina en este protocolo de memoria no fue estadísticamente diferente del grupo control, es decir no presentó efecto amnésico. Así, los resultados aquí encontrados están de acuerdo con lo que se conoce de los efectos de la escopolamina. A saber, la escopolamina, a dosis terapéuticas, puede producir somnolencia, euforia y amnesia, pero a veces provoca un fenómeno contrario de excitación, de desasosiego e incluso delirio, con realización de movimientos estereotipados. Además, es bien conocido que los fármacos bloqueadores colinérgicos pueden disminuir los procesos cognitivos (Ghelardini et al. 2000). Es así que la administración de este agente antimuscarínico ha demostrado producir déficits fugaces de memoria (Drachman y Leavitt, 1974,).

Los resultados indican que el potencial amnésico de la escopolamina está dado en mayor medida cuando es administrada antes del entrenamiento y no después del entrenamiento, efecto que se ha descrito para la escopolamina otros autores (Ditts y Berry, 1967; Glick y Zimmerberg, 1972; Schindler *et al.* 1984). De manera análoga, este fármaco ha demostrado afectar la retención de la memoria cuando es administrado en animales justo antes del entrenamiento en pruebas de evitación pasiva (Ditts y Berry 1967; Glick y Zimmerberg 1972; Schindler et al.1984).



Como se aprecia en el Gráfico VIII, la administración previa de dizocilpina (0.003 mg/kg) anuló prácticamente el efecto de MMFP sobre la adquisición de la memoria tanto en la MCP como en la MLP.



La dizocilpina, es un antagonista no competitivo del receptor NMDA (Morris. et al. 1986; Venable y Kelly, 1990; M. de la Lima et al., 2005). La dizocilpina se une dentro del canal iónico en el sitio de unión a fenciclidina (PCP) y por lo tanto previene el flujo de iones, incluyendo el Ca^{2+} por su canal. La dizocilpina está también asociada a daño en la cognición y reacciones psicóticas, es por esto que es usado para mimetizar la psicosis para propósitos experimentales en animales. Se ha reportado que la dizocilpina atraviesa fácilmente la barrera hematoencefálica (Redolat, 1998).

El efecto amnésico de la dizocilpina fue claramente observado en este experimento, ya que no fue estadísticamente diferente a los resultados del entrenamiento. Esto último está de acuerdo con datos previamente publicados que demuestran que el tratamiento previo, más no el tratamiento posterior al entrenamiento con dizocilpina bloquea la memoria (Redolat, 1998).

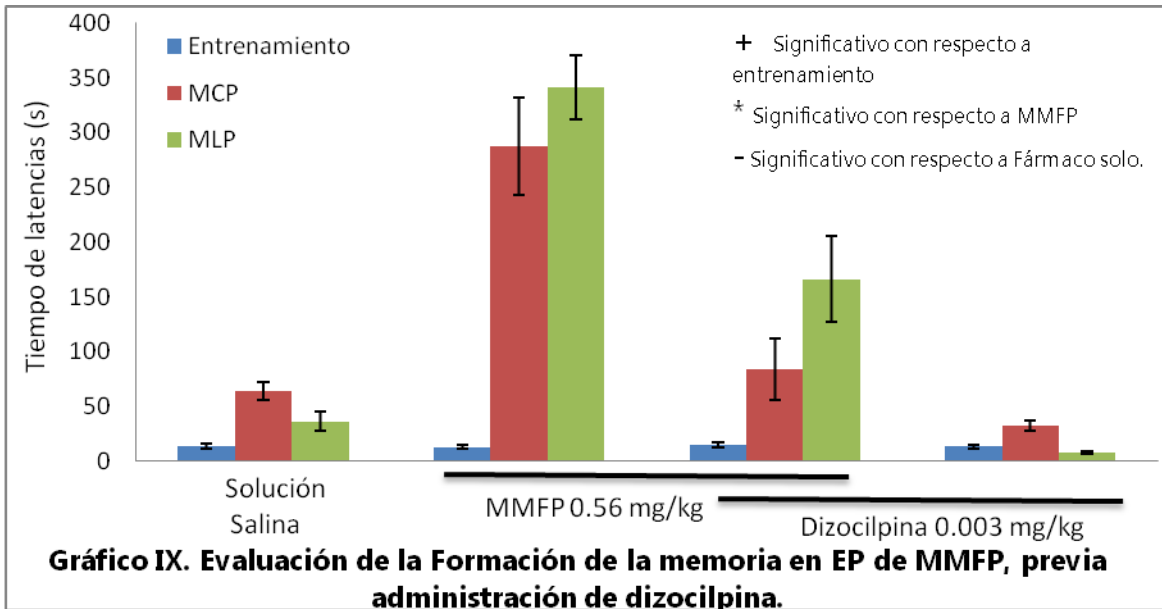
Cabe resaltar que a este intervalo de dosis todavía se pueden apreciar otros efectos típicos de este fármaco como hiperexcitabilidad, estereotipias y/o ansiedad, por otro lado se encontró que la dosis de 0.03 mg/kg bloquea drásticamente la adquisición de la respuesta en el laberinto de agua de Morris (Heale y Harley, 1990).

En este trabajo fue suficiente utilizar una dosis de 0.003 mg/kg de este fármaco para lograr el efecto amnésico, ya que a dosis más altas la dizocilpina provocó parálisis casi completa de los animales justo después de meterlos en el aparato de evitación pasiva, seguido de una marcada excitación en la caja donde era guardado unos minutos después de la administración del fármaco.

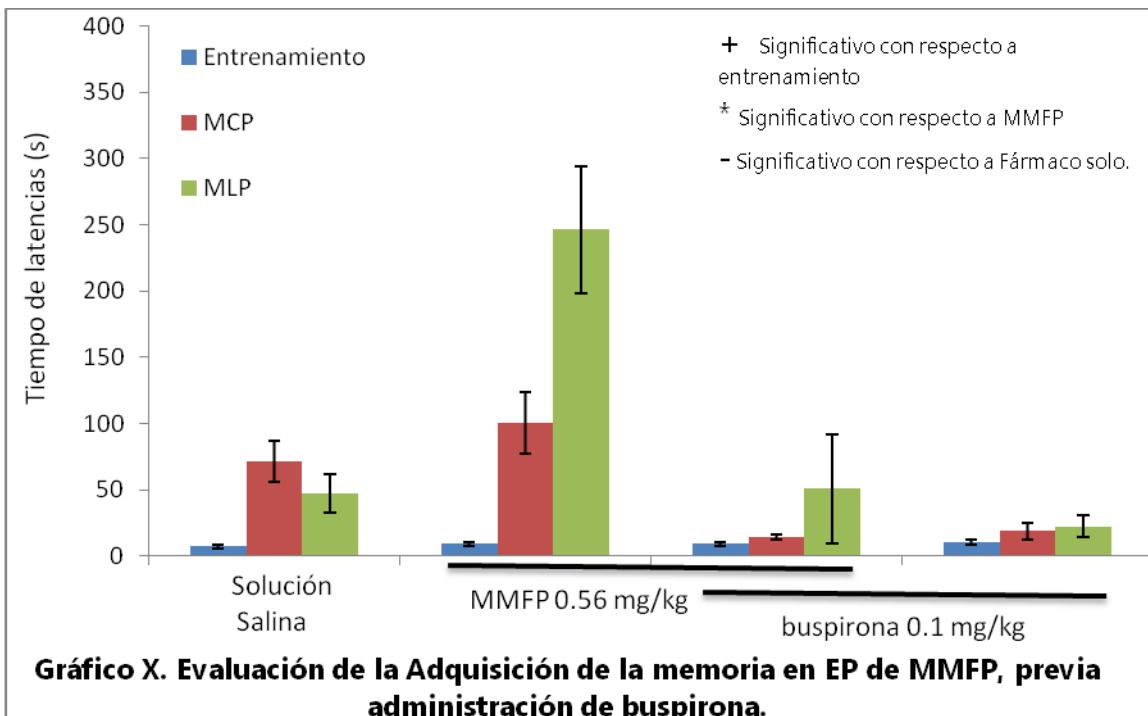
En conjunto, estos experimentos pueden sugerir que la actividad del sistema NMDA-glutamato está involucrado en el mecanismo por el cual la MMFP actúa mejorando la adquisición de la memoria.

