

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO  
DE HIDALGO**

**INSTITUTO DE CIENCIAS  
BÁSICAS E INGENIERÍA**

**“DETERMINACION DE LA ACTIVIDAD  
ANTICONVULSIONANTE DE DERIVADOS DE LA  $\alpha$ -  
ASARONA RELACIONADOS CON LOS FIBRATOS”**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:.**

**Q U I M I C O**

**PRESENTA:**

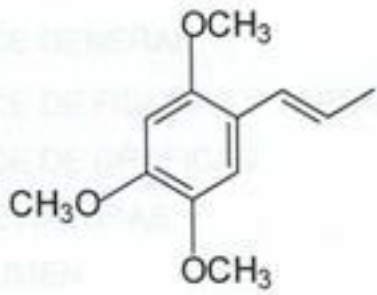
**YESENIA ISLAS SOLIS**

**ASESOR:**

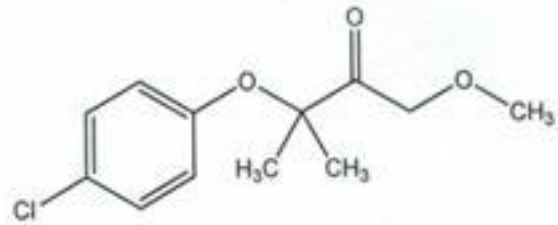
**DRA. CLARA ZUÑIGA PEREZ**

PACHUCA DE SOTO, HGO.

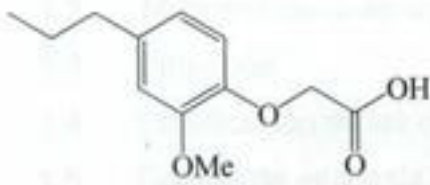
2006.



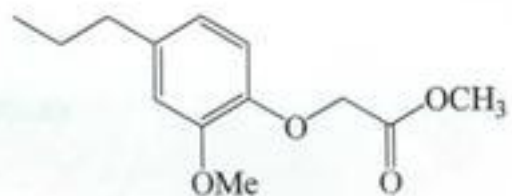
**1**



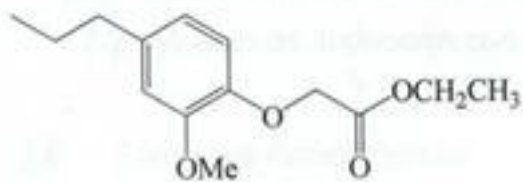
**2**



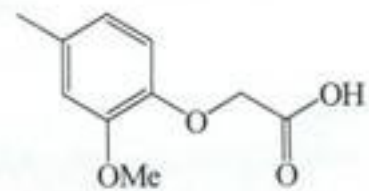
**4a**



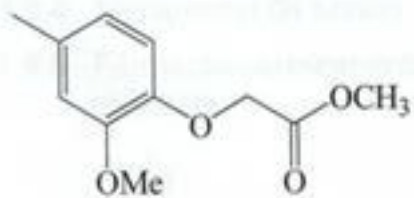
**4b**



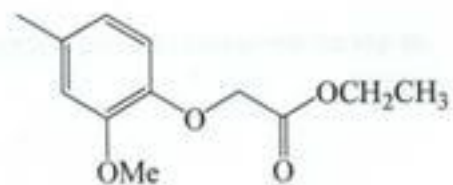
**4c**



**5a**



**5b**



**5c**

	<i>No. Página</i>
ÍNDICE GENERAL	I
ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS	III
ÍNDICE DE GRÁFICAS	IV
ABREVIATURAS	V
RESUMEN	VI
1 Introducción	1
1.1 Antecedentes	1
1.2 Magnitud de la epilepsia	1
1.3 Definición	2
1.4 Clasificación de las crisis epilépticas	3
1.5 Causas de epilepsia	5
1.6 Mecanismos involucrados en las crisis epilépticas	6
1.7 Modelos de producción de epilepsia	7
1.7.1 Modelo de Inducción por electrochoque	8
1.7.2 Modelo de Inducción con pentiléntetrazol	9
1.8 Fármacos Antiepilépticos	10
1.8.1 Estado actual del desarrollo farmacológico para la epilepsia	11
1.8.2 Características del antiepiléptico ideal	17
1.8.3 Generalidades de antiepilépticos	18
1.8.4 Mecanismo de acción	19
1.8.5 Fármacos comúnmente empleados para el tratamiento de la epilepsia	20
1.9 a-Asarona	24
2. Justificación	30
3. Objetivos	31
3.1 Objetivo general	31
3.2 Objetivos específicos	31
4. Desarrollo experimental	32
4.1 Escalamiento de compuestos	32

4.1.1 Preparación de los compuestos <b>4a-4c</b>	32
4.1.2 Preparación de los compuestos 5a-5c	35
4.2 Evaluación del efecto anticonvulsivo de los compuestos <b>4a-4c</b> y 5a-5c por el método de PTZ.	39
5. Resultados	42
5.1 Síntesis de la serie <b>4a-4c</b>	42
5.2 Síntesis de la serie 5a-5c	42
5.3 Resultados de la evaluación anticonvulsivante de los compuestos de las series <b>4a-4c</b> y <b>5a-5c</b> por el método de las series 4 <sup>a</sup> -4c y 5 <sup>a</sup> -5c por el método de PTZ.	43
6. Discusión	57
7. Conclusiones	59
8. Bibliografía	60
Anexos	65

## FIGURAS

		<i>No. Página</i>
Figura 1	Estructura química del pentilentetrazol	9
Figura 2	Estructura de la sinapsis química	13
Figura 3	Acción de los neurotransmisores mediada por los receptores	15
Figura4	Estructura química de algunos fármacos antiepilépticos	23
Figura 5	Estructura química de $\alpha$ -Asarona	24
Figura 6	<i>Guatteria gaumeri</i>	25
Figura 7	<i>Acorus gramineus</i>	25
Figura 8	Estructura química del clofibrato	27
Figura 9	Estructura química de la serie 3a-3c	27
Figura 10	Estructura química de la serie <b>4a-4c</b>	28
Figura 11	Estructura química de la serie <b>5a-5c</b>	29

## TABLAS

Tabla 1	Clasificación de crisis epilépticas	4
Tabla 2	Fármacos antiepilépticos	21
Tabla 3	Distribución de ratones en lotes para el tratamiento	39

		<i>No. Página</i>
<b>Gráfica 1</b>	Efecto de los compuestos ácidos sobre la duración del período de latencia a las crisis clínicas en ratón, PTZ (160 mg/Kg)	45
<b>Gráfica 2</b>	Efecto de los compuestos ácidos sobre la duración del período de crisis convulsivas en ratón, PTZ (160 mg/Kg)	46
<b>Gráfica 3</b>	Efecto protector de los compuestos ácidos sobre el número de muertes en ratón PTZ, (160 mg/Kg)	47
<b>Gráfica 4</b>	Efecto de los compuestos metilados sobre la duración del período de latencia a las crisis clónicas en ratón PTZ (160 mg/Kg)	49
<b>Gráfica 5</b>	Efecto de los compuestos metilados sobre la duración del período de crisis convulsivas en ratón, PTZ (160 mg/Kg)	50
<b>Gráfica 6</b>	Efecto protector de los compuestos metilados sobre el número de muertes en ratón, PTZ (160 mg/Kg) (%).	51
<b>Gráfica 7</b>	Efecto de los compuestos etilados sobre la duración del período de latencia a las crisis clónicas en ratón, PTZ (160 mg/Kg)	54
<b>Gráfica 8</b>	Efecto de los compuestos etilados sobre la duración del período de crisis convulsivas en ratón, PTZ (160 mg/Kg)	55
<b>Gráfica 9</b>	Efecto protector de los compuestos etilados sobre el número de muertes en ratón, PTZ (160 mg/Kg). (%)	56

## ABREVIATURAS

PTZ	Pentilentetrazol
SNC	Sistema nervioso central
SN	Sistema nervioso
CD	Dosis convulsiva
EEG	Electroencefalograma
E-CH	Electrochoque
GABA	Ácido $\gamma$ -aminobutírico
GAD	Ácido-glutámico-descarboxilasa
Et	Etilo
Ph	Fenilo
Me	Metilo
$\delta$	Desplazamiento químico
mmol	Milimol
i.p	Intraperitoneal
s.c	Subcutánea
TMS	Tetrametilsilano
ICR	Institute of Cancerology Research
RMN	Resonancia Magnética Nuclear

**RESUMEN**

La epilepsia es un desorden crónico y progresivo caracterizado por convulsiones periódicas e impredecibles, que se producen por descargas anormales de las neuronas. La a-asarona es el principio activo de la planta *Gutteria gaumeri*, posee algunos efectos sobre el Sistema nervioso central, entre los que destaca el antiepiléptico. Sin embargo, en diferentes modelos experimentales demostró tener problemas mutagénicos y teratogénicos. Por lo que se han propuesto diversos análogos estructurales del a-asarona con la finalidad de encontrar aquellos que presente igual o mejor actividad anticonvulsionante pero con la finalidad de disminuir los problemas antes mencionados. En este trabajo se presenta la síntesis y evaluación biológica de seis compuestos derivados de la a-asarona con el afán de continuar con los trabajos de investigación anticonvulsionante.

Los resultados parciales de la evaluación biológica sugieren que los compuestos ácidos pueden ser prometedores, por lo cual será necesario realizarles estudios posteriores.



# DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTICONVULSIONANTE DE DERIVADOS DE LA $\alpha$ -ASARONA RELACIONADOS CON LOS FIBRATOS

## 1 INTRODUCCIÓN

### 1.1 Antecedentes

Desde la antigüedad, los acercamientos terapéuticos a la epilepsia estuvieron rodeados por una atmósfera de miedo y misticismo. El hombre antiguo no podía encontrar fundamento alguno a esta rara enfermedad que podía provocar súbitamente la aparición de fuertes contracciones, la expulsión de espuma por la boca o la pérdida repentina de la conciencia. Prevalciendo durante siglos criterios erróneos en cuanto a su origen.

Desde siglos atrás en México, la epilepsia se ha tratado frecuentemente con remedios herbolarios; pero fue hasta hace 300 años cuando surge el primer medicamento antiespasmódico (Feria y cols., 1997).

### 1.2 Magnitud de la epilepsia

La prevalencia de la epilepsia representa el número total de casos de epilepsia en una población de riesgo, para un lugar y tiempo determinado (García, 1997). Uno de los mayores problemas de la epilepsia es la gran incidencia que se tiene a nivel mundial dado que se presentan usualmente de tres a seis casos por 1000 habitantes (Chan, 1998) aunque se han encontrado cifras más altas especialmente en el continente Africano y en América del sur.

Suele presentarse mas comúnmente en las segunda y tercera década de la vida, en donde se puede expresar convulsiones mioclónicas, tónico-clónicas y en muchos de los casos por crisis de ausencia (Mc. Namara, 1996).

En lo relativo a diferencia entre sexos a pesar de que no existe diferencia significativa entre ambos, se ha encontrado mayor riesgo en el hombre para desarrollar crisis no provocadas, la relación varia entre 1.1 a 1.7 (García, 1997).

La epilepsia tiene una tasa baja de mortalidad. Se han identificado tasas de mortalidad de 1 a 4.5 por 100 000 personas (García, 1997), aunque deben valorarse si corresponden a las patologías producidas por el *status epilepticus* (SE) o crisis recurrente y no provocadas que lleva a la muerte de la persona que lo padece.

El problema para cada uno de los pacientes no es solo enfrentar la enfermedad y el tratamiento de ésta, sino también en muchos casos el desprecio de la familia y la marginación de la sociedad, ya que en la población no se cuenta con la educación y la cultura adecuada para el mejor trato de estas personas.

### **1.3 Definición**

Etimológicamente, la palabra epilepsia deriva del griego “epilambanein”, que significa "ser sobrecogido bruscamente". La epilepsia es un grupo de trastornos del Sistema Nervioso Central (SNC) caracterizados por repetición de episodios súbitos y transitorios (crisis) de fenómenos anormales de origen motor (convulsiones), sensorial, autónomo o psíquico (Chan, 1998); debido a una actividad neuronal cortical excesiva (Muñoz y cols., 2004).

El término convulsión se refiere a una perturbación transitoria de la conducta, causado por la activación desordenada, sincrónica y arítmica de poblaciones enteras de neuronas cerebrales; ésta suele producir alteración pasajera del conocimiento, dejando al individuo en riesgo de lesión corporal y a menudo obstaculiza su desarrollo intelectual (Aird, 1984). Cada episodio de disfunción se denomina crisis, y

puede ser de carácter convulsivo cuando se acompaña de manifestaciones motoras, o bien presentarse otras alteraciones de la función neurológica (Mc. Namara, 1997).

Se define *status epilepticus* como la situación de crisis epiléptica constantes, repetitivas o tan prolongadas, que crean una condición epiléptica continua, de por lo menos 30 minutos de duración, cuando el estado de conciencia del enfermo se encuentre preservado (Otero- Siliceo, 1997) y puede ser debido a un exceso de impulsos excitadores o una pérdida de mecanismos inhibidores. Su incidencia puede ser idiopática, por traumas craneales o abstinencia de alcohol. El tratamiento de *status epilepticus*, se compone de medidas terapéuticas generales y de medidas farmacológicas antiepilépticas generales y específicas.

### **1.4 Clasificación de las crisis epilépticas**

Las crisis epilépticas se pueden clasificar principalmente en 2 grupos (tabla 1):

- Parciales: Inician de manera focal en un sitio cortical.
- Generalizadas: Abarcan con amplitud dos hemisferios.

En donde cada una de éstas se subdivide en diferentes tipos, donde las manifestaciones de cada una dependen de la función que realiza normalmente el sitio de corteza donde se llevó el daño (como el sistema motor sensitivo).

Una convulsión parcial simple se vincula con la preservación del conocimiento y una completa conlleva a un trastorno del conocimiento (García, 2003).

**Tabla 1 Clasificación de crisis epilépticas**

TIPO DE CRISIS		CARACTERÍSTICAS
1. Crisis parciales (focales, locales)	A. Crisis parciales simples	-Conciencia no alterada. -Involucra sólo al sistema motor o sensitivo; pueden ocurrir síntomas <u>autónomos</u> o <u>psíquicos</u> .
	B. Crisis parciales complejas	-Alteración de la conciencia. -Conducta confusa. -Actividad del electroencefalograma EEG general atípica durante las crisis, sin muestra de anomalías focales del lóbulo temporal anterior.
	C. Crisis parciales que llevan secundariamente a crisis generalizadas	-Progresión de A o B a crisis generalizadas.
2. Crisis generalizadas (convulsivas o no convulsivas)	A.1. Ausencias (pequeño mal)	- Breve episodio agudo (de segundos a medio minuto), con comienzo y terminación súbitos. -Alteración de la conciencia. -EEG muestra espigas de alto voltaje, bilateralmente sincrónicas de 3 Hz. -Mirada en blanco, movimiento ocular con o sin sacudidas de extremidades o todo el cuerpo.
	A.2. Ausencias atípicas	-Comienzo y terminación más lento que lo habitual de crisis de ausencia. -EEG más heterogéneo.
	B. Crisis mioclónicas	-Sacudidas breves, únicas y leves a violentas de brazos o cabeza. -Descargas de picos múltiples en EEG.
	C. Crisis clónicas	-Múltiples sacudidas rítmicas de todas las partes del cuerpo con pérdida de conciencia.
	D. Crisis tónicas	-Violentas contracciones musculares rígidas (fijan extremidades en posición de tensión). -Pérdida de conciencia.
	E. Crisis tónico-clónicas (gran mal)	-Convulsiones mayores -Espasmo tónico de todos los músculos, seguido por sacudidas rítmicas de los miembros. -Dura varios minutos. -Pérdida de conciencia.
	F. Crisis atónicas	-Pérdida de tono postural, con caída total, o solamente de cabeza.

(Chan, 1998).

### 1.5 Causas de Epilepsia

Existe más de un mecanismo neurofisiológico y bioquímico involucrados en la desencadenación de esta enfermedad; siendo el aspecto más sobresaliente la presencia de descargas neuronales sincrónicas sostenidas de un grupo localizado de

neuronas, llamado foco comicial, el cual puede ser disparado por factores tales como:

- Hiperpirexia (infección aguda, golpe de calor).
- Infecciones del SNC (meningitis, encefalitis, absceso cerebral, neurosífilis, rabia, tétanos, paludismo por *P. falciparum*, toxoplasmosis, cisticercosis cerebral).
- Alteraciones metabólicas y nutricionales (hipoglucemia, hipoparatiroidismo, fenilcetonuria, porfiria, enfermedades por almacenamiento de lípidos).
- Hipoxia cerebral (Síndrome de Stokes-Adams, hipersensibilidad del seno carotídeo, anestesia, intoxicación por CO, sostenimiento de la respiración).
- Lesiones cerebrales expansivas (neoplasia, hemorragia intracraneal, hematoma subdural en la infancia).
- Edema cerebral (encefalopatía hipertensiva, eclampsia).
- Agentes convulsivos o tóxicos (alcanfor, pentiléntetrazol, estricnina, picrotoxina, plomo, alcohol, cocaína, mercurio, etc.).
- Traumatismo cerebral (fractura del cráneo, traumatismo del parto).
- Anafilaxia (alergia a fármacos o sueros extraños).
- Defectos congénitos
- Cambios bioquímicos locales
- Trastornos endocrinos

Es importante mencionar que los focos comiciales pueden permanecer inactivos por lapsos prolongados, descargando intermitentemente sin crisis manifiestas; sin embargo no se conoce el mecanismo exacto de diseminación de la descarga, ya que existen vías y mecanismos inhibitorios que lo impiden (Chan, 1998).

