



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

SÍNTESIS DE 1-[(3,4-METILENDIOXI)-FENIL]-PIPERAZINA Y EVALUACIÓN DE
SU EFECTO SOBRE NIVELES DE GLICEMIA EN RATA

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

PRESENTA

HIBRAIM UBIARCO RODRIGUEZ



CIUDAD UNIVERSITARIA, CD. MX. 2020



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: Dr. Andrés Navarrete Castro
VOCAL: Dra. Ruth Ivonne Téllez Ballesteros
SECRETARIO: Dra. Berenice Ovalle Magallanes
1er. SUPLENTE: Dr. José Luis Medina Franco
2° SUPLENTE: Dr. José Luis Balderas López

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

EL TRABAJO EXPERIMENTAL SE REALIZÓ EN EL LABORATORIO 126 DEL EDIFICIO DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA, CONJUNTO E, FACULTAD DE QUÍMICA, UNAM.

ASESOR DEL TEMA:

Dr. Andrés Navarrete Castro

SUPERVISOR TÉCNICO

Dr. José Luis Balderas López

SUSTENTANTE (S):

Hibraim Ubiarco Rodríguez

Agradecimientos

Se agradece a la Dirección General de Asuntos del Personal Académico de la Facultad de Química por el apoyo otorgado a través del proyecto PAPIIT IN 218320, al Programa de Apoyo a la Investigación y Posgrado por medio del proyecto PAIP 5000-9143 y al CONACyT por el apoyo a través del proyecto A1-S-9698.

Índice

Índice de figuras	6
Lista de Abreviaturas	8
Resumen.....	9
1 Antecedentes	10
1.1 Diabetes	10
1.2 Tipos de diabetes	10
1.2.1 Diabetes Tipo I	10
1.2.2 Diabetes Tipo II	11
1.2.3 Otros tipos de diabetes	11
1.3 Diabetes en México y el mundo	13
1.4 Fisiopatología de la diabetes	14
1.5 Resistencia a insulina	15
1.6 Disfunción de las células β del páncreas	16
1.7 Secreción normal de insulina.....	17
1.8 Tratamientos de la diabetes	18
1.8.1 Vía clásica.....	19
1.8.2 Vía no clásica.....	20
1.9 Serotonina	21
1.9.1 Acciones fisiológicas de la serotonina	22
1.9.2 Serotonina en páncreas	22
1.9.3 Agonistas y antagonistas serotoninérgicos.....	24
1.10 Síntesis de bencil- y fenil-piperazinas.	25
1.11 Prueba de tolerancia a la glucosa	29
2 Planteamiento del problema.....	30
3 Hipótesis.....	32
4 Objetivos.....	32
5 Metodología	33
5.1 Generalidades.....	33
5.2 Obtención del (3,4-Metilendioxfenil)-piperazina (3,4-MDFP)	33
5.3 Evaluación biológica.....	35
5.4 Tratamiento de datos.....	39
6 Resultados	40

6.1 Síntesis y caracterización.....	40
6.2 Evaluación biológica.....	43
6.3 Evaluación con ketanserina y forskolina	44
7Discusión.....	49
7.1 Reacción	49
7.2 Análisis espectroscópico.....	50
7.3 Evaluación biológica.....	51
8 Conclusiones.....	57
9 Bibliografía	58
10 Anexos.....	65
Anexo 1: Carta de aprobación del presente estudio por el CICUAL Facultad de Química.....	65

Índice de figuras

Figura 1. Defunciones por diabetes mellitus en México de 2010-2017. (INEGI).....	14
Figura 2. Liberación de insulina por las células β del páncreas, se presentan los principales componentes celulares que están involucrados en su liberación.....	17
Figura 3. Biosíntesis de serotonina.	21
Figura 4. Estructuras de diferentes piperazinas.	26
Figura 5. Diferentes metodologías para obtener derivados de piperazinas	28
Figura 6. Procedimiento para la reacción.....	34
Figura 7. Esquema general del procedimiento experimental aplicado para la evaluación sobre los niveles de glucosa, además de evaluación con ketanserina y determinar si existe interacción con los receptores 5-HT ₂ y en el caso de forskolina, determinar si posee efecto sobre receptores 5-HT ₁	35
Figura 8. Esquema de la metodología aplicada para la evaluación sobre los niveles de glucosa, donde se aplicaron diferentes dosis.	36
Figura 9. Diagrama de la metodología aplicada para la evaluación con el antagonista ketanserina.	37
Figura 10. Diagrama de la metodología aplicada para la evaluación con forskolina, como activador de AMPc.	38
Figura 11. Espectro de RMN ¹ H (400 MHz, D ₂ O), del compuesto sintetizado, realizado para su elucidación estructural.	41
Figura 12. Espectro de RMN ¹³ C (400 MHz, D ₂ O) del compuesto sintetizado, realizado para su elucidación estructural.	42

Figura 13. Curso temporal del porcentaje de variación de niveles de glucosa, al minuto 60 se observa la elevación de los niveles de glucosa, lo que se conoce como pico postprandial (n= 8±EEM).....	43
Figura 14. Áreas bajo la curva de cada tratamiento obtenida del curso temporal de los niveles de glucemia vs tiempo de la figura anterior... ..	44
Figura 15. Porcentaje de variación de glucosa correspondiente a los tratamientos del vehículo, la dosis de 10 mg/kg de 3,4-MDFP, el tratamiento con ketanserina y la coadministración de los dos anteriores con respecto al tiempo.....	45
Figura 16. Grafica de áreas bajo la curva de los tratamientos de la dosis de 10 mg/kg de 3,4-MDFP, administrada de manera individual y coadministrada con Ketanserina.....	46
Figura 17. Porcentaje de variación de glucosa correspondiente a los tratamientos del vehículo, la dosis de 10 mg/kg de 3,4-MDFP, el tratamiento con forskolina a las dosis de 84 y 168 µg/kg y la coadministración de los anteriores con respecto al tiempo.	47
Figura 18. Grafica de áreas bajo la curva de los tratamientos de la dosis de 10 mg/kg de 3,4-MDFP, administrada de manera individual y coadministrada con forskolina	48
Figura 19. Descripción del mecanismo de reacción que ocurre en 2 etapas, en una primera etapa se genera la unión del grupo amino por la eliminación del Cl y luego por la agregación de carbonato de sodio se genera el cierre del anillo de piperazina.....	49
Figura 20. Esquema del posible mecanismo de acción del compuesto 3,4-MDFP. Actuando sobre receptores 5-HT ₂ presentes en células β, mientras que en receptores 5-HT _{1F} células α del páncreas no tiene efecto.	54

Lista de Abreviaturas

3,4-MDFP	1-[(3,4-Metilendioxi)-Fenil]-Piperazina
5-HT	5-hidroxitriptamina
AMPc	Adenosín monofosfato cíclico
ATP	Adenosín trifosfato
BZP	N-benzil piperazina
DPP-4	Dipeptidilpeptidasa 4
EEM	Error Estándar de la Media
GIP	Polipéptido Inhibidor Gástrico
GLP-1	Polipéptido Similar al Glucagón tipo 1
GLUT 2	Transportador de glucosa de tipo 2
IP₃	Inositol trifosfato
I.P.	Intraperitoneal
ppm	partes por millón
TPH	Triptófano Hidroxilasa
SNC	Sistema Nervioso Central
SSI	Solución salina isotónica
SUR 1	Receptor de sulfonilurea de tipo1

Resumen

Las piperazinas son una variedad de compuestos caracterizados por un anillo con la presencia de dos nitrógenos opuestos, 4 carbonos entre los dos nitrógenos. Las piperazinas son conocidas por su uso recreativo, ya que generan efectos similares a las anfetaminas. Este tipo de compuestos ejerce diversas acciones fisiológicas, ya sea actuando como agonista a diversos receptores o inhibiendo la recaptura de alguna bioamina, como la serotonina. Los receptores con los que más se les relaciona son los del tipo 5-HT. En algunos casos clínicos se ha reportado que pacientes con sobredosis por el uso recreativo, dentro del cuadro clínico se reportó episodios de hipoglicemia. Estos podrían estar relacionados con la acción de la serotonina sobre el páncreas y la liberación de insulina.

Tomando como punto de que algunas piperazinas poseen afinidad por los receptores de serotonina y generan episodios de hipoglicemia, se propuso la evaluación del compuesto 1-[(3,4-metilendioxi)-fenil]-piperazina sobre los niveles de glucosa en rata. Aplicando el método de prueba de tolerancia a la glucosa. Al comprobar que posee acción sobre los niveles de glucosa, se buscó determinar si este efecto podría ser generado a través de los receptores 5-HT₂, por lo que se evaluó el efecto del compuesto al ser administrado de manera conjunta con un antagonista de 5-HT₂, para este estudio se utilizó ketanserina, que al ser coadministrados se observó que el efecto del compuesto se ve abatido, lo cual sugiere que podría actuar por esta vía. A partir de otro estudio se sugiere que la estimulación de los receptores 5-HT_{1F} presentes en células α en el páncreas disminuye la secreción de glucagón. Por lo que se evaluó con forskolina, buscando el efecto contrario del receptor 5-HT_{1F}, pero al ser administrados de manera conjunta no genera modificación en el efecto del compuesto. Por lo que se sugiere que el compuesto podría actuar por la vía de 5-HT₂.

1 Antecedentes

1.1 Diabetes

La diabetes es un grupo de enfermedades metabólicas caracterizadas por niveles elevados de glucosa en sangre de manera crónica resultado de la ineficiente o nula secreción de insulina del páncreas, y la acción defectuosa de la insulina sobre sus receptores presentes en las células; en algunos casos se da la combinación de ambos escenarios (Kharroubi, 2015).

Desde un punto de vista médico, representa una serie condiciones metabólicas asociadas hiperglucemia y es causada por una insuficiencia parcial o total de la insulina (Egan & Dinneen, 2018).

1.2 Tipos de diabetes

Existen diferentes tipos de esta enfermedad que se clasifican de acuerdo con la condición en la que es generada la hiperglucemia.

1.2.1 Diabetes Tipo I

También llamada insulino dependiente. En este tipo de diabetes las células β del páncreas son destruidas por sistemas inflamatorios autoinmunes, un ejemplo es la acción de citosinas como interleucina-22, interferón- α y factor de necrosis tumoral- β , que inducen una respuesta inflamatoria por la formación de especies reactivas de oxígeno (Yang, 2008). Este proceso destructivo concluye en una total deficiencia de insulina (Egan & Dinneen, 2018).

1.2.2 Diabetes Tipo II

Es un complejo desorden metabólico asociado con la disfunción de las células β y la resistencia a la insulina en diversos niveles.

Esta variedad representa la mayoría de los casos a nivel mundial y está asociada, en gran medida, a un peso corporal excesivo y a la inactividad física (OMS, 2017; Egan & Dinneen, 2018).

1.2.3 Otros tipos de diabetes

Diabetes gestacional es definida como una intolerancia a los carbohidratos en un primer reconocimiento durante el embarazo, excluyendo a aquellas mujeres que probablemente tengan diabetes pregestacional (Punthakee, Goldenberg, & Katz, 2018).

Existen otros tipos de diabetes que aparecen de manera menos común en pacientes, que se relacionan con defectos genéticos, también son causados por enfermedades o agentes químicos. Algunos ejemplos se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Clasificación de los tipos de diabetes menos comunes (Egan & Dinneen, 2018)

Defectos genéticos que afecta la función de células β	Defectos que afectan la acción de la insulina
<ul style="list-style-type: none"> • HNF-4α (MODY 1) • Glucocinasa (MODY 2) • HFN-1α (MODY 3) • IPF-1 (MODY 4) • HNF-1β (MODY 5) • NeuroD1 o BETA 2 (MODY 6) • ADN mitocondrial 	<ul style="list-style-type: none"> • Resistencia a la insulina tipo A • Síndrome Donohue • Síndrome Rabson-Mendenhall • Diabetes lipodistrofica
Enfermedades del páncreas exocrino	Endocrinopatías
<ul style="list-style-type: none"> • Pancreatitis • Trauma en el páncreas o pancreatectomía • Neoplasia • Fibrosis cística • Hemocromatosis • Diabetes por fibrocalculos en el páncreas 	<ul style="list-style-type: none"> • Síndrome de Cushing • Acromegalia • Glucagonoma • Feocromocitoma • Somatostatinooma • Aldosteronoma • Hipertiroidismo
Inducida por fármacos o sustancias químicas	Infecciones
<ul style="list-style-type: none"> • Pentamidina • Acido nicotínico • Glucocorticoides • Hormona tiroidea • Diazóxido • Agonistas de receptores β-adrenérgicos • Tiazidas • Clozapina • Inhibidores de proteasa • Antipsicóticos de segunda generación • Inhibidores del punto de control inmunitario 	<ul style="list-style-type: none"> • Rubeola congénita

1.3 Diabetes en México y el mundo

A la fecha México ocupa el sexto lugar al nivel mundial en la prevalencia de diabetes, proyecciones de especialistas internacionales refieren que para el año 2025 México ocupará el quinto lugar. En México una tercera parte de los ataques al corazón y la mitad de las fallas renales crónicas, son consecuencias directas de la diabetes (Arredondo et al., 2019).

La diabetes ha captado la atención del mundo como un problema mayor de salud pública, esto debido al incremento acelerado en su prevalencia. En el mundo se tiene una prevalencia de 420 millones de personas, afectando en un 9% de los hombres y un 8% a las mujeres, de esos 420 millones de personas un 90-95% de los casos se refiere a diabetes tipo 2. La Federación Internacional de Diabetes, estima que para el año 2045 un total de 693 millones casos de diabetes (Cho et al., 2018).

Según la Federación Internacional de Diabetes en el año 2017, el 79% de los adultos con diabetes vivía en países de ingresos medianos y bajos. La edad promedio de las personas con diabetes se encontraba de 40 a 59 años. Una de cada dos personas con diabetes no se encontraba diagnosticada. Más de 1,106,500 niños vivían con diabetes tipo 1. Un total de 352 millones de personas se encontraban en riesgo de desarrollar diabetes tipo 2 (IDF, 2017).

De acuerdo con el INEGI, de 2010 a 2017 han muerto un total de 742,923 personas a causa de la diabetes en México, lo cual se describe en la gráfica de la Figura 1 (INEGI, 2017).

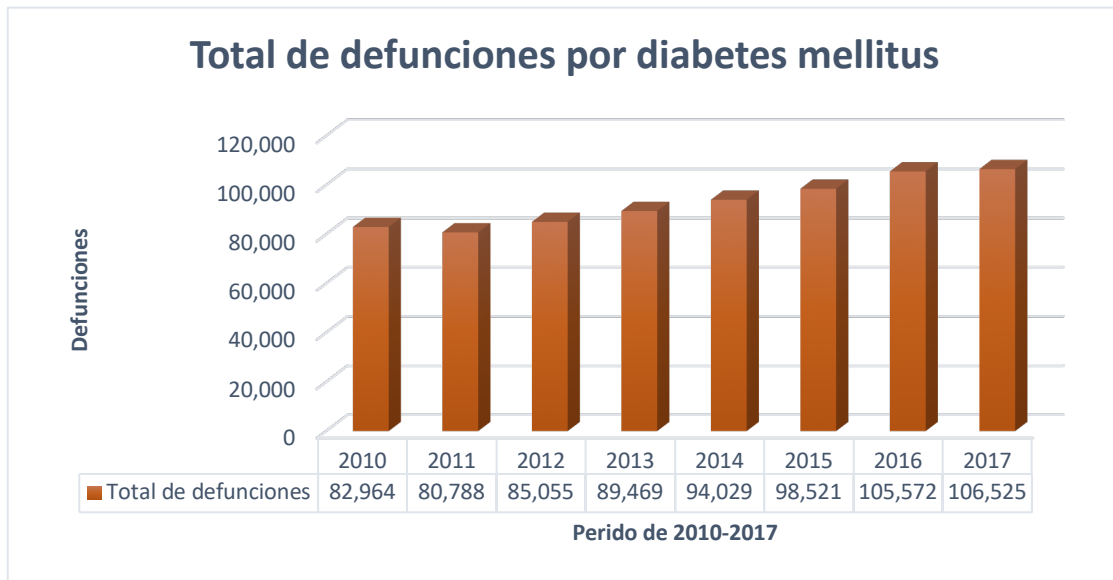


Figura 1. Defunciones por diabetes mellitus en México de 2010-2017. (INEGI)

Los datos anteriores nos indican que esta es una enfermedad con aumento en su prevalencia, tanto en el mundo como en México, siendo la segunda causa de muerte en nuestro país.