Como se puede apreciar en el Gráfico IX, la administración de dizocilpina después del entrenamiento revirtió de manera parcial el efecto de MMFP tanto para MCP como MLP.

El efecto amnésico de la dizocilpina fue más evidente en la MLP cuando se administró sola. Esto puede indicar que la actividad de la MMFP en el procesamiento de formación de memoria también está mediada por el sistema glutamatérgico.



La buspirona a la dosis de 0.1 mg/kg anuló el efecto de la MMFP en el protocolo de adquisición de la memoria, como se puede apreciar en el Gráfico X. Igualmente, en este gráfico se puede observar un claro efecto amnésico de la buspirona tanto en la MCP como en la MLP.



La buspirona es un fármaco utilizado para el tratamiento de la ansiedad, es un compuesto farmacológicamente distinto a las benzodiazepinas, que son los fármacos que se prescriben de primera instancia en este padecimiento y como tranquilizantes. La buspirona suprime las funciones neuronales e interfiere con la comunicación entre las células cerebrales, principalmente en el hipocampo, incluso se ha reportado que sólo un tercio del máximo recomendado de la dosificación diaria altera la memoria de manera significativa en sujetos sanos (Sellers *et al.*, 1992; Marieb., 1992).

Otros estudios avalan el hecho de que la buspirona reduce la serotonina en el hipocampo, dado por la reducción de receptores 5-HT_{1A}, aumenta el cortisol y que el aumento en el cortisol corresponde a un aumento en el daño cognitivo en pacientes con Enfermedad de Alzheimer (Williams., 2000).

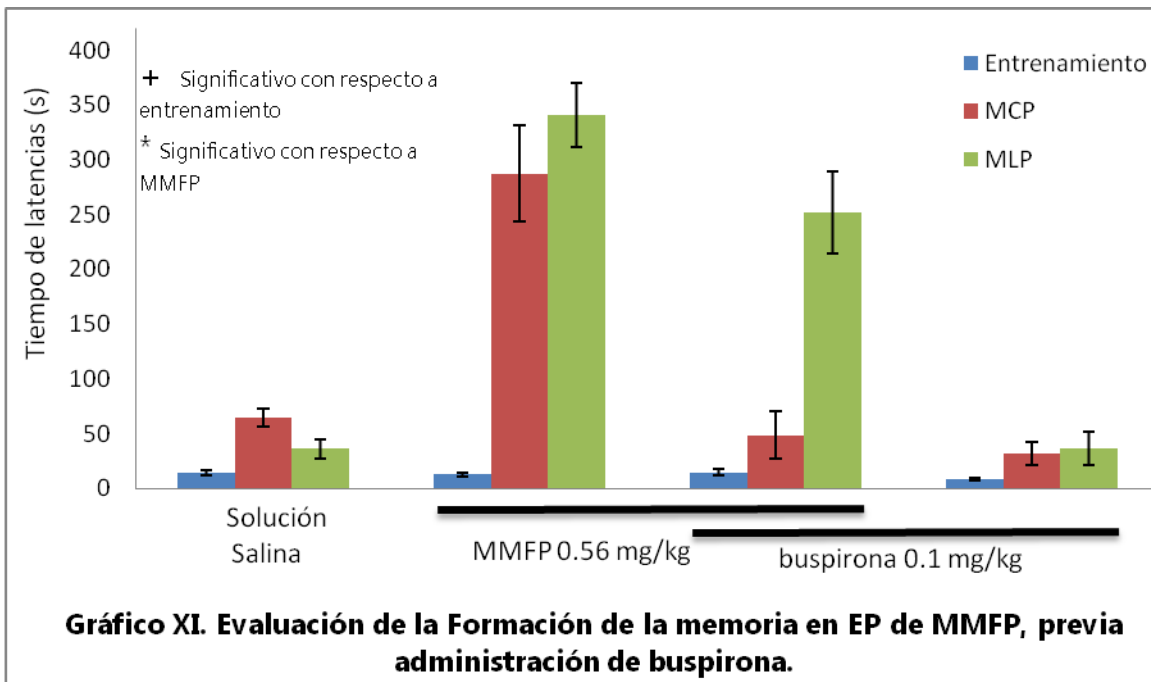
Con respecto a las pruebas de evitación pasiva, se sabe que la administración sistémica e intracraneal previa y posterior al entrenamiento de este fármaco en ratas causa déficits de retención dosis dependientes en un rango de dosis de 1-5 mg/kg (Liang., 1999).

En este experimento se puede descartar que el deterioro de los procesos de memoria esté dado por el efecto sedante de la buspirona (Guzman y Navarrete, 2009), ya que la latencia en el entrenamiento de los ratones tratados con este fármaco y aquellos tratados con la solución salina no son diferentes.

Como se mencionó antes, el aumento en el tiempo de latencia tanto en MCP como en MLP en el protocolo de adquisición de la memoria es indicativo de el antagonismo sobre los receptores 5-HT_{1A} (Meneses y Pérez-García., 2007). A saber, la buspirona tiene alta afinidad por los receptores 5HT_{1A}, como agonista parcial y 5-HT₂ serotoninérgicos y afinidad moderada a los receptores D₂, α_1 y α_2 , fungiendo como antagonista (Blier *et al.*, 1997). Por lo que al ser inhibido el efecto de la MMFP por la buspirona, sugiere que la MMFP puede estar actuando como antagonista de este receptor.

Por otro lado, la buspirona (0.1 mg/kg) fue capaz de anular el efecto de la MMFP en el protocolo de Formación de la memoria a corto plazo, pero no anuló el efecto a largo plazo. Nuevamente, en este protocolo se aprecia claramente el efecto amnésico de la buspirona (Bass *et al.*, 1992).

Los resultados en los protocolos de adquisición y formación de la memoria indican que en el mecanismo de acción de la MMFP participan los receptores de serotonina 5-HT_{1A}.



Con el propósito de conocer si los resultados de los experimentos de memoria podrían ser debidos a otros efectos neurofarmacológicos se realizó la evaluación anticonvulsivante, miorelajante, sedante y sobre la coordinación motora de la MMFP en el rango de dosis en el cual se evaluó el efecto nootrópico que incluye la dosis de 0.56 mg/kg utilizada en los experimentos de memoria.

Se evaluó la actividad anticonvulsiva previa administración de Pentilentetrazol (PTZ) 120 mg/kg. Esta dosis se estipuló debido a que en estudios previos en el laboratorio se encontró que producía de manera certera tanto las convulsiones clónicas, como tónicas e incluso la muerte del animal, explorándose así en dosis aguda.

Además, una dosis de diazepam 2.5 mg/kg *i.p* podía revertir este efecto y aminorar de manera drástica la incidencia y fuerza de las convulsiones clónicas, por lo cual se utilizó como control positivo comparativo para este estudio. Los resultados se muestran en la Tabla I.

Tabla I. Resultados de actividad anticonvulsiva de MMFP frente a dosis aguda (120mg/kg *i.p*) de PTZ

Tratamiento	Convulsión Clónica	Convulsión Tónica	Muerte
Solución Salina	47.17 ± 7.34	120.61 ± 3.36	242.82 ± 53.47
MMFP 0.1 mg/kg	30.69 ± 5.92	80.57 ± 14.14	148.53 ± 29.98
MMFP 0.3 mg/kg	50.59 ± 6.18	137.44 ± 6.30	185.835 ± 17.48
MMFPP 0.56 mg/kg	34.12 ± 2.19	101.49 ± 7.84	209.51 ± 49.19
MMFP 0.75 mg/kg	44.99 ± 3.39	134.37 ± 17.30	307.15 ± 75.01
MMFP 1 mg/kg	33.84 ± 2.67	85.86 ± 11.13	121.33 ± 7.74
Diazepam 2.5 mg/kg	1451.17 ± 252.00	no presentó	no presentó

Latencia en segundos para cada evento. Los resultados corresponden a la media ± EEM (n=6)

La MMFP no tiene una actividad anticonvulsiva frente a PTZ a las dosis exploradas, cabe resaltar que hay cierta tendencia a dosis mayores estudiadas, que no fueron exploradas debido a que se mantuvo el estudio en los rangos en los que la MMFP mostraba su efecto nootrópico en las evaluaciones iniciales.