### **1.6 Mecanismos involucrados en las crisis epilépticas**

Se han conocido tres mecanismos posibles de producción de epilepsia como son:

- Desequilibrio de las corrientes de  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^{++}$  y  $\text{K}^+$ .
- Así como alteraciones de la bomba de  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ , lo que pueda llevar a la disminución de la capacidad de recuperación de  $\text{K}^+$ .
- El siguiente es por lesiones bioquímicas que puedan afectar la acción de neurotransmisores, tanto inhibitorios como el GABA (ácido gamma-aminobutírico) y excitatorios como el glutamato. (Chan, 1998).

### **1.7 Modelos de producción de epilepsia**

Los métodos experimentales brindan un mayor conocimiento sobre el mecanismo que se lleva a cabo cuando se tiene una convulsión en los humanos. A través de estos modelos se pueden ver los cambios fisiológicos, bioquímicos, anatómicos, fisiopatológicos del fenómeno epiléptico y con la ayuda de ellos, se pueden proponer procedimientos terapéuticos en la prevención o disminución de la epilepsia (García, 2003)

Los modelos experimentales de epilepsia se dividen en agudos y crónicos. El **Modelo agudo** se caracteriza por la administración sistemática o aplicación tópica de agentes convulsionantes y desajustes iónicos o metabólicos que producen actividad epiléptica o convulsiones de manera transitoria y son apropiados para investigar los mecanismos de inducción y detección de la actividad epiléptica, así como

alteraciones posictales (Fisher, 1989; Ángel, 1997). Mientras que el **Modelo crónico** produce actividad epiléptica persistente, ya sea por lesiones permanentes, estimulación eléctrica repetida de alguna estructura cerebral, o que ocurran espontáneamente en especies animales genéticamente propensos. Estos modelos permiten estudiar los mecanismos de generación, desarrollo y mantenimiento de los eventos ictales, así como las alteraciones neuronales que existen en el período posictal e interictal (Ángel, 1989; Fisher, 1989)

Los modelos experimentales se clasifican de acuerdo al procedimiento de inducción en:

- Inducidos por agentes físicos.
- Inducidos por agentes químicos. Dentro de éstos las sustancias más empleadas son: picrotoxina, bicuculina, estriknina y pentiléntetrazol (Yerby, 1997).

Dentro de la primera categoría se encuentra el modelo de **Electrochoque máximo (E-CH o MES)**, mientras que en la categoría de inducción por agentes químicos se encuentra el **Pentiléntetrazol (PTZ)** ambos modelos son los más utilizados (Feria y cols., 1997)

### 1.7.1 Modelo de Inducción por electrochoque

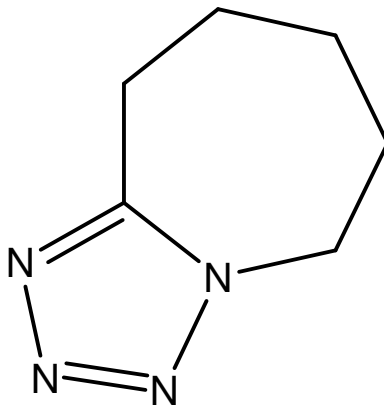
El electrochoque (E-CH) consiste en la aplicación de un estímulo eléctrico a un animal para provocar convulsiones generalizadas tónico-clónicas. Este tipo de estímulos empezó a utilizarse en animales y luego en humanos (con fines terapéuticos) en la década de los treinta. Merrit y Putman (1973) desarrollaron la prueba de convulsiones por electrochoque en animales de experimentación y describen las variaciones que puede tener este modelo al usar diferentes cepas de ratones.

Al aplicar en E-CH a un ratón, se presenta un cuadro que consta de tres fases:

- a) flexión inicial
- b) extensión tónica de miembros posteriores
- c) clonus terminal

Por convención, un fármaco administrado a un animal evaluado con este modelo tiene poder anticonvulsionante a la dosis empleada si es capaz de impedir la presentación de la segunda fase (Swinyard, 1973).

### 1.7.2 Modelo de Inducción con pentilentetrazol



**Figura 1.** Estructura química del Pentilentetrazol.

Compuesto químico para la producción de convulsiones.

El modelo de inducción con pentilentetrazol (PTZ) se produce por administración sistemática de dicho compuesto, generalmente por vía subcutánea (s.c.) o intraperitoneal (i.p.) (Hönack y cols., 1990), produciendo en animales crisis de tipo clónicas (Rall y Schleifer, 1991)



Este modelo evalúa la capacidad del fármaco en estudio para elevar el umbral de excitación del tejido neuronal y en clínica es útil para identificar fármacos eficaces contra crisis de ausencia (Hönack y cols., 1990), ya que se producen espigas onda de 3Hz, correspondientes a las identificadas en humano para crisis de ausencias (Rall y Schleifer, 1991)

El mecanismo básico de PTZ no se conoce con exactitud pero son aceptados por 2 teorías:

- Que exista una interacción con los receptores GABAérgicos bloqueando la unión a fármacos anticonvulsivos.
- Que el PTZ produzca cambios de permeabilidad de SNC, elevando el  $K^+$  extraneuronal, que despolariza potencialmente las membranas neuronales, aumentando así su excitabilidad (García, 2003).

### **1.8 Fármacos antiepilépticos**

Antes de que los antiepilépticos se descubrieran y desarrollaran, el tratamiento de la epilepsia consistía en trepanación, aplicación de ventosas y administración de hierbas y extractos de animales. En 1857, Sir Charles Locock informó el uso exitoso de bromuro de potasio en el tratamiento de los que ahora se conoce como epilepsia catamenial. El siguiente gran paso, fue el uso de fenobarbital por primera vez para tratar la epilepsia por Hauptmann en 1912, además representa el punto de partida de una nueva área para la entrada de agentes sintéticos químicos en el campo de los medicamentos antiepilépticos, y en los siguientes 26 años se estudiaron 35 análogos del fenobarbital como anticonvulsivos. En 1938, se encontró que la fenitoína era eficaz contra convulsiones experimentales con gatos (Mc Namara, 1997).

Entre 1935 y 1960, se lograron avances tanto en el desarrollo de modelos experimentales como en métodos para la detección y el estudio de los nuevos antiepilépticos. Durante ese periodo, se obtuvieron y comercializaron 13

antiepilépticos. Después de la promulgación de los requerimientos para la prueba de la eficacia de los fármacos en 1962, su producción disminuyó de manera notable en los tres decenios siguientes sólo se comercializaron unos cuantos antiepilepticos.

Con el nombre de **drogas antiepilepticas o anticonvulsivantes** se designan aquellos depresores centrales que tienen la propiedad de suprimir selectivamente las crisis de epilepsia (Litter, 1979) en sus diversas formas, impidiendo su aparición. Debe señalarse que todos los depresores no selectivos del sistema nervioso central, -anestésicos generales, hipnóticos- son capaces de actuar como anticonvulsivantes en todos los tipos de convulsiones, y también en el gran mal epiléptico si se administran a dosis elevadas, pero justamente dicha acción anticonvulsivante se acompaña de los síntomas de depresión central -anestesia general, hipnosis-, que los hacen inconvenientes en el tratamiento de la epilepsia, salvo en casos especiales –estado epiléptico-. Por el contrario, las drogas epilépticas poseen una acción selectiva que suprime y previene los ataques de dicha enfermedad, sin provocar mayor depresión del sistema nervioso en general.

### **1.8.1 Estado actual del desarrollo farmacológico para la epilepsia**

Durante un tiempo se pensó que podría ser desarrollado un fármaco para el tratamiento de todas las formas de epilepsia, pero las causas de esta enfermedad son extremadamente diversas, la farmacoterapia proporciona poca evidencia de especificidad etiológica.

Se están buscando nuevos antiepilepticos que actúen al mismo tiempo por medio de tres mecanismos, tales como:

- Aumento de la transmisión GABAérgica (inhibidora).
- Disminución de la transmisión excitadora (glutamatérgica).
- Modificación de conductancias iónicas (prolongando la inactivación de los canales de sodio y bloqueando los canales lentos de calcio).

Para la mayor comprensión de este trabajo se dará una explicación general, sobre el funcionamiento de los neurotransmisores, así como el proceso sináptico del sistema nervioso central.

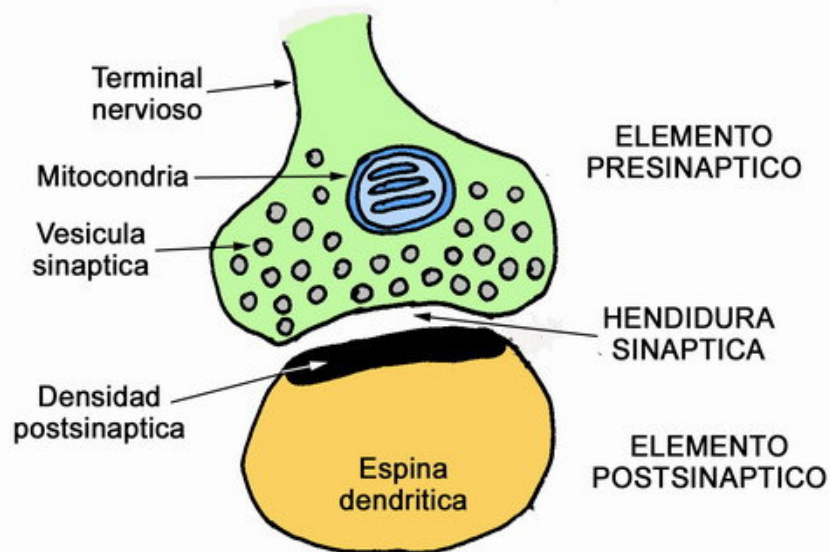
Las neuronas son las células cerebrales más importantes, ya que perciben los cambios que se producen en el medio ambiente, comunican estos cambios a otras neuronas y, finalmente, producen respuestas adecuadas a dichos cambios. En la mayoría de los casos, este proceso esencial de comunicación neuronal (sinapsis) se realiza mediante la liberación de pequeñas cantidades de mensajeros químicos, denominados *neurotransmisores*. La liberación de estos neurotransmisores, y por consiguiente la transferencia de información entre dos neuronas, se lleva a cabo en lugares funcionales y estructuralmente especializados. Por el contexto establecido, por lo general, el tipo más frecuente de sinapsis es el que se establece entre el axón de una neurona y la dendrita de otra (sinapsis axodendrítica). Otro tipo es entre el axón de una neurona y el cuerpo celular de otra neurona (sinapsis axosomática). Una célula motora puede llegar a participar en varias miles de sinapsis, a través de las que se transmite el impulso nervioso.

La importancia del estudio de las sinapsis y especialmente de receptores de los neurotransmisores en la señalización neuronal, estriba en que la mayoría de los fármacos de importancia clínica, tales como anestésicos, ansiolíticos, anticonvulsivos, etc., se basan en los mecanismos de acción de los propios receptores de neurotransmisores.

Para llevar a cabo su función implicada en la transmisión de información, todas las sinapsis químicas, están constituidas por tres elementos:

- Elemento presináptico (aporta información). suele ser el terminal nervioso de la primera neurona, que contiene el neurotransmisor en las vesículas sinápticas.

- Elemento postsináptico (receptora de información), más común es la espina dendrítica de la segunda neurona, en la que se puede distinguir la densidad postsináptica
- Brecha o hendidura sináptica (el espacio que existen entre los dos elementos).



**Figura 2.** Estructura de la sinapsis química.

La gran mayoría de la comunicación entre las neuronas del SNC se realiza por neurotransmisores aminoácidos. Los aminoácidos reconocidos como neurotransmisores son cinco: ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA), glicina, taurina, ácido glutámico y ácido aspártico. Los tres primeros tienen efectos predominantemente inhibitorios, mientras que los dos últimos son normalmente excitatorios. De todos ellos, los más abundantes y fisiológicamente más importantes, son glutamato y GABA.

El GABA se sintetiza a partir del ácido glutámico mediante la intervención específica de la ácido-glutámico-descarboxilasa (GAD), un sistema enzimático dependiente del fosfato de piridoxal (pp), exclusivo de mamíferos y presente sólo en el Sistema

Nervioso (SN). El ácido glutámico utilizado como precursor proviene del ciclo de Krebs vía ácido cítrico. La presencia de GAD es, por tanto, el mejor indicador de una actividad GABAérgica.

En la biosíntesis desde el  $\alpha$ -cetoglutarico, la acción del aspartato-aminotransferasa produce glutámico que por la acción de GAD, ante la presencia del pp, da ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA) como producto final. Su degradación enzimática se produce mediante la intervención de la  $\gamma$ -transaminasa (GABA-T), que transporta el grupo amino al  $\alpha$ -cetoglutarico y finalmente se oxida al ácido succínico.

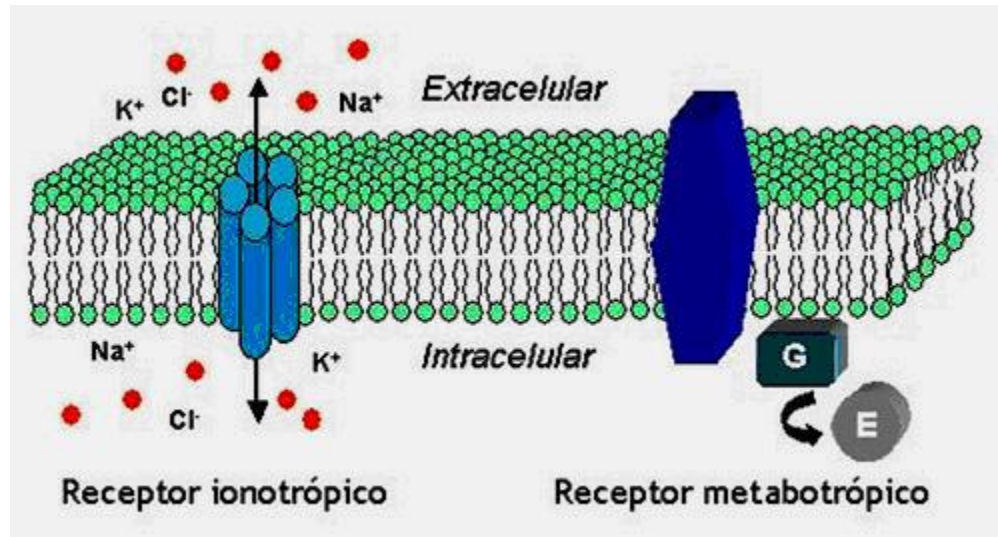
Una vez sintetizados en las neuronas, los neurotransmisores son almacenados en las vesículas sinápticas, las cuales lo liberan a la hendidura sináptica por un mecanismo dependiente de  $Ca^{2+}$ .

El glutamato media en la mayoría de las transmisiones sinápticas excitatorias del cerebro. Se halla involucrado en procesos fisiológicos tan diversos como la proliferación celular, la supervivencia celular, el aprendizaje y la memoria, así como en procesos patológicos como la epilepsia, la hipoxia y las lesiones cerebrales isquemias. Por otra parte, GABA media en la mayoría de las transmisiones sinápticas inhibitorias del cerebro. Entre otras posibles implicaciones funcionales, se cree que la alteración de GABA participa en procesos de tipo coordinador o integrador en relación con procesos motores y cognitivos, así como en importantes trastornos neurológicos y psiquiátricos, como pueda ser el caso de la epilepsia, el alcoholismo, la esquizofrenia, los trastornos del sueño y la enfermedad de Parkinson.

Los receptores para GABA son de varios tipos; los Ionotrópicos (**GABA-A**) y los metabotrópicos (**GABA-B** y **GABA-C**).

El receptor GABA-A situado en la membrana plasmática del terminal postsináptico, es el que se relaciona con los receptores de las benzodiazepinas. Por su parte los receptores GABA-B y GABA-C ubicados en la membrana plasmática de los terminales presinápticos y postsinápticos no tienen relación con los receptores benzodiazepínicos. Los receptores GABA-A abren canales de cloro y son por lo tanto

inhibidores de la conducción del impulso nervioso. Los receptores GABA-B, no abren directamente canales iónicos, sino que transmiten la señal por medio de segundos mensajeros. Están acoplados a proteínas G y modulan la actividad de enzimas (E).



**Figura 3.** Acción de los neurotransmisores mediada por los receptores.

Las conductancias de sodio y potasio en primer momento, permanecen en reposo, es decir, los canales de sodio y potasio están cerrados. En segundo lugar los canales de sodio se abren y los de potasio están cerrados (despolarización). A continuación los iones de sodio están inactivados y los de potasio están abiertos (repolarización). Durante esta fase, existe una breve *hiperpolarización* o exceso en el potencial de la membrana. La vuelta al estado inicial es posible gracias a la acción de la bomba de sodio-potasio.

El exterior de la membrana tiene una carga positiva, mientras el interior posee una carga negativa. Tanto en el interior como en el exterior se encuentran las mismas sustancias, pero en una concentración diferente. Es por esta razón que el potasio  $\text{K}^+$  tiende a ser expulsado fuera de la célula por la fuerza de difusión, pero al mismo tiempo la presión electrostática impulsa al  $\text{K}^+$  hacia el interior, manteniéndose así un equilibrio. Del mismo modo los iones de cloro ( $\text{Cl}^-$ ) tienden a introducirse a la célula por la membrana externa positiva, y a la vez son rechazados por la carga negativa

del interior. La membrana permite que cierta cantidad de sodio ( $\text{Na}^+$ ) se filtre hacia el interior, pero un mecanismo llamado *bomba de sodio-potasio* impulsa al  $\text{Na}^+$  fuera del axón. Dicha bomba está formada por moléculas individuales de proteínas situadas en la membrana, estas moléculas metabolizan nutrientes necesarios para la célula gracias a la energía liberada por las mitocondrias. En su proceso transportan e intercambian tres iones de sodio hacia al exterior de la membrana por cada dos iones de potasio que envían al interior, por lo cual el potasio es elevado al interior y el sodio en el exterior creándose la reacción en cadena que conduce el potencial de acción (Alberts B., 2002).