1.4 Fisiopatología de la diabetes

Para entender el mecanismo responsable de la hiperglucemia, es necesario entender el mecanismo de cómo los niveles de glucosa son controlados de manera normal. Esto ocurre debido al equilibrio que existe entre la acción y la secreción de insulina. Las células β del páncreas normales se adaptan a los cambios que existen en la acción de la insulina, por ejemplo, la disminución en la acción de la insulina es complementada con un aumento de secreción por parte de las células β (Stumvoll, Goldstein, & Haeften, 2010).

La diabetes tipo I y tipo II se presentan cuando no existe una señalización por parte de la insulina, provocando un desbalance en el metabolismo de carbohidratos, lo cual genera efectos en otros sistemas metabólicos (Moini, 2019). En la diabetes de tipo I, sin la presencia de insulina, el

tejido adiposo y el tejido muscular no realizan la captura de glucosa para su metabolismo, lo que desencadena un aumento en los niveles de glucosa. De igual manera la ausencia de insulina provoca que los niveles de glucagón se eleven en sistema, lo que genera una estimulación en los procesos de glucogénesis, glicólisis y lipólisis en el hígado. El aumento de la lipólisis causa la elevación de ácidos grasos en sistema, una parcialidad de estos es tomada por el hígado donde son incorporados en lipoproteínas (Dasgupta & Wahed, 2014). Esto desencadena el aumento en sangre de lipoproteínas de densidad muy baja y lipoproteínas de baja densidad, aumentando el riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares como aterosclerosis acelerada, enfermedad de la arteria coronaria e infarto al miocardio. Así mismo al tenerse una elevada lipólisis se genera la producción de los cuerpos cetónicos, que al aumentar sus niveles genera una condición dañina conocida como cetoacidosis (Moini, 2019).

La diabetes tipo II es similar en muchas maneras a la diabetes tipo I. La diabetes tipo II difiere del tipo I en los procesos de glicólisis y lipólisis, ya que no son tan excesivos debido a la presencia y acción de la insulina. Conforme avanza este tipo de diabetes se desarrolla una condición conocida como síndrome hiperglucémico hiperosmolar no cetónico, en el cual, el cuerpo trata de eliminar el exceso de glucosa por la orina, lo que desencadena en daño e infecciones en el tracto urinario (Moini, 2019).

1.5 Resistencia a insulina

Se presenta cuando la insulina no genera la acción que es esperada de manera normal, como la captación en el músculo y la disminución de producción de glucosa por parte del hígado. En el hígado, la insulina se encarga de disminuir la glucogénesis. Cuando existe una resistencia a la insulina por parte de las células del hígado, aumenta la glucogénesis;

aumentando así los niveles de glucemia, siendo la mayor fuente de glucosa en los pacientes con diabetes (Stumvoll et al., 2010).

1.6 Disfunción de las células β del páncreas

Se sabe que la baja en la producción de insulina es causada por la toxicidad que generan las altas concentraciones de glucosa; la cual desencadena en un daño en los componentes para la producción de insulina (Robertson, Harmon, Tran, Tanaka, & Takahashi, 2003). En las células β , el metabolismo de la glucosa generará especies reactivas de oxígeno. La hiperglucemia se ha propuesto que es uno de los motivos por los cuales se genera un daño a los componentes celulares debido a las grandes cantidades de especies reactivas de oxígeno, aunado a que las células β poseen una baja cantidad de proteínas encargadas de la regulación reducción-oxidación. Con el paso del tiempo esto desencadena una disminución en la producción de insulina por parte del páncreas, principalmente en pacientes que presentan la enfermedad en estados avanzados (Stumvoll et al., 2010).

1.7 Secreción normal de insulina

La glucosa es rápidamente internalizada por las células β del páncreas por medio de sus transportadores específicos de tipo 2 (GLUT2, Glucose transporter 2 por sus siglas en inglés). Posteriormente, su metabolismo catabólico genera ATP. La proporción entre ATP/ADP estimula los dominios de sulfonilurea de los canales K_{ATP} el cual da paso al cierre del canal de potasio, cambiando el voltaje de la membrana celular abriendo los canales de calcio dependientes de voltaje. El calcio se une a los gránulos de la insulina y se liberan, como se puede observar en la siguiente figura (Figura 2)(Stumvoll et al., 2010).

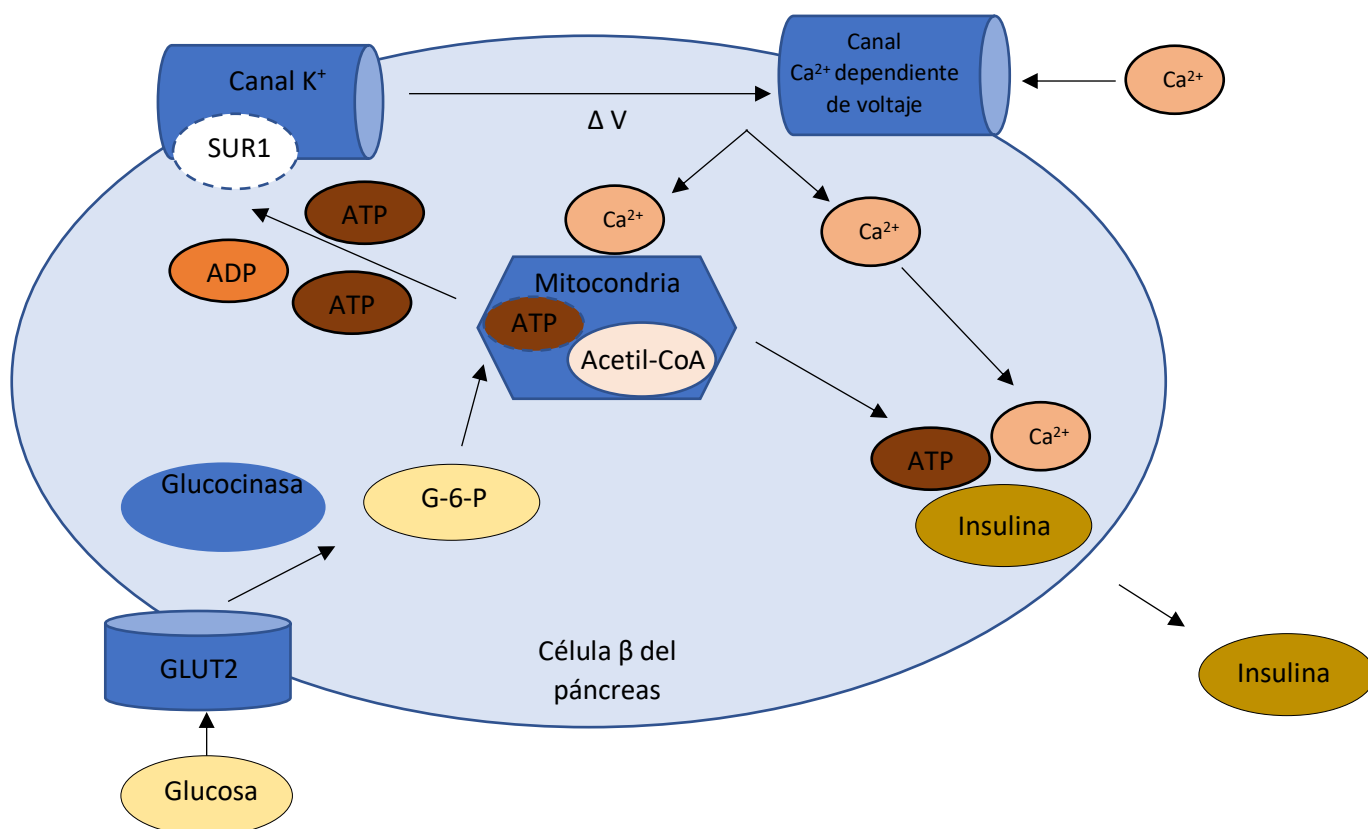


Figura 2. Liberación de insulina por las células β del páncreas, se presentan los principales componentes celulares que están involucrados en su liberación. Al ser internalizada la glucosa se procesa, generando como producto final ATP, al aumentar la proporción entre ATP y ADP, genera la activación de los receptores de sulfonilurea cerrando los canales de K^+ , permitiendo la entrada Ca^{2+} lo cual da paso a la liberación de insulina. (GLUT2: transportador específico de glucosa de tipo 2, ATP: Adenosín trifosfato, G-6-P: glucosa 6-fostato, SUR 1: Receptor de sulfonilurea de tipo1). Esquema tomado y modificado de Stumvoll et al., 2010

1.8 Tratamientos de la diabetes

La mayor parte del tratamiento de la diabetes consiste en una dieta saludable y actividad física, junto con la reducción de la glucemia, para lo cual se tienen diversas opciones de fármacos. El principal tratamiento para la diabetes tipo 1 es la aplicación de insulina; en algunos casos se administra en combinación con otros tratamientos como el uso de metformina e inhibidores de cotransportadores de sodio-glucosa tipo 2 (SGLT2, por sus siglas en inglés, sodium-glucose transporter) (ADA, 2018). Sin embargo, para la diabetes tipo II se tiene una gran variedad de tratamientos, así como otros que se encuentran en desarrollo; y en algunos casos se combina con la administración de insulina (OMS, 2017).

El desarrollo de los tratamientos se ha logrado gracias a que se ha descrito de manera más específica la fisiopatología de esta enfermedad, con el objetivo de mejorar el control de los niveles de glucosa en sangre, retrasando el avance de este padecimiento (Tahrani, Bailey, Del Prato, & Barnett, 2011).

Los tratamientos farmacológicos empleados para combatir la diabetes se pueden clasificar en dos vías. La vía clásica (Tabla 2) que se enfoca en la estimulación de las células β para la liberación de insulina y la absorción glucosa por los tejidos, como tejido muscular y adiposo. La vía no-clásica, que se enfoca en órganos como riñones, intestino y cerebro; tiene como objetivo que no exista una absorción de glucosa al sistema (Kahn, Cooper, & Del Prato, 2014).

1.8.1 Vía clásica

Tabla 2. Tratamientos para la diabetes; un ejemplo de cada tratamiento, sus mecanismos de acción y ventajas y desventajas, enfocados en la vía clásica (Kahn et al., 2014).

	Ejemplo	Mecanismo de acción	Ventajas	Desventajas (efectos adversos y efectos secundarios)
Sulfonilureas	Glibenclamida	Estimulan la liberación de insulina uniéndose al receptor de sulfonilurea 1, causando la despolarización de las células β .	Bajo costo, no presentar efectos secundarios y efectos adversos a largo plazo	Puede generar episodios de hipoglucemia y ganancia de peso.
Biguanidas	Metformina	Disminuyen la producción de glucosa por parte del hígado, y aumentan la sensibilidad a insulina en músculo	Seguridad a largo plazo, no hay aumento de peso, no presenta hipoglucemia	Se ha descrito que puede generar acidosis láctica y también genera una deficiencia de vitamina B12
Meglitinidas	Nateglinida	Se une al receptor 1 de sulfonilureas, pero en diferente sitio a las sulfonilureas, resultando en una liberación rápida y corta de insulina	Rápida y con un efecto a corto plazo	Existe una ganancia de peso y episodios de hipoglucemia.
Tiazolidinedionas	Pioglitazona	Incrementa la sensibilidad a insulina en células y reduce la producción de glucosa por parte del hígado	Bajo riesgo de hipoglucemia	Podría generar una falla de corazón y edema

1.8.2 Vía no clásica

Estos tratamientos se pueden describir de acuerdo con el órgano donde actúan. Los que actúan a través de intestino incluyen a los inhibidores de α -glucosidasa, como la acarbosa, que disminuyen la absorción de glucosa debido a que inhiben la degradación de carbohidratos complejos a carbohidratos más sencillos, evitando su absorción (Kahn et al., 2014).

Los productos relacionados con las incretinas, que están diseñados para mimetizar o aumentar la acción del péptido similar al glucagón tipo 1 (glucagon-like peptide-1, GLP-1 por sus siglas en inglés) y el polipéptido insulínico dependiente de glucosa (glucose-dependent insulintropic peptide, GIP por sus siglas en inglés). Ambos están involucrados con la reducción de los niveles de glucosa, ya que estimulan la liberación de insulina y la supresión de liberación de glucagón, por lo que se ha propuesto el uso de agonistas de receptores de GLP-1, un ejemplo de un agonista comercializado en el mercado es exanatida (Zappas, Gentes, & Walton-Moss, 2017). Otra vía que se busca explotar para aprovechar la acción de las incretinas es inhibir su degradación y así aumentar su acción en páncreas, esto se logra con la inhibición de la enzima dipeptidil peptidasa-4 (dipeptidyl peptidase-4, DPP-4 por sus siglas en inglés), que es la encargada de degradar la mayoría de las incretinas, un inhibidor de DPP-4 que ya es comercializado es la sitagliptina (Tahrani et al., 2011).

Otro órgano blanco son los riñones, ya que se encargan de la excreción y reabsorción de glucosa. La reabsorción esta mediada por el cotransportador de sodio-glucosa 2 (sodium-glucose co-transporter-2, SGLT2 por sus siglas inglés), por lo que su inhibición desencadena una disminución de la glucosa en sangre, un ejemplo de estos inhibidores es la dapagliflozina (ADA, 2018).

También se puede aprovechar al SNC (Sistema Nervioso Central) para complementar el tratamiento y reducir los niveles de glucosa en sangre, por medio de agonistas del receptor de dopamina, como bromocriptina, modificando el ciclo circadiano en la parte relacionada con genes de distintos sistemas relacionados con el metabolismo (Kahn et al., 2014).

1.9 Serotonina

La serotonina (5-hidroxitriptamina, 5-HT) es una bioamina derivada del aminoácido triptófano (Figura 3). En las células productoras de serotonina, el triptófano es hidroxilado por la enzima triptófano hidroxilasa (TPH), para después ser descarboxilada por la descarboxilasa ácida aromática (El-Merahbi, Löffler, Mayer, & Sumara, 2015).

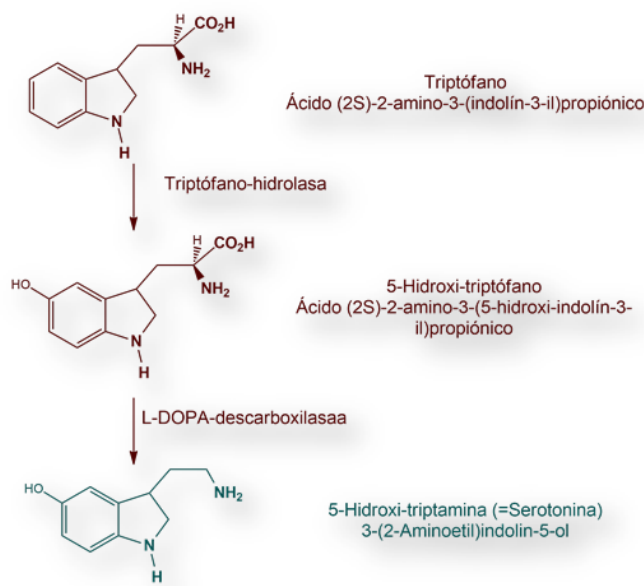


Figura 3. Biosíntesis de serotonina, se ha descrito que la serotonina es sintetizada tanto en SNC como en la periferia, ejerciendo diversas funciones tanto en la periferia como en el SNC.

