



FACULTAD DE FARMACIA

**Diseño de análogos del Piracetam, estudio computacional
de su efecto nootrópico y posible uso en el tratamiento
anticonvulsivo.**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

LICENCIADO EN FARMACIA

P R E S E N T A:

ERIK ESTRADA RIVERA

Director de tesis: Dr. Juan Gabriel Navarrete Vázquez

Asesor Técnico: M en F. Abraham Alberto Gutiérrez Hernández

Cuernavaca, Morelos

2021





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS



FACULTAD DE FARMACIA
SECRETARÍA DE DOCENCIA
JEFATURA DE LA LICENCIATURA

Fecha: 16 de agosto de 2021
Asunto: VOTOS APROBATORIOS
Medio de Notificación: Electrónica
Folio: FF/D/SD/JLF/0096/2021

**DRA. DULCE MARIA ARIAS ATAIDE
DIRECTORA DE SERVICIOS ESCOLARES
U.A.E.M
PRESENTE**

Los suscritos catedráticos de la Facultad de Farmacia, dependiente de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos, se dirigen a Usted con el fin de comunicarle que, después de haber revisado el trabajo de tesis **“Diseño de análogos del Piracetam, estudio computacional de su efecto nootrópico y posible uso en el tratamiento anticonvulsivo”** presentada por el pasante de la carrera de Licenciado en Farmacia. **C. Erik Estrada Rivera, (20161001091)**, consideramos que reúne todos los requisitos que exige un trabajo de esta especie, por lo que hacemos saber nuestro **VOTO APROBATORIO**.

Jurado

Firma

Dr. Antonio Monroy Noyola

Dr. Miguel Herrera Rueda

Dr. Sergio Alcalá Alcalá

Dra. Angélica Margarita Portillo Vásquez

Dra. María Crystal Columba Palomares



**ATENTAMENTE
“POR UNA HUMANIDAD CULTA”**

**M.P.D. Reyna América Serrano López
Secretaria de Docencia**

Cp Archivo
Cp. Bdm

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

REYNA AMERICA SERRANO LOPEZ | Fecha:2021-08-17 18:23:38 | Firmante

Pmsx9EQd+07GaiFovnsCe9iskxfeOPzp+bRR5xi0NhV9ks1aY1NCrp1hLCIsEA0vDY5s3LiWRuOCKMbmunGNvjGOHqIWSaW7sqSjQieQtCQwkBZtJSrseYJ7tvDQEv9Olvhbf+p4aK8s/d+Vye0Ck4EScA67JP1y8AFK6hPrE35sC10b5/WQJLrc2+Hgcs1z9A4+MXMIsndjJocptfA/uC5KL7U+X7p0n6mU2XFksP4nBoU5BR4bN+yCTEtavnhyxp27+5Hqez85NnzcUPSJXvuK0anPJGEDeei8RG3JR1cV/b7s8kfYGodljbQtB83A4wjIUarxUI74AO6DIDw==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



[TZfa8w](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/inVTHi4c1wpcCYI7Jsl5Mh2z3h1NsoGZ>



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

SERGIO ALCALA ALCALA | Fecha: 2021-08-19 13:07:02 | Firmante

IN5maQT26TXjdXclBnwSG4zDm08D9VpFi4YBUyjBXVZ+IP6Ax86u7tpFo8+H65BeZm5RETRg+statJ9sDtiNvaK3zJQVvUsqBgbInqIR8CT+o8tMMiHgvrWGCfDs+BoTN2hJ7YbVe
R3CF5iHEXWIXODVDiUzEf+DeBaFWrFpwY+BHcyOlgQ8vuMpIMmDQK4bwYhFrmX874CxXwvPYCivwfTmP4RtpWjgOfzuW5AoYhzZJ7Ib3qSsFvQiRep0oJAM8pKXBLM9Gke
/ABzfISpBtdpIWob/nqQJevsdR5RydjRMSzXOAuluJ6QsnVoaRz2eHVAo/hsWABQYfQKj6TXCw==

ANTONIO MONROY NOYOLA | Fecha: 2021-08-19 14:17:41 | Firmante

s5oxv0wGvTA0GTXw7qz9shmlrziDu75sD8D1Fy1xHHhIRWBRKMNCKmQfBh+uPbJU0Krd4Izy7Zi1AA18JwlnkOyOVUVnSczB/VJTxBLtVxqHYqQtEDJtEY7Hg577Xt2i4G+v23Y
A2nikS/jJg9HFTaKQXyyYbsTLgu3tVr16DRQX+/7d7DYi9Cium3y7RowaPv5IbuA4XvZD6/Q2k8E0T+cLAFkFHmldeE4gwivcTG3Y97DBYsTDhxdmU9ew/gDBpKzDF3aX39ANW WDDwPd9Vc9BHh02hTK79DgNXIJ/ZL8sf66nnrJo8KaKZdg1lihnvspK0v6K3K5/IABTjw==

MIGUEL ANGEL HERRERA RUEDA | Fecha: 2021-08-20 15:28:45 | Firmante

gAUsApqsvZfBUP5BHqPhPh+KBOrrJsuzt+rYfUHdnqwQgdNZPKP/GTYeLxaOoJFw+U4Z8ImRLYq/slvQZmRjK4uXa1sNEudmPvqL1xZe1Nbvj4QgeR6UyiziymIBJpLrppJTCs
bCgbnW HXXIyFcRRgS8HT9Xxv7/I8RU9+Pm/ZTQBQLLkEsDP/QPoTlsUewsmGLLeV8Vtf0y2eveJKI/wes1gHznMMH+/zAvF+gmiDpvDO2g1jFDgozAZxRI7QjBjNXeX7araeZzUx38iRD6rIEKFTD+LKrOBfH6tGirzq7XqAfZC2Z4bu+oBQEhjn4g4XW00rh/c6e6/TNZHQ==

MARIA CRYSTAL COLUMBA PALOMARES | Fecha: 2021-08-20 16:41:56 | Firmante

0RokjyDRUicd1ABXUz8t3sElciUJGm0vBqpT9nHP3Jfmyhsr5B/axaKgh2YikdUkavINFsottapuWvt2wAjjgQZB2oFsovdmva390IQfymI+fgbpJi+yH3bdWu9NV4ZT3a85wsl2+bnizE
b38u1MUwamvZwKILIskpK/KJpCh5BmQbnC5kQJH2kQhBiRhersVdYgGUlRMiy+qHgwY11EhYTWzZcENpzOm09ho/eMAT+k9p+BznSiYOnc+GtsVqPBZ/Vmww+8KyNTi9OXxI8PdG+XMLNwA0LijoT38NDdwoSrv+KE78Jf9bcXfFTIbMMANRthwoPe98j2ctg==

ANGELICA MARGARITA PORTILLO VASQUEZ | Fecha: 2021-08-24 18:30:18 | Firmante

oueCcQghQwnYoU5tQ/uhEDBjWIM9ArSgFr4UAVB1QrftLtRKKmHYynhvLaHeE2KbAy4WcZ6gASKNwo0cszOx7gJN3xtgQwH0DvTgtYgVGKl4IciYvfk2FkwYzrFHsE6A34e9k
zTWbZ9mz+LGHAAOAMZSCg5IbCUxRPEck7xD5hGt9V1W3TXVellR5saDJBgGIUoT/FXsY8f7FOLZOPrrTseefzefgaph3IRHY+RtsathWJOUhaxuy2ZMezNBPUsJpJremSD86C0wNz2dZC3/Fd31ZkhiRQgO5V/CSsgllHjQ0aCVbUJU5jPsihiGLxCtfD2Dva3becp67WeK+wQ==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



ZrkAWa

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/3q7KYHEMBWbLcIfH3u7eZSYhuPhKWb5T>



AGRADECIMIENTOS

Al financiamiento interno otorgado por la Facultad de Farmacia (FF) de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos (UAEM) para la realización de este proyecto.

Al M.F. Abraham Alberto Gutiérrez Hernández por sus aportaciones durante el desarrollo de este proyecto, así como su colaboración en la parte computacional (*in silico*), por haber sido mi asesor técnico y mi amigo durante esta pandemia, gracias por todo; las enseñanzas, comentarios, paciencia durante este tiempo y resolver mis dudas, el mejor asesor técnico y un gran amigo.

Agradezco al comité revisor: Dr. Antonio Monroy Noyola, Dr. Miguel Herrera Rueda, Dr. Sergio Alcalá Alcalá, Dra. Ángelica M. Portillo Vásquez y la Dra. Maria Crystal Columba Palomares por sus observaciones, aportes, comentarios y sobre todo por el tiempo invertido en el proceso de revisión de este trabajo de investigación.

Y finalmente un agradecimiento especial al Dr. Gabriel Navarrete Vázquez por aceptarme en su grupo de trabajo, ya que a mediados de la licenciatura supe que quería trabajar con usted, sus clases son excepcionales, gracias por su paciencia, por su amistad, por tomarse el tiempo de saber cómo iba y ayudarme a buscar la forma de concluir este trabajo, por sus enseñanzas dentro, así como a fuera del laboratorio, además de no solo enseñarme química, sino por enseñarme química aplicada a la Farmacia “Química Farmacéutica” y por compartir su conocimiento, le admiro y respeto. Un gran ser humano. ¡GRACIAS!

DEDICATORIAS

A mis padres: **Edgar Javier Estrada Barrios** y **Virginia Rivera Pérez** por su apoyo incondicional durante toda mi formación académica, gracias por todos los sacrificios que han hecho, espero poder recompensarlos algún día, gracias, ya que se me hubiese sido imposible concluir mi formación, sin el apoyo motivacional y sobre todo económico invertido. Los amo, son mi mundo.

A mi hermano **Damián**, por ser uno de mis pilares en esta vida, gracias por tus enseñanzas a lo largo de mi vida, por tus regaños y de igual manera por tu paciencia.

A mi hermano **Eduardo**, por ser mi confidente, mi brazo derecho y uno de mis pilares más importantes dentro de mi vida. Gracias por tu apoyo y tu motivación.

Mis 3 hermosos sobrinos, **Javier, Mariely** y **Paola**, los amo, adoro y me encantan, gracias porque a pesar de su tan corta edad me enseñan tantas cosas. La sencillez de la vida.

A la señora **Alejandra Cruz Espíndola**, por brindarme su confianza, su hogar y por sus enseñanzas como así, sus llamadas de atención, muchas gracias.

A mis compañeros y amigos del laboratorio, quienes hicieron más amena y divertida la estancia en el laboratorio: Sam, Cris, Yelz, Josue, Jorgie, Checo, Abril, Valeria, Edgar, Brianda, Telo, Wendy, Aldair.

“Fortis Fortuna adiuvat”

Publio Terencio Afro

ÍNDICE DE CONTENIDO

ABREVIATURAS	I
ÍNDICE DE FIGURAS	II
ÍNDICE DE TABLAS	III
ÍNDICE DE COMPUESTOS DISEÑADOS	13
1.- INTRODUCCIÓN	15
2.-ANTECEDENTES	17
2.1 Epilepsia	17
2.1.1 Epidemiología	17
2.1.2 Signos y síntomas	17
2.1.3 Diagnóstico	18
2.1.3.1 Electroencefalograma	18
2.1.3.2 Hiperventilación	20
2.1.3.3 Estimulación luminosa	20
2.1.3.4 Neuroimagen	21
2.1.3.5 Resonancia magnética	21
2.2 Convulsiones focales	22
2.2.1 Convulsiones generalizadas	23
2.3 Tratamiento farmacológico	24
2.4 Fisiopatología	25
2.5 Mecanismos de producción de trastornos cognitivos y conductuales de los fármacos antiepilépticos	25
2.6 Complicaciones	27
2.7 Nootrópicos	27
2.7.1 Racematos	29
2.7.2 Piracetam	30
2.7.2.1 Ruta de síntesis del Piracetam	31

2.7.2.2 Receptor de glutamato	32
2.7.2.3 Receptores ionotrópicos de glutamato	34
2.7.2.4 Receptores metabotrópicos de glutamato	36
2.7.2.5 Glutamato endógeno y neurotoxicidad aguda	37
2.7.2.6 NMDA	39
2.7.2.7 AMPA	41
2.7.2.8 Kainato	42
3 JUSTIFICACIÓN	44
4 HIPÓTESIS	45
5 OBJETIVOS	45
5.1 Objetivo general	45
5.2 Objetivos específicos	45
6 CONSIDERACIONES DEL DISEÑO MOLECULAR	46
6.1 Bases para el diseño final de los compuestos	46
6.2 Isosterismo	47
6.3 Bioisosterismo	48
6.4 Metabolismo	49
6.5 Reglas de Lipinski y su importancia en el diseño de moléculas bioactivas	50
6.5.1 Molinspiration Cheminformatics	51
7 METODOLOGÍA	53
7.1 Parte computacional <i>in silico</i>	53
7.1.1 espectro de actividad biológica para sustancias PASS por sus siglas en ingles prediction of activity spectra of substances	53
7.1.2 PROGRAMA OSIRIS DATAWARRIOR Predictor de propiedades cuasi-fármaco (drug- likeness) y del puntaje de fármacos (drug score)	54
7.1.3 ADMETSAR: Predicción de las propiedades de Absorción, Distribución, Metabolismo, Eliminación y Toxicidad	55
7.1.4 SWISSADME	56

7.1.5 ACD/ToxSuite como herramienta para conocer la toxicidad aguda	56
7.1.6 GLORYx: Predictor de metabolismo	57
8 ACOPLAMIENTO MOLECULAR	58
8.1 Acoplamiento molecular automatizado	58
8.2 AUTODOCK	61
8.3 Molecular operating environment (MOE)	62
8.4 PyMOL	63
8.5 Discovery studio	64
8.6 Acoplamiento molecular sobre receptor 2 de glutamato	65
9 PROPUESTA DE SINTESIS QUÍMICA	66
9.1 Retrosíntesis	66
9.2 Propuesta de ruta sintética	67
9.2.1 Obtención de compuesto EER-1	67
9.2.2 Obtención de los compuestos EER 2-6	68
10 RESULTADOS	70
10.1 Resultados por predicción de la actividad biológica de los compuestos EER 1-6 por medio de la herramienta PASSonline	70
10.2 Predicción de propiedades cuasi-fármaco y del puntaje de fármacos de los compuestos (OSIRIS)	71
10.3 admetSAR	72
10.4 SWISSADME	73
10.5 Predicción de la toxicidad de los compuestos (ACD/Toxsuite)	74
10.5.1 Bloqueo de canales hERG	74
10.5.2 Toxicidad aguda	75
10.6 GLORYx: Predictor de metabolismo de los compuestos	77
10.6.1 GLORYx predicción del compuesto EER-1	78
10.6.2 GLORYx predicción del compuesto EER-2	80
10.6.3 GLORYx predicción del compuesto EER-3	81

10.6.4 GLORYx predicción del compuesto EER-4	82
10.6.5 GLORYx predicción del compuesto EER-5	83
10.6.6 GLORYx predicción del compuesto EER-6	84
10.7 Análisis de consenso farmacológico	85
10.8 ACOPLAMIENTO MOLECULAR AUTOMATIZADO	86
10.8.1 VALIDACIÓN DEL ACOPLAMIENTO MOLECULAR SOBRE EL RECEPTOR 2 DE GLUTAMATO	86
10.8.2 Acoplamiento molecular de los compuestos EER-1 a EER-6 en el sitio activo del receptor 2 de glutamato	87
10.8.2.1 Acoplamiento molecular del compuesto EER-1 sobre GluR2	87
10.8.2.2 Acoplamiento molecular del compuesto EER-2 sobre GluR2	88
10.8.2.3 Acoplamiento molecular del compuesto EER-3 sobre GluR2	88
10.8.2.4 Acoplamiento molecular del compuesto EER-4 sobre GluR2	89
10.8.2.5 Acoplamiento molecular del compuesto EER-5 sobre GluR2	91
10.8.2.6 Acoplamiento molecular del compuesto EER-6 sobre GluR2	91
10.8.3 Alineamiento y análisis de similitud molecular (overlay)	91
10.8.4 Acoplamiento molecular del Metabolito 1 sobre GluR2	94
11. Acoplamiento molecular sobre el canal hERG	96
12 CONCLUSIONES	100
13 PERSPECTIVAS	101
REFERENCIAS	102

I. ABREVIATURAS

ADMET	Absorción, Distribución, Metabolismo, Excreción y Toxicidad
ADP	Adenosín difosfato
AIT	Accidente cerebrovascular o accidente isquémico transitorio
AMPA	α -amino-3-hidroxi-5-metilo-4-isoxazolpropiónico
ATP	Adenosín trifosfato
CBZ	Carbamazepina
cLogP	Logaritmo del coeficiente de partición calculado
CYP450	Citocromo P450
DL₅₀	Dosis letal media
DMAE	2-Dimetilaminoetanol
EEG	Electroencefalograma
ELI	Estimulación luminosa intermitente
FAE	Fármacos antiepilépticos
FC	Fármacos convulsivos
GABA	Ácido γ -aminobutírico
GluR	Receptor de Glutamato
hERG	Human ether-a gogo related (Canales Cardiotónicos)
IC₅₀	Concentración inhibitoria media
IUPAC	Unión Internacional de Química Pura y Aplicada
LE	Eficiencia del ligando
LTP	Potenciación a largo plazo
MOE	Molecular Operating Environment
NMDA	<i>N</i> -metil-D-aspartato
NR	Receptores NMDA
OECD	Organización para la cooperación y el desarrollo económico
OMS	Organización mundial de la Salud

Pa	Probabilidad de actividad
PASS	Predictor del espectro de actividad biológica para sustancias
PB	Pentobarbital
PDB	Protein Data Bank
Pgp	Glicoproteína P
PHT	Fenitoina
Pi	Probabilidad de inactividad
PKC	Proteína quinasa C
QSAR	Relación cuantitativa estructura actividad
RM	Resonancia magnética por imagen
RMN	Resonancia magnética nuclear
RMSD	Root-mean-square deviation (Raíz de la desviación cuadrática media)
SAR	Structure–Activity Relationship (relación estructura actividad)
SNC	Sistema nervioso central
TAC	Tomografía computarizada
VIH	Virus de la inmunodeficiencia humana
VPA	Ácido valpróico

II. INDICE DE FIGURAS

No. De Figura y descripción

FIGURA 1 Diferencia entre los distintos tipos de ondas cerebrales

FIGURA 2 EEG de una persona sana contra distintas patologías

FIGURA 3 EEG con epilepsia

FIGURA 4 Estructura de la Carbamazepina

FIGURA 5 Mecanismo de acción del Glutamato

FIGURA 6 Estructura de 2-pirrolidona

FIGURA 7 Estructura química del aminoácido GABA

FIGURA 8 Estructura de Piracetam

FIGURA 9 Ruta sintética alterna del Piracetam

FIGURA 10 Tipos de receptores de Glutamato

FIGURA 11 Proceso de sinapsis

FIGURA 12 Subtipos de receptores

FIGURA 13 Receptor metabotrópicos

FIGURA 14 Entrada y salida de calcio y sodio

FIGURA 15 Activación NMDA

FIGURA 16 Activación de receptor AMPA

FIGURA 17 Señalización mediada por receptores de Kainato

FIGURA 18 Farmacóforo y análogo de Piracetam

FIGURA 19 Interfaz del programa Molinspiration

FIGURA 20 Interfaz del programa PASS online

FIGURA 21 Programa OSIRIS

FIGURA 22 Programa ADMESAR

FIGURA 23 Programa SwissADME

FIGURA 24 Programa ACD/Toxsuite

FIGURA 25 Interfaz del programa GLORYx

FIGURA 26 Visualización en 3D del receptor 2 de glutamato y ligando (Piracetam)

FIGURA 27 Interfaz del programa Autodock

FIGURA 28 Interfaz del programa MOE

FIGURA 29 Interfaz del programa PyMOL

FIGURA 30 Interfaz del programa Discovery Studio

FIGURA 31 Análisis retrosintético de **EER-1**

FIGURA 32 Análisis retrosintético de **EER-2** a **EER-6**.

FIGURA 33 Síntesis del precursor **MMJ-24**

FIGURA 34 Síntesis del **EER-1**

FIGURA 35 Síntesis de los **precursores 7-12**

FIGURA 36 Síntesis de los compuestos **EER-2** a **EER-6**

FIGURA 37 Metabolitos N-desalquilado e Hidroxilado de **EER-1**

FIGURA 38 Metabolito hidroxilado en posición *p* de **EER-1**

FIGURA 39 Comparativa de metabolito contra piracetam

FIGURA 40 Posibles metabolitos del compuesto **EER-2**

FIGURA 41 Posibles metabolitos del compuesto **EER-3**

FIGURA 42 Posibles metabolitos del compuesto **EER-4**

FIGURA 43 Posibles metabolitos del compuesto **EER-5**

FIGURA 44 Posibles metabolitos del compuesto **EER-6**

FIGURA 45 Visualización en 3D de la validación del ligando co-cristalizado

FIGURA 46 Diagramas 3D y 2D de **EER-1** en el sitio activo del GluR2.

FIGURA 47 Diagramas 3D y 2D de **EER-2** en el sitio activo del GluR2.

FIGURA 48 Diagramas 3D y 2D de **EER-3** en el sitio activo del GluR2.

FIGURA 49 Diagramas 3D y 2D de **EER-4** en el sitio activo del GluR2.

FIGURA 50 Diagramas 3D y 2D de **EER-5** en el sitio activo del GluR2.

FIGURA 51 Diagramas 3D y 2D de **EER-6** en el sitio activo del GluR2.

FIGURA 52 Sobreposicionamiento molecular de **EER-3** y **EER-5**.

FIGURA 53 Sobreposicionamiento molecular de **EER-3** y Piracetam

FIGURA 54 Diagramas 3D y 2D de **EER-3** en el sitio activo del GluR2.

FIGURA 55 Sobreposicionamiento molecular del Metabolito 1 y Piracetam

FIGURA 56 Acoplamiento molecular de astemizol en el sitio de inhibición del canal hERG.

FIGURA 57 Visualización bidimensional de las interacciones de astemizol en el sitio de inhibición del canal hERG.

FIGURA 58 Diagramas 3D y 2D de EER-3 en el sitio de inhibición del canal hERG

III. INDICE DE TABLAS

TABLA 1 Clasificación de las crisis epilépticas.

TABLA 2 Clasificación de fármacos con actividad anticonvulsivos.

TABLA 3 Compuestos **EER 1-6**.

TABLA 4 Propiedades de los compuestos **EER 1-6** calculadas por Molinspiration.

TABLA 5 Resultados del Programa PASS expresados en porcentajes

TABLA 6. Parámetros obtenidos en el programa OSIRIS Data Warrior

TABLA 7 Resultados obtenidos del programa admetSAR.

TABLA 8 Resultados del programa SWISSADME.

TABLA 9 Porcentaje de probabilidad en el bloqueo de canales hERG.

TABLA 10 Resultados de Dosis letal media por compuesto en comparación al Piracetam.

TABLA 11 Categoría OECD.

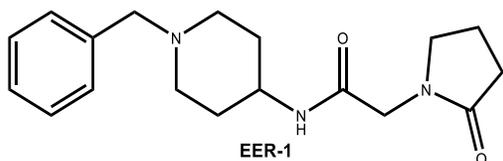
TABLA 12 Resultados del Consenso farmacológico.