Como se muestra en la Tabla II, la MMFP, no presentó efecto sedante en el modelo de cilindro de exploración ya que con ninguna de las dosis evaluadas se encontraron diferencias estadísticas con el grupo control (ANOVA por rangos). El diazepam utilizado como fármaco de referencia a la dosis de 2.5 mg/kg presentó un claro efecto sedante.

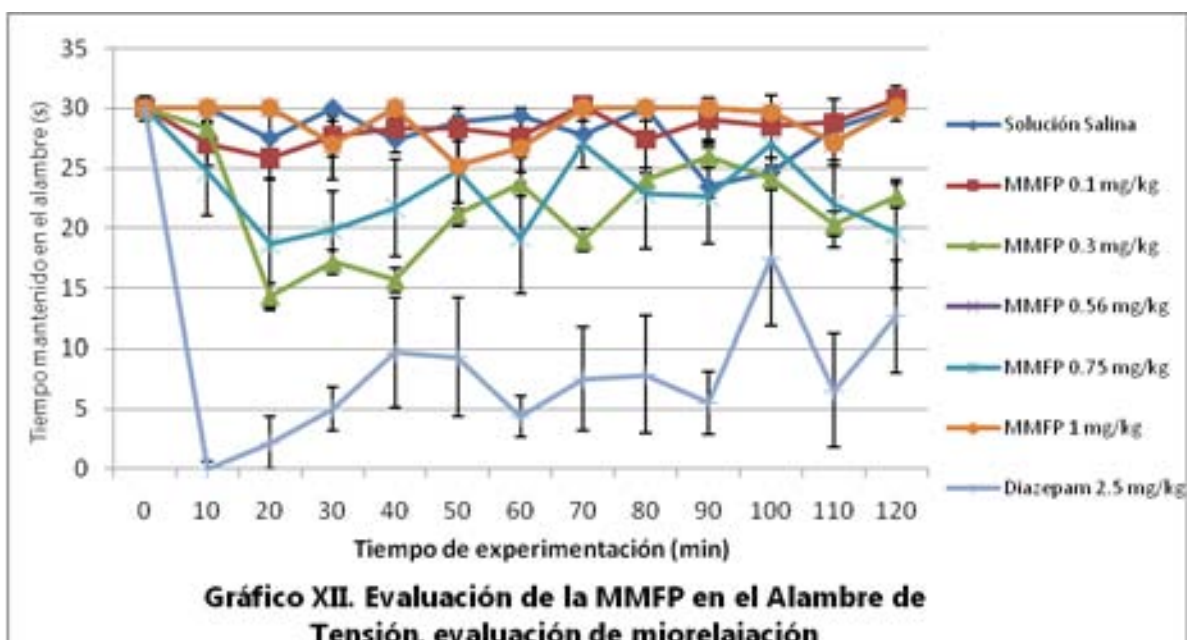
Tabla II. Levantamientos promedio en el cilindro de exploración después de la administración de MMFP

Tratamiento	# de levantamientos
Solución Salina	42.17 ± 5.86
MMFP 0.1 mg/kg	27.5 ± 6.92
MMFP 0.3 mg/kg	44.33 ± 8.80
MMFP 0.56 mg/kg	33.33 ± 4.91
MMFP 0.75 mg/kg	63.67 ± 8.24
MMFP 1 mg/kg	36.5 ± 6.15
Diazepam 2.5 mg/kg	6.67 ± 2.12 *

* Significativo ($P < 0.05$ ANOVA) contra a Solución Salina, n=6

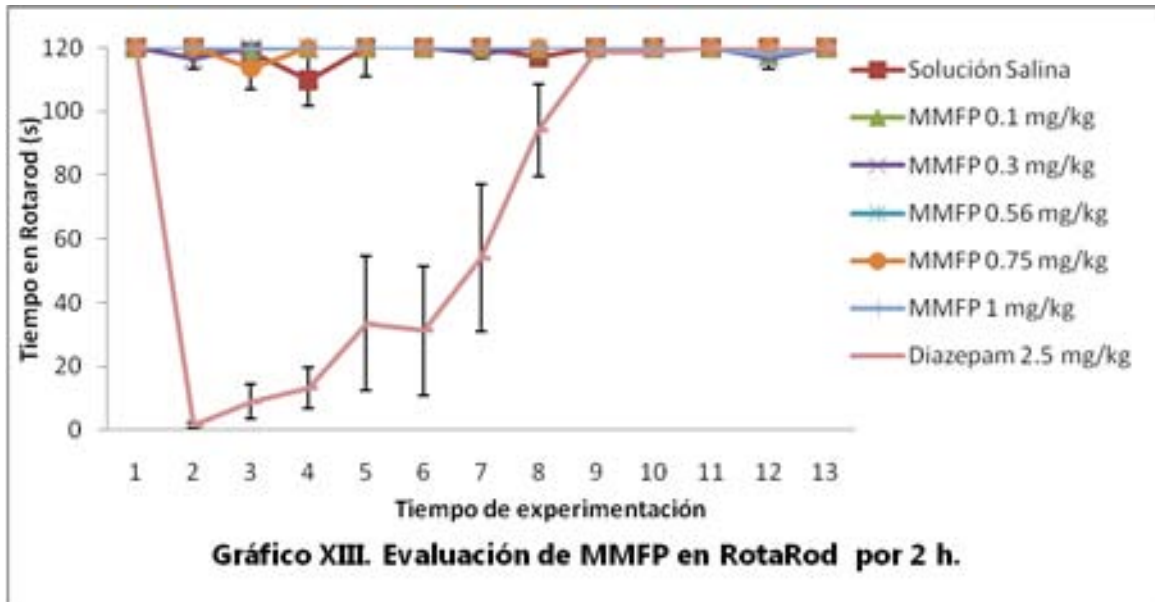
La MMFP a las dosis de 0.3 y 0.75 mg/kg presentó efecto miorrelajante a partir de los 20 minutos y terminó a los 60 minutos; sin embargo, no se presentó un efecto relacionado con la dosis.

En tanto que el efecto miorrelajante del diazepam a la dosis de 2.5 mg fue máximo a los 10 minutos y persistió durante todo el tiempo que duró la evaluación, como se muestra en el Gráfico XII.



Los valores obtenidos para la MMFP a 0.56 mg/kg, se traslapan con los obtenidos para la dosis de 0.1 mg/kg. Todas las dosis de MMFP fueron significativas con respecto a Diazepam 2.5 mg/kg.

La MMFP no presentó alteración de la coordinación motora en ninguna de las dosis evaluadas. Los resultados se ilustran en el Gráfico XIII. En tanto que el efecto del diazepam en esta prueba fue muy claro.



Con excepción del efecto miorelajante presentado con algunas de las dosis evaluadas para la MMFP, la ausencia de otros efectos neurofarmacológicos, dan soporte a que los resultados obtenidos en la evaluación de la adquisición y formación de la memoria de esta piperazina no son debidos a que al menos estos efectos que pudiesen alterar la prueba de comportamiento.

Por otro lado, la potencia de esta piperazina que supera en mucho al piracetam, utilizado como fármaco de referencia, lo postula como una sustancia biológicamente activa con posibilidades de desarrollo para un fármaco que mejore la memoria. Desde luego serán necesarios estudios adicionales pero es un buen inicio para dicho desarrollo.

VII. Conclusiones

Las conclusiones que se obtienen del presente trabajo son:

1. La 1-(2-metil-4-metoxifenil)piperazina (MMFP) se sintetizó con rendimientos aceptables del 69%.
2. La MMFP mejora de manera más importante la formación de la memoria que la adquisición de memoria y no fue inactivo para mejorar la consolidación de la memoria.
3. El efecto de la MMFP en la formación y en la adquisición de la memoria requiere de la participación en los sistemas colinérgicos, serotoninérgicos y NMDA-glutamatérgicos. Siendo más importantes los sistemas colinérgicos y serotoninérgicos en la memoria a corto plazo y los sistemas NMDA-glutamatérgicos y colinérgicos, en la memoria a largo plazo.
4. La MMFP no muestra efectos anticonvulsivantes, sedantes, sobre la coordinación motora y sólo en algunas dosis presentó efecto miorrelajante, a las dosis estudiadas, por lo que estos efectos neurofarmacológicos no alteran su efecto sobre los procesos de memoria.