Las vesículas liberan los neurotransmisores cuando llega el potencial de acción al botón sináptico. La despolarización de la membrana causa que canales de calcio se abran y el calcio del exterior ( $\text{Ca}^{2+}$ ) pase al interior.

Los canales de calcio son muy similares a los canales de sodio excepto que ellos son permeables al calcio y no al sodio. Estos canales de calcio que se abren permiten que una pequeña cantidad de iones penetre en el botón axonal, a la suma de iones de calcio en el interior se le llama concentración iónica de calcio [ $\text{Ca}^{2+}$ ]. La concentración iónica en el citoplasma del botón axonal es muy pequeña, alrededor de los 0.0002 mM, pero a unos nanómetros de la zona activa presináptica el calcio puede alcanzar al interior de la membrana niveles tan altos como 0.3 mM, suficiente como para que la vesículas descarguen su preciosa carga en un proceso llamado exocitosis.

Cuando se une el neurotransmisor al receptor se abrirán canales de sodio en la segunda neurona continuando de esta manera con la excitación de la segunda. Si aplicamos un único estímulo sobre la primera neurona que llegue al punto crítico de disparo de la célula, generamos un potencial de acción que viaja y llega a la segunda neurona, lo que obtengo en el electrodo de registro es un potencial postsináptico inhibido o excitado, dependiendo de que el neurotransmisor liberado sea excitador o inhibidor.

Un proceso patológico en el que se implican estos receptores es la epilepsia, en la que una estimulación excesiva de las vías glutamatérgicas o la manipulación farmacológica que conduce a la activación del receptor de glutamato puede precipitar los ataques.

### **1.8.2 Características del antiepiléptico ideal**

El antiepiléptico ideal debe reunir las condiciones expuestas a continuación:

- 1) Ha de ser eficaz y específico para más de un tipo de epilepsia.
- 2) Debe ser de baja toxicidad y con un índice terapéutico muy elevado.
- 3) Ha de ser bien tolerado por vía oral durante largos tratamientos.
- 4) Debe de ser de acción prolongada.
- 5) Debe suprimir los ataques sin causar sedación ni otras reacciones indeseables.
- 6) No ha de producir tolerancia.
- 7) Debe de restaurar el electroencefalograma normal dentro de los límites fisiológicos.
- 8) Ha de ser económico.

Hasta el presente no se ha hallado el antiepiléptico ideal, pero mucho se ha avanzado en ese terreno (Litter, 1979)

### **1.8.3 Generalidades de anticonvulsivos**

En general, los antiepilépticos se emplean por periodos largos y pueden causar efectos adversos. Es importante considerar sus propiedades farmacocinéticas para evitar toxicidad y las interacciones farmacológicas.

Los antiepilépticos muestran muchas propiedades farmacocinéticas similares, incluso aquéllos cuyas propiedades estructurales y químicas son diferentes. Aun



cuando muchos de estos compuestos son escasamente solubles, la absorción suele ser buena ya que aproximadamente 80% a 100% de la dosis llega a la circulación.

Con excepción de la fenitoína, las benzodiazepinas y el ácido valproico, los antiepilépticos no tienen un alto grado de fijación a las proteínas plasmáticas. La fenitoína y el ácido valproico pueden desplazar otros fármacos con alto grado de fijación, incluyendo otros anticonvulsivos.

Para enfermedades con concentraciones séricas de albúmina alteradas (hipoalbuminemia típica) la dosificación de fármacos con gran afinidad puede ser más apropiada basándose en la concentración libre. Mientras que las concentraciones del fármaco libre en general no se altera, la concentración total puede disminuir permitiendo al clínico aumentar la dosis; este aumento en la dosis originará concentraciones de fármaco libre más altas y una posible intoxicación con éste. El valproato de sodio es único en cuanto a que la fracción del fármaco está en función de la concentración tanto de éste como de ácidos grasos libres en el plasma.

Los antiepilépticos se depuran principalmente por mecanismos hepáticos a pesar de que se extraen en una pequeña proporción. Algunos, como la primidona y las benzodiazepinas, se transforman en metabolitos activos que también son metabolizados por el hígado.

La depuración plasmática es relativamente lenta; por lo tanto, muchos anticonvulsivos se consideran de acción media prolongada. Para la mayoría de éstos, la vida media es mayor a 12 horas.

### **1.8.4 Mecanismo de acción**

Los principales mecanismos de acción de los antiepilépticos incluyen canales iónicos dependientes de voltaje y la función sináptica inhibitoria y excitatoria. Los canales de  $\text{Na}^+$  entran en estado inactivo después de cada potencial de acción. Se piensa que el mecanismo principal de la fenitoína y carbamacepina es la

prolongación de este estado inactivo, con una prolongación concomitante de refractividad; también puede contribuir a los efectos del fenobarbital y valproato. Este fenómeno está unido a la supresión de descargas repetitivas en neuronas aisladas y protección máxima contra electrochoque en animales y convulsiones focales en el hombre.

Una corriente de  $Ca^{++}$  de umbral bajo (corriente tipo  $Ca^{++}$ ) se encontró que gobierna las respuestas en neuronas talámicas. Se piensa que la reducción de esta corriente por ethosuximida o dimetadona explica el efecto de estos compuestos en ausencia de las convulsiones (Mc Namara, 1997; Potter y Cols., 2000).

También se trata de obtener los efectos sobre la transmisión sináptica de muchos antiepilépticos. El aumento de la inhibición mediada por GABA puede producirse de muchas maneras, involucrando ya sea una acción directa sobre el complejo canal de cloro-receptor GABA o acciones sobre la recaptura o metabolismo del GABA. Este mecanismo provee protección contra convulsiones focales y generalizadas (Loscher, 1998)

### **1.8.5 Fármacos comúnmente empleados para el tratamiento de la epilepsia**

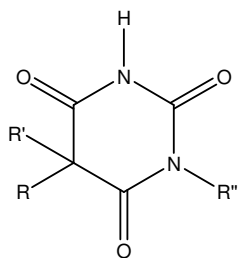
Diversas clases de fármacos antiepilépticos comparten algunos aspectos estructurales comunes. Los grupos químicos principales a las cuales pertenecen estas drogas son: barbitúricos (que pueden clasificarse como pirimidintrionas), pirimidindionas, oxazolidindionas, succinimidias, hidantoínas y acetilureas. Estos grupos tienen en común una estructura de anillo heterocíclico similar, con diversos sustituyentes. Para los fármacos con esta estructura básica, los sustituyentes en el anillo heterocíclico determinan la clase farmacológica, ya sea contra electrochoque máximo (ECM) o contra pentiléntetrazol (PTZ). Muy pequeños cambios en la estructura pueden alterar de manera importante el mecanismo de acción y las propiedades clínicas de un compuesto. Los fármacos restantes (carbamacepina, ácido valproico, y benzodiacepinas) son estructuralmente distintos.

Algunos de estos farmacos son convertidas metabólicamente en otro. Por ejemplo, el metilfenobarbital es desmetilado dando el fenobarbital, la primidona se oxida dando fenobarbital y la metoína es desmetilada dando la metetoína.

Tabla 2 Fármacos Antiepilepticos

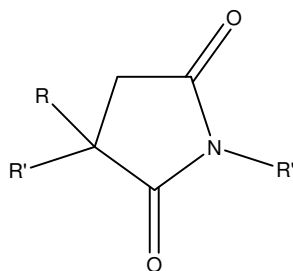
FARMACOS	TIPO DE EPILEPSIA	MECANISMO DE ACCIÓN	EFECTOS INDESEABLES Y TOXICOS
Fenobarbital	crisis Tónico-clónicas psicomotora	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Antagoniza las convulsiones inducidas por PTZ.</li> <li>-Potenciación de la inhibición mediada por GABA como la reducción de la excitación mediada por glutamato.</li> <li>-Suprime de modo selectivo las neuronas anormales, inhibiendo la diseminación y suprimiendo la descarga desde los focos, aumentando el umbral para las crisis o inhibiendo el proceso del encendido.</li> <li>-Bloquean las corrientes de <math>Ca^{++}</math> (tipos N y L).</li> </ul>	Somnolencia, depresión, cefalea, trastornos visuales, reacciones cutáneas alérgicas, discrasias sanguíneas, enfermedad hemorrágica neonatal, deficiencia de vitamina D.
Primidona	Convulsiones parciales, Tónico-clónicas generalizadas.	Similar al fenobarbital.	Somnolencia, ataxia, náuseas, vómitos, vértigo, irritabilidad, cefalea, trastornos visuales, erupciones cutáneas. Edema, trastorno de la función sexual. Anemia megaloblástica que responde al ácido fólico.
Fenitoína	Convulsiones parciales, Tónico-clónicas generalizadas.	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Cuenta con actividad litante contra crisis inducidas por ECH y antagoniza contra PTZ.</li> <li>-Altera las conductancias de <math>Na^+</math>, <math>K^+</math>, y <math>Ca^{++}</math>, los potenciales de membrana y las concentraciones de los aminoácidos y de los neurotransmisores.</li> <li>-Efecto estabilizador en las membranas neuronales, incluyendo equilibrios de los nervios periféricos, dando como resultado el aumento del umbral.</li> <li>-Causa la hiperpolarización y la disminución de la potenciación posttétrica.</li> <li>- Facilita la conductancia del cloro mediada por el GABA en la membrana postsináptica.</li> </ul>	Vértigo, sedación, náuseas, exantemas, cutáneas, temblores, fiebre, ataxia, confusión mental, discrasias sanguíneas, enfermedad hemorrágica neonatal, deficiencia de vitamina D.

Figura 4. Estructura química de algunos fármacos antiepilépticos.



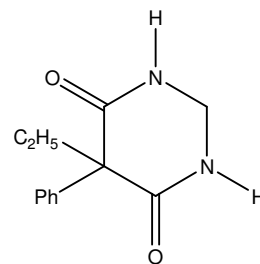
BARBITÚRICOS

Fenobarbital: R=ET, R'=Ph, R''=H  
 Metilfenobarbital : R=ET, R'=Ph, R''=Me  
 Metabarbital : R=ET, R'=Et, R''=Me



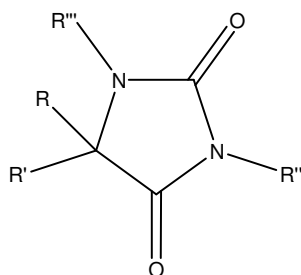
SUCCINIMIDAS

Fenosuximida: R=H, R'=Ph, R''=Me  
 Metsuximida: R=Me, R'=Ph, R''=Me  
 Etosuximida: R=Me, R'=Et, R''=H



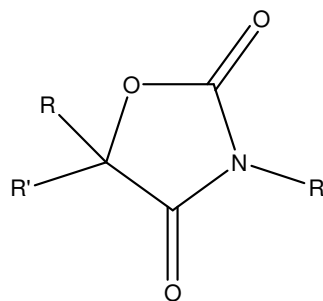
PIRIMIDINDIONA

Primidona



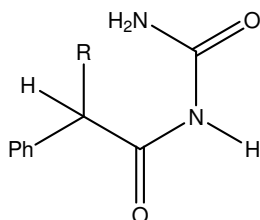
HIDANTOÍNAS

Fenitoína: R=R'=Ph, R''=R'''=H  
 Metoína: R=Et, R'=Ph, R''=Me, R'''=H  
 Etotoína: R=R'=Ph, R''=Et, R'''=H  
 Metetoína Mesoantoína: R=R'=Ph, R''=H, R'''=Me



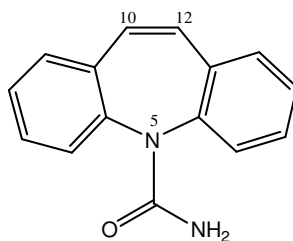
OXAZOLIDINDIONAS

Trimetadiona: R=R'=R''=Me  
 Parametadiona: R=Me, R'=Et, R''=Me



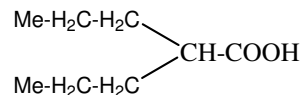
ACILUREAS

Fenacemida: R=H  
 Feneturida: R=Et



DIBENZACEPINA

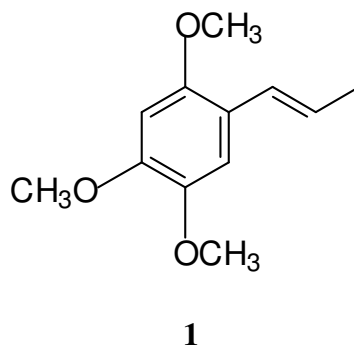
Carbamacepina



DIPROPILACETATO

Ácido valproico

### 1.9 $\alpha$ -Asarona



**Figura 5. Estructura química de  $\alpha$ -Asarona**

La  $\alpha$ -asarona, 2,4,5-trimetoxipropenilbenceno (**1**) es el componente activo de la planta *Guatteria gaumeri* Greenman (fig.6), la cual es utilizada en medicina tradicional de Yucatán, para el tratamiento efectivo de la hipocolesterolemia y la coleditiasis (Martinez, 1992); así mismo, se reporta que ha sido usada para tratar estados epilépticos con resultados satisfactorios, habiéndose aislado de la fracción aceitosa volátil de *Acorus gramineus* (fig. 7), una hierba medicinal usada en China (Chen, 1984); en otro estudio se reporta la actividad tranquilizante de **1** (Dandiya et al., 1965) y su posible mecanismo (Menon et. al., 1967). Aunado a esto se ha reportado que **1** presenta además propiedades como nematocida, insecticida, antimicótico (Momin, et. al., 2002), propiedades antirombóticas (Poplawsky, et. al. 2000), y propiedades analgésicas (da Silva, et. al., 2004).

**1** fue aislada de la *Guatteria gaumeri* por Mandoki y cols., en 1980 y por Jiménez y cols., en 1984. el efecto hipocolesterolemia de **1** fue estudiado utilizando el extracto hidroalcohólico de *Guatteria gaumeri*, empleando perros, los cuales fueron administrados durante 30 días con dosis de 0.15 y 0.25 mL/kg, observándose un descenso significativo del colesterol sérico de los animales tratados con respecto a los que únicamente fueron administrados con el vehículo (Sánchez et. al., 1980).



**Figura 6** *Guatteria gaumeri*



**Figura 7** *Acorus gramineus*

Posteriormente se reportaron resultados hipolipidémicos satisfactorios en un estudio empleando conejos en los cuales, resultó disminuido el colesterol, y las lipoproteínas de baja densidad (LDL), y de alta densidad (HDL). Este efecto fue probado en pacientes hipercolesterolémicos, reportándose disminución significativa en los niveles de colesterol sérico (Sánchez et. al., 1985).

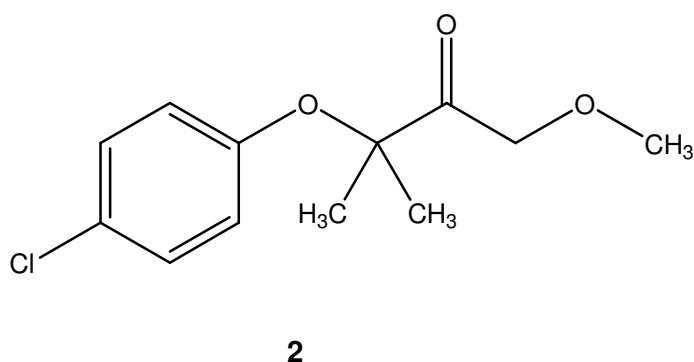
Garduño y cols., (1997), reportan los resultados de un estudio realizado en ratones alimentados con dieta hiperlipidémica, en los cuales disminuyó el colesterol sérico en 49.6% y los triglicéridos un 83.7%.

Sobre su mecanismo de acción hipocolesterolemiante se reporta que **1** inhibe la enzima 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A (**HMG-CoA**) reductasa hepática e induce el incremento del flujo biliar, así como la disminución del índice de saturación del colesterol (CSI), lo cual podría explicar sus efectos hipocolesterolémicos y colelitiásicos (Rodríguez-Páez et. al., 2003)

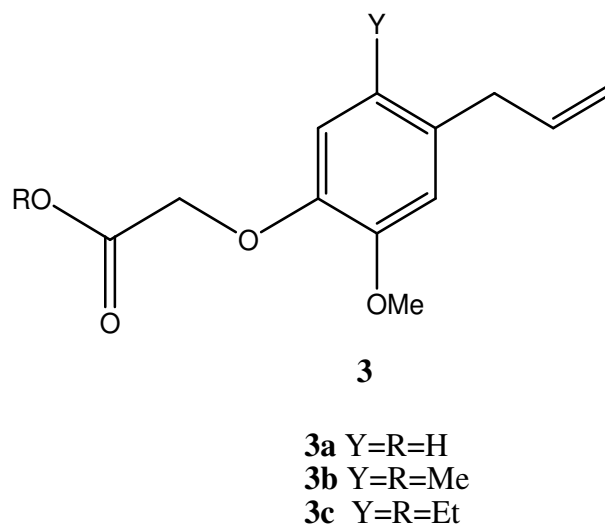
En cuanto a sus propiedades anticonvulsionantes **1** fue empleada en el tratamiento de pacientes en estado epiléptico, obteniéndose resultados satisfactorios en un 83.3% de los casos tratados, considerando en el mismo que posiblemente la acción de **1** se deba a la inhibición de la acetilcolina (Chen, 1984).