La serotonina funciona como neurotransmisor, en la que sus efectos están mediados por al menos 13 receptores distintos acoplados a proteínas G basados en sus características estructurales, traduccionales y operacionales, divididos en 7 familias (5-HT₁ a 5-HT₇), una de las cuales

es un canal para iones positivos (5-HT₃), las familias son descritas en la tabla 3. (Hannon & Hoyer, 2008)

Tabla 3 Clasificación de los subtipos de receptores de serotonina, así como el tipo de proteína al cual se encuentran acoplados y el segundo mensajero que es liberado (Hannon & Hoyer, 2008).

Subfamilia	Proteína acoplada al receptor	Segundos mensajeros
5-HT ₁	G _i	AMPC ↓
5-HT ₂	G _q	IP ₃ y Ca ²⁺ ↑
5-HT ₃	Canal iónico	Es un canal inespecífico para iones positivos
5-HT ₄	G _s	AMPC ↑
5-HT ₅	G _i	AMPC ↓
5-HT ₆	G _s	AMPC ↑
5-HT ₇	G _s	AMPC ↑

Abreviaturas: AMPC: adenosine monophosphate cyclic, adenosín monofosfato cíclico, IP₃: inositol trisphosphate, inositol trifosfato.

1.9.1 Acciones fisiológicas de la serotonina

La serotonina no cruza la barrera hematoencefálica, por lo que posee acciones distintas tanto en el cerebro como en la periferia (Berger, Gray, & Roth, 2009). En el cerebro se encarga de la regulación de aspectos como comportamiento y el aprendizaje (Lesch, Araragi, Waider, Van den Hove, & Gutknecht, 2012). En el cerebro se produce un total 5% del total de serotonina del organismo, el 95% restante es producida por los órganos periféricos. La mayoría de la serotonina periférica es producida en el tracto gastrointestinal, donde pueden actuar de manera local o puede entrar a la circulación. También se ha demostrado que otras células pueden producir serotonina, como las células β del páncreas o adipocitos (El-Merahbi et al., 2015).

1.9.2 Serotonina en páncreas

La estimulación del páncreas por la serotonina fue propuesta hace más de 40 años (Lundquist, Ekholm, & Ericson, 1971; Marco, Hedo, &

Villanueva, 1977). La serotonina es liberada de manera simultánea con la insulina, que en conjunto juegan un papel importante en el metabolismo y en el balance energético. Estudios recientes demuestran que, durante estados de alta demanda metabólica, como en el embarazo o en el consumo de dietas altas en grasas, la serotonina es producida en los islotes del páncreas para mantener la homeostasis de la glucosa. Se tienen reportes que indican que las células β en seres humanos poseen las enzimas encargadas de la síntesis de serotonina de manera normal, además de que es capaz de liberarla en concentraciones ideales para que puedan unirse a sus respectivos receptores (A. M. Martin et al., 2017). En las células del páncreas se ha detectado la expresión de diferentes subtipos de receptores de serotonina, siendo más abundantes los receptores de la familia 5-HT₁, 5-HT_{5A} y 5-HT_{3E}. Resalta la presencia de receptores 5-HT_{1F} en las células pancreáticas alfa, cuya estimulación por serotonina reduce la secreción de glucagón y provoca disminución de la glucemia en ratas pretratadas con estreptozotocina (Almaça et al., 2016).

Anteriormente se había descrito la acción que ejerce la serotonina sobre páncreas es a través de los receptores 5-HT_{2B} y 5-HT₃ (Ohara-Imaizumi et al., 2013). Se ha reportado que este neurotransmisor forma parte del mecanismo para la liberación de insulina en las células β , tanto que es producida en las mismas y que están presentes receptores específicos para el mismo; lo que indica que existe una estimulación autocrina por parte de la serotonina en el páncreas (Almaça et al., 2016).

Los receptores con mayor importancia son los receptores de tipo 5-HT_{2B} ya que al ser activados desencadenan en el aumento de calcio intracelular, lo que es responsable de la liberación de insulina (Hoyer, Pharma, & Basel, 2007; Paulmann et al., 2009).

1.9.3 Agonistas y antagonistas serotoninérgicos

Los agonistas de los receptores de serotonina poseen estructuras químicas distintas y diversas propiedades farmacológicas (Brunton Laurence L., Lazo John S., 2011). Las piperazinas son compuestos que tienen afinidad y efecto sobre diversos receptores de serotonina, por ejemplo, las familias de 5-HT₁, 5-HT₂ y 5-HT₃. Las piperazinas forman parte de la estructura de varios fármacos utilizados en la clínica. Funcionan como antidepresivos por ejemplo la buspirona que actúa sobre receptores 5-HT₂ (Howland, 2015). Como anticancerígenos solo se ha reportado el imatinib. Existe una gran variedad de piperazinas usadas como antipsicóticos, un ejemplo es la clozapina que tiene afinidad sobre receptores de dopamina de tipo 2 (D₂) y receptores de serotonina 5-HT₂ (Nucifora, Mihaljevic, Lee, & Sawa, 2017; Shaquiquzzaman et al., 2015).

En algunos reportes de casos, se ha observado que pacientes con sobredosis por el consumo de forma recreativa de piperazinas, en específico 1-bencilpiperazina, presentan episodios de hipoglucemia después de su consumo, en otros casos la hipoglucemia se observa después de 24 horas, ambos con el uso de 1-bencilpiperazina (Gee, Jerram, & Bowie, 2010).

Se ha reportado que estos compuestos poseen actividad serotoninérgica, ya sea que actúen como inhibidores en la recaptura de serotonina, o actuando como agonistas de receptores de serotonina. En especial la 1-benzilpiperazina, posee afinidad por los receptores de tipo 5-HT₂ y 5-HT₃, aunque sobre estos últimos con menor afinidad (Arbo, Bastos, & Carmo, 2012; Shaquiquzzaman et al., 2015).

Las propiedades de los antagonistas de los receptores de la serotonina son muy variadas, en la actualidad existen diversos antagonistas de los receptores de 5-HT_{2A/2C} y 5-HT₃. Los miembros de estas familias de fármacos poseen estructuras químicas diversas y no tienen una

característica en común con la que se pueda predecir si existe afinidad a los receptores ya mencionados (Brunton Laurence L., Lazo John S., 2011). En los años 90 se demostró que el uso de antagonistas no selectivos de receptores de serotonina genera episodios de hiperglucemia (Wozniak & Linnoila, 1991).

1.10 Síntesis de bencil- y fenil-piperazinas.

Químicamente, los compuestos piperazínicos son compuestos cíclicos que contienen 2 nitrógenos en posiciones opuestas y 4 carbonos entre los 2 nitrógenos. Las piperazinas pueden ser clasificadas de 2 formas, las bencilpiperazinas como la 1-bencilpiperazina (BZP) y el análogo 1-(3,4-metilendioxiobenzil) piperazina y las fenilpiperazinas como 1-(3-clorofenil) piperazina, 1-(3-trifluorometilfenil) piperazina. Siendo la diferencia, el carbono que se encuentra entre el anillo de piperazina y el anillo de benceno de las bencilpiperazinas, mientras que las fenilpiperazinas no lo poseen. Estas estructuras se ejemplifican en la Figura 4. (Arbo et al., 2012)

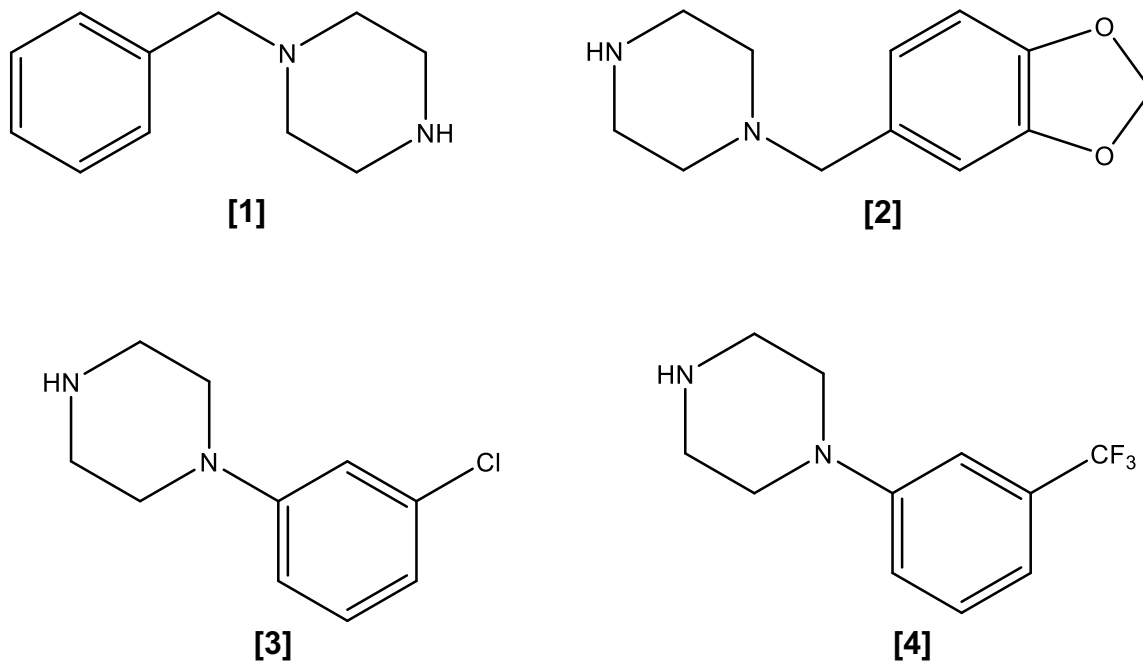


Figura 4. Estructuras de diferentes piperazinas, [1] 1-bencilpiperazina y [2] 1-(3,4-metilendioxiobenzil) piperazina pertenecen a la clase bencilpiperazinas, mientras que [3] 1-(3-clorofenil) piperazina y [4] 1-(3-trifluorometilfenil) piperazina pertenecen a las fenil piperazinas.

La 1-bencilpiperazina puede ser producida por la reacción de monohidrocloruro de piperazina con (clorometil) benceno; sólo que en este método se obtiene la piperazina en una menor proporción, que se describe en la reacción [1] figura 5. Otros métodos describen la mezcla de piperazina hexahidratada y piperazina dihidroclorada monohidratada, para después agregar cloruro de bencilo, como se representa en el esquema de la reacción [2] de la figura 5, obteniendo como producto predominante 1-bencilpiperazina en su forma de sal con dihidrocloruro (Yeap, Bian, Fahmi, & Abdullah, 2010).

Originalmente la 1-benzilpiperazina fue sintetizado por investigadores de la compañía Burroughs, Wellcome & Co. Como un agente antiparasitario para ganado, aunque no existen datos sobre este como tratamiento para parásitos intestinales. En la década de los 70, se investigaron las

propiedades de la BZP como un agente antidepresivo, pero se dejaron debido a que presentó efectos similares a los de anfetaminas, como estimulante y generación de placer (Kerr & Davis, 2011).

Las fenilpiperazinas pueden ser sintetizadas por una reacción entre sales de bis-(2-haloetil)-aminas y anilinas; por ejemplo, el reflujo de bis-(2-cloroetil)-amina con una solución de anilina en metanol, como se muestra en la reacción 3 de la figura 5, fueron empleadas por Prelog y Blazek, para la obtención de fenilpiperazinas.

Otra forma de obtención consiste en una mezcla de benceno sustituido y piperazina en la cual, la mezcla se calienta a 100° C por 24 horas, ocurriendo una reacción de sustitución nucleofílica aromática, se muestra la descripción en la reacción 4 de la figura 5 (Martin G. et al., 1989).

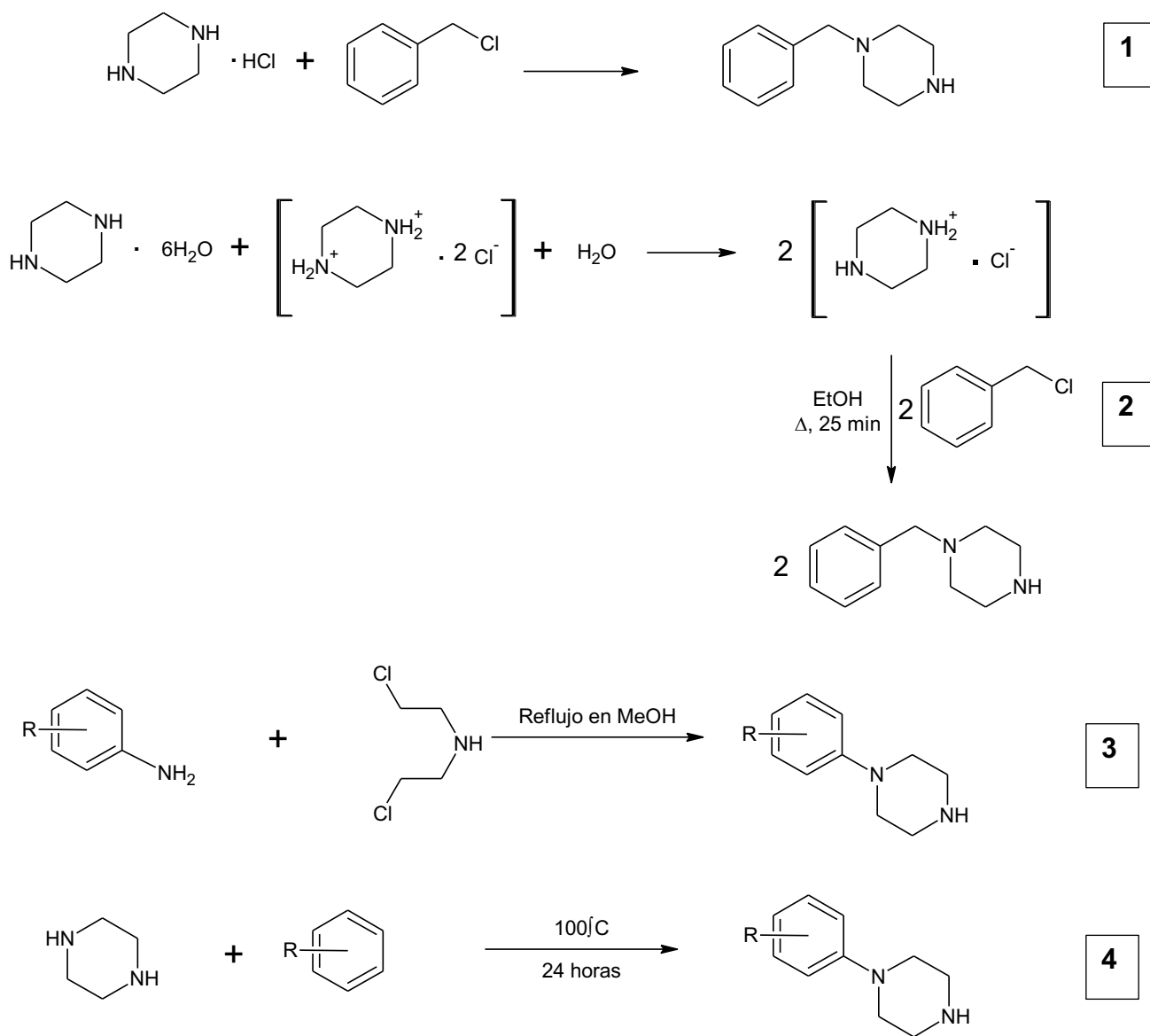


Figura 5. Diferentes metodologías para obtener derivados de piperazinas, siendo los métodos [1] y [2] los empleados para la síntesis de bencilpiperazinas. Mientras que los métodos [3] y [4] son usados para la obtención de fenilpiperazinas.