TABLA 13 Resultados de energías de unión del acoplamiento molecular

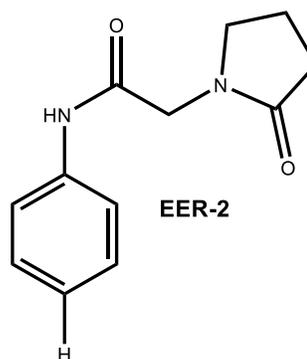
TABLA 14 Valores de RMSD para los resultados del acoplamiento molecular

TABLA 15 Valores de la constante de afinidad para cada compuesto

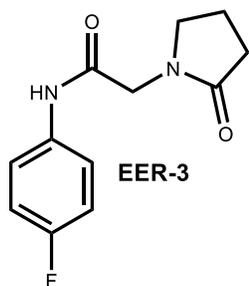
0.- INDICE DE COMPUESTOS DISEÑADOS



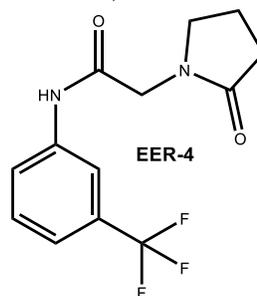
N-(1-bencilpiperidina-4-il)-2-(2-oxopirrolidina-1-il)acetamida



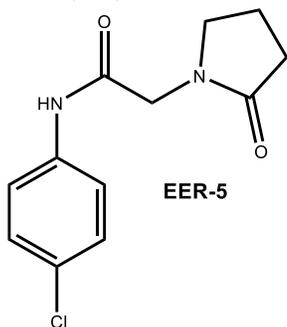
2-(2-oxopirrolidina-1-il)-*N*-fenilacetamida



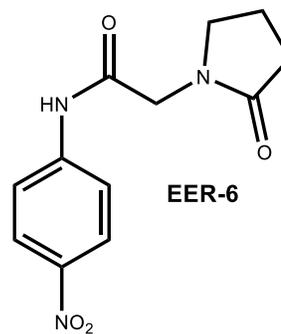
N-(4-fluorofenil)-2-(2-oxopirrolidina-1-il)acetamida



2-(2-oxopirrolidina-1-il)-*N*-(3-(trifluorometil)fenil)acetamida



N-(4-clorofenil)-2-(2-oxopirrolidina-1-il)acetamida



N-(4-nitrofenil)-2-(2-oxopirrolidina-1-il)acetamida

1.- INTRODUCCIÓN

La epilepsia es una de las enfermedades neurológicas no transmisibles más comunes en el mundo; teniendo una prevalencia de aproximadamente 70 millones de personas en el mundo.¹ En México, la epilepsia tiene una prevalencia de 8 a 10 casos por 1,000 habitantes, es decir, el 1.08% a 2% de la población total.² La Ciudad de México tiene un registro poblacional de 8,851,000 habitantes, lo que implica que viven entre 95,000 y 177,000 habitantes con epilepsia.³ La epilepsia puede deberse a una afección de salud, a una lesión que afecte el cerebro, o la causa puede ser desconocida (idiopática).

Las causas comunes de epilepsia incluyen:⁴ Accidente cerebrovascular o accidente isquémico transitorio (AIT), demencia, como el mal de Alzheimer, lesión cerebral traumática, infecciones, como absceso cerebral, meningitis, encefalitis y VIH/sida, problemas cerebrales presentes al nacer (anomalía cerebral congénita), entre otros; se ha encontrado relación en todas estas enfermedades o patologías con la disminución y/o descontrol del glutamato. Así mismo; se ha corroborado que existe una disminución de ataques epilépticos con fármacos ligados para esta patología en administración con medicamentos para el deterioro mental y fortalecimiento del sistema nervioso central.

El glutamato se considera uno de los aminoácidos de suma importancia en el sistema nervioso central, ya que participan en la captura del neurotransmisor posterior a su liberación en la hendidura sináptica para finalizar de esta manera su efecto y limitar la excitabilidad mediada por el glutamato.⁵ Una vez que el glutamato se libera al espacio entre una neurona y otra en la sinapsis, interactúa con la neurona receptora mediante un sistema de reconocimiento específico a través de proteínas llamadas receptores, que se localizan en la superficie de la membrana.

¹ Ngugi AK, K. S. (2019). A systematic review and meta-analysis. En Incidence of epilepsy. (págs. 1005-1012). Neurology.

² Medina MT, C.-S. F.-C. (2001). Las epilepsias en Centroamérica. Tegucigalpa: Scancolor.

³ México, I. N. (2010). Instituto Nacional de Estadística y Geografía México. Obtenido de Instituto Nacional de Estadística y Geografía México: <http://www3.inegi.org.mx/sistemas/mexicocifras/default.aspx?e=09>. [27.04.2016].

⁴ Abou-Khalil BW, G. M. (2016). Bradley's Neurology in Clinical Practice. Philadelphia: Elsevier.

⁵ L. Medina-Ceja, H. G.-C.-A.-V.-V. (2007). Características estructurales y funcionales de los transportadores de glutamato: su relación con la epilepsia y el estrés oxidativo. Neurociencia, 341- 352.

Estos receptores son complejos proteicos formados por al menos una a cuatro proteínas: en las células nerviosas existen al menos cuatro tipos de receptores.⁶

Se sabe y existe una correlación con distintas enfermedades relacionadas con la deficiencia o trastornos relacionados al receptor de glutamato, este tipo de receptores se dividen en dos principalmente, receptores ionotrópicos y metabotrópicos, para ambos casos, el exceso de calcio, en muchas ocasiones resulta inconveniente para el buen funcionamiento de la propia célula, ya que de mantenerse el ingreso de calcio y alcanzarse altas concentraciones en el interior de la neurona, se pueden activar otros mecanismos que inducen hiperexcitabilidad, neurotoxicidad, degeneración y muerte neuronal.⁷

La necesidad de contar con nuevos tratamientos para estas enfermedades, es de importancia tanto de manera económica como la vida del paciente, el poder abordar estos padecimientos en conjunto abriría oportunidad a nuevas moléculas de investigación. Este proyecto químico-farmacéutico puede llegar a aportar ideas de moléculas novedosas para lograr abordar padecimientos relacionados con el deterioro o excitación del glutamato, así reduciendo el coste de moléculas por separado, teniendo un mejor costo-beneficio, tanto para el paciente como para el área de producción.

⁶ Zaráte, C. B. (Julio de 2005). Revista ciencia. Obtenido de https://www.revistaciencia.amc.edu.mx/images/revista/56_3/glutamato.pdf

⁷ Salama, C. G. (1977). Nootropicdrugs. Progress in neuropsychopharmacology. Great Britain, 235-247.

2.– ANTECEDENTES

2.1 EPILEPSIA

Es una alteración cerebral caracterizada por una predisposición duradera para producir o generar crisis epilépticas, con consecuencias clínicas, psicológicas y sociales. Requiere cuando menos la aparición de una crisis epiléptica.⁸

2.1.1 EPIDEMIOLOGÍA

La epilepsia es uno de los trastornos neurológicos crónicos severos más frecuente que afectan a una proporción importante de la población. Dada la heterogeneidad de sus manifestaciones clínicas es difícil hacer una estimación epidemiológica de su presencia. Para tener una dimensión aproximada de su magnitud, podemos decir que aproximadamente 40 millones de personas en Europa presentan antecedentes de crisis en algún momento de su vida y en la actualidad hasta 6 millones padecen epilepsia activa (0.4-0.8% de la población).⁹

2.1.2 SIGNOS Y SÍNTOMAS

Debido a que la epilepsia se produce a causa de la actividad anormal del cerebro, las convulsiones pueden afectar cualquier proceso que este coordine. Algunos de los signos y síntomas de convulsiones son:¹⁰

- Confusión temporal
- Episodios de ausencias
- Movimientos espasmódicos incontrolables de brazos y piernas
- Pérdida del conocimiento o conciencia
- Síntomas psíquicos, como miedo, ansiedad

⁸ Fernando Barinagarrementería Aldatz, L. D. (2018). Epilepsia. En Neurología Elemental (pág. 203). ELSEVIER.

⁹ Sander JV, S. S. (1996). Epidemiology of the epilepsies. En Neurol Psychiatry (págs. 433-443).

¹⁰ Alden, E. C. (09 de agosto de 2019). MAYO CLINIC. Obtenido de <https://www.mayoclinic.org/es-es/diseases-conditions/epilepsy/symptoms-causes/syc-20350093>

Se han determinado distintos tipos de convulsiones, estas pueden ser:¹¹

- ✚ Las **convulsiones generalizadas** afectan a ambos lados del cerebro.
- ✚ Las **convulsiones de ausencia**, a veces llamadas epilepsia menor o pequeño mal, pueden causar un parpadeo rápido o la mirada fija a lo lejos por unos pocos segundos.
- ✚ Las **convulsiones tónico - clónicas**, también llamadas epilepsia mayor o gran mal, afectan un área anormal del cerebro a veces envía ráfagas de actividad eléctrica.
- ✚ Las **convulsiones focales simples** afectan una pequeña parte del cerebro. Estas convulsiones pueden causar sacudidas o un cambio de sensación, como un sabor u olor extraño.
- ✚ Las **convulsiones focales complejas** pueden hacer que la persona con epilepsia se sienta confundida o aturdida. La persona no podrá responder preguntas ni seguir instrucciones por unos pocos minutos.

Las **convulsiones generalizadas secundarias** comienzan en una parte del cerebro, pero luego se extienden a ambos lados del cerebro. En otras palabras, la persona primero tiene una convulsión focal, seguida de una convulsión generalizada.

2.1.3 DIAGNÓSTICO

Se basa en descripciones de eventos que hacen la familia y el paciente. Es de importancia sobre todo cuando hay crisis con pérdida de conocimiento, que el paciente acuda a la consulta acompañado por testigos presenciales que den información precisa de lo ocurrido. En caso de pacientes con crisis repetidas, se pueden utilizar herramientas como videos caseros para aportar al especialista más datos objetivos sobre lo que ocurre durante las crisis.¹² Las pruebas diagnósticas complementan a una buena historia clínica y pueden apoyar el diagnóstico.

2.1.3.1 ELECTROENCEFALOGRAMA (EEG):

Consiste en un registro de la actividad eléctrica que se produce por las descargas de los millones de neuronas presentes en nuestro cerebro (las ondas cerebrales).

¹¹ (NCCDPHP), C. N. (30 de Mayo de 2018). Centro para el control y la prevención de enfermedades. Obtenido de <https://www.cdc.gov/epilepsy/spanish/basicos/convulsiones.html>

¹² Pedraza, A. J. (22 de Mayo de 2018). Clinic Barcelona Hospital Universitario. Obtenido de <https://www.clinicbarcelona.org/asistencia/enfermedades/epilepsia/diagnostico>

Se trata de una prueba que se realiza desde los años 50, tanto en adultos como en niños, y no entraña ningún tipo de daño ni dolor para el paciente.¹³

El EEG de vigilia normal muestra ondas alfa sinusoidales de 8 a 12 Hz y 50 μ V que aumentan y disminuyen en los lóbulos occipitales y parietales y ondas beta > 12 Hz y 10 a 20 μ V frontales, intercaladas con ondas theta de 4 a 7 Hz y 20-100 μ V.¹⁴

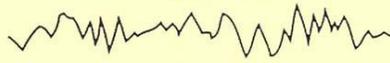
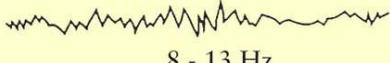
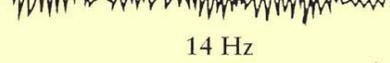
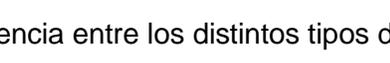
Ondas cerebrales	Frecuencia	Estado mental
	0,5 - 3 Hz	
Onda delta		sueño profundo
	4 - 7 Hz	
Onda theta		sueño ligero
	8 - 13 Hz	
Onda alfa		despierto, relajado
	14 Hz	
Onda beta		despierto, excitado

Figura 1.- Diferencia entre los distintos tipos de ondas cerebrales¹⁴

El EEG es examinado para detectar asimetrías entre los 2 hemisferios (que sugieren un trastorno estructural), lentitud excesiva (aparición de ondas delta de 1 a 4 Hz, 50 a 350 μ V (**Figura 1**), como ocurre en la depresión de la consciencia, la encefalopatía y la demencia) y para los patrones de ondas anormales (**Figura 2**).

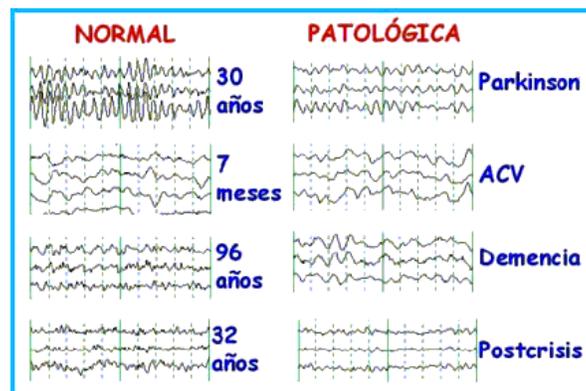


Figura 2.- EEG de una personas sana contra distintas patologías¹⁵

¹³ UCBCares. (2019). Pruebas de diagnóstico. VIVIR CON EPILEPSIA, 8-11.

¹⁴ Carlos Acevedo, O. P. (2014). Epilepsias.

¹⁵ neurotoxicología, V. S. (2015). NEUROFISIOLOGÍA MÁLAGA. Obtenido de <http://neurofisiologiagranada.com/eeeg/eeeg-activpatologica.htm>

En la **Figura 3** se observa un electroencefalograma (EEG) con la patología de epilepsia y marcando la diferencia vidente con distintas patologías referentes a la **Figura 2**.

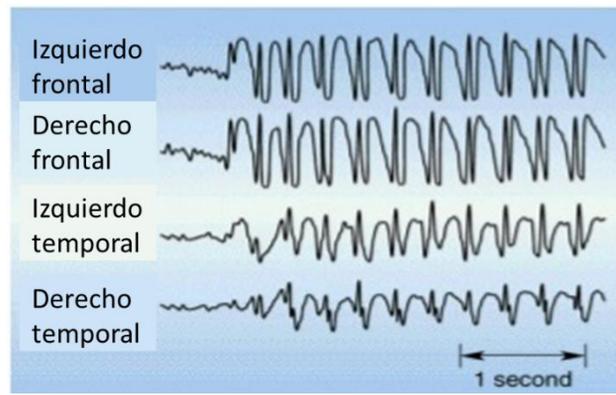


Figura 3 EEG con epilepsia¹⁶

2.1.3.2 HIPERVENTILACIÓN

Es un estudio que se realiza junto al EEG, el cual consiste en inspirar y espirar profundamente, con los ojos cerrados, durante entre 3 y 5 minutos; un procedimiento podría repetirse a lo largo de la prueba. Se utiliza en las ausencias típicas epilépticas, en las que la hiperventilación favorece la aparición de las crisis.¹⁷

2.1.3.3 ESTIMULACIÓN LUMINOSA INTERMITENTE (ELI)

Consiste en enviar varias series de haces luminosos que parpadean con una frecuencia variable mediante un estroboscopio; durante la prueba se le pedirá que abra y cierre los ojos durante varios segundos. De este modo se puede confirmar o descartar una epilepsia fotosensible¹⁸

¹⁶ Coronado, J. M. (09 de Septiembre de 2013). Slideshare. Obtenido de <https://es.slideshare.net/jaredxmc/epilepsia-facultad-de-medicina-unidad-saltillo>

¹⁷ Liaison, O. o. (3 de octubre de 2017). National institute of Neurological Disorder and stroke. Obtenido de https://espanol.ninds.nih.gov/trastornos/crisis_epilepticas.htm

¹⁸ F. Ramos-Argüelles, G. M. (2009). Técnicas básicas de electroencefalografía: principios y aplicaciones clínicas. Scielo.

2.1.3.4 NEUROIMAGEN

Ayudan a confirmar un diagnóstico. Estas suelen ser la tomografía computarizada (TAC) o la resonancia magnética por imagen (RM). Ambas se realizan para conocer y examinar la anatomía del cerebro.¹⁹

Son dos pruebas diagnósticas que se fundamentan en la imagen. Dado que permiten examinar y detectar enfermedades de forma no invasiva, se han convertido en exámenes imprescindibles para confirmar o descartar, en caso de sospecha de que el paciente sufra alguna patología.

El **TAC**, también conocido como escáner, es una prueba que permite obtener imágenes radiográficas del interior del organismo por medio del uso de rayos X. Por medio de éstas, se pueden obtener cortes transversales o imágenes tridimensionales del área objeto de estudio.

Los especialistas indican la realización de un **TAC** por los siguientes motivos¹⁹:

- Si se sospecha de hemorragias, fracturas o lesiones de los órganos internos ligados a un traumatismo
- Para descartar o confirmar la presencia de tumores y su alcance en el organismo
- Sirve para detectar algunas patologías de la columna vertebral y la médula espinal
- Ayuda a definir y diagnosticar algunas infecciones
- Para dirigir algunas intervenciones más invasivas como toma de muestras para biopsias o drenaje de abscesos

En algunas pruebas, puede ser necesario administrar al paciente un líquido llamado contraste. Este líquido es un compuesto de yodo que define y resalta las imágenes que se obtienen, lo que favorece la interpretación de la prueba. El contraste es administrado vía intravenosa y, en algunos casos, vía oral.

2.1.3.5 RESONANCIA MAGNÉTICA

La prueba de resonancia magnética nuclear (RMN) consiste en usar un poderoso campo magnético, ondas de radio y un ordenador para obtener fotografías detalladas del interior del organismo.

¹⁹ Myslobodsky MS, C. R.-Z. (1990). Adequacy of the International Electrode system for computed neurophysiologic topography. Clin Neurophysiol.

Las imágenes se pueden tomar desde cualquier perspectiva y se pueden obtener en dos y en tres dimensiones. La resonancia aporta información que no puede verse con otras pruebas de imagen como un TAC o una ecografía. Esta prueba también es recomendada cuando están contraindicadas otras pruebas de imagen, como cuando existe dificultad para realizar el TAC por alergia al contraste yodado que se usa en esta prueba.

La resonancia magnética sirve para diagnosticar enfermedades relacionadas con el abdomen, el pecho y la pelvis, además de variedad de afecciones, presencia de tumores, rupturas de ligamentos y para examinar el cerebro y la médula espinal.²⁰

2.2 CONVULSIONES FOCALES

Las convulsiones focales se producen a causa de actividad eléctrica anormal en una parte del cerebro. Las convulsiones focales pueden ocurrir con pérdida del conocimiento o sin ella:^{21,22}

- *Convulsiones focales con alteración de la conciencia.* Estas convulsiones involucran un cambio o la pérdida del conocimiento o conciencia. Se puede mirar fijamente en el espacio y no responder con normalidad al entorno o realizar movimientos repetitivos, como frotarse las manos, mascar, tragar o caminar en círculos.
- *Convulsiones focales sin pérdida del conocimiento.* Estas convulsiones pueden alterar las emociones o cambiar la manera de ver, oler, sentir, saborear o escuchar, pero sin perder el conocimiento. También pueden provocar movimientos espasmódicos involuntarios de una parte del cuerpo, como un brazo o una pierna, y síntomas sensoriales espontáneos, como hormigueo, mareos y luces parpadeantes.

Los síntomas de las convulsiones focales pueden confundirse con otros trastornos neurológicos, como migraña, narcolepsia o enfermedades mentales.

²⁰ Lonzi, J. P. (10 de Abril de 2018). Sanitas Muy Saludable. Obtenido de Muy saludable: <https://muysaludable.sanitas.es/salud/diferencias-tac-la-resonancia/>

²¹ Adamolekun, B. (Enero de 2017). Manual MSD. Obtenido de <https://www.msmanuals.com/es-mx/hogar/enfermedades-cerebrales,-medulares-y-nerviosas/trastornos-convulsivos/trastornos-convulsivos>

2.2.1 CONVULSIONES GENERALIZADAS

Las convulsiones que aparentemente se producen en todas las áreas del cerebro se denominan «convulsiones generalizadas». Los diferentes tipos de convulsiones generalizadas comprenden:¹⁷

- Crisis de ausencia. Las crisis de ausencia, previamente conocidas como «convulsiones *petit mal*» (epilepsia menor), a menudo ocurren en niños y se caracterizan por episodios de mirada fija en el espacio o movimientos corporales sutiles como parpadeo o chasquido de labios. Pueden ocurrir en grupo y causar una pérdida breve de conocimiento.
- Crisis tónicas. Las crisis tónicas causan rigidez muscular. Generalmente, afectan los músculos de la espalda, brazos y piernas, y pueden provocar caídas.
- Crisis atónicas. Las crisis atónicas, también conocidas como «convulsiones de caída», causan la pérdida del control muscular, que puede provocar un colapso repentino o caídas.
- Crisis clónicas. Las crisis clónicas se asocian con movimientos musculares espasmódicos repetitivos o rítmicos. Generalmente afectan el cuello, la cara y los brazos.
- Crisis mioclónicas. Las crisis mioclónicas generalmente aparecen como movimientos espasmódicos breves repentinos o sacudidas de brazos y piernas.
- Crisis tonicoclónicas. Las crisis tonicoclónicas, previamente conocidas como «convulsiones de gran mal» (epilepsia mayor), son el tipo de crisis epiléptica más intenso y pueden causar pérdida abrupta del conocimiento, rigidez y sacudidas del cuerpo y, en ocasiones, pérdida del control de la vejiga o mordedura de la lengua.

En la **Tabla 1** se muestran de manera resumida los tipos y clasificaciones de epilepsia de acuerdo a la OMS.²³

¹¹ (NCCDPHP), C. N. (30 de Mayo de 2018). Centro para el control y la prevención de enfermedades. Obtenido de <https://www.cdc.gov/epilepsy/spanish/basicos/convulsiones.html>

²³ OMS. (19 de Abril de 2020). Organización mundial de la salud. Obtenido de <https://www.who.int/es/news-room/factsheets/detail/epilepsy>

Tabla 1.- Clasificación de las crisis epilépticas

TIPO DE CRISIS EPILÉPTICA		CARACTERÍSTICAS
Parciales o focales	Simple	Se preserva la consciencia y los síntomas dependen del área del cerebro involucrada.
	Complejas	Se produce pérdida del conocimiento.
	Con evolución a generalizadas	Crisis parcial que evoluciona hasta tónico-clónica con pérdida del conocimiento.
Generalizadas	Ausencias (“ <i>petit mal</i> ”)	Se comportan como breves episodios de pérdida brusca de conciencia sin alteración del control postural. Habituales en los niños.
	Tónico-clónicas (“ <i>grand mal</i> ”)	Presentan un comienzo brusco y una fase inicial con contracción tónica generalizada, seguida de una fase clónica y recuperación de la consciencia.
	Atónicas y mioclonías	

2.3 TRATAMIENTO FARMACOLÓGICO

Los fármacos que principalmente se prescriben, para casos de convulsión se muestran en la **Tabla 2:**

Tabla 2.- Clasificación de fármacos con actividad anticonvulsivos.²⁴

Aplicaciones clínicas de los antiepilépticos					
Crisis tonicoclónicas	Crisis parciales	Ausencias	Mioclónicas	Dolor neuropático	Estado anímico (estabilizadores)
Fármacos de elección -Carbamazepina (De preferencia, debido a su baja incidencia de efectos secundarios) -Fenitoína -Valproato Fármacos nuevos (aún no evaluados por completo) -Vigabatrina -Lamotrigina -Felbamato -Gabapentina	Fármacos de elección -Carbamazepina -Valproato Alternativas -Clonazepam -Fenitoína	-Etosuximida (primer fármaco de elección) -Valproato (Cuando se presentan con crisis tonicoclónicas, la mayoría de los otros antiepilépticos pueden empeorar ausencias) (segundo fármaco de elección) -Lamotrigina (tercer fármaco de elección) -Clorazepam (cuarto fármaco de elección)	Diazepam	-Carbamazepina -Gabapentina -Pregabalina	Cuando el litio no funciona -Carbamazepina -Valproato

Las complicaciones más comunes con este tratamiento farmacológico son los efectos adversos que pueden llegar a presentarse, los cuales son náuseas, vómitos, visión doble, pérdida y somnolencia, entre otras. Para el caso de la carbamazepina

²⁴ Cavazos, J. E. (Enero de 2009). Neurology: Seizures and Epilepsy. Obtenido de <https://emedicine.medscape.com/article/1184846-overview>

(Figura 4) como lo es en todos los casos el mayor problema que presenta es la adicción de este fármaco.

