



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

---

---

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
ZARAGOZA

“Síntesis de  $(\pm)$ -2-(1-oxo-1,3-dihidro-2*H*-isoindol-2-il)propanamida (DP2) y evaluación de su actividad nootrópica en presencia y ausencia de carbamacepina”

**T E S I S**  
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
**QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO**  
P R E S E N T A :  
**MARISOL ALFARO RAMÍREZ**



DIRECTOR DE TESIS:  
ASESOR DE TESIS:

DR. ADELFO N. REYES RAMÍREZ  
DR. ANDRÉS NAVARRETE CASTRO

México. D. F.

2007



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.

**“Mi agradecimiento a todos mis familiares, amigos y profesores que me han acompañado y apoyado en el transcurso de mi vida profesional y han hecho posible la realización del presente trabajo”**

El trabajo de investigación “Síntesis de ( $\pm$ )-2-(1-oxo-1,3-dihidro-2*H*-isoindol-2-il)propanamida (DP2) y evaluación de su actividad nootrópica en presencia y ausencia de carbamacepina” que se presenta para obtener el título de Químico Farmacéutico Biólogo, fue realizado gracias al apoyo financiero otorgado por la Dirección General de Asuntos del Personal Académico de la UNAM (DGAPA, Proyecto PAPIIT IN 209805).

## CONTENIDO

1. MARCO TEÓRICO.....	1
1.1. Definición de memoria .....	3
1.2. Tipos de memoria .....	3
1.2.1. Memoria inmediata .....	3
1.2.2. Memoria a corto plazo (MCP) .....	4
1.2.3. Memoria a largo plazo (MLP).....	5
1.3. Mecanismos de la memoria .....	6
1.4. Receptores involucrados en la memoria y en el aprendizaje .....	7
1.4.1. Acetilcolina.....	7
1.4.2. Serotonina (5-HT) .....	8
1.4.3. Histamina (H) .....	9
1.4.4. N-metil-D-aspartato (NMDA).....	9
1.5. Trastornos de la memoria .....	10
1.6. Tratamiento farmacológico.....	11
1.6.1. Inhibidores de la acetilcolinesterasa .....	12
1.6.2. Nootrónicos.....	13
1.6.2.1. Piracetam .....	14
1.6.2.2. Análogos del piracetam.....	15
1.7. Síntesis orgánica de compuestos nootrópicos.....	17
1.8. Pruebas para el estudio de la memoria.....	18

1.8.1. Laberinto de agua .....	18
1.8.2. Evitación Pasiva (Passive Avoidance) .....	19
1.9. Carbamacepina.....	20
1.10. Escopolamina .....	22
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	23
3. HIPÓTESIS .....	25
4. OBJETIVOS .....	26
5. MATERIALES Y MÉTODOS .....	27
5.1. Reactivos .....	27
5.2. Equipos .....	27
5.3. Síntesis orgánica .....	27
5.3.1. Síntesis del ácido ( $\pm$ )-2-(1,3-dioxo-1,3-dihidro-2 <i>H</i> -isoindol-2-il)- propanoico [( $\pm$ )-2].....	28
5.3.2. Síntesis de ( $\pm$ )-2-(1,3-dioxo-1,3-dihidro-2 <i>H</i> -isoindol-2-il)-propanato de metilo [( $\pm$ )-3].....	29
5.3.3. Síntesis de ( $\pm$ )-2-(1-oxo-1,3-dihidro-2 <i>H</i> -isoindol-2-il)-propanato de metilob [( $\pm$ )-4].....	29
5.3.4. Síntesis de ( $\pm$ )-2-(1-oxo-1,3-dihidro-2 <i>H</i> -isoindol-2-il)-propanamida [DP2].....	30
5.4. Pruebas biológicas.....	31
5.4.1. Animales de laboratorio .....	31
5.4.2. Fármacos y dosis.....	31

5.4.3. Evaluación del efecto nootrópico .....	32
5.4.3.1. Aparato de Evitación Pasiva (Step-through Passive Avoidance) .....	32
5.4.3.2. Prueba de evitación pasiva .....	33
5.4.3.3. Análisis estadístico .....	34
5.4.4. Perfil neurofarmacológico .....	34
5.4.4.1. Evaluación del efecto miorelajante .....	34
5.4.4.2. Evaluación de la coordinación motora .....	35
5.4.4.3. Evaluación del efecto sedante .....	36
5.4.4.4. Evaluación del efecto anticonvulsivante .....	37
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	38
6.1. Síntesis orgánica .....	38
6.2. Evaluación farmacológica .....	39
6.2.1. Efecto nootrópico .....	39
6.2.2. Perfil neurofarmacológico .....	51
7. CONCLUSIONES .....	62
8. BIBLIOGRAFÍA .....	63
APÉNDICE .....	74
GLOSARIO .....	83

## INTRODUCCIÓN

La memoria es un proceso cognitivo, que incorpora la información al cerebro para ser codificada, almacenada y después recuperada (Tresguerres, 1999). Al respecto, se ha reportado que la activación de los receptores para acetilcolina (Consolo *et al.*, 1976; Bartus *et al.*, 1982; Levey *et al.*, 1996; Picciotto *et al.*, 2000; Barros *et al.*, 2004), los receptores NMDA para el glutamato (Parada-Turska y Turski, 1990; Mondadori y Weiskrantz, 1993), los receptores para histamina (Kamei, 1990; Kamei y Tasaka, 1991; Klapdor *et al.*, 1994; Huston *et al.*, 1997) y para serotonina (Altman y Normile, 1988; Zola-Morgan y Squire, 1993; Hoyer y Martín, 1996; Meneses *et al.*, 1997; Meneses, 1999), han demostrado estar implicados en la codificación, almacenamiento y recuperación de la memoria.

Las enfermedades en las que está involucrado algún trastorno de la memoria pueden ser indicativo de alguna disfunción cognitiva (Lishman, 1992), esta disfunción es uno de los principales síntomas que acompañan a situaciones naturales como el envejecimiento, así como casos clínicos de apoplejía, al daño cerebral y a las enfermedades neurodegenerativas tipo Alzheimer (Gualtieri *et al.*, 2002), esta última, es la causa más común de la disminución de la memoria (Du y Carlier, 2004; Recanatini y Valenti, 2004), como ha sido señalado en estudios recientes sobre la prevalencia de esta enfermedad, los cuales indican que en el año 2000 hubo 25 millones de personas con la enfermedad de Alzheimer en todo el mundo, de ellos aproximadamente 4.5 millones de personas en Estados Unidos de Norte América, y se espera que este número se incremente a 114 millones en el año 2050 (13.2 millones en Estados Unidos), si no surgen nuevas terapias neuroprotectoras (Heber *et al.*, 2000; Wimo *et al.*, 2003), que permitan retardar o atenuar el progreso de dicha enfermedad.

Entre los fármacos que existen en el mercado y que se utilizan en el tratamiento de este padecimiento se encuentran los inhibidores de acetilcolinesterasa como la tacrina, el donepezil, rivastigmina y la galantamina (Recanatini y Valenti, 2004; Lleó *et al.*, 2006) y los agentes nootrópicos como el piracetam (Gouliáev y Senning, 1994; Fletcher, 1997; Gualtieri *et al.*, 2002).

De las estrategias más ampliamente utilizadas durante el desarrollo de nuevos compuestos con actividad farmacológica, potencialmente útiles en el tratamiento de problemas de salud, es sin duda la modificación estructural de compuestos conocidos. Al respecto, después de haber observado interesantes propiedades en el piracetam, para mejorar los procesos cognitivos tales como el aprendizaje y la memoria (Tortiglione *et al.*, 2002), se ha estimulado el desarrollo y el estudio de compuestos con estructuras relacionadas que puedan contribuir con un perfil farmacológico similar (Pinza *et al.*, 1993; Manetti *et al.*, 2000).

Así mismo, otra opción en la búsqueda de tratamientos que permita contribuir al mejoramiento cognitivo, es el estudio de la actividad de los fármacos ya existentes mediante la coadministración de otros fármacos con la intención de complementar un perfil farmacológico deseado, como es el caso del piracetam con la carbamacepina, en donde el piracetam por sí mismo no tiene propiedades anticonvulsivantes (Fischer *et al.*, 2004) pero al coadministrarse con la carbamacepina incrementa los efectos de esta última (Mondadori *et al.*, 1984; Fischer *et al.*, 2004). Sin embargo, en estos estudios no se ha señalado como la carbamacepina puede modificar los efectos nootrópicos del piracetam.

Por lo anteriormente expuesto, el presente trabajo tuvo como propósito sintetizar el derivado del piracetam  $(\pm)$ -2-(1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)propanamida (**DP2**), caracterizarlo y evaluar su efecto nootrópico en ausencia y en presencia de carbamacepina, usando como fármaco de referencia al piracetam.

## **1. MARCO TEÓRICO**

### **1.1. Definición de memoria**

Tresguerres (1999) define a la memoria como un proceso cognitivo, mediante el cual procesamos información incorporándola a nuestro cerebro, codificándola, almacenándola y después recuperándola. Mientras que Guyton (1987) la define como la capacidad para recordar pensamientos que se iniciaron originalmente por la llegada de señales sensoriales catalogándola como una función crucial que forma parte de nuestra existencia.

### **1.2. Tipos de memoria**

Las memorias pueden clasificarse de acuerdo a su contenido como memoria declarativa o explícita, y de procedimiento o implícita (Squire, 1992); y de acuerdo a su duración se clasifica como memoria a corto y largo plazo (Izquierdo y Medina, 1997). McGaugh, describió tres sistemas de memoria, una para la memoria inmediata, una para la memoria a corto plazo y una en donde se consolida lentamente y es relativamente permanente (1966 en Izquierdo *et al.*, 1999).

#### **1.2.1. Memoria inmediata**

La memoria inmediata, en la actualidad es identificada como memoria operativa o de trabajo (Working Memory), tiene una capacidad y duración limitadas, en general, se acepta que puede retener  $7 \pm 2$  unidades de información durante 20 segundos (Tresguerres, 1999).

Es un sistema de memoria que permite mantener la información mientras está siendo procesada (Ruchkin *et al.*, 2003). Se encuentra compuesta por una unidad ejecutiva central, que es en realidad un sistema de control de atención encargado de seleccionar las estrategias para procesar la información de entrada, desempeñando un papel importante en las tareas cognitivas esenciales como el aprendizaje, razonamiento y la comprensión (Tresguerres, 1999). Ejemplos de memoria de trabajo simple, sería recordar un número telefónico mientras es marcado, o realizar mentalmente una operación aritmética, ejemplos mas complejos serían planificar una movida de ajedrez o construir una oración (Guyton, 1994). Esta memoria es primariamente dependiente de la actividad eléctrica de las células de la corteza prefrontal que se enlaza con otras regiones (Salmon *et al.*, 1996). La memoria de trabajo y los otros tipos de memoria (corto y largo plazo), pertenecen a categorías completamente diferentes, esta memoria no es un archivo de memorias individuales sino el encargado de los acontecimientos cognoscitivos de momento a momento, seleccionando la información que es o puede ser almacenada (Fuster, 1998).

### **1.2.2. Memoria a corto plazo (MCP)**

La memoria a corto plazo se define como la memoria que se desarrolla en el lapso de pocos segundos o minutos y puede durar varias horas (Bailey *et al.*, 1996), sin que produzca una impresión permanente en el cerebro, causadas posiblemente por oscilaciones continuas de señales durante un tiempo breve. El pensamiento que ingresa estimula a las células neuronales que se encuentran conectadas formando

circuitos oscilatorios. En tanto persistan estas oscilaciones la persona retendrá el pensamiento en su mente (Guyton, 1987).

### **1.2.3. Memoria a largo plazo (MLP)**

La memoria a largo plazo es vista como un almacén en el cual la información puede permanecer indeterminadamente o puede estar sujeta a una disminución autónoma (Ghoneim, 2004). La MLP puede durar días, semanas, y en algunos casos toda la vida (Bailey *et al.*, 1996). Tiene una capacidad esencialmente ilimitada que permite almacenar grandes cantidades de información. Está compuesto al menos por dos subsistemas: el de la memoria explícita (declarativa) y la memoria implícita (no declarativa). La memoria implícita es la memoria de los procedimientos (habilidades motoras cognoscitivas), es generalmente subcortical, tiene relación con circuitos cerebelosos. La explícita comprende la memoria de la información general, de los conocimientos (memoria semántica), los hechos vividos personalmente (memoria episódica), es predominantemente cortical (Tresguerres, 1999). La MLP es seguramente el resultado del siguiente mecanismo: al pasar una señal por un grupo particular de sinapsis neuronales, estas sinapsis quedan *facilitadas* para el paso de señales semejantes en fecha ulterior. Cuando llega una idea al cerebro facilita que estas sinapsis se empleen para esa idea en particular, lo que hace más fácil que se recuerde la misma idea posteriormente, parece ser esencial la persistencia de una memoria a corto plazo durante un periodo de unos minutos por lo menos para que se desarrolle la “impresión” o el “engrama” de la memoria a largo plazo (Guyton, 1987).

### **1.3. Mecanismos de la memoria**

La memoria es uno de los pocos procesos mentales que ha experimentado búsquedas extensivas para su comprensión. Por mucho tiempo, se ha planteado la pregunta si la MCP es un paso necesario para la MLP o si son procesos separados, esta pregunta se ha tratado de responder por medio de experimentos en animales en los cuales se trata de suprimir la MCP sin afectar a la MLP (Izquierdo *et al.*, 1999), por medio de la activación de receptores, que producen cambios en la función celular, lo cual resulta en un cambio en el funcionamiento de la memoria (Ghoneim, 2004).

En todos los procesos de memoria se han considerado por lo menos tres estados principales: (1) Un estado de adquisición, en la cual la información es codificada (proceso que convierte un estímulo sensorial a una forma que puede ser puesta dentro de la memoria) en los circuitos centrales que incluyen microcircuitos en regiones específicas del hipocampo, (2) un estado de almacenaje, en el cual la información se retiene en dichos circuitos, presumiblemente dependientes de cambios en la sinapsis, y (3) un estado de recuerdo o evocación, en el cual la información se recuerda al producir una salida perceptual o motora. El estado 2 es usualmente reconocido al consistir en un periodo corto lábil de memoria a corto plazo, el cual entonces pasa a un periodo estable más largo de la memoria a largo plazo por un proceso conocido como consolidación; que es el proceso que forma un recuerdo durable del que ha sido adquirido (Gordon, 1988).

#### **1.4. Receptores involucrados en la memoria y en el aprendizaje**

Un complejo sistema neuronal en el cerebro regula el mecanismo del aprendizaje y la memoria. Receptores y neurotransmisores están íntimamente implicados en la estructura interactiva que se produce en la adquisición, el almacenamiento y la recuperación de la información, sin embargo el conocimiento de sus interacciones es aún limitada. Se ha reportado que la acetilcolina, el glutamato, la histamina y la serotonina, juegan un papel fundamental en los procesos cognitivos (Gualtieri *et al.*, 2002).

##### **1.4.1. Acetilcolina**

La acetilcolina es un neurotransmisor que juega un papel importante en el aprendizaje y la memoria (Levey, 1996). En los años 80's, se introdujo la llamada “hipótesis colinérgica”, con la finalidad de relacionar las evidencias clínicas y biológicas de la enfermedad del Alzheimer, esta hipótesis se enfoca en la disminución de la neurotransmisión colinérgica causada por la degeneración neuronal en algunas áreas del cerebro (Bartus *et al.*, 1982). En un trabajo realizado por Barros y colaboradores (2004), se reporta la participación de los receptores nicotínicos para acetilcolina, en la formación de la MCP y de la MLP y en su evocación. Los receptores nicotínicos tienen importancia para el mantenimiento óptimo del funcionamiento de la memoria, y su mal desempeño está implicado en desórdenes del sistema nervioso central en los humanos, incluyendo la adicción a la nicotina, la enfermedad de Alzheimer, ansiedad, autismo, depresión, epilepsia, esquizofrenia y la enfermedad de Parkinson (Picciotto *et al.*, 2000).

En otro estudio, se encontró que los receptores muscarínicos para acetilcolina también están implicados en el aprendizaje y la memoria y que su deterioro contribuye a la disminución de la memoria y otras habilidades cognitivas en la enfermedad del Alzheimer (Levey, 1996).

#### **1.4.2. Serotonina (5-HT)**

Evidencia preclínica muestra que los receptores 5-Hidroxitriptamina (5-HT), juegan un papel importante en los procesos de aprendizaje y memoria (Altman y Normile, 1988). Entre los múltiples subtipos de receptores 5-HT, hasta ahora identificados (5-HT<sub>1</sub> a 5-HT<sub>7</sub>), el 5-HT<sub>1B/1D</sub> parece ser relevante en las funciones cognitivas (Hoyer y Martín, 1996). El receptor 5-HT<sub>1B/1D</sub> presenta una distribución regional en áreas del sistema nervioso central, que han sido asociadas con los procesos de aprendizaje y memoria (Zola-Morgan y Squire, 1993). Meneses y colaboradores (1997), encontraron que la estimulación presináptica de los receptores 5-HT<sub>1B/1D</sub> deteriora la consolidación del aprendizaje, mientras que la estimulación de los receptores 5-HT<sub>2A/2C</sub> la mejora. En una revisión hecha posteriormente por este mismo autor, encontró que el papel del sistema 5-HT en el aprendizaje y la memoria no está bien establecido e indica que hay evidencia suficiente que establece que los receptores presinápticos 5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>1B</sub>, 5-HT<sub>2A/2C</sub>, 5-HT<sub>3</sub> y los receptores posinápticos 5-HT<sub>2B/2C</sub>, 5-HT<sub>4</sub>, y los transportadores de la captura de serotonina están involucrados en estos procesos (Meneses, 1999).

### **1.4.3. Histamina (H)**

Desde hace muchos años se conoce que la histamina y los antihistamínicos activos en la periferia tienen efectos importantes en el comportamiento de los animales, sin embargo, existen pruebas que indican que la identificación bioquímica en su síntesis por las neuronas y la localización citoquímica directa de ellas, ha establecido la existencia de un sistema histaminérgico en el Sistema Nervioso Central (SNC) (Bloom, 2003). Evidencia experimental indica que la central histamínica puede tener un papel en las funciones cognitivas como el aprendizaje y la memoria (Huston *et al.*, 1997), en especial los receptores H<sub>1</sub> que parecen estar implicados en estos procesos (Kamei, 1990). Por otra parte, se ha reportado que la histamina y la acetilcolina revierte el efecto de los antagonistas H<sub>1</sub>, sugiriendo una interacción entre la central histaminérgica y la colinérgica (Kamei y Tasaka, 1991). Contrariamente, otros estudios soportan la hipótesis que la histamina deteriora la función cognitiva. Cacabelos y Alvarez (1991), reportaron que la inhibición de la histidina descarboxilasa por la administración de  $\alpha$ -flurometilhistidina, mejora las habilidades de aprendizaje en la rata. En otro trabajo se encontró que al lesionar la región del núcleo tuberomamilar producen facilitación del aprendizaje (Klapdor *et al.*, 1994).

### **1.4.4. N-metil-D-aspartato (NMDA)**

El glutamato es un neurotransmisor excitatorio del sistema nervioso central. Los receptores para el glutamato son el N-metil-D-aspartato (NMDA), el ácido  $\alpha$ -amino-3-hidroxi-5-metilo-4-isoxiazolpropiónico (AMPA) y el kainato (Bloom, 2003).

Los antagonistas de los receptores NMDA, tienen propiedades neuroprotectoras, anticonvulsivantes, ansiolíticas (Stephens *et al.*, 1986), sin embargo se cree que la activación de estos receptores es requerido para la inducción de la potenciación a largo plazo la cual puede estar involucrada en el almacenamiento de la información en el cerebro y puede ser crítica para el aprendizaje y la memoria (Artola y Singer, 1987 en Parara-Turska y Turski, 1990). El papel de los receptores NMDA en los procesos de memoria fue estudiado por Parara-Turska y Turski (1990), ellos sugieren que los antagonistas para este receptor pueden deteriorar el aprendizaje y que tienen poco o ningún efecto sobre la evocación de la MLP. En un trabajo posterior, Mondadori y Weiskrantz (1993), encontraron que los bloqueadores para el receptor NMDA, facilitan y deterioran el aprendizaje por diferentes mecanismos.

### **1.5. Trastornos de la memoria**

Existe un gran número de enfermedades en las que está involucrado algún trastorno de la memoria, éstos tienen gran importancia clínica, debido a que pueden ser un indicativo de disfunción o daño cerebral (Lishman, 1992). Para fines prácticos se han diferenciado en tres apartados: hipermnesia, paramnesia y la amnesia.

La hipermnesia, es el grado exagerado de retención y recuerdo de la memoria (Vázquez, 1990); la paramnesia se refiere a la distorsión o falsificación de la memoria, ya sea por alteración del recuerdo, o bien, del reconocimiento (Bulbena, 1991); y la amnesia, es la incapacidad de conservar o recuperar información y constituye el trastorno de la memoria más importante; puede ser de causa orgánica o afectiva (Vázquez, 1990).

Existen dos tipos de amnesia: la retrógrada que es la imposibilidad de recordar eventos ocurridos con anterioridad y la anterógrada que es la imposibilidad de retener información nueva, aunque los recuerdos previos al comienzo de la enfermedad y la capacidad de evocarlos se mantiene (Tresguerres, 1999).

Entre las patologías asociadas con los trastornos de la memoria, destaca la enfermedad de Alzheimer (EA), ésta es una enfermedad neurodegenerativa relativa al envejecimiento, se caracteriza por la pérdida progresiva de la memoria y las funciones cognoscitivas en la edad madura, muerte neuronal selectiva y la formación anormal de placas amiloides neuríticas. La pérdida de la memoria es acompañada por la degeneración de las neuronas colinérgicas de la parte cortical basal del cerebro (Du y Carlier, 2004). En la EA hay disfunción acetilcolinérgica en la neocorteza e hipocampo, lo cual se relaciona con la disminución severa en el aprendizaje y la memoria en los pacientes con esta enfermedad (Du y Carlier, 2004; Recanatini y Valenti, 2004).

## **1.6. Tratamiento farmacológico**

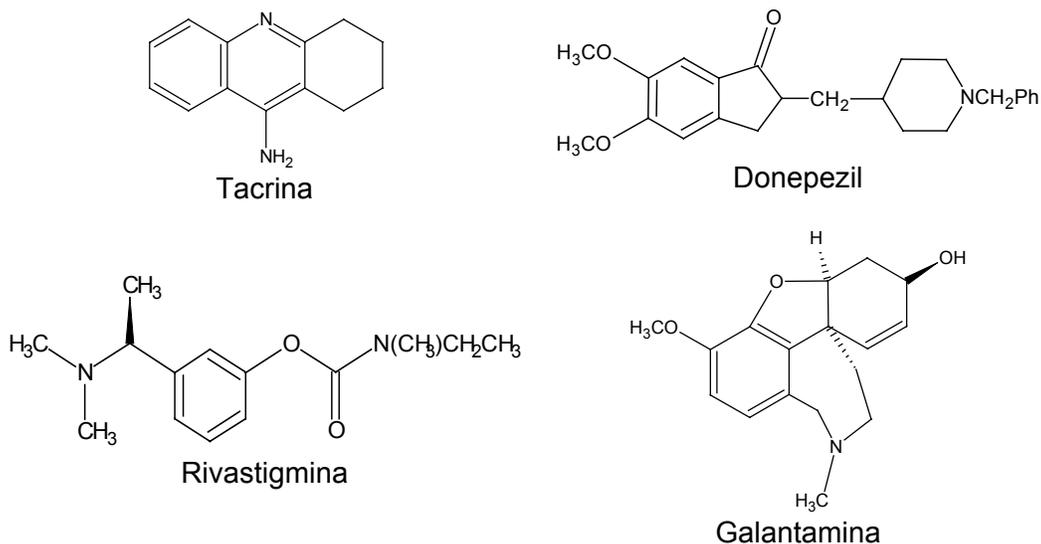
Los mejoradores de la cognición son fármacos capaces de facilitar las habilidades de atención, adquisición, almacenamiento y evocación de la información, además la de atenuar el daño de las funciones cognitivas asociadas con patologías relativas a la edad. Por definición estos fármacos mejoran la declinación de las funciones cognitivas, pero no cambian la velocidad del progreso de la neurodegeneración (Gualtieri *et al.*, 2002).