1.11 Prueba de tolerancia a la glucosa

La prueba de tolerancia a la glucosa oral es ampliamente usada en la clínica para realizar el diagnóstico de diabetes. Este método también es usado en la investigación en modelos con animales, enfocados en la homeostasis de la glucosa, la resistencia o sensibilidad de insulina. Además, este modelo ha sido usado para mimetizar el estado postprandial de hiperglucemia, el cual provee información en la disminución de glucosa como consecuencia de su metabolismo. De manera general este método nos demuestra la dinámica entre la glucosa y la insulina bajo condiciones fisiológicas normales. La elevación postprandial de insulina permite la absorción de glucosa presente en sangre (Cheng, Li, & Cheng, 2014).

Debido a que la respuesta de la insulina a la glucosa en sangre durante la prueba refleja la capacidad de las células β del páncreas para secretar insulina y la sensibilidad de los tejidos a la insulina, muchas veces este modelo es usado para evaluar la función de las células β y resistencia a la insulina (Stumvoll et al., 2010).

2 Planteamiento del problema

La diabetes es un problema de salud pública en la que cada día aumenta el número de pacientes que la padecen, se tiene una variedad de tratamientos ya establecidos, los cuales ayudan a mantener los niveles de glucosa bajos; pero este control no es sostenible con la monoterapia, además de que muchos de estos tratamientos tienen efectos secundarios, por ejemplo episodios de hipoglicemia, también el organismo genera tolerancia contra estos medicamentos (Tahrani, Piya, Kennedy, & Barnett, 2010).

Se ha explorado de manera muy extensa el papel de la serotonina en el páncreas y su relación con la liberación de insulina por parte de las células β , así como también se ha descrito cuales son los receptores serotoninérgicos presentes en el páncreas, por lo que es una vía con potencial para la generación de nuevos tratamientos. Pero no se han liberado fármacos en el mercado utilizados como tratamiento en la diabetes.

La BZP es un agonista serotoninérgico que es utilizada de forma recreativa y en algunos casos se combina con otras drogas; en casos de sobredosis de la BZP y análogos de esta, se ha reportado que los pacientes generan episodios de hipoglucemia (Gee et al., 2010).

Tomando como referencia los episodios de hipoglucemia reportados en casos clínicos sobre el efecto de la BZP, descritos por P. Gee, T. Jerram y D. Bowie, se propone investigar si la 3,4-MDFP tendrá la misma actividad sin presentar los efectos no deseados de la BZP.

En estudios previos se evidenció la poca actividad nootrópica en el modelo de evitación pasiva de 3,4-MDFP, por lo que se podría sugerir que este compuesto posee poca actividad sobre el sistema nervioso central, además de que a dosis inferiores a 30 mg/kg no posee toxicidad, al no

provocar la muerte en los roedores, por lo que se seleccionó para realizar su estudio para este trabajo y comprobar si posee efecto hipoglucemiante, asumiendo que no tendrá actividad sobre el sistema nervioso central, pero si en la en la regulación de la glucemia, por actuar en los receptores de serotonina en el páncreas.

3 Hipótesis

El compuesto 1-[(3,4-metilendioxi)-fenil]-piperazina (3,4-MDP) presentará un efecto antihiper glucémico en la prueba de tolerancia a la glucosa, debido a la acción agonista de los receptores de serotonina 5-HT₂ presentes en el páncreas.

4 Objetivos

- General

Realizar la síntesis de la 1-[(3,4-metilendioxi)-fenil]-piperazina (3,4-MDP) y evaluar su efecto antihiper glucémico en presencia y ausencia de ketanserina.

- Particulares

Sintetizar la 3,4-MDFP a partir de la 3,4-(metilendioxi) anilina y la bis-(2-cloroetil) amina.

Determinar el efecto sobre los niveles de glucosa de 3,4-MDFP por medio de la prueba de tolerancia a la glucosa en ratas Wistar.

Evaluar el efecto sobre los niveles de glucemia de 3,4-MDFP al ser coadministrada con ketanserina (un antagonista de los receptores 5-HT₂) y forskolina (un activador de adenilato ciclasa), en ratas Wistar normoglucémicas.

5 Metodología

5.1 Generalidades

Para la síntesis del compuesto a evaluar, se emplearon las materias primas bis-(2-cloroetil)-amina y 3,4-Metilendioxianilina que fueron adquiridas de la compañía Sigma Aldrich®.

Para la evaluación biológica se utilizaron ratas Wistar macho con un peso corporal entre 150-200 g. Los animales se obtuvieron del Centro de Producción UNAM-Envigo, Envigo México S.A. de C.V. y se mantuvieron con libre acceso a agua y alimento. Cada grupo de estudio consistió de 8 animales y después de cada experimento los animales fueron sometidas a eutanasia por hipoxia en cámara de CO₂.

Así mismo, se aplicaron los lineamientos marcados por la Norma Oficial Mexicana para el Cuidado y Manejo de Animales (NOM-062-ZOO-1999) y los procesos se llevados a cabo procurando aplicar las 3 R's en el manejo de los roedores. El número de ratas fue el mínimo necesario para tener un análisis estadístico confiable. Se obtuvo la autorización del protocolo por el Comité Institucional para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio (CICUAL) de la Facultad de Química (Oficio CICUAL/218-2/17, Anexo 1).

5.2 Obtención del (3,4-Metilendioxifenil)-piperazina (3,4-MDFP)

De manera general, para la obtención del compuesto se parte de las condiciones de síntesis ya reportadas en trabajos anteriores, en donde se utiliza las materias primas bis-2-cloroetilamina y anilina para generar el anillo de piperazina. La reacción se realizó en 2 etapas, en un primer paso se busca la unión del grupo amino de la anilina con la bis-(2-cloroetil)-amina y posteriormente el cierre del anillo de piperazina (ver esquema de síntesis en la Figura 6).

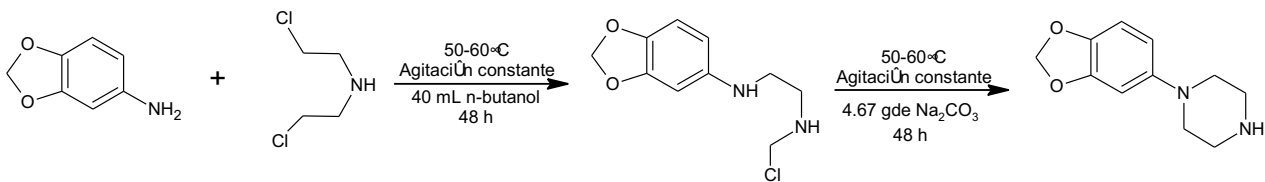


Figura 6. Procedimiento para la reacción, con los pasos que se siguieron de manera general.

Para lo anterior se realizó lo siguiente:

1. Se agregaron las materias primas de manera equimolar; 4.48 g (40 mEq) de bis-(2-cloroetil) amina (Sigma Aldrich) y 7.14 g (40 mEq) 3,4-metilendioxi anilina (Sigma Aldrich). Ambas materias se disolvieron en 40 mL de n-butanol.
2. La reacción se mantuvo en condiciones de calor y agitación constante, con una temperatura entre 50 y 60°C.
3. La reacción fue monitoreada por medio de cromatografía en capa fina, utilizando como sistema eluyente metanol y acetonitrilo (9:1) y revelándose en cámara de yodo.
4. Al transcurrir 48 horas de reacción, se realizó la comprobación de la desaparición de la materia prima, usando la cromatografía en capa fina; se agregó de manera equimolar carbonato de sodio, lo que originó una neutralización del medio, dando así paso al cierre del anillo de piperazina
5. La reacción continuó por otras 48 horas bajo las mismas condiciones, de temperatura de 50-60°C y agitación.
6. Al término de la reacción se eliminó el n-butanol mediante evaporación a presión reducida, el curdo de reacción fue recristalizado de MeOH.

A partir del sólido obtenido, se realizó la determinación de punto de fusión con el equipo de Fisher-Jones, además de la determinación estructural por medio de resonancia magnética nuclear (RMN) tanto de ^1H como de ^{13}C .

5.3 Evaluación biológica

Para la evaluación biológica y elucidar un posible mecanismo de acción, se realizaron tres experimentos de acuerdo con el siguiente diagrama, Figura 7.

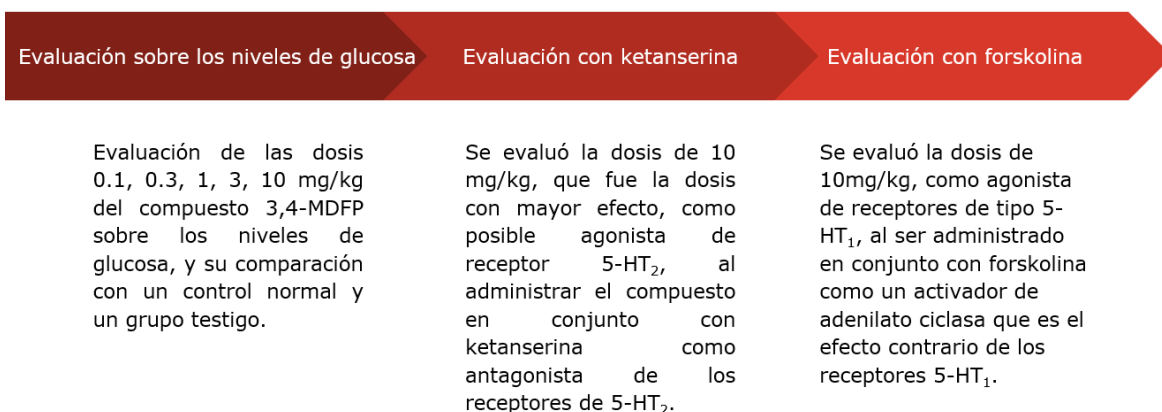


Figura 7. Esquema general del procedimiento experimental aplicado para la evaluación sobre los niveles de glucosa, además de evaluación con ketanserina y determinar si existe interacción con los receptores 5-HT₂ y en el caso de forskolina, determinar si posee efecto sobre receptores 5-HT₁.

Para determinar si el compuesto posee efecto sobre los niveles de glucosa se aplicó la prueba de tolerancia a la glucosa oral a los roedores, para las determinaciones de glucosa se utilizó un glucómetro marca One Touch®, aplicando una carga de 2 g/kg de glucosa (Chávez Guzmán, 2016), tomando la muestra de sangre mediante punción en la punta de la cola del roedor; evaluando las dosis de 0.1, 0.3, 1, 3 y 10 mg/kg del compuesto 3,4-MDFP, utilizando como vehículo solución salina isotónica (SSI), administrados por vía intraperitoneal; además se comparó con 2 grupos adicionales, un grupo testigo donde se administró una dosis de 20

mg/kg de glibenclamida por vía oral, esto debido a que es insoluble en agua y lo que hace complicada su administración intraperitoneal, y el otro grupo fue un grupo como control normal administrado a los roedores solo con vehículo. La metodología aplicada fue la prueba de tolerancia a la glucosa oral, para lo cual se siguieron los pasos del diagrama en la Figura 8.

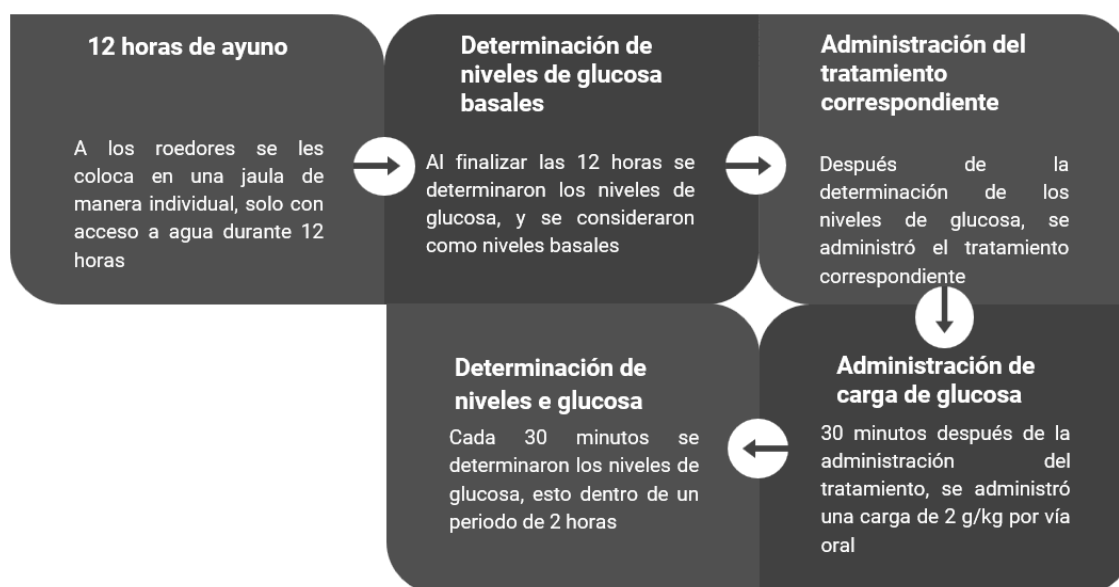


Figura 8. Esquema de la metodología aplicada para la evaluación sobre los niveles de glucosa, donde se aplicaron diferentes dosis.

Posteriormente se realizó la evaluación con ketanserina, en donde se compararon los siguientes tratamientos, Grupo 1: tratado con una dosis de 2.5 mg/kg de ketanserina; Grupo 2: tratado con la dosis de 10 mg/kg del compuesto 3,4-MDFP, esta dosis fue seleccionada debido a que fue la dosis que presentó mayor efecto; Grupo 3: tratado con la dosis de 2.5 mg/kg de ketanserina y con la dosis de 10 mg/kg de 3,4-DMFP de manera conjunta, Grupo 4: grupo control, al que solo se administró SSI. La ketanserina, tanto el grupo donde se administra de manera individual como de manera conjunta con el compuesto 3,4-MDFP, fue administrada 30 minutos antes de determinar el nivel basal de glucosa y antes de la

administración de los tratamientos correspondientes, esto para generar el bloqueo de los receptores 5-HT₂, con lo cual se buscó determinar si el compuesto posee efecto sobre estos receptores. Lo anterior se realizó de acuerdo con el siguiente diagrama, Figura 9.