Sin embargo en los estudios realizados con **1** se han reportado alteraciones morfológicas hepáticas, acumulación de triacilglicérols e inhibición de síntesis de proteínas y secreción (López et. al., 1993). La secreción de proteínas fue la indicación más sensible de toxicidad. Estos resultados sugirieron plantear síntesis y evaluación de derivados de **1** (Muñoz et. al., 1993; Chamorro et. al., 1998). Los resultados de los experimentos con estos nuevos análogos, con ratones sugirieron que la conjugación de la cadena propenilica con el anillo aromático no tiene efecto significativo con el perfil farmacológico de **1**.

Con el propósito de establecer la relación estructura-actividad de éstos análogos y además estudiar el efecto del grupo metoxi en C-2 en la actividad hipolipidémica de éstos análogos inicialmente solo se consideraron sus propiedades farmacológicas por lo que fue de interés la serie **3a-3c** (Fig. 9) de derivados fenoxiacéticos relacionados a la vez con **1** y con los fibratos (**2**) (Fig. 8) los cuales son un grupo de fármacos hipolipemiantes que ya se encuentran en el mercado. (Labarrios et. al., 1999).



**Figura 8. Estructura química del Clofibrato**



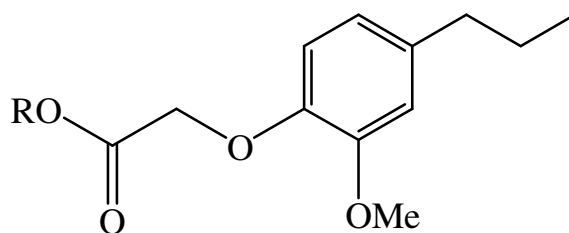
**Figura 9. Estructura química de la serie 3a-3c**

La evaluación de posible actividad hipocolesterolémica realizada en ratones mostró que de los compuestos de la serie **3a-3c** el compuesto ácido **3a** redujo



significativamente los niveles plasmáticos de colesterol y triglicéridos. Nuevamente los resultados sugieren que la conjugación de la cadena propenónica con el anillo aromático en **1** no afecta significativamente el perfil farmacológico de éstos análogos.

Otra serie que preparó Labarrios et al., es la de **4a** - **4c** obteniendo las siguientes estructuras:

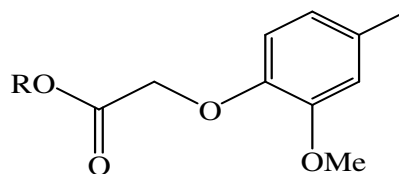


**4**

**4a** R= H  
**4b** R= Me  
**4c** R= Et

**Figura 10. Estructura química de la serie 4a-4c**

Posteriormente Cruz et al., (2004) sintetizan otras series de análogos entre los cuales se encuentran los compuestos **5a-5c** que también exhibieron actividad hipocolesterolemia significativa.



**5**

**5a** R= H  
**5b** R= Me  
**5c** R= Et

**Figura 11. Estructura química de la serie 5a-5c**

Las estructuras **4a-4c** y **5a-5c**, se pueden considerar como derivados de la  $\alpha$ -asarona relacionados **2**, puesto que presentan el sustituyente fenoxiacético.

Se encuentran un gran número de modernas drogas antiepilépticas disponibles para el tratamiento de pacientes epilépticos, sin embargo los efectos adversos aún no son controlados en aproximadamente el 20% de estos pacientes. Respuestas desfavorables en algunos individuos, incluyendo severas reacciones a las drogas y una pobre respuesta a la acción esperada de las drogas disponibles, indican la necesidad de desarrollar nuevas alternativas para contar con nuevas drogas.

## 2 JUSTIFICACIÓN

**1** principio activo de la *Guatteria gaumeri*, ha demostrado ser eficaz como agente hipocolesterolémico y colelitiásico. Aunado a esto ha presentado actividad sobre el Sistema Nervioso Central como antiepiléptico tanto a nivel experimental como en seres humanos. Sin embargo se ha encontrado que **1** causó algunos efectos hepatotóxicos, por lo que se han desarrollado nuevos análogos estructurales que conserven las actividades mencionadas y que tengan el mínimo de toxicidad, y a la vez establecer su posible actividad anticonvulsionante.

En base a los antecedentes de **1**, en el presente trabajo se estudia la actividad anticonvulsionante de los compuestos derivados **4a-4c** y **5a-5c** **1** relacionados con los fibratos.

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 OBJETIVO GENERAL**

Evaluar la posible actividad anticonvulsionante de las series **4a-4c** y **5a-5c** análogos de **1** relacionados a los fibratos.

#### **3.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS**

- a.-** Escalar los compuestos de las series **4a-4c** y **5a-5c**, para obtener la cantidad necesaria y poder realizar las pruebas anticonvulsionantes.
- b.-** Evaluar la posible actividad anticonvulsionante de los compuestos sintetizados en ratón macho de cepa ICR por el método de PTZ.

## 4 DESARROLLO EXPERIMENTAL

### 4.1 Escalamiento de compuestos

Los espectros de Resonancia magnética nuclear protónica (**RMN <sup>1</sup>H**) a 300 MHz y de carbono -13 (**RMN <sup>13</sup>C**) a 75.4 MHz se corrieron en un espectrómetro **VARIAN MERCURY 300**, empleando como disolvente deuterocloroformo (CDCl<sub>3</sub>) con tetrametilsilano (TMS) como referencia interna. Los desplazamientos químicos ( $\delta$ ) están dados en partes por millón (ppm).

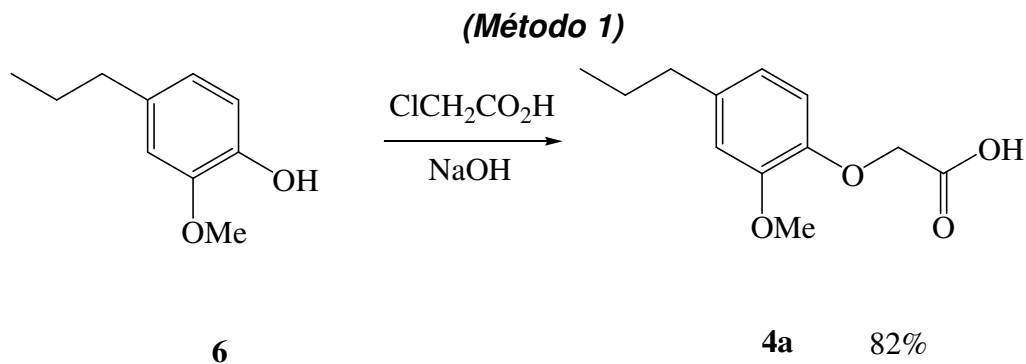
La determinación de los puntos de fusión se realizó en un aparato **Electrothermal** de capilar y son reportados sin corrección.

Nota: Los reactivos utilizados son químicamente puros.

#### 4.1.1 Preparación de los compuestos 4a-4c.

La obtención de los compuestos **4a-4c** se llevó a cabo de acuerdo a los esquemas 1 y 2. El tratamiento de **6** con hidróxido de sodio y ácido monocloroacético permitió obtener el ácido correspondiente (método 1). Este último se esterificó mediante catálisis ácida para obtener rendimientos aceptables de **4b** y **4c** (método 2).

#### **Esquema 1 Reacción para la obtención del ácido fenoxiacético 4a.**



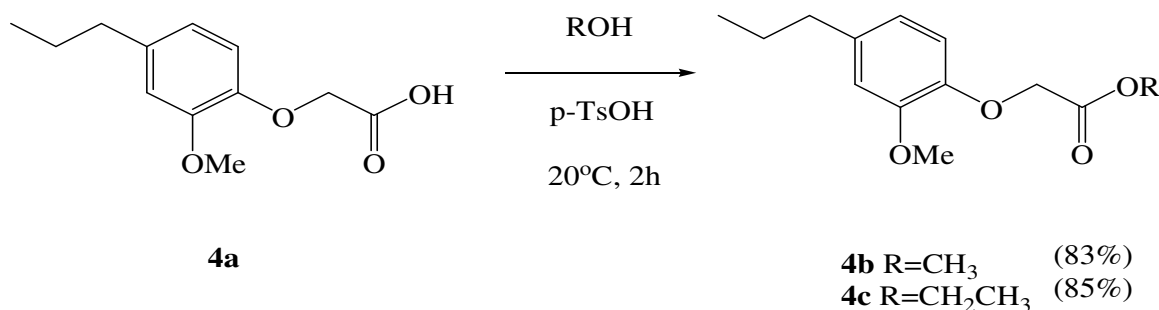
### 1) Procedimiento para la obtención del Ácido 2-metoxi-4-propilfenoxiacético **4a**.

A 4.52 g (27.21 mmol) de 4-propil-2-metoxifenol (**6**) se adicionaron lentamente a temperatura ambiente 2.2 g (54.42 mmol) de NaOH disueltos en 16.0 mL de agua, posteriormente se adicionaron 2.8 g (29.93 mmol) de ácido monocloroacético disuelto en 16.0 mL de agua. Esta mezcla se mantuvo en agitación magnética y se calentó a 55° C durante 7h; se dejó enfriar a temperatura ambiente y se adicionó gota a gota una solución de HCl al 36% hasta un pH=2. A este pH se formó un precipitado, el cual se filtró y se purificó por recristalización con una mezcla hexano/AcOEt, 8:2 dando 5.0 g (82%) de **4a** como un sólido de blanco, p.f. 130-132; R.f. 0.78 (hexano/AcOEt/AcOH, 1:1:0.1).

<sup>1</sup>H RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 6.83 (dm, *J*=8.0 Hz, 1H, H-6), 6.75 (d, *J*=1.9 Hz, 1H, H-3), 6.72 (dd, *J*=8.0, 1.9 Hz, 1H, H-5), 6.40 (br, 1H, CO<sub>2</sub>), 5.94 (m, 1H, ArCH<sub>2</sub>CH=), 5.07 (dm, *J*=11.0 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>=), 4.68 (s, 2H, CH<sub>2</sub>O), 3.87 (s, 3H, CH<sub>3</sub>O), 3.33 (dm, *J*=6.7 Hz, 2H, ArCH<sub>2</sub>CH=).

<sup>3</sup>C RMN (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 40.0 (C-10), 56.0 (C-7), 67.6 (C-8), 112.8 (C-3), 116.1 (C-12), 116.1 (C-12), 116.3 (C-6), 121.0 (C-5), 135.8 (C-4), 137.2 (C-11), 145.6 (C-1), 149.6 (C-2), 172.6 (C-9); MS (70 eV) *m/z* 222 (M<sup>+</sup>, 100), 207 (1), 163 (40), 147 (7), 131(11), 115 (13), 107 (17), 103 (28), 91 (22), 77 (12).

#### Esquema 2. Reacción para la obtención de los ésteres **4b** y **4c**. (Método 2)



## 2) Procedimiento para la obtención del 4-propil-2- metoxifenoxiacetato de metilo **4b**.

Se mezclaron 5.6 g (24.99 mmol) de **4a** con 0.48 g (2.83 mmol) de ácido p-toluensulfónico y 23 mL de metanol. Se obtuvieron 5.0 g (83%) de **4b** como un líquido aceitoso incoloro, R.f. 0.45 (hexano/AcOEt, 8:2).

$^1\text{H}$  RMN (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  6.76 (d,  $J=1.9$  Hz, 1H, H-3), 6.68 (dd,  $J=8.1, 1.9$  Hz, 1H, H-5), 5.94 (ddt,  $J=16.8, 10.2, 6.7$  Hz, 1H,  $\text{ArCH}_2\text{CH}=\text{}$ ), 5.09 (dm,  $J=16.8$  Hz, 1H, Z- $\text{CH}_2=\text{}$ ), 5.07 (dm,  $J=10.2$  Hz, 1H, E- $\text{CH}_2=\text{}$ ), 4.67(s, 2H,  $\text{CH}_2\text{O}$ ) (m, 1H,  $\text{ArCH}_2\text{CH}=\text{}$ ), 5.07 (dm,  $J=11.0$  Hz, 1H,  $\text{CH}_2=\text{}$ ), 4.68, (s, 2H,  $\text{OCH}_2$ ), 3.86 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 3.78 (s, 3H,  $\text{CO}_2\text{CH}_3$ ), 3.33 (da,  $J=6.7$  Hz, 2H,  $\text{ArCH}_2$ )

$^{13}\text{C}$  RMN (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  40.0 (C-11), 52.2 (C-10), 55.9 (C-7), 67.1 (C-8), 113.0 (C-3), 115.0 (C-6), 116.0 (C-13), 121.8 (C-5), 134.9 (C-4), 137.5 (C-12), 145.8 (C-1), 149.8 (C-2), 170.0 (C-9); MS (70 eV)  $m/z$  236 ( $\text{M}^+$ , 100), 221 (1), 209 (2), 177 (12), 163(56), 131 (22), 115 (26), 103 (42), 91 (37), 77 (20).

## 3) Procedimiento para la obtención del 4-propil-2- metoxifenoxiacetato de etilo **4c**

Se mezclaron 5.4 g (24.09 mmol) de **4a**, 0.47 g (2.73 mmol) de ácido p-toluensulfónico y 32 mL de etanol. Se obtuvieron 5.1 g (85%) de **4c** como un líquido viscoso incoloro, R.f. 0.48 (hexano/AcOEt, 8:2).

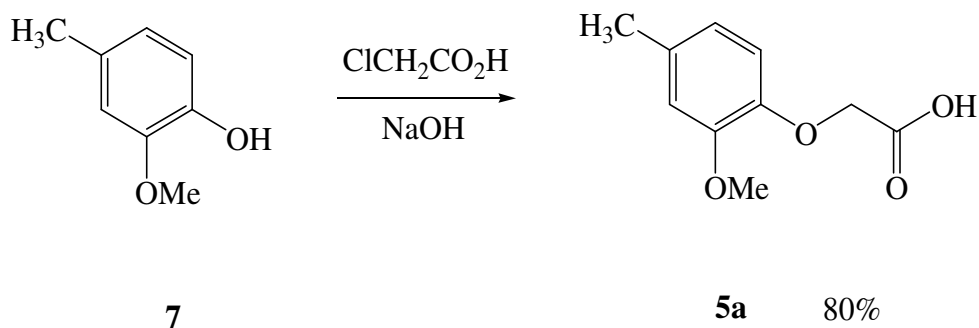
$^1\text{H}$  RMN (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  6.77 (d,  $J=8.2$  Hz, 1H, H-6), 6.74 (d,  $J=1.8$  Hz, 1H, H-3), 6.69 (d,  $J=8.2, 1.8$  Hz, 1H, H-5), 5.95, (ddt,  $J=16.7, 10.2, 6.6$  Hz, 1H,  $\text{ArCH}_2\text{CH}=\text{}$ ) 5.09, (ddt,  $J=16.7, 3.4, 1.4$  Hz, 1H, Z- $\text{CH}_2=\text{}$ ), 5.07, (ddt,  $J=10.2$  Hz, 3.3, 1.4 Hz, 1H, E- $\text{CH}_2=\text{}$ ), 4.67(s, 2H,  $\text{OCH}_2$ ), 4.26 (q,  $J=7.1$  Hz, 2H,  $\text{CO}_2\text{CH}_2$ ), 3.86, (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 3.34 (br d,  $J=6.6$  Hz, 2H,  $\text{ArCH}_2$ ), 1.28, (t,  $J=7.1$  Hz, 3H,  $\text{COCH}_2\text{CH}_3$ ).

$^{13}\text{C}$  RMN (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  14.2 (C-11), 39.8 (C-12), 55.9 (C-7), 61.2 (C-10) 67.0 (C-8), 112.8 (C-3), 114.9 (C-6), 115.8 (C-14), 120.5 (C-5), 134.6 (C-4), 137.5 (C-13), 145.8 (C-1), 149.7 (C-2), 169.2 (C-9); MS (70 eV)  $m/z$  250 ( $\text{M}^+$ , 100), 235 (1), 223 (2), 178 (19), 163(85), 147 (8), 131 (30), 115 (29), 103 (46), 91 (36).

#### 4.1.2 Preparación de los compuestos 5a-5c.

Para la preparación de los compuestos **5a-5c** se llevó a cabo el mismo procedimiento de acuerdo al esquema 1 y 2, solo que en este caso se trata **7** con hidróxido de sodio y ácido monocloroacético el cual permite obtener el ácido correspondiente (método 1). El **5a** se esterificó mediante catálisis ácida para obtener buenos rendimientos de **5b** y **5c** (método 2).

#### Esquema 3. Reacción para la obtención del ácido fenoxiacético 5a. (Método 1)



#### 1) Procedimiento para la obtención del Ácido 2-metoxi-4- metilfenoxiacético 5a

A 4.4 g (31.86 mmol) de 4 metil-2-metoxifenol (**7**) se adicionaron lentamente a temperatura ambiente 2.5 g (63.72 mmol) de NaOH disueltos en 18.0 mL de agua, posteriormente se adicionaron 3.3 g (35.05 mmol) de ácido monocloroacético disuelto en 18.0 mL de agua. Esta mezcla se mantuvo en agitación magnética y se calentó a 55 $^{\circ}$  C durante 7h se dejó enfriar a temperatura ambiente y se adiciono gota

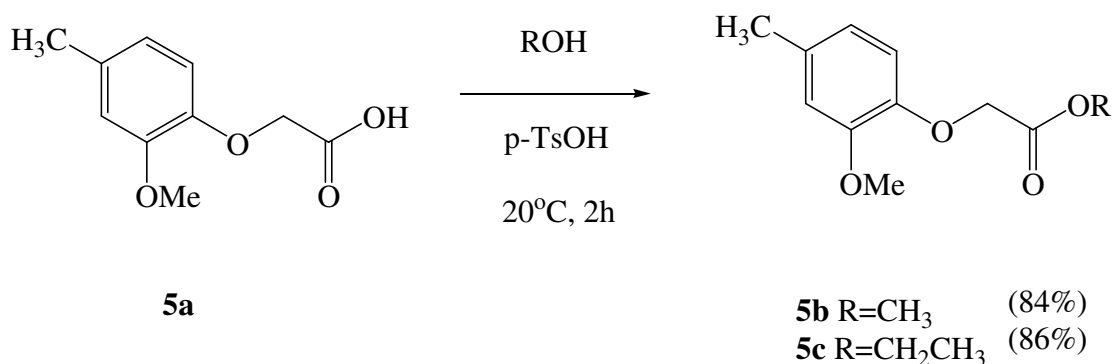


a gota una solución de HCl al 36% hasta un pH=2, se formó un precipitado. Se filtró el precipitado formado y éste se purificó por recristalización de una mezcla hexano/AcOEt, 8:2 dando 5.0 g (80%) de **5a** como un sólido ligeramente rosa pálido, p.f. 121-122° C; R.f. 0.35 (hexano/AcOEt/AcOH, 1:1:0.1).