### **1.6.1. Inhibidores de la acetilcolinesterasa**

Numerosos trabajos experimentales han sugerido que los sistemas colinérgicos centrales, entre otros contribuyen a mantener o a desarrollar los procesos de adquisición y retención de la información (Florez, 1994).

El primer intento para relacionar las evidencias clínicas y biológicas a cerca de la enfermedad fue en los años ochentas, en la llamada “hipótesis colinérgica”, que se basa en la disminución neurotransmisora colinérgica causada por la degeneración neuronal en algunas áreas del cerebro. En base a la anterior suposición, la estrategia farmacológica en contra de la EA, fue incrementar el tono colinérgico a través de la estimulación de los receptores colinérgicos sobrevivientes en el cerebro. La búsqueda de estos fármacos estaba principalmente dirigido al descubrimiento de agentes colinomiméticos que actuaran directamente estimulando la central muscarínica ( $M_1$ ), o los receptores nicotínicos, o directamente por el bloqueo de la enzima acetilcolinesterasa, la cual es la responsable de terminar la acción de la acetilcolina. Como resultado de esta búsqueda, solamente algunos inhibidores de la acetilcolinesterasa, son viables en el tratamiento de los principales síntomas de la EA (Recanatini y Valenti, 2004).

Los inhibidores de la acetilcolinesterasa prolongan el tiempo de neurotransmisión de la acetilcolina en el espacio sináptico y son capaces de combinarse con los receptores muscarínicos, no interfieren con la síntesis de acetilcolina, prerequisite necesario para su uso clínico. Los principales fármacos en el tratamiento de la EA aprobados por la Food and Drug Administration (FDA) son la tacrina, el donepezil, la rivastigmina y la galantamina (Figura 1.1). De estos fármacos, la tacrina actualmente no se prescribe debido a sus efectos hepatotóxicos (Lleó *et al.*, 2006).



**Figura 1.1** Inhibidores de la acetilcolinesterasa usados en la disminución cognitiva en pacientes con la EA.

### 1.6.2. Nootrópicos

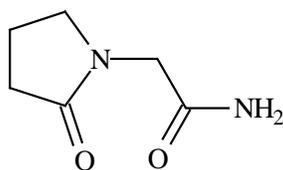
Los nootrópicos, ocupan una posición especial en la farmacología del SNC (Ghelardini *et al.*, 2002), son fármacos que actúan sobre las funciones cerebrales más evolucionadas: la memoria y el aprendizaje (Florez, 1994), aumentando la concentración, retención y la habilidad para resolver problemas (Fletcher, 1997); estos compuestos, supuestamente aumentan el funcionamiento cognitivo sin o con poca estimulación central (Goulliaev y Senning, 1994).

Su perfil farmacodinámico es el siguiente:

- Favorecen el aprendizaje y protegen frente a aquellos factores que lo impiden (hipoxia, electrochoque).
- Facilitan la transferencia de información interhemisférica.
- Aumentan la resistencia del cerebro a la agresión isquémica.
- Carecen de efectos sedantes o estimulantes (Velasco *et al.*, 2003).

### 1.6.2.1. Piracetam

El piracetam, 2-pirrolidonacetamida (Figura 1.2), es un derivado cíclico de bajo peso molecular del ácido  $\gamma$ -aminobutírico (Winblad, 2005), su núcleo es conocido genéricamente como racetam (anillo 2-pirrolidona), mismo que se relaciona con la actividad farmacológica de nootrópico (Gualtieri *et al.*, 2002).



**Figura 1.2** Estructura del Piracetam.

El piracetam a nivel neuronal, modula los sistemas de transmisión incluyendo el colinérgico y glutamatérgico. Su eficacia está documentada para uso terapéutico en desordenes cognitivos relacionados con la edad incluyendo la enfermedad de Alzheimer, en el tratamiento de la demencia, vértigo, mioclonia cortical, dislexia (Winblad, 2005). En modelos para la evaluación de agentes que afectan los procesos de aprendizaje y memoria, los derivados pirrolidónicos como el piracetam contrarrestan los efectos amnésicos de fármacos como la escopolamina (Fischer *et al.*, 2004; Everss *et al.*, 2005), provocado por el decaimiento del sistema colinérgico en la prueba de evitación pasiva (Verloes *et al.*, 1988). Otros estudios indican que facilita la potenciación a largo plazo, incrementando la neurotransmisión de las terminales presinápticas y la cantidad de acetilcolina en el cerebro, no actúa directamente en el transporte o en el metabolismo de la colina (Naftalin *et al.*, 2004).

En adición a sus propiedades nootrópicas, ejerce un efecto protector contra los infartos cerebrales en modelos de oclusión arterial cerebral realizados en ratas (Tortiglione *et al.*, 2002). En pacientes epilépticos que reciben carbamacepina, el piracetam puede ser útil en la medicación para mejorar la protección convulsiva de éste y de varios fármacos antiepilépticos convencionales (Fischer *et al.*, 2004). Otros reportes indican que el piracetam y sus análogos reducen los estados de confusión de los barbitúricos, del etanol y de las benzodiazepinas (Naftalin *et al.*, 2004).

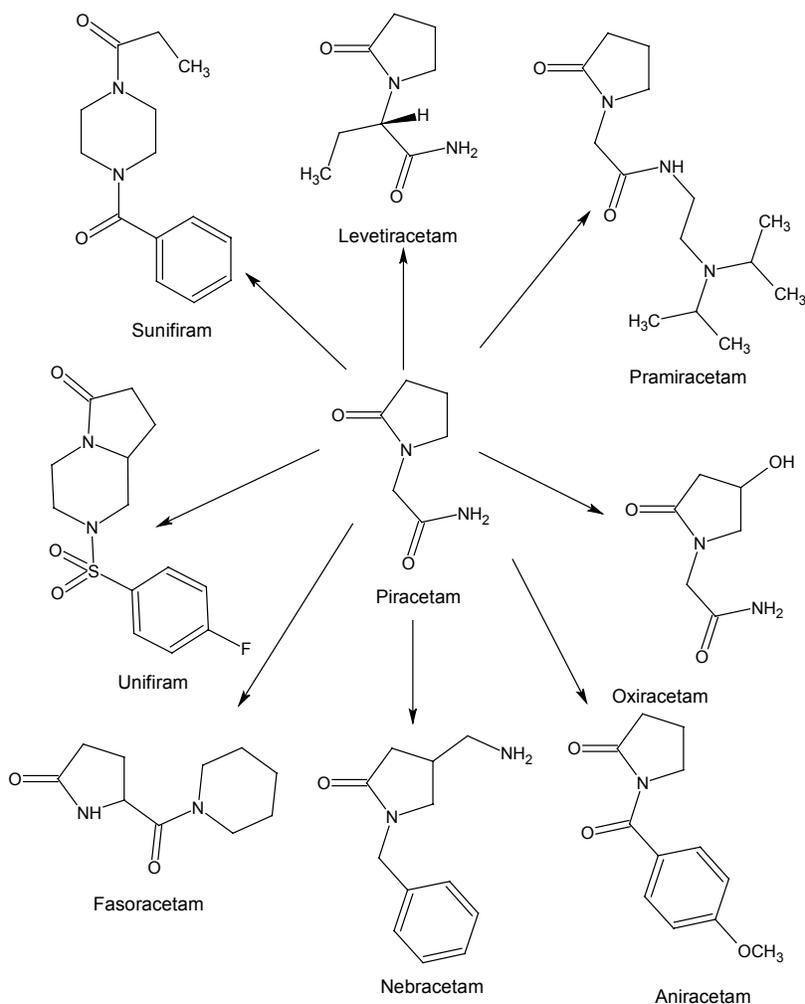
El mecanismo de acción del piracetam es desconocido, parece ser un activador no específico de la excitabilidad neuronal (Everss *et al.*, 2005), se cree que involucra cambios en los sistemas colinérgicos, dopaminérgicos, noradrenérgicos y serotoninérgicos (Ennaceur y Delacour, 1987; Felinska y Bien, 1991). Como agentes nootrópicos en general, Mondadori (1994), propone que estos compuestos pueden ejercer una acción moduladora en la síntesis de proteínas.

En base al efecto del piracetam sobre la fluidez de la membrana del cerebro en ratones, Müller y colaboradores (1997), proponen que las propiedades de este fármaco modifican la membrana del cerebro, en detalle, por la alteración de los mecanismos de transducción de señales. Sin embargo, ninguna de estas hipótesis, han recolectado hasta ahora un consenso general.

#### **1.6.2.2. Análogos del piracetam**

Las propiedades del piracetam fueron descubiertas en 1967, y desde entonces se ha estimulado el desarrollo y la síntesis de un gran número compuestos con estructura relacionada al piracetam que puedan contribuir con un perfil farmacológico similar.

En la Figura 1.3, se muestra la evolución química de los compuestos de tipo piracetam y de algunos de sus miembros mas estudiados, excepto por el sunifiram, todos contienen el anillo de la 2-oxopirrolidina.



**Figura 1.3** Evolución química de los análogos del piracetam.

Muchos de los compuestos que mejoran la cognición de la primera generación de los derivados del piracetam, revierten la amnesia inducida por escopolamina y otros fármacos, choques electroconvulsivos e hipoxia con un mecanismo desconocido. Algunos de ellos son efectivos en tratamientos clínicos, mostrando excelente tolerabilidad y seguridad.

En algunos países ya se usan estos compuestos (Cuadro 1.1) o están en desarrollo para el tratamiento de desordenes cognitivos (Gualtieri *et al.*, 2002).

**Cuadro 1.1** Derivados del piracetam (nootrópicos).

Fármaco	Clave	Compañía	Año de lanzamiento/ fase.
Piracetam	UCB-6215	UCB	1973
Oxiracetam	ISF-2522	ISF	1987
Aniracetam	Ro-13-5057	Roche	1993
Pramiracetam	CI-879	Warner-lambert	1993
Nebracetam	WEB1881FU	Boehringer Ing.	En espera de aprobación
Nefiracetam	DM-9384	Daiichi Seyacu	En espera de aprobación
Fasoracetam	NS-105/LAM-105	Nippon Shinyaku	Fase III

## 1.7. Síntesis orgánica de compuestos nootrópicos

A lo largo de los años se han desarrollado compuestos, en donde el piracetam ha servido como fármaco de referencia, para continuar la búsqueda de nuevos compuestos más potentes, eficaces y con un perfil de seguridad similar. Pinza y colaboradores (1993), sintetizaron una clase de compuestos que contienen los núcleos 2-pirrolidona y 4-imidazolidinona reconocidos como importantes para la actividad mejoradora de la cognición.

Esta serie de dihidro-1*H*-pirrolo[1,2-*a*]imidazol-2,5(3*H*,6*H*)-dionas, fueron preparados por la condensación de  $\alpha$ -amino amidas con oxoesteres. Estos derivados, mostraron revertir la amnesia inducida por la escopolamina en la prueba de Evitación Pasiva. Manetti y colaboradores (2000), prepararon una serie de compuestos 4-sustituido 1,4-diazabicyclo[4.3.0]nonan-9-onas, por medio de la condensación del ciclo de la piperazina con el anillo 2-oxopirrolidina, mostrando ser mas potentes que el piracetam. En el mismo año (2000), Manetti y su grupo también reportaron la

preparación de otra serie de compuestos 4-sustituidos-1-acilpiperazinas, obtenidos por la simplificación molecular de 4-sustituido 1,4-diazabicyclo[4.3.0]nonan-9-onas, mostrando ser más potentes que los compuestos de origen y el piracetam.

## **1.8. Pruebas para el estudio de la memoria**

Varios modelos están disponibles para la evaluación preclínica de agentes que afectan los procesos de aprendizaje y memoria (Le y Noguès, 2000). Los laberintos y la evitación pasiva, son algunas de las herramientas comúnmente usadas en la valoración de las funciones cognitivas.

### **1.8.1. Laberinto de agua.**

El laberinto de agua fue diseñado por Richard Morris, es uno de los modelos más empleados en el estudio de la memoria espacial en roedores. En esta prueba el aprendizaje y la memoria espacial se relacionan con la capacidad de adquirir y retener asociaciones de las características del ambiente, lo que permite al organismo desenvolverse en el espacio.

Los roedores pueden adoptar cuatro formas principales de navegación espacial para la resolución de tareas espaciales: orientación, guía, cartografía y de integración de ruta. En este laberinto se evalúa la capacidad del roedor de aprender y recordar la manera de escapar de una situación aversiva como es un tanque con agua, para ello, los ratones tienen que aprender a localizar en el estanque la plataforma sumergida a dos centímetros por debajo del nivel del agua. La capacidad del animal para localizarla depende de la utilización de las claves que rodean a la piscina, siendo necesarias al menos dos señales extra-laberinto para localizar la meta invisible.

Las medias conductuales más utilizadas son la latencia de escape en los ensayos de adquisición (tiempo que transcurre hasta que alcanza la plataforma) y el porcentaje de tiempo en el cuadrante meta durante la prueba final. La adquisición se refleja en las menores latencias de escape a lo largo de los días y la retención en el mayor porcentaje de tiempo en el cuadrante meta.

Este modelo se utiliza en la investigación de los mecanismos neurobiológicos del aprendizaje espacial y se pueden valorar los efectos de los fármacos sobre los procesos del aprendizaje y la memoria. Las ventajas de esta prueba consisten en que no se requiere de la privación de agua o comida ni de la aplicación de una descarga eléctrica para motivar la conducta, además se requieren de relativamente pocos ensayos, se evita que los animales utilicen claves no espaciales como el olor para resolver la tarea (Morris, 1984; Vicens *et al.*, 2003).

### **1.8.2. Evitación Pasiva (Passive Avoidance)**

La evitación pasiva es un modelo que se ha usado para evaluar el déficit de aprendizaje y memoria inducidos por la administración de fármacos y lesiones en ratas y ratones. En este modelo de aprendizaje, los animales aprenden a evitar algún evento nocivo al suprimir un comportamiento en particular (Bures *et al.*, 1983 en Cimadevilla *et al.*, 2000). Este trabajo aversivo de aprendizaje está basado en el condicionamiento clásico Pavloviano, el cual puede ser modificado por las alteraciones en la neurotransmisión colinérgica y serotoninérgica (Misane y Ôgren, 2003).

La prueba de evitación pasiva consiste en colocar a la rata o ratón dentro de un espacio con una iluminación intensa interconectado con un espacio oscuro, como los

ratones prefieren los espacios oscuros, estos tienden a entrar a dicho compartimiento y permanecer ahí. El tiempo que tarda el animal de pasar de un compartimiento a otro se mide con exactitud. Una vez que se encuentra en la parte oscura se aplica un choque eléctrico a través de sus patas y el animal se retira. La retención se evalúa a las 24 horas.

En esta prueba se les enseña a asociar el espacio oscuro con una consecuencia desagradable, la administración de una descarga eléctrica. De esta manera en la siguiente ocasión en que se realiza la prueba, el ratón debe recordar esta asociación demorando en penetrar en su ambiente preferido (Cimadevilla *et al.*, 2000).

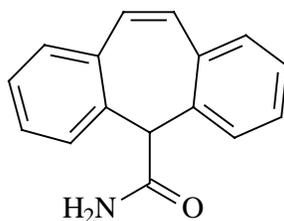
La evitación pasiva es un modelo que se usa ampliamente para evaluar el efecto de los fármacos sobre la MCP y la MLP ( Everss *et al.*, 2005), también se usa conjuntamente con la escopolamina para buscar fármacos con valor terapéutico en el tratamiento de la demencia (El-Sherbiny *et al.*, 2003). Usualmente tiene limitadas demandas en la evaluación de la memoria espacial (Cimadevilla *et al.*, 2000). Es una prueba sencilla y rápida debido a que el aprendizaje se da en un solo entrenamiento.

Las versiones utilizadas en el trabajo de evitación pasiva son: paso abajo (step down), paso a lo largo (step through) y dos compartimientos (two compartment) (Bures *et al.*, 1983 en Cimadevilla *et al.*, 2000).

## 1.9. Carbamacepina

La carbamacepina, 5-carbamoil-5H-dibenzo[b,f]azepina, (Figura 1.4), fue desarrollada por Geigy y sintetizada en 1960 por Schinder (Okada *et al.*, 1998). Es un iminoestilbenceno relacionado químicamente con los antidepresivos tricíclicos de tipo

imipramina (Florez, 1994), razón por la que se le sugiere la actividad antidepresora (Weisler, 2005). Este fármaco ha sido efectivo en el tratamiento de las crisis epilépticas de tipo parcial simple, parcial compleja y de tipo generalizado tónico-clónico, no es efectivo en contra de las crisis de ausencia, también ha demostrado tener efectividad en el tratamiento de desordenes de tipo bipolar (agudo y crónico), neuralgia del trigémino, esquizofrenia y ansiedad (Okada *et al.*, 1998).

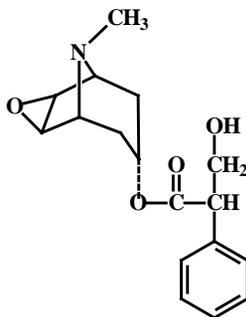


**Figura 1.4** Estructura de la carbamacepina.

Se ha reportado que la carbamacepina se oxida por el componente del citocromo P450 3A4 para activar al metabolito carbamacepina-10,11-epoxido (CBZ-E), ambos poseen actividad psicotrópica. Los canales de sodio voltaje dependientes son inhibidos por la CBZ y CBZ-E, especialmente durante la despolarización (Weisler, 2005; Florez, 1994). También se ha documentado que la CBZ incrementa las concentraciones de serotonina y dopamina en el hipocampo jugando un papel importante en la potenciación a largo plazo y el mejoramiento de la memoria (Sudha *et al.*, 1995). Otras investigaciones indican que la carbamacepina afecta la transmisión colinérgica incrementando los niveles de acetilcolina debido a la reducción de la actividad de la acetilcolinesterasa (Consolo *et al.*, 1976; Sudha *et al.*, 1995).

### 1.10. Escopolamina

La escopolamina (Figura 1.5), es un antagonista no selectivo de los receptores muscarínicos, comúnmente usado como modelo farmacológico basado en la “hipótesis colinérgica” de la disminución de la memoria en la demencia senil tipo Alzheimer.



**Figura 1.5** Estructura de la escopolamina.

La escopolamina, empeora el aprendizaje y la memoria en roedores y seres humanos, especialmente, en el proceso de adquisición del aprendizaje y en la memoria a corto plazo (Kang *et al.*, 2003; Misane y Ôgren, 2003), es usada como un modelo en la búsqueda de fármacos antiamnésicos (Kang *et al.*, 2003). El promedio de una dosis única está entre 0.5-1 mg/kg (Mutschler, 1995), su uso a dosis tóxicas (10 mg/kg) es acompañado por parálisis del iris, visión borrosa, decremento del peristaltismo intestinal, ataxia, alucinaciones y eventualmente coma y muerte (Kotsias, 2002). La escopolamina interfiere con la transmisión de acetilcolina en el sistema nervioso central (Misane y Ôgren, 2003) a una dosis amnésica, disminuye el metabolismo de la glucosa en varias áreas de la corteza cerebral, tálamo e hipocampo; la corteza es de singular importancia en procesos de cognición y memoria, y muchos investigadores han sugerido que el hipocampo es crítico en los procesos de aprendizaje (Isaacson, 1982).

## 2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El mejoramiento cognitivo se ha observado en personas que son tratadas con fármacos capaces de facilitar las habilidades de atención, adquisición, almacenamiento y recuperación de la información, además de atenuar el deterioro de las funciones cognitivas asociadas con la edad y las patologías asociadas a esta (Gualtieri *et al.*, 2002). Entre estos fármacos se encuentran los nootrópicos, los cuales han demostrado tener la capacidad de mejorar los procesos cognitivos tales como el aprendizaje y la memoria (Tortiglione *et al.*, 2002), ésta interesante actividad, ha dado lugar al diseño y síntesis de nuevos compuestos con estructuras relacionadas al piracetam, con la intención de encontrar fármacos con un mejor perfil farmacológico (Pinza *et al.*, 1993; Manetti *et al.*, 2000).

Así mismo, también se plantea la necesidad de buscar fármacos que al administrarse conjuntamente con los nootrópicos aumenten su actividad farmacológica, tal es el caso del piracetam con la carbamacepina, en donde el piracetam por sí mismo no tiene propiedades anticonvulsivantes (Fischer *et al.*, 2004), pero al coadministrarse con la carbamacepina incrementa los efectos anticonvulsivantes de esta última (Mondadori *et al.*, 1984; Fischer *et al.*, 2004), mientras que el efecto de la coadministración de los agentes anticonvulsivantes sobre la actividad nootrópica hasta el momento no ha sido estudiado.

En este contexto, Sudha y colaboradores (1995), reportan cambios en el aprendizaje y la memoria después de la administración crónica de carbamacepina, debido a la reducción de la actividad de la acetilcolinesterasa y al incremento de monoaminas como la serotonina.

Por lo anterior, en este trabajo se planteó la conveniencia de llevar a cabo la síntesis y la evaluación de la actividad nootrópica de un compuesto bicíclico que contenga el núcleo 2-pirrolidona, así como el estudio de la administración simultánea con carbamacepina.

### **3. HIPÓTESIS**

Los compuestos que mantienen una relación estructural con el núcleo 2-pirrolidona, presentan actividad nootrópica, por lo que al sintetizar un compuesto bicíclico que contenga como base dicho núcleo, se espera que presente el efecto nootrópico mayor o igual al observado en el piracetam.

Por otra parte al administrarse simultáneamente con la carbamacepina se incrementara el efecto nootrópico del compuesto bicíclico sintetizado, dado que la carbamacepina mejora el aprendizaje y la memoria en animales de experimentación.

#### **4. OBJETIVOS**

El objetivo central de este trabajo es:

Sintetizar al derivado del piracetam (±)-2-(1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)propanamida (**DP2**) y evaluar su actividad nootrópica en ratones ICR utilizando la prueba de evitación pasiva. Así como también determinar el efecto que tiene la administración simultánea con carbamacepina.

En tanto que los objetivos particulares, derivados del anterior, son los siguientes:

- Sintetizar el **DP2** a partir de anhídrido ftálico.
- Realizar la caracterización del **DP2** mediante Espectroscopia de Masas (**EM**), Resonancia Magnética Nuclear (**RMN** de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ ) e Infrarrojo (**IR**).
- Realizar la evaluación del efecto nootrópico del **DP2**, carbamacepina y piracetam usando el modelo de Evitación Pasiva en ratones.
- Evaluar el efecto de administración simultánea de la carbamacepina sobre la actividad nootrópica del piracetam y de su derivado **DP2**.
- Determinar el perfil farmacológico del **DP2**, del piracetam y de la carbamacepina para evaluar el efecto miorrelajante, sedante, anticonvulsivo y sobre la coordinación motora.