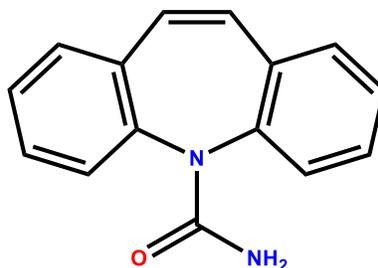


Figura 4.- Estructura de la Carbamazepina

Como se observa puede observar, dentro de la estructura conserva dos anillos característicos de las dibenzoazepinas, atribuyendo su adicción al tratamiento.

2.4 FISIOPATOLOGÍA

El mecanismo de la epilepsia, es aquella que genera la descarga excesiva, paroxística, pero auto limitada, de impulsos nerviosos desde un grupo de neuronas cerebrales (Figura 5). Se asocia a manifestaciones clínicas objetivas y/o subjetivas.

La propagación de esas descargas nerviosas puede deberse a un exceso de mecanismos excitatorios mediados por el glutamato y sus receptores postsinápticos (NMDA y AMPA) y/o ser debido también a un déficit de la inhibición por parte del GABA y su receptor postsináptico (GABA-a).²⁵

²⁰ OMS. (19 de Abril de 2020). Organización mundial de la salud. Obtenido de <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/epilepsy>

²⁵ Quintans-Júnior L, S. D. (2009). Anticonvulsant Property of NSalicyloyltryptamine: Evidence of Enhance of Central GABAergic Neurotransmission. Clin Neurophysiol, 165-168.

Fisiopatología de la epilepsia

@alsanagust

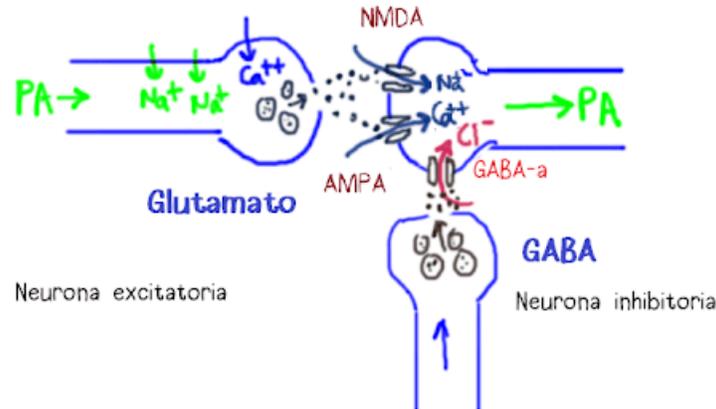


Figura 5 Mecanismo de acción del Glutamato²⁵

2.5 MECANISMOS DE PRODUCCIÓN DE TRASTORNOS COGNITIVOS Y CONDUCTUALES DE LOS FÁRMACOS ANTIEPILEPTICOS

Los mecanismos de acción posiblemente involucrados en la producción de trastornos de conducta y de las FC por parte de los FAE son:^{26, 27}

- Lesiones neuropatológicas.** Los FAE, en concreto PB y PHT en politerapia, pueden producir lesiones irreversibles en los nervios periféricos, hecho que podría extrapolarse al SNC, aunque los estudios con PHT en el cerebelo no han sido de momento definitivos.
- Déficit de ácido fólico.** Varios trabajos indican que la reducción de los folatos séricos y del ácido fólico de los hematíes tiene relación directa con el estado de humor y con determinadas patologías psiquiátricas. También se apunta a una relación entre el tratamiento antiepiléptico y los niveles séricos bajos de ácido fólico, especialmente con PB o PHT. Además, adultos epilépticos o con trastornos psiquiátricos tienen anormalmente bajos los folatos en el suero y en los hematíes.

²⁶ Aujla P, F. M. (2017). Talampanel supresses the acute and chronic effects of seizures in a rodent neonatal seizure model. *Epilepsia*, 694-701.

²⁷ Elza Márcia Targas Yacubian, G. C.-C.-P. (2014). Farmacocinética de los fármacos antiepilépticos. En E. M. Yacubian, Tratamiento Farmacológico de las epilepsias (págs. 35-48). São Paulo: Abbott.

- **Alteración del metabolismo de las monoaminas centrales.** Los FAE inhiben el metabolismo de la 1-5-hidroxitriptamina; la CBZ eleva significativamente el triptófano plasmático, mientras que PHT y PB lo reducen, lo que podría explicar en parte las diferencias entre los FAE con respecto al humor y rendimiento intelectual.
- **Alteraciones metabólicas hormonales.** La influencia de los FAE sobre el lóbulo anterior de la hipófisis y las hormonas sexuales podría tener consecuencias sobre la psicopatología y las FC. Estos efectos se han descrito con todos los FAE.
- **Hiperamonemia.** En el caso del VPA, que produciría somnolencia y reducción de la atención, efectos dosis dependientes y probablemente ocasionados por depleción del acetyl-CoA mitocondrial y menor producción de *N*-acetil-glutamato, activador de la primera enzima del ciclo de la urea.
- **Trastornos neurológicos y de la conducta.** Estos trastornos, directa o indirectamente, reducen la rapidez de pensamiento, estado de alerta, atención, etc., y se producen con todos los FAE, incluso con el uso de niveles plasmáticos terapéuticos. Evidentemente, el niño que debido al tratamiento con PB tenga irritabilidad, inquietud motora, dificultad para conciliar el sueño, etc., va a desarrollar un cuadro de hiperactividad con déficit de atención, con las consabidas consecuencias negativas para el aprendizaje. Del mismo modo, los que presenten somnolencia por sensibilidad especial o por exceso de dosis, reducirán su atención y comprensión.

2.6 COMPLICACIONES

Las complicaciones de la epilepsia pueden incluir:²⁰

- **Problemas de aprendizaje**
- Broncoaspiración de alimento o saliva durante una convulsión, lo cual puede provocar neumonía por aspiración
- Lesiones a raíz de caídas, golpes, mordidas auto infligidas, conducir u operar maquinaria durante una convulsión
- Lesión cerebral permanente (accidente cerebrovascular u otro daño).

2.7 NOOTRÓPICOS

Un agente nootrópico es cualquier sustancia que puede alterar, mejorar o aumentar el rendimiento cognitivo, principalmente a través de la estimulación o inhibición de

ciertos neurotransmisores. El efecto primario de los nootrópicos es incrementar la función cognitiva del telencéfalo. Estas sustancias actúan como potenciadores metabólicos del sistema nervioso central, facilitando la utilización de glucosa, transporte de oxígeno, y la rotación de energía (equilibrio entre el ADP/ATP).²⁸

Se denomina “nootropo” a un grupo de fármacos psicoactivos que mejoran la eficiencia de la actividad integradora telencefálica superior.⁷ Favorece el aprendizaje y protegen frente aquellos agentes que lo impiden (hipoxia, electroshock), facilitan la transferencia de información interhemisférica, incrementan la resistencia del cerebro frente a la agresión, incrementan el tono del control córtico-subcortical., carecen de efectos sedantes o estimulantes.

Aplicando esta definición estrictamente, solo son nootrópicos la piritioxina, piracetam y sus derivados, pero algunos autores consideran dentro de este grupo algunas sustancias como la codergocrina o dihidroergotoxina, meclofenoxato o centrofenoxina, vincamina, vinpocetina y naftidrofuril.²⁹

Con anterioridad se sugirió seis criterios básicos, que quizás la definición más rigurosa, en términos de actividad metabólica en el cerebro, para definir los agentes nootrópicos. De acuerdo a esta definición un nootrópico:

- Debe carecer de efecto vasodilatador directo.
- Debe carecer de efectos que alteren el patrón electroencefalográfico
- Debe ser capaz de cruzar la barrera hematoencefálica
- Debe poseer pocos o ningún efecto secundario
- Debe demostrar actividad metabólica
- Debe haber sido sometido a múltiples ensayos clínicos que establezcan el modo de acción farmacológico.

Un nootrópico ideal, sobre la base de estas definiciones, debería reunir los siguientes requisitos:⁷

- Que incremente el metabolismo cerebral de forma demostrable en humanos.
- Que proteja las células nerviosas contra la hipoxia.
- Que no tenga influencias en el patrón normal del EEG.

²⁸ Cristina Lanni, S. C. (2018). Cognition enhancers between treating and doping the mind. ELSEVIER, 196-213.

²⁹ Trzeciak, G. &. (2002). Piracetam and Vinpocetine Exert Cytoprotective Activity and Prevent Apoptosis of Astrocytes In Vitro in Hypoxia and Reoxygenation. ELSEVIER, 19-31.

- Mínimos efectos secundarios y buena tolerancia en la población anciana.
- Sin efectos sedantes, tranquilizantes o estimulantes.

Existen distintos fármacos nootrópicos conocidos como racetamos.

2.7.1 RACETAMOS

Los racetamos son compuestos estructuralmente similares, derivados de la 2-pirrolidona, (**Figura 6**) a menudo comercializados como potenciadores cognitivos y vendidos sin prescripción facultativa. Los racetamos a menudo son relacionados a la clase de los nootrópicos, pero sus propiedades farmacológicas no han sido bien establecidas.³⁰ Su mecanismo de acción es poco comprendido, sin embargo, se postula que el piracetam y aniracetam actúan como moduladores alostéricos positivos del receptor AMPA y parecen modular el sistema colinérgico.

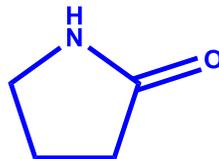


Figura 6.- Estructura 2-pirrolidona

Como fármacos nootrópicos existen diversos empleados principalmente para distintos problemas relacionados con atención, principalmente con la concentración, falta de aprendizaje y problemas de memoria.

Existen una gran cantidad de este tipo de fármacos, dentro de los cuales se encuentran

- Etiracetam. Aumenta la vigilancia.
- Nefiracetam. Análogo del piracetam, y facilita la neurotransmisión hipocampal.
- Oxiracetam. Análogo del piracetam, y 2 a 4 veces más potente. Mejora memoria, concentración, y vigilancia.
- Pramiracetam. Quince veces más potente que el piracetam, del cual es un análogo.
- Coluracetam. Puede también tener uso potencial en la prevención y el tratamiento de lesiones retinianas y del nervio óptico.

³⁰ Knezevic, K. W. (2012). Neurodevelopment, Aging and Cognition. Springer Science & Business Media, 396.

- Fenilpiracetam En estudios con animales muestra actividad anti-amnésica, antidepressiva, anticonvulsiva, antipsicótica, ansiolítica, y realza la memoria.
- Otros racetamos: Brivaracetam; Dimiracetam; Etiracetam; Fasoracetam; Imuracetam; Levetiracetam; Nebracetam; Nicoracetam; Rolipram; Rolziracetam; Seletracetam.³¹

Piracetam es un fármaco con prescripción utilizado en Europa y es el primer y más comúnmente medicamento utilizado por sus efectos nootrópicos. Es un agente colinérgico, sinérgico con DMAE, centrofenoxina, colina, e hidergina. Incrementa los niveles de energía y el metabolismo de las células del cerebro, y acelera el flujo de información interhemisférica (comunicación entre hemisferios derecho-izquierdo del cerebro). Aumenta la vigilancia, mejora la concentración e incrementa la memoria. Protege las neuronas contra la hipoxia y estimula el crecimiento de los receptores de la acetilcolina por vía de transcripción de genes. El Piracetam disminuye marcadamente la formación de lipofuscina neuronal. Mejora la postura en la gente de edad avanzada, sin embargo, su uso no es regulado en los EE. UU.³²

2.7.2 PIRACETAM

El Piracetam (2-oxo-1-pirrodilin acetamida) (**Figura 8**) es un análogo cíclico del aminoácido GABA (**Figura 7**). Es un polvo blanco, inodoro, de sabor amargo, soluble en agua y etanol. A pesar de su similitud GABA carece de efectos GABA miméticos.

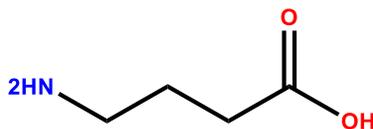


Figura 7.- Estructura química del aminoácido GABA

Los casos de sobredosis con piracetam son raros. La sobredosis más alta notificada con piracetam fue la ingesta oral de 75 g que se asoció con diarrea y dolor abdominal; lo más probable es que los signos estuvieran relacionados con la dosis extremadamente alta de sorbitol contenida en la formulación utilizada.

³¹ Robert L, M. K. (1995). Antiepileptic Drug Mechanism of Action. *Epilepsia*, 2-12.

³² Gualtieri F, M. D. (2012). «Design and study of piracetam-like nootropics, controversial members of the problematic class of cognition-enhancing drugs. *Curr. Pharm*, 125-138.

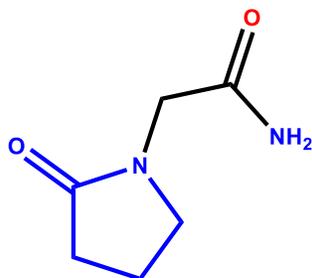


Figura 8.- Estructura química de Piracetam

En casos de sobredosis aguda significativa, se recomienda el vaciado del estómago mediante lavado gástrico o emesis inducida, ya que no se conocen antídotos para piracetam. El manejo de una sobredosis probablemente será un tratamiento sintomático y puede incluir hemodiálisis, donde la eficacia de extracción del dializador es del 50 al 60% para el fármaco.

Para las reacciones adversas regularmente son de carácter gastrointestinal. En algunos pacientes se han reportado desde insomnio, irritación emocional y agitación nerviosa.³³

La Dosis letal media (DL₅₀) oral en un estudio de toxicidad aguda en ratones fue de 2000 mg / kg.

Otros derivados con el mismo perfil farmacodinámico son: oxiracetam, etiracetam, pramiracetam y aniracetam.

2.7.2.1 RUTA DE SÍNTESIS DEL PIRACETAM

En la **Figura 9** se muestra una de las rutas de síntesis más sencillas para la obtención de Piracetam, ya que existen diversas rutas alternas para su obtención.³⁴

³³ Vademecum, V. (1 de Enero de 2015). Vademecum. Obtenido de <https://www.vademecum.es/principios-activos-piracetam-n06bx03>

³⁴ Agrawal, S. K., Sathe, M., Halve, A. K., & Kaushik, M. P. (2012). Dibutylphosphate (DBP) mediated synthesis of cyclic N,N'-disubstituted urea derivatives from amino esters: a comparative study. Elsevier, 5996-5999.

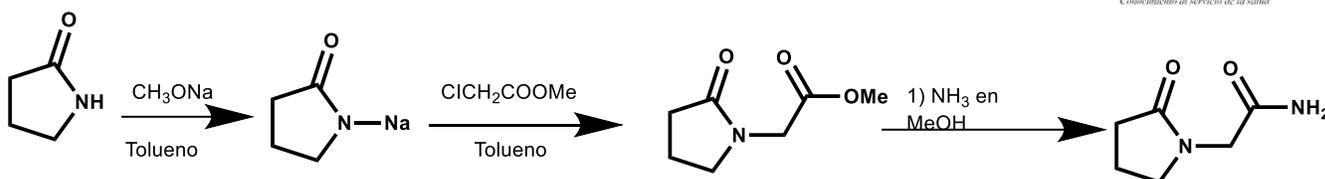


Figura 9.- Ruta sintética alterna del Piracetam

1. Se añade gota a gota una solución metanólica de metóxido sódico, 20-110°C.
2. Se evapora el disolvente metanólico y se añade gota a gota una solución en tolueno de cloroacetato de metilo.
3. Se deja enfriar a temperatura ambiente, se filtra con succión y destila el filtrado a presión reducida para recoger las fracciones.
4. Se mezclan las fracciones anteriores con una solución de amoníaco / metanol, reaccionar a 50-70 ° C durante 3-18 horas.
5. Filtrar en caliente para obtener un producto crudo.
6. Se concentra el filtrado a presión reducida y filtrar para obtener un segundo producto crudo.
7. Combinar el producto bruto anterior con alcohol.
8. El disolvente se recrystaliza, se filtra y se seca para obtener cristales blancos. Obteniendo un rendimiento del 89%

2.7.2.2 RECEPTOR DE GLUTAMATO

Como se mencionaba con anterioridad el glutamato, es uno de los neurotransmisores más abundantes en el sistema nervioso, realiza su acción excitadora actuando sobre receptores específicos localizados en la membrana neuronal. Los receptores de glutamato se han clasificado en dos grupos principales: receptores ionotrópicos y metabotrópicos (**Figura 10**).³⁵ El receptor NMDA es una proteína muy compleja y tremendamente regulada. Su conductancia al Ca^{2+} es notablemente alta y es quizá su característica más destacable y la responsable de muchas de sus funciones. Distintas combinaciones de la subunidad fundamental NR1 con las otras subunidades dan lugar a receptores NMDA con propiedades funcionales diferentes, que pueden estar distribuidas en áreas encefálicas específicas y/o que pueden definir respuestas fisiológicas o patológicas distintas en respuesta al glutamato. Se han localizado receptores de glutamato en SNC, páncreas, hipófisis, glándulas adrenales y gónadas. Particularmente en páncreas,

³⁵ María Jesús Mardomingo Sanz, P. R. (2012). Psicofarmacología Del Niño y Del Adolescente. En P. R. María Jesús Mardomingo Sanz. Díaz de Santos.

se demostró que GluR1 y GluR4 se hallan limitadas a células secretoras de insulina en la masa central de los islotes pancreáticos.³⁶ Se conoce que hay receptores de NMDA en osteoclastos y osteoblastos, postulándose que puedan participar en el desarrollo de enfermedades como la osteoporosis. En vista de la amplia participación del glutamato en la neurotransmisión, así como en el desarrollo de varias patologías, se han intentado ensayos clínicos con varias drogas bloqueantes de los receptores NMDA, principalmente antagonistas ionotrópicos, con resultados prometedores en cuanto a dolor, depresión y Parkinson.³⁷

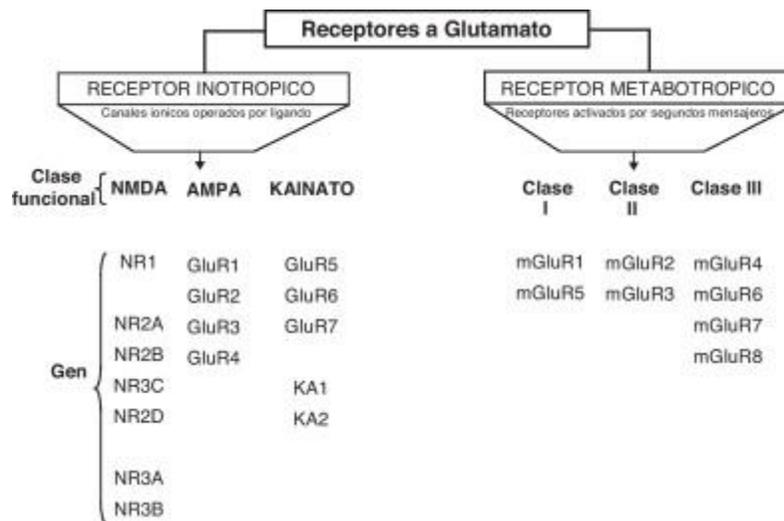


Figura 10.- Tipos de receptores de Glutamato³⁸ (M.E.Flores-Soto, 2012)

Ácido glutámico o glutamato, es un aminoácido de naturaleza ácida que desempeña un papel central en relación con los procesos de transaminación y en la síntesis de distintos aminoácidos que necesitan la formación previa de este ácido, como es el caso de la prolina, oxiprolina, ornitina y arginina. Se acumula en proporciones considerables en el cerebro (100-150 mg por 100 gr de tejido fresco).³⁹ De todos los posibles precursores, la glutamina es la más importante en la síntesis de este neurotransmisor y, por consiguiente, la glutaminasa mitocondrial de los terminales nerviosos sería la enzima responsable de su formación. De hecho, la regulación de

³⁶ H, S. (2007). The neurobiology of epilepsy. En The neurobiology of epilepsy (págs. 348-354).

³⁷ A, Y. (2005). Concepto, clasificación y etiología. En Crisis convulsivas (págs. 68-73).

³⁸ M.E.Flores-Soto, V.-H. M.-D.-V.-C.-Z. (2012). Estructura y función de las subunidades del receptor a glutamato tipo NMDA Structure and function of NMDA-type glutamate receptor subunits. Sociedad Española de Neurología, 301-310.

³⁹ Shank RP, G. J. (2010). pharmacology, pharmacokinetic and mechanism of action. En An overview of the preclinical aspects of topiramate (págs. 41-53).

esta enzima está estrechamente ligada a la actividad del terminal nervioso. Debido a que se inhibe por glutamato, el producto de la reacción, en condiciones de reposo o inactividad de los altos niveles de glutamato intraterminales (3-10 mM) mantienen la enzima inactiva. Tras la llegada de un potencial de acción se produce liberación de glutamato desapareciendo, por tanto, la inhibición existente sobre la enzima, lo que equivale a una activación de la formación de glutamato que restaura los niveles del neurotransmisor en el terminal sináptico.

2.7.2.3 RECEPTORES IONOTRÓPICOS DE GLUTAMATO

Típicamente los canales iónicos se encuentran cerrados en el estado de reposo, pero se abren en respuesta a la unión del agonista, permitiendo que iones específicos fluyan a través de sus gradientes electroquímicos a través de un poro interno.⁴⁰ Tras la activación, los canales pasan por una desensibilización espontánea, cerrándose incluso en la presencia continua del agonista. En la sinapsis (**Figura 11**) la función de estos canales iónicos es la despolarización o hiperpolarización de la membrana plasmática, dependiendo de la selectividad iónica del canal y la naturaleza de los gradientes transmembrana correspondiente.