VIII. Perspectivas

El presente trabajo se enfocó en una evaluación mucho más exhaustiva de la MMFP en el protocolo de evitación pasiva. Encontrándose que produce un efecto nootrópico sensible en el protocolo de Formación y Adquisición de la memoria y que este efecto depende de su actividad en el sistema colinérgico, serotoninérgico y NMDA-glutamato.

Así, es imperante la exploración de este compuesto en su participación con el sistema dopaminérgico e histaminérgico. Además se puede explorar su efecto en la llamada memoria de trabajo con el uso del modelo de Automoldeamiento.

También, se requiere explorar la actividad de este compuesto administrado de manera crónica, ya que en los experimentos sólo se trabajó con la dosis que produce el efecto máximo.

La exploración de la actividad de este compuesto en los diferentes centros que regulan la memoria, es decir, con la administración local de este compuesto en zonas cerebrales específicas también es imperante.

IX. Referencias

Aigner T.E, Mishkin M. (1986) The effects of physostigmine and scopolamine on recognition memory in monkeys. *Behavioral Neuronal Biology*. 45: 81-87.

Almeida M.A., Izquierdo I. (1988) Intracerebroventricular histamine, but not 48/80, causes posttraining memory facilitation in the rat; *Archives Internationales de Pharmacodynamie et de Thérapie*. 291: 202-207.

Arnsten A., van Dyck C. (1997) Monoamines and acetylcholine influences on higher cognitive functions in nonhumans primates: relevance of the treatment of Alzheimer's disease. En: Brioni J. Decker M, editors. *Neuropathology and functional anatomy of Alzheimer's disease: pharmacological treatment of Alzheimer's disease*. Wiley-Liss. New York. Pags 63-86.

Azmitia E., Whitaker-Azmitia P. (1997) Development and adult plasticity of serotonergic neurons and their target cells. En: Baumgarten H., Gother M., editors. *Serotonergic neurons and 5-HT receptors in the CNS*.

Balderas J.L., Reza V., Ugalde M., Gúzman L., Serrano M.I., Aguilar A., Navarrete A. (2008). Pharmacodynamic interaction of the sedative effects of *Ternstroemia pringlei* (Rose) Standl. with six central nervous system depressant drugs in mice. *Journal of Ethnopharmacology* 119: 47-52.

Bain J.P, Pollard C. B. (1939) Derivatives of Piperazine. XVIII. Synthesis of Substituted Piperazines and the Hydrolysis of Amines. *Journal of The American Chemical Society*. 61: 2704-2705.

Barnes NM, Sharp T (1999). A review of central 5-HT receptors and their function. *Neuropharmacology* 38: 1083-1152.

Barrett, J.E., y Vanover, K.E. (1993) 5-HT receptors as targets for the development of novel anxiolytic drugs: models, mechanisms and future directions. *Psychopharmacology*; 112:1-2.

Barros D., Pereir P., Medina J., Izquierdo I. (2002) Modulation of working memory and of long- but not short- term memory by cholinergic mechanism in the BLA; *Behavioural Pharmacolog*. 13: 163-167.

Bartus R.T., Dean R. L., Beer B. Lippa A.S (1982) The cholinergic hypothesis of geriatric memory dysfunction. *Science*. 217: 408-414.

Bass E.W., Means L.W., McMillen B.A. (1992) Buspirone impairs performance of a three-choice working memory water escape task in rats. *Brain Research Bulletin* 28: 455–461

Benfenati F. (2007) Synaptic plasticity and the neurobiology of learning and memory. *Acta Biomedica*. 78: 58-66.

Beninger R., Drigenber H., Boegman R. Jhamadas K. (2001) Cognitive effects of neurotoxic lesions of the nucleus basalis mangocellularis in rats; *Neurotoxicology Research*. 3:7-21.

Bermudez F., Prado R. A. (2001) Memoria: Dónde reside y cómo se forma. Editorial Trillas. Primera Edición, México.

Bird D.E. (1986) Huntington's chorea: etiology and pathogenesis. *Handbook of clinical neurology*. En: P.J.Vinken, G.W. Bruyn and H.L.Klawans, editors. Extrapiramidal disorders. Elsevier science publishers BV; 5: 255-299

Blier P., Bergeron R., de Montigny C. (1997) Selective activation of postsynaptic 5-HT_{1A} receptors induces rapid antidepressant response. *Neuropsychopharmacology* 16: 333-338.

Bhugra D. (2006). The global prevalence of schizophrenia. *PLoS Medicine*. 2: 372-373.

Browne S.E, Bowling A.C, McGarvey A. Baik M.J., Berger S.C.,Mugit M.M., Bird E.D., Beal M.E. (1997) Oxidative damage and metabolic dysfunction in Huntington's disease: selective vulnerability of the basal ganglia. *Annals of Neurology*. 41: 646-653

Boyfield I., Coldwell C. M., Hardley S. M., Healy A.M. M., Johns A., Nash J. D., Riley J. G., Scott E. E., Smith A. S., Stemp G., Wilson K. (1996) N-(Substituted-phenyl)piperazines: Antagonists with High Binding and Functional Selectivity for Dopamine D₄ receptors; *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 6: 1227-1232.

Boissier J. R., Ratouis R. y Dumont C (1963) Synthesis and Pharmacological Study of New Piperazine Derivatives.I. Benzylpiperazines; *Journal of Medicinal Chemistry*. 6: 541-544.

Cain P.D., Saucier D., Boon F. (1997) Testing hypotheses of spatial learning: The Role of NMDA receptors and NMDA-mediated long term potentiation. *Behavioural Brain Research*. 84: 179-193.

Cammarota M., Bevilaquia L.R.M., Rossato J.I., Ramirez Maria., Medina J.H., Izquierdo I. (2005) Relationship between short- and long-term memory and short- and long-term extinction. *Neurobiology of Learning and Memory*. 84: 25-32.

Caramos Z., Shapiro M.L. (1994) Spatial memory and N-methyl-D-aspartate receptor antagonists APV and MK-801: memory impairments depend on familiarity with the environment, drug dose, and training duration. *Behavioral Neuroscience*. 108: 30-43.

Carlson D.M., Penney B.J., Young B.A. (1993) NMDA, AMPA, and Benzodiazepine Binding Site Changes in Alzheimer's Disease Visual Cortex. *Neurobiology of Aging*. 14: 343-352.

Carpenter R. (1986) *Neurofisiología*. El Manual Moderno, S.A de C.V. México, D.F., pp-361-366.

Carranza R.R., Vidrio L.H., Campos S. A.E. (2009) Guía de Farmacología Terapéutica; Mc Graw Hill; Segunda Edición.

Chemel R.B., Roth L.B., Armbruster B., Watts J.V., Nichols E. D. (2006) WAY-100635 is a potent dopamine D4 receptor agonist. *Psychopharmacology*. 188: 244-251.

Coper H. H., W.M. (1988) Psychostimulants, analeptics, nootropics: an attempt to differentiate and assess drugs designed for the treatment of impaired brain functions, *Pharmacopsychiatry*. 21: 211-217.

Buhot M.C. (1997). Serotonin receptors in cognitive behaviors. *Current Opinion in Neurobiology*. 7:243–254.

Davis H., Squire L. (1984). Protein synthesis and memory: a review. *Psychological Bulletin*. 96: 518-59.

Deus-Yela J., Pujol J., Espert R. (1997) Deterioro neuropsicológico en la enfermedad de Huntington. *Revista de Neurología*. 25: 1257-1268

Dukat M., Abdel-Rahman A.A., Abd M. I., Ingher S., Teitler M., Gyermek L., Glennon A. R. (1996) Structure-Activity Relationships for the Binding of Arylpiperazines and Arylbiguanides at 5-HT Serotonin Receptors. *Journal of Medicinal Chemistry*. 39: 4017-4026.

Drachman A. D., Leavitt J (1974) Human Memory and the Cholinergic System. A Relationship to Aging? *Archives of Neurology*. 30: 113-121.

Enna S.J., Stern L.Z., Wasket J.G., Yamamura I.H. (1977) Cerebrospinal Fluid γ -Aminobutyric Acid Variations in Neurological Disorders. *Archives of Neurology*. 34: 683-685.

Ennaceur A., Delacour J. (1988) A new one-trial for neurobiological studies of memory in rats. 1: Behavioral data. *Behavioral Brain Research*. 33: 197-207.