## **5. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **5.1. Reactivos**

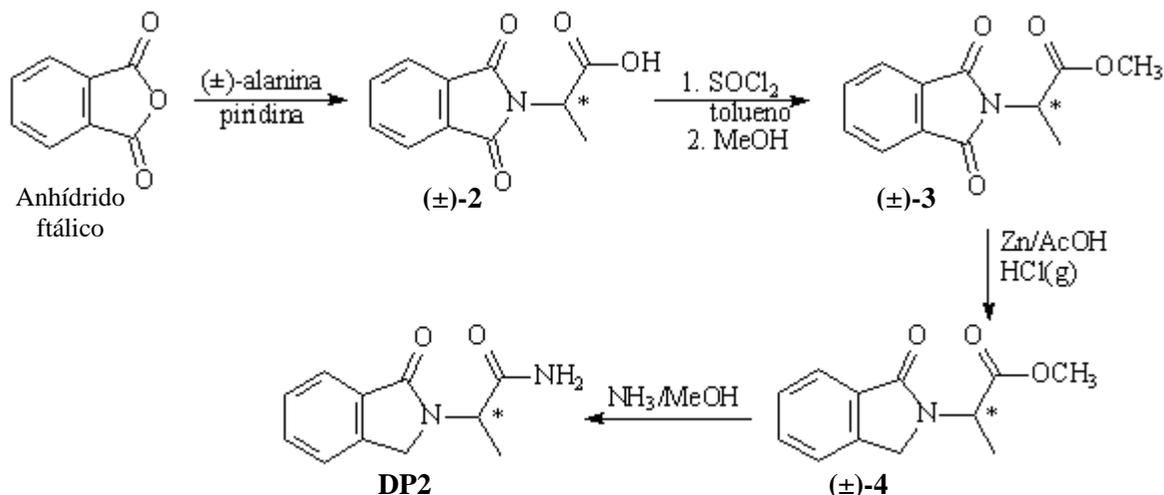
(±)-Alanina, anhídrido ftálico, hidróxido de amonio, ácido clorhídrico, el carbón activado y tolueno fueron adquiridos de J.T Baker; la piridina, cloruro de tionilo, ácido acético glacial y zinc en polvo se adquirieron de Aldrich; acetato de etilo y metanol de Adydsa.

### **5.2. Equipos**

La espectrometría de Masas (EM), se realizó en un espectrómetro Hewlett-Packard Modelo 5890; la espectroscopia de Infrarrojo (IR) en un espectrómetro Perkin Elmer modelo 599 y la de Resonancia Magnética Nuclear ( $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  RMN) en los espectrómetros Varian VXR-3005 (300 MZH) y Varian Unity Plus 500 (500 MHz) respectivamente. El punto de fusión se determinó en un Electrothermal Digital IA9100.

### **5.3. Síntesis orgánica**

Se preparó el **DP2** y cada uno de sus intermediarios. La ruta sintética se presenta en el Esquema 1. El procedimiento se desarrollo de acuerdo a lo descrito por Castillo y Medina (2005). Todas las reacciones fueron monitorizadas por cromatografía en capa fina. Como revelador se uso radiaciones de luz ultravioleta.



Esquema 1. Síntesis de DP2.

### 5.3.1. Síntesis de ácido (±)-2-(1,3-dioxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-propanoico [(±)-2]

Se adicionó 37.0 g (250 mmol) de anhídrido ftálico, 26.7 g (300 mmol) de (±)-alanina y 50 mL de piridina en un matraz bola provisto de agitación magnética y refrigerante. La mezcla de reacción se calentó a 90 °C durante 24 horas, posteriormente se enfrió a temperatura ambiente y se adicionó ácido clorhídrico concentrado hasta neutralización de la piridina. El producto se extrajo de la mezcla con acetato de etilo (5 x 25 mL), los extractos orgánicos se mezclaron y se secaron sobre sulfato de sodio anhidro. El disolvente se removió empleando un evaporador rotatorio, obteniéndose 53.6 g (98 %) del producto (±)-2, como un polvo blanco: p.f. = 167-168 °C (Reyes, 1999; p.f. = 167-168 °C); *R<sub>f</sub>* = 0.44 (AcOEt/Hexano, 1:1).

### 5.3.2. Síntesis de (±)-2-(1,3-dioxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-propanato de metilo [(±)-3]

A una solución de 18.24 g (83.3 mmol) de ácido (±)-2 en 25 mL de tolueno en un matraz balón provisto de agitación magnética y refrigerante, se adicionaron lentamente 12.9 mL (176.38 mmol) de cloruro de tionilo. La mezcla de reacción se agitó durante 16 horas a temperatura ambiente y posteriormente a 80 °C durante una hora. El disolvente se eliminó a presión reducida en un evaporador rotatorio, el residuo se dejó enfriar y se adicionó lentamente 20 mL de metanol y se agitó durante 30 minutos. El producto se trató con carbón activado en 20 mL de metanol para su cristalización, de donde se obtuvieron 15.4 g (79%) de producto (±)-3 como un polvo blanco: p.f. = 66-67 °C (*Reyes et al.*, 1999; p.f. = 66-67 °C);  $R_f = 0.56$  (AcOEt/Hexano, 1:1).

### 5.3.3. Síntesis de (±)-2-(1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)-propanato de metilo [(±)-4]

Una suspensión de 13.1 g (56.22 mmol) de (±)-3, 24.0 g (367mmol) de zinc en polvo y 175 mL de ácido acético glacial en un matraz bola de 250 mL provisto de agitación magnética y refrigerante, se trató con una corriente suave de cloruro de hidrógeno, posteriormente se calentó a temperatura de reflujo durante 5 horas. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, se filtró, y el ácido acético empleado como disolvente fue eliminado por destilación bajo presión reducida. El residuo fue purificado por cromatografía en columna (hexano-AcOEt, 1:1) de donde se obtuvieron 10.9 g (88.5%) de la isoindolinona (±)-4 como un líquido incoloro.

$R_f = 0.37$  (hexano-AcOEt, 1:1); **IR** (KBr) 2952, 1745, 1693, 1681  $\text{cm}^{-1}$ ; **RMN  $^1\text{H}$**  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm: 1.58 (d,  $J = 7.5$  Hz, 3H), 3.71 (s, 3H), 4.42 (d,  $J = 16.5$  Hz, 1H), 4.57 (d,  $J = 16.5$  Hz, 1H), 5.18 (c,  $J = 7.5$  Hz, 1H), 7.40-7.60 (m, 3H), 7.80-7.90 (m, 1H); **RMN  $^{13}\text{C}$**  (75.5 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm: 15.4, 46.5, 48.8, 52.2, 126.0, 127.6, 131.3, 131.9, 133.9, 169.9, 170.2. **EM** (70 eV);  $m/z$  (%), 219 ( $\text{M}^+$ , 65.4), 204 (0.9), 160 (100), 132 (34.5), 91 (32.7).

#### **5.3.4. Síntesis de (±)-2-(1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)propanamida [DP2]**

Se adicionó 3.0 g (13.7 mmol) de (±)-4 en 60 mL de una solución saturada de amoníaco en metanol en un matraz bola provisto de agitación magnética. La solución resultante se agitó a temperatura ambiente durante 24 horas. El disolvente se removió con vacío y el residuo sólido (3 g) se cristalizó en metanol obteniéndose 2.7 g (96.8%) de la amida racémica **DP2**, como un polvo incoloro: p.f. 188.2-189.5  $^{\circ}\text{C}$ ;  $R_f$  0.32 (AcOEt-hexano-cloroformo, 15:6:4); **IR** (KBr) 3320, 3168, 1693, 1658  $\text{cm}^{-1}$ ; **RMN  $^1\text{H}$**  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm: 1.54 (d,  $J = 7.2$  Hz, 3H), 4.49 (s, 2H), 5.04 (c,  $J = 7.2$  Hz, 1H), 5.40 (s, ancha, 1H), 6.40 (s, ancha, 1H), 7.45-7.60 (m, 3H), 7.83-7.87 (m, 1H); **RMN  $^{13}\text{C}$**  (75.5 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm: 14.4, 47.0, 49.9, 123.0, 123.8, 128.2, 131.8, 131.9, 141.5, 169.1, 172.7; **EM** (70 eV);  $m/z$  (%), 204 ( $\text{M}^+$ , 15.4), 187 (59.8), 160 (100), 132 (57.7), 91 (60.8).

## **5.4. Pruebas biológicas**

### **5.4.1. Animales de laboratorio**

En todos los experimentos se emplearon ratones macho de la cepa ICR, con un peso comprendido entre 25-30 g adquiridos de la Compañía Harlan de México S.A de C.V. Se colocaron en cajas de plástico y se mantuvieron con libre acceso al alimento y agua, con ciclos de luz-oscuridad de 12 horas y a una temperatura de  $22 \pm 1$  °C.

Los compuestos a evaluar se administraron por vía intraperitoneal (i.p.) ajustando las dosis a un volumen de 0.1 mL/10 g.

En todos los experimentos en donde se utilizaron animales se siguieron los lineamientos marcados en la norma oficial mexicana NOM-062-ZOO-1999.

### **5.4.2. Fármacos y dosis**

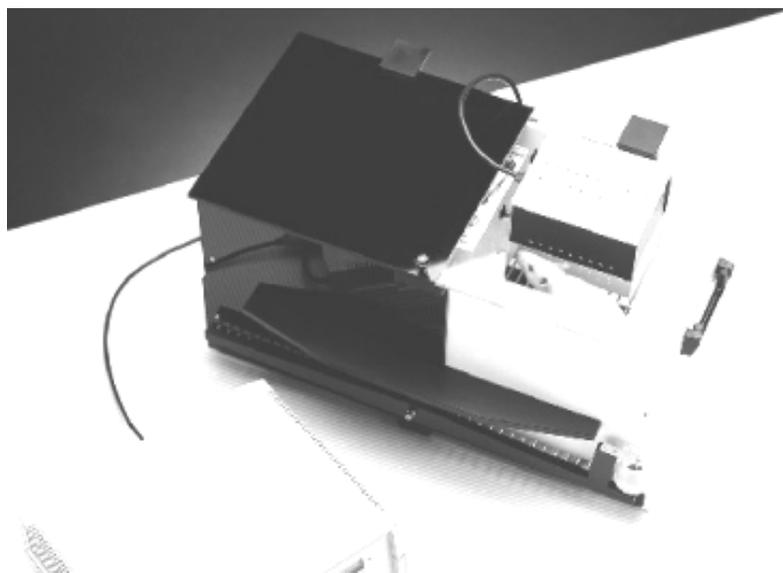
El compuesto sintetizado (±)-2-(1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)propanamida (**DP2**; 0.1, 0.3, 1, 10 y 100 mg/kg), Carbamacepina (Sigma Chemical Co.; 5, 10 y 30 mg/kg) y Diacepam (Roche, S.A., 2 mg/kg) se suspendieron en solución salina (0.9%) con trazas de Tween 80 (Sigma Chemical Co.).

El Piracetam (10, 30, 56 y 100 mg/kg) y el Pentilentetrazol (80 mg/kg), ambos adquiridos de Sigma Chemical Co. y la Escopolamina (Fluka BoiChemika; 1 mg/kg), se disolvieron en solución salina (0.9%).

### 5.4.3. Evaluación del efecto nootrópico

#### 5.4.3.1. Aparato de Evitación Pasiva (Step-through Passive Avoidance)

El aparato de Evitación pasiva (Passive Avoidance Apparatus, Ugo Basile 7550; Figura 5.1), consiste en dos compartimientos, el de entrada y el de escape. 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 corrediza. El piso del compartimiento oscuro está hecho con una rejilla con barras de acero de 0.3 cm de diámetro, separadas a una distancia de 1.2 cm (Prathiba y Karanth, 1996; Eidi *et al.*, 2003).



**Figura 5.1** Aparato de Evitación Pasiva.

#### **5.4.3.2. Prueba de evitación pasiva**

Se evaluó la actividad nootrópica del piracetam, la carbamacepina y el **DP2** por separado. Posteriormente se evaluó la actividad nootrópica de la administración simultánea del piracetam y el **DP2** con carbamacepina. El trabajo experimental se realizó con grupos de 10 animales.

Los fármacos a evaluar y el control se administraron por vía i.p. 30 minutos antes de iniciar la prueba.

Fase de adquisición o aprendizaje: El experimento se desarrolló en un cuarto semiobsuro. La prueba se inició al colocar 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 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. 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 le administró Escopolamina (1 mg/kg) con la finalidad de inducirles amnesia.

Fase de retención: Al siguiente día (24 horas después), se llevó a cabo la prueba de retención para la determinación de la memoria a largo plazo. Se colocó el ratón en el compartimiento iluminado y se midió el tiempo de latencia que tardó el ratón en entrar al compartimiento oscuro. La prueba finalizó cuando el animal entró al compartimiento oscuro, o bien, si permaneció por más de 420 segundos (criterio de retención) en el compartimiento iluminado. Durante esta etapa de la prueba, no se aplicó el choque eléctrico.

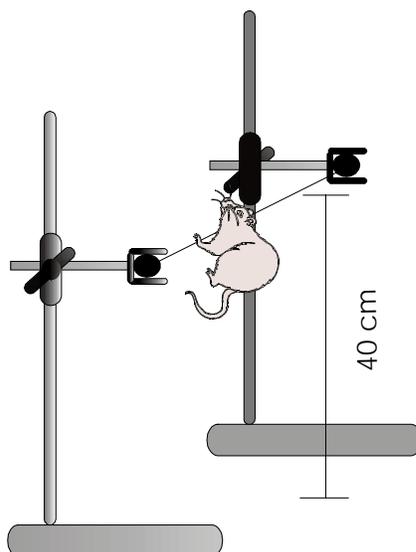
#### **5.4.3.3. Análisis estadístico**

Para la evaluación del efecto nootrópico de cada compuesto solo o en combinación se utilizó un diseño de dos factores (dosis y latencia de respuesta), por lo que los resultados obtenidos se analizaron por medio del análisis de varianza de dos vías (dosis y latencia de respuesta), seguida por la prueba de Holm-Sidak para la comparación múltiple de los diferentes pares de datos. Se consideraron diferencias significativas para una  $p < 0.05$ .

#### **5.4.4. Perfil neurofarmacológico**

##### **5.4.4.1. Evaluación del efecto miorelajante**

Se trabajó con grupos de 6 ratones por cada dosis. Como control positivo se utilizó el diazepam (2 mg/kg). El entrenamiento consistió en colocar a los ratones sujetos con sus patas delanteras a la barra de acero inoxidable de 2 mm de diámetro, que se encontraba a una altura de 40 cm (Figura 5.2), sólo se seleccionaron a los animales que lograron sostenerse durante 30 segundos a la barra (tiempo 0).

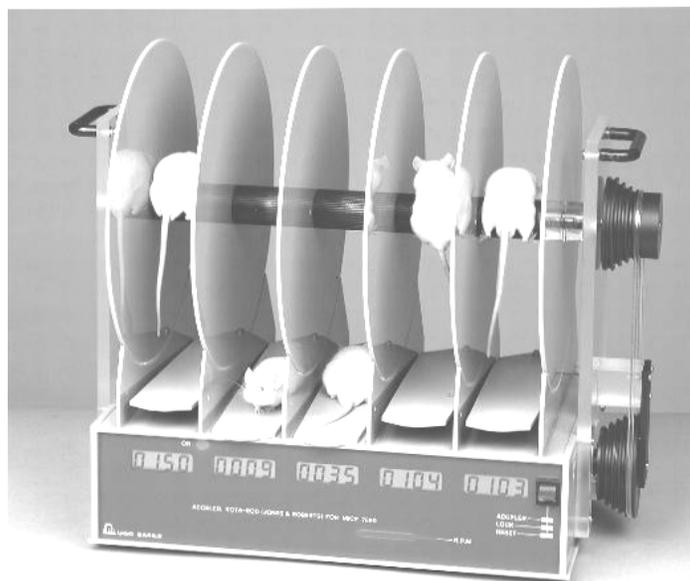


**Figura 5.2** Barra elevada.

Una vez concluido el entrenamiento, se registró el tiempo 0, y se les administró el compuesto a evaluar vía i.p., midiendo el efecto cada 10 minutos durante las dos primeras horas, después cada 30 minutos hasta completar cuatro horas (Oliva *et al.*, 2004). El análisis estadístico, se realizó por medio de un análisis de varianza de una vía, seguida de la prueba de la prueba de Tukey. Se consideraron diferencias significativas para una  $p < 0.05$ .

#### **5.4.4.2. Evaluación de la coordinación motora**

Se trabajó con grupos de 6 animales por cada dosis a evaluar. Como control positivo se usó el diacepam (2 mg/kg). El entrenamiento consistió en colocar a los ratones en el rodillo (4 cm de diámetro) del rotarod (Figura 5.3), a una velocidad de 16 rpm durante 120 segundos (tiempo 0).



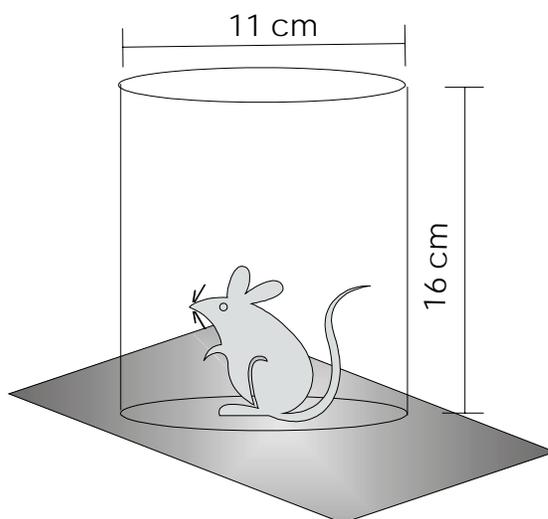
**Figura 5.3** Rotarod.

Los ratones que no lograron cumplir con este tiempo fueron excluidos de la prueba. Una vez concluido el entrenamiento, se registró el tiempo 0 y se les administró el compuesto a evaluar vía i.p., midiendo el efecto cada 10 minutos durante las dos primeras horas, después cada 30 minutos hasta completar cuatro horas (Oliva *et al.*, 2004). El análisis estadístico, se realizó por medio de un análisis de varianza de una vía, seguida de la prueba de la prueba de Tukey. Se consideraron diferencias significativas para una  $p < 0.05$ .

#### **5.4.4.3 Evaluación del efecto sedante**

Se trabajó con grupos de 8 ratones por cada dosis. El fármaco de prueba se administró por vía i.p. 30 minutos antes de iniciar la prueba. El ratón se colocó dentro del cilindro de vidrio (11 cm de diámetro, 16 cm de altura; Figura 5.4), se registró el número de levantamientos realizados durante un periodo de 5 minutos.

Una disminución en el número de levantamientos es indicativo del efecto sedante (Ugalde *et al.*, 2005). El análisis estadístico, se realizó por medio de un análisis de varianza de una vía. Se consideraron diferencias significativas para una  $p < 0.05$ .



**Figura 5.4** Cilindro de exploración.

#### **5.4.4.4. Evaluación del efecto anticonvulsivante**

Se trabajaron con grupos de 8 animales por cada dosis. Se inició administrando a los ratones vía i.p. el fármaco a evaluar 35 minutos antes de administrar vía i.p. una dosis de 80 mg/kg de pentilentetrazol (PTZ), 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). El análisis estadístico, se realizó por medio de un análisis de varianza de una vía. Se consideraron diferencias significativas para una  $p < 0.05$ .

## 6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 6.1. Síntesis orgánica

Para la síntesis del **DP2** [(±)-2-(1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)propanamida], se sintetizaron tres compuestos intermediarios, el primero se preparó a partir del anhídrido ftálico y la (±)-alanina que en presencia de piridina dio lugar a el compuesto sólido de color blanco (±)-**2** con un rendimiento del 98% (53.6 g), su punto de fusión fue de 167-168 °C, el cual fue consistente con el reportado en la literatura (Reyes, 1999). El compuesto (±)-**2** en presencia del cloruro de tionilo se formó el cloruro de acilo correspondiente y mediante la adición de metanol se obtuvo el éster (±)-**3**, con un rendimiento del 79% (15.4 g), su punto de fusión se observó en un rango de 66-67 °C, mismo que se reporta en la literatura (Reyes *et al.*, 1999). El compuesto (±)-**3**, así obtenido, se sometió a una reacción de reducción empleando zinc en ácido acético saturado de cloruro de hidrógeno, para obtener la isoindolinona (±)-**4**, como un líquido incoloro, con un rendimiento del 88.5% (10.9 g) (Castillo y Medina, 2005). Finalmente el compuesto (±)-**4** fue sometido a una reacción de amonólisis, la cual dio lugar a la amida racémica **DP2**, con un rendimiento del 96.8% y un punto de fusión de 188.2-189.5 °C. La caracterización de **DP2**, se hizo mediante el análisis de espectrometría de masas (**EM**), resonancia magnética nuclear de carbono trece (**RMN** <sup>13</sup>C) y de hidrógeno (**RMN** <sup>1</sup>H). En el **EM** se muestra el fragmento m/z 204 que corresponde al peso molecular de **DP2**. En el espectro de **IR**, se observan las bandas características de los grupos N-H de la amida en 3320 y 3168 cm<sup>-1</sup>, el C=O de amida en 1658 cm<sup>-1</sup> y el C=O de la lactama en 1693 cm<sup>-1</sup> presentes en el compuesto. En el espectro de **RMN** <sup>1</sup>H muestra señales anchas en 5.40 y 6.40 ppm, que corresponden a los hidrógenos de la amida primaria formada. En espectro de **RMN** <sup>13</sup>C el número de

señales en el espectro corresponde con el número de carbonos presentes en la molécula.

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

## **6.2. Evaluación farmacológica**

### **6.2.1. Efecto nootrópico**

La evaluación del efecto nootrópico se realizó por medio del modelo de evitación pasiva, usando como fármaco inductor de amnesia a la escopolamina. Los resultados obtenidos para el (±)-2-(1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)propanamida (**DP2**), el piracetam y la carbamacepina se muestran en el Cuadro 6.1, en donde se observó que en el grupo control tratado con solución salina hubo diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) entre la fase de entrenamiento (latencia inicial) y durante la prueba de retención (a las 24 horas), indicando así, que los ratones recordaron de manera natural el estímulo nocivo aplicado. El grupo control tratado con escopolamina (1 mg/kg), no mostró diferencia significativa entre la latencia inicial y el determinado a las 24 horas confirmando que este fármaco a la dosis administrada produjo el efecto amnésico esperado, este resultado concuerda con lo se reporta para la escopolamina cuando se usa como modelo en la búsqueda de fármacos que puedan retardar o atenuar la pérdida de la memoria (Kang *et al.*, 2003; Manetti *et al.*, 2000; Drago *et al.*, 1990), ya que este compuesto actúa como antagonista muscarínico que deteriora el aprendizaje y la memoria en humanos y roedores (Kang *et al.*, 2003).

**Cuadro 6.1** Efecto nootrópico del **DP2**, piracetam y carbamacepina en la prueba de evitación pasiva en ratones, usando escopolamina (Esc) como fármaco inductor de amnesia.