<sup>1</sup>H RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 2.28 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.84 (s, 3H, CH<sub>3</sub>O), 4.64 (s, 2H, CH<sub>2</sub>O), 6.67 (br d, J=8.1 Hz, 1H, H-5), 6.71 (br s, 1H, H-3), 6.77 (d, J=8.1 Hz, 1H, H-6), 10.58 (br s, 1H, CO<sub>2</sub>H).

<sup>13</sup>C RMN (75.4 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 21.0 (CH<sub>3</sub>), 55.7 (OCH<sub>3</sub>), 67.3 (OCH<sub>2</sub>), 113.0 (C-6), 115.8 (C-3), 121.0 (C-5), 133.2 (C-4), 144.7 (C-1), 149.3 (C-2), 173.8 (CO<sub>2</sub>H); MS (70 eV) m/z 196 (M<sup>+</sup>, 100), 137 (82), 109 (35), 91 (23), 77(13).

**Esquema 4 Reacción para la obtención de los ésteres 5b y 5c. (Método 2)**



**2) Procedimiento para la obtención de 4-metil-2- metoxifenoxiacetico de metilo (5b)**

Se mezclaron 4.8 g (24.78 mmol) de **5a**, 0.48 g (2.82 mmol) de ácido p-toluensulfónico y 23 mL de metanol. Se obtuvieron 4.4 g (84%) de **5b** como un líquido aceitoso incoloro. Rf 0.4 (hexano/AcOEt, 8:2).

$^1\text{H}$  RMN (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  2.30 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.78 (s, 3H,  $\text{CO}_2\text{CH}_3$ ), 3.86 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ) 4.66 (s, 2H,  $\text{CH}_2\text{O}$ ), 6.67 (br d,  $J=8.0$  Hz, 1H, H-5), 6.70-6.77 (m, 2H, H-3 H-6).

$^{13}\text{C}$  RMN (75.4 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  20.9 ( $\text{CH}_3$ ), 52.1 ( $\text{CO}_2\text{CH}_3$ ), 55.7 ( $\text{OCH}_3$ ), 66.6 ( $\text{OCH}_2$ ), 112.9 (C-6), 114.3 (C-3), 120.7 (C-5), 132.3 (C-4), 144.8 (C-1), 149.2 (C-2), 169.6 ( $\text{CO}_2\text{CH}_3$ ); MS (70 eV)  $m/z$  210 ( $\text{M}^+$ , 100), 151 (18), 137 (98), 136 (33), 109 (54), 77 (27).

### 3) Procedimiento para la obtención de 4-metil-2-metoxifenoxiacético de etilo (5c)

Se mezclaron 5.6 (28.55 mmol) de **5a**, 0.56 (3.24 mmol) de ácido p-toluensulfónico y 38 mL de etanol. Se obtuvieron 4.4g (86%) de **5c** como un líquido viscoso incoloro. Rf 0.42 (hexano/AcOEt, 8:2).

$^1\text{H}$  RMN (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  2.28 (s, 3H,  $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 2.30 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.86 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ) 4.25 (q,  $J=7.2$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 4.64 (s, 2H,  $\text{CH}_2\text{O}$ ), 6.65 (br d,  $J=8.1$  Hz, 1H, H-5), 6.71-6.78 (m, 2H, H-3, H-6).

$^{13}\text{C}$  RMN (75.4 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  14.1 ( $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 21.0 ( $\text{ArCH}_3$ ), 55.7 ( $\text{OCH}_3$ ), 61.2 ( $\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 66.7 ( $\text{OCH}_2$ ), 113.8 (C-6), 114.5 (C-3), 120.7 (C-5), 132.2 (C-4), 145.0 (C-1), 149.3 (C-2), 169.2 ( $\text{CO}_2\text{Et}$ ), MS (70 eV)  $m/z$  224 ( $\text{M}^+$ , 72), 151 (23), 137 (100), 136 (59), 109 (52), 91 (54), 77 (28), 65 (22).

#### 4.3. Evaluación del efecto anticonvulsivo de los compuestos de las series 4a-4c y 5a-5c por el método de PTZ.

- Se utilizaron ratones machos de cepa ICR (Institute of Cancerology Research), con un peso aproximado de 25-30g.
- Se acondicionaron los animales en jaulas de acrílico con soporte de aserrín, con libre acceso de agua y alimento bajo temperatura regulada de

## DESARROLLO EXPERIMENTAL

22 ± 2º C, humedad relativa de 50 ± 10% y ciclos luz/oscuridad de 12 h. Estas condiciones se mantuvieron durante una semana.

- Se administraron los compuestos por vía oral 60 minutos antes del convulsionante (PTZ), con una dosis de 160 mg/Kg.
- Los animales se distribuyeron aleatoriamente en 22 lotes con 6 animales cada uno.

**Tabla 3 Distribución de ratones en lotes para el tratamiento**

Número de Lote	Tratamiento
1	tween 80% + solución salina 0.9 % (control)
2	α-asarona (dosis 2) + tween 80% + solución salina 0.9% (testigo)
3	α-asarona (dosis 3) + tween 80% + solución salina 0.9% (testigo)
4	PTZ 160 mg/kg + tween 80% + solución salina 0.9 %
5	Ácido 2-metoxi-4-propilfenoxiacético (dosis 1) + tween 80% + solución salina 0.9%
6	Ácido 2-metoxi-4-propilfenoxiacético (dosis 2)+ tween 80% + solución salina 0.9%
7	Ácido 2-metoxi-4-propilfenoxiacético (dosis 3) + tween 80% + solución salina 0.9%
8	4-propil-2- metoxifenoxiacetato de metilo (dosis 1) + tween 80% + solución salina 0.9%
9	4-propil-2- metoxifenoxiacetato de metilo (dosis 2) + tween 80% + solución salina 0.9%

## DESARROLLO EXPERIMENTAL

10	4-propil-2- metoxifenoxiacetato de metilo (dosis 3) + tween 80% + solución salina 0.9%
11	4- propil -2- metoxifenoxiacetato de etilo (dosis 1) + tween 80% + solución salina 0.9%
12	4- propil -2- metoxifenoxiacetato de etilo (dosis 2) + tween 80% + solución salina 0.9%
13	4- propil -2- metoxifenoxiacetato de etilo (dosis 3) + tween 80% + solución salina 0.9%
14	ácido 4- metil-2 –metoxifenoxiacetico (dosis 1) + tween 80% + solución salina 0.9%
15	ácido 4- metil-2 –metoxifenoxiacetico (dosis 2) + tween 80% + solución salina 0.9%
16	ácido 4- metil-2 –metoxifenoxiacetico (dosis 3) + tween 80% + solución salina 0.9%
17	4- metil -2- metoxifenoxiacetato de metilo (dosis 1) + tween 80% + solución salina 0.9%
18	4- metil -2- metoxifenoxiacetato de metilo (dosis 2) + tween 80% + solución salina 0.9%
19	4- metil -2- metoxifenoxiacetato de metilo (dosis 3) + tween 80% + solución salina 0.9%
20	4- metil -2- metoxifenoxiacetato de etilo (dosis 1) + tween 80% + solución salina 0.9%
21	4- metil -2- metoxifenoxiacetato de etilo (dosis 2) + tween 80% + solución salina 0.9%
22	4- metil -2- metoxifenoxiacetato de etilo (dosis 3) + tween 80% + solución salina 0.9%

**Dosis 1 = 25 mg/Kg    Dosis 2 = 50 mg/Kg    Dosis 3= 100 mg/K**

## DESARROLLO EXPERIMENTAL

El pentiléntetrazol se disolvió en solución salina 0.9% y se administró por vía intraperitoneal en un volumen constante de 10 ml/Kg de peso.

Se utilizó la dosis convulsiva CD (160 mg/kg en ratón); los animales se observaron 60 minutos después de la administración del PTZ para descartar la presencia o ausencia de espasmos clónicos persistentes por 5 segundos. La ausencia de la convulsión clónica indicó que el compuesto en estudio protegió contra PTZ y elevó el umbral convulsivo.

El análisis estadístico se realizó con el programa **SigmaStat 2.03**. De acuerdo a la naturaleza de los resultados utilizando la siguiente prueba "t de student", para establecer si existe diferencia significativa entre el grupo testigo y el lote en estudio, tomando como nivel de significancia  $P < 0.01$ . Esta prueba se utilizó para:

- a) el período de latencia a la convulsión clónica

Con respecto al número de animales muertos se reporta el:

- b) % de muertes en cada grupo.

## 5 RESULTADOS

### 5.1 Síntesis de la serie 4a-4c

La preparación de los compuestos **4a-4c**, se realizó en base a los esquemas 1 y 2. Los compuestos sintetizados se encuentran reportados en la literatura por Labarrios et. al., (1999). Experimentalmente el rendimiento obtenido de **4a** fue de 82% como un sólido blanco, P.f. 97-99 °C, R.f. 0.62 (hexano/AcOEt/ACOH 1.1:0.1)

El derivado metilado **4b** se obtuvo con un rendimiento de 85% como un líquido aceitoso incoloro, R.f. 0.45 (hexano/AcOEt, 8:2). El derivado etilado **4c** se obtuvo como un líquido aceitoso incoloro Rf 0.48 (hexano/AcOEt, 8:2)

### 5.2 Síntesis de la serie 5a-5c

La preparación de los compuestos **5a-5c**, se llevó a cabo de acuerdo a los esquemas 1 y 2. Los compuestos sintetizados se encuentran reportados en la literatura por Cruz et. Al., (2004). Experimentalmente el rendimiento obtenido de **4a** fue de 82% como un sólido blanco, (muy ligeramente rosado) con P.f 120-122 °C, Rf 0.55 (hexano/EtOAc/AcOH, 1:1:0.1).

El compuesto **5b** fue obtenido con un rendimiento de 83% como un líquido aceitoso incoloro, Rf 0.40 (hexano/acetato 8:2). El compuesto **5c** se obtuvo como un líquido aceitoso incoloro Rf 0.45 (hexano/AcOEt, 8:2).

### 5.3 Resultados de la evaluación anticonvulsionante de los compuestos 4a-4c y 5a-5c

No se observó alteración alguna en los animales. Tampoco se notaron cambios de conducta y apariencia general de los mismos. El aspecto de las heces fue normal. Al sacrificio no se observó toxicidad aparente en ninguno de los lotes estudiados.

Los ratones tratados con el PTZ convulsionaron a los 19 segundos, se reportaron el 100 % muerto.

Los resultados correspondientes al efecto de los ácidos fenoxiacéticos **4a** y **5a**, sobre la duración del período de latencia a la primera crisis clónica en ratón se muestran en la gráfica 1 en la que se observa que el compuesto **4a** con la dosis 3, fue capaz de aumentar de manera significativa ( $P=0.010$ ) el período de latencia a la primera convulsión comparado con **1**; es decir, que este compuesto es capaz de aumentar el umbral de disparo hacia la crisis convulsiva comparado con el lote tratado con **1**, ya que prolonga la latencia a la convulsión clónica.

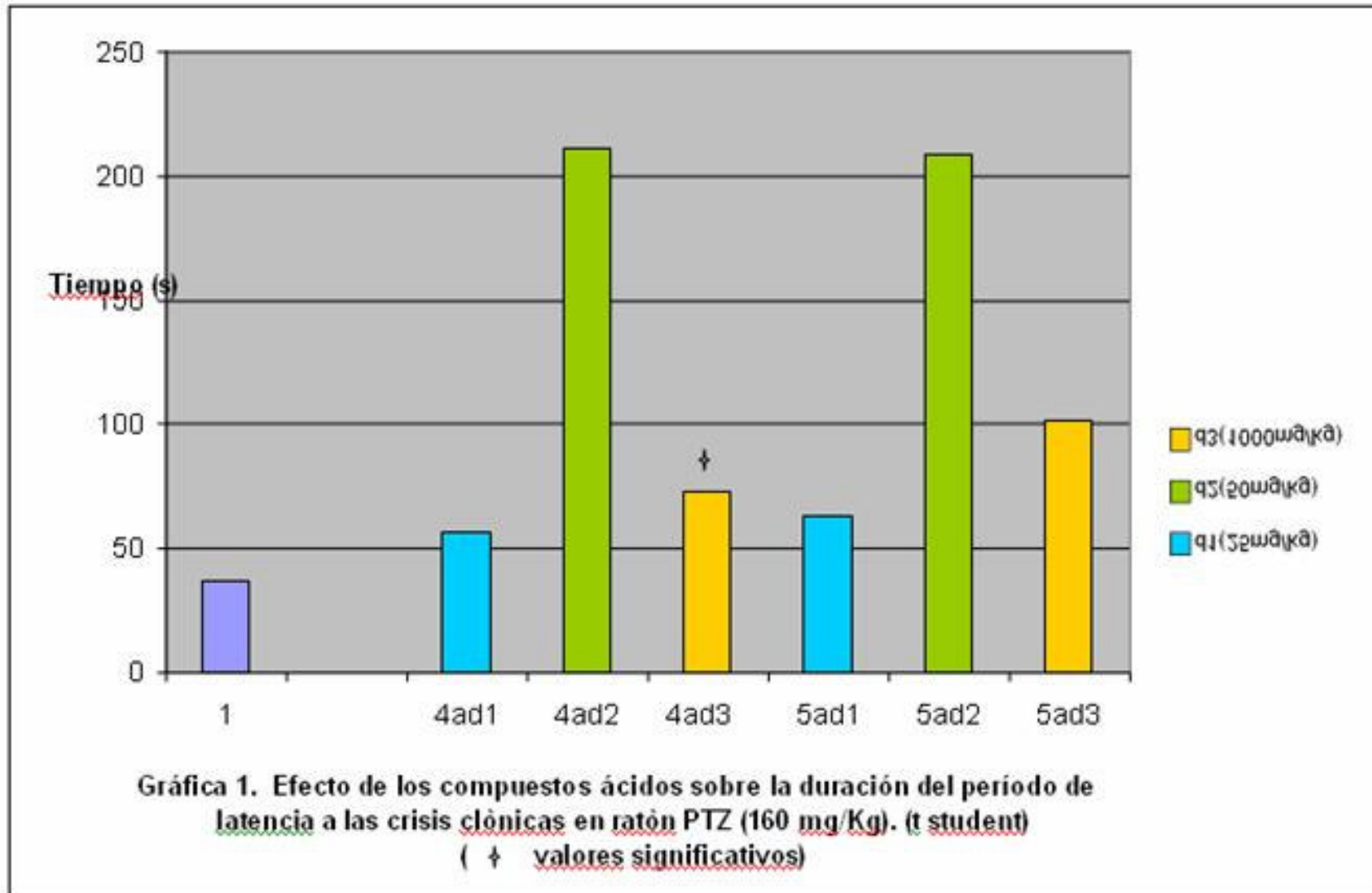
El resultado obtenido con **5a d1** y **d2**, es prometedor ya que en este derivado se ha disminuida la cadena propenilica hasta sustituirla por un metilo en la posición 4. A la vez se ha eliminado el doble enlace que contiene la cadena propenilica de **3a** que reporta García (2003) y que este doble enlace podría estar involucrado en una posible toxicidad

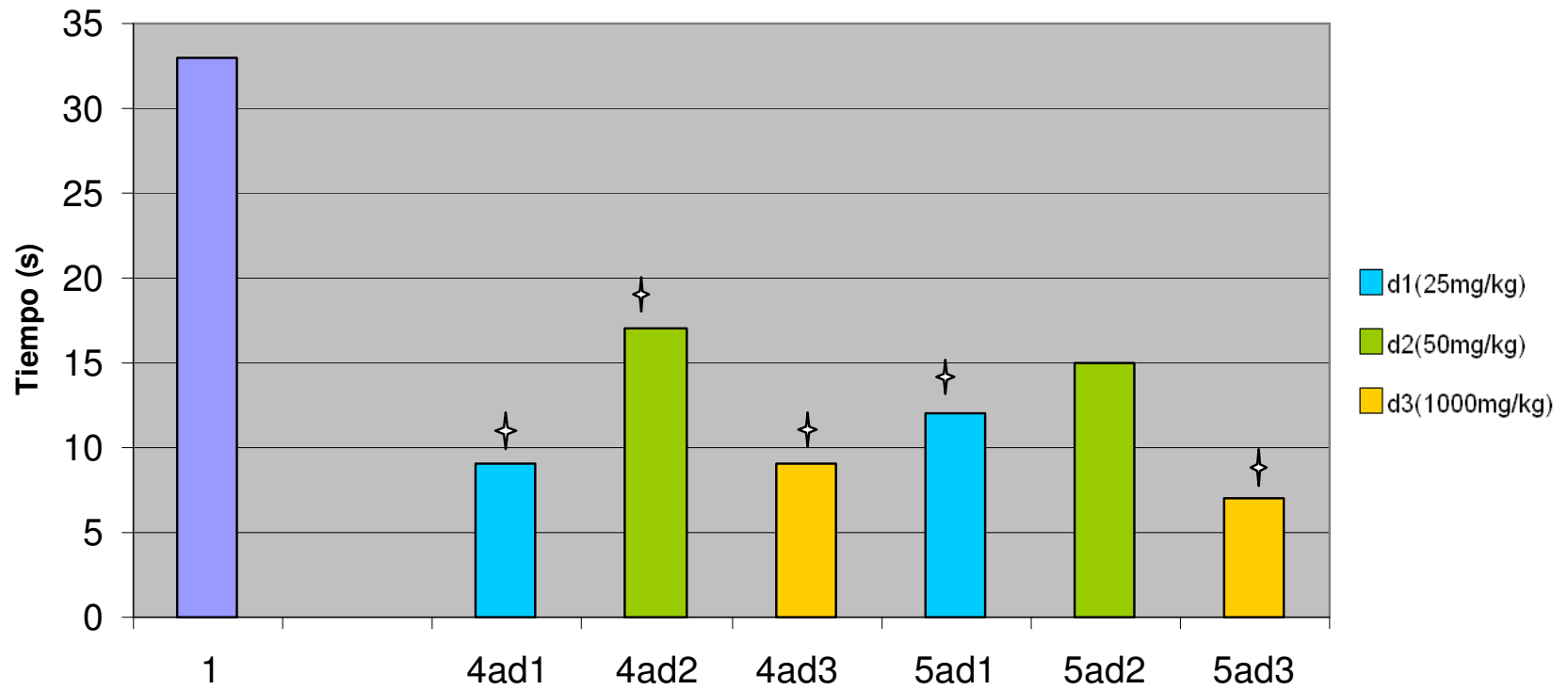
En cuanto al resultado obtenido del efecto protector de los ácidos **4a** y **5a**, sobre la duración del período de crisis convulsivas (gráfica 2) se obtienen resultados significativos con los dos ácidos, a excepción de **5a** con la dosis 2, en la cual no se ve disminuida esta duración. Los resultados obtenidos indican que estos compuestos ácidos son capaces de disminuir la duración de la convulsión aunque no evitaron las convulsiones producidas por PTZ.