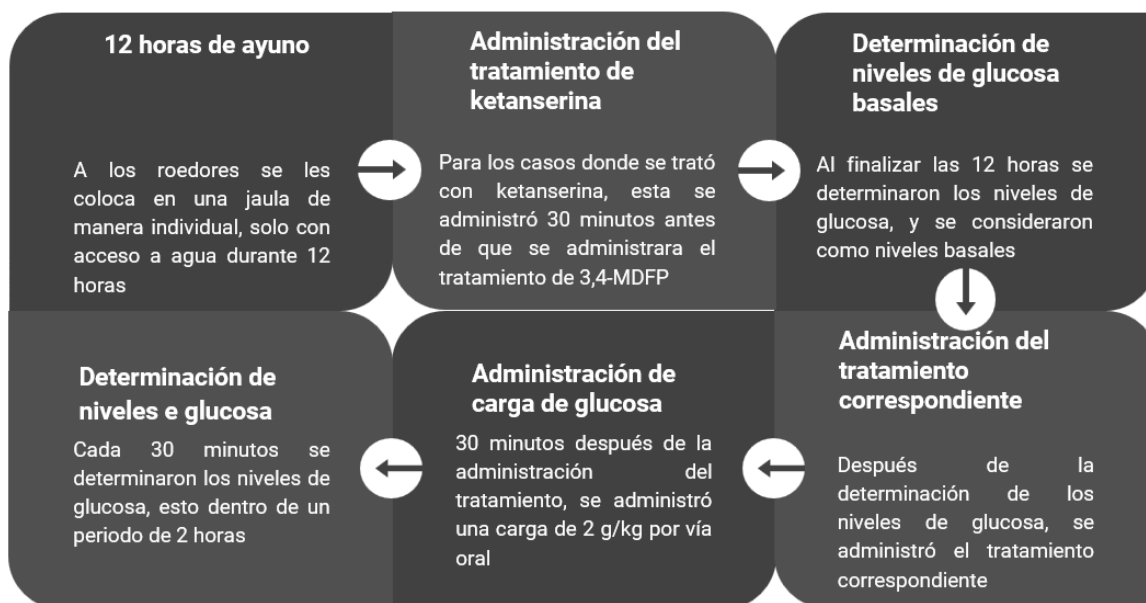


Figura 9. Diagrama de la metodología aplicada para la evaluación con el antagonista ketanserina.

Posteriormente se realizó el experimento para determinar la participación de los receptores 5HT_{1F} presentes en las células α del páncreas, a través de administración forskolina. Ya que estudios demuestran que los agonistas del receptor 5-HT_{1F} presentes en éstas células inhiben la producción de AMPc y así disminuye la liberación de glucagón generando así un efecto hipoglucemiante; la forskolina actúa como un activador de adenilato ciclasa, generando el efecto contrario a los receptores 5-HT_{1F} (Almaça et al., 2016). Para lo cual se compararon los siguientes grupos, Grupo 1: administrado con la dosis 84 μ g/kg de forskolina; Grupo 2: administrado con 168 μ g/kg de forskolina, ambos administrados por vía intraperitoneal; Grupo 3: tratado con la dosis de 10 mg/kg 3,4-MDFP; Grupo 4: tratado con la dosis de 84 μ g/kg de forskolina de manera

conjunta con la dosis de 10 mg/kg de 3,4-MDFP; Grupo 5: tratado con la dosis de 168 mg/kg de forskolina de manera conjunta con la dosis de 10 mg/kg y Grupo 6, como grupo control. En el caso de los grupos donde se administró la forskolina, ésta fue administrada 30 min antes de realizar la determinar la glucosa basal. Lo anterior se realizó de acuerdo con el siguiente diagrama, Figura 10.

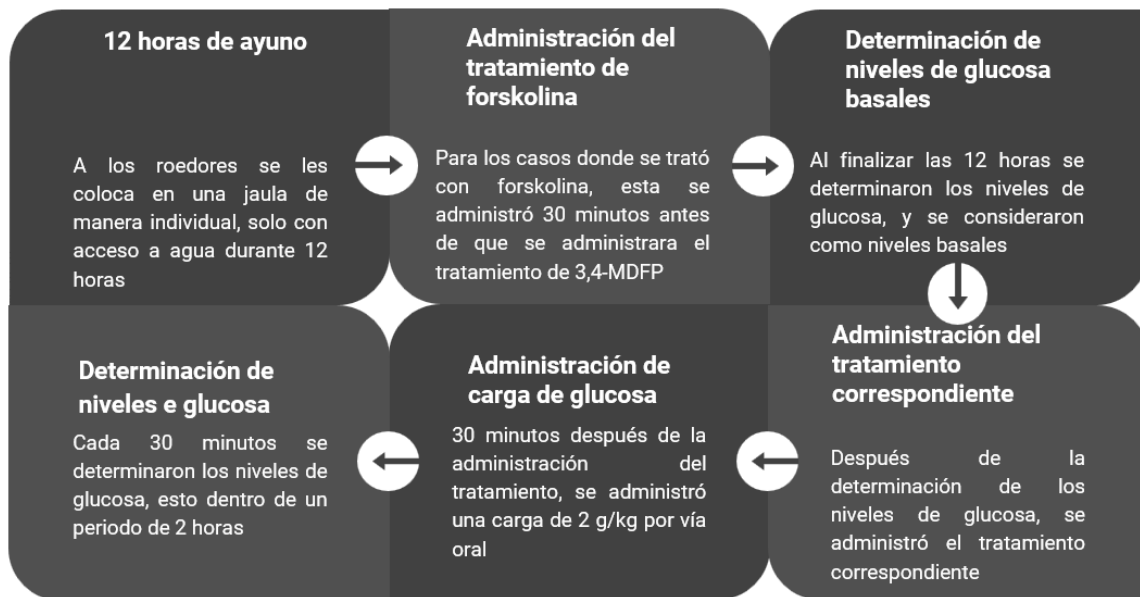


Figura 10. Diagrama de la metodología aplicada para la evaluación con forskolina, como activador de AMPc.

5.4 Tratamiento de datos

Con los datos obtenidos se determinaron los porcentajes de variación de cada valor y así se construyó un curso temporal de cada uno de los tratamientos, donde se graficó el porcentaje de variación vs tiempo en minutos. El porcentaje de variación se obtuvo de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$\%Variación = \frac{V_f - V_i}{V_i} \times 100$$

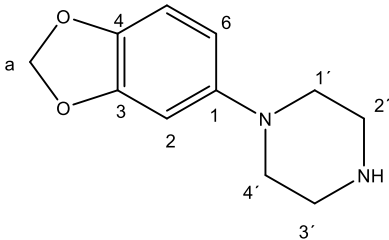
Donde V_f representa los valores de glicemia al tiempo t y V_i representa los niveles basales de glucosa.

Con el curso temporal correspondiente a cada tratamiento se calculó el área bajo la curva (ABC), por la cual se realizó la comparación estadística por un análisis de varianza de una vía con una con un valor de significancia de $\alpha=0.05$, seguido de una prueba *post hoc* de Tukey. Esto con el fin de determinar si existe diferencia entre cada uno de los tratamientos, el medicamento testigo y el control normal, el cual fue tratado con los vehículos.

6 Resultados

6.1 Síntesis y caracterización

Se obtuvieron 3.41 g, correspondiente a un rendimiento del 41.4%, de cristales blanquecinos con un punto de fusión de 250-254°C. En la Tabla 4 se proporcionan las señales de resonancia magnética nuclear de hidrógeno y de carbono-13. En el espectro de RMN protónica las señales del anillo de piperazina aparecen como dos señales múltiples en 3.36 y 3.44 ppm, la señal del metileno aparece en 5.98 ppm y las señales del anillo aromático aparecen como tres señales entre 6.6 y 6.9 ppm. En el espectro de RMN de C-13 aparecen 9 señales, ya que las señales de los 4 carbonos del anillo de piperazina aparecen como dos señales a 43.16 y 48.12 ppm. Los espectros se presentan en las Figuras 11 y 12.

Tabla 4: Señales correspondientes de los espectros de RMN de ^1H y de ^{13}C .	
	^1H NMR (400 MHz, D_2O) δ 6.90 (H-5;d,1H) δ 6.80(H-2; d, 1H); δ 6.62 (H-6; dd, 1H); δ 5.98 (H-a; CH_2 , s,2H); δ 3.44 (H-1' y H-4'; m, 2H); δ 3.36 (H-2' y H-3'; m, 2H) ^{13}C NMR (101 MHz, D_2O) δ 147.91 (C3); δ 145.02 (C1); δ 142.81 (C4); δ 110.83 (C5); δ 108.47 (C6); δ 101.25(Ca); δ 101.08 (C2) δ 48.12 (C1' y C4'); δ 43.16 (C2' y C3'),

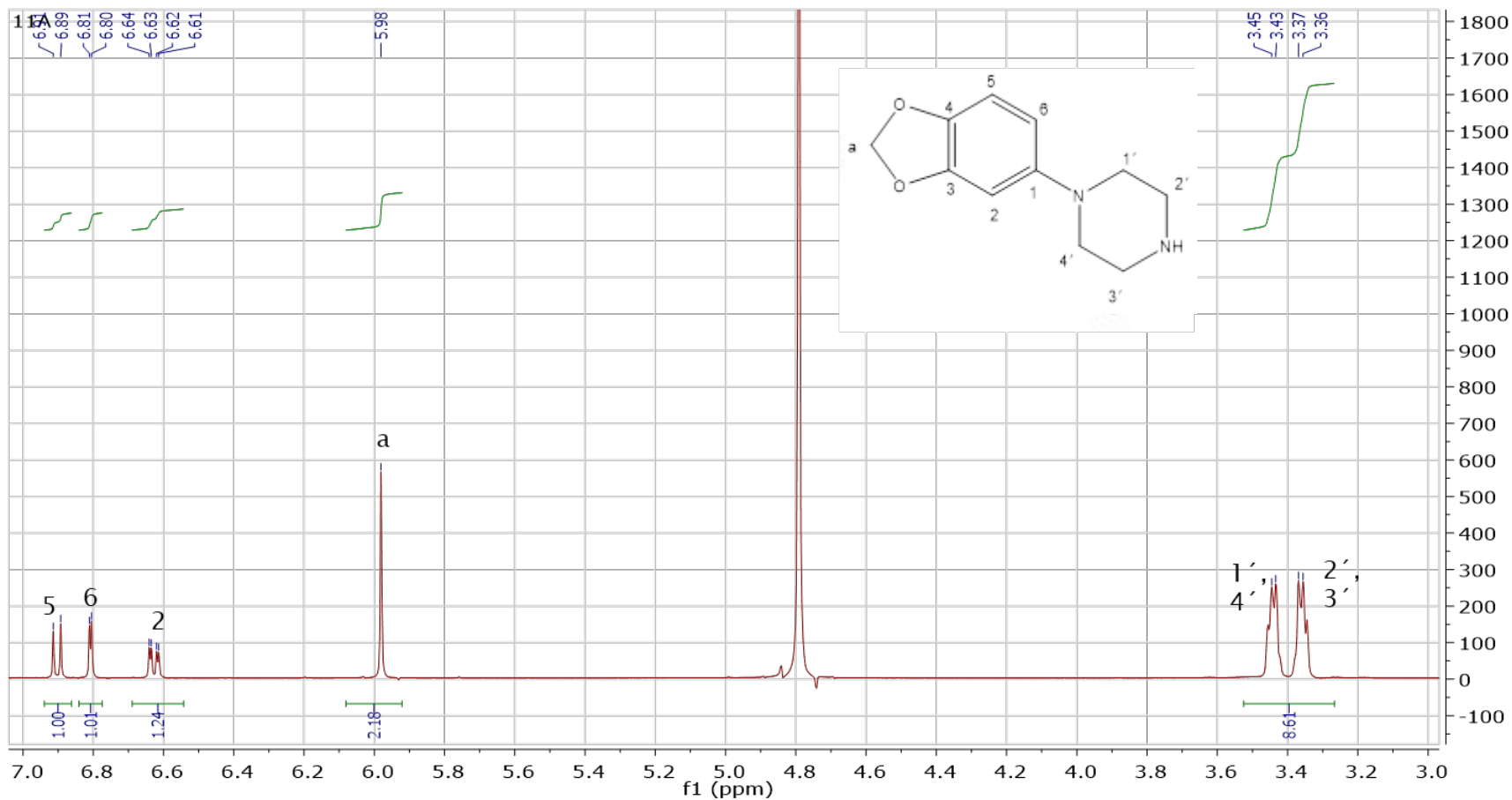


Figura 11. Espectro de RMN ^1H (400 MHz, D₂O), del compuesto sintetizado, realizado para su elucidación estructural.

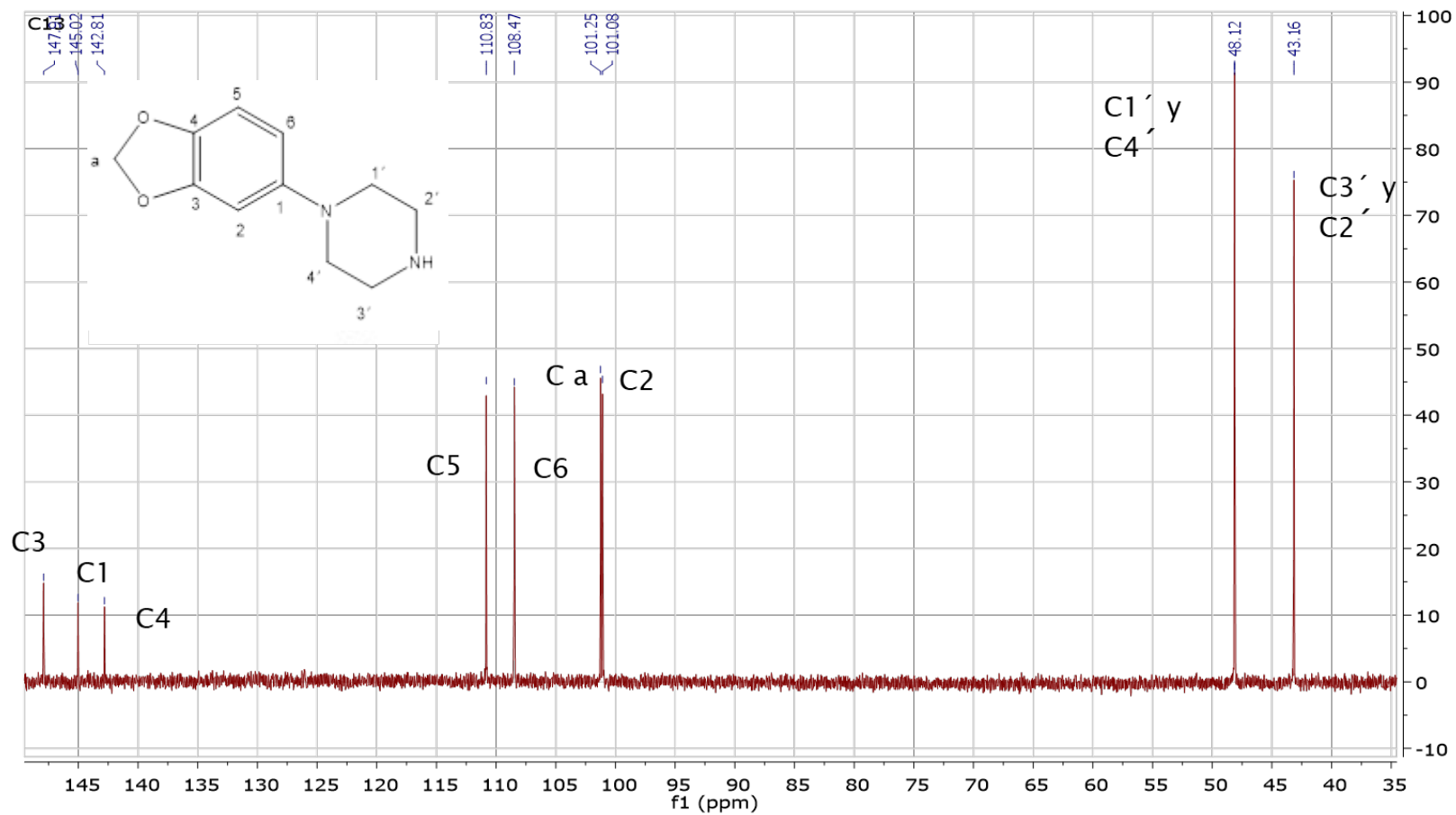


Figura 12. Espectro de RMN ^{13}C (400 MHz, D_2O) del compuesto sintetizado, realizado para su elucidación estructural.