Fármaco (mg/kg)	Tiempo de latencia (s)		
	Inicial	24 horas	Δ Diferencia de latencia (s)
Control SSI-SSI	11.71 ± 1.10	45.03 ± 7.57*	33.32
Control SSI-Esc	12.04 ± 1.25	14.10 ± 1.09	2.06
DP2 (0.1)	13.62 ± 3.81	178.68 ± 54.44*	165.06
DP2 (0.3)	9.64 ± 1.48	96.69 ± 42.68*	87.05
DP2 (1.0)	8.60 ± 0.88	66.18 ± 20.89*	57.58
DP2 (10)	12.43 ± 2.01	84.92 ± 21.95*	72.49
DP2 (100)	9.43 ± 1.72	16.24 ± 5.18	6.81
Piracetam (10)	14.60 ± 5.01	39.27 ± 11.47	24.67
Piracetam (30)	11.62 ± 1.13	66.07 ± 18.02*	54.45
Piracetam (56)	9.82 ± 1.79	18.83 ± 3.41	9.01
Piracetam (100)	9.05 ± 1.18	40.14 ± 5.59*	31.09
Carbamacepina (5)	10.57 ± 1.68	18.47 ± 3.57	7.9
Carbamacepina (10)	15.85 ± 3.07	28.27 ± 7.32	12.42
Carbamacepina (30)	10.51 ± 1.30	30.18 ± 5.78	19.67

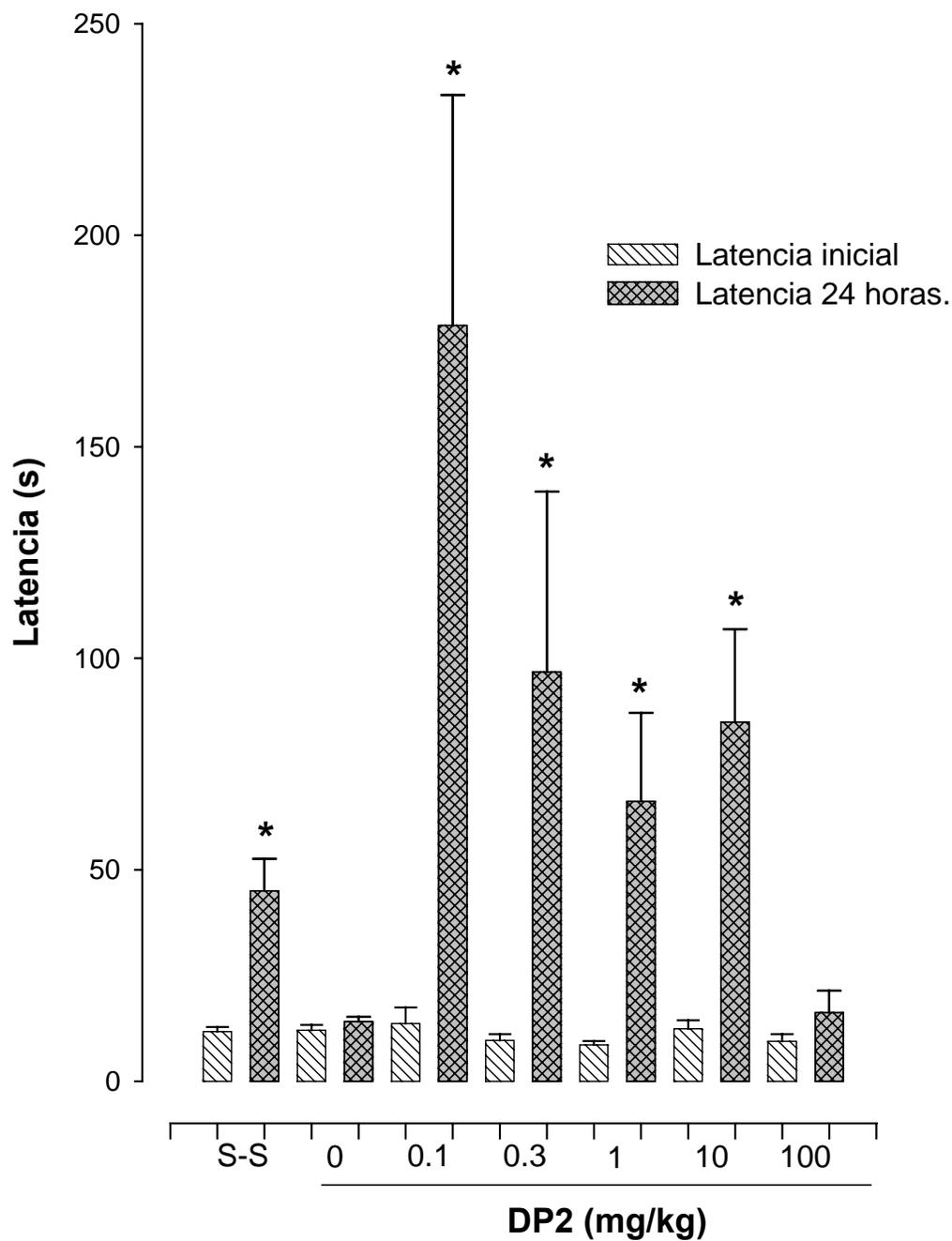
\*  $P < 0.05$  con respecto al grupo control tratado con escopolamina. SSI = Solución salina isotónica.

En las dosis evaluadas del **DP2**, sólo la de 0.1, 0.3, 1.0 y 10 mg/kg, mostraron diferencias significativas en el período de latencia entre la fase de entrenamiento y la de retención. Con la dosis de 100 mg/kg, no se observó dicha diferencia.

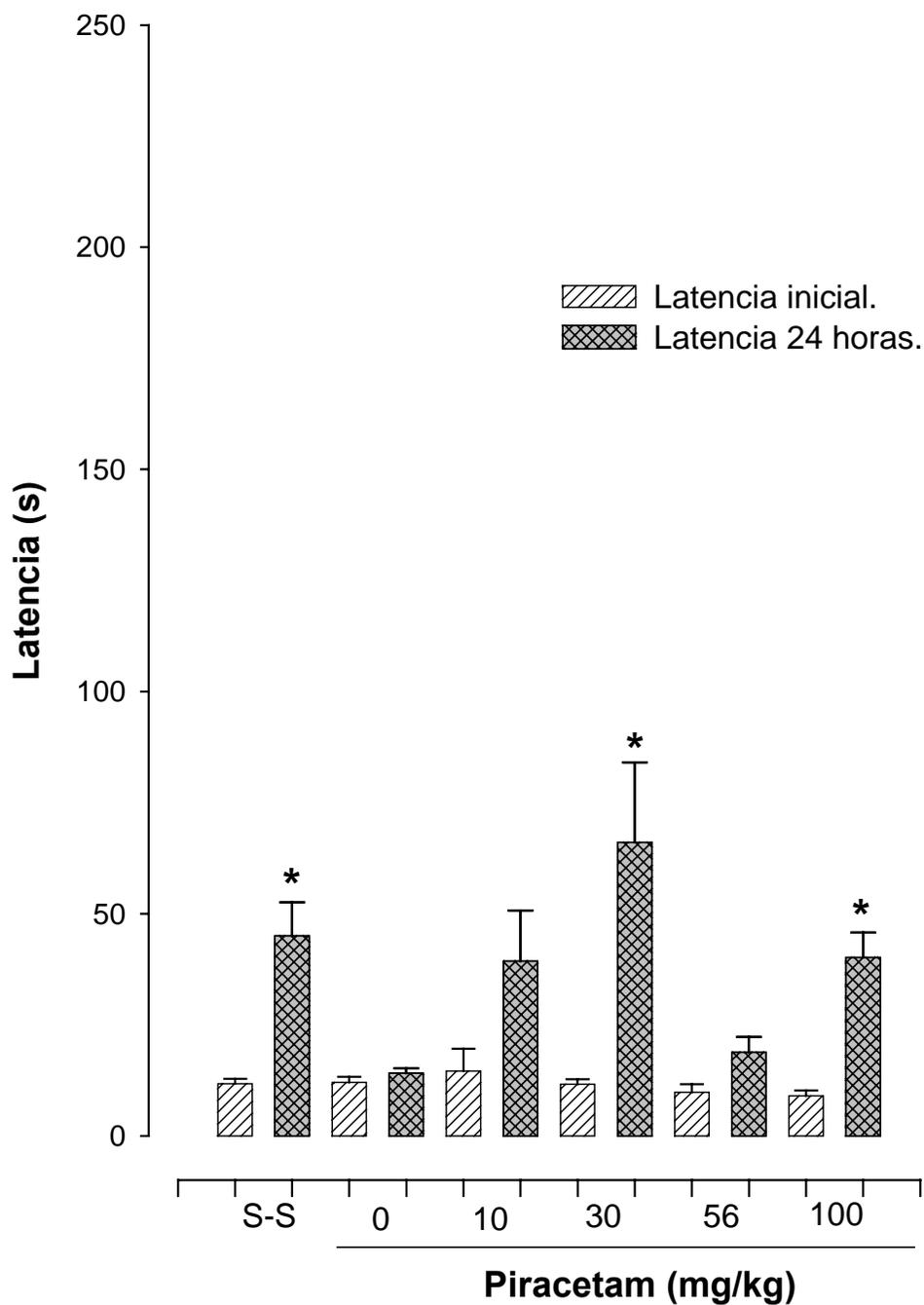
Por otra parte, al comparar los tiempos de latencia determinados a las 24 horas para cada una de las dosis, respecto al grupo control de escopolamina, se observó diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) con excepción de la dosis de 100 mg/kg. Los resultados anteriores demostraron que la amnesia producida por la escopolamina no afectaron el aprendizaje ni la memoria de los ratones cuando se les administró el **DP2**. El efecto máximo observado para este compuesto, se presentó a la dosis de 0.1 mg/kg y que conforme se incrementó la dosis el efecto nootrópico se redujo hasta anularse como se observó con la dosis de 100 mg/kg (Figura 6.1). Este efecto bifásico o en forma de U invertida es común en la prueba de evitación pasiva y en general en compuestos con actividad nootrópica (Drago *et al.*, 1990; DeNoble *et al.*, 1990; Pinza *et al.*, 1993).

Los resultados que se obtuvieron al evaluar al piracetam (fármaco de referencia) también se muestran en el cuadro 6.1, en esta se observó que en la dosis de 30 y 100 mg/kg hubo diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) entre el periodo de latencia inicial y el determinado a las 24 horas, con las dosis de 10 y 56 mg/kg no se presentó esta diferencia.

Las dosis de 30 y 100 mg/kg del piracetam al compararse con el lote control tratado con escopolamina a las 24 horas, presentaron diferencia significativa ( $p < 0.05$ ), indicando que el piracetam a esas dosis revirtió el efecto amnésico producido por la escopolamina (Figura 6.2). El efecto máximo de este fármaco se observó a la dosis de 30 mg/kg. Estos resultados fueron consistentes a lo reportado por Manetti y colaboradores (2000). Ellos encontraron que el piracetam muestra una dosis activa mínima de 30 mg/kg y que es totalmente inactiva a la dosis de 10 mg/kg.



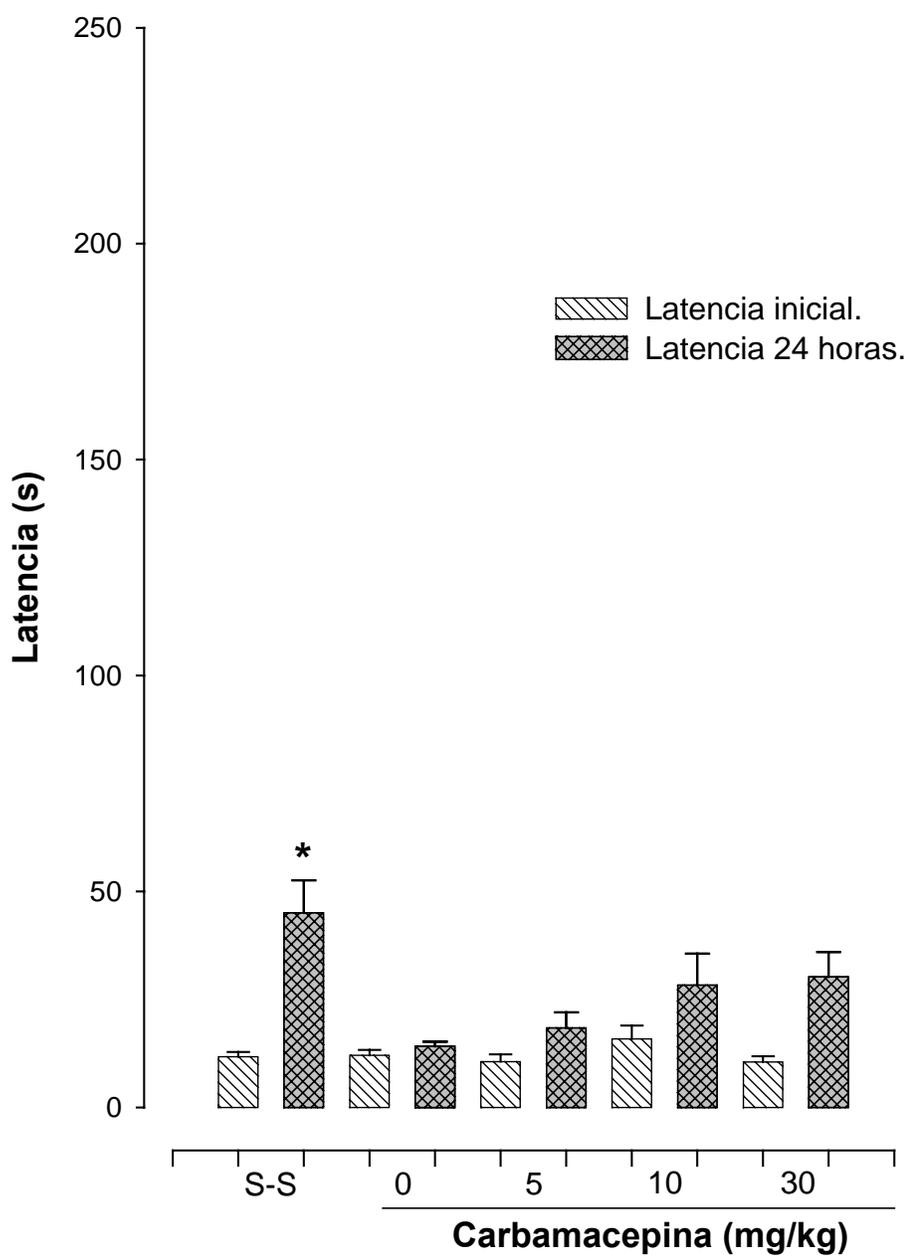
**Figura 6.1** Efecto nootrópico del DP2. S = Solución salina isotónica. Cada barra representa el valor de la media  $\pm$  EEM de 10 repeticiones. \* $p < 0.05$ , respecto al grupo tratado con escopolamina.



**Figura 6.2** Efecto nootrópico del piracetam. **S** = Solución salina isotónica. Cada barra representa el valor de la media  $\pm$  EEM de 10 repeticiones. \* $p < 0.05$ , respecto al grupo tratado con escopolamina.

El **DP2** a las dosis de 0.1, 0.3, 1 y 10 mg/kg fueron mas efectivas ( $178.68 \pm 54.44$  s,  $96.69 \pm 42.68$  s,  $66.18 \pm 20.89$  s y  $84.92 \pm 21.95$  s) y más potentes que el piracetam 30 y 100 mg/kg ( $66.07 \pm 18.02$  s y  $40.14 \pm 5.59$  s). Estructuralmente el **DP2** a diferencia del piracetam presenta un anillo bencílico condensado con el anillo 2-oxopirrolidina y un alargamiento en la cadena alquílica por la inclusión de un carbono que es el que le confiere quiralidad a la molécula. La actividad nootrópica que presento el **DP2** se atribuye primero a que mantiene una relación estructural con el anillo 2-pirrolidona que es el que se relaciona directamente con la actividad nootrópica (Pinza *et al.*, 1993; Gualtieri *et al.*, 2002). El incremento de la actividad y la potencia podría estar relacionado con la rigidez estructural que presenta la molécula por la condensación de los dos anillos. Pinza y colaboradores (1993), obtuvieron una serie de compuestos bicíclicos, que mostraron ser más potentes y eficaces que el oxiracetam. En una revisión hecha por Gualtieri y colaboradores (2002), encontraron que compuestos que contiene el anillo 2-oxopirrolidina condensados con un anillo aromático como la linopirdina o el T82 (un análogo del donepezil) mostraron tener actividad nootrópica.

En cuanto a la evaluación del efecto nootrópico de la carbamacepina, los resultados que se obtuvieron se muestran en el cuadro 6.1, en donde se observó que la dosis de 30 mg/kg tuvo un ligero incremento en el tiempo de latencia entre la fase inicial y a las 24 horas pero no fue estadísticamente significativo. Al comparar este grupo con el control de escopolamina, tampoco muestra diferencia significativa, indicando de esta manera que la carbamacepina no presentó efecto nootrópico (Figura 6.3).



**Figura 6.3** Efecto nootrópico de la carbamacepina. **S** = Solución salina isotónica. Cada barra representa el valor de la media  $\pm$  EEM de 10 repeticiones. \* $p < 0.05$ , respecto al grupo tratado con escopolamina.

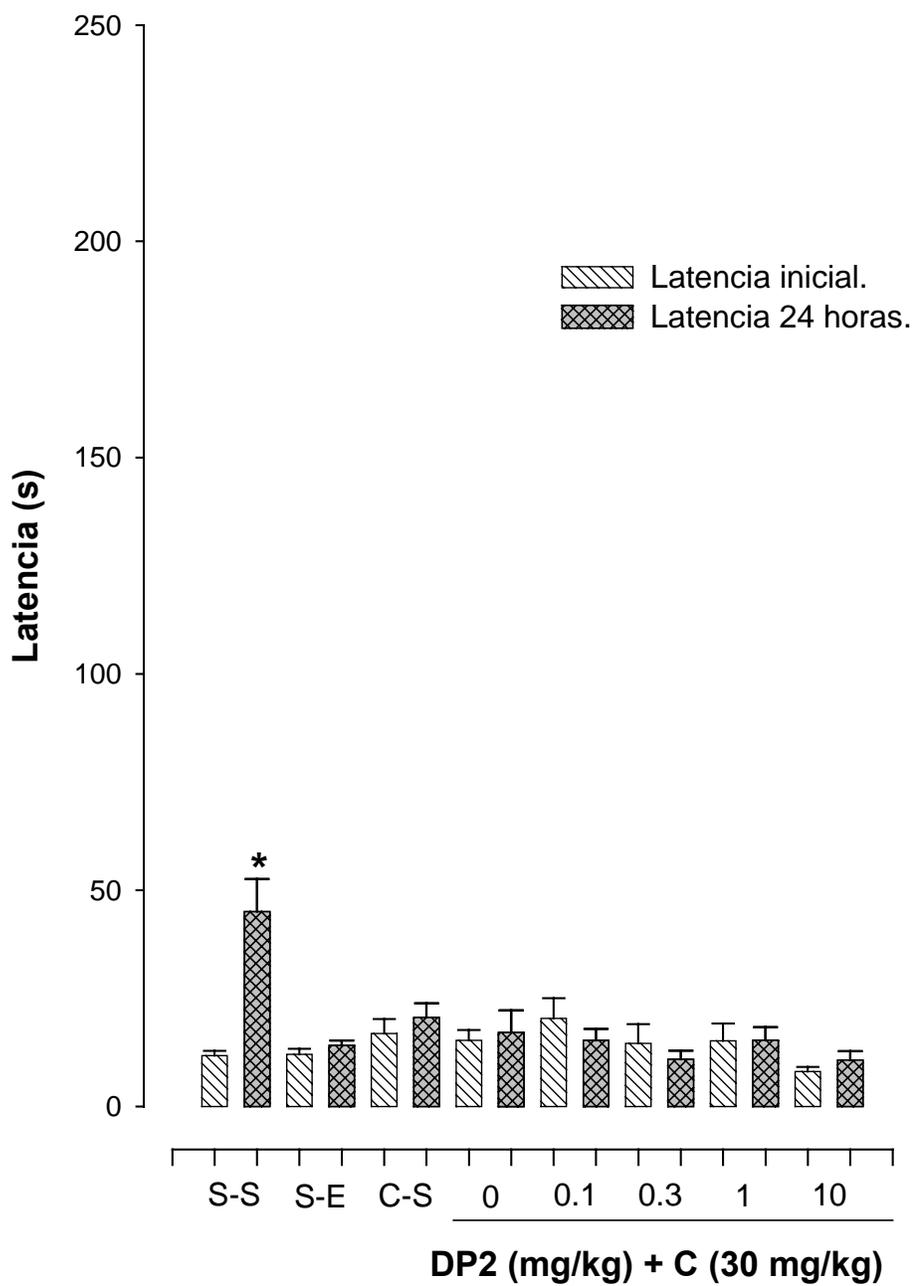
Estos resultados obtenidos no fueron consistentes de acuerdo a lo reportado por Rostock y Siegmund (1993), ellos encontraron que la administración aguda de carbamacepina, mejoró la memoria de las ratas en la prueba de Evitación Activa con un efecto “nootrópico”. Otros estudios, reportaron cambios en el aprendizaje y la memoria por la administración crónica de carbamacepina a las dosis de 20 y 40 mg/kg en el modelo de Evitación Pasiva (Step-down passive avoidance) y el Laberinto T (T-Maze) (Sudha *et al.*, 1995), sin embargo hay que destacar que los modelos usados por estos autores no hacen uso de fármacos como la escopolamina para la inducción de amnesia, por lo que podría sugerirse una posible interacción entre la carbamacepina y la escopolamina cuando se evalúa en este modelo, mostrando finalmente la ausencia de el efecto nootrópico. Otras observaciones realizadas indican que la administración aguda de la carbamacepina a concentraciones terapéuticas (25 mg/kg) incrementan los niveles de serotonina totales y extracelulares en el hipocampo (Okada *et al.*, 1998), en función a esta evidencia, se encontró en un trabajo realizado por Meneses (1999), que un incremento agudo en la liberación de serotonina, deteriora el aprendizaje y la memoria y que la reducción de la función de este sistema puede mejorar estos procesos. Si asumimos que la carbamacepina se usa en el tratamiento de desordenes de tipo bipolar y depresión y que este actúa incrementando los niveles de serotonina, esto explicaría el por que, los grupos tratados con carbamacepina a diferentes dosis, mostraron un comportamiento similar al de la escopolamina (efecto amnésico), sin embargo estas observaciones requieren de más estudio.

Por último, los resultados que se obtuvieron en el estudio del efecto nootrópico de la administración simultánea de **DP2** y de piracetam con carbamacepina se resumen en la tabla 6.2 y se presentan gráficamente en las Figuras 6.4 y 6.5.