⁴⁰ universitarios, I. d. (mayo de 2019). Instituto de altos estudios universitarios. Obtenido de <https://www.iaeu.edu.es/estudios/neuropsicologia/consecuencias-cognitivas-de-la-epilepsia/>

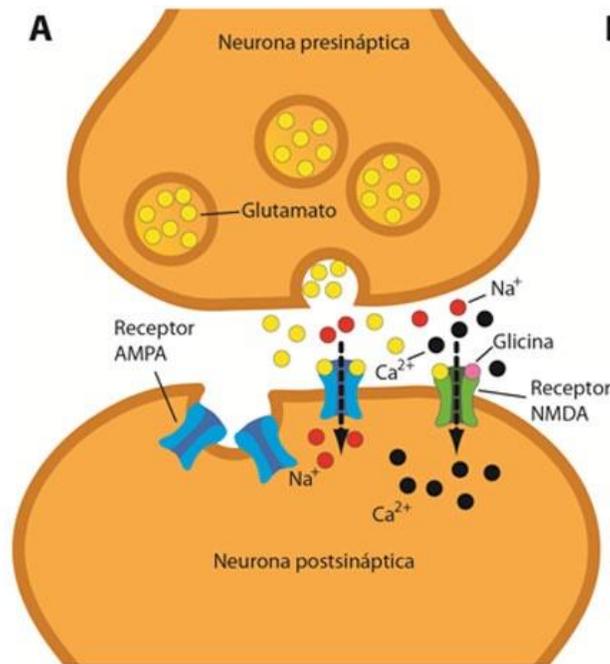


Figura 11.- Proceso de sinapsis⁴¹

Las tres familias de receptores ionotrópicos (**Figura 12**) fueron definidas en principio por su farmacología y posteriormente por su biología molecular, esto último a finales de los años 80s.⁴² Posterior a la caracterización de las subunidades, y al hallazgo de su papel primordial en cuanto a las sinapsis excitatorias del cerebro, se le comenzó a dar mayor importancia a la investigación de antagonistas y agonistas.

Es así entonces que se definieron tres subtipos de receptores en razón de su afinidad por agonistas sintéticos: NMDA, AMPA y Kainato.

⁴¹ Romero, I. S. (2018). Sensores ópticos para estudiar los procesos de aprendizaje y memoria. SEBBM DIVULGACIÓN LA CIENCIA AL ALCANCE DE LA MANO, 1-2.

⁴² Torres M, B. J. (2011). Fisiopatología del estatus epiléptico. Granados: Neuro colomb.

actividad neuronal a través de un mayor período de tiempo.⁴⁶ La estructura de estos receptores es la típica estructura de los receptores acoplados a proteína G, y consta de siete dominios transmembrana, separados por pequeñas asas intra y extracelulares.

METABOTRÓPICOS

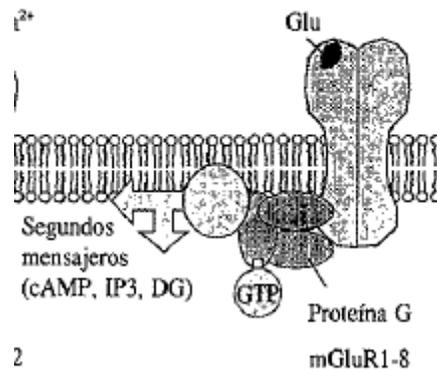


Figura 13.- Receptor metabotrópicos.³⁷

2.7.2.5 GLUTAMATO ENDÓGENO Y NEUROTOXICIDAD AGUDA

El mecanismo principal que parece mediar la neurotoxicidad aguda es el desequilibrio iónico relacionado con la entrada excesiva de Na⁺ y Ca²⁺, a través de canales iónicos (**Figura 14**). Para los receptores de glutamato esto se ha llamado excitotoxicidad; y se ha demostrado como un mecanismo fisiopatológico en el desarrollo de neurodegeneración tras traumatismos, isquemia y otras enfermedades neurológicas.

⁴⁶ RA., S. (2010). Antiepilépticos: Aportación de los nuevos fármacos. Colombia: Acta Neurol Colomb.

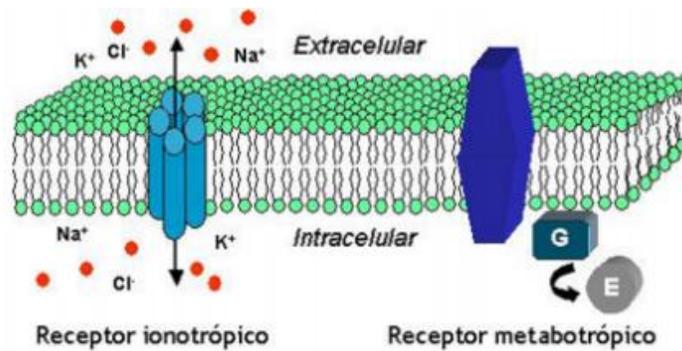


Figura 14.- Entrada y salida de calcio y sodio⁴⁷

Debido a que los GluRs son canales iónicos selectivos a Na^+ , K^+ y Ca^{2+} , cualquier estimulación sostenida resulta en daño osmótico debido a la entrada excesiva de iones y agua. Los receptores NMDA tienen una participación particularmente importante al conducir iones de Ca^{2+} , que son cruciales determinantes del daño.¹⁰ Es esta alta concentración de Ca^{2+} que activa a varias cascadas enzimáticas que incluyen a las fosfolipasas, proteínas cinasa C (PKC), proteasas, sintetasas de ácido nítrico y la generación de radicales libres. Tras la activación de la fosfolipasa A2, se genera ácido araquidónico, en conjunto con sus metabolitos y factores activadores de plaquetas. Los factores activadores de plaquetas incrementan los niveles de calcio neuronal, debido a que estimulan la liberación de glutamato. El ácido araquidónico potencia las corrientes evocadas por NMDA e inhibe la reabsorción de glutamato por astrocitos y neuronas. Esto exagera aún más la situación, creando un feedback positivo donde se forman radicales libres (durante el metabolismo del ácido araquidónico), que lleva a mayor activación de fosfolipasa A2. La consecuencia es mayor glutamato extracelular, que contribuye a una activación sostenida de los GluRs.

La concentración elevada de Ca^{2+} , eleva el óxido nítrico por la vía de la activación de sintetasas de óxido nítrico por calmodulinas, lo cual genera radicales de oxígeno. En vista de que los receptores AMPA son permeables al Ca^{2+} , y el mecanismo de activación del óxido nítrico es Ca^{2+} dependiente, se ha postulado que la activación del mismo puede formar parte de mecanismos de lesión en todos los tejidos.

Se ha planteado que la enzima GPT (transaminasa glutamato-piruvato, también conocida como alanina aminotransferasa) es capaz de degradar bajo condiciones

³⁷ J., L. (1997). Receptores Postsinápticos de Neurotransmisores. Real Academia de Ciencias Exactas, 271-277.

⁴⁷ Luján, R. (2004). Bases moleculares de la señalización neuronal. Ciencia al día internacional, 1-19.

fisiológicas, concentraciones neurotóxicas de glutamato⁴⁸ con lo cual evitaría el desarrollo de excitotoxicidad en algunos tejidos.

2.7.2.6 NMDA

El receptor NMDA es una proteína muy compleja y tremendamente regulada. Su conductancia al Ca^{2+} es notablemente alta y es ésta quizá su característica más destacable y la responsable de muchas de sus funciones (**Figura 15**). Otra característica especial del receptor NMDA es que para que el canal se abra se necesita, además del glutamato, la presencia de un co-agonista (el aminoácido glicina). Ciertas poliaminas, al igual que la glicina, modulan positivamente el canal, mientras que el zinc y un exceso de protones lo modulan negativamente. Sin embargo, lo más llamativo de este receptor es que comparte características funcionales de canales regulados por ligando y de canales sensibles al voltaje y dependientes de uso. Esta propiedad está relacionada con el bloqueo efectivo del canal del receptor NMDA por el ion Mg^{2+} , cuando el potencial de membrana está próximo al valor de reposo. Este bloqueo es eliminado transitoriamente cuando la membrana se despolariza, por estimulación repetitiva previa, por ejemplo.

Los receptores NMDA son complejos proteicos formados por diferentes combinaciones de varias subunidades (denominadas NMDAR1 y NMDAR2A-2D). La subunidad NMDAR1 posee todas las propiedades fundamentales necesarias para constituir un canal funcional y puede estar presente en ocho isoformas diferentes. La otra familia de proteínas que contribuye a la formación de receptores NMDA funcionales está constituida por cuatro variantes de la subunidad NMDAR2 (NMDAR2A-2D), codificadas por cuatro genes separados. Distintas combinaciones de la subunidad fundamental NMDAR1 con las otras subunidades dan lugar a receptores NMDA con propiedades funcionales diferentes, que pueden estar distribuidas en áreas encefálicas específicas y/o que pueden definir respuestas fisiológicas o patológicas distintas en respuesta al glutamato.⁴⁹

¹⁴ Carlos Acevedo, O. P. (2014). Epilepsias.

⁴⁸ Joshi I, T. C. (2016). Pregabalin action at a model synapse; binding to presynaptic calcium channel alpha 2-delta subunit reduces neurotransmission in mice. *Eur J Pharmacol*.

⁴⁹ Herranz JL, A. J. (1988). Clinical side effects of phenobarbital, primidone, phenytoin, carbamazepine, and valproate during monotherapy in children. *En Epilepsia* (págs. 794-804).

ACTIVADOR DE NMDAR

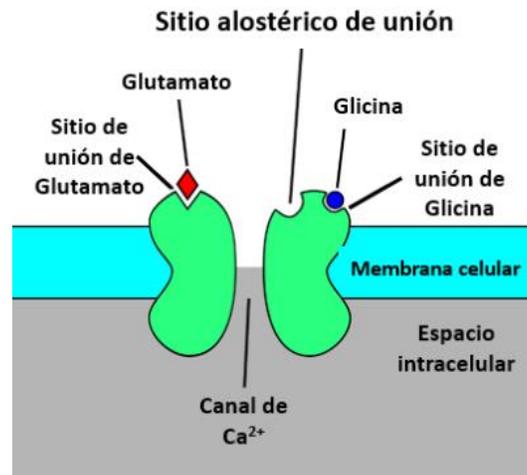


Figura 15.- Activación NMDA⁵⁰

Una gran parte de las acciones mediadas por los receptores NMDA se basa en la regulación del flujo de Ca^{2+} hacia el interior de la célula. La activación de los receptores NMDA permitiría un rápido influjo de Ca^{2+} , con la consiguiente elevación intracelular de Ca^{2+} , lo cual dispararía una cascada de sistemas de segundos mensajeros que podría producir acciones muy diversas.

Glutamato y receptores NMDA están involucrados en numerosas funciones dentro del sistema nervioso. Uno de los procesos más estudiados en el que los receptores NMDA parecen jugar un papel clave es la plasticidad sináptica. La maduración de los circuitos nerviosos (establecimiento de conexiones funcionales) durante el desarrollo, y también en el adulto, depende de la activación y consolidación de ciertas sinapsis, mediante mecanismos de plasticidad en el que están involucrados los receptores NMDA. La potenciación a largo plazo (LTP), una forma de plasticidad sináptica que está en la base de los procesos de aprendizaje y memoria, implica la activación de los receptores NMDA. También ha sido demostrado recientemente un papel crucial de los receptores NMDA en los procesos de formación de las memorias, incluida la denominada memoria episódica, un tipo de memoria que nos permite recordar las experiencias vividas, aunque los acontecimientos solamente

⁵⁰ Laube B, H. H. (1997). "Molecular determinants of agonist discrimination by NMDA receptor subunits: analysis of the glutamate binding site on the NR2B subunit". *Neuron*, 493-503.

ocurran una vez. Otros estudios han demostrado un papel del glutamato a través de su unión con receptores NMDA en los procesos de emigración celular.⁵¹

2.7.2.7 AMPA

El receptor del ácido α -amino-3-hidroxi-5-metilo-4-isoxazolpropiónico (**Figura 16**) (también sabido como receptor AMPA, AMPAr, o receptor quisqualato) es un receptor transmembrana ionotrópico tipo “no-NMDA” para glutamato, que media la transmisión sináptica rápida en el sistema nervioso central (SNC). Su nombre deriva de su capacidad de ser activado por el equivalente de glutamato artificial AMPA. El receptor fue inicialmente identificado como el "receptor de quisqualato" por Watkins y colaboradores, tras identificar al quisqualato como su agonista natural, siendo más tarde denominado "receptor AMPA " tras haber sido desarrollado su agonista selectivo por Tage Honore y colegas en la Real Escuela Danesa de Farmacia en Copenhague.⁵² Los AMPAr se localizan en muchas regiones del cerebro y es el receptor más abundante en el sistema nervioso. El receptor tetrámero AMPA GluA2 (GluR2) fue el primer canal iónico receptor de glutamato en ser cristalizado.

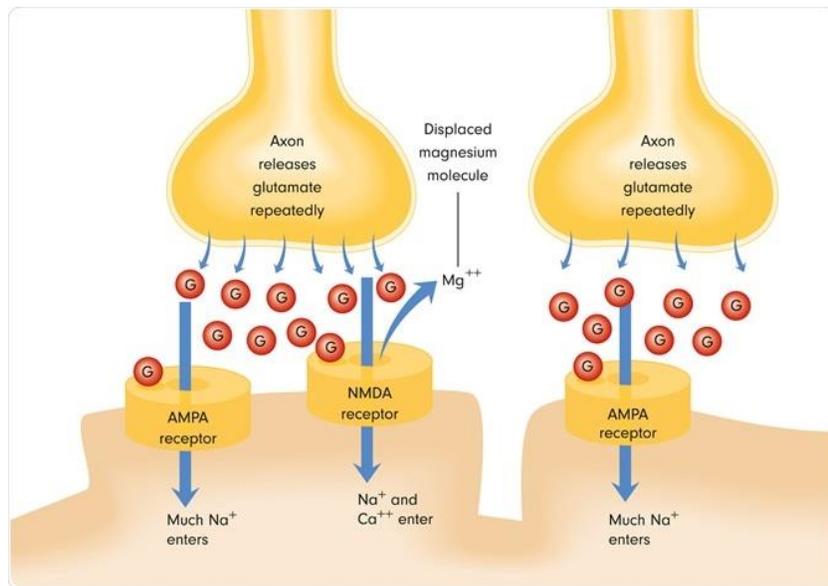


Figura 16.- activación de receptor AMPA

⁵¹ Main MJ, C. J. (2010). Modulation of KCNQ2/3 potassium channels by the novel anticonvulsant retigabine. *Mol Pharmacol*, 253-262.

⁵² Tage Honore, J. L.-L. (1982). The Binding of [3H]AMPA, a Structural Analogue of Glutamic Acid, to Rat Brain Membranes. *Journal of Neurochemistry*, 173-178.

2.7.2.8 Kainato

Los receptores de kainato son receptores ionotropos de glutamato. Como ligandos, comparte agonistas con receptores AMPA; de hecho, a veces se hace referencia a los receptores de kainato y AMPA como a una sola entidad, denominada “receptor no NMDA”. Como otros receptores de glutamato, se encuentran en la membrana de neuronas y presentan una respuesta excitatoria de la célula en la que se presentan⁵³ (**Figura 17**).

Estructuralmente, poseen una estequiometría y topología transmembrana definidas. Se trata de tetrámeros, y cada monómero posee un lugar de unión para el ligando y aporta un aminoácido al lumen del canal, canal que está compuesto de residuos hidrofóbicos y que penetra en la membrana. Existen cinco tipos de subunidades de receptores de kainato: GRIK1, GRIK2, GluR6, GluR7, KA1 y KA2; todos ellos son semejantes a las subunidades de los receptores AMPA o NMDA. GluR5-7 puede formar homómeros (es decir, un receptor que por ejemplo está formado por cuatro subunidades de GluR5) y heterómeros (por ejemplo, un receptor que contenga ambos tipos); no obstante, KA1 y KA2 sólo forman receptores funcionales combinándose con una subunidad del tipo GluR5-7.⁵⁴

A diferencia de los receptores AMPA, los receptores kainato juegan un papel minoritario en la señalización de las sinapsis; No obstante, desempeñan un rol fundamental en la plasticidad sináptica, pues afectan a la respuesta a posteriori de la célula estimulada. Los receptores de kainato son abundantes en el hipocampo.⁵⁵

⁵³ Dingledine R, B. K. (2009). The glutamate receptor ion channels. *Pharmacological Reviews*, 12-28.

⁵⁴ JE, H. (2003). Kainate receptors and synaptic transmission. *Progress in Neurobiology*, 387-407.

⁵⁵ Fritsch B, R. J. (2014). Role of GluK1 kainate receptors in seizures, epileptic discharges, and epileptogenesis. *The Journal of Neuroscience*, 5765-5775.

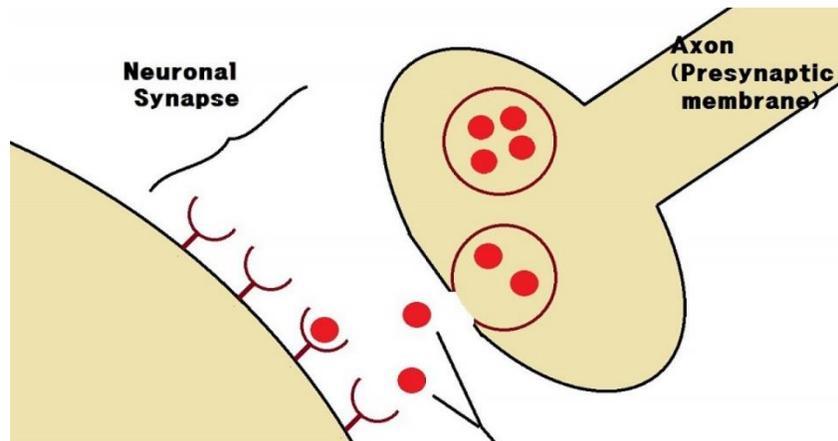


Figura 17.- Señalización mediada por receptores de Kainato

3.- JUSTIFICACIÓN

Aunque se desconoce el mecanismo de acción del efecto nootrópico del Piracetam, se ha encontrado que algunos fármacos nootrópicos presentan actividad anticonvulsiva, y que pueden potenciar por sí solos o en conjunto su efecto al administrarse con otros agentes antiepilépticos.

En este proyecto se pretende aportar compuestos polifarmacológicos que posean actividad nootrópica y además tengan efecto anticonvulsivo para ser potenciales alternativas terapéuticas o coadyuvantes para el tratamiento experimental de la epilepsia con menos efectos adversos.

4.- HIPÓTESIS

Los compuestos análogos de piracetam **EER 1-6** serán ligandos virtuales, del receptor de Glutamato (GluR2) y podrán mostrar actividad dual, con potencial efecto nootrópico y anticonvulsivo.

5.- OBJETIVOS

5.1 OBJETIVO GENERAL

Diseñar compuestos análogos del Piracetam y realizar predicciones *in silico* del comportamiento farmacocinético, farmacodinámico, toxicológico y el posible modo de unión de los compuestos **EER 1-6** con el receptor 2 de glutamato.

5.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Diseñar 6 compuestos análogos de Piracetam (**EER 1-6**).
- Predecir *in silico* la posible actividad nootrópica y anticonvulsiva de los compuestos diseñados, así como sus características farmacocinéticas (ADME) y toxicológicas empleando diversos programas quimioinformáticos.
- Realizar estudios de acoplamiento molecular automatizados para conocer el posible modo de unión de los ligandos diseñados sobre el receptor 2 de Glutamato.
- Efectuar un análisis de consenso farmacológico de los 6 compuestos con mejores propiedades farmacológicas y seleccionar un compuesto como posible *hit* computacional.
- Proponer la ruta de síntesis química de los compuestos diseñados para su futura obtención y evaluación biológica.

6.- CONSIDERACIONES DEL DISEÑO MOLECULAR

Para del diseño de los compuestos análogos de Piracetam se tomaron en cuenta diversos criterios como son:

- Bases para el diseño molecular
- Isosterismo
- Bioisosterismo
- Reglas de Lipinski

El diseño racional de las moléculas se basó en el farmacóforo de los moduladores alostéricos positivos del receptor AMPA. De acuerdo a la definición IUPAC.⁵⁶

Un **farmacóforo** es “un conjunto de características estéricas y electrónicas que es necesario para asegurar la óptima interacción supramolecular con un blanco biológico específico y para activar o bloquear una respuesta biológica”.⁵⁷ En el farmacóforo podemos encontrar 4 regiones importantes para la actividad biológica las cuales se describen a continuación.

- **Una región hidrofóbica:** la cual permite la formación de interacciones no polares con los residuos del receptor.
- **Fragmento de 2-pirrolidona:** Contenida en los racetamos.
- **Un anillo aromático:** el cual está unido estrechamente a la región ácida.
- **Una región ácida:** que simula los ácidos carboxílicos de los ligandos endógenos, misma que permite la interacción con los residuos básicos del receptor para favorecer la unión.

6.1 BASES PARA EL DISEÑO FINAL DE LOS COMPUESTOS

Las consideraciones para el diseño de las moléculas, se tomó como modelo una molécula (Piracetam); cuya actividad biológica está bien detallada y comprendida, a la cual se le efectuaron una serie de modificaciones que no alteren su bioactividad, manteniendo el farmacóforo para el fin deseado. (**Figura 18**)

⁵⁶ (IUPAC), I. U. (22 de Septiembre de 2002). Waybackmachine. Obtenido de <https://web.archive.org/web/20110525110924/http://www.iupac.org/web/ins/2000-004-2-500>

⁵⁷ C. G. Wermuth, C. R. (1998). Glossary of terms used in medicinal chemistry. Great Britain: Pure & appl. Chem.

El Piracetam de la misma manera que los moduladores alostéricos del receptor AMPA consta de un patrón farmacofórico en particular:

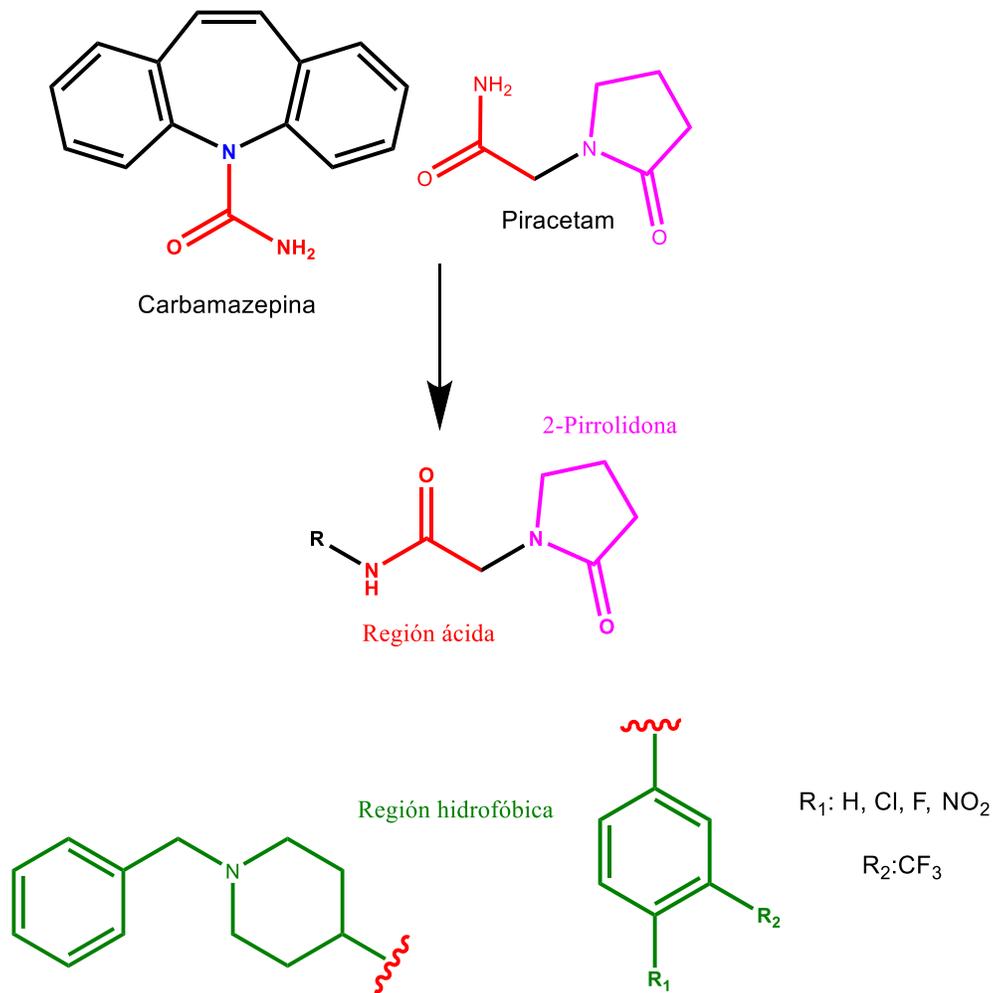


Figura 18.- Farmacóforo y análogo de Piracetam

En química farmacéutica es indispensable conocer el concepto de biososterismo para comprender por qué se realizan modificaciones a la molécula y cómo compensarlas de una manera razonable para disminuir los efectos adversos y aumentar tanto su potencia como su eficacia. Pero para comprender este concepto es importante definir el término isosterismo.