Fletcher L. (1997) Memories are made of this: genetic basis of memory. *Molecular Medicine Today*. 97: 429-434.

Fornal A.C., Metzler W.C., Gallegos A.R., Veasey C.S., McCreary C.A., Jacobs L.B. (1996) WAY-100635, a Potent and Selective 5-Hydroxytryptamine_{1A} Antagonist, Increases Serotonergic Neuronal Activity in Behaving Cats: Comparison with (S)-WAY-100135; *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 278: 752-762.

Fray M.J., Bish G., Fish V.P., Stobie A., Wakenhunt F., Whitlock A. G. (2006) Structure-activity relationships of N-substituted piperazine amine reuptake inhibitors; *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 16: 4349-4353.

Fuller W.R., Snood D.H., Mason R.N., Molloy B.B. (1978) Effect of 1-(*m*-trifluoromethyl)piperazine on 3H-serotonin binding to membranes from rat in vitro and on serotonin turnover in rat brain in vivo; *European Journal of Pharmacology*. 52:11-16.

Gatto G.J., Bohme G., Caldwell W., Letchworth S.R., Traina V.M., Obinu C., Laville M., Reibaud M., Pradier L., Dunbar G., Bencherif M., (2004) TC-1734: An Orally Active Neuronal Nicotinic Acetylcholine Receptor Modulator with Antidepressant, Neuroprotective and Long-Lasting Cognitive Effects. *CNS Drug Reviews*. 10: 147-66.

Galeotti N., Ghelardini C., Bartolini A. (2000) Role of 5-HT_{1A} Receptors in a Mouse Passive Avoidance Paradigm; *Japanese Journal of Pharmacology*. 84: 418-424.

Garelick G. M, Storm R. D. (2005) The Relationship between memory retrieval and memory extinction; *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 26:9091-9092

Gibbs A.A., Naudts H. K., Spencer P. E., David S. A (2007) The Role of Dopamine in Attentional and Memory Biases for Emotional Information; *American Journal of Psychiatry*. 164: 1603-1609.

Giurgea, C. (1980) A drug for the mind; *ChemTech*. 10: 360-365.

Giurgea, C. (1982) The nootropic concept and its prospective implications; *Drug Development Research*. 2: 441-446.

Gordon S. (1988) *Neurobiology*. Oxford University Press. 2^a. Edición. USA.

Gotz J., Ittner L., Schonock N. (2006) Alzheimer's disease and frontotemporal dementia: prospects of a tailored therapy? *Med. J. Aust.* 185: 381-384.

Gouliarov A., Senning A. (1994) Piracetam and other structurally related nootropics; *Brain Research Reviews*. 19: 180-222.

Green A., Mellanby J., Impey L., Oates C., Traynor L. (1988) The effect of electroconvulsive shock on learning and memory in rats. *Acta Neurol Scand Suppl.* 99; 115-18.

Grahame-Smith D.G. (1992) Serotonin in affective disorders; *Internal Clinic Psychopharmacology*. 6(sup 4): 5-13.

Grotewiel S.M., Chu H., Sanders-Bush E. (1994) m-Cholorophenylpiperazine and m-Trifluoromethylphenylpiperazine are Partial Agonists at Cloned 5-HT_{2A} Receptors Expressed in Fibroblasts; *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 271: 1122-26.

Guidotti A., Corda M. G., Wise B. C., Vaccarino F., Costa E. (1983) GABAergic Synapses: Supramolecular Organization and Biochemical Regulation; *Nueropharmacology*. 22: 1271-1479.

Guzman-Gutierrez S.L., Navarrete A. (2009) Pharmacological Exploration of the Sedative Mechanism of Hesperidin Identified as the Active Principle of *Citrus sinensis* Flowers; *Planta Medica*. 75: 291-301.

Haider S., Khaliq S., Ahmed S. (2006) Long- term tryptophan administration enhances cognitive performance and 5-HT metabolism in the hippocampus of female rats. *Amino Acids*. 31: 421-45.

Handley S.L, McBlane J.W., Critchley M.A.E., Njung'e K. (1993) Multiple serotonin mechanisms in animal models of anxiety: environmental, emotional and cognitive factors; *Behavioural Brain Research*. 58: 203-210.

Harsha G. J, Bhushan M. K (1997) Rapid and Efficient Synthesis of l-Arylpiperazines under Microwave Irradiation; *Tetrahedron Letters*. 38; 6875-6876.

Harrod S.B., Flint R.W., Riccio D.C. (2001) MK-801 induced retrieval, but not acquisition, deficits for passive avoidance conditioning; *Pharmacology, Biochemistry and Behaviour*. 69: 585-593.

Hass H., Panula P.(2003). The role of histamine and the tuberomamillary nucleus in the nervous system; *Nature Reviews Neuroscience*. 4: 121-130.

Hasselmo E.M (2006). The role of acetylcholine in learning and memory; *Current Opinion in Neurobiology*. 16: 710-715.

Heinenger K. (1999) A Unifying Hypothesis of Alzheimer's Disease II. Pathophysiological Processes; *Human Psychopharmacology Clinical Experimental*. 14: 525-581.

Herrmann W.M., Stephan K. (1991) Efficacy and clinical relevance of cognition enhancers; *Alzheimer Disease Association & Associated Disorders*. 5 (Suppl 1): 7-12.

Hiller O.K., Zetler G. (1996) Neuropharmacological Studies on Ethanol Extracts of *Valeriana officinalis* L.: Behavioural and Anticonvulsivant Propierties; *Phytotherapy Research*. 10: 145-151.

Jankovic J. (2008) Parkinson's disease: clinical features and diagnosis; *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*. 79: 368-376.

Kamei C., Okumura Y., Tasaka K. (1992) Influence of histamine depletion on learning and memory recollection in rats; *Psychopharmacology*. 111: 376-382.

Kandel E. (2001) The molecular biology of memory storage. *Biosci. Rep.* 21: 565-611.

Kiritsy A.J., Yung K.D., Mahony E.D. (1978) Synthesis and Quantitative Structure-Activity Relationships of Some Antibacterial 3-Formylrifamycin SV N-(4-Substitued phenyl)piperazinoacetylhydrazones; *Journal of Medicinal Chemistry*. 21: 1301.

Kitchen W.L., Ross A. J., Hernández E. J., Zarraga L. A., Mather J. F. (1992) Effect of administration of diethylcarmabazine on experimental bacterial and fungal infections in mice; *International Journal of Antimicrobial Agents*.1: 259-267.

Kopelman M.D. (1995) The Korsakoff syndrome; *The British Journal of Psychiatry*. 166: 154-73.

Lanctôt L. K, Herrmann N, Mazzotta P. (2001) Role of Serotonin in the Behavioral and Psychological Symptoms of Dementia; *Journal of Neuropsychaitry and Clinical Neuroscience*. 13: 1;

Leff P. y Antón B (2004) Nuevos tratamientos farmacológicos empleados como posibles antiadictivos en la adicción a psicoestimulantes; *LibberAddictus*.

Liang K.C, Tsui K.Y, Tyan Y.M, Chiang T.C. (1998) Buspirone impaired acquisition and retention in avoidance tasks: Involvement of the hippocampus; *Chinese Journal of Physiology*. 41: 33-44.

Liang K.C. (1999) Pre- or post-training injection of buspirone impaired retention in the inhibitory avoidance task: involvement of amygdala 5-HT1A receptors; *European Journal of Neuroscience*. 11: 1491-500.

De Lima M. M.N., Laranja C.D., Bromberg E., Roesler R., Schöder N. (2005) Pre- and post- training administration of the NMDA receptor blocker MK-801 impairs object recognition memory in rats; *Behavioral Brain Research*. 156: 139-143.

Lopez-Hernandez E., Bravo J., Solís H. (2006) Epilepsia y antiepilépticos de primera y segunda generación. Aspectos básicos útiles en la práctica clínica; *Revista de la Facultad de Medicina*. 49: 2006.

Löscher W., Dagmar H., Fassbender P. C., Nolting B. (1991) The role of technical, biological and pharmacological factors in the laboratory evaluation of anticonvulsant drugs. III. Pentilenetetrazole seizure models; *Epilepsy Research*. 8: 171-189.