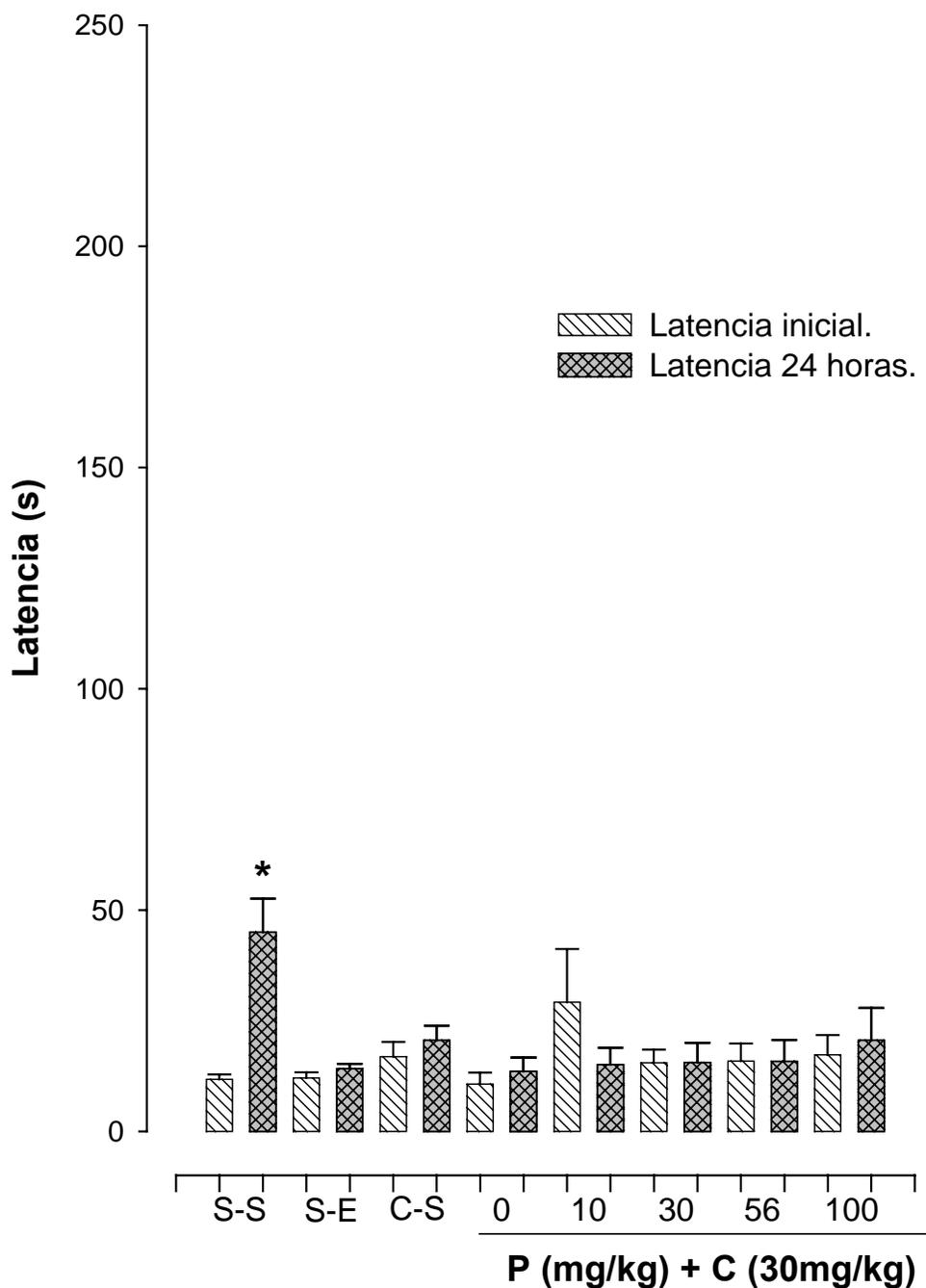
**Cuadro 6.2** Efecto nootrópico de la administración simultánea del **DP2** y el piracetam con la carbamacepina (C) en la prueba de evitación pasiva en ratones, usando escopolamina (Esc) como fármaco inductor de amnesia.

Fármaco (mg/kg)	Tiempo de latencia (s)		
	Inicial	24 horas	Δ Diferencia de latencia (s)
Control SSI-SSI	11.71 ± 1.10	45.03 ± 7.57*	33.32
Control SSI-Esc	12.04 ± 1.25	14.10 ± 1.09	2.06
Control C(30)-SSI	16.87 ± 3.30	20.56 ± 3.30	3.69
DP2 (0)+C (30)	15.29 ± 2.35	17.07 ± 5.15	1.78
DP2 (0.1)+C (30)	20.35 ± 4.67	15.29 ± 2.64	-5.06
DP2 (0.3)+C (30)	14.60 ± 4.45	10.89 ± 1.97	-3.71
DP2 (1.0)+C (30)	15.16 ± 4.03	15.30 ± 3.03	0.14
DP2 (10)+C (30)	8.07 ± 1.07	10.70 ± 2.10	2.63
Piracetam (0)+C (30)	10.66 ± 2.66	13.53 ± 3.13	2.87
Piracetam (10)+C (30)	29.19 ± 12.00	15.04 ± 3.83	-14.15
Piracetam (30)+C (30)	15.46 ± 3.00	15.54 ± 4.44	0.08
Piracetam (56)+C (30)	15.86 ± 3.96	15.78 ± 4.84	-0.08
Piracetam (100)+C (30)	17.28 ± 4.46	20.57 ± 7.30	3.29

\*  $P < 0.05$  con respecto a los ratones tratados con escopolamina. SSI = Solución salina isotónica.



**Figura 6.4** Efecto nootrópico de la administración simultánea del DP2 y la carbamacepina. **S** = Solución salina isotónica, **E** = Escopolamina, **C** = Carbamacepina (30 mg/kg). Cada barra representa el valor de la media  $\pm$  EEM de 10 repeticiones. \* $p < 0.05$ , respecto al grupo tratado con escopolamina.



**Figura 6.5** Efecto nootrópico de la administración simultánea del piracetam y la carbamacepina. **S** = Solución salina isotónica, **E** = Escopolamina, **C** = Carbamacepina (30 mg/kg). Cada barra representa el valor de la media  $\pm$  EEM de 10 repeticiones. \* $p < 0.05$ , respecto al grupo tratado con escopolamina.

En esta tabla se observa que además del los controles de solución salina y de escopolamina, se incluyó un grupo control de carbamacepina (30 mg/kg)-salina, en donde la administración de la carbamacepina se llevo a cabo como compuesto a evaluar y la solución salina se aplicó como vehículo de la escopolamina, en este grupo control no se observó diferencia significativa ( $p < 0.05$ ), en el periodo de latencia inicial y el determinado a las 24 horas, siendo su comportamiento similar al observado en el control de escopolamina. Por otra parte, al administrarse simultáneamente el **DP2**-carbamacepina (Figura 6.4) y piracetam-carbamacepina (Figura 6.5), no se observaron cambios estadísticamente significativos en el periodo de latencias entre la inicial y a las 24 horas, tampoco respecto al control de escopolamina observándose la anulación del efecto nootrópico en ambos compuestos.

La anulación del efecto nootrópico del **DP2** del y piracetam, se debió posiblemente a la acción de la carbamacepina, ya que se ha observado que fármacos de tipo nootrópo como el oxiracetam no revierten el deterioro de la evitación adquirida inducido por antidepresores de tipo tricíclico (Sansone *et al.*, 1995). Pavone y colaboradores (1997) concuerdan con otros estudios previos, que los antidepresores tricíclicos deterioran la adquisición en la evitación activa y que suprime la respuesta de evitación en animales bien entrenados. En el supuesto caso que la carbamacepina actuara de forma parecida a estos antidepresores por su parecido estructural (Florez, 1994), entonces se explicaría la anulación del efecto nootrópico, ya que estos compuestos actúan como antagonistas colinérgicos (Baldessarini, 1993), y al interactuar con la escopolamina (antagonista

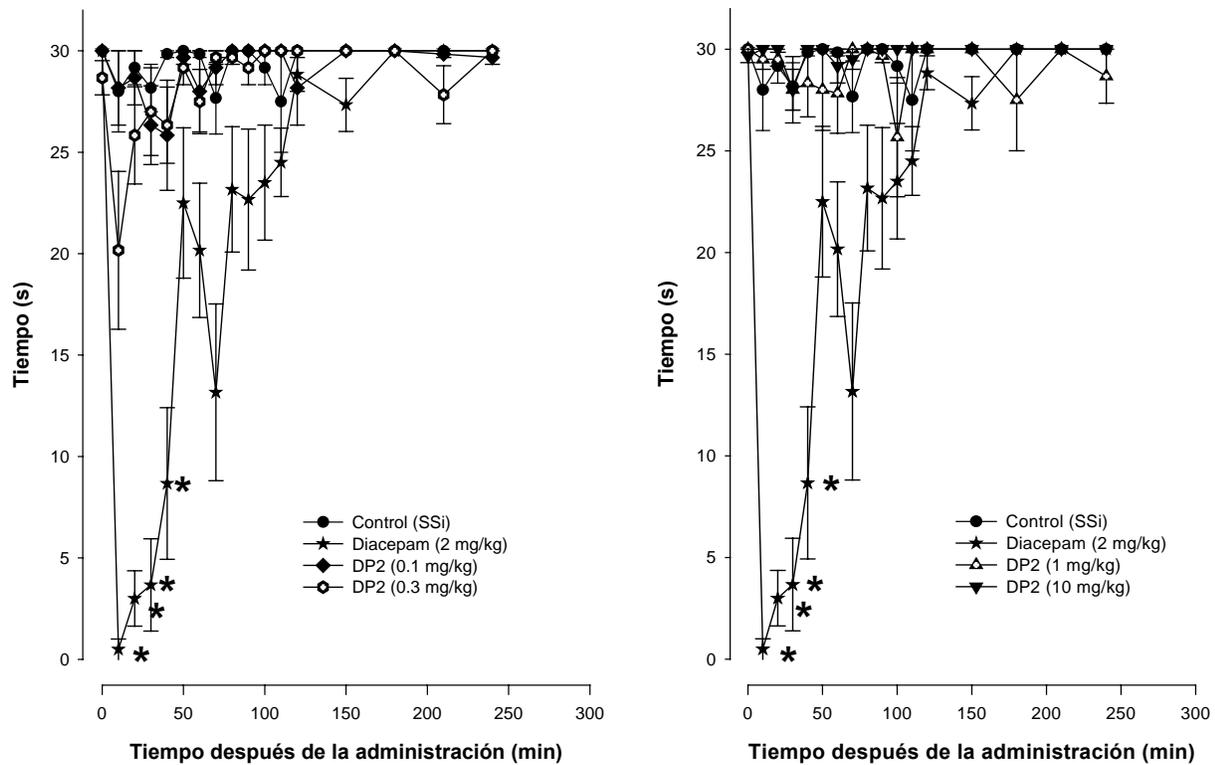
colinérgico) que deteriora el aprendizaje y la memoria (Kang et al., 2003) pudo haber potenciado los efectos de esta última.

Por lo anterior, en este estudio se logró obtener un compuesto sintético mas potente y eficaz que el piracetam, en cuanto a la evaluación de la administración simultanea con la carbamacepina no se presentó el incremento en el efecto nootrópico del **DP2** ni del piracetam pero si se observo su anulación.

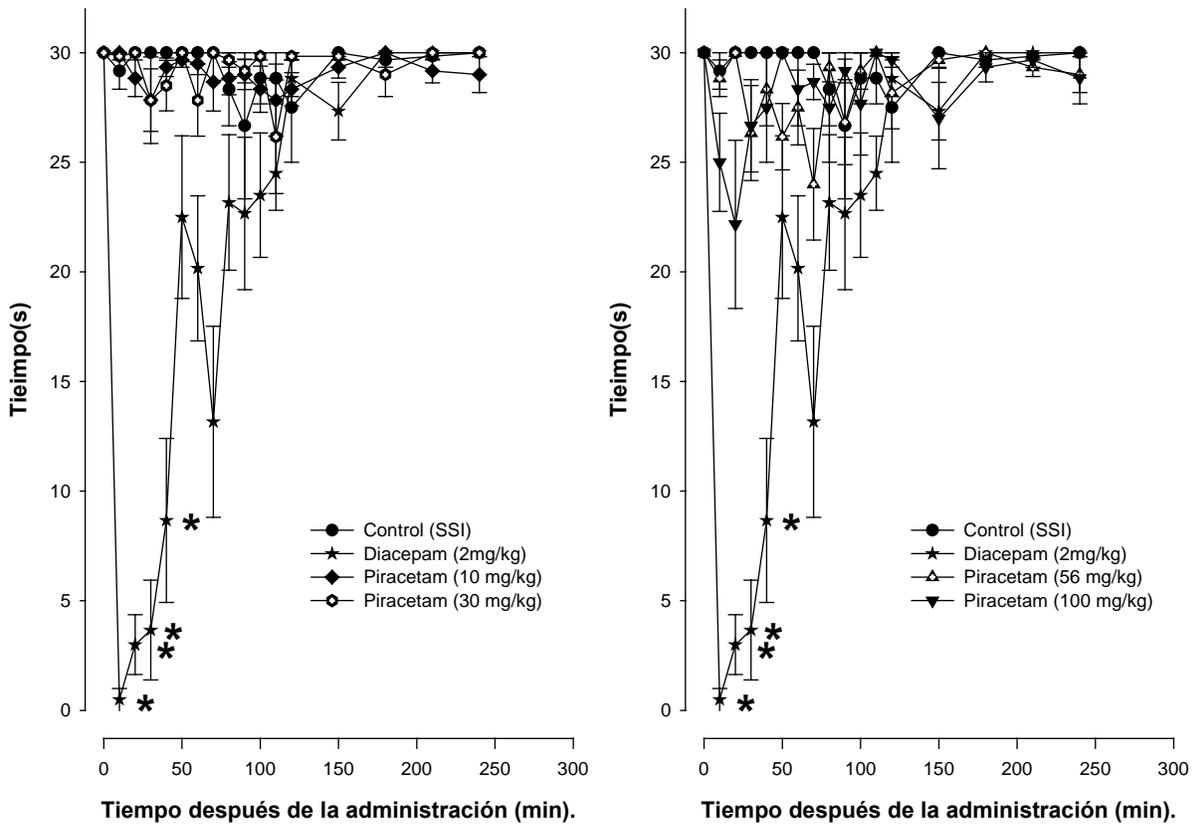
### **6.2.2. Perfil Neurofarmacológico**

Para la evaluación del perfil neurofarmacológico del **DP2**, piracetam y carbamacepina, se realizaron las pruebas de la barra elevada para medir el efecto de la actividad miorelajante, la prueba de rotarod para medir el efecto sobre la coordinación motora, el modelo del cilindro de exploración para evaluar el efecto sedante y por último el efecto anticonvulsivante por medio del modelo de inducción de convulsiones por PTZ.

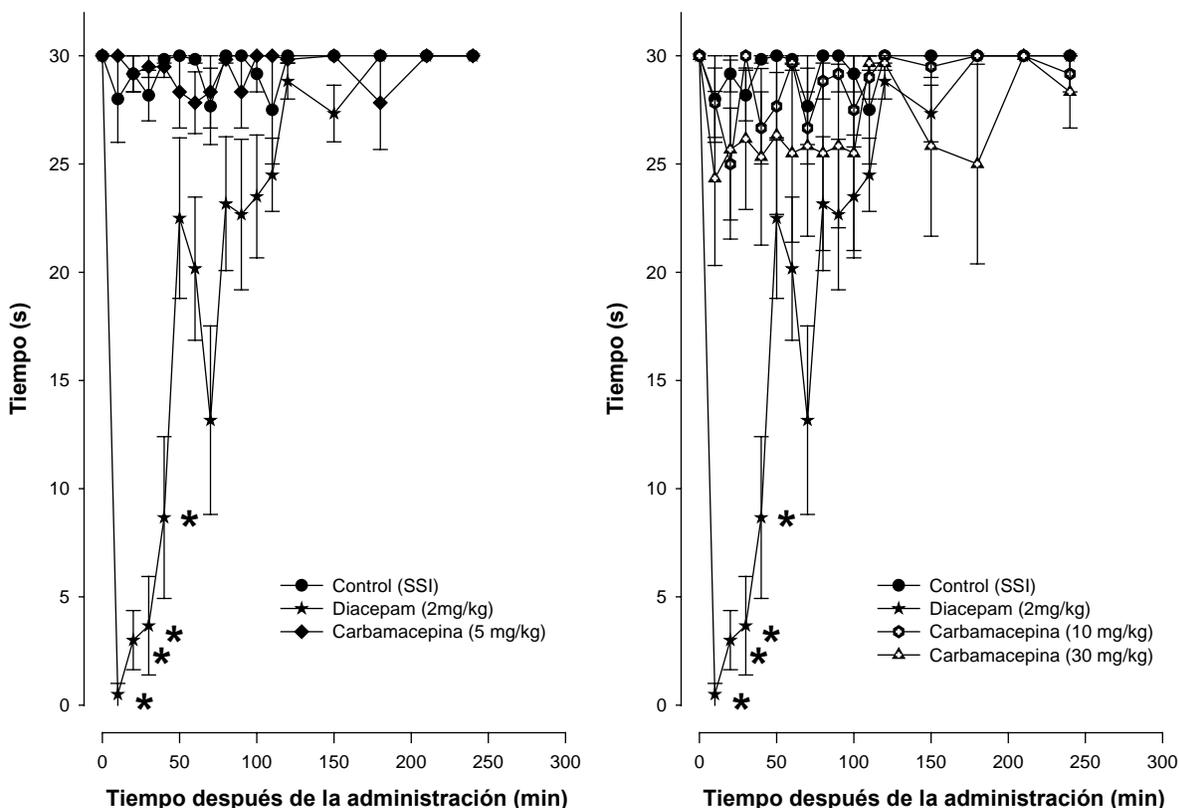
La Figura 6.6, muestra los resultados obtenidos en la evaluación de la relajación muscular en la prueba de tracción para el **DP2** (0.1-10 mg/kg). En la gráfica se observo que hay una ligera disminución en el tiempo que duran los animales sujetos a la barra en la dosis de 0.3 mg/kg, sin embargo, esta diferencia no es significativa con respecto al grupo control tratado con solución salina. Con el diacepam a la dosis de 2 mg/kg (control positivo), mostró cambios significativos ( $p < 0.05$ ), respecto al grupo tratado con solución salina, durante los primeros cuarenta minutos. El **DP2** a las dosis evaluadas, no tuvo efecto miorelajante, situación similar se pueden apreciar en los resultados obtenidos para el piracetam y la carbamacepina en esta prueba (Figura 6.7 y 6.8).



**Figura 6.6** Efecto de la actividad miorelajante del **DP2**. Cada punto representa el valor de la media  $\pm$  EEM de seis repeticiones. \* $p < 0.05$ , respecto al grupo tratado con solución salina.

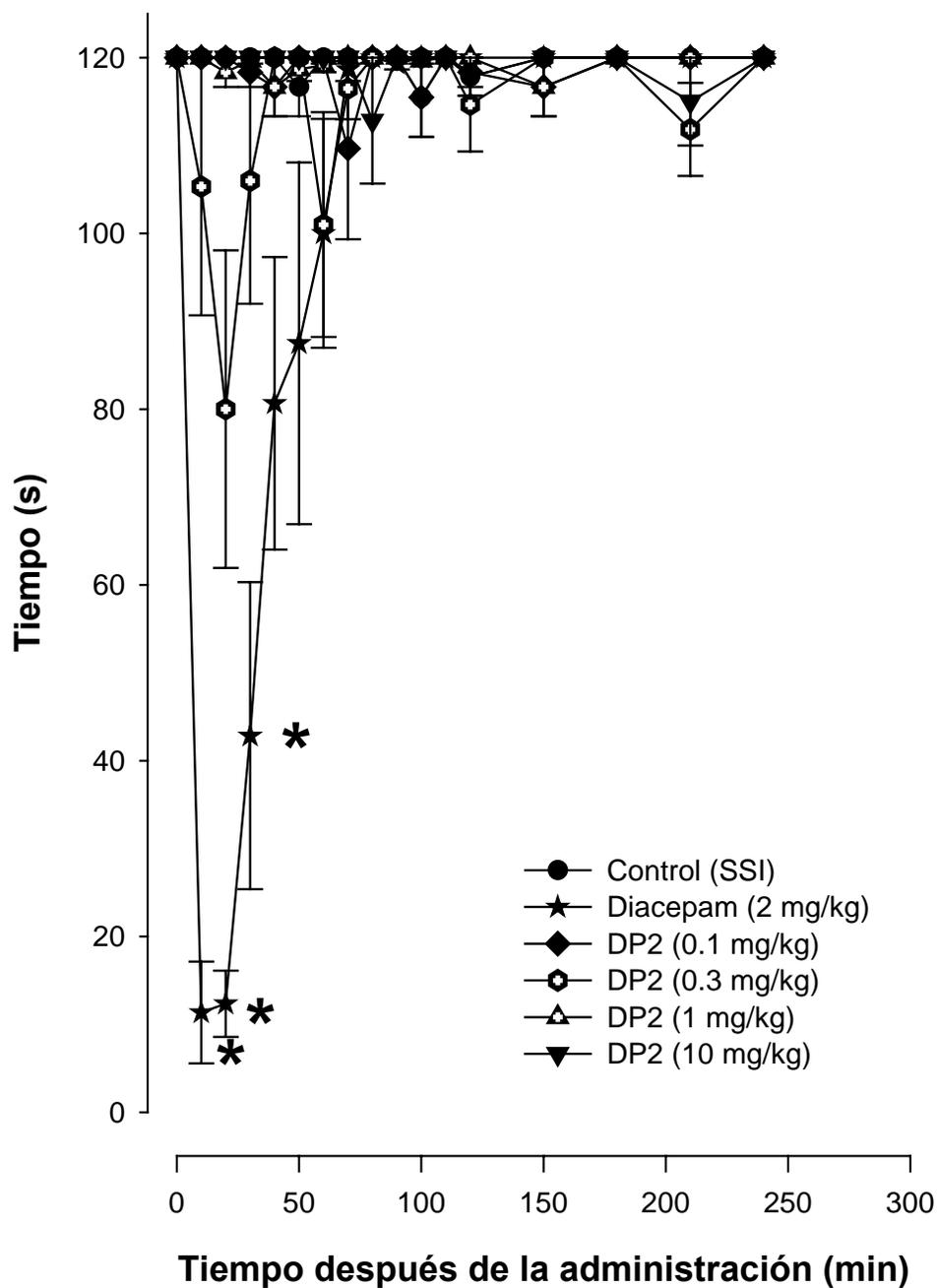


**Figura 6.7** Efecto de la actividad miorelajante del piracetam. Cada punto representa el valor de la media  $\pm$  EEM de seis repeticiones. \* $p < 0.05$ , respecto al grupo tratado con solución salina.

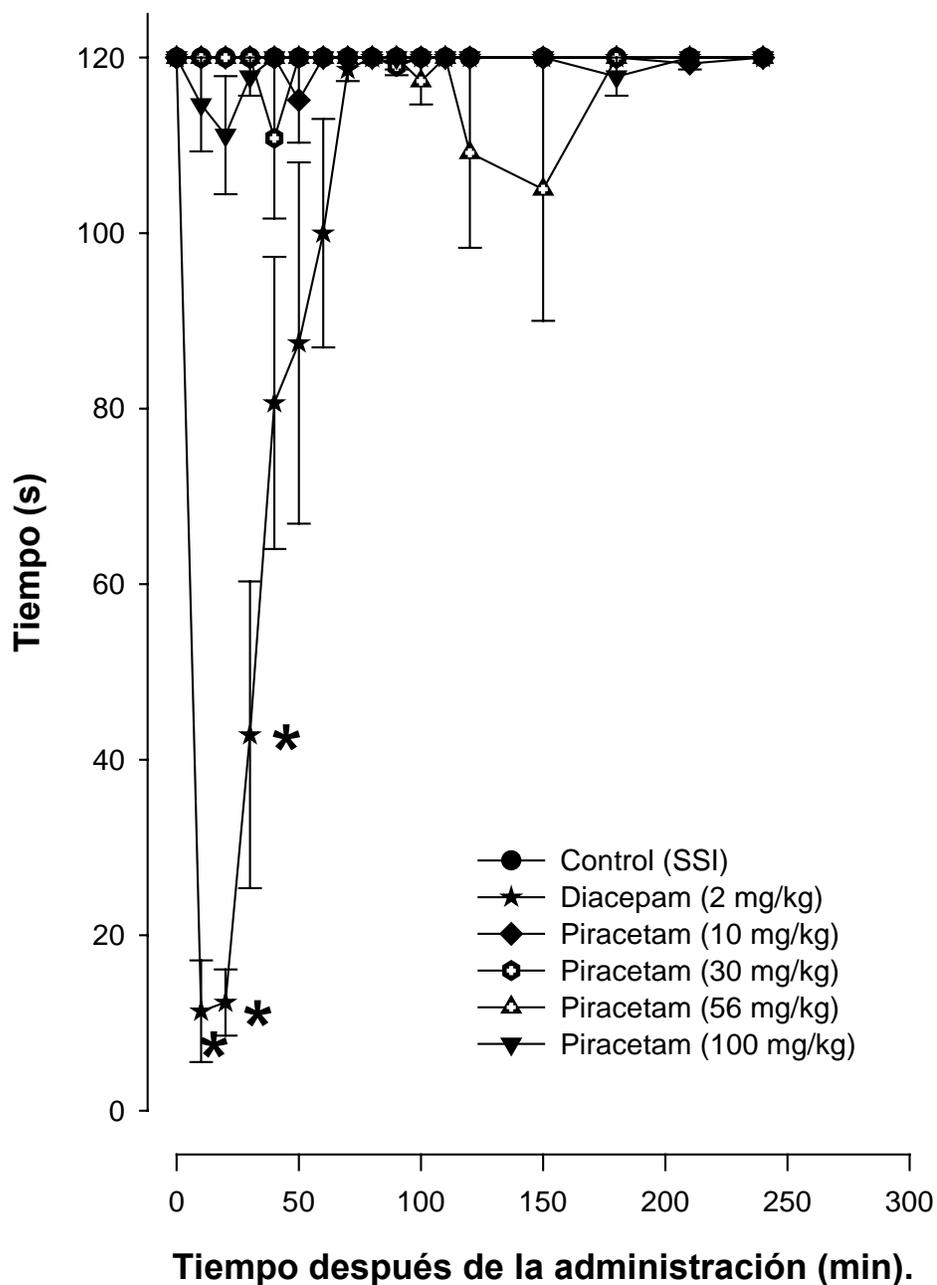


**Figura 6.8** Efecto de la actividad miorelajante de la carbamacepina. Cada punto representa el valor de la media  $\pm$  EEM de seis repeticiones. \* $p < 0.05$ , respecto al grupo tratado con solución salina.