6.2 Isosterismo. Langmuir (1919) definió como isósteros a aquellos compuestos o agrupaciones de átomos que tienen el mismo número y disposición de electrones. Las moléculas que se consideren isósteros deben, contener el mismo número de

átomos; p.e. N₂ y CO, N₂O y CO₂; los isómeros se caracterizan por tener propiedades físicas similares. Más tarde, Erlenmeyer volvió a definir los isómeros como “átomos, iones o moléculas en los que las capas electrónicas periféricas pueden considerarse idénticas”.⁵⁸

6.3 Bioisosterismo. Término introducido por Friedman: “Los bioisómeros conservan la definición clásica de isosterismo, pero que además se mantiene la actividad biológica”.

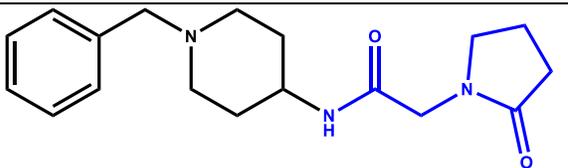
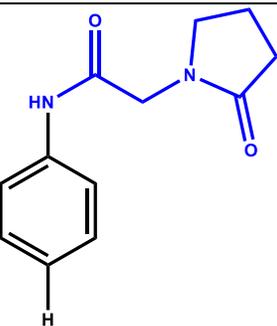
Teniendo claros estos conceptos se hicieron las siguientes modificaciones respecto a Piracetam para el diseño de sus análogos (**Figura 18**):

A) Para el compuesto **EER-1** se agregó una cadena en la amina primaria de 4-amino-*N*-bencilpiperidina, (Bioisosterismo: Alteraciones de las propiedades fisicoquímicas por introducción de nuevos grupos o sustitución de nuevas partes).

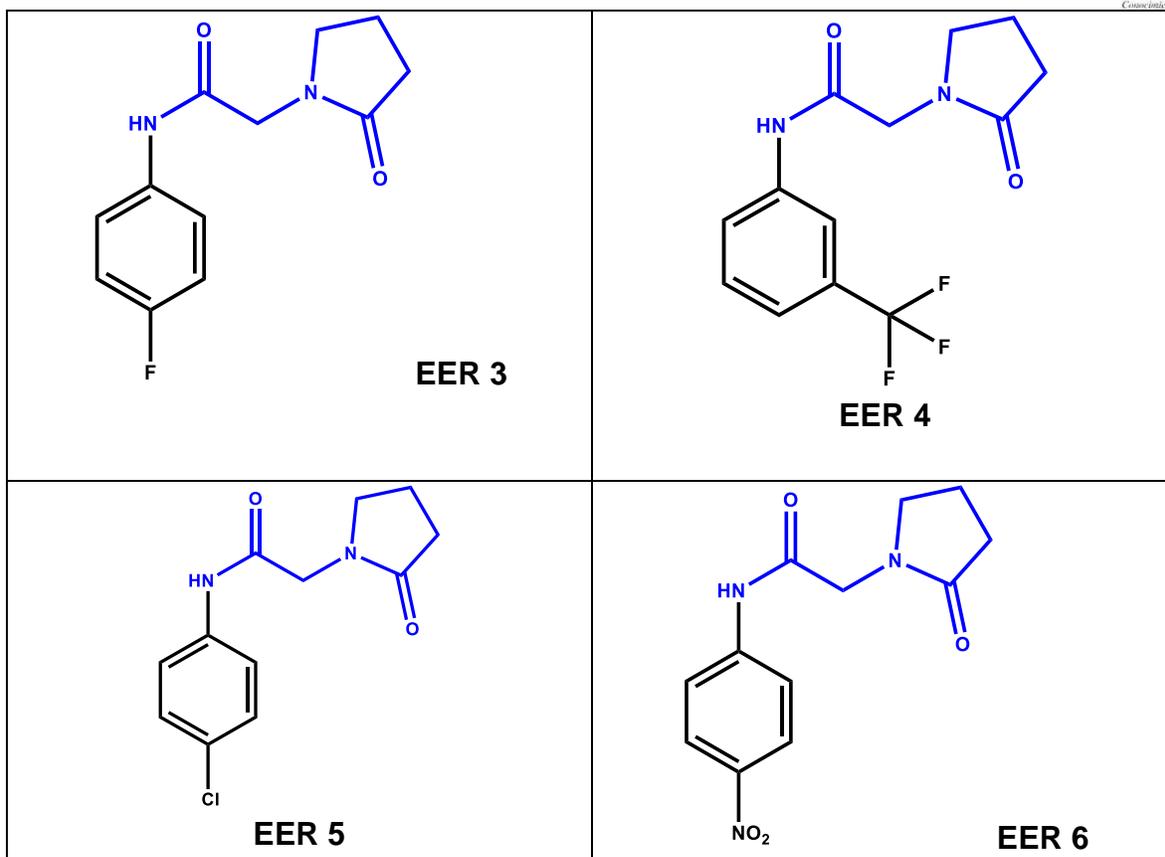
B) Para los compuestos **EER 2 a 6** se mantiene la anilina con sustituyentes en posiciones *para* y *meta*.

En la **Tabla 3** se observan los cambios estructurales para los compuestos propuestos.

Tabla 3.- Compuestos **EER 1-6**

Tabla de compuestos EER 1-6	
 <p>EER 1</p>	 <p>EER 2</p>

⁵⁸ Aranda, A. a. (1 July 2001). Nuclear Hormone Receptors and Gene Expression. *Physiological Reviews*, 1269-1304.



6.4 Metabolismo

Uno de los puntos más importantes para el diseño de los compuestos es el metabolismo de los fármacos es el proceso por el cual ocurre una biotransformación en el cuerpo de modo que puedan ser eliminadas más fácilmente. La mayoría de los procesos donde se lleva a cabo el metabolismo de fármacos se produce en el hígado, debido a que en ese órgano se producen las enzimas que facilitan la biotransformación.⁵⁹

El metabolismo de los fármacos comprende dos fases. En las reacciones de fase I se forma, modifica o elimina (oxidación, reducción o hidrólisis) un grupo funcional; estas reacciones no son de carácter sintético. Las reacciones de fase II consisten

⁵⁹ Rojas, A. C. (16 de febrero de 2017). Conogasi.org. Obtenido de Metabolismo de fármacos: <http://conogasi.org/articulos/metabolismo-de-farmacos/>

en la conjugación con sustancias endógenas (ej., ácido glucurónico, sulfato, glicina); estas reacciones son de carácter sintético.

Como se puede observar en la **Tabla 3**, se predeciría un metabolito en común con todas las estructuras, siendo este un posible co-fármaco.

Un co-fármaco es aquella molécula que además de presentar una actividad biológica *per se*, al metabolizarse genera una molécula con propiedades biológicamente activas. Como ejemplo se encuentra la sulfasalazina, una sulfonamida que al metabolizarse por las azorreductasas promueve a la generación del ácido 5-aminosalicílico y sulfapiridina.

Un pro-fármaco es una especie sin actividad farmacológica la cual es metabolizada a la especie activa mediante un proceso químico o enzimático. Algunos de los primeros fármacos eran en realidad especies pro-fármacos que una vez introducidos en el organismo generaban el metabolito activo.

6.5 Reglas de Lipinski y su importancia en el diseño de moléculas bioactivas

Para el diseño racional de moléculas bioactivas como potenciales candidatos a fármacos, en la química farmacéutica se analizan diversos parámetros con la finalidad de que aumente la probabilidad de éxito.

En 1997 Christopher A. Lipinski de la compañía Pfizer estableció la regla de los 5's o también conocida como regla de Lipinski⁶⁰, la cual establece que habrá problemas de permeabilidad, absorción y biodisponibilidad cuando:

- Hay más de 5 donadores de puentes de hidrógeno (expresados como la suma de -OH y -NH en la molécula)
- El peso molecular (PM) de la molécula es mayor a 500 g/mol
- El número de aceptores de puentes de hidrógeno (expresado como la suma de los átomos de -O y -N) es mayor a 10
- La lipofilidad del compuesto, expresada cuantitativamente como $\log P$ (el logaritmo del coeficiente de partición entre agua y 1-octanol), es menor a 5

Cabe señalar que estas reglas únicamente aplican en la absorción por difusión pasiva de compuestos a través de membranas celulares; los compuestos que son

⁶⁰ Albert Leo, C. H. (1971). Partition coefficients and their uses. California: Department of Chemistry.

transportados activamente a través de membranas celulares por proteínas transportadoras son la excepción a esta regla.

El criterio de las reglas de Lipinski son ampliamente utilizadas por los químicos-farmacéuticos para predecir, no sólo la absorción de los compuestos, como originalmente lo determinó Lipinski, sino para lograr buenas propiedades cuasi-fármaco.

6.5.1 Molinspiration Cheminformatics

El programa computacional Molinspiration Cheminformatics (**Figura 19**) permite calcular propiedades fisicoquímicas consideradas por las reglas de Lipinski, así como la predicción de la bioactividad de moléculas de interés partir de su estructura 2D, actualmente se puede consultar en la Web www.molinspiration.com/.

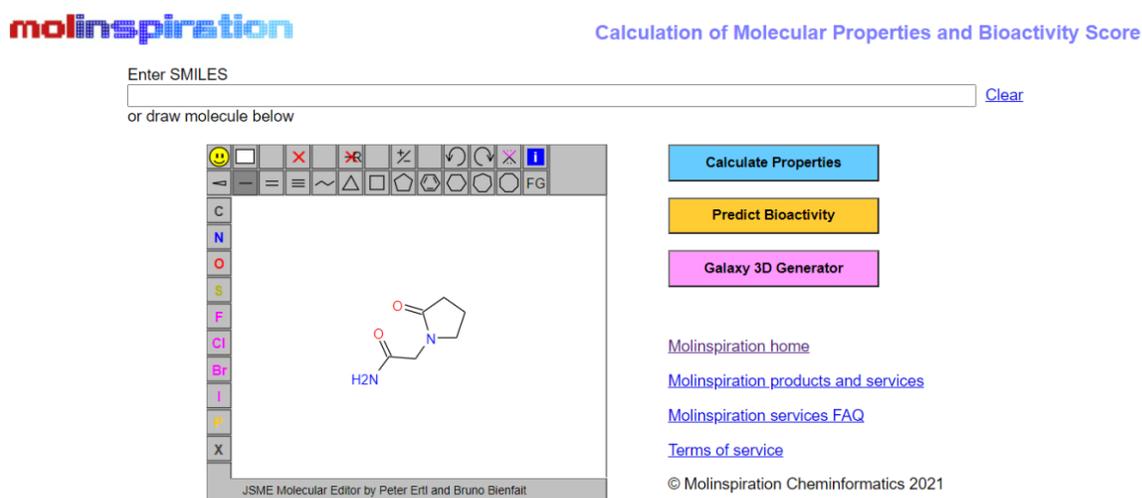


Figura 19.- Interfaz del programa Molinspiration

Los compuestos diseñados no deben presentar más de dos violaciones a los postulados de Lipinski en caso contrario indicará que las moléculas diseñadas tendrán una alta probabilidad de presentar problemas de permeabilidad y absorción lo que se traduce en una mala biodisponibilidad. En la **Tabla 4** se observa que la serie de compuestos finales **EER 1-6** no presentan violación a los postulados de Lipinski, por lo tanto, es posible predecir que las moléculas propuestas no tendrán problemas de permeabilidad y absorción en el tracto gastrointestinal.

Tabla 4.-Propiedades de los compuestos **EER 1-6** calculas por Molinspiration.

Parámetros calculados por Molinspiration					
Compuestos	Log-P < 5	Peso Molecular < 50	Número de aceptores de H < 10	# de donadores < 5	Número de violaciones < 2
EER-1	1.49	315.42	5	1	0
EER-2	1.24	218.26	4	1	0
EER-3	1.40	236.25	4	1	0
EER-4	2.11	286.25	4	1	0
EER-5	1.92	252.70	4	1	0
EER-6	1.20	263.25	7	1	0
Piracetam	-1.20	142.16	4	2	0

7.- METODOLOGÍA

Se comenzó con la parte computacional obteniendo y creando un censo de los compuestos, estos observados y evaluados previamente en los distintos programas que se emplean para la optimización del trabajo, una vez realizado el censo se propone una ruta sintética para la obtención de los compuestos deseados para así ahorrar tanto tiempo como reactivos.

7.1 PARTE COMPUTACIONAL (*in silico*)

Todos los programas (con excepción ACD/ToxSuite) fueron instalados o corridos sobre la Laptop Asus modelo e402sa con SO: Windows 10 Home, 64 bits, Procesador Intel® Celeron® CPU BGA1170, Procesador de gráficos Intel® HD Graphics, y 2 Gb de memoria RAM.

7.1.1 Espectro de Actividad Biológica para Sustancias (PASS, por sus siglas en inglés Prediction of Activity Spectra for Substances)

Este es un predictor (**Figura 20**) de libre acceso el cual se emplea y está diseñada para observar la predicción del espectro de actividad biológica de compuestos orgánicos basados en formulas estructurales para más de 4000 tipos de actividades biológicas con una precisión superior al 95%. La predicción está basada en un análisis de la relación estructura-actividad (SAR por sus siglas en inglés Structure-Activity Relationships) en un compendio de la información, tanto de la estructura como de la actividad biológica de más de 300000 compuestos orgánicos. Como usuarios de esta herramienta quimioinformática, se obtiene información como una lista de diversos tipos de actividades biológicas con un estimado de probabilidad para cada tipo de actividad para “ser activo” (determinado como P_a) y para “ser inactivo” (determinado como P_i), los valores varían de cero a uno. La oportunidad de encontrar, experimentalmente, una determinada actividad biológica, incrementa al aumentarse el valor de P_a y disminuirse el valor de P_i . Por ejemplo, cuando $P_a > 0.7$, las posibilidades de encontrar una actividad experimental son relativamente elevadas pero los compuestos pueden encontrarse cerca de ser análogos estructurales de fármacos conocidos. En la situación de que se encontrase un rango de $0.5 < P_a < 0.7$, las posibilidades de encontrar una actividad biológica son menores pero los compuestos serán menos similares a agentes farmacéuticos conocidos. Para $P_i < P_a < 0.5$, las posibilidades de detectar experimentalmente una

actividad serán muy pequeñas, pero si la predicción es confirmada, el compuesto se podrá considerarse dentro de una clase como una nueva entidad química para la actividad biológica descrita. En este predictor se puede observar la probabilidad efectiva de nuestros compuestos; ya sea la probabilidad de que sea negativa o positiva. Para que pueda usar PASS para la predicción del espectro de actividad biológica para compuestos existentes y compuestos, que solo están planificados para sintetizar.⁶¹



Figura 20.- Interfaz del programa PASS online
<http://www.way2drug.com/passonline>

7.1.2 PROGRAMA OSIRIS DATAWARRIOR Predictor de propiedades cuasi-fármaco (*drug-likeness*) y del puntaje de fármacos (*drug score*)

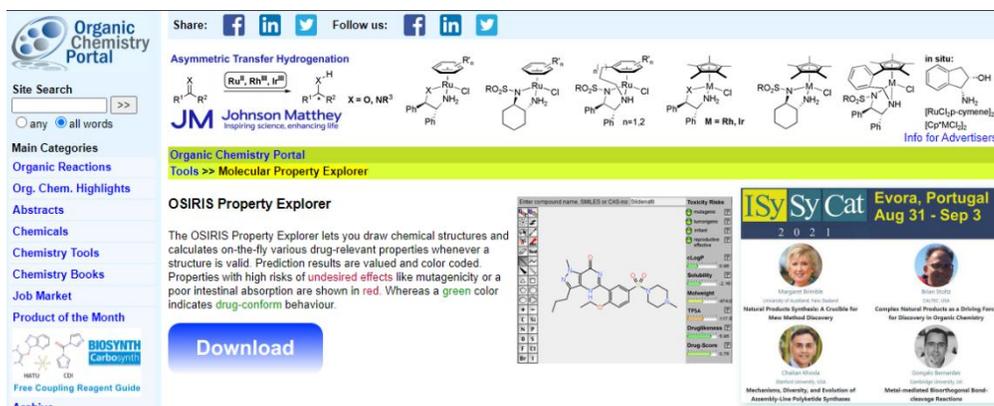


Figura 21.- Programa OSIRIS

⁶¹ PASSonline. (2020). PASSonline applicattions. Obtenido de PASSonline: <http://www.pharmaexpert.ru/passonline/applications.php>

Osiris Datawarrior (**Figura 21**) es un programa quimioinformático de acceso libre, el cual se puede encontrar en el Portal de Química Orgánica en la web; <http://www.organicchemistry.org/prog/peo/>. OSIRIS permite predecir el riesgo de toxicidad como: mutagenicidad, tumorigenicidad, efectos irritantes y reproductivos, así como también permite calcular el cLogP, solubilidad y peso molecular a partir de la estructura 2D. OSIRIS asigna un puntaje de Druglikeness y Drug-Score, el Druglikeness refleja la similitud que tiene la molécula con otras ya existentes, mientras el Drug-Score combina la puntuación de todos los parámetros antes mencionados (Druglikeness, cLogP, riesgos de toxicidad, solubilidad y PM), esto permite determinar si la molécula de interés posee las características necesarias para calificar como un posible fármaco.⁶²

7.1.3 ADMETSAR: Predicción de las propiedades de Absorción, Distribución, Metabolismo, Eliminación y Toxicidad



Figura 22.- Programa ADMESAR (<http://lmmd.ecust.edu.cn/admetsar2/>)

La fase farmacocinética es importante para la correcta disposición de los fármacos y generen la respuesta biológica en cuestión. Puede ser resumida mediante la sencilla frase: “Lo que el cuerpo le hace al fármaco”, está conformada por la Absorción, Distribución, Metabolismo, Eliminación; sin embargo, para el estudio de las propiedades ADMET, se le suma la Toxicidad. siendo admetSAR (**Figura 22**) la Relación Estructura-Actividad de la absorción, metabolismo, excreción y toxicidad. Estos conjuntos de propiedades son importantes para el desarrollo de fármacos y su posterior síntesis de una manera más racional al filtrar moléculas en base a sus

⁶² Thomas Sander, J. F. (2015). DataWarrior: An Open-Source Program For Chemistry Aware Data Visualization And Analysis. J Chem Inf Model, 460-473.

propiedades antes descritas, mediante la comparación con una base de datos continuamente actualizada que colecta sus propiedades ADMET.⁶³

7.1.4 SWISSADME

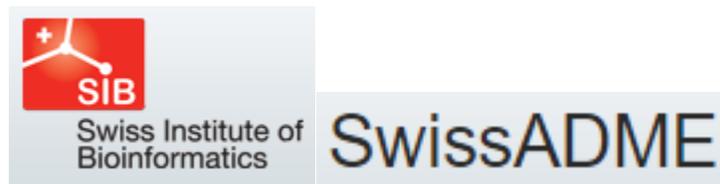


Figura 23.- Programa SwissADME (<http://www.swissadme.ch>)

SwissADME (**Figura 23**) es un predictor que le permite calcular descriptores fisicoquímicos, así como predecir los parámetros ADME, las propiedades farmacocinéticas, la naturaleza similar a la de un fármaco y la compatibilidad de la química medicinal de una o varias moléculas pequeñas para respaldar el descubrimiento de fármacos fisicoquímicos de nuestros compuestos, como así de igual manera propiedades farmacológicas.^{64,65}

7.1.5 ACD/ToxSuite como herramienta para conocer la toxicidad aguda



Figura 24.- Programa ACD/Toxsuite

La predicción *in silico* de la toxicidad ha sido aplicada al diseño de moléculas bioactivas, así como a su desarrollo con el fin de filtrar sustancias potencialmente dañinas para el organismo.

El programa computacional (en este caso se requiere licencia, que fue adquirida por la Facultad de Farmacia) ACD/ToxSuite (**Figura 24**) es una colección de módulos que permiten predecir las probabilidades de criterios de valoración básica de

⁶³ AdmetSAR. (2019). AdmetSAR. Obtenido de <http://lmmd.ecust.edu.cn/admetSar2/>

⁶⁴ Antoine Daina, O. M. (2017). SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. scientific reports , 1-13.

⁶⁵ Bioinformatics, s. i. (2020). SwissADME. Obtenido de <http://www.swissadme.ch/>

toxicidad. Las predicciones están realizadas tomando en cuenta la estructura química, fundamentada en bases de datos validadas, así como en modelos relación estructura-actividad cuantitativa (QSAR por sus siglas en inglés *Quantitative Structure-Activity Relationships*) junto con el conocimiento de la química orgánica y toxicológica.

Para este caso, de igual manera se compara con un fármaco ya existente a la venta en el mercado, teniendo ese marco de referencia, es posible comparar su toxicidad. Software para la predicción de puntos finales de toxicidad básica a partir de la estructura química. ACD/Tox Suite es una colección de módulos de software que predicen las probabilidades de puntos finales de toxicidad básicos. Puede personalizar su conjunto de predicciones eligiendo entre una serie de módulos expertos que incluyen inhibición de hERG, inhibición del CYP, genotoxicidad, toxicidad aguda, toxicidad acuática, irritación de ojos / piel, alteración del sistema endocrino y efectos sobre la salud.⁶⁶

El conjunto de todos estos predictores nos dan un conocimiento probable de la actividad que pueda llegar presentar nuestros compuestos, de igual manera se da una idea de las propiedades fisicoquímicas, químicas y biofísicas de los compuestos a estudiar o sintetizar.

7.1.6 GLORYx: Predictor de metabolismo

La biotransformación o metabolismo, es la fase farmacocinética que consta de la modificación de la molécula con el fin de aumentar su polaridad; sin embargo, es de suma importancia saber que la biotransformación no sólo tiene como prioridad la eliminación de las moléculas bioactivas, sino que también puede activarlas para originar la respuesta biológica, inactivarlas y convertirlas en metabolitos tóxicos.

GLORYx (**Figura 25**) es una herramienta computacional de libre acceso (<https://nerdd.zbh.uni-hamburg.de/gloryx/>) que puede predecir los metabolitos que se pueden formar en los seres humanos. GLORYx cubre tanto el metabolismo de fase I como el de fase II.

⁶⁶ Advanced Chemistry Development, I. (Diciembre de 2020). Obtenido de <https://www.acdlabs.com/products/percepta/index.php>

GLORYx

Predicting Phase I and Phase II Metabolites

Select metabolism phase(s):

- Phase I and phase II metabolism
 Phase I metabolism
 Phase II metabolism

Provide input molecule(s):

Enter SMILES

Example: CC/C(=C(\C1=CC=CC=C1)/C2=CC=C(C=C2)OCCN(C)C)/C3=CC=CC=C3

or upload a file with a list of SMILES

[GLORYx Home](#)

[NERDD Home](#)

[About GLORYx](#)

[Feedback and Support](#)

GLORYx

GLORYx is a tool for predicting metabolites that can be formed in humans. GLORYx covers both phase I and phase II metabolism.