Madjid N., Tottie E. E., Lüttgen M., Meister B., Sandin J., Kuzmin A., Stiedl O., Ögren O. S. (2006) 5-Hydroxytryptamine 1A Receptor Blockade Facilitates Aversive Learning in Mice : Interactions with Cholinergic and Glutamatergic Mechanisms ; *The Journal of Pharmacology And Experimental Therapeutics*. 316 : 581-591.

Mainberg-Aiello P., Ipponi A., Bartolini A., Schunack W. (2000) Antiamnesic effect of metoprine and of selective histamine H₁ receptor agonists in a modified mouse passive avoidance test; *Neuroscience Letters*. 288: 1-4.

Marieb E (1992) Human Anatomy and Physiology; *The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc.* :491–492.

Marinesco S., Carew T. (2002) Serotonin release evoked by tail nerve stimulation in the CNS of Aplysia: Characterization and relationship to heterosynaptic plasticity; *Journal of Neuroscience*. 22: 2299-2312.

Martin G.E., Elgin R.J., Kesslick J.M., Badly W.J., Mathiansen J.R., Shank R.P., Scott M.K. (1988) Block of conditioned avoidance responding in the rat by substituted phenylpiperazines; *European Journal of Pharmacology*. 156: 223.

McGaugh J. (1989) Involvement of hormonal and neuromodulatory system in the regulation of memory storage. *Annual Review of Neuroscience*. 446:37-49.

McGauh J. (2000) Memory: A century of consolidation. *Science*. 287: 248-251.

Meneses A. (1999) 5-HT system and cognition; *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*. 23: 1111-1125.

Meneses A. (2003) A Pharmacological Analysis of a Associative Learning Task: 5-HT₁ to 5-HT₇ Receptor Subtypes Function on a Pavlovian/Instrumental Autoshaped Memory; *Learning and Memory*. 10: 363-372.

Meneses A., Hong E. (1995) A pharmacological analysis of serotonergic receptors: Effects of their activation or blockade in learning; *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*. 21: 273-296.

Meneses A., Perez-Garcia G. (2007) 5-HT_{1A} receptors and memory. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*. 31:705–727.

Meneses A., Terrón A.J. (2001) Role of 5-HT_{1A} and 5-HT₇ receptors in the facilitation response induced by 8-OH-DPAT on learning consolidation; *Behavioural Brain Research*. 21: 21-28.

Mehta A., Eberle-Wang K., Chesselet M. (2001) Increased *m*-CPP-induced dyskinesia after lesion of serotonergic neurons; *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*. 68: 347-353.

Millan J. M., Gobert A., Roux S., Porsolt R., Meneses A., Carli M., Di Cara B., Jaffard R., Rivet J., Lestage P., Mocaer E., Peglion J., Dekeyne A. (2004) The Serotonin_{1A} Receptor Partial Agonist S15535 [4-(Benzodioxan-5-yl)1-(indan-2-yl)piperazine] Enhances Cholinergic Transmission and Cognitive Function in Rodents: A Combined Neurochemical and Behavioral Analysis; *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 311: 190-203.

Mills J., Boren X.I. M., Easton N. R. (1957) Abstracts, 132nd National Meeting of the - American Chemical Society, New York, N. Y., 11-0.

Miranda M., Lalumier R., Buen T., McGaugh J. (2003) Blockade of noradrenergic receptors in the basolateral amígdala impairs taste memory. *European Journal of Neuroscience*. 18: 2605-10.

Mishani E., Dence D. C., McCarthy J. T., Welch J. M. (1996) Formation of Phenylpiperazines by a Novel Alumina Supported Bis-Alkylation; *Tetrahedron Letters*. 37: 319-322.

Molinuevo-Guix J.L., Lladó-Plarrumani. (2005) Eficacia de la memantina en el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer; *Neurología*. 20: 686-691.

Mokrosz L. J., Paluchowska H.M., Chojnacka-Wójcik E., Filip M., Charakchieva-Minol S., Derén-Wesolek A., Mokrosz J. M. (1996) Structure –Activity Relationship Studies of Central Nervous System Agents. 13. 4-[3-(Benzotriazol-1-yl)propyl)-1-(2-methoxyphenyl)piperazine, a New Putative 5-HT_{1A} Receptor Agonist, and Its Analogs; *Journal of Medicinal Chemistry*. 37: 2754-2760.

Mull P. R., Tannenbaum C., Dapero R. M., Bernier M., DeStevens G. (1965) N,N'-Disubstituted Compunds with Diverse Biological Activities; *Journal of Medicinal Chemistry*. 8: 332-338.

Murphy D. L., Lesh K. P., Aulakh C. S., Pigott T. A. (1991) III. Serotonin-selective Arylpiperazines with Neuroendocrine, Behavioral, Temperature, and Cardiovascular Effects in Humans; *The American Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 43: 528-545.

Murray C., Fibriger H. (1986) Pilocarpine and physostigmine attenuate spatial memory impairments produced by lesions of nucleus basalis magnocellularis. *Behavioral Neuroscience*. 100: 23-32.

Nance M.A., US Huntington Disease Genetic Testing Group. (1997) Genetic testing of children at risk for Huntington's Disease; *Neurology*. 49:1048-1053.

O'Leary J.F. (1953) Pharmacologic Actions of 1,4-bis (1,4-benzodioxan-2-ylmethyl) piperazine (McN-181, Dibozane), a New Adrenergic Blocking Agent; *The American Journal of Medical Sciences*. 226: 111-113.

Okano H., Hirano T., Balaban E. (2000) Learning and Memory; *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 23: 12403-12404.

Palmer A. M., DeKosky, S. T. (1993) Monoamine neurons in aging and Alzheimer's disease; *Journal of Neural Transmission*. 91: 135-159.

Palmer A.M., Gershon S. (1990) Is the neuronal basis of Alzheimer's disease cholinergic or glutamatergic? *The Federation of American Societies for Experimental Biology Journal*.. 4: 2745- 2752

Page I. H., Wolford R. W., Corcoran A. C. (1959) Pharmacological and clinical observations on 1-(2-methoxyphenyl)piperazine; *Archives of International Pharmacodynamic Therapies*. 119: 214-24.

Pelleymounter A. M., Beatty G., Gallager M. (1990) Hippocampal 3H-CPP binding and special deficits in aged rats; *Psychobiology*. 18: 298-304.

Pollard C. B., MacDowell. (1934) A New Synthesis of *N*-monophenylpiperazine; *Journal of American Chemical Society*. 56: 2199.

Prelog V., Blazek Z. (1934) Sur les piperazines *N*-monoaryles et leurs dérivés; *Collection Czechoslov. Chem. Communs*. 6: 211-244.

Pretsch E., Clerc T., Seibl J., Simon W. (1980) Tablas para la elucidación estructural de compuestos orgánicos por métodos espectroscópicos; Editorial Alhambra. 1a. Edición.

Pugliese A.M., Corradetti R., Ballerini L., Pepeu G. (1990) Effect of nootropic drug oxiracetam on field potentials of rat hippocampal slices; *British Journal of Pharmacology*. 99: 189-193.

Quesnel G., Chalaust R., Schmitt H., Kroneberg G., Schmitt H. (1960) A new vasodilator derivative of piperazine: 1-(3,4-dimethoxybenzyl)piperazine. I. Chemical study. II. Pharmacological study; *Archives of Internal Pharmacodynamics*. 128:17.

Redolat R., Carrasco M.C., Simón M. V. (1998) Efectos de la administración aguda de MK-801, Antagonista no competitivo de los receptores NMDA, sobre la evitación activa en ratones; *Psicothema*. 10: 135-141.

Reitz B. A., Debra J. B., Blum S. P., Codd E. E., Maryanoff A.C., Ortegon E. M., Renzi J. M., Scott K. M., Shank P. R., Vaught I. J. (1994) A New Arylpiperazine Antipsychotic with High D₂-D₃-5HT_{1A}- α 1Adrenergic Affinity and a Low Potential for Extrapiramidal Effects; *Journal of Medicinal Chemistry*. 37, 1060-1062.

Riedel G., Platt B., Micheau J., (2003) Glutamate receptor function in learning and memory; *Behavioural Brain Research*. 140: 1-47.

Rodriguez C.R. (2009) Vademécum Académico de Medicamentos. *Mc. Graw Hill* Quinta Edición.

Rogers J.L., Kesner R.P. (2003) Cholinergic modulation of the hippocampus during encoding and retrieval; *Neurobiology of Learning and Memory*. 80: 332-342.