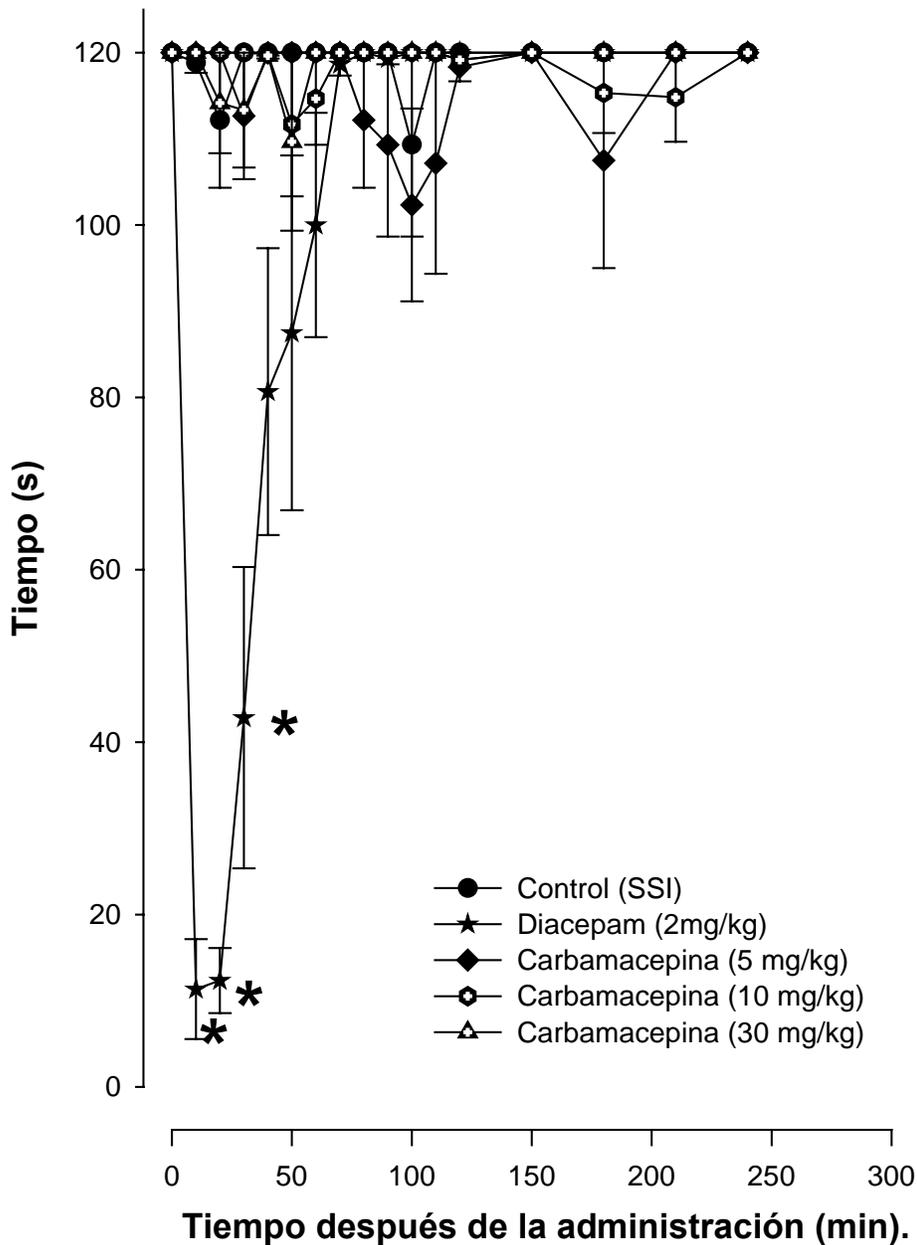
Las figuras 6.9, 6.10 y 6.11, muestran los resultados obtenidos en la prueba de rotarod, para el **DP2**, el piracetam y la carbamacepina, en estas no se observaron diferencias significativas durante el tiempo transcurrido de prueba, respecto al grupo control tratado con solución salina mientras que el diazepam si tuvo efecto sobre la coordinación motora ya que hubo una disminución en el tiempo en que permanecieron los ratones caminando sobre el rotarod, observándose diferencia significativa ( $p < 0.05$ ), durante los primeros 30 minutos.



**Figura 6.9** Efecto de la coordinación motora del DP2. Cada punto representa el valor de la media  $\pm$  EEM de seis repeticiones. \* $p < 0.05$ , respecto al grupo tratado con solución salina.

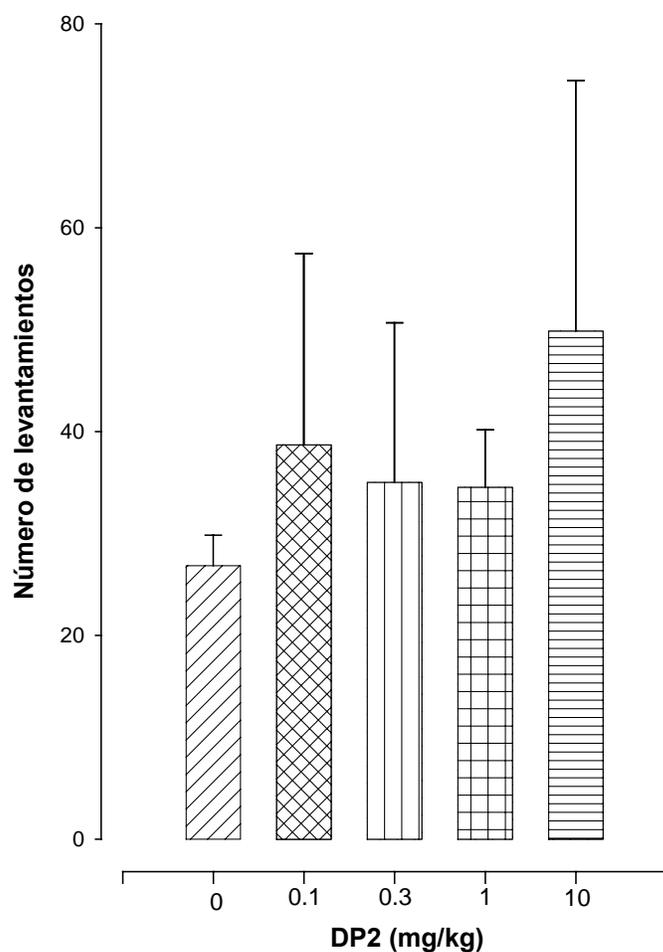


**Figura 6.10** Efecto de la coordinación motora del Piracetam. Cada punto representa el valor de la media  $\pm$  EEM de seis repeticiones. \* $p < 0.05$ , respecto al grupo tratado con solución salina.

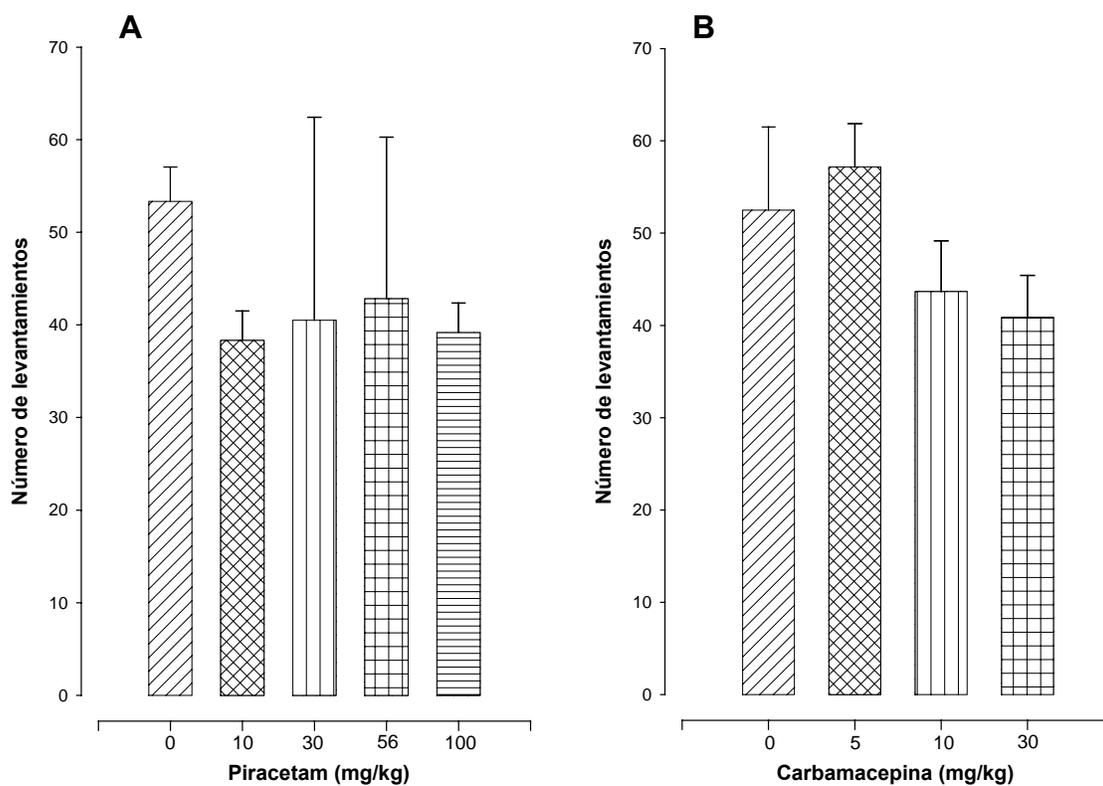


**Figura 6.11** Efecto de la coordinación motora de la carbamacepina. Cada punto representa el valor de la media  $\pm$  EEM de seis repeticiones. \* $p < 0.05$ , respecto al grupo tratado con solución salina.

Los resultados en la prueba del cilindro de exploración, para el **DP2**, el piracetam y la carbamacepina se muestran en las Figuras 6.12 y 6.13. Los tres compuestos a las dosis evaluadas, no presentaron disminución en el número de levantamientos respecto al grupo control de solución salina, lo cual indica que los compuestos a esas dosis no presentaron efecto sedante.

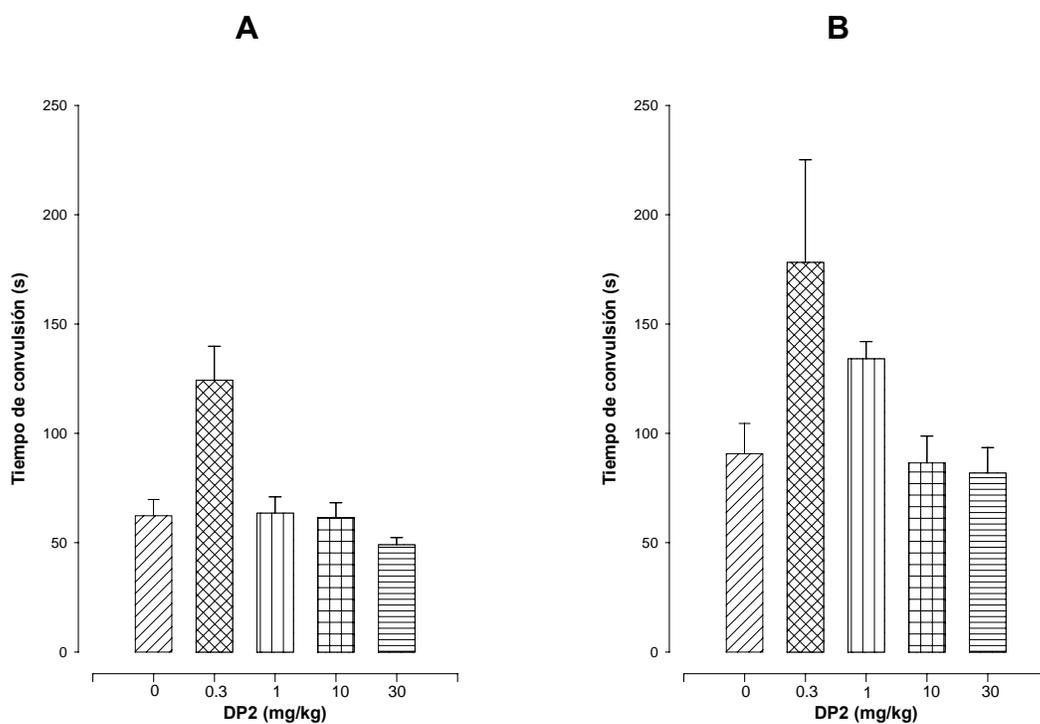


**Figura 6.12** Efecto sedante del **DP2**. Cada barra representa el valor de la media  $\pm$  EEM de ocho repeticiones.

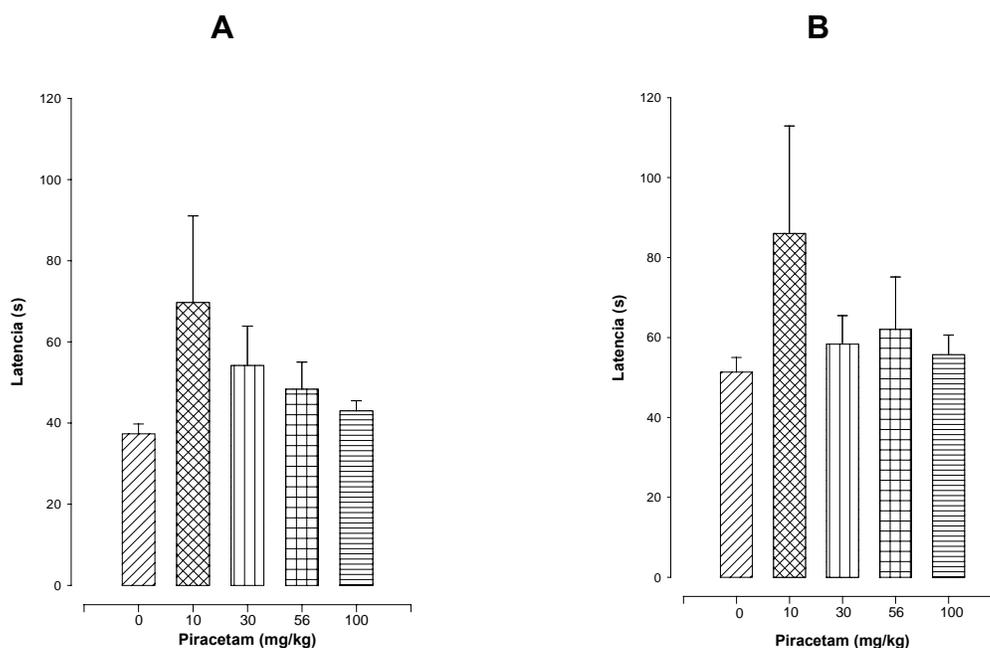


**Figura 6.13** Efecto sedante. **A** piracetam, **B** carbamacepina. Cada barra representa el valor de la media  $\pm$  EEM de ocho repeticiones.

Por último se evaluó el efecto anticonvulsivante del **DP2** y el piracetam. Las Figuras 6.14 y 6.15, muestran que no existe diferencia significativa entre los grupos tratados con los compuestos respecto al grupo control, por lo que no tuvo efecto protector en contra de las convulsiones inducidas por el PTZ.



**Figura 6.14** Efecto anticonvulsivante del **DP2**, **A** tónico, **B** clónico. Cada barra representa el valor de la media  $\pm$  EEM de ocho repeticiones.



**Figura 6.15** Efecto anticonvulsivante del piracetam, **A** tónico, **B** clónico. Cada barra representa el valor de la media  $\pm$  EEM de ocho repeticiones.

La carbamacepina no se evaluó en esta prueba, debido a que existe evidencia suficiente que reporta que la carbamacepina no protege de las convulsiones inducidas en este modelo (Löscher, 1998; Deckers *et al.*, 2000).

## **7. CONCLUSIONES**

De este trabajo se desprenden las siguientes conclusiones:

1. El compuesto sintetizado (±)-2-(1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)propanamida [**DP2**], presentó mayor efecto nootrópico que el piracetam.
2. La carbamacepina no presentó efecto nootrópico en el modelo usado de Evitación pasiva.
3. El efecto nootrópico del piracetam y el **DP2** fue revertido por la posible interacción entre la carbamacepina y la escopolamina.
4. En la evaluación del perfil neurofarmacológico el piracetam, el **DP2** y la carbamacepina a las dosis evaluadas, no mostraron tener efecto sobre la relajación muscular, coordinación motora y no presentaron efecto sedante. El piracetam y el **DP2**, no inhibieron las convulsiones en el modelo de pentilentetrazol.

Con base en lo anterior, la síntesis del derivado del piracetam **DP2**, pueden ser un fármaco con posible utilidad en el tratamiento de las disfunciones de la memoria, sin embargo se requiere de más estudios en cuanto a la evaluación en otros modelos de memoria que nos permitan tener más información acerca de su actividad. En cuanto al efecto que tuvo la carbamacepina y la escopolamina sobre la actividad nootrópica del **DP2** y del piracetam se sugiere que se realice el experimento usando a la carbamacepina como fármaco inductor de amnesia con la finalidad de explorar el efecto que tiene sobre estos compuestos nootrópicos.

## 8. BIBLIOGRAFÍA

- Artola, A., Singer, W. (1987). Long-term potentiation and NMDA receptors in rat visual cortex. *Nature Lond.* 330: 649-652.
- Altman, H.J., Normile, H.J. (1988). What is the nature of the role of serotonergic nervous system in learning and memory? Prospects for development of an effective treatment strategy for senile dementia. *Neurobiol. Aging.* 9: 627-698.
- Baldessarini, R.J. (1993). Drugs and the treatment of psychiatric disorders. En: A Goodman Gilman, A. Goodman, L.S., Rall, T.W., Nies, A.S., Taylor, P. (Eds.). Goodman's and Gilman's Pharmacological Basis of Therapeutics. Mc.Graw-Hill, Nueva York, pp. 383-435.
- Bailey, C.H., Bartsch, D., Kandel, E.R. (1996). Toward a molecular definition of long-term memory storage. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 93: 13445–13452.
- Barros, M.D., Ramírez, M.R., Dos Reis, E.A., Izquierdo, I. (2004). Participation of hippocampal nicotinic receptors in acquisition, consolidation and retrieval of memory for one trial inhibitory avoidance in rats. *Neurosci.* 126: 651-656.
- Bartus, R.T., Dean, R.L., Beer, B., Lippa, A.S. (1982). The cholinergic hypothesis of geriatric memory dysfunction. *Science.* 217: 408-414.
- Bloom, F.E. (2003). Neurotransmisión y sistema nervioso central. En: Hardman J. y L. Limbird (eds). Goodman y Gilman. Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica. McGraw Hill, México, pp. 319, 322.
- Bulbena, A. (1991). Psicopatología de la memoria: Introducción a la psicopatología y la psiquiatría. Vallejo Ruiloba J. Ed. Salvat, 3ra. Ed., Barcelona, pp.143-163.

- Bures, J., Buresova, O. (1983). Learning and memory in: Bures, Buresova, Houston eds *Thechniques and basic experiments for study of brain and behaviour*. New York: Elsevier, pp.155-156.
- Cacabelos, R., Alvare, X.A. (1991). Histidine descarboxilase inhibition induced by  $\alpha$ -fluoromethylhistidine provokes learning-related hypokinetic activity. *Agents Actions* 33: 131-134.
- Castillo, S., Medina, A.A. (2005). Síntesis de compuestos análogos de piracetam. FES Zaragoza, UNAM. México, D.F.
- Cimadevilla, J. M., Kaminsky, Y., Fenton, A., Bures J. (2000). Passive and active place avoidance as a tool of spatial memory research in rats. *J. Neurosci. Methods*. 102: 155-164.
- Consolo, S., Bianchi, S., Ladinsky, H. (1976). Effect of carbamazepine on cholinergic parameters in rat brain areas. *Neuropharmacology* 15: 633-657.
- Deckers, C.L.P., Czuczwar, S.J., Hekster, Y.A., Keiser, A., Kubova, H., Meinardi, H., Patsalos, P.N., Renier, W.O., Van Rijn, C.M. (2000). Selection of antiepileptic drug polytherapy based on mechanisms of action: The Evidence reviewed. *Epilepsia*. 41(11): 1364-1374.
- DeNoble, V.J., DeNoble, K.F., Spencer, K.R., Johnson, L.C., Cook, L., Myers, M.J., Scribner, M. (1990). Comparison of DuP 996, with physostigmina, THA and 3,4-DAP on hypoxia-induced amnesia in rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 36: 957-961.

- Drago, F., Grassi, M., Valerio, C., Spadaro, F., D’Agata, V., Lauria, N. (1990). Effects of vinburnine on experimental models of learning and memory impairments. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 37: 53-57.
- Du, D., Carlier, P.R. (2004). Development of bivalent acetylcholinesterase inhibitors as potential therapeutic drugs for Alzheimer’s disease. *Curr. Pharm. Desing.* 10: 3141-3156.
- Eidi, M., Zarrindas, M., Eidi, A., Oryan, S., Parivar, K. (2003). Effects of histamine and cholinergic systems on memory retention of passive avoidance learning in rats. *Eur J. Pharmacol.* 465: 91-96.
- El-Sherbiny, D. A., Khalifa, A.E., Attia, A. S., Eldenshary, E. S. (2003). Hypericum perforatum extract demonstrates antioxidant properties against elevated rat brain oxidative status induced by amnestic dose of scopolamine. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 76: 525-533.
- Ennaceur, A., Delacour, J. (1987). Effect of combined or separate administration of piracetam and choline on learning and memory in the rat. *Psicopharmacol.* 92: 58-67.
- Everss, E., Arenas, M.C, Vinader-Caerols, C., Monleón, S., Parra, A. (2005). Piracetam counteracts the effects of amitriptyline on inhibitory avoidance in CD1 mice. *Behav. Brain Res.* 159: 235-242.
- Felinska, W., Bien, E. (1991). Central pharmacological effects of long-term application of piracetam in rats. *Pol. J. Pharmacol. Pharm.* 43: 7-13.