## RESULTADOS

En la gráfica 3 se observa que la mayor protección de los compuestos ácidos **4a** y **5a**, contra muerte de ratón posterior a la administración del convulsivante PTZ lo presento el compuesto ácido **5a** con la dosis 3, con 66% de protección, aunque los dos compuestos ácidos (a excepción de **4a** con la dosis 2, que no presentó éste efecto protector), si presentaron efecto protector igual a 50%. Estos resultados son con respecto al efecto protector de **1**.

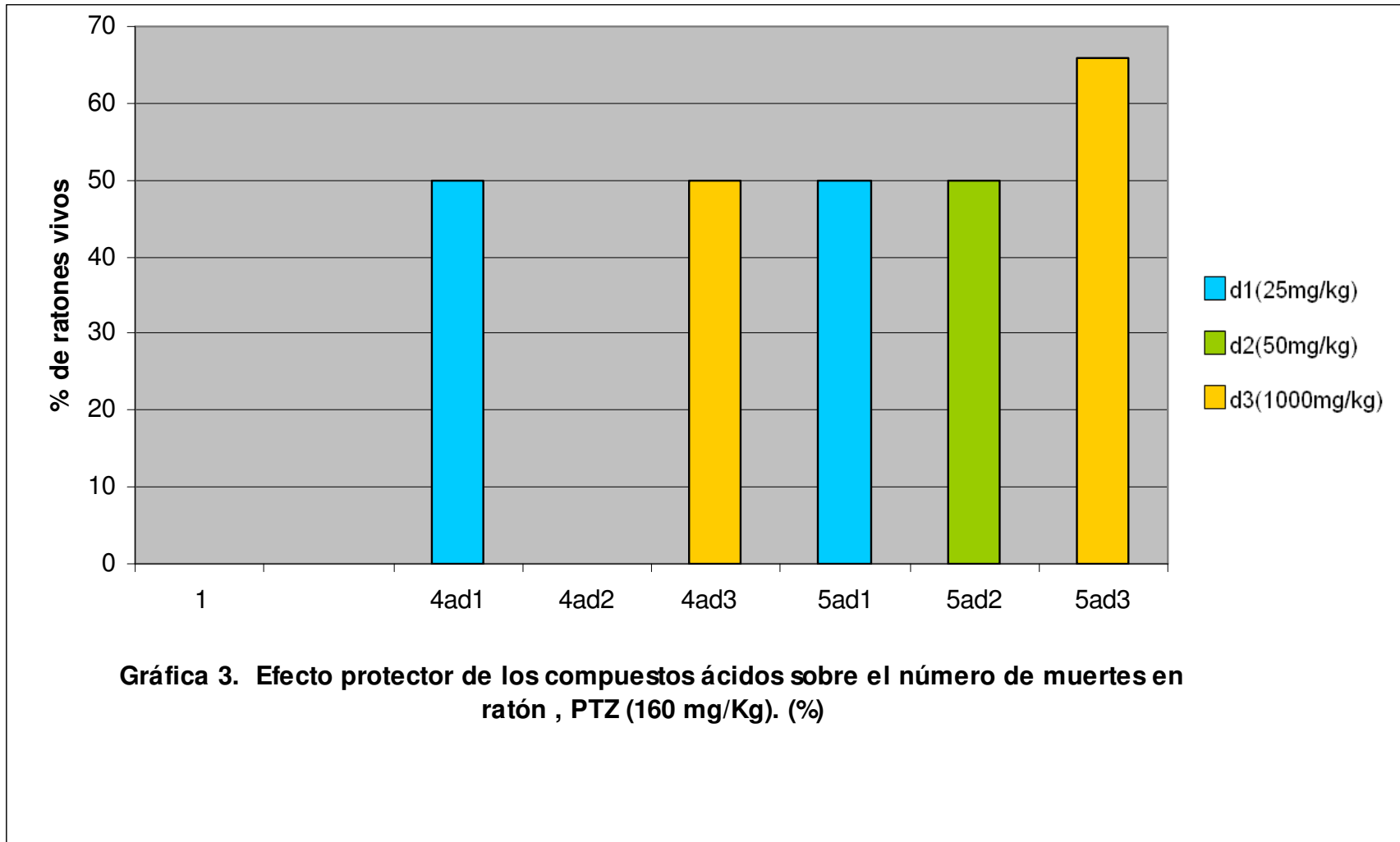






**Gráfica 2. Efecto de los compuestos ácidos sobre la duración del período de crisis convulsivas en ratón, PTZ (160 mg/Kg). (t student)**

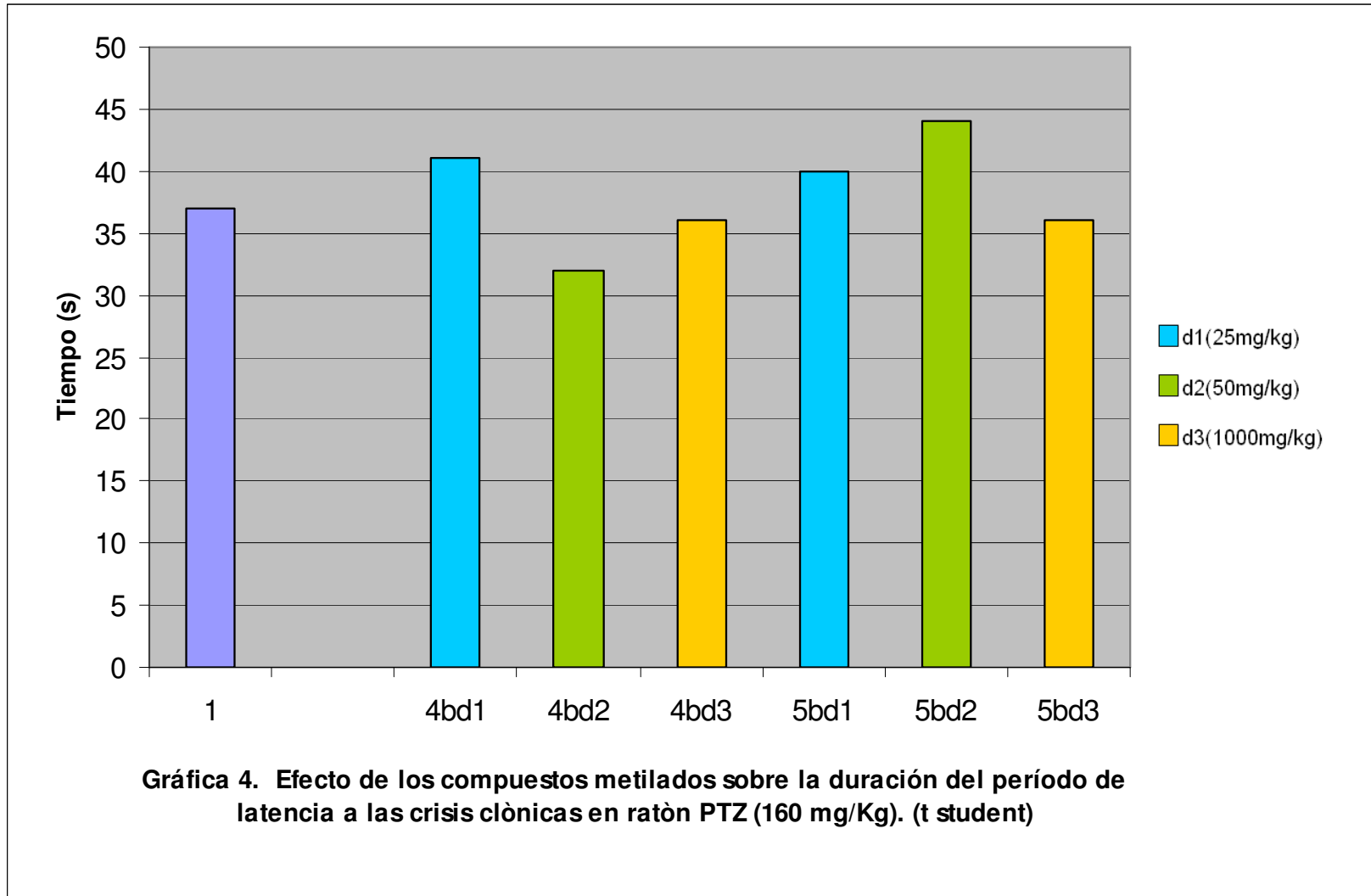
( ✦ valores significativos)

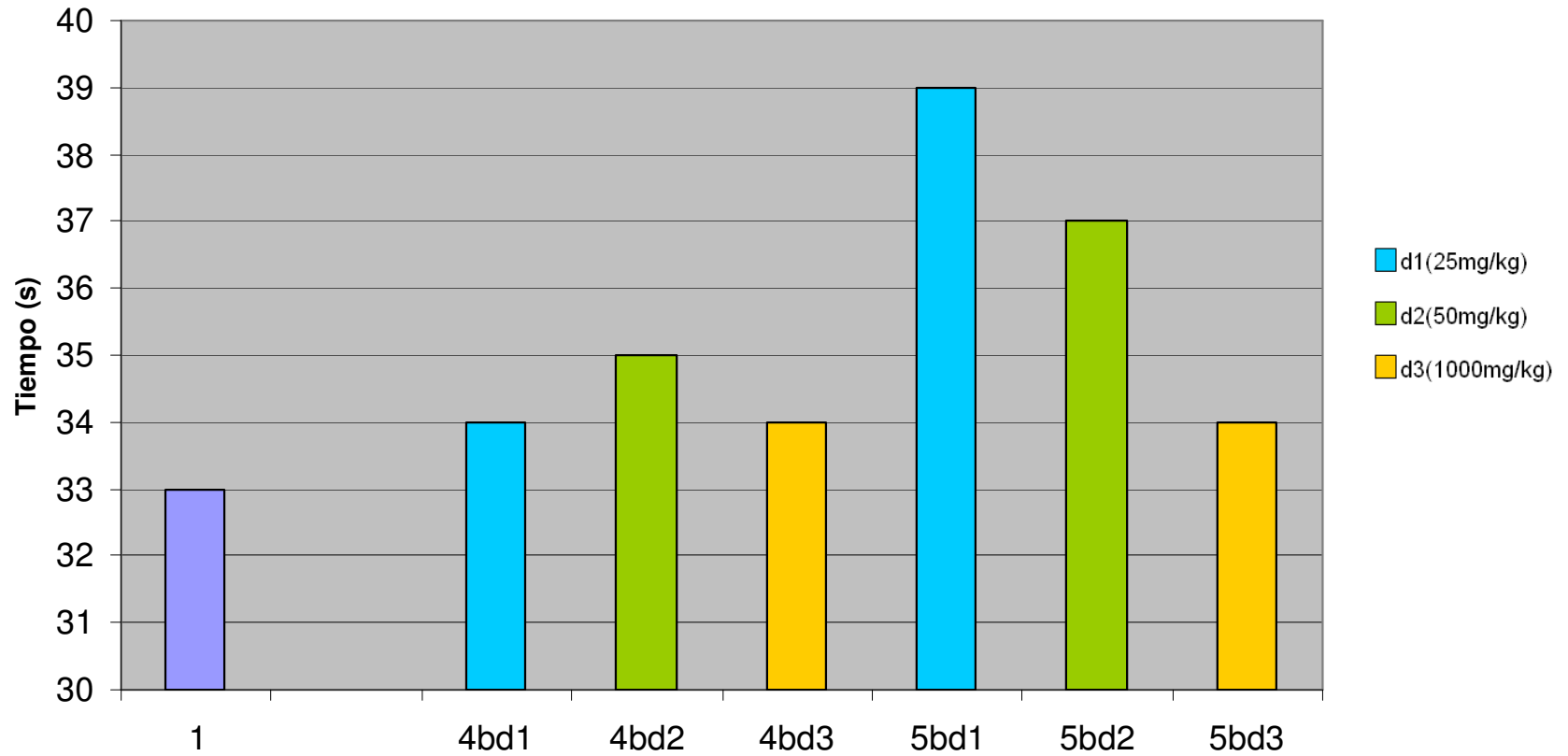


Los derivados metilados **4b** y **5b** (gráfica 4) no presentaron efecto favorable con respecto a la elevación del período de latencia comparándolo con **1**, ya que inclusive se tienen algunos valores inferiores. Estos resultados posiblemente se deban a que en estos compuestos metilados se ve aumentada la capacidad lipofílica lo cual posiblemente favorece el desplazamiento a través de las membranas disminuyendo su permanencia en el organismo. Aunque esta consideración no es definitiva ya que podrían verse implicados algunos otros aspectos sobre todo porque es necesario realizar el estudio de éstos compuestos con otro tipo de modelos convulsivos para poder elucidar posibles respuestas al comportamiento de los compuestos metilados con respecto a sus correspondientes ácidos. Los resultados indican que los compuestos metilados no son capaces de aumentar el umbral de excitación del tejido neuronal.

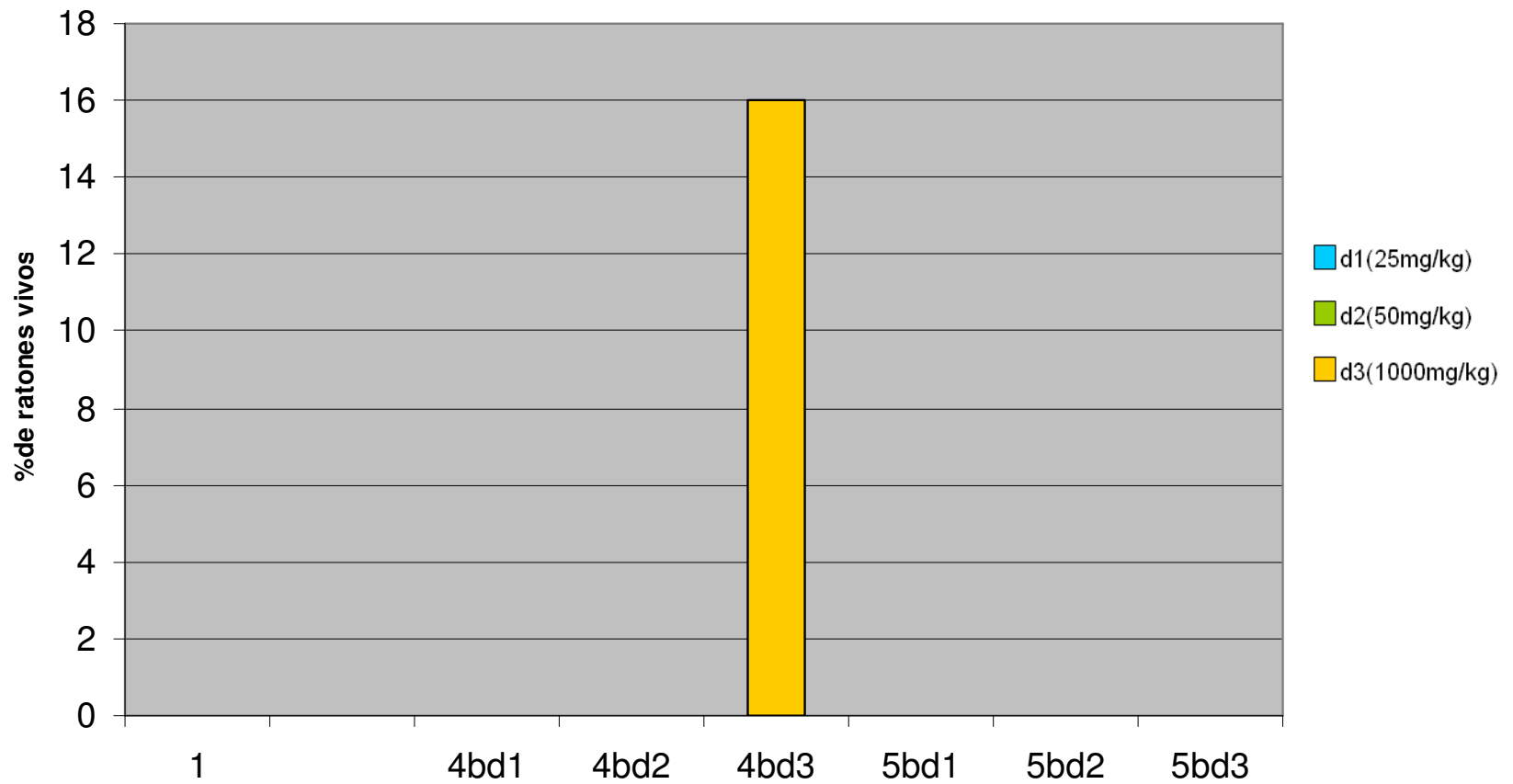
Así mismo los derivados metilados **4b** y **5b**, no disminuyeron el período de duración de la crisis convulsiva (gráfica 5), presentando prácticamente en promedio el mismo valor que el de **1**.