6.2 Evaluación biológica

En la curva de tolerancia a la glucosa, los niveles de glucemia de los animales tratados con 3,4-MDFP a dosis menores de 1 mg/kg no presentaron diferencia significativa respecto al grupo control. En cambio, a las dosis de 3 y 10 mg/kg el compuesto 3,4-MDFP provocó la disminución de la glucemia por debajo de los niveles basales. La glibenclamida, utilizada como fármaco testigo, disminuyó los niveles de glucemia manteniendo el porcentaje de variación cerca de 0 después del minuto 90 (Figura 13).

A partir de la gráfica del curso temporal correspondiente a cada tratamiento se calcula el área bajo curva, para observar de mejor manera el efecto antihyperglucémico de 3,4-MDFP (Figura 14).

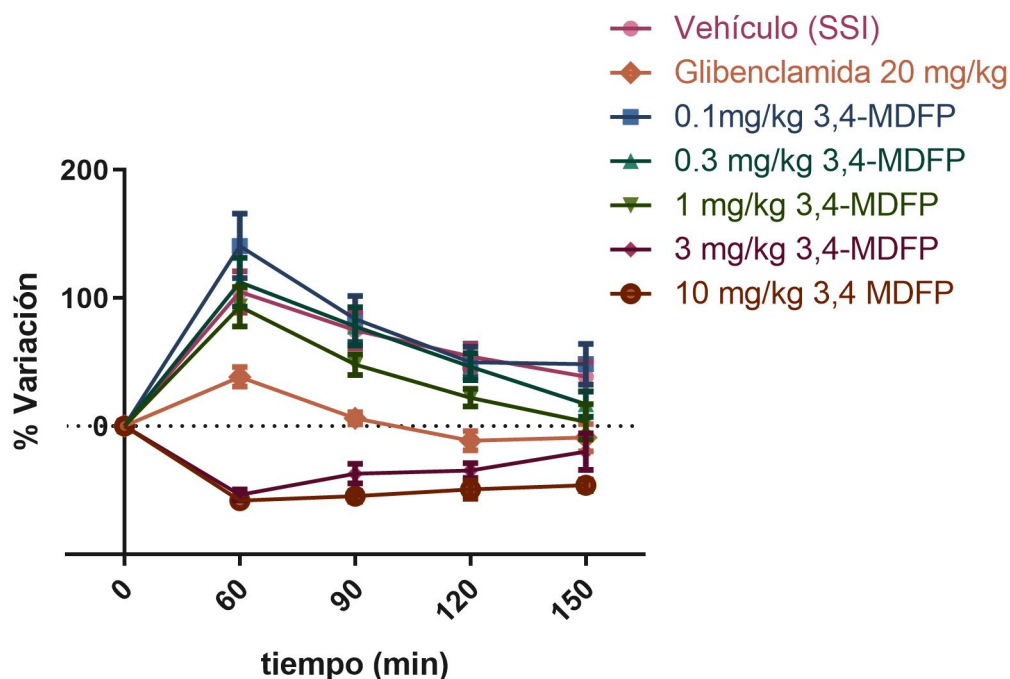


Figura 13. Curso temporal del porcentaje de variación de niveles de glucosa, al minuto 60 se observa la elevación de los niveles de glucosa, lo que se conoce como pico postprandial (n= 8±EEM)

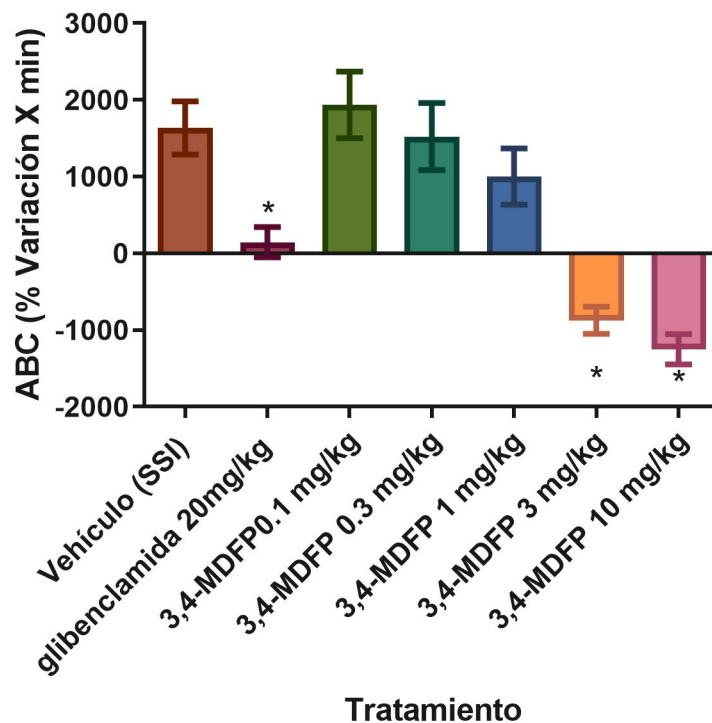


Figura 14. Áreas bajo la curva de cada tratamiento obtenida del curso temporal de los niveles de glucemia vs tiempo de la figura anterior. (* $P < 0.05$ vs vehículo) análisis de varianza (ANADEVA) de una vía, seguida de la prueba *post-hoc* de Tukey.

6.3 Evaluación con ketanserina y forskolina

En la Figura 15 se presenta la gráfica del porcentaje de variación de los niveles de glucosa de los grupos tratados con 10 mg/kg de 3,4-MDFP, con 2.5 mg/kg de ketanserina y la coadministración de ketanserina (2.5 mg/kg) y 10 mg/kg de 3,4-MDFP. Se calculó el área bajo la curva (ABC) de cada tratamiento (Figura 16), con lo que fue posible observar que la ketanserina generó una modificación en el efecto antihiper glucémico de 3,4-MDFP.

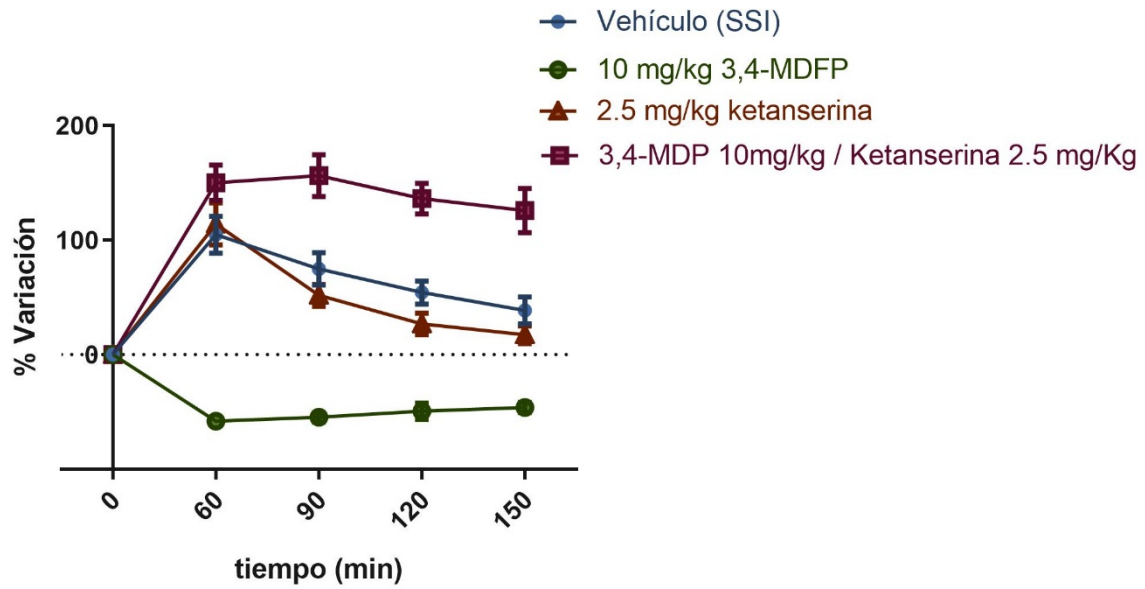


Figura 15. Porcentaje de variación de glucosa correspondiente a los tratamientos del vehículo, la dosis de 10 mg/kg de 3,4-MDFP, el tratamiento con ketanserina y la coadministración de los dos anteriores con respecto al tiempo. (n= 8±EEM).

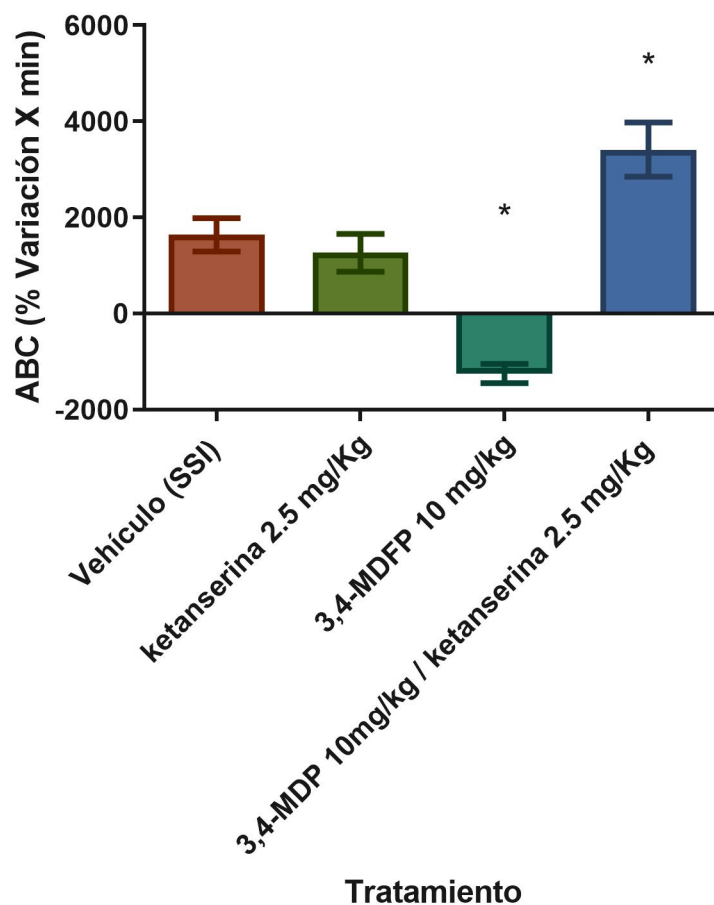


Figura 16. Grafica de áreas bajo la curva de los tratamientos de la dosis de 10 mg/kg de 3,4-MDFP, administrada de manera individual y coadministrada con Ketanserina. Con una prueba estadística de análisis de varianza (ANADEVA) de una vía, con una prueba *post-hoc* Tukey. (*P<0.05)

En la Figura 17, se presenta la gráfica del curso temporal de la evaluación con forskolina, donde fueron administradas dosis de 84 y 168 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de manera individual y en conjunto con la dosis de 10 mg/kg de 3,4-MDFP. Se puede observar que forskolina a la dosis de 84 $\mu\text{g}/\text{kg}$ impide la elevación de los niveles de glucosa, pero a la dosis de 168 $\mu\text{g}/\text{kg}$ no impidió que se presentara el pico postprandial. Sin embargo, en los casos donde fue administrada la forskolina con la dosis de 10 mg/kg de MDFP no modifico el efecto del compuesto 3,4-MDFP. En la Figura 18 se presenta el ABC de la gráfica anterior.

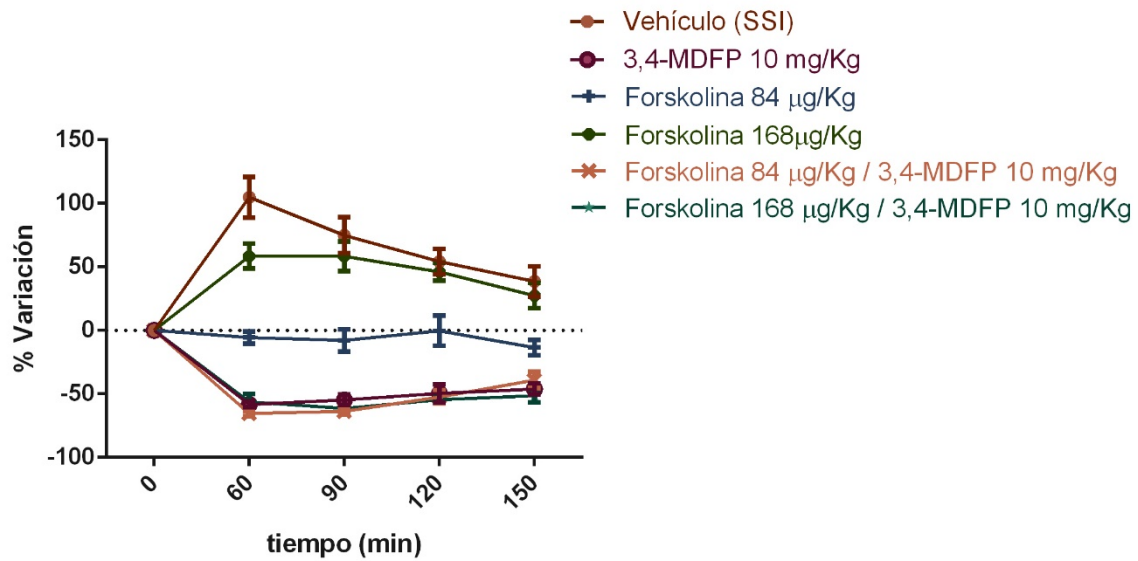


Figura 17. Porcentaje de variación de glucosa correspondiente a los tratamientos del vehículo, la dosis de 10 mg/kg de 3,4-MDFP, el tratamiento con forskolina a las dosis de 84 y 168 µg/kg y la coadministración de los anteriores con respecto al tiempo (n= 8±EEM).

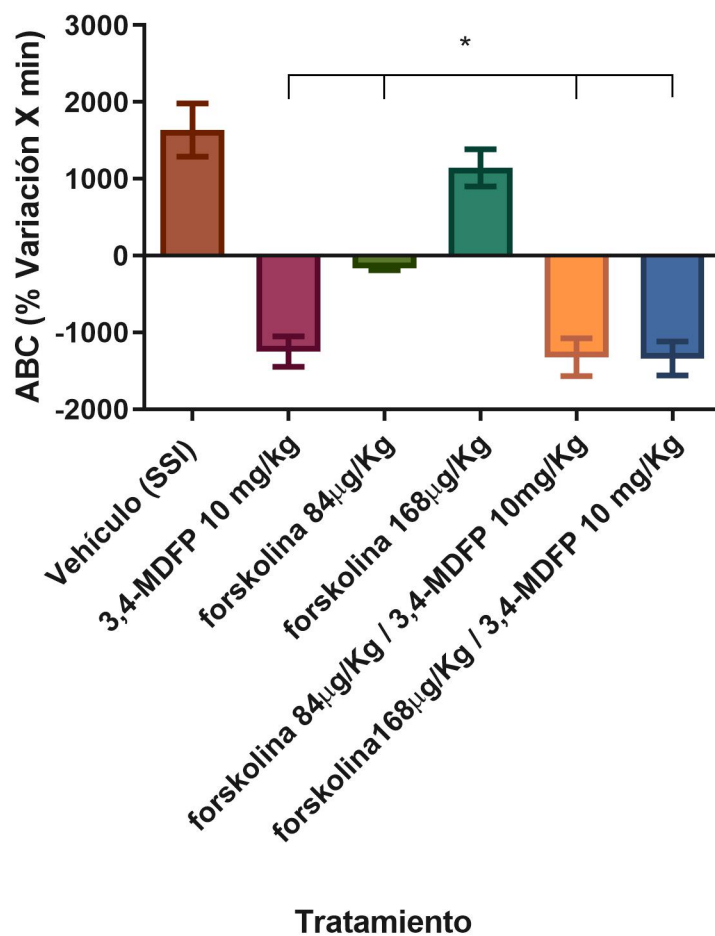


Figura 18. Grafica de áreas bajo la curva de los tratamientos de la dosis de 10 mg/kg de 3,4-MDFP, administrada de manera individual y coadministrada con forskolina. Con una prueba estadística de análisis de varianza (ANADEVA) de una vía, con una prueba *post-hoc* Tukey. (*P<0.05)

7Discusión

7.1 Reacción

La formación del anillo de piperazina ocurre por una reacción de sustitución nucleofílica SN2. La reacción ocurre en dos pasos, en un primer paso ocurre el ataque de la amina de la anilina sustituida sobre el carbón unido al cloro de bis-(2-cloroetil) amina, ya que el cloro es un buen grupo saliente. Al agregar el carbonato de sodio se generó la neutralización del medio, lo que da paso a la desprotonación del nitrógeno aumentando su nucleofilia, para dar lugar al ataque sobre el otro carbono unido a cloro del bis-(2-cloroetil) amina para eliminar el cloro restante. Generando el compuesto como clorhidrato. El mecanismo de reacción se muestra en la Figura 19.