- Fischer, W., Kittner, H., Regenthal, R., Russo, E., De Sarro, G. (2004). Effects of piracetam alone and in combination with antiepileptic drugs in rodent seizure models. *J. Neural. Transm.* 111: 1121-1139.
- Fletcher, L. (1997). Memories are made of this: the genetic basis of memory. *Mol. Med.* 7: 429-434.
- Florez, J. (1994). Farmacología Humana. Ediciones Científicas y Técnicas, España, pp. 509-519.
- Fuster, J.M. (1998). Distributed memory for both short and long term. *Neurobiol. Learn Mem.* 70: 268-274.
- Ghelardini, C., Galeotti, N., Gualtieri, F., Romanelli, M.N., Bucherelli, C., Baldi, E., Bartolini, A. (2002). DM235 (Sunifiram): A novel nootropic with potential as a cognitive enhancer. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 365: 419-426.
- Ghoneim, M. (2004). Drugs and human memory (part1). *Anesthes.* 100: 987-1002.
- Gordon, S. (1988). Neurobiology. Oxford University Press, 2a. Edición, USA., pp. 584-610.
- González-Trujano, M. E., Navarrete, A., Reyes, B., Cedillo-Portugal, E., Hong, E. (2001). Anticonvulsant properties and bio-guided isolation of palmitone from leaves of *Annona diversifolia*. *Planta Med.* 67: 136-141.
- Gouliaev, A., Senning, A. (1994). Piracetam and other structurally related nootropic. *Brain Res. Rev.* 19: 180-222.
- Gualtieri, F., Maneti, D., Romanelli, M., Ghelardini, C. (2002). Design and study of piracetam-like nootropics, controversial members of the problematic class of cognition-enhancing drugs. *Curr. Pharm. Des.* 8: 125-138.

- Guyton, A. (1987). *Fisiología Humana*. Nueva Editorial Interamericana, México. pp.205-210.
- Guyton, A. (1994). *Anatomía y Fisiología del Sistema Nervioso Central*. Editorial Médica Panamericana, Argentina. pp. 291-297.
- Heber, L.E., Scherr, P.A., Bienias, J.L., Bennett, D.A., Evans, D.A. (2003). Alzheimer disease in the US population prevalence estimates using the 2000 census. *Arch. Neurol.* 60: 1119–22.
- Hoyer, D., Martin, G.R. (1996). Classification and nomenclature of 5-HT receptors: A comment on current Issues. *Behav. Brain Res.* 73: 263-268.
- Huston, J.P., Wagner, U., Hasenöhrl, R.U. (1997). The tuberomammillary nucleus projections in the control of learning, memory and reinforcement processes: Evidence for an inhibitory role. *Behav. Brain. Res.* 83: 97-105.
- Isaacson, R. (1982). *The limbic system*, Plenum, New York, pp. 327.
- Izquierdo, I., Medina, J.H, Vianna, M.R.M., Izquierdo, L.A, Barros, D.M. (1999). Separate mechanisms for short- and long- term memory. *Behav. Brain Res.* 103: 1-11.
- Izquierdo, I., Medina J.H. (1997). Memory formation: The sequence of biochemical events in The hippocampus y its connection to activity in other Brain structures. *Neurobiol. Learn. Mem.* 68: 285-316.
- Kamei, C., (1990). Influence of Certain H<sub>1</sub>-blockers on the step-through active avoidance response in rats. *Psychopharmacol.* 102: 312-318.

- Kamei, C., Tasaka, K. (1991). Participation of histamine in the step-through active avoidance response and its inhibition by H<sub>1</sub>-blockers. *Jpn. J. Pharmacol.* 57: 473-482.
- Kang, S.Y., Lee, K.Y., Park, M.J., Kim, Y.C., Markelonis, G.J., Oh, T.H., Kim, Y.C. (2003). Decursing from *Angelica gigas* mitigates amnesia induced by scopolamine in mice. *Neurobiol. Learn. Mem.* 79: 11-18.
- Klapdor, K., Hasenöhrl, R.U., Huston, J.P. (1994). Facilitation of learning in adult and aged rats following bilateral lesions of the tuberomammillary nucleus region. *Behav. Brain. Res.* 61: 113-116.
- Kotsias, B.A. (2002). Scopolamine and the murder of king Hamlet. *Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg.* 128: 847-849.
- Le, M., Noguès X. (2000). Cognitive neuropharmacology: New perspectives for the pharmacology of cognition. *Pharmacol. Res.* 41: 503-514.
- Levey, A.I. (1996). Muscarinic Acetylcholine receptor expression in memory circuits: Implications for treatment of Alzheimer disease. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 93: 13541-13546.
- Lishman, W. (1992). Symptoms and syndromes with regional affiliations: Organic Psychiatry. *The Psychological consequences of cerebral disorder*. Ed. Blackwell S.P, 2da. Ed., Oxford, pp 26-36.
- Lleó, A., Greenberg, S.M., Growdon, J.H. (2006). Current pharmacotherapy for Alzheimer's disease. *Annu. Rev. Med.* 57: 513-533.
- Löscher, W. (1998). New vision on the pharmacology of anticonvulsion. *Eur. J. Pharmacol.* 342: 1-13.

- Mainberg-Aiello, P., Ipponi, A., Bartolini, A., Schunack, W. (2000). Antiamnesic effect of metopine and of selective histamine H<sub>1</sub> receptor agonists in a modified mouse passive avoidance test. *Neurosci. Lett.* 288: 1-4.
- Manetti, D., Ghelardini, C., Bartolini, A., Belluci, C., Dei, S., Galeotti, N., Gualtieri, F., Romanelli, M., Scapecchi, S., Teodori, E. (2000). Design, synthesis and preliminary pharmacological evaluation of 1,4-Diazabicyclo[4,3,0]nonan-9-ones as a new class of highly potent nootropic agents. *J. Med. Chem.* 43: 1969-1974.
- Manetti, D., Ghelardini, C., Bartolini, A., Dei, S., Galeotti, N., Gualtieri, F., Romanelli, M.N., Teodori, E. (2000). Molecular simplification of 1,4-Diazabicyclo[4,3,0]nonan-9-ones gives piperazine derivatives that maintain high nootropic activity. *J. Med. Chem.* 43: 4499-4505.
- McGaugh, J.L. (1966). Time-dependent processes in memory storage. *Science* 153: 1351-1359.
- Meneses, A. (1999). 5-HT system and cognition. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 23: 1111-1125.
- Meneses, A., Terrón, J.A., Hong, E. (1997). Effects of the 5-HT receptor antagonists GR127935 (5-HT<sub>1B/1D</sub>) and MDL100907 (5-HT<sub>2A</sub>) in consolidation of learning. *Behav. Brain Res.* 89: 217-223.
- Misane, I., Ögren, S. O. (2003). Selective 5-HT<sub>1A</sub> antagonists WAY 100635 and NAD-299 attenuate the impairment of passive avoidance caused by scopolamine in the rat. *Neuropsychopharmacol.* 28: 253-264.

- Mondadori, C. (1994). In search of the mechanism of action of the nootropics: New insights and potential clinical implications. *Life Sci.* 55(25-26):2171-2178.
- Mondadori, C., Weiskrantz, L. (1993). NMDA receptor blockers facilitate and impair learning via different mechanisms. *Behav. Neural Biol.* 60: 205-210.
- Mondadori, C., Schmutz, M, Baltzer, V. (1984). Potentiation of anticonvulsant effects of antiepileptic drugs by “nootropics”; a potential new therapeutic approach. *Acta Neurol. Scand.* 69 (Suppl 99): 131-132.
- Morris, R. (1984). Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat. *J. Neurosci.Methods.* 11: 47-60.
- Müller, W.E., Koch, S., Scheuer, K., Rostock, A., Bartsch, R. (1997). Effects of piracetam on membrane fluidity in the aged mouse, rat, and human brain. *Biochem. Pharmacol.* 53: 135-140.
- Mutschler E. (1995). Drug action. Basic Principles and therapeutic aspects; Medpharm Scientific publisher Stuttgart, Germany, pp. 141-246, 248, 580.
- Naftalin, R.J., Cunningham, P., Afzal-Ahmed, I. (2004). Piracetam and TRH analogues antagonise inhibition by barbiturates, diazepam, melatonin and galanin of Human erythrocyte D-glucose transport. *British J. Pharmacol.* 142: 594–608.
- Okada, M., Hirano, T., Mizuno, K., Kawata, Y., Wada, K., Murakami, T., Tasaki, H., Kaneko, S. (1998). Effects of carbamazepine on hippocampal serotonergic system. *Epilepsy Res.* 31: 187-198.
- Oliva, I., González-Trujano, E., Arrieta, J., Enciso-Rodríguez, Navarrete, A. (2004). Neuropharmacological profile of hydroalcohol extract of *Valeriana edulis* ssp. Procera roots in mice. *Phytother. Res.* 18: 290-296.

- Parada-Turska, J., Turski, W.A. (1990). Excitatory amino acid antagonists and memory: Effect of drug acting at N-methyl-D-aspartate in learning and memory tasks. *Neuropharmacol.* 29(12): 1111-1116.
- Pavone, F., Battaglia, M., Sansone, M. (1997). Prevention of amitriptyline-induced avoidance impairment by tacrine in mice. *Behav. Brain Res.* 89: 229-236.
- Picciotto, M.R., Caldarone, B.J., King, S.L. (2000). Nicotinic receptors in the brain: Links between molecular biology and behavior. *Neuropsychopharmacol.* 22: 451-465.
- Pinza, M., Farina, C., Cerri, A., Pfeiffer, U., Riccaboni, M.T., Banfi, S., Biagetti, R., Pozzi, O., Magnani, M., Dorigotti, L. (1993). Synthesis and pharmacological activity of a series of Dihidro-1H-pyrrolo [1,2a]imidazole-2,5(3H,6H)-diones, a novel class of potent cognition enhancers. *J. Med. Chem.* 36: 4214-4220.
- Prathiba, J., Karanth, D. (1996). Effects of isolation-rearing of cholinergic receptor sensitivity and passive avoidance behavior in adults rats. *J. Pharmacol.* 28: 261-264.
- Recanatini, M., Valenti, P. (2004). Acetylcholinesterase inhibitors as a starting point towardas improved Alzheimer's disease therapeutics. *Curr. Pharm. Desing*, 10: 3157-3166.
- Reyes, A. (1999). Uso de la (S)-a-Metilbencilamida y derivados estructuralmente relacionados en proceso para la obtención de compuestos enantiopuros. IPN. México, D.F.
- Reyes, A., Regla I., Fragoso, M.C., Vallejo, L.A., Demare, P., Jiménez-Vásquez, H.A., Ramírez, Y., Juaristi, E., Tamariz, J. (1999). Stereoselective tandem Michael-intramolecular cyclization approach to functionalized pyrroloisoindoles. *Tetrahedron.* 55: 11187-11202.

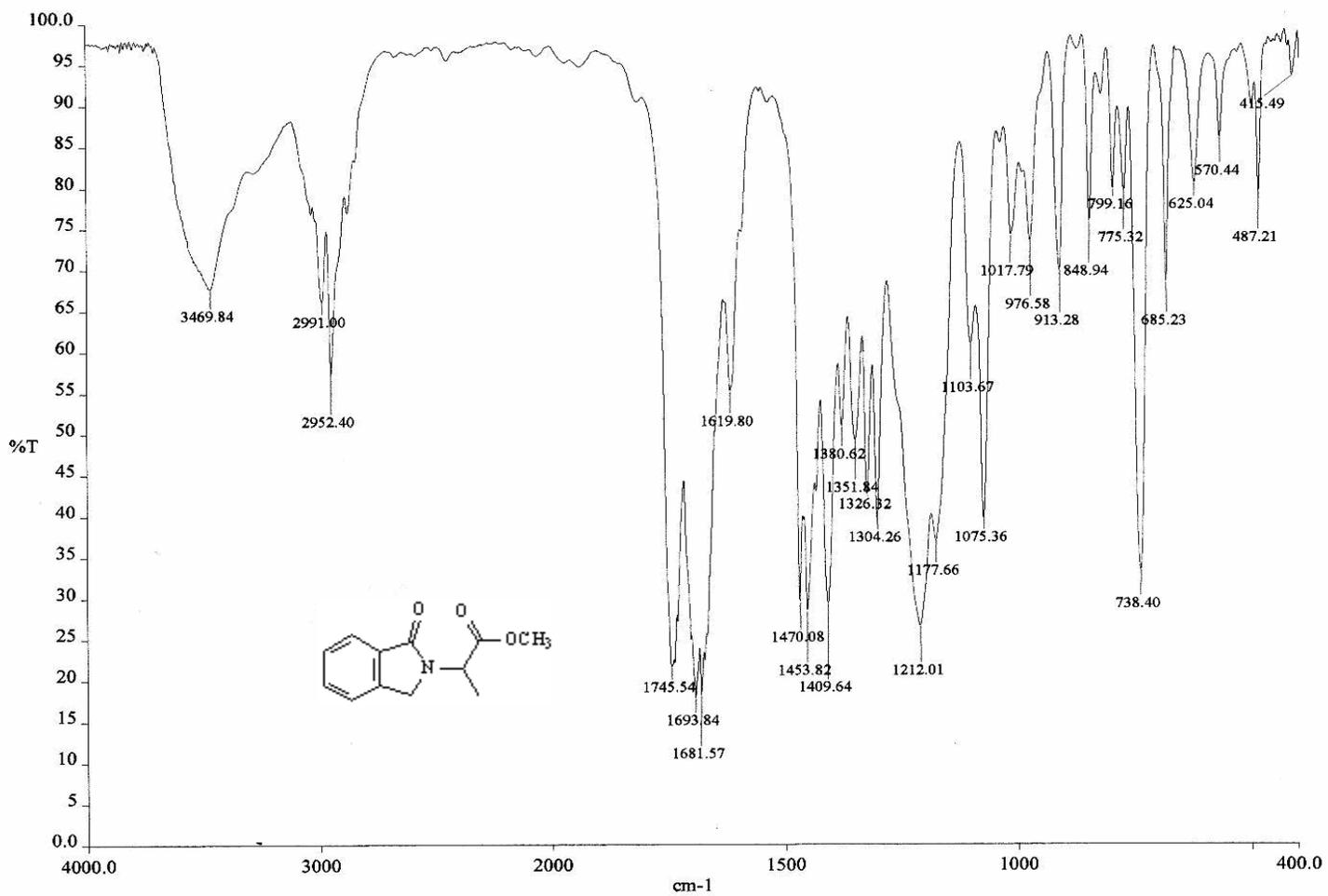
- Rostock, A., Siegmund, C. (1993). Antiepileptic drugs and cognitive functions: Investigations in rats. *Epilepsia*. 34(suppl. 2): 51.
- Ruchkin, D.S., Grafman, J., Cameron, K., Berndt, R.S. (2003). Working memory. Retention systems: A state of activated long-term memory. *Behav. Brain Sci.* 26: 709-777.
- Salmon, E., Van der Linden, M., Collette, F., Delfiore, G., Maquet, P., Degueldre, C., Luxen, A., Franck, G. (1996). Regional activity during working memory tasks. *Brain*. 119: 1617-25.
- Sansone, M., Battaglia, M., Vetulani, J. (1995). Minaprina, but not oxirecetam, prevents desipramine-induced impairment of avoidance learning in mice. *Pol. J. Pharmacol.* 47: 69-73.
- Squire, L.R. (1992). Memory and the hippocampus: a synthesis of findings with rats, monkeys and humans. *Psychol. Rev.* 99: 195-221.
- Stephens, D.N., Meldrum, B.S., Weidmann, R., Schneider, C., Grützner, M. (1986). Does the excitatory amino acid receptor antagonist 2-APH exhibit anxiolytic activity? *Psychopharmacol.* 90: 166-169
- Sudha, S., Lakshmana, M.K., Pradhan, N. (1995). Changes in learning and memory, acetylcholinesterase activity and monoamines in brain after chronic carbamazepine administration in rats. *Epilepsia*. 36(4): 416-422.
- Tortiglione, A., Minale, M., Pignataro, G., Amoroso, S., DiRenzo, G., Annunziato, L. (2002). The 2-oxopyrrolidinacetamide piracetam reduces infarct brain volume induced by permanent middle cerebral artery occlusion in male rats. *Neuropharmacol.* 43: 427-433.

- Tresguerres, J. (1999). Fisiología Humana. Mc. Graw Hill-Interamericana, España. pp.219-224.
- Ugalde, M., Reza, V., Gonzalez-Trujano, M.E., Avula, B., Khan, I.A., Navarrete, A. (2005). Isobolographic análisis of the sedative interaction between six central nervous system depressant drugs and *Valeriana edulis* hidroalcoholic extract in mice. *J. Pharm. Pharmacol.* 57(5): 631-639.
- Vázquez, C. (1990). Psicopatología de la memoria en: Fuentenebro F. Y Vázquez C. Psicología médica, Psicopatología y Psiquiatría. Editorial Interamericana, Madrid, pp. 507-535.
- Velasco, A., San Román, L., Serrano, J.S., Martínez, R., Cadavid, M.I. (2003). Farmacología fundamental. Mc Graw-Hill/Interamericana, España, pp. 311-313.
- Verloes, R., Scotto, A., Gobert, J., Wulfert E. (1988). Effects of nootropic drugs in scopolamine-induced amnesia model in mice. *Psychopharmacol.* 95: 226-230.
- Vicens, P., Redolat, R., Carrasco, M.C. (2003). Aprendizaje espacial y laberinto de agua: metodología y aplicaciones. *Psicothema.* 15 (4): 539-544.
- Weisler, R. (2005). Carbamazepine extended-release capsules: A new treatment option for bipolar I disorder. *Expert Rev. Neurotherapeutics.* 5(5): 587-595.
- Wimo, A., Winblad, B., Agüero-Torres, H., von Strauss, E. (2003). The magnitude of dementia occurrence in the world. *Alzheimer Dis. Assoc. Disord.* 17: 63–67.
- Winblad, B. (2005). Piracetam: A review of pharmacological properties and clinical uses. *CNS Drug Rev.* 11(2): 169-182.
- Zola-Morgan, S., Squire, L.R. (1993). Neuroanatomy of memory. *Annu. Rev. Neurosci.* 16: 547-563.

## ABREVIATURAS

<b>AMPA</b>	Ácido $\alpha$ -amino-3-hidroxi-5-metilo-4-isoxiazolpropiónico.
<b>5-HT</b>	5-Hidroxitriptamina, serotonina.
<b>CCF</b>	Cromatografía en capa fina.
<b>DP2</b>	Derivado del piracetam ( $\pm$ )-2-(1-oxo-1,3-dihidro-2 <i>H</i> -isoindol-2-il)propanamida.
<b>EA</b>	Enfermedad de Alzheimer.
<b>EM</b>	Espectrometría de masas.
<b>FDA</b>	Food and Drug Administration.
<b>H</b>	Histamina.
<b>IR</b>	Espectroscopia de Infrarrojo.
<b>MCP</b>	Memoria a corto plazo.
<b>MLP</b>	Memoria a largo plazo.
<b>NMDA</b>	<i>N</i> -metil-D-aspartato.
<b>PTZ</b>	Pentilentetrazol.
<b>RMN</b>	Resonancia Magnética Nuclear.
<b>SNC</b>	Sistema Nervioso Central.