El efecto protector de los compuestos metilados **4b** y **5b**, sobre el número de muertes en ratón es prácticamente nulo, solamente el compuesto **4b** con la dosis 3 presenta una ligera diferencia de 16%, lo cual no es significativo con respecto a **1** (gráfica 6).





**Gráfica 5. Efecto de los compuestos metilados sobre la duración del período de crisis convulsivas en ratón, PTZ (160 mg/Kg). (t student)**



Gráfica 6. Efecto protector de los compuestos metilados sobre el número de muertes en ratón, PTZ (160 mg/Kg) (%).

En base a los resultados obtenidos con los derivados etilados **4c** y **5c**, con respecto al efecto sobre la duración del período de latencia a las crisis clónicas inducidas por PTZ (gráfica 7) no se tienen resultados significativos con éstos compuestos, posiblemente por la misma causa que sus homólogos metilados. Al verse aumentada su capacidad lipofílica, es muy probable que disminuya su permanencia en el organismo, lo cual podría ser un parámetro importante a considerar para relacionarlos con los resultados. Estos resultados indican que los compuestos etilados no son capaces de aumentar el umbral de excitación del tejido neuronal.

Los resultados del efecto de los compuestos etilados sobre la duración del período de crisis convulsivas en ratón mostrados en la gráfica 8 indican que estos compuestos no disminuyen el período de la convulsión con respecto a **1** inclusive se puede observar en la gráfica 8 que en promedio superan el tiempo de duración de la convulsión del lote administrado con **1**.

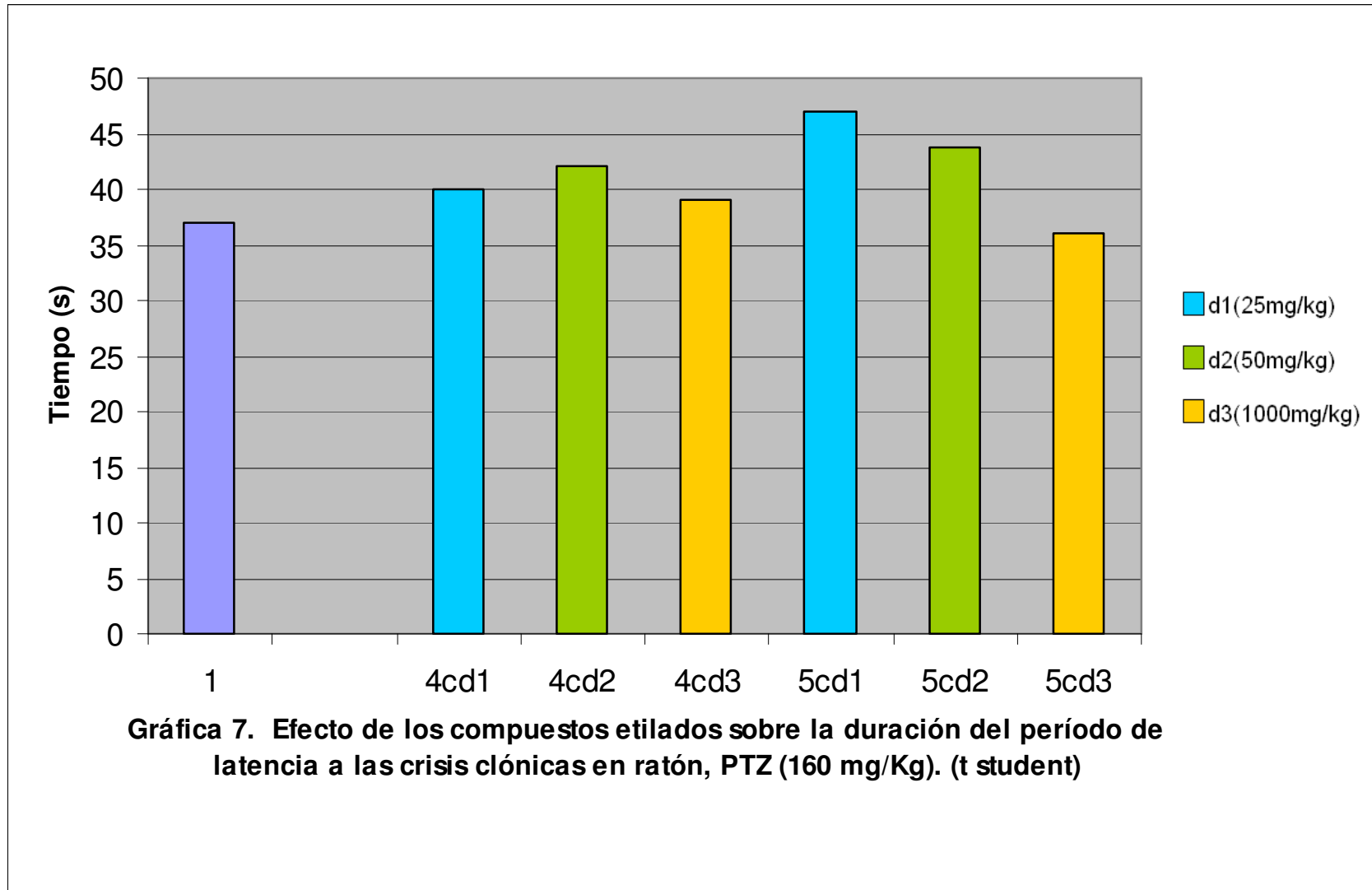
En la gráfica 9 se observa que ninguno de los compuestos etilados estudiados presento protección sobre el número de muertes en ratón ya que en todos los casos el 100% de estos lotes no sobrevivió.

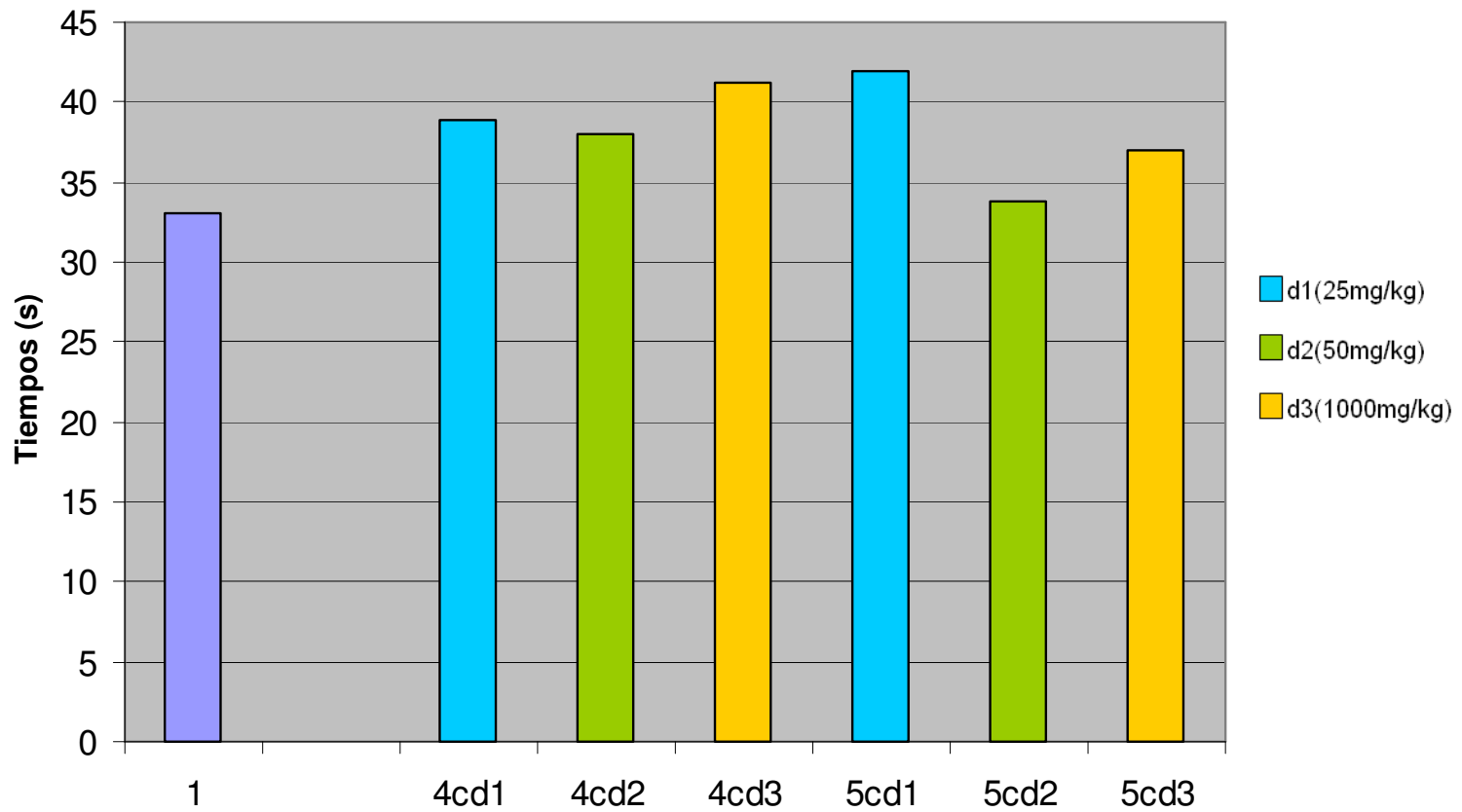
De manera general, ninguno de los compuestos de las series a **4a-4c** y **5a-5c** evitó las convulsiones.

La importancia del registro de los tiempos de latencia a las crisis convulsivas se fundamenta en la sensibilidad del método para detectar efectos anticonvulsionantes débiles, los cuales de otro modo podrían llegar a omitirse (Honack et al., 1990).

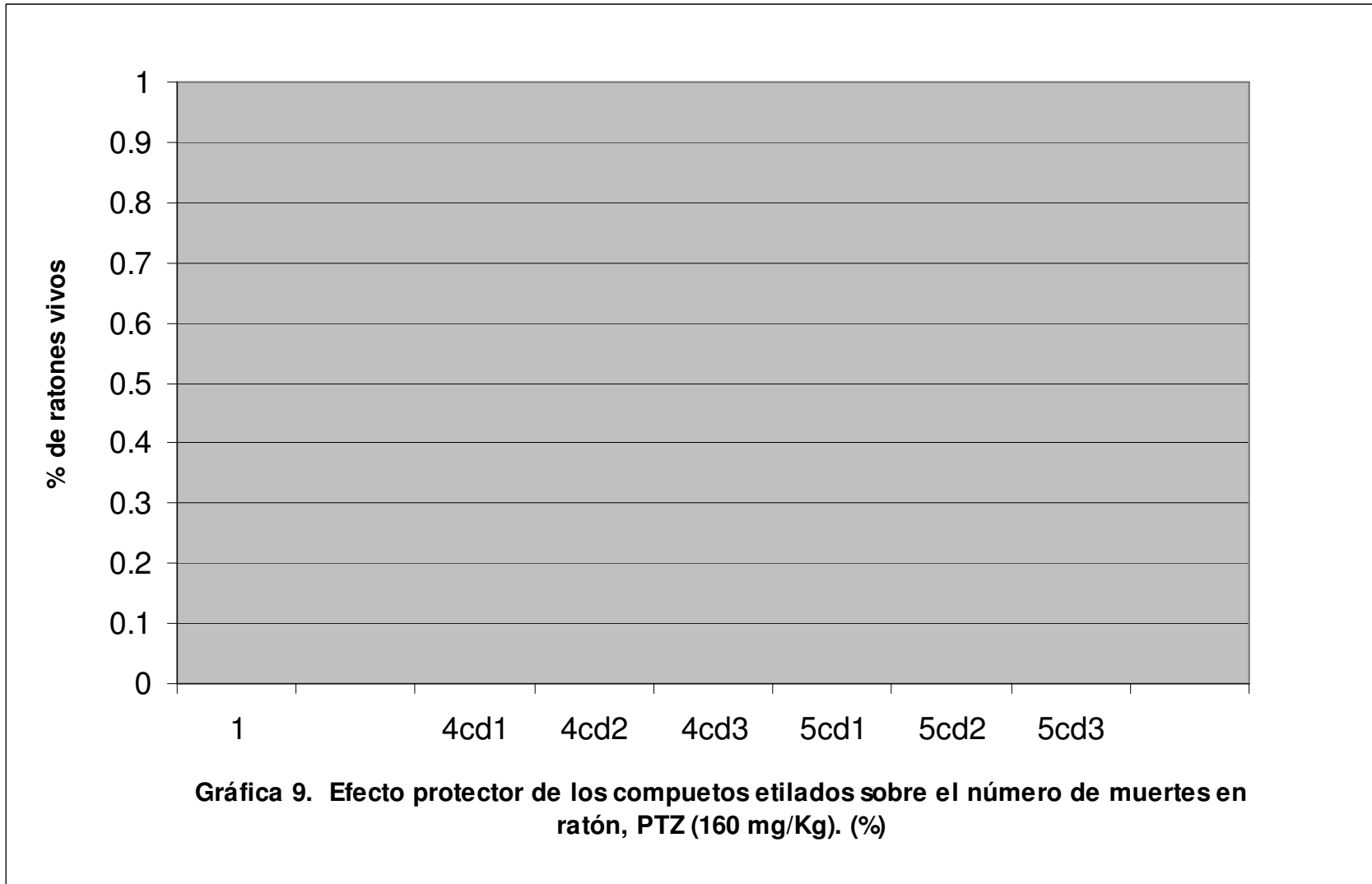
Es conocido que la culminación de las convulsiones no se debe a un agotamiento neuronal. Sino a redes neuronales que se activan por alguna señal todavía no elucidada, por lo que los resultados obtenidos nos indican que los compuestos no favorecen los mecanismos involucrados en la supresión de una convulsión.







**Gráfica 8. Efecto de los compuestos etilados sobre la duración del período de crisis convulsivas en ratón, PTZ (160 mg/Kg). (t student)**



## 6 DISCUSIÓN

La prueba de inducción de convulsiones a través de una sustancia química como lo es el pentiléntetrazol, es ampliamente utilizada para realizar la evaluación primaria de la actividad anticonvulsivante de nuevos compuestos.

En este modelo el tipo y la severidad de las crisis convulsivas inducidas dependen de la dosis y la vía de administración del PTZ; en el presente estudio se administró una dosis de 160 mg/Kg vía i.p., la cual es capaz de producir de tipo clónicas en el 97% de los animales ( $CD_{97}$ ), (Hönack y cols., 1990).

El PTZ actúa sobre el Sistema Nervioso Central, pero es particularmente activo en regiones sensitivo motoras de la corteza cerebral del mamífero, teniendo el sitio de acción a nivel sinapsis, particularmente en sinapsis de tipo excitadoras.

El convulsivante tiene como principal mecanismo de acción, interaccionar con el receptor postsináptico del GABA (ionotrópico), en el sitio donde se une la picrotoxina inhibiendo la conductancia del  $Cl^-$ , con lo cual se ocasiona que el tono gabaérgico disminuya, promoviéndose la excitabilidad neuronal (Bailleux y cols., 1995; Kulkarni, 1996).

Se ha propuesto también que el PTZ, tiene capacidad de producir cambios en la permeabilidad del SNC, elevando el  $K^+$  extraneuronal, lo que ocasiona que las membranas neuronales se despolaricen parcialmente (García, 2003)

Se encontró que el ácido fenoxiacético **4a** dosis 3, aumento de manera significativa el tiempo de latencia hacia la primera convulsión clónica (gráfica 1); lo anterior indica que disminuye la susceptibilidad a producir el episodio convulsivo al incrementar en cierta medida el umbral de excitación del tejido neuronal.

La importancia del registro de los tiempos de latencias a las crisis convulsivas se fundamenta en la sensibilidad del método para detectar efectos anticonvulsivos débiles; los cuales de otro modo podrían llegar a omitirse (Hönack y cols., 1990).

Por otra parte en cuanto a la duración de las crisis clónicas se observó que de los lotes tratados, los únicos compuestos que presentaron disminuciones fueron los dos ácidos **4a** y **5a**, con decrementos significativos con respecto al lote testigo, a excepción del **5a** con la dosis 2, en la cual no se ve disminuida la duración (gráfica 2). De igual forma no se encontró un efecto protector significativo contra muertes producidas por pentiléntetrazol (gráficas 3,6 y 9).

Es claro que ninguno de los compuestos, anteriormente analizados, disminuyen la susceptibilidad hacia las convulsiones clónicas inducidas por el PTZ, sin embargo, ninguno cuenta con la actividad suficiente para contrarrestar las convulsiones; el efecto protector probablemente se deba a un aumento en la actividad de las vías inhibitorias.

## 6 CONCLUSIONES

1.-Se sintetizaron las series 4 y 5 de los derivados de  $\alpha$ -asarona relacionados a los fibratos con buen rendimiento, lo que permitió evaluar el efecto biológico de estos compuestos como posibles agentes anticonvulsionantes.