To predict metabolites resulting from cytochrome P450-mediated metabolism only, please use the tool GLORY instead.

Both GLORY and GLORYx use reaction rule sets to generate structures of predicted metabolites, combined with predicted sites of metabolism (SoMs) to score and rank the predicted metabolites. Sites of metabolism (SoM) are predicted with FAME 3. The structures of the

Figura 25.- Interfaz del programa GLORYx

GLORYx fue diseñado para predecir los metabolitos de los xenobióticos que pueden formarse en los seres humanos en el metabolismo de fase I y fase II. GLORYx se basa en un enfoque doble que consiste en los siguientes aspectos: la incorporación de sitios de metabolismo (SoMs) predichos por FAME 3 y la transformación de moléculas en sus potenciales metabolitos utilizando conjuntos de reglas de reacción. Los usuarios pueden elegir predecir los metabolitos de la fase I, de la fase II o de ambas.⁶⁷

8.- ACOPLAMIENTO MOLECULAR

8.1 Acoplamiento molecular Automatizado⁶⁸

Con el uso de programas de mecánica molecular es posible conocer la estructura tridimensional de un ligando en su posible sitio de reconocimiento con la finalidad de predecir la conformación más estable y su interacción con el sitio de unión. A este proceso se le conoce como *molecular docking* o acoplamiento molecular. Con esta estrategia se busca predecir la estructura y energía de un complejo

⁶⁷ Bruyn Kops, C., Šicho, M., Mazzolari, A., & Kirchmair. (2020). Universität Hamburg. Obtenido de <https://nerdd.zbh.uni-hamburg.de/gloryx/about/>

⁶⁸ Hernández Vázquez, E. (2010). "Diseño, síntesis y estudios in silico de profármacos de adenosina". UNAM (ciencias Químicas).

intramolecular formado por dos o más moléculas: dadas las coordenadas espaciales de los átomos de dos moléculas, se predice la geometría y energía de unión aproximada. Para ello es necesario conocer la estructura de la proteína de interés (obtenida por rayos X, resonancia magnética nuclear o modelado por homología).

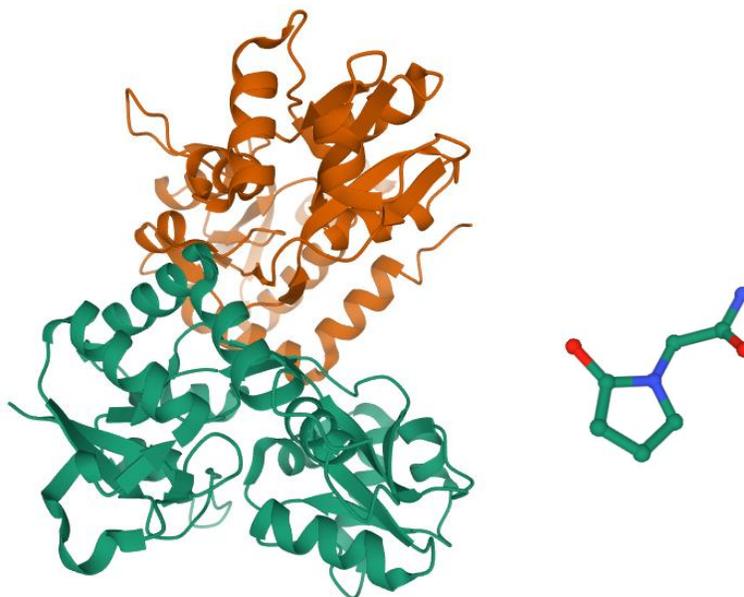


Figura 26.- Visualización en 3D del receptor 2 de glutamato y ligando (Piracetam)

Mediante el acoplamiento molecular se predijeron las conformaciones de los ligandos y su orientación (binding) dentro de un sitio activo o cavidad del receptor antes mencionado. (**Figura 26**). La energía de unión (ΔG) o energía del complejo ligando-receptor debe considerar factores estéricos, electrostáticos, rigidez de la macromolécula, formación de puentes de hidrógeno, interacciones hidrofóbicas, así como la desolvatación, factores entrópicos rotacionales y traslacionales.⁵⁶

El acoplamiento molecular consiste en tres pasos:

1. Se representa el sistema en el espacio por medio de mallas (grid), que guarda información de la contribución energética del receptor para la unión del ligando,
2. *Scoring sampling*: Búsqueda del espacio conformacional accesible al ligando (lo cual permite encontrar diferentes conformaciones y orientaciones del ligando al sitio de unión), y, por último,

3. *Scoring functions*: Se evalúan las posibles soluciones. Para esto se emplean funciones de evaluación, calculando la energía libre de unión del complejo. A menor valor numérico, más afinidad tendrá el ligando por el receptor.

La búsqueda de las conformaciones para el acoplamiento molecular, tratando al ligando como flexible, se puede realizar con tres algoritmos principales:

- I. Búsqueda sistemática: Se busca explorar todos los grados de libertad de una molécula, en ocasiones se logra dividir a la molécula en fragmentos rígidos y partes flexibles. Programas como DOCK, FLOG y FlexX emplean esta metodología.
- II. Búsqueda aleatoria (método estocástico): Operan al realizar cambios aleatorios, obteniéndose nuevas conformaciones y se evalúan por medio de una función de probabilidad. Estos algoritmos incluyen al método Monte Carlo y algoritmos genéticos. Programas como Autodock, MOE, DOCK y GOLD usan este tipo de algoritmos.
- III. Métodos de simulación: Emplean métodos de dinámica molecular, pero tienen la desventaja de demandar un mayor costo computacional. AMBER, Glide y Mol-Dock emplean esta búsqueda de conformeros.

La energía de unión puede ser descrita en términos aditivos de varios componentes que contribuyen a la energía de formación del complejo ligando- receptor, mostrados en la siguiente ecuación:

$$\Delta G_{\text{unión}} = \Delta G_{\text{disolvente}} + \Delta G_{\text{conformación}} + \Delta G_{\text{interacción}} + \Delta G_{\text{rotación}} + \Delta G_{t/r} + \Delta G_{\text{vibración}}$$

Dónde:

- ❖ $\Delta G_{\text{disolvente}}$: es la contribución debida a efectos del disolvente, como interacciones disolvente-ligando, disolvente proteína y disolvente complejo ligando-receptor.
- ❖ $\Delta G_{\text{conformación}}$: es la energía debida a cambios conformacionales en la proteína y el ligando.
- ❖ $\Delta G_{\text{interacción}}$: es la energía libre asociada a las interacciones ligando-receptor.

- ❖ ΔG rotación: es la pérdida de energía asociada a la pérdida de grados de libertad de rotación interna (congelamiento) de la proteína y el ligando.
- ❖ ΔG t/r: es la pérdida energética traslacional y rotacional debida a la asociación de dos moléculas.
- ❖ ΔG vibración: corresponde a los cambios de energía libre debidos a cambios en los modos vibracionales.

En este proyecto se hizo uso de los programas Autodock y MOE (por sus siglas en inglés Molecular Operating Environment) para realizar el estudio de acoplamiento molecular o docking; así como programas que permiten visualizar las interacciones de la molécula con el receptor como PyMOL y Discovery Studio.

8.2 AUTODOCK TOOLS

Autodock (Figura 27) es un conjunto de herramientas automatizadas que permiten efectuar el acoplamiento molecular (disponible para descargar gratuitamente en <http://autodock.scripps.edu/>). Este programa está diseñado para predecir como moléculas pequeñas que regularmente pertenecen a la síntesis química como sustratos o candidatos a fármacos se unen a un receptor cuya estructura 3D es conocida.⁶⁹

⁶⁹ Autodock. (2020). Autodock. Obtenido de <http://autodock.scripps.edu/>

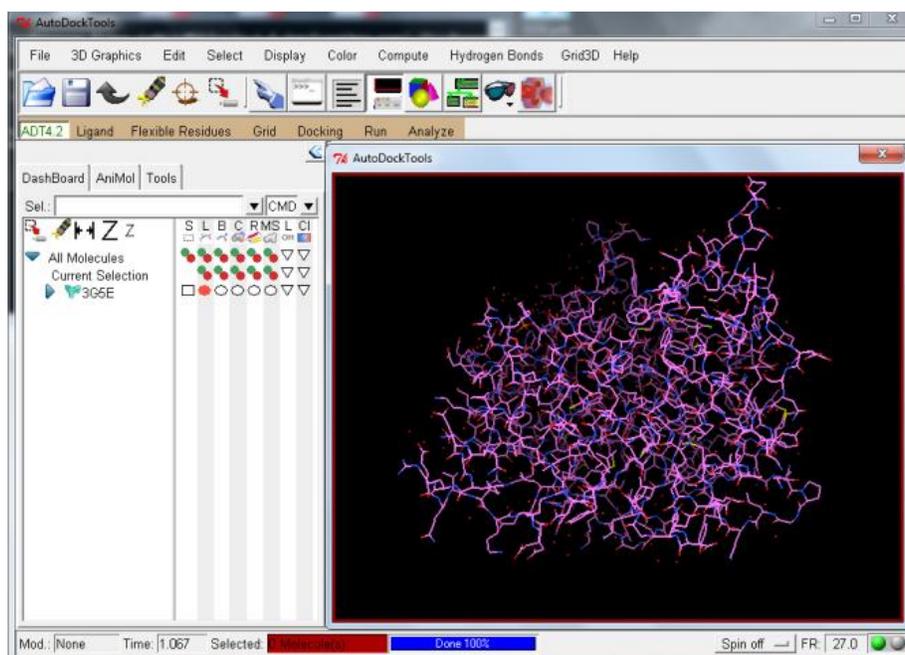


Figura 27.- Interfaz del programa Autodock

8.3 Molecular Operating Environment

Molecular Operating Environment, MOE (**Figura 28**) es un programa el cual requiere de una licencia comercial para su uso (<https://www.chemcomp.com/MOE-Molecular-Operating-Environment.htm>) y ofrece una serie de herramientas bastante útiles para el desarrollo y descubrimiento de compuestos bioactivos, las cuales incluyen:

- Generación de un diagrama de las interacciones proteína-ligando en 2D y 3D.
- Análisis y desarrollo de nuevas relaciones estructura-actividad (SAR) en pequeñas moléculas.

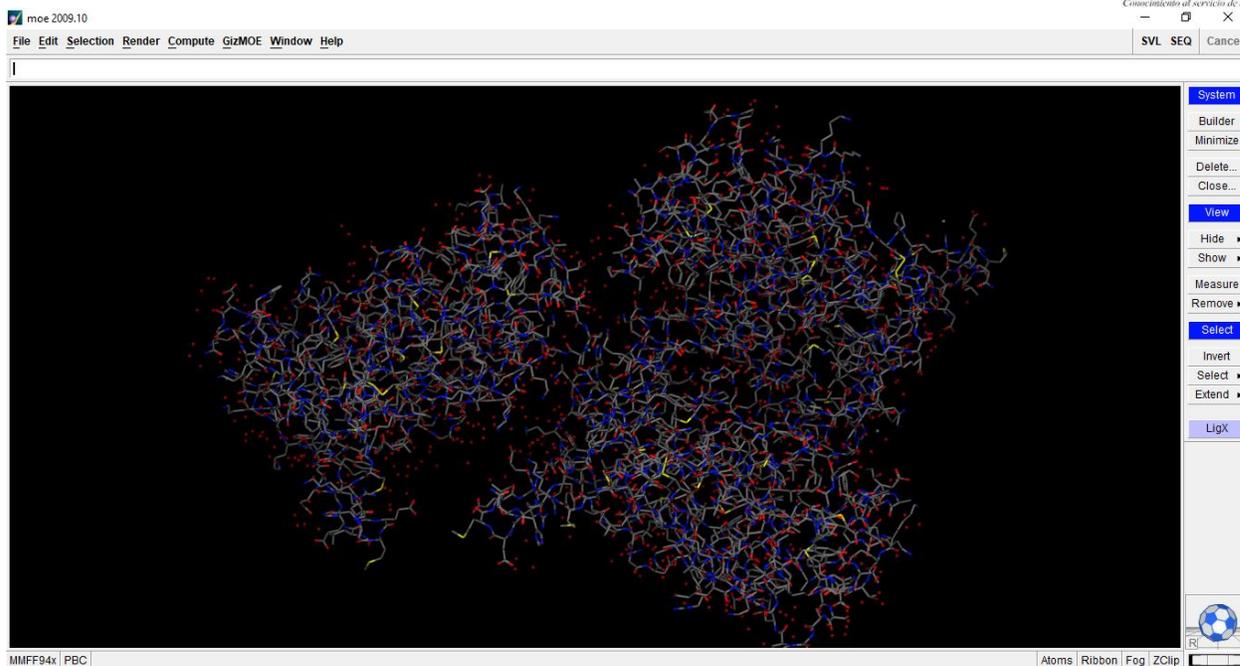


Figura 28.- Interfaz del programa MOE

8.4 PyMOL

PyMOL (Figura 29) es un programa con un sistema de visualización molecular en un código abierto, el cual permite la visualización 3D, de las interacciones presentadas por el complejo ligando-receptor. Existe una versión de acceso libre para la educación que se puede obtener de su página web: <https://www.pymol.org/pymol>.⁷⁰

⁷⁰ Schrödinger. (2020). PyMOL. Obtenido de <https://www.pymol.org/pymol.html?>

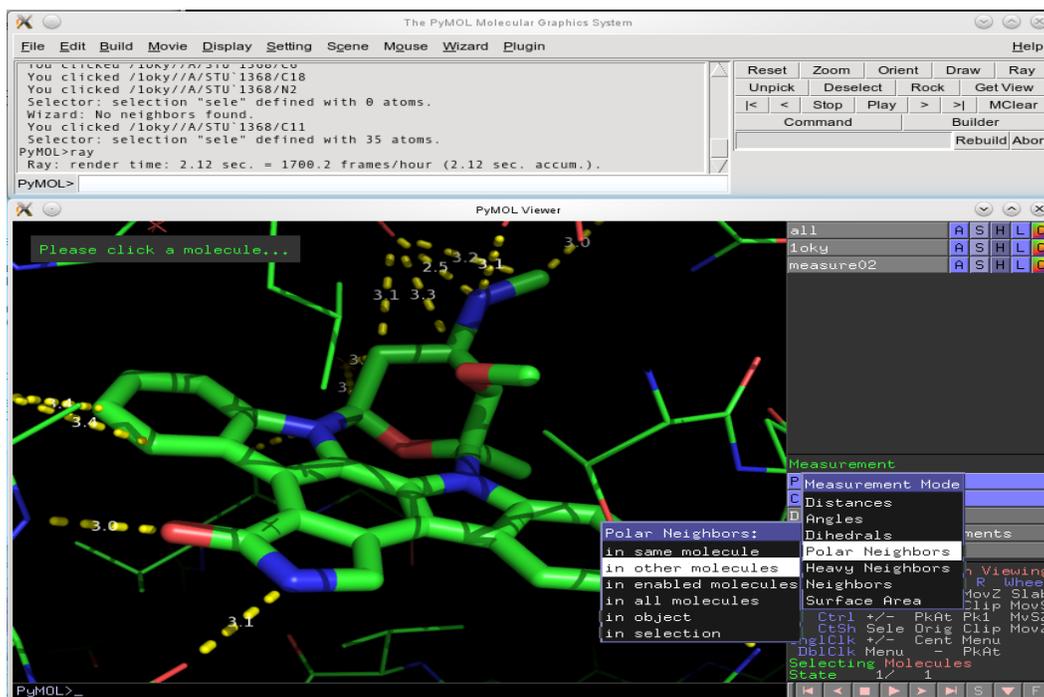


Figura 29.- Interfaz del programa PyMOL

Junto a estas herramientas quimioinformáticas se le suma **Discovery Studio 4.0**, un programa de libre acceso que puede descargarse desde la página de la plataforma Accelrys online (<http://accelrys.com/products/discovery-studio/visualization-download.php>) y este permite observar los mapas de interacción 2-D del ligando con su receptor, sean estos por puentes de hidrógeno, interacciones ($\pi - \pi$) o hidrofóbicas.

8.5 DISCOVERY STUDIO

Discovery Studio (Figura 30) es un programa que permite la visualización 3D y 2D de las interacciones de tipo electrostática, puente de hidrógeno, Van Der Waals e hidrofóbicas presentes por complejos ligando-receptor. Discovery Studio es un programa de libre acceso el cual se puede obtener de su página web: <http://accelrys.com/products/collaborative-science/biovia-discovery-studio/>.

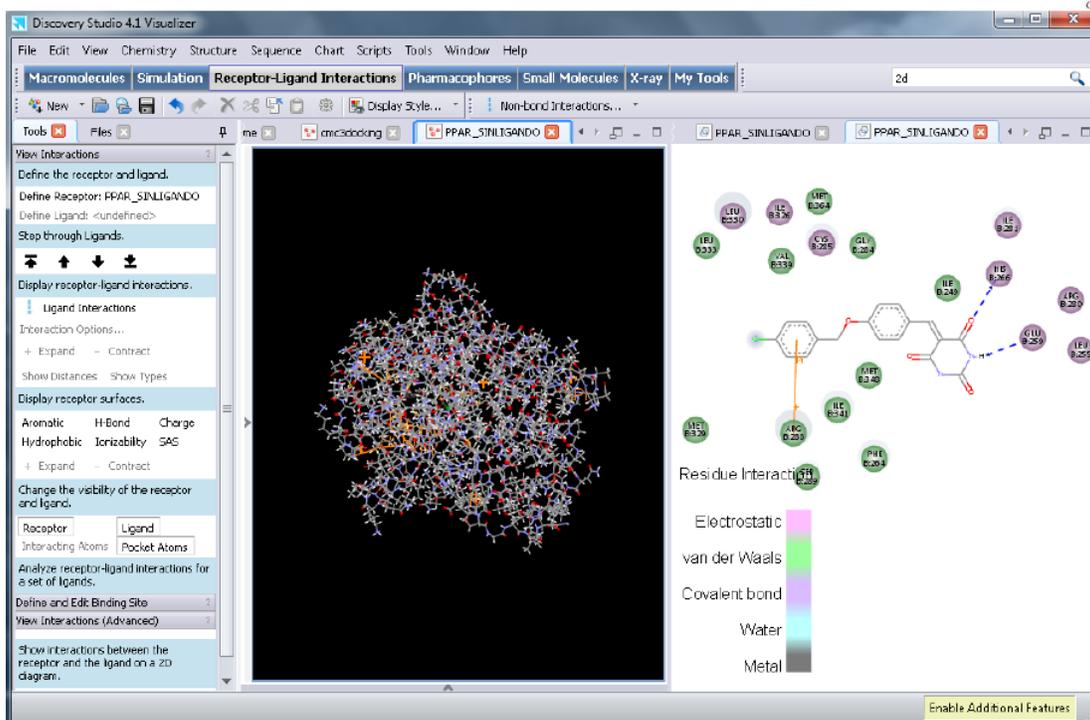


Figura 30.- Interfaz del programa Discovery Studio

8.6 Acoplamiento molecular sobre receptor 2 de Glutamato

Los cálculos de acoplamiento fueron realizados utilizando el programa Autodock, versión 4.2. Este programa computacional realiza un acoplamiento automatizado del ligando semiflexible con el sitio de unión rígido de la proteína; así mismo predice diferentes corridas del experimento, proporcionando con cada una de ellas, una manera de unión diferente con el sitio de unión. Inicialmente se removieron moléculas de agua no necesarias (ligando cristalográfico), además de que los átomos de hidrógeno polares fueron añadidos. Todas las torsiones del ligando fueron consideradas para moverse durante el acoplamiento. El programa auxiliar AutoGrid generó los mapas electrostáticos del grid. Cada grid fue centrado sobre las coordenadas del ligando cristalográfico original (Piracetam). Las dimensiones del grid que mostraron mejores resultados fueron 30 X 20 X 20 puntos con un espacio de grid de 0.275 Å. El número de corridas fue de 25, esto realizándose por triplicado. Después del acoplamiento, los resultados fueron reagrupados en grupos con RMSD de 1 y 1.5 Å. Para profundizar en la visualización se emplearon los

programas computacionales Discovery Studio en su versión 4.0, Pymol 4.4.0. y MOE.

9. PROPUESTA DE SÍNTESIS QUÍMICA

Una vez realizada la biosimulación predictiva de los compuestos, se realizó un análisis retrosintético para cada uno de ellos con la intención de determinar las materias primas para establecer una ruta viable de síntesis química para su futura obtención.

9.1 RETROSINTESIS

El análisis retrosintético se realizó para cada compuesto que se propuso.

En la **Figura 31** se muestra la retrosíntesis del compuesto **EER-1**, en la cual se hizo una desconexión entre el carbono del carbonilo y el nitrógeno de la amida. Los reactivos resultantes son la 4-Amino-*N*-aminobencilpiperidina (1), un halogenuro de haloacetilo (como el cloruro de cloroacetilo) y la 2-Pirrolidona (3).

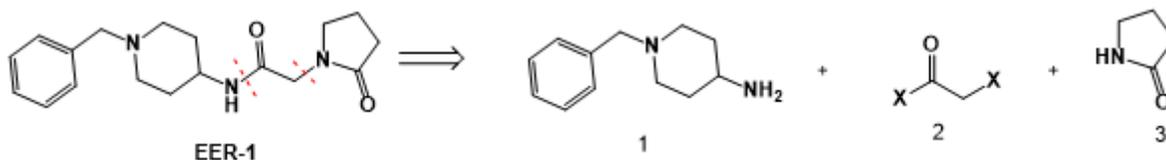


Figura 31.- Análisis retrosintético de **EER-1**

La retrosíntesis de los compuestos **EER-2** a **EER-6** se muestra en la **Figura 32** y de la misma manera que para **EER-1** se realizó una desconexión entre el carbono del carbonilo y el nitrógeno de la amida para obtener por una parte las anilinas debidamente sustituidas, el halogenuro de haloacetilo y la 2-Pirrolidona (3).

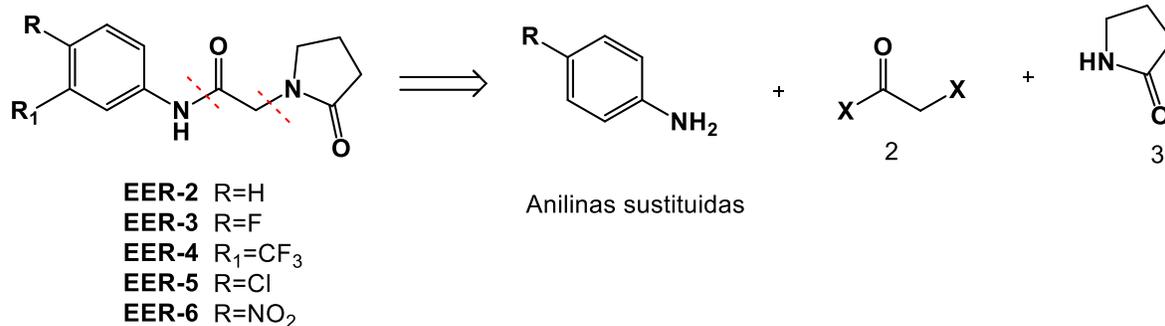


Figura 32.- Análisis retrosintético de **EER-2** a **EER-6**.