# APÉNDICE



**Figura 1** Espectro de Infrarrojo del compuesto (±)-4

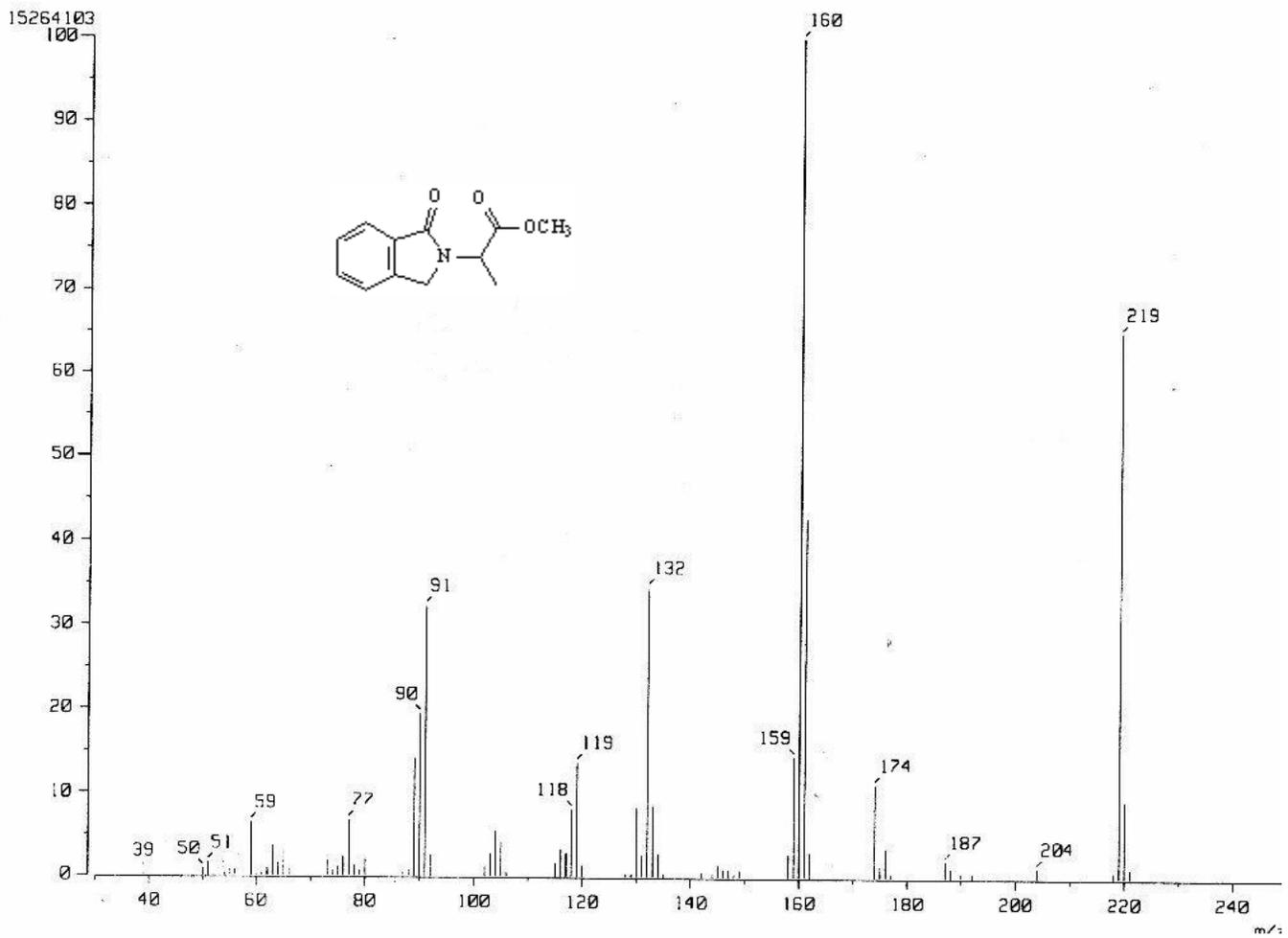


Figura 2 Espectro de Masas del compuesto (±)-4

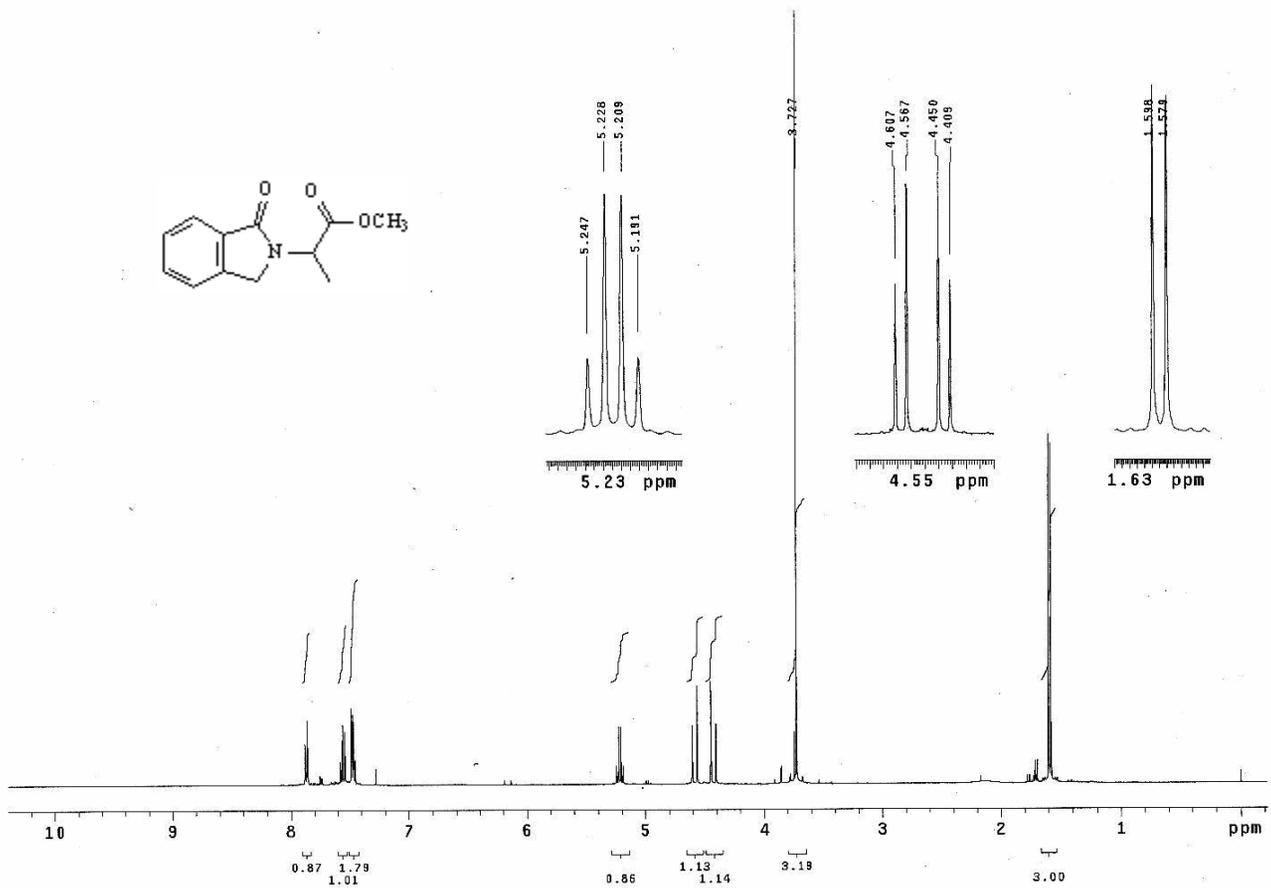


Figura 3 Espectro de RMN <sup>1</sup>H del compuesto (±)-4

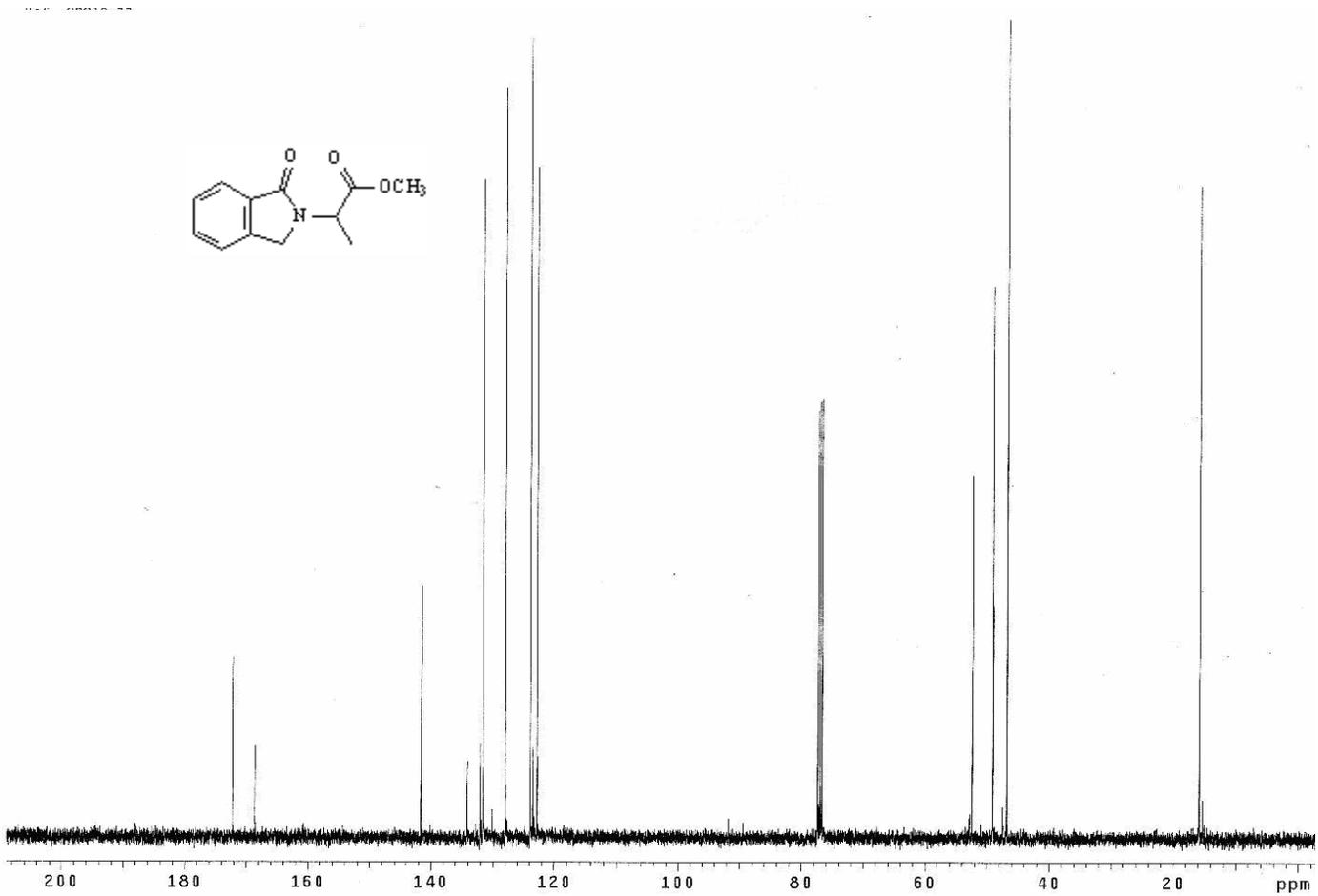


Figura 4 Espectro de RMN <sup>13</sup>C del compuesto (±)-4

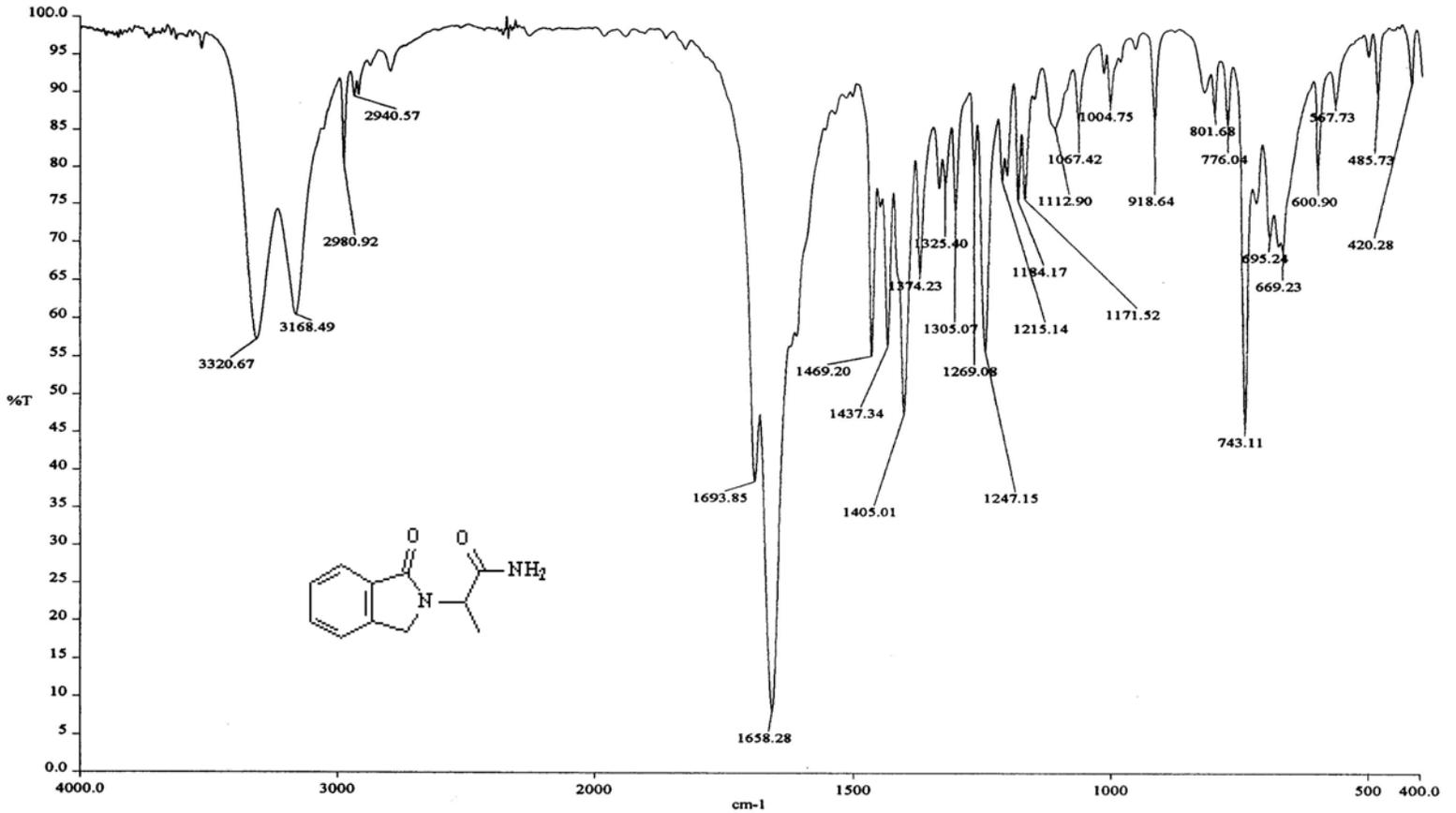


Figura 5 Espectro de Infrarrojo del compuesto DP2

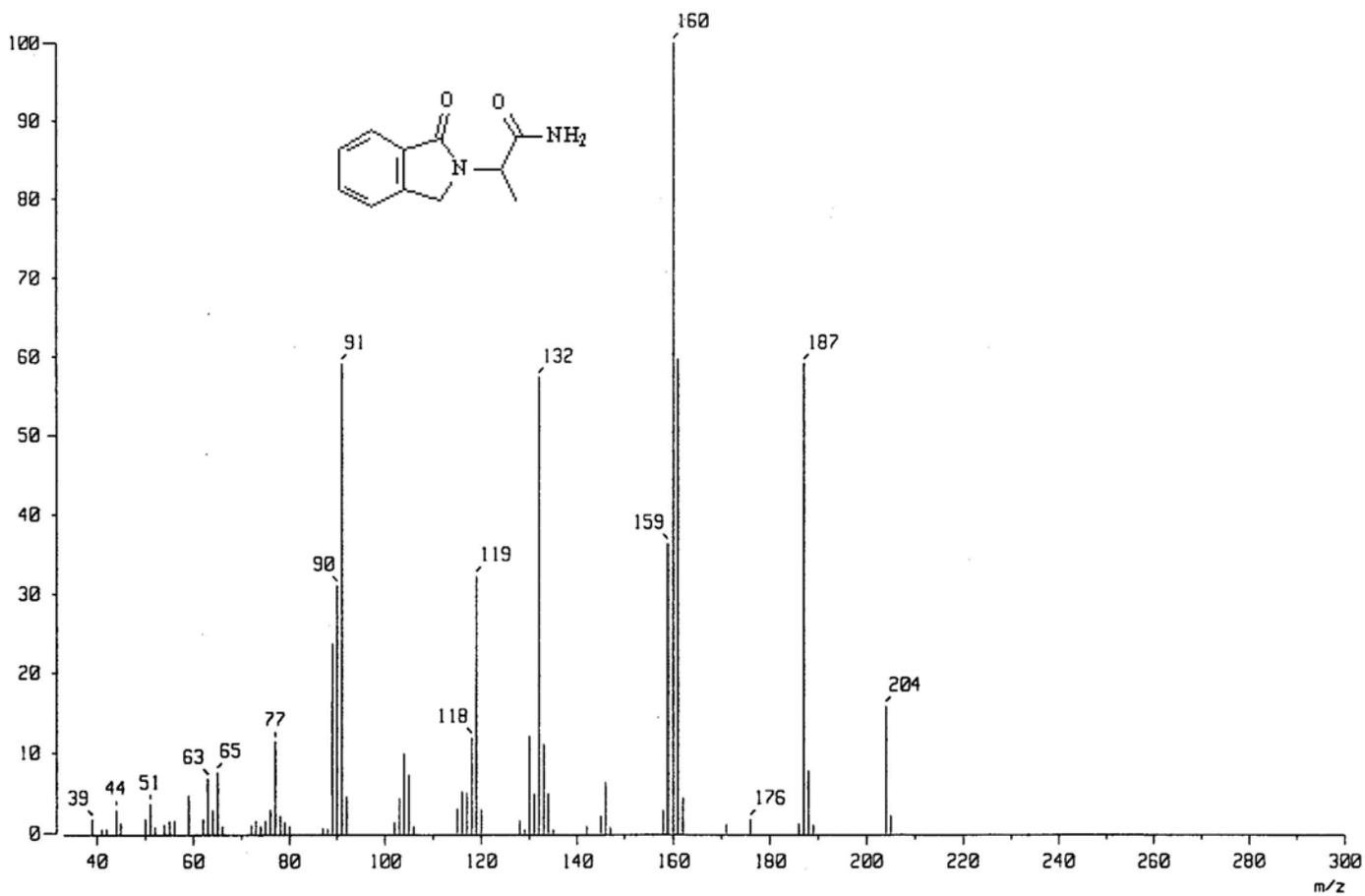


Figura 6 Espectro de Masas del compuesto DP2

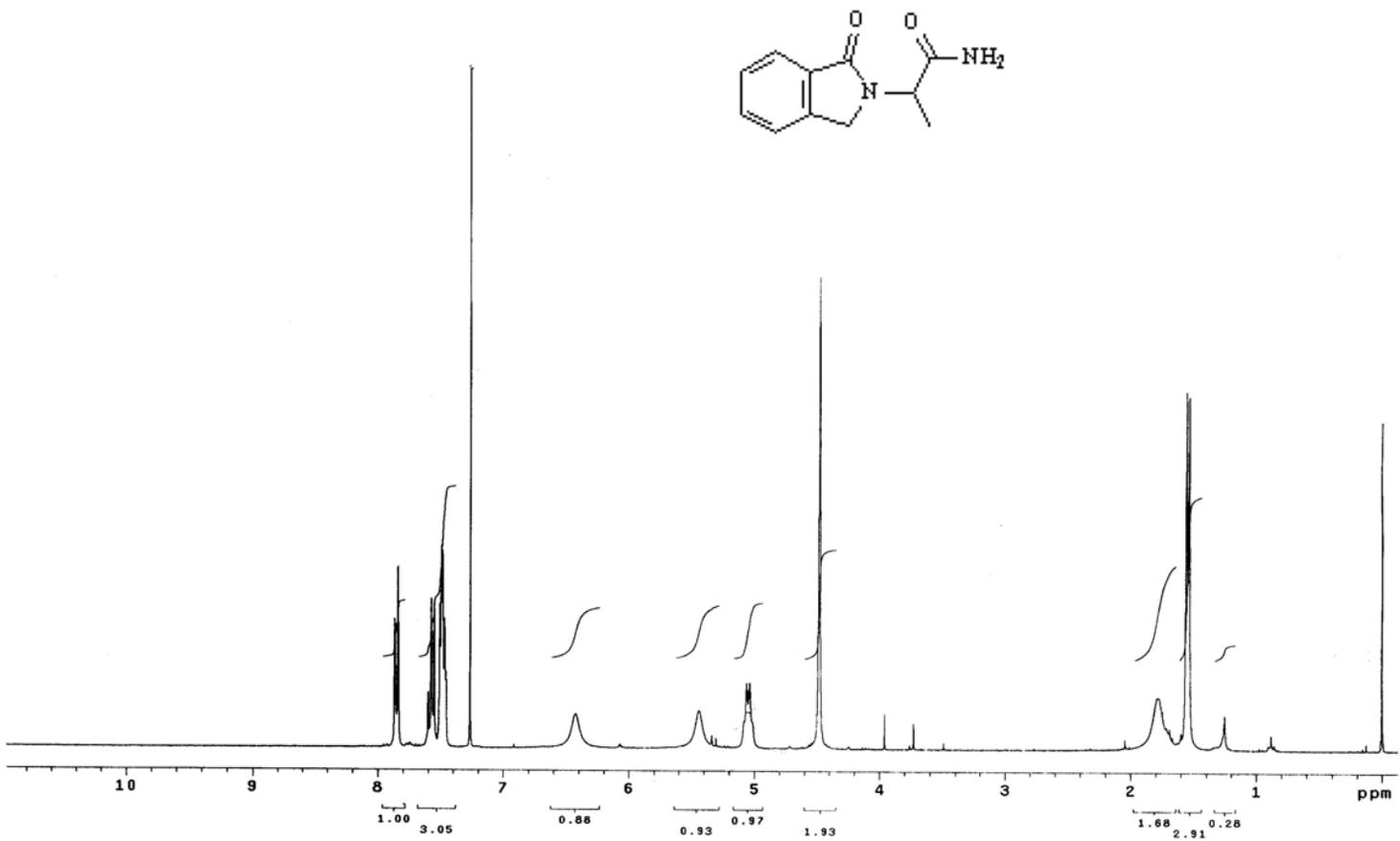


Figura 7 Espectro de RMN <sup>1</sup>H del compuesto DP2

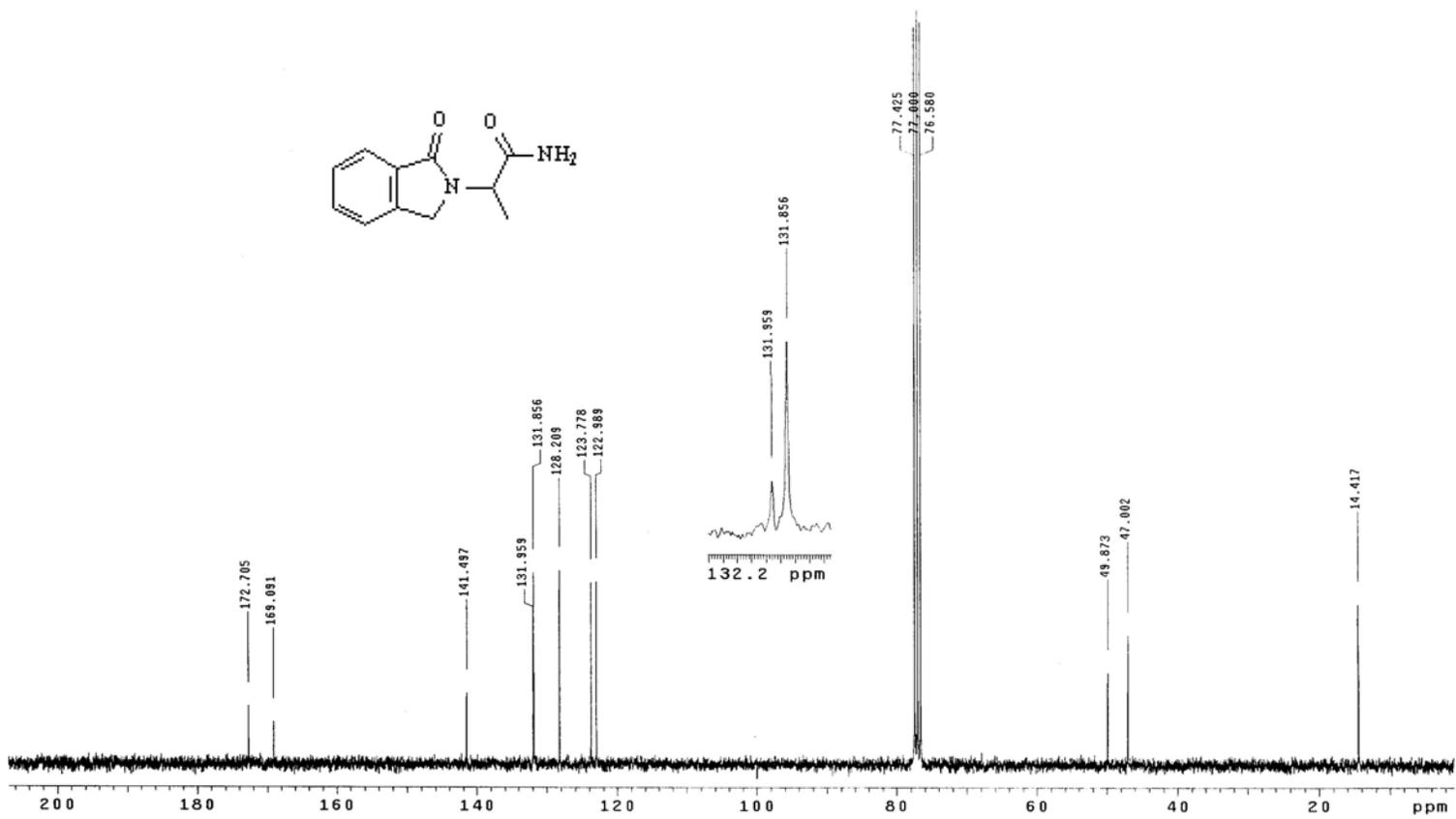


Figura 8 Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  del compuesto DP2

## **GLOSARIO**

**Ansiedad.** Es un estado de inquietud o angustia.

**Ansiolítico.** Producto farmacológico indicado para reducir la angustia o la ansiedad.

**Aprendizaje.** Es un cambio adaptativo en el comportamiento debido a una experiencia.

**Convulsión.** Contracción involuntaria de los músculos del cuerpo.

**Convulsión clónica.** Múltiples sacudidas rítmicas de todas las partes del cuerpo, con pérdida de la conciencia.

**Convulsión tónica.** Violentas contracciones musculares rígidas que fijan las extremidades en alguna posición de tensión con pérdida de la conciencia.

**Cromatografía.** Método para separar los componentes de una mezcla por su adsorción preferencial sobre diversas superficies.

**Eficacia.** Efecto farmacológico que produce una dosis del fármaco.

**Epilepsia.** Es una enfermedad crónica de etiología diversa que se caracteriza por la presencia de episodios críticos recurrentes denominados crisis convulsivas.

**Espectroscopia molecular.** Es el proceso experimental que consiste en medir las frecuencias de radiación absorbidas o emitidas por sustancias específicas y después correlacionar dichas frecuencias con estructuras moleculares dadas.

**Fármaco.** Toda sustancia natural, sintética o biotecnológica que tenga alguna actividad farmacológica y que se identifique por sus propiedades físicas, químicas o acciones biológicas, que no se presente en forma farmacéutica.

**Nootrópico.** Fármacos que aumentan el rendimiento mental.

**Potencia.** Dosis mínima en la que se observa la actividad terapéutica.

**Quiralidad.** Propiedad que poseen algunos estereoisómeros por ser imágenes reflejadas uno del otro que no pueden superponerse.

**Reacción de esterificación.** Reacción orgánica en la que se combina un ácido carboxílico y un alcohol para formar un éster y agua.

**Reacción de sustitución.** Reacción orgánica en la que un átomo o grupo de átomos reemplaza a otro átomo.

**Sedante.** Fármacos que provocan sueño y reducen la ansiedad.

**Segundo (s).** Unidad de tiempo del Sistema Internacional, sexagésima parte de un minuto.