2.-El compuesto ácido **4ad3** fue capaz de aumentar de manera significativa el umbral de excitación del tejido neuronal en la primera crisis convulsiva, derivada de la inducción convulsionante del PTZ.

3.-Los compuestos ácidos **4ad1**, d2 y d3 y **5ad1** y d2 mostraron efectividad en modelo de ratón para disminuir el período de duración de la crisis convulsiva de manera significativa con respecto al testigo.

4.- Los derivados metilados y etilados no fueron capaces de aumentar el período de latencia a la primera crisis convulsiva, en la inducción anticonvulsionante por PTZ.

5.-Así mismo los compuestos evaluados no fueron capaces de favorecer los mecanismos involucrados en la supresión de las convulsiones clónicas.

6.-De los compuestos estudiados el **4ad3** presentó el mayor efecto protector contra la muerte de los animales.

7.-Aún es necesario evaluar estos compuestos con otros modelos experimentales para poder obtener otro tipo de información por ejemplo como las relacionadas con la epilepsia generalizada.

## 7 BIBLIOGRAFÍA

- Aird B., Masland L. y Woodbury M., Neurobiologic substrates of epilepsy, En: The epilepsies: A critical view, Raven Press, New York, **1984**, pp 1-41.
- Alberts B., Bray D., Lewis J., Raff M., Roberts K. & Watson, JD Biología molecular de la célula. Ediciones Omega, S.A. Barcelona. **2002**.
- Angel J Jr., Seizures and Epilepsy. Davids Company, USA. **1989**, pp 3-12. pp. 410-437.
- Angel, J.; Dichter, A.; SchwartzKroin, A.; Basic mechanism of epilepsy. En Epilepsy, A comprehensive textbook. Angel J. Jr, y Pedley T, A., (Eds.), Lippincott-Raven publishers, Philadelphia. **1997**, pp. 499-512.
- Bailleux V., Vallée L., Nuyts P., Hamair G., Poupaert H., Stables P. Y Vamecq J. Comparative anticonvulsan activity and neurotoxicity of 4-amino-N-(2,2-demethylphenyl—phtalimide) and propotype antiepilepticd drugs in mice and rats. *Epilepsia*, **1995**, 36:559-565.
- Chamorro G., Garduño L., Sanchez A., Labarrios F., Salazar M., Martinez E., Díaz F., Tamariz J. Hypolipidaemic Activity of Dimethoxy Unconjugated Propenyl Side-Chain Analogs of  $\alpha$ -Asarone in Mice. *Drug Dev. Res.* **1998**, 43:105-108.
- Chan A. Fármacos utilizados en el tratamiento de la epilepsia. En: Smith C; y Reynard A. (ed.), Farmacología, Editorial Medica Panamericana. Mexico. **1998**, pp 318-335.
- Chen J., Status Epilepticus Treated by alpha-asarone, Report of 18 Cases, *J. Trad. Chin Med.*, **1984**, 4:217-218.
- Coulter A., Huguenard R. y Prince A. Defferential effects of petit mal anticonvulsants on thalamic neurones: calcium current reduction. *Br. J. Pharmacol.* **1990**, 100: 800-806.

- Cruz M. Tesis doctoral "Síntesis de compuestos fenoxiacéticos con actividad Hipolipemiante y como precursores de benzofuranos sustituidos" IPN-ENB., **2004**.
- Dandiya C. Interaction of asarone with mescaline, amphetamine and tremorine. *Sciences (Life Sci)*. **1965**, 4 (179):1635-41.
- Feria A., Martínez D. y Rubio F. Epilepsia, aspectos neurobiológicos, médicos y sociales. Ediciones del Instituto Nacional de Neurología. México. **1997**, pp.1-4, pp. 66-80, pp.192-209.
- Fisher R. S: Animal models of the epilepsies, *Brain Res. Rev.*, **1989**, 14: 245-278.
- García A. Evaluación de la actividad antiepiléptica y teratogénica del ácido 2-metoxi-4-(2-propenil) fenoxiacético. Tesis para obtener el grado de maestro en ciencias quimicobiológicas. ENCB-IPN. México. **2003**.
- García F., La epilepsia como salud pública. En Feria V. A. (ed), Epilepsia, aspectos neurobiológicos, médicos y sociales, ediciones del Instituto Politécnico Nacional de Neurología, México. **1997**, pp. 402-412.
- Garduño L., Salazar M., Salazar S., Morelos E., Labarrios F., Tamariz J. y Chamorro A. Hypolipidaemic activity of  $\alpha$ -asarone in mice. *J of Ethenopharmacology*. **1997**, 5:161-163.
- Hönack D., Löscher L., Fassbender C., Björn N. The role of technical, biological and pharmacological factors in the laboratory evaluation of anticonvulsivant drug.III. Pentylenetetrazole seizure models. *Epilepsy Research*. **1990**, 8:171-189.
- Jiménez L., Chamorro G., Salazar M. y Pagés N. Evaluation tératologiqu de l'alpha-asarone Chezlerat. *Ann Pharmaceut Franc*. **1984**, 46:179-83.
- Khanna N., Bhalla S., Verma V. y Sharma K. Modulatory effects of nipedipine and nimodipine in experimental convulsions. *Indian Journal of Pharmacology*. **1976**, 32:347-352.



- Kulkarni S. y George B. Anticonvulsant action of *Withania Somnifera* (Aswaganda) root extract against pentylenetetrazol induced Kindling in mice. *Phytotherapi Research*. **1996**,10:447-449.
- Labarrios F., Garduño L., Vidal M., García R., Salazar M., Martinez E., Díaz F., Chamorro G., Tamariz J. Syntesis and Hypolipidaemic Evaluation of a Series of  $\alpha$ -Asraone Analogues Related to Clofibrate in Mice. *J. Pharm. Pharmacol* **1999**, 51:1-7.
- Litter M. Farmacología Experimental y Clínica Ed. Liberia “El Ateneo” 5ta Ed, 2da reimpression Argentina, **1979**.
- López L., Hernández A., Chamorro G., Mendoza- Figueroa T. Alpha-asarone toxicity in long-term cultures of adult rat hepatocytes. *Planta Med* **1993**, 59:115-120.
- Losher W., New visions in the pharmacology of anticonvulsion, *Eur. J. Pharmacol*. **1998**, 342:1-13.
- Martínez M. Las plantas medicinales de México, 6ª edición, Editorial Botas, México, **1992**.
- Mc Namara J.O., Fármacos Eficaces en el Tratamiento de las Epilepsias, En: las bases farmacológicas de la terapéutica, Hardman G., Limbra E., Molinoff B., Goomand A. (EDS.), 9ª edición Editorial McGraw Hill Interamericana, **1997**, pp. 491-519.
- Mc. Namara J. Fármacos eficaces para el tratamiento de las epilepsias. En Goodman A., Hardman G., Limbird E., Molimoff B. y Ruddan W. (ed), Las dases farmacologicas de la terapuetica, 9ª ed., Mc Graw-Hill Interamericana, México, D.F. **1996**.
- Menon M. y Dandiya P. The mechanis of the tranquillizing action of asarone from *Acorus Calamos* Linn. *J. Pharm Pharmac*. **1967**, 19: 170-175.
- Momin A. y Fair M. Pets- Managing efficacy of trans- asarone isolated from *Daucus Carota* L. Seeds. *J. Agric Food Chem*. **2002**, 50:4475-4478.
- Muñoz H., Díaz F., Sánchez A., Barajas M., Labarrios F., Tamariz J. Nueva ruta sintética para la preparación de agentes hipocolesterolemiates potenciales análogos de  $\alpha$ -asarone. Determinación del contenido E/Z en

- muestras sintéticas y naturales de  $\alpha$ -asarone y de sus análogos. *Act. Mex. Cien Tecnol.* **1993**, 11:51-62.
- Otero-Silice E., Status Epilepticus. En Feria V. A. (ed), Epilepsia, aspectos neurobiológicos, médicos y sociales, ediciones del Instituto Politécnico Nacional de Neurología, México. **1997**.
  - Poplawski J., Lozowicka B., Dubis AT., Lachowska B., Witkowski S., Siluk D., Petruszewicz J., Kaliszan R., Cybulski J., Strzalkowska M., Chilmoneczyk Z. Syntesis and hypolipidemic and antiplatelet activities of alpha-asarone isomers in humans (in vitro), mice (in vivo) and rats (in vivo) *J. Med Chem.* **2000**, 43: 3671-3676.
  - Poter J., Meldrum S., Antiepilepticos, En: Farmacología básica y clínica, Katzung B. G., (Editor), 8ª edición, Editorial Manual Moderno, México, **2000**, pp. 451-476.
  - Rall T. y Schleifer L. Fármacos efectivos en el tratamiento de la epilepsia. En: Las bases farmacológicas de la terapéutica. Goodman A. 8ª ed. Editorial Médica Panamericana. México, **1991**, pp. 433-455.
  - Rodríguez-Paéz L., Juárez-Sánchez M., Antúnez-Solís J., Baeza I., Wong C.  $\alpha$ -asarone inhibits HMG-CoA reductase, lowers serum LDL-Cholesterol levels and reduces biliary CSI in hipercholesterolemic rats. *Phytomedicine.* **2003**, 10:397-404.
  - Sánchez-Reséndiz J., Lerdo de Tejada A., González-Vite J., Tinoco A., Guzmán R., Karchmer S., Hipocolesterolemiante de Guatteria gaumeri. *Medicina Tradicional*, **1980**; 3:20-2.
  - Swinyard A. Assy of antiepileptic drug activity in experimental animals: Starndard test, En: International Encyclopedia of Pharmacology and Therapeutics. **1973**, 19:1-7.
  - Yerby M., New Antiepileptic drugs for treatment of epilepsy. North Pacific Epilepsy Research. **1997**.

## **ANEXO**

### ***Resultados estadísticos***

**t-test****Data source:** Data 1 in Notebook**Normality Test:** Passed (P > 0.200)**Equal Variance Test:** Passed (P = 0.741)

Group Name	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
ASA	2	0	37.000	18.385	13.000
5A D1	6	0	62.563	14.762	6.027

Difference -25.563

t = -2.030 with 6 degrees of freedom. (P = 0.089)

95 percent confidence interval for difference of means: -56.381 to 5.255

The difference in the mean values of the two groups is not great enough to reject the possibility that the difference is due to random sampling variability. There is not a statistically significant difference between the in put groups (P = 0.089).

Power of performed test with alpha = 0.050: 0.311

The power of the performed test (0.311) is below the desired power of 0.800.

You should interpret the negative findings cautiously.

**t-test****Data source:** Data 1 in Notebook**Normality Test:** Passed (P > 0.200)**Equal Variance Test:** Passed (P=0.182)

Group Name	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
ASA	2	0	37.000	18.385	13.000
5A D2	6	0	211.667	137.419	56.101

Difference 174.667

t = 1.702 with 6 degrees of freedom. (P = 0.140)

95 percent confidence interval for difference of means: -76.408 to 425.742

The difference in the mean values of the two groups is not great enough to reject the possibility that the difference is due to random sampling variability. There is not a statistically significant difference between the in put groups (P = 0.140).

Power of performed test with alpha = 0.050: 0.207

The power of the performed test (0.207) is below the desired power of 0.800.

You should interpret the negative findings cautiously.

**t-test****Data source:** Data 1 in Notebook**Normality Test:** Passed (P = 0.108)**Equal Variance Test:** Passed (P = 0.665)

Group Name	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
ASA	2	0	37.000	18.385	13.000
5A D3	6	1	100.800	32.889	14.709

Difference 63.800

t = 2.497 with 5 degrees of freedom. (P = 0.055)

95 percent confidence interval for difference of means: -1.892 to 129.492

The difference in the mean values of the two groups is not great enough to reject the possibility that the difference is due to random sampling variability. There is not a statistically significant difference between the input groups (P = 0.055).

Power of performed test with alpha = 0.050: 0.452

The power of the performed test (0.452) is below the desired power of 0.800. You should interpret the negative findings cautiously.

**t-test****Data source:** Data 1 in Notebook**Normality Test:** Passed (P = 0.085)**Equal Variance Test:** Passed (P = 0.538)

Group Name	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
ASA	2	0	37.000	18.385	13.000
4A D1	6	0	57.000	12.050	4.919

Difference 20.000

t = 1.839 with 6 degrees of freedom. (P = 0.115)

95 percent confidence interval for difference of means: -6.605 to 46.605

The difference in the mean values of the two groups is not great enough to reject the possibility that the difference is due to random sampling variability. There is not a statistically significant difference between the input groups (P = 0.115).

Power of performed test with alpha = 0.050: 0.249

The power of the performed test (0.249) is below the desired power of 0.800. You should interpret the negative findings cautiously.

**t-test****Data source:** Data 1 in Notebook**Normality Test:** Passed (P > 0.200)**Equal Variance Test:** Passed (P = 0.758)

Group Name	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
ASA	2	0	37.000	18.385	13.000
4A D2	6	0	61.667	15.069	6.152

Difference 24.667

t = 1.928 with 6 degrees of freedom. (P = 0.102)

95 percent confidence interval for difference of means: -6.641 to 55.974

The difference in the mean values of the two groups is not great enough to reject the possibility that the difference is due to random sampling variability. There is not a statistically significant difference between the input groups (P = 0.102).

Power of performed test with alpha = 0.050: 0.277

The power of the performed test (0.277) is below the desired power of 0.800. You should interpret the negative findings cautiously.

**t-test****Data source:** Data 1 in Notebook**Normality Test:** Passed (P = 0.033)**Equal Variance Test:** Passed (P = 0.375)

Group Name	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
ASA	2	0	37.000	18.385	13.000
4A D3	6	0	72.667	9.893	4.039

Difference 35.667

t = 3.720 with 6 degrees of freedom. (P = 0.010)

95 percent confidence interval for difference of means: 12.206 to 59.127

The difference in the mean values of the two groups is greater than would be expected by chance; there is a statistically significant difference between the input groups (P = 0.010).

Power of performed test with alpha = 0.050: 0.854

**t-test****Data source:** Data 1 in Notebook**Normality Test:** Passed (P > 0.200)**Equal Variance Test:** Passed (P = 0.256)

Group Name	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
vASA	2	0	33.500	0.707	0.500
V5AD1	6	0	11.833	5.492	2.242

Difference -21.667

t = -5.284 with 6 degrees of freedom. (P = 0.002)

95 percent confidence interval for difference of means: -31.700 to -11.633

The difference in the mean values of the two groups is greater than would be expected by chance; there is a statistically significant difference between the input groups (P = 0.002).

Power of performed test with alpha = 0.050: 0.992

**t-test****Data source:** Data 1 in Notebook**Normality Test:** Passed (P > 0.200)**Equal Variance Test:** Passed (P = 0.260)

Group Name	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
vASA	2	0	33.500	0.707	0.500
V5AD2	6	3	15.000	7.937	4.583

Difference -18.500

t = -3.121 with 3 degrees of freedom. (P = 0.052)

95 percent confidence interval for difference of means: -37.365 to 0.365

The difference in the mean values of the two groups is not great enough to reject the possibility that the difference is due to random sampling variability. There is not a statistically significant difference between the input groups (P = 0.052).

Power of performed test with alpha = 0.050: 0.522

The power of the performed test (0.522) is below the desired power of 0.800.

You should interpret the negative findings cautiously.

**t-test****Data source:** Data 1 in Notebook**Normality Test:** Passed (P > 0.200)**Equal Variance Test:** Passed (P = 0.071)

Group Name	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
vASA	2	0	33.500	0.707	0.500
V5AD3	6	2	6.750	2.754	1.377

Difference -26.750

t = -12.812 with 4 degrees of freedom. (P = &lt;0.001)

95 percent confidence interval for difference of means: -32.547 to -20.953

The difference in the mean values of the two groups is greater than would be expected by chance; there is a statistically significant difference between the input groups (P = <0.001).

Power of performed test with alpha = 0.050: 1.000

**t-test****Data source:** Data 1 in Notebook**Normality Test:** Passed (P > 0.200)**Equal Variance Test:** Passed (P = 0.368)

Group Name	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
vASA	2	0	33.500	0.707	0.500
V4AD1	6	0	9.500	2.074	0.847

Difference -24.000

t = -15.350 with 6 degrees of freedom. (P = &lt;0.001)

95 percent confidence interval for difference of means: -27.826 to -20.174

The difference in the mean values of the two groups is greater than would be expected by chance; there is a statistically significant difference between the input groups (P = <0.001).

Power of performed test with alpha = 0.050: 1.000



**t-test****Data source:** Data 1 in Notebook**Normality Test:** Passed (P > 0.200)**Equal Variance Test:** Passed (P = 0.317)

Group Name	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
vASA	2	0	33.500	0.707	0.500
V4AD2	6	0	17.167	5.115	2.088

Difference -16.333

t = -4.276 with 6 degrees of freedom. (P = 0.005)

95 percent confidence interval for difference of means: -25.681 to -6.986

The difference in the mean values of the two groups is greater than would be expected by chance; there is a statistically significant difference between the input groups (P = 0.005).

Power of performed test with alpha = 0.050: 0.938

**t-test****Data source:** Data 1 in Notebook**Normality Test:** Passed (P > 0.200)**Equal Variance Test:** Passed (P = 0.239)

Group Name	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
vASA	2	0	33.500	0.707	0.500
V4AD2	6	0	9.500	4.637	1.893

Difference -24.000

t = -6.928 with 6 degrees of freedom. (P = &lt;0.001)

95 percent confidence interval for difference of means: -32.476 to -15.524

The difference in the mean values of the two groups is greater than would be expected by chance; there is a statistically significant difference between the input groups (P = <0.001).

Power of performed test with alpha = 0.050: 1.000