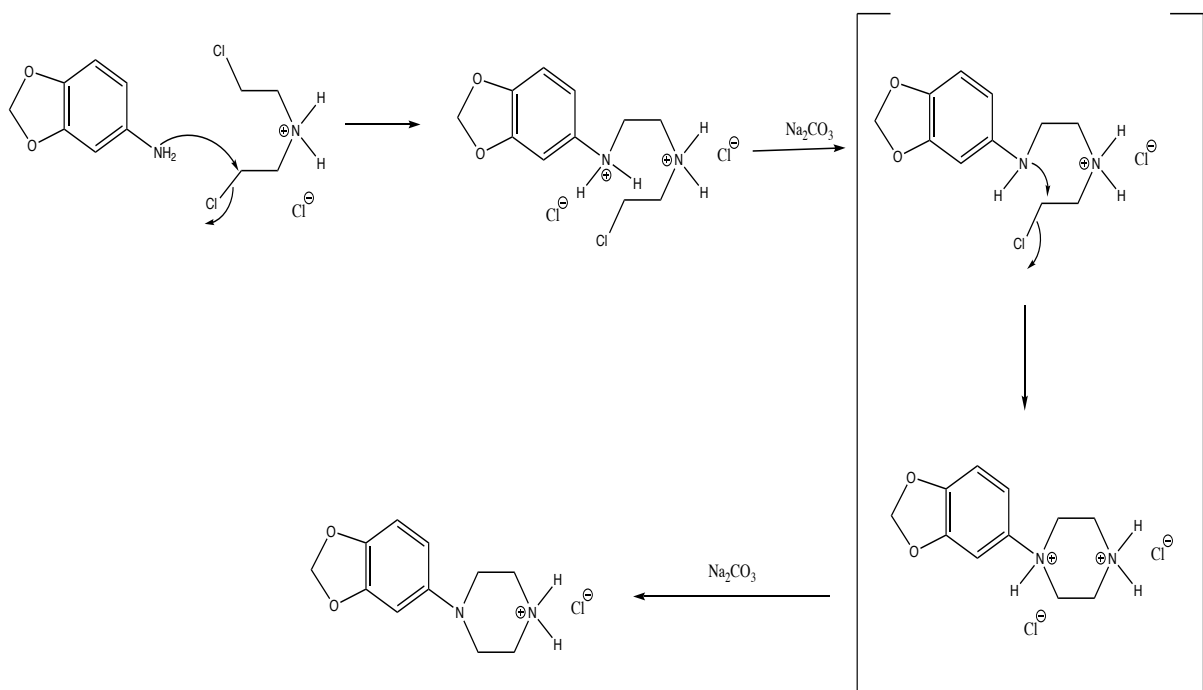


Figura 19. Descripción del mecanismo de reacción que ocurre en 2 etapas, en una primera etapa se genera la unión del grupo amino por la eliminación del Cl y luego por la agregación de carbonato de sodio se genera el cierre del anillo de piperazina.

La metodología empleada para la síntesis del compuesto ha sido aplicada en trabajos anteriores y genera rendimientos altos. En este caso pudieran existir diversas razones por las cuales no se obtuvo un rendimiento satisfactorio, siendo que en trabajos anteriores se tienen registros de rendimientos de alrededor de un 80% (Téllez Ballesteros, 2005).

Una de las razones que pudo afectar el rendimiento es su difícil purificación ya que fueron necesarias varias recristalizaciones para obtener el compuesto sin contaminantes, algunos contaminantes son subproductos de la reacción o algunos remantes de las materias primas. Otro factor que interfiere en este rendimiento es la calidad y la pureza en la que se encontraban los reactivos utilizados para esta reacción. Un método para eliminar algunas impurezas es realizar recristalizaciones con carbón activado.

7.2 Análisis espectroscópico

El espectro de ^1H se presenta en la Figura 11, las señales corresponden con las presentadas en la Tabla 4. El hidrogeno de la amina secundaria de la piperazina no se observa debido a que puede ser intercambiado con el deuterio del agua deuterada (D_2O) en la que fue disuelta la muestra.

En la Figura 12, se puede observar el espectro RMN de carbono 13 (^{13}C). en total aparecen 9 señales, de las cuales las señales que aparecen δ 43.16 y δ 48.12 ppm corresponden a los carbonos 1',2',3' y 4' localizados en el anillo de la piperazina, aparecen solo 2 señales en lugar de 4 ya que los carbonos 1',2' y 3', 4' se encuentran en el mismo ambiente químico. La señal que aparece en δ 101.25 corresponde al carbono del metilendioxi. La señal que aparece en 101.08 corresponde al carbono 2 del anillo aromático. Las señales δ 108.47, δ 110.83, δ 142.81, δ 145.02 y δ 147.91 corresponden al resto de los carbonos presentes en el anillo aromático, y aparecen en la zona de aromáticos en el espectro.

7.3 Evaluación biológica

En la Figura 13 se observa los porcentajes de variación de los niveles glucosa con respecto al tiempo y además se señala como se presenta el pico postprandial que indica que existe una absorción de glucosa después de su administración. Esto sucede en los tratamientos control (SSI), glibenclamida a 20 mg/kg y las dosis de 0.1, 0.3 y 1 mg/kg de 3,4-MDFP, pero en los tratamientos de 3 y 10 mg/kg de 3,4-MDFP el pico postprandial es abatido, lo que nos da un indicio de que efectivamente el compuesto posee un efecto antihiperoglucémico, probablemente por el aumento en la liberación de insulina, disminuyendo la concentración de glucosa en sangre manteniendo los niveles por debajo del nivel basal, lo que explica los porcentajes negativos.

El compuesto sintetizado (3,4-MDFP) no solo inhibió la elevación de los niveles de glucemia, sino que a las dosis de 3 y 10 mg/kg, presentó un efecto antihiperoglucémico tras la administración de 2 g/kg de glucosa. Se sabe que varias piperazinas actúan como agonistas serotoninérgicos, con afinidad sobre varios subtipos de receptores como los 5-HT₂ y los 5-HT₃ (Arbo et al., 2012; Shaquiquzaman et al., 2015). También se ha reportado que algunos antagonistas de serotonina generan episodios de hiperglucemia (Wozniak & Linnoila, 1991). La existencia de la serotonina en el páncreas ha sido descrita ya en diversos estudios. Así como la descripción de las acciones que posee la serotonina sobre el páncreas. Algunos de los procesos en los que está involucrada la serotonina son la serotonilación de proteínas de exocitosis, la inhibición en la secreción de insulina a través de receptores 5-HT_{1D}, e incremento en la secreción de insulina a través de los receptores 5-HT₂ y 5-HT₃ (A. M. Martin et al., 2017).

En el caso de este estudio se evaluó la posibilidad de que el compuesto posee efecto sobre receptores 5-HT₂ presentes en páncreas. Pero para lo anterior se tomaron en consideración diversos factores, como la presencia de los receptores presentes en páncreas y las proporciones en las que se encuentran en los diferentes tipos de células, un estudio evidenció la presencia de diversos receptores de serotonina como 5-HT_{3E} y 5-HT_{2B} que están en menor cantidad en comparación con 5-HT_{5A}, y en el caso de 5-HT_{1F} específicamente en células alfa del páncreas (Almaça et al., 2016). Otro factor importante es el uso de ketanserina como antagonista a los receptores 5-HT_{2B}, es si la ketanserina posee afinidad por otros receptores distintos como los dopaminérgicos o α -adrenérgicos, pero en ambos la afinidad es menor comparado con el receptor 5-HT₂ (Iijima, 1991; Yoshio, Taniguchi, Itoh, & Muramatsu, 2001). Otro factor importante es por qué se administró la ketanserina antes de su tratamiento es para asegurar que esta sea absorbida en el sistema y así llegue a los receptores presentes en el páncreas, ya que se tiene reportado que el pico de concentración en plasma se presenta en una hora y se seleccionó la vía de administración intraperitoneal para evitar el efecto de primer paso (Persson, Heykants, & Hedner, 1991), esto también aplicó para el compuesto evaluado.

Para la evaluación con ketanserina se parte del hecho de que los receptores e tipo 5-HT₂ están relacionados con los niveles de glucosa, ya que existen estudios donde el uso de antagonistas para estos receptores generan episodios de hiperglucemia (Wozniak & Linnoila, 1991).

Al observar la Figura 15 se observa como al ser administrado el compuesto en conjunto con ketanserina inhibió el efecto hipoglucemiante de 10 mg/kg de 3,4-MDFP, lo que sugiere que el compuesto puede actuar como agonista de los receptores de 5-HT₂ presentes en el páncreas (Lundquist et al., 1971; Marco et al., 1977), asociados a la liberación de

insulina (Almaça et al., 2016). Aunque la ketanserina al ser administrada de forma individual se observa como esta actúa de manera similar al control normal, en cambio al observar cómo se comporta el grupo que fue administrado con ketanserina y con el compuesto, los niveles de glucosa se elevaron por encima de los niveles del grupo de control normal, este hecho podría tener varias explicaciones como que al estar unida la ketanserina a los receptores 5-HT₂ el 3,4-MDFP puede generar el efecto contrario en algún otro receptor generando el efecto contrario, o actuar como modulador del efecto de la ketanserina ya que aumenta el efecto hiperglucemiante del antagonista.

Por otra parte, considerando que la serotonina, en un estado hiperglucémico, se libera de las células β del páncreas y estimula de manera paracrina a los receptores 5HT_{1F}, acoplados a proteínas G_i, presentes en las células α pancreáticas provocando la disminución de los niveles de AMPc y la inhibición en la secreción de glucagón, con la consecuente disminución de los niveles de glucosa, de acuerdo a este estudio en ratas diabéticas el uso de un agonista específico para 5-HT_{1F} disminuye los niveles de glucosa (Almaça et al., 2016). En la lógica de investigar si 3,4-MDFP pudiera actuar como agonista de los receptores 5HT_{1F}, se evaluó el efecto de forskolina, Almaça y colaboradores (2016) en su estudio demuestra como con el uso de forskolina aumentan los niveles de AMPc y en consecuencia la liberación de glucagón en las células α , efecto contrario de los receptores de tipo 5-HT₁, sin embargo, el tratamiento con forskolina no modificó el efecto hipoglucemiante de 3,4-MDFP, descartando la hipótesis de que este compuesto pudiera actuar como agonista de los receptores 5HT_{1F}. En el caso de este trabajo al estimular la presencia de AMPc en células α con el uso de forskolina no se observa un aumento en los niveles de glucosa ya que la glucosa administrada por vía oral inhibe la liberación de glucagón.

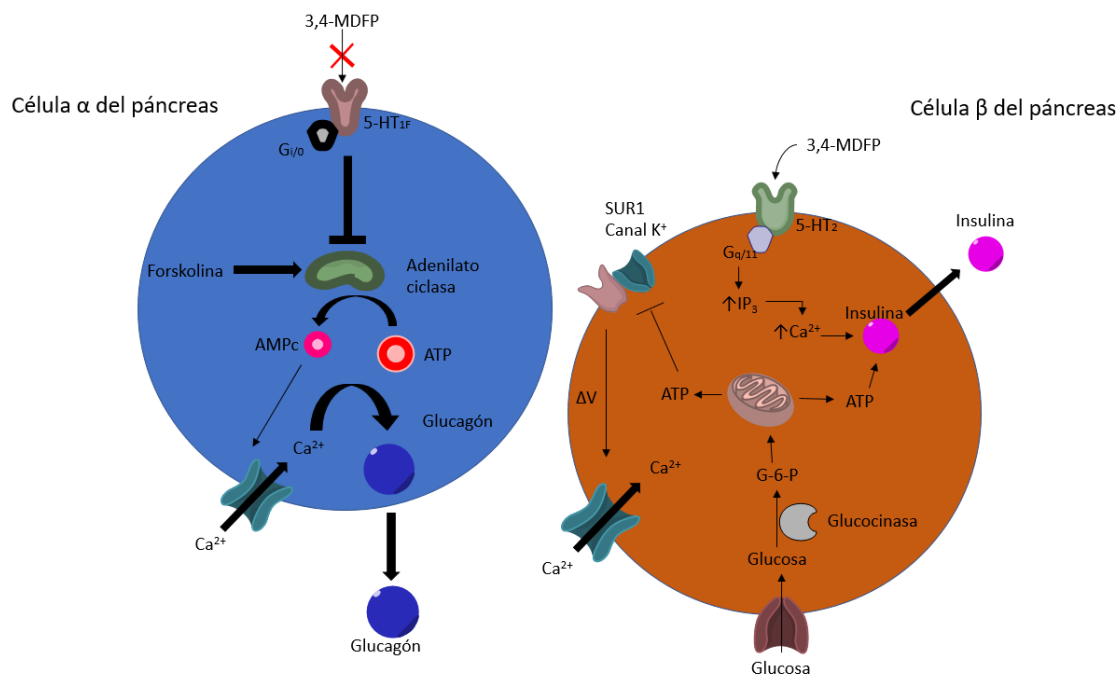


Figura 20. Esquema del posible mecanismo de acción del compuesto 3,4-MDFP. Actuando sobre receptores 5-HT₂ presentes en células β, mientras que en receptores 5-HT_{1F} células α del páncreas no tiene efecto.

De acuerdo con la Figura 20, se propone como mecanismo de acción la unión del compuesto sobre los receptores 5-HT₂, al unirse a este receptor desencadena el aumento de calcio intracelular estimulando así la liberación de insulina. El uso del antagonista ketanserina que al ser administrados en conjunto con 3,4-MDFP se observa cómo es abatido el efecto antihiper glucémico del compuesto, al impedir la acción sobre los receptores 5HT₂. Además, también de acuerdo con la evaluación con forskolina se observó que el compuesto 3,4-MDFP no posee efecto sobre los receptores 5-HT_{1F}.

Para la evaluación biológica se utilizó la prueba de tolerancia a la glucosa por vía oral, el cual es una técnica usada para el diagnóstico de diabetes en seres humanos (Michaek Stumvoll, 2000). Además, es una de las pruebas utilizadas para determinar si nuevos compuestos o tratamientos

mejoran el control de la elevación de la glucosa postprandial. (Cheng et al., 2014)

Las piperazinas son compuestos que en un inicio se plantearon como antiparasitarios, pero durante su desarrollo se determinó que poseen actividad sobre serotonina ya se actuando como inhibidores en la recaptura o actividad como agonistas a receptores, por ejemplo 5-HT₂ y 5-HT₃, al ser estudiados como posibles fármacos antidepresivos actuando sobre este tipo de receptores.