Las materias primas para la síntesis de los compuestos propuestos se encuentran comercialmente disponibles para su adquisición.

9.2 Propuesta de Ruta Sintética

Las rutas de síntesis propuestas para la obtención de los compuestos son técnicas ampliamente utilizadas en química orgánica.

9.2.1 Obtención del Compuesto EER 1

Para la Síntesis de **EER-1** se realizará una reacción de Schotten-Baumann (**Figura 31**) en frío entre la 4-Amino-*N*-aminobencilpiperidina (**1**) y cloruro de cloroacetilo (**2**) en cloruro de metileno como disolvente y trietilamina como base. Esta técnica fue previamente utilizada para la obtención del compuesto **MMJ-24** (sintetizado en nuestro grupo de investigación, Laboratorio 5 de Química Farmacéutica, Facultad de Farmacia, UAEM);⁷¹

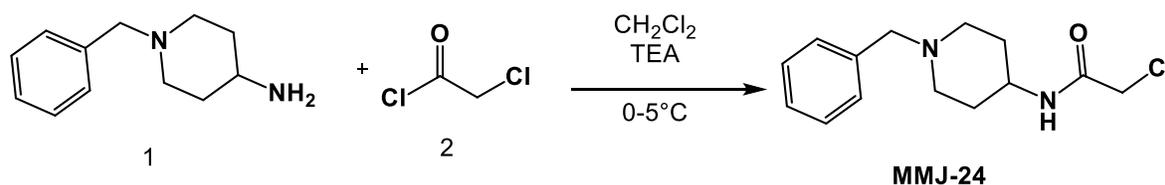


Figura 33.- Síntesis del precursor **MMJ-24**

⁷¹ Miranda, J. M. (2018). Síntesis de derivados del ácido ferúlico afines *in silico* a múltiples dianas terapéuticas relacionadas en el abordaje experimental de la DM 2. Cuernavaca.

Una vez que se obtengan, purifiquen e identifiquen cada uno de los precursores, se comenzará con la síntesis de los compuestos finales. Se hará una reacción de sustitución nucleofílica bimolecular entre cada una de las cloroacetamidas y la 2-Pirrolidona (**3**) en acetona como disolvente, bicarbonato de sodio como base y yoduro de potasio como catalizador (**Figura 36**).

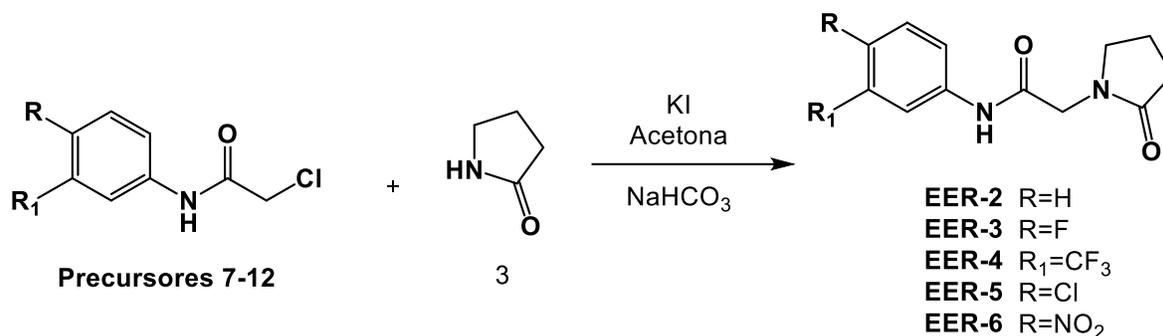


Figura 36.- Síntesis de los compuestos **EER-2** a **EER-6**

Para asegurar tanto la identidad como la pureza de los precursores y compuestos finales se asignarán las señales de los espectros de RMN de ¹H, ¹³C, y de EM.

10 RESULTADOS

10.1 Resultados por predicción de la actividad biológica de los compuestos EER 1-6 por medio de la herramienta PASSonline

Se evaluó el potencial biológico de la actividad farmacológica de los compuestos finales **EER 1-6** utilizando la herramienta quimio-informática PASS Online. Los valores entre 0.5 y 0.7 indican una probabilidad moderada y para valores <0.5 una probabilidad discreta.

Este programa predice efectos farmacológicos o mecanismos de acción con base en un análisis de estructura-actividad (SAR) con los compuestos depositados en su base de datos. Se seleccionaron aquellas actividades farmacológicas relacionadas con el efecto nootrópico y anticonvulsivo.

De acuerdo a los resultados obtenidos en la **Tabla 5** se estableció que todos los compuestos **EER 1-6** presentan valores de por arriba del 70%, lo que indica pueden presentar buena probabilidad de actividad (PA) como Nootrópico. Los compuestos **EER 2,3,5** y **6** presentaron valores de moderada PA de entre 0.5 y 0.7 (alrededor del 50%) como anticonvulsivo. Por otra parte, si los compuestos **EER 1-6** presentan una buena actividad como anticonvulsivos o mGluR5 (*in vitro*) de manera experimental, nos indica que estas moléculas (**EER 1-6**) son nuevas entidades químicas que no se han reportado en esta base de datos. Los resultados son mostrados como porcentaje y se compararon contra Piracetam.

Tabla 5.- Resultados del Programa PASS expresados en porcentajes

Compuesto	Nootrópico		Anticonvulsivo		mGluR5	
	Pa	Pi	Pa	Pi	Pa	Pi
EER-1	79.5%	1.8%	38.6%	7%	10.2%	10.8%
EER-2	77.5%	2.2%	54%	2.8%	12.5%	12.2%
EER-3	81%	1.5%	53.1%	2.9%	13.9%	9.4%
EER-4	77.5%	2.2%	46.8%	4.3%	-	-
EER-5	73.2%	3.2%	57.3%	2.3%	13.7%	1.7%

EER-6	71.7%	3.6%	52.7%	3%	-	-
Piracetam	88.7%	0.7%	76.9%	0.7%	20%	3%

Es importante mencionar que al compartir el patrón farmacofórico de los moduladores alostéricos positivos del receptor AMPA para todos los compuestos, tienen una posibilidad de actuar como nootrópicos. Lo anterior abre la posibilidad de que los compuestos diseñados **EER 1-6** y en particular el compuesto **EER-3** y **EER-5** tengan la posibilidad de actuar como posibles moléculas bioactivas con afinidad a múltiples blancos (*multi-target*), lo que permitiría un tratamiento integral para la epilepsia.

10.2 Predicción de propiedades cuasi-fármaco y del puntaje de fármacos de los compuestos (OSIRIS)

Se observó que ninguno de los compuestos **EER 1-6** tiene el riesgo de presentar propiedades mutagénicas, tumorígenas o alteraciones sobre el sistema reproductivo, sin embargo, producirían irritación. Es importante señalar que se tendría que realizar estudios *in vitro* e *in vivo* para confirmar estas predicciones. Asimismo, presentan buenos parámetros de solubilidad las cuales se asocian a una buena absorción por difusión pasiva en el tracto gastrointestinal (**Tabla 6**).

Tabla 6.- Parámetros obtenidos en el programa OSIRIS Data Warrior

Parámetro	EER-1	EER-2	EER-3	EER-4	EER-5	EER-6	Piracetam
Mutágeno							
Tumorogénico							
Irritante							
Reproductivo							
Solubilidad	1.75	1.75	2.06	2.53	2.48	2.21	2.60
Druglikeness	8.46	2.5	2.91	4.47	4.92	11.2	4.26
Drug-score	0.55	0.55	0.55	0.28	0.55	0.28	0.50

Alto riesgo

Sin riesgo

Un parámetro importante es el Drug-Score ya que combina la puntuación de todos los parámetros (Druglikeness, cLogP, riesgos de toxicidad, solubilidad y PM), lo cual permite determinar si la molécula de interés posee las características necesarias

para calificar como un posible fármaco. Para el caso de los compuestos candidatos para su síntesis, destacan las propiedades del compuesto **EER 5**, ya que tiene mejores valores de Druglikeness incluso que Piracetam. Lo que es muy importante tomar en cuenta en el diseño de moléculas bioactivas; si el compuesto fuera muy activo frente a algún blanco terapéutico, pero tiene la probabilidad de poseer las alertas antes mencionadas, no podría ser candidato a ensayos *in vivo*.⁷² La ventaja del diseño racional radica en este aspecto, si se conocen las alertas estructurales (p.e. Alertas estructurales de Ashby, que es la representación de los grupos funcionales reactivos que deben estar ausentes para prevenir carcinogenicidad o mutagenicidad) se pueden evitar.

10.3 admetSAR

El programa admetSAR proporciona datos referentes a la absorción, metabolismo y toxicidad basados en un estudio de estructura-actividad (SAR) de más de 96 000 compuestos contenidos en su base de datos.

Los resultados obtenidos por admetSAR para los compuestos **EER 1-6** se presentan en la **Tabla 7**.

Tabla 7.- Resultados obtenidos del programa admetSAR.

Modelo	Probabilidad						
	EER-1	EER-2	EER-3	EER-4	EER-5	EER-6	Piracetam
Absorción							
Absorción intestinal humana	93.7%	85.9%	88.8%	90.7%	90.7%	90.6%	83.6%
Barrera hematoencefálica	99.3%	99.6%	99.4%	99.2%	99.5%	96.3%	100%
Sustrato de glicoproteína-P	76%	94.8%	86.5%	70.4%	95.6%	92.1%	95%
Toxicidad							
Toxicidad AMES	(-) 60%	(-) 89%	(-) 79%	(-) 79%	(-) 89%	(+) 61%	(-) 85%
Carcinogenicidad	(-) 78.5%	(-) 85.7%	(-) 85.7%	(-) 85.7%	(-) 81.4%	(-) 82.8%	(-) 87.1%

⁷² Benigni, R. a. (2006). Current Computer-Aided Drug Design. Structural Alerts of Mutagens, 169-179.

Los compuestos mostraron probabilidades de absorción en el intestino humano mayor a 85%, asimismo presentaron buena permeabilidad en la barrera hematoencefálica (> 90%), siendo de suma importancia para los compuestos propuestos debido a que su mecanismo de acción es predominantemente en el sistema nervioso central.

Se puede observar que los compuestos tienen alto porcentaje de ser sustratos de glicoproteína P, también conocida como (multidrug resistance protein) por sus siglas en inglés MDR1.

Esta glicoproteína está asociada a la resistencia a múltiples fármacos al bombearlos fuera de la célula por un mecanismo de transporte dependiente de ATP (eflujo). A pesar de ello, los compuestos **EER 1-6** presentaron probabilidades similares a Piracetam, con excepción de los compuestos **EER-1** y **EER-4**; por consiguiente estos dos compuestos serían aquellos que no presentes dif.

Los compuestos **EER 1-5** no presentarían carcinogénesis, mutagenicidad (prueba de AMES) o bloqueo sobre los canales hERG (relacionada con cardiotoxicidad) como se observa en la tabla 9. El compuesto **EER-6** tiene un porcentaje considerable de mutagenicidad, sin embargo, esto puede deberse al grupo nitro contenido en su estructura.

10.4 SWISSADME

Los resultados de SWISSADME indican que los compuestos no serían inhibidores de las diferentes isoformas del CYP450, entendiéndose como inhibidor a una molécula que disminuye o impide la actividad enzimática del CYP450.

Como se observa en la **Tabla 8** los compuestos **EER 1-6** no presentarían inhibición de la principal isoforma del CYP450 (3A4) por lo que tienen baja probabilidad de generar interacciones fármaco-fármaco.

Tabla 8.- Resultados del programa SWISSADME

SwissADME							
	EER-1	EER-2	EER-3	EER-4	EER-5	EER-6	Piracetam
inhibidor CYP1A2	No	No	No	No	Si	No	No
inhibidor CYP2C19	No						
inhibidor CYP2C9	No						
inhibidor CYP2D6	No						
inhibidor CYP3A4	No						
Consenso de log-P	1.53	1.07	1.37	2.22	1.59	0.27	-0.64

Al igual que todos los xenobióticos (sustancias extrañas y no producidas por el organismo), habrá interacciones sobre ciertas isoformas de la familia de los citocromos involucrados en el metabolismo, sin embargo, los resultados obtenidos son aceptables e iguales, para todos los compuestos en las distintas isoformas del CYP. El CYP2C19 está involucrado en el metabolismo de varios grupos importantes de fármacos incluyendo inhibidores de protones y antiepilépticos.⁷³

10.5 Predicción de la toxicidad de los compuestos (ACD/Toxsuite)

10.5.1 Bloqueo de los canales hERG

Se calculó la probabilidad de bloqueo de los canales hERG a concentraciones clínicamente relevantes (**Tabla 9**); estos canales son conocidos por su contribución a la actividad eléctrica del corazón, los cuales pertenecen a la familia de canales de K⁺ dependientes de voltaje, y están implicados en la repolarización de la membrana de las células cardíacas. Dado lo anterior, el bloqueo de estos canales puede resultar en trastornos graves que conducen a arritmias cardíacas y hasta la muerte.⁷⁴

⁷³ GARZA GONZALEZ, G. G. (2008). Helicobacter pylori eradication and its relation to antibiotic resistance and CYP2C19 status. Revista Española de enfermedades digitales, 71-75.

⁷⁴ Francisco Barros, P. D. (2012). hERG : un canal de potasio implicado en el ritmo cardíaco y mucho más. The Spanish ION channel initiative, 1-9

Tabla 9.- Porcentaje de probabilidad en el bloqueo de canales hERG

Compuesto	Probabilidad de bloqueo de canales hERG (IC ₅₀ 10 µM)
EER-1	13 %
EER-2	8 %
EER-3	5 %
EER-4	28 %
EER-5	17 %
EER-6	5 %
Piracetam	0 %
Clorfenamina	93 %
Astemizol	99%

Como se observa en la **Tabla 9**, todos compuestos, incluyendo Piracetam, muestran una baja probabilidad de bloqueo de los canales hERG a concentraciones clínicamente relevantes (<10µM), en comparación con la clorfenamina y el Astemizol, dos antihistamínicos descritos como cardiotoxicos bloqueadores de los canales hERG.

10.5.2 Toxicidad aguda

Este tipo de evaluación tiene como finalidad predecir la dosis letal media (DL₅₀), la cual se puede definir como la dosis de una sustancia o compuesto que ocasiona la muerte del 50% de la población sometida al ensayo. ADC/ToxSuite permite predecir los valores de la DL₅₀ en modelos de ratón y rata en diferentes vías de administración. Se calcularon las dosis letales media por administración oral e intraperitoneal en dos modelos murinos (**Tabla 10**).

Tabla 10.- Resultados de Dosis letal media por compuesto en comparación al Piracetam

Compuesto	DL ₅₀ mg/kg				Categoría OECD
	Ratón		Rata		
	IP	PO	IP	PO	
1	310	1300	280	950	4-5
2	450	1400	740	2800	4-5
3	960	1700	960	2900	4-5
4	540	1500	900	2100	4-5
5	690	1500	800	3600	4-5
6	590	1500	1700	1900	3-5
Piracetam	780	1600	1300	2500	4-5

Los compuestos propuestos y Piracetam serían seguros por su administración oral, ya que su clasificación se encuentra ubicada en las categorías 4-5 de la OECD (Toxicidad moderada a Sin peligro). Se observó que los valores de la DL₅₀ no presentan diferencias importantes en los valores para cada uno de los compuestos; sin embargo, los compuestos **EER-3** y **EER-5** tienen una mayor ventana terapéutica que Piracetam (modulador alostérico del receptor AMPA), ya que para el compuesto **EER-3** se obtuvo una DL₅₀ de 1700 mg/Kg en la administración oral en ratón, mientras que Piracetam presenta una DL₅₀ de 1600 mg/Kg. Además, se observa esta misma tendencia en la administración oral en rata, en donde el compuesto **EER-5** tienen una DL₅₀ > a 3600 mg/Kg mientras que Piracetam presenta una dosis DL₅₀ de 2500 mg/Kg.⁷⁵

⁷⁵ Nootropil. (09 de Octubre de 2013). piracetam. Obtenido de <http://www.e-lactancia.org/media/papers/Piracetam-DS-UCB2013.pdf>

Tabla 11.- Categoría OECD⁷⁶ (OECD, 2019)

Categoría OECD	Rango de DL ₅₀	Clasificación
I	<5 mg/kg	Altamente tóxico
II	5 a 50 mg/kg	Muy tóxico
III	>50 a 2000 mg/kg	Tóxico
IV	>2000 a 5000 mg/kg	Toxicidad moderada
V	>5000 mg/kg	Sin peligro

10.6 GLORYx: Predictor de metabolismo de los compuestos

Mediante el programa GLORYx se obtuvieron los metabolitos potenciales de metabolismo. Es importante señalar que el programa no coloca las moléculas cargadas, además no se muestran los sitios en donde se generaría el metabolismo en la estructura, sino que muestra los metabolitos y la probabilidad de que se generen.

⁷⁶ OECD. (2019). Clasificación Toxicológica. *Serie de informes especiales*, 7-17.

10.6.1 Metabolismo del compuesto EER-1

Los posibles metabolitos de fase 1 **EER-1** se muestran en las **Figuras 45 y 46**.

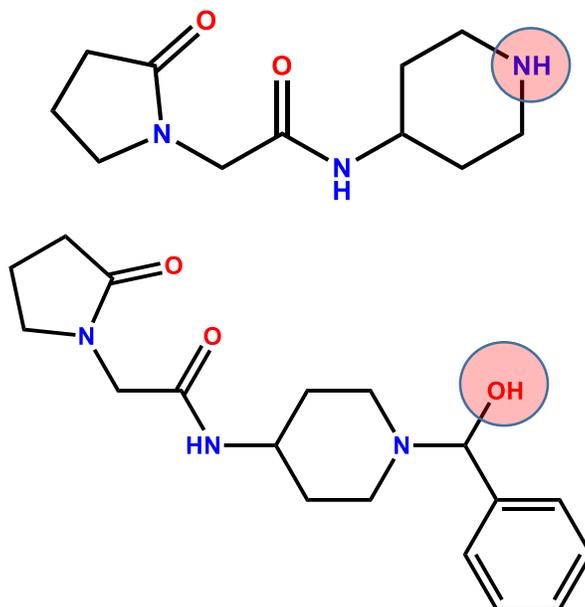


Figura 37. Metabolitos *N*-desalquilado e Hidroxilado de **EER-1**

Como se muestra en la **Figura 37** se observa la *N*-desalquilación en la amina terciaria que conecta a la piperidina, así como la hidroxilación alifática de la cadena bencílica, sin embargo y de acuerdo a los conocimientos del metabolismo de xenobióticos y a la estructura del compuesto, ocurriría una hidrólisis de la amida de la cadena abierta y una hidroxilación aromática en posición *p* (**Figura 38**).

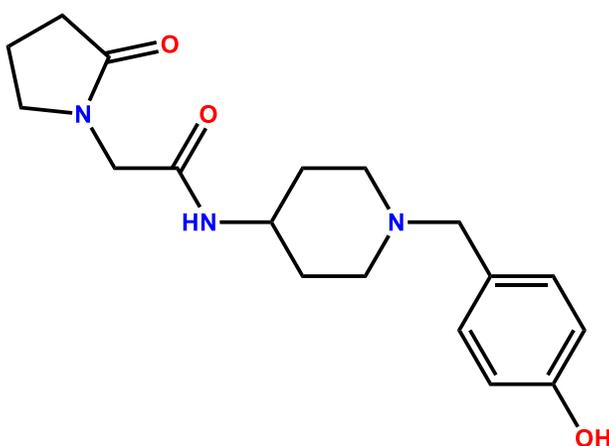
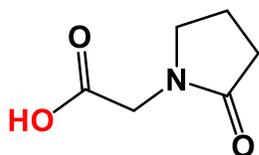
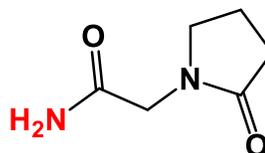


Figura 38.- Metabolito hidroxilado en posición *p* de **EER-1**

De acuerdo a la similitud estructural de todos los compuestos **EER-1** a **EER-6** se genera el Metabolito A por reacción de hidrólisis (**Figura 39**):



Metabolito A



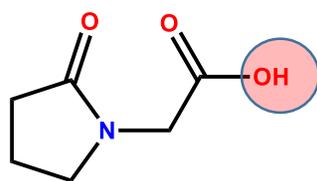
Piracetam

Figura 39.- Comparativa de metabolito contra piracetam

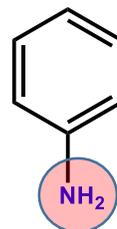
Estructuralmente el **Metabolito A** es un análogo del piracetam ya que conserva la porción de lactama y solo cambia en la naturaleza del grupo carbonílico exocíclico, por lo que es importante hacer un análisis más profundo de las propiedades de este potencial metabolito presente en todos los compuestos.

10.6.2 Metabolismo del compuesto EER-2

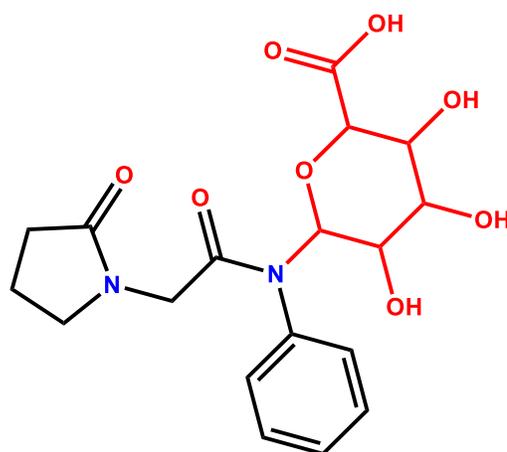
Para el compuesto **EER-2** se observaron los siguientes metabolitos, tanto de fase I como de fase II:



A: Hidrólisis (Fase I)



B: Hidrólisis (Fase I)



C: N-Glucoronidación (Fase II)

Figura 40.- Posibles metabolitos del compuesto **EER-2**

Los productos principales del metabolismo son principalmente los de hidrólisis de la amida de la cadena abierta y la conjugación con ácido glucurónico. A pesar de que no se muestra en el predictor, podría llevarse a cabo una hidroxilación aromática en posición *p* a la anilina.