Rodes. Huntington's Disease: Hope Through Research. National Institute of Neurological Disorders and Stroke (NINDS); disponible en http://www.ninds.nih.gov/disorders/huntington/detail_huntington.htm

Roos R.A. (1986) Neuropathology of Huntington's chorea; *Handbook of clinical neurology*. En: P.J.Vinken, G.W. Bruyn and H.L.Klawans, editors. Extrapiramidal disorders. Elsevier science publishers BV. 5, 315-325.

Rosenzweig M., Bennet E., Colompo P., Serrano P. (1993) Short-term, intermediate-term and long-term potentiation in guinea-pig hippocampal slices; *Neuroscience Letters*. 68: 216-220.

Ross C.A., Margolis R.L., Rosenblatt A., Ranen N.G., Becher M.W., Ayward E. (1997) Huntington disease and related disorder, dentatorubral-pallidoluysian atrophy (DRPLA); *Medicine*. 76: 305-329

Rowan M.J., Cullen W.K., Moulton B. (1990) Buspirone impairment of performance of passive avoidance and spatial learning tasks in the rat; *Psychopharmacology (Berlin)*. 100: 393-398.

Rudolph U., Möhler H. (2006) GABA-based therapeutic approaches: GABA_A receptor subtype functions. *Biochem. Biophys. Acta*. 1144: 249-63.

Sakaguchi M., Koseki M., Wakamatsu M., Matsumara E. (2006) Effects of systemic administration of β -casomorphin-5 on learning and memory in mice; *European Journal of Pharmacology*. 530: 81-87.

Sakara S., Maier A. C., Predoiu U., Ehret A., Jackisch R., Wnsch B. (2001) Methylated Analogues of Methyl (*R*)-4-(3,4-Dichlorophenylacetyl)-3-(pyrrolidin-1-ylmethyl)piperazine-1-carboxylate (GR-89,696) as Highly Potent κ -Receptor Agonists: Stereoselective Synthesis, Opioid-Receptor Affinity, Receptor Selectivity, and Functional Studies; *Journal of Medicinal Chemistry*. 44: 2814-2826.

Sambeth A., Blokland A., Harmer C. (2007) Sex differences in the effect of acute tryptophan depletion on declarative episodic memory. *Neuroscience Behavioral Research*. 31:516-29.

Sellers E.M., Schneiderman J.F., Romach M.K., Kaplan H.L., Somer G.R. (1992) Comparative drug effects and abuse liability of lorazepam, buspirone, and secobarbital in nondependent subjects; *Journal of Clinical Psychopharmacology*. 12: 79–85.

Schapira A.H. (1997) Mitochondrial function in Huntington's disease: clues for pathogenesis and prospects for treatment; *Annals of Neurology*. 41: 141-142.

Schoeffter P., Hoyer D. (1989) Interaction of arylpiperazines with 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B}, 5-HT_{1C} and 5-HT_{1D} receptors: do discriminatory 5-HT_{1B} receptor ligands exist?; *Naunyn – Schmiedeberg*. 339: 675-683.

Smith R.L., Barrett R.J., Sanders-Bush E.(1995) Neurochemical and behavioral evidence that quipazine-ketanserin discrimination is mediated by serotonin_{2A} receptor; *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 275: 1050-7.

Smyth K., Sangha S., Lukowiak K. (2002) Gone but not forgotten: the lingering effects of ITM on the persistence of long-term memory; *The Journal of Experimental Biology*. 205: 131-140.

Snowden J.S., Craufurd D., Griffiths H.L., Neary D. (1998) Awareness of involuntary movements in Huntington Disease; *Archives of Neurology*. 55: 801-805.

Squire F.R., Saederup E. (1993) Mono *N*-Aryl ethylenediamine and piperazine derivatives are GABA_A receptor blockers: Implications for psychiatry; *Neurochemical Research*. 18: 787-793.

Steckler T., Sahgal A. (1995) The role of serotonergic-cholinergic interactions in the mediation of cognitive behavior; *Behavioural Brain Research*. 67: 165-199.

Stewart A., Fox A., Morimoto B., Gozes I., (2007) Looking for novel ways to treat the hallmarks of Alzheimer's disease. *Expert Opinion on Investigational Drugs*

Sukanta S., Chant D., Welham J., McGrath J. (2005) A Systematic Review of the Prevalence of Schizophrenia; *PLoS Med*. 2:141.

Téllez B.R.I (2005) Evaluación de la Actividad Nootrópica de Derivados de Arilpiperazina. *Universidad Nacional Autónoma de México*. Tesis de Licenciatura.

Téllez B.R.I (2008) Influencia de la formación de la memoria y la amnesia sobre el transportador serotoninérgico en el cerebro de rata. *Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional Sede-Sur*. Tesis de Maestría.

Towse G. (1980) Cinnarizine-a labyrinthine sedative; *Journal of Laryngology and Otology*. 94: 1009–15.

Tronel S., Sara S.J. (2003) Blockade of NMDA receptors in prelimbic cortex induces an enduring amnesia for odor-reward associative learning; *Journal of Neuroscience*. 23: 5472-5476.

Urug-Neervoort A., van Luijtelaa G., Coenen A. (1992) Cognition and vigilance: differential effects of diazepam and buspirone on memory and psychomotor performance; *Neuropsychobiology*. 26: 146–150.

Vogel G. H., Vogel H. W., Shöilkens A. B., Sandow J., Müller G., Vogel F. W. (2002) Drug discovery and Evaluation. Pharmacological Assays; *Springer-Verlag Berlin Heidelberg*. Alemania.

Wada T., Fukuda N. (1992) Effect of a new anxiolytic, DN-2327, on learning and memory in rats; *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*. 41: 573–579.

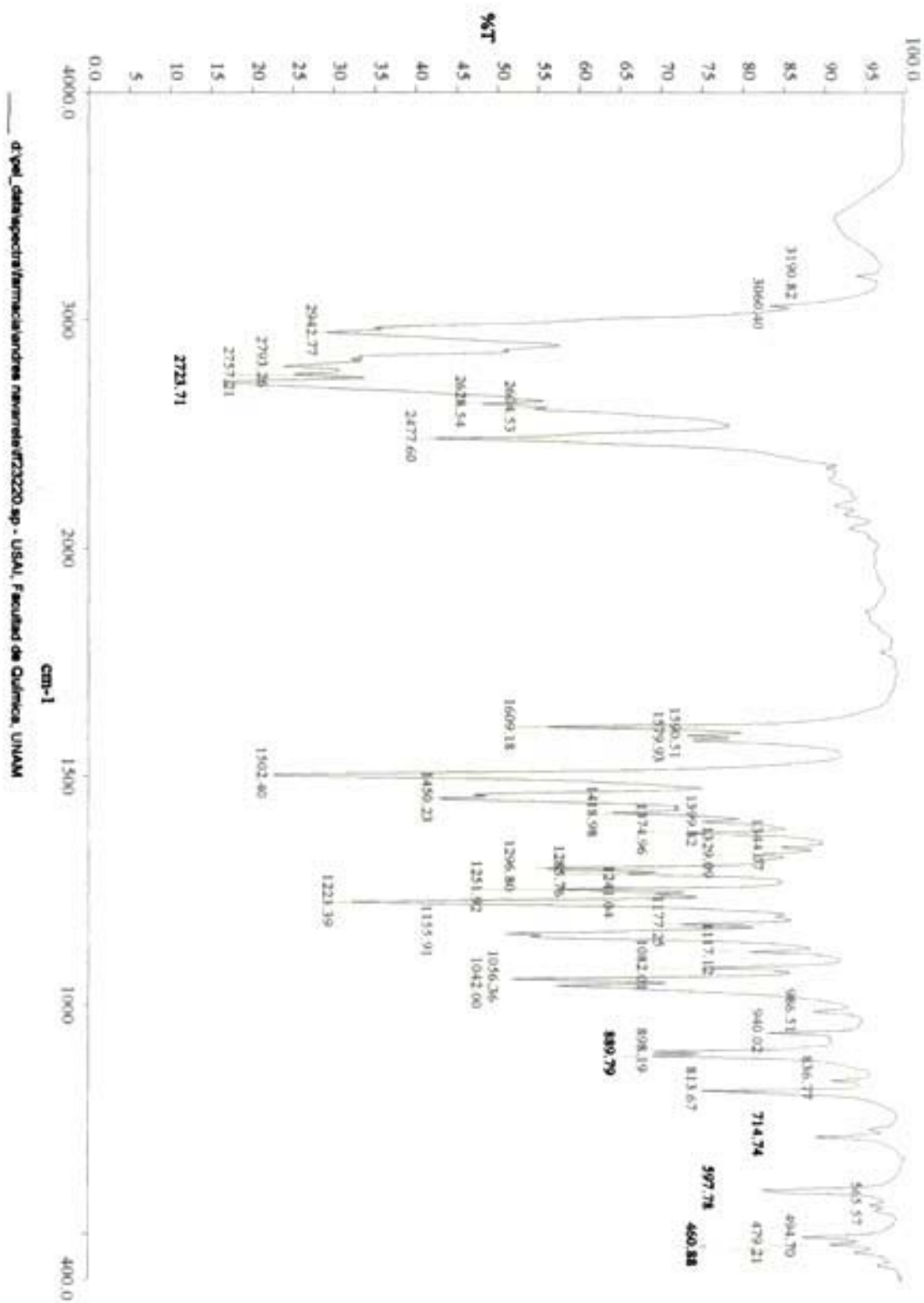
Watkins J.C. (2000) L-Glutamate as a Central Neurotransmitter: Looking Back; *Biochemical Society Transactions*. 28: 297-310.