Un punto importante que mencionar sobre la serotonina es que la mayor parte de su producción se genera en el sistema entérico, en donde es producida por las células enterocromafines. Estas células actúan como sensores dentro del tracto gastrointestinal que responden a los niveles de nutrientes, estimulando la producción de serotonina. Dentro el sistema gastrointestinal la serotonina, ejerce diversas acciones como la modulación en la motilidad intestinal por la vía de receptores 5-HT₃ y 5-HT₄ (A. M. Martin et al., 2017).

Otras bioaminas, como la adrenalina y dopamina, generan estimulación sobre el sistema entérico y en páncreas. Estudios han revelado que la dopamina es liberada de manera conjunta con insulina y genera estimulación sobre estas células, generando una estimulación autocrina, ya que en las células β se encuentran receptores específicos para dopamina (Bucolo, Leggio, Drago, & Salomone, 2019). Por su parte, la adrenalina incrementa la exocitosis de GLP-1 por la estimulación de los receptores α_{1B} , α_{2A} , α_{2b} y β_1 ; estos receptores están presentes en las células entero endocrinas de la línea L GLUTag, encargadas de la producción y liberación de la incretina GLP-1 (Harada, Kitaguchi, & Tsuboi, 2015).

La mayoría de los estudios sobre bioaminas se han enfocado directamente en los efectos que generan sobre el sistema nervioso central y en corazón, en el caso de adrenalina; pero poco a se ha puesto atención en la acción que ejercen en órganos específicos, como el páncreas, demostrando la presencia de receptores y de cómo estimulan algunas acciones en específico, como la liberación de hormonas, péptidos o proteínas. Lo cual es el caso de la serotonina y los estudios sobre cómo se relaciona con la homeostasis de la glucosa en el sistema.

8 Conclusiones

- Se logró sintetizar con un rendimiento del 41.4%, el compuesto 3,4-Metilendioxfenilpiperazina (3,4-MDFP) con un punto de fusión de 250-254°C. Los espectros de resonancia magnética nuclear de protón y ^{13}C corresponden con la estructura propuesta para este compuesto.
- El compuesto 3,4-MDFP posee actividad antihiper glucemiante en la prueba de tolerancia a la glucosa a las dosis de 3 y 10 mg/kg.
- El efecto del compuesto 3,4-MDFP sobre los niveles de glucemia se ve abatido al utilizar el antagonista de los receptores 5-HT₂ ketanserina lo que sugiere que este compuesto actúa por la vía serotoninérgica, estimulando los receptores 5-HT₂. Sin embargo, este compuesto mantiene su efecto sobre los niveles de glicemia al ser coadministrado con forskolina, lo que indica que no actúa sobre los receptores 5-HT₁.

9 Bibliografía

- Almaça, J., Molina, J., Menegaz, D., Pronin, A. N., Tamayo, A., Slepak, V., ... Caicedo, A. (2016). Human Beta Cells Produce and Release Serotonin to Inhibit Glucagon Secretion from Alpha Cells. *Cell Reports*, *17*(12), 3281–3291.
<https://doi.org/10.1016/j.celrep.2016.11.072>
- Arbo, M. D., Bastos, M. L., & Carmo, H. F. (2012). Piperazine compounds as drugs of abuse. *Drug and Alcohol Dependence*, *122*(3), 174–185.
<https://doi.org/10.1016/j.drugalcdep.2011.10.007>
- Arredondo, A., Orozco, E., Duarte, M. B., Cuadra, M., Recaman, A. L., & Azar, A. (2019). Trends and challenges in diabetes for middle-income countries: Evidence from Mexico. *Global Public Health*, *14*(2), 227–240. <https://doi.org/10.1080/17441692.2018.1498115>
- Association, A. D. (2018). 8. Pharmacologic approaches to glycemic treatment: Standards of Medical Care in Diabetes. *Diabetes Care*, *41*(January), 582–583. <https://doi.org/10.2337/dc18-S008>
- Berger, M., Gray, J. A., & Roth, B. L. (2009). The Expanded Biology of Serotonin. *Annual Review of Medicine*, *60*(1), 355–366.
<https://doi.org/10.1146/annurev.med.60.042307.110802>
- Brunton Laurence L., Lazo John S., P. K. L. (2011). *Las bases farmacológicas de la terapéutica* (12th ed.).
- Bucolo, C., Leggio, G. M., Drago, F., & Salomone, S. (2019). Dopamine outside the brain: The eye, cardiovascular system and endocrine pancreas. *Pharmacology & Therapeutics*, 107392.
<https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2019.07.003>
- Chávez Guzmán, R. M. (2016). *Efecto de la ketanserina sobre la*

actividad de metformina, glibenclamida e insulina en rata. (Tesis de licenciatura para obtener el título de Químico Farmacéutico Biólogo) Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México México

- Cheng, K.-C., Li, Y., & Cheng, J.-T. (2014). Limitations of Oral Glucose Tolerance Test in Animal Studies. *Journal of Diabetes and Treatment, 1*(2), 1–5.
<https://doi.org/10.1177/193229681300700506>
- Cho, N. H., Shaw, J. E., Karuranga, S., Huang, Y., da Rocha Fernandes, J. D., Ohlrogge, A. W., & Malanda, B. (2018). IDF Diabetes Atlas: Global estimates of diabetes prevalence for 2017 and projections for 2045. *Diabetes Research and Clinical Practice, 138*, 271–281.
<https://doi.org/10.1016/j.diabres.2018.02.023>
- Dasgupta, A., & Wahed, A. (2014). Carbohydrate Metabolism, Diabetes, and Hypoglycemia. In *Clinical Chemistry, Immunology and Laboratory Quality Control* (pp. 107–126).
<https://doi.org/10.1016/b978-0-12-407821-5.00007-3>
- Egan, A. M., & Dinneen, S. F. (2018). What is diabetes? *Medicine, 47*(1), 1–4. <https://doi.org/10.1016/j.mpmed.2018.10.002>
- El-Merahbi, R., Löffler, M., Mayer, A., & Sumara, G. (2015). The roles of peripheral serotonin in metabolic homeostasis. *FEBS Letters, 589*(15), 1728–1734. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2015.05.054>
- Gee, P., Jerram, T., & Bowie, D. (2010). Multiorgan failure from 1-benzylpiperazine ingestion legal high or lethal high. *Clinical Toxicology, 48*(3), 230–233.
<https://doi.org/10.3109/15563651003592948>
- Hannon, J., & Hoyer, D. (2008). Molecular biology of 5-HT receptors. *Behavioural Brain Research, 195*(1), 198–213.

<https://doi.org/10.1016/j.bbr.2008.03.020>

Harada, K., Kitaguchi, T., & Tsuboi, T. (2015). Integrative function of adrenaline receptors for glucagon-like peptide-1 exocytosis in enteroendocrine L cell line GLUTag. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 460(4), 1053–1058.
<https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2015.03.151>

Howland, R. H. (2015). Buspirone: Back to the future. *Journal of Psychosocial Nursing and Mental Health Services*, 53(11), 21–24.
<https://doi.org/10.3928/02793695-20151022-01>

Hoyer, D., Pharma, N., & Basel, A. G. (2007). 5-HT-2 Receptors. *XPharm: The Comprehensive Pharmacology Reference*, 1, 1–4.

IDF. (2017). International Diabetes Federation - Facts & figures. Retrieved September 5, 2019, from <https://www.idf.org/aboutdiabetes/what-is-diabetes/facts-figures.html>

Iijima, S. (1991). Cloning of the gene for a human dopamine D5 receptor with higher affinity for dopamine than D1. *Nature*, 354, 56–58.

INEGI. (2017). Defunciones por diabetes mellitus por Entidad federativa de residencia habitual de la persona fallecida, Grupo quinquenal de edad, Periodo y Sexo. Retrieved September 5, 2019, from https://www.inegi.org.mx/app/tabulados/pxweb/inicio.html?rxid=75ada3fe-1e52-41b3-bf27-4cda26e957a7&db=Mortalidad&px=Mortalidad_04

Kahn, S. E., Cooper, M. E., & Del Prato, S. (2014). Pathophysiology and treatment of type 2 diabetes: Perspectives on the past, present, and future. *The Lancet*, 383(9922), 1068–1083.

[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(13\)62154-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(13)62154-6)

Kerr, J. R., & Davis, L. S. (2011). Benzylpiperazine in New Zealand: Brief history and current implications. *Journal of the Royal Society of New Zealand*, *41*(1), 155–164.

<https://doi.org/10.1080/03036758.2011.557036>

Kharroubi, A. T. (2015). Diabetes mellitus: The epidemic of the century. *World Journal of Diabetes*, *6*(6), 850.

<https://doi.org/10.4239/wjd.v6.i6.850>

Lesch, K.-P., Araragi, N., Waider, J., van den Hove, D., & Gutknecht, L. (2012). Targeting brain serotonin synthesis: insights into neurodevelopmental disorders with long-term outcomes related to negative emotionality, aggression and antisocial behaviour. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, *367*(1601), 2426–2443.

<https://doi.org/10.1098/rstb.2012.0039>

Lundquist, I., Ekholm, R., & Ericson, L. E. (1971). Monoamines in the pancreatic islets of the mouse - 5-Hydroxytryptamine as an intracellular modifier of insulin secretion, and the hypoglycaemic action of monoamine oxidase inhibitors. *Diabetologia*, *7*(6), 414–422. <https://doi.org/10.1007/BF01212056>

Marco, J., Hedo, J. A., & Villanueva, M. L. (1977). Inhibition of glucagon release by serotonin in mouse pancreatic islets. *Diabetologia*, *13*(6), 585–588. <https://doi.org/10.1007/BF01236311>

Martin, A. M., Young, R. L., Leong, L., Rogers, G. B., Spencer, N. J., Jessup, C. F., & Keating, D. J. (2017). The diverse metabolic roles of peripheral serotonin. *Endocrinology*, *158*(5), 1049–1063.

<https://doi.org/10.1210/en.2016-1839>

- Martin, G. E., Elgin, R. J., Mathiasen, J. R., Davis, C. B., Kesslick, J. M., Baldy, W. J., ... Scott, M. K. (1989). Activity of Aromatic Substituted Phenylpiperazines Lacking Affinity for Dopamine Binding Sites in a Preclinical Test of Antipsychotic Efficacy. *Journal of Medicinal Chemistry*, *32*(5), 1052–1056.
<https://doi.org/10.1021/jm00125a020>
- Michaek Stumvoll, M. A. (2000). Use of the Oral Glucose Tolerance Test to Assess Insulin Release and Insulin Sensitivity. *Epidemiology/Health Services/Psychosocial Research*, *23*(3), 295–301.
- Moini, J. (2019). Pathophysiology of Diabetes. In *Epidemiology of Diabetes* (1st ed., pp. 25–43). Elsevier.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816864-6.00003-1>
- Nucifora, F. C., Mihaljevic, M., Lee, B. J., & Sawa, A. (2017). Clozapine as a Model for Antipsychotic Development. *Neurotherapeutics*, *14*(3), 750–761. <https://doi.org/10.1007/s13311-017-0552-9>
- Ohara-Imaizumi, M., Kim, H., Yoshida, M., Fujiwara, T., Aoyagi, K., Toyofuku, Y., ... Nagamatsu, S. (2013). Serotonin regulates glucose-stimulated insulin secretion from pancreatic β cells during pregnancy. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *110*(48), 19420–19425.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1310953110/>
[/DCSupplemental.www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1310953110](https://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1310953110/DCSupplemental)
- OMS. (2017). Diabetes. Retrieved from
<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/es/>
- Paulmann, N., Grohmann, M., Voigt, J. P., Bert, B., Vowinckel, J., Bader, M., ... Walther, D. J. (2009). Intracellular serotonin modulates

insulin secretion from pancreatic β -cells by protein serotonylation. *PLoS Biology*, 7(10), 1–10.

<https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1000229>

Persson, B., Heykants, J., & Hedner, T. (1991). Clinical Pharmacokinetics of Ketanserin. *Clinical Pharmacokinetics*, 20(4), 263–279. <https://doi.org/10.2165/00003088-199120040-00002>

Punthakee, Z., Goldenberg, R., & Katz, P. (2018). Definition, Classification and Diagnosis of Diabetes, Prediabetes and Metabolic Syndrome. *Canadian Journal of Diabetes*, 42, 10–15. <https://doi.org/10.1016/j.jcjd.2017.10.003>

Robertson, R. P., Harmon, J., Tran, P. O., Tanaka, Y., & Takahashi, H. (2003). Glucose Toxicity in β -Cells: Type 2 Diabetes, Good Radicals Gone Bad, and the Glutathione Connection. *Diabetes*, 52(3), 581 LP – 587. <https://doi.org/10.2337/diabetes.52.3.581>

Shaquiquzzaman, M., Verma, G., Marella, A., Akhter, M., Akhtar, W., Khan, M. F. araz, ... Alam, M. M. umtaz. (2015). Piperazine scaffold: A remarkable tool in generation of diverse pharmacological agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 102, 487–529. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2015.07.026>

Stumvoll, M., Goldstein, B. J., & Haeften, T. W. Van. (2010). Type 2 diabetes : principles of pathogenesis and therapy, 365.

Tahrani, A. A., Bailey, C. J., Del Prato, S., & Barnett, A. H. (2011). Management of type 2 diabetes: New and future developments in treatment. *The Lancet*, 378(9786), 182–197. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(11\)60207-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(11)60207-9)

Tahrani, A. A., Piya, M. K., Kennedy, A., & Barnett, A. H. (2010). Glycaemic control in type 2 diabetes: Targets and new therapies.

Pharmacology and Therapeutics, 125(2), 328–361.

<https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2009.11.001>

Téllez Ballesteros, R. I. (2005). *Evaluación de la actividad nootrópica de derivados de arilpiperazina*. (Tesis de licenciatura para obtener el título de Químico Farmacéutico Biólogo) Universidad Nacional Autónoma de México, D.F. México

Wozniak, K., & Linnoila, M. (1991). Hyperglycemic properties of serotonin receptor antagonists. *Life Sciences*, 49, 101–109.

Yang, L.-J. (2008). Big Mac Attack: Does It Play a Direct Role for Monocytes/Macrophages in Type 1 Diabetes? *Diabetes*, 57(11), 2922 LP – 2923. <https://doi.org/10.2337/db08-1007>

Yeap, C. W., Bian, C. K., Fahmi, A., & Abdullah, L. (2010). A Review on Benzylpiperazine and Trifluoromethylphenylpiperazine: Origins , Effects , Prevalence and Legal Status. *Health and the Environment Journal*, 1(2), 38–50.

Yoshio, R., Taniguchi, T., Itoh, H., & Muramatsu, I. (2001). Affinity of serotonin receptor antagonists and agonists to recombinant and native α 1-adrenoceptor subtypes. *Japanese Journal of Pharmacology*, 86(2), 189–195. <https://doi.org/10.1254/jjp.86.189>

Zappas, M. P., Gentes, M., & Walton-Moss, B. (2017). Use of Incretin Therapy in the Treatment of Type 2 Diabetes Mellitus. *Journal for Nurse Practitioners*, 13(6), 418–424.

<https://doi.org/10.1016/j.nurpra.2016.08.023>

10 Anexos

Anexo 1: Carta de aprobación del presente estudio por el CICUAL Facultad de Química.