Williams G.I. (2000) Concerns about the use of buspirone in Alzheimer's patients; *International Journal of Risk & Safety in Medicine*. 13: 91-94.

Winsauer P.J., Rodriguez F.H., Cha A.E., Moerschbaecher J.M. (1999) Full and partial 5-HT_{1A} receptor agonists disrupt learning and performance in rats; *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 288: 335–347.

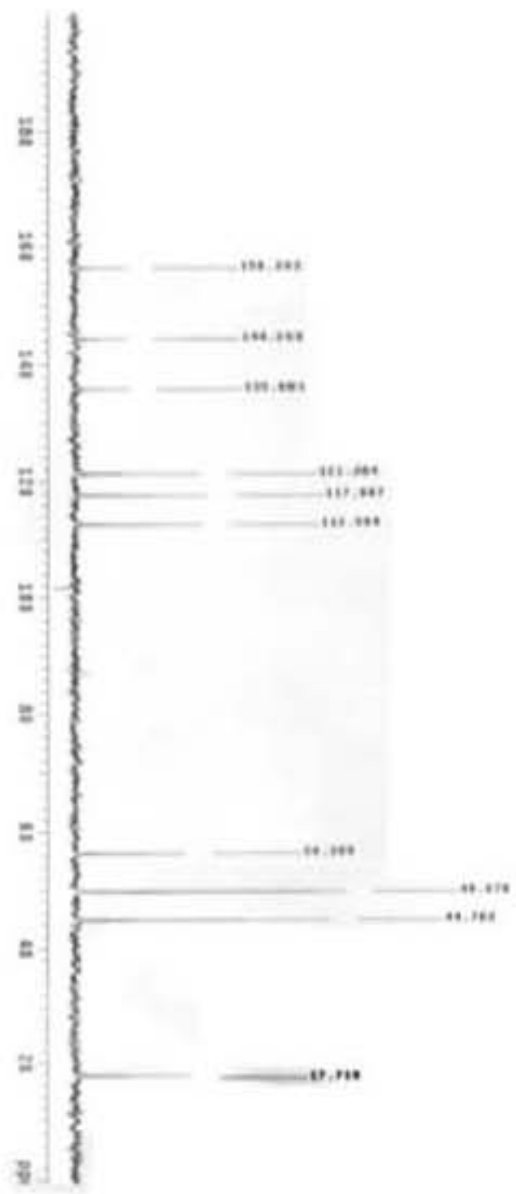
Yarosh H.L., Katz E.B., Coop A., Fantegrossi W.E. (2007) MDMA-like behavioral effects of N-substituted piperazines in the mouse; *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*. 88: 18-27.

Anexo 1. Espectro Infrarrojo de la 1-(2-metil-4-metoxifenil)piperazina



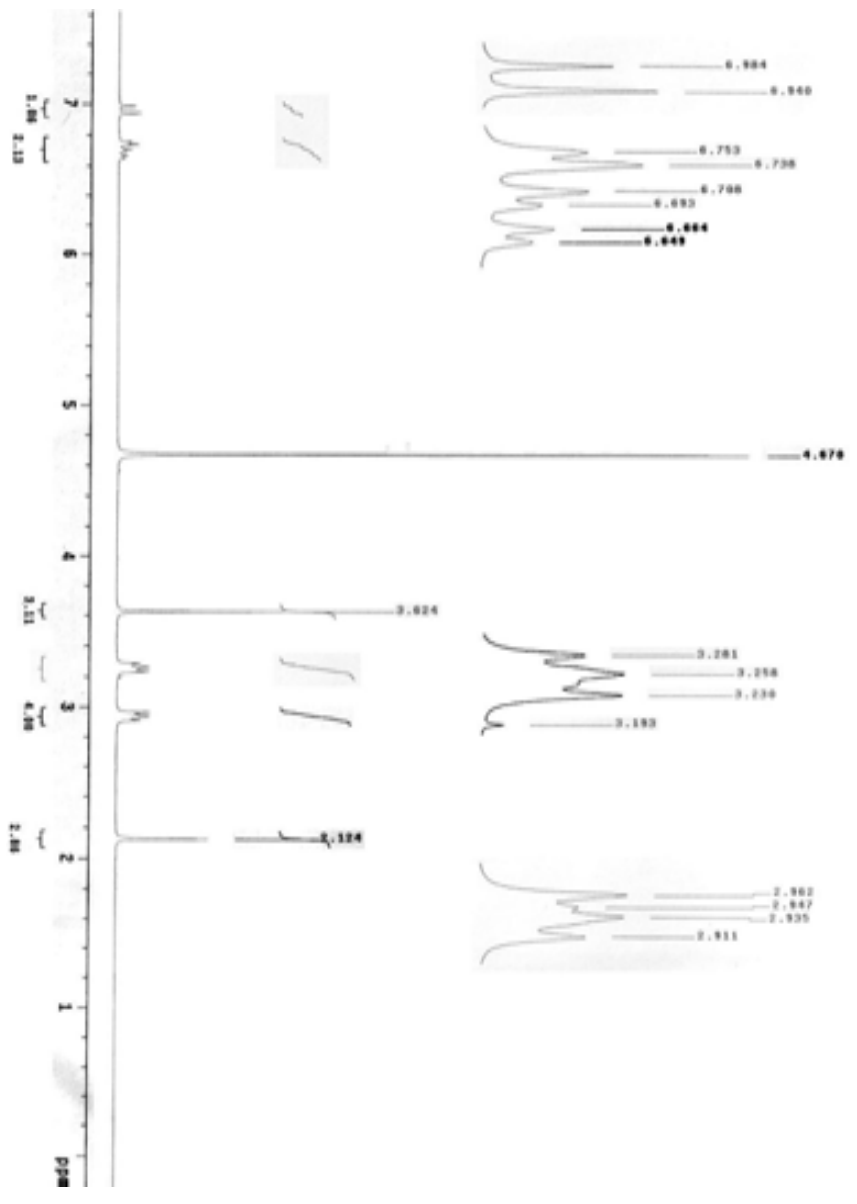
Anexo 2. Espectro de RMC¹³C de la 1-(2-metil-4-metoxifenil)piperazina

INSTITUTO DE QUÍMICA, UNAM, S. MEXICO
Dr. Andrés Hernández-Fernández, S. J.
Laboratorio de
Espectroscopía
Av. Cuernavaca 206, Mex. (M)
07450-00
Tel. 56 54930000, 521-2719



Anexo 3. Espectro de RMC¹H de la 1-(2-metil-4-metoxifenil)piperazina

INSTITUTO DE QUÍMICA, UNAM/ I. Química
 Dr. Juan Martínez/ Fraccion M. I.
 Clave: 1706-51-1
 Dirección: 505
 Tel: 5623-1706
 No. de Registro: 578-579



Anexo 4. Espectro de MS/IE de la 1-(2-metil-4-metoxifenil)piperazina