10.6.3 Metabolismo del compuesto EER-3

Los metabolitos de fase I y fase II para el compuesto **EER-3** se observan en la **Figura 41**:

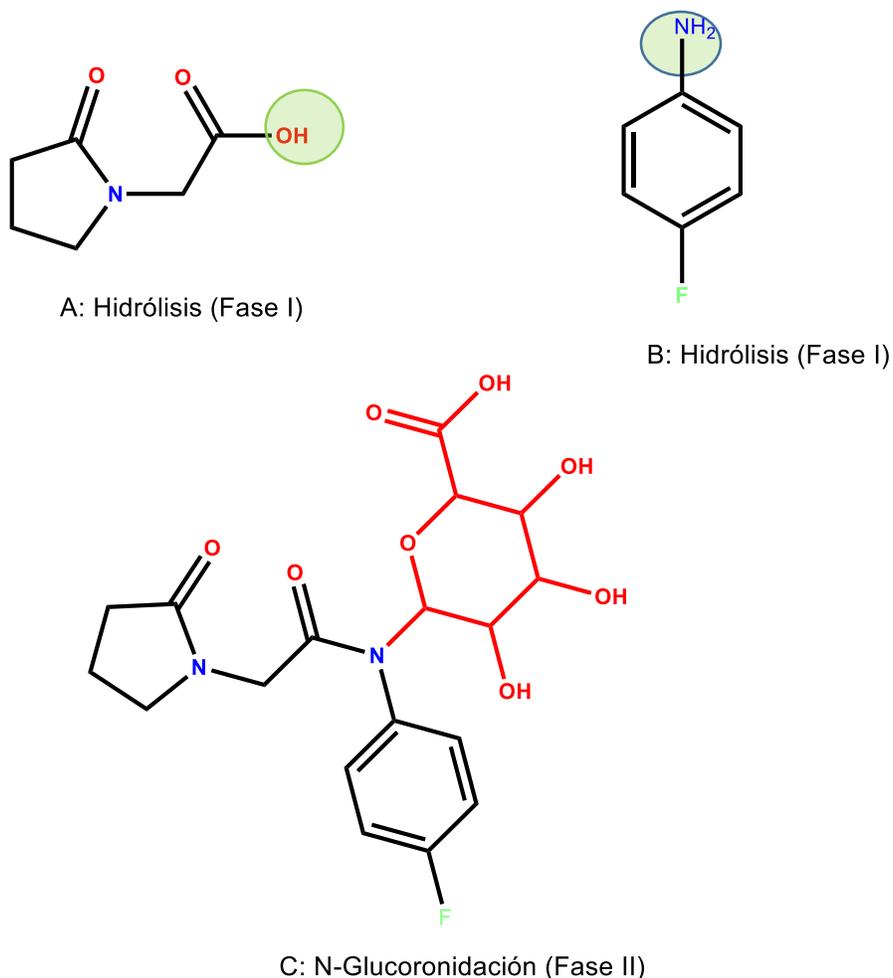


Figura 41.- Posibles metabolitos del compuesto **EER-3**.

Como se muestra en la **Figura 41** se observan los mismos metabolitos de hidrólisis que el compuesto **EER-2** debido a su similitud estructural. En esta ocasión no habría hidroxilación aromática del anillo de benceno debido a la presencia del átomo de Flúor en posición *para* que funciona como bloqueador del metabolismo.

10.6.4 Metabolismo del compuesto EER-4

Los posibles metabolitos del compuesto **EER-4** se muestran en la **Figura 42**.

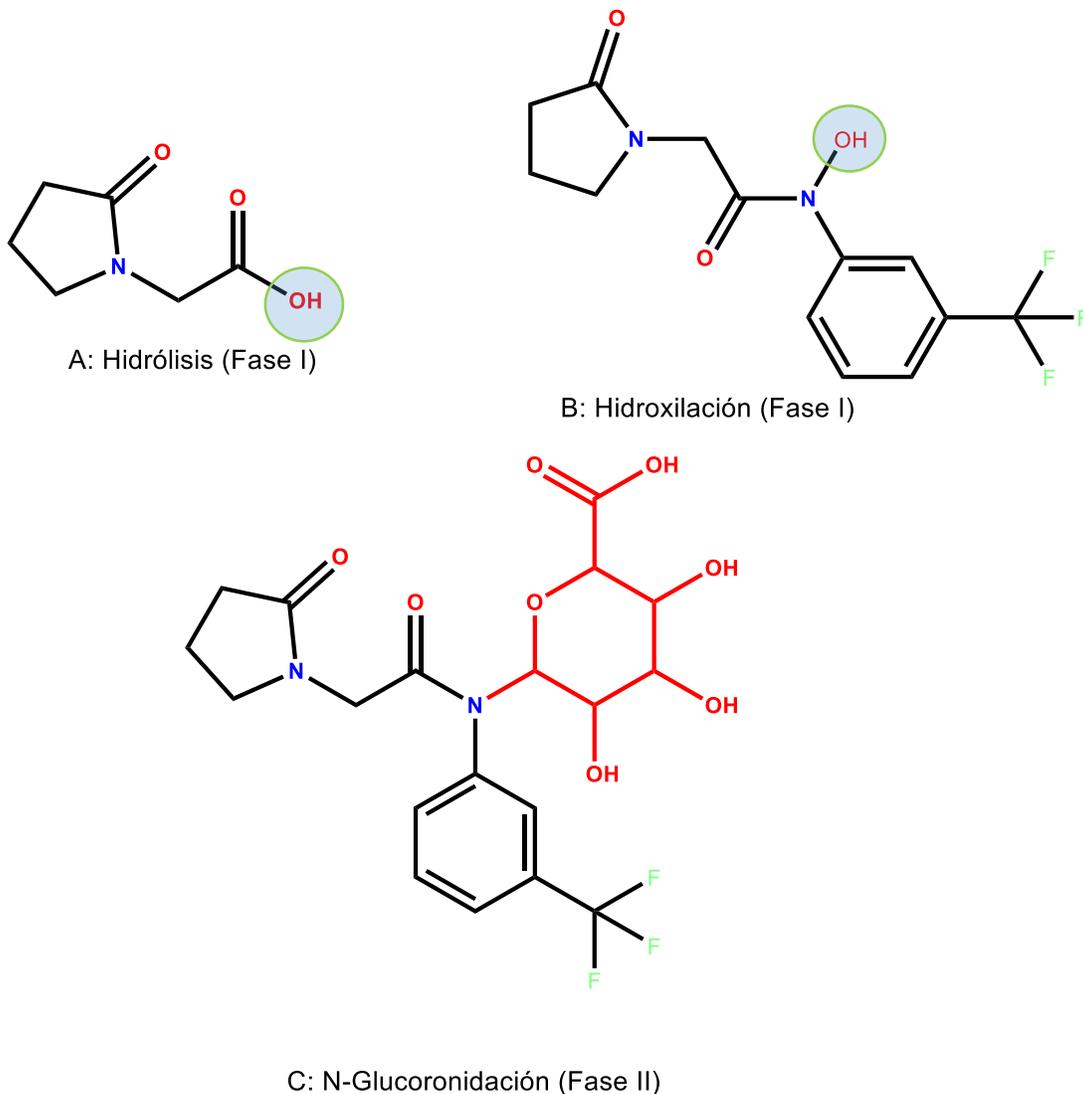


Figura 42.- Posibles metabolitos del compuesto **EER-4**

Se observa la similitud de los metabolitos de **EER-4** respecto a los demás compuestos, sin embargo, el grupo trifluorometilo se encuentra en posición *meta* respecto a la amina; debido al impedimento estérico es complicado que se lleve a cabo una hidroxilación aromática pero el metabolito *N*-glucoronidado es lo suficientemente polar para su excreción.

10.6.5 Metabolismo del compuesto EER-5

Los posibles metabolitos de **EER-5** se observan en la **Figura 43**:

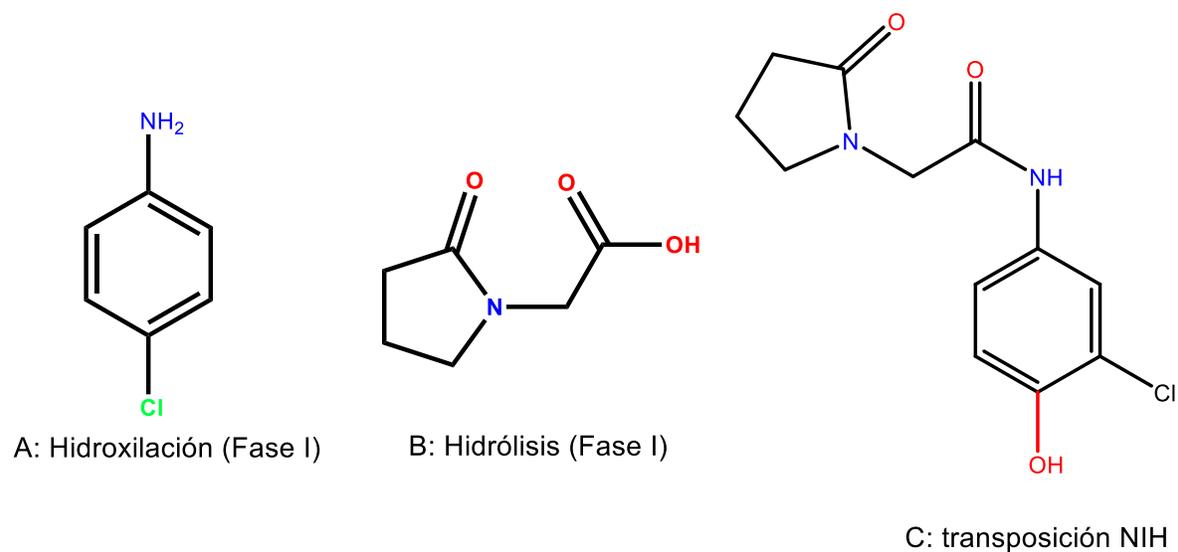


Figura 43.- Posibles metabolitos del compuesto **EER-5**

Además de observarse los productos de hidrólisis de la amida de cadena abierta y a pesar de que no se muestra en el programa GLORYx, se puede predecir que se puede generar la hidroxilación aromática mediante la transposición NIH, en la cual el átomo de cloro migra a la posición *meta*.

10.6.6 Metabolismo del compuesto EER-6

Los posibles metabolitos de **EER-6** se muestran en la **Figura 44**:

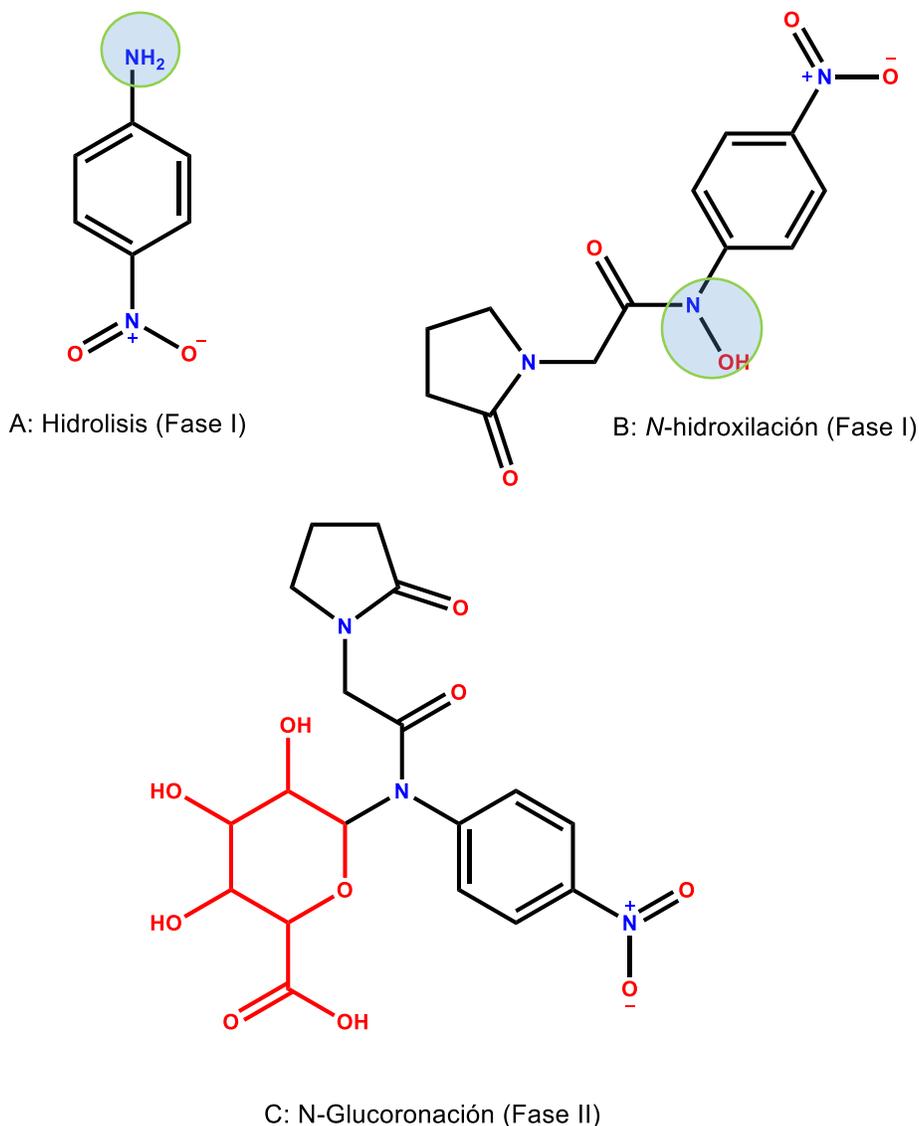


Figura 44.- Posibles metabolitos del compuesto **EER-6**.

Como se pudo observar en todos los posibles metabolitos se produciría por hidrólisis el Metabolito A (Metabolito 1), el cual podría considerarse como un análogo del Piracetam. Se calcularon las probabilidades del posible efecto terapéutico de este metabolito mediante el programa PASS Online para conocer su potencial antiepiléptico y/o efecto nootrópico.

- **Metabolito A:** A: Nootrópico ($P_a= 0.675$; $P_i=0.048$), Anticonvulsivo ($P_a= 0.501$; $P_i= 0.035$), Unión a receptor 2 de glutamato ($P_a= 0.043$; $P_i= 0.028$) y Unión a receptor 5 de glutamato ($P_a= 0.313$; $P_i= 0.008$).

Como se predijo, el metabolito A presenta las actividades terapéuticas de interés en este proyecto. Aunado a lo previamente calculado, estos compuestos además de presentar una actividad terapéutica, después de metabolizados podrían conservar su efecto de interés, siendo potenciales co-fármacos, con lo que se necesitaría menos dosis para llevar a cabo su efecto farmacológico, aunque esto tiene que comprobarse mediante ensayos *in vivo*.

10.7 Análisis de consenso farmacológico.

En el análisis de consenso farmacológico para los compuestos **EER 1-6** combina los resultados de las diferentes herramientas químio-informáticas utilizadas en este proyecto, con la intención de identificar los compuestos con las propiedades más adecuadas para priorizar su síntesis y sus evaluaciones biológicas. En la **Tabla 12** se muestran los resultados previamente discutidos

Tabla 12.- Resultados del Consenso farmacológico

EER	1	2	3	4	5	6
Perfil Farmacodinámico						
Actividad anticonvulsiva	Yellow	Green	Green	Yellow	Green	Green
Actividad Nootrópica	Green	Green	Green	Green	Yellow	Yellow
Ligando de mGluR5	Yellow	Yellow	Green	Red	Green	Red
Perfil Farmacocinético						
Absorción	Green	Green	Green	Green	Green	Green
Barrera Hematoencefálica	Green	Green	Green	Green	Green	Green
Sustrato de Pgp	Yellow	Green	Green	Yellow	Green	Green
Inhibidor de CYP 2C9	Green	Green	Green	Green	Green	Green
Inhibidor de CYP 2D6	Green	Green	Green	Green	Green	Green
Inhibidor de CYP 3A4	Green	Green	Green	Green	Green	Green
Perfil Toxicológico						
Bloqueo de hERG	Green	Green	Green	Green	Green	Green
Mutagenicidad	Green	Green	Green	Green	Green	Red
Carcinogenicidad	Green	Green	Green	Green	Green	Green
Resultado final						
	Green	Green	Green	Green	Green	Yellow

A pesar de que en general todos los compuestos muestran buenos perfiles farmacocinéticos, farmacodinámicos y toxicológicos, los compuestos candidatos para priorizar su síntesis son los compuestos **EER-3** y **EER-5**; ambos poseen halógenos en posición *para* respecto a la amina, lo cual representa una ventaja metabólica si se desea aumentar el tiempo de vida media y disminuir la dosis del mismo.

10.8 ACOPLAMIENTO MOLECULAR AUTOMATIZADO

Para efectuar el acoplamiento molecular se utilizó la estructura cristalográfica de rayos X del receptor 2 de glutamato el cual se encuentra co-cristalizado con Piracetam. La estructura cristalográfica con código PDB **3LSF** (<http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do>) se utilizó para realizar los cálculos de acoplamiento molecular. Los cálculos se realizaron por triplicado para todos los compuestos propuestos.

10.8.1 Validación del acoplamiento molecular sobre receptor 2 de Glutamato

La validación consiste en el reacoplamiento del ligando co-cristalizado (Piracetam) en el sitio activo. Las visualizaciones 3D se efectuaron utilizando el programa Pymol, mientras que las correspondientes 2D se hicieron a través del programa Discovery Studio 4.0.

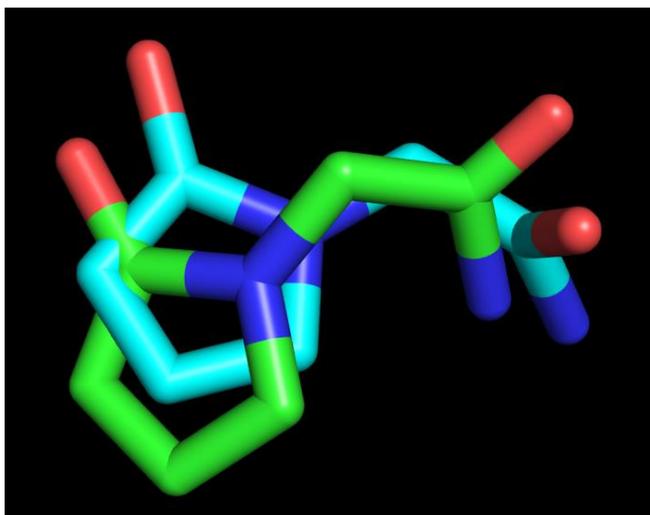


Figura 45.- Visualización en 3D de la validación del ligando co-cristalizado (Piracetam, color verde) en comparación con el ligando re-acoplado (color Cyan)

Como se aprecia en la **Figura 45** la solución del acoplamiento molecular es muy similar a la del ligando co-cristalizado, con un valor de RMSD 1.06 Å y una energía de unión libre (ΔG) de -4.6 Kcal/mol. Es importante mencionar que para que la validación sea correcto, este valor debe ser menor a los 2.0 Å.⁷⁷ El ligando re-acoplado conserva las interacciones polares por puente de hidrógeno con los residuos de aminoácidos Ser104, Ser108, Gly219, Lys218 y Lys 214.

10.8.2 Acoplamiento molecular de los compuestos EER-1 a EER-6 en el sitio activo del receptor 2 de glutamato.

10.8.2.1 Acoplamiento molecular del compuesto EER-1 sobre GluR2.

Las tres soluciones del acoplamiento molecular mostraron disposiciones espaciales similares dentro del sitio activo del GluR-2 (**Figura 46**), además de que se conservan interacciones tanto polares como hidrofóbicas con Ser-108, Lys-218 y con la molécula de agua. La conformación más representativa tuvo una energía libre de unión (ΔG) de: -10.26 kcal/mol.

⁷⁷ Benavente, J. M. (2000). Comparación Computacional de estructuras de proteínas. Aplicación al estudio de inhibidor de carboxipeptidasa como agente antitumoral. Barcelona: Bellaterra.

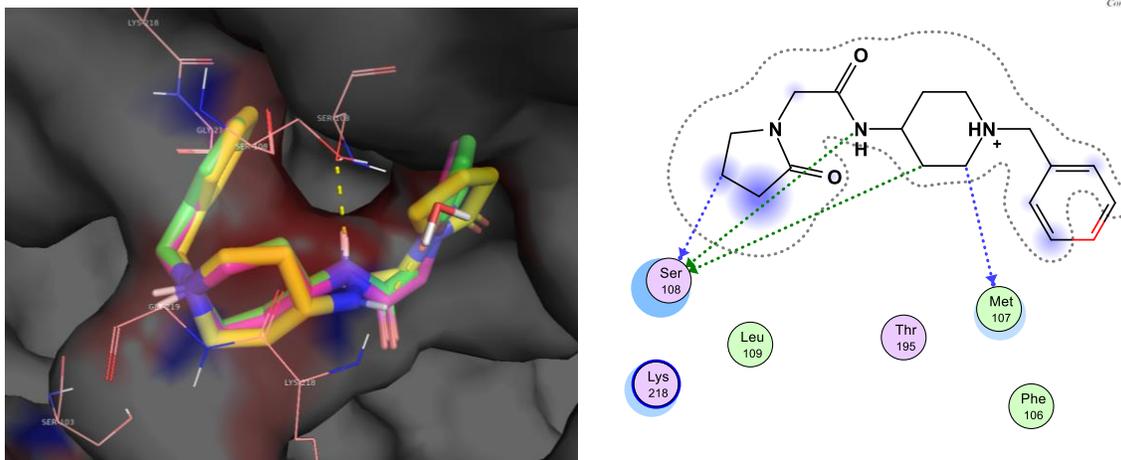


Figura 46.- Diagramas 3D y 2D de **EER-1** en el sitio activo del GluR2

A pesar de que **EER-1** no mostró una interacción polar por puente de hidrógeno con la molécula de agua, el alargamiento de la cadena conferida por el grupo bencilpiperidina hizo que el ligando reforzara las interacciones hidrofóbicas.

10.8.2.2 Acoplamiento molecular del compuesto **EER-2** sobre GluR2

Las tres soluciones del acoplamiento molecular del compuesto **EER-2** mostraron una disposición espacial similar dentro del sitio activo del receptor 2 de glutamato (**Figura 47**). La conformación más representativa presentó una energía libre de unión (ΔG) igual a -5.73 Kcal/mol.

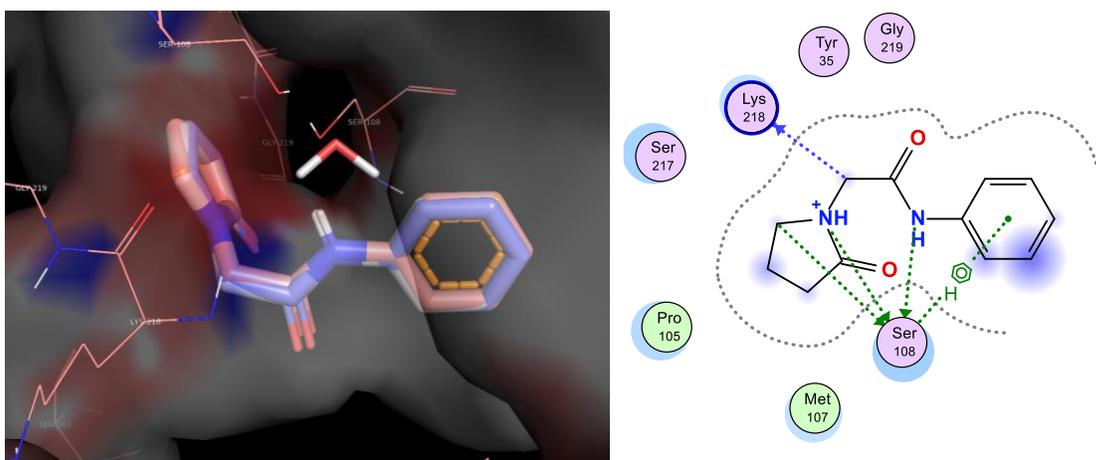


Figura 47.- Diagramas 3D y 2D de **EER-2** en el sitio activo del GluR2

A pesar de que se observó una disminución en la energía libre de unión de este compuesto respecto a **EER-1** se observan interacciones reforzadas con el anillo de benceno aunadas a las presentadas con los residuos de aminoácido Met-107, Ser-108 y Lys-218.

10.8.2.3 Acoplamiento molecular del compuesto **EER-3** sobre GluR2

Las tres soluciones del acoplamiento molecular mostraron similitud conformacional entre ellas presentando interacciones con Ser-108, Lys-218 y Met-107 (**Figura 48**). La solución más representativa tuvo una energía libre de unión (ΔG) igual a -4.03 Kcal/mol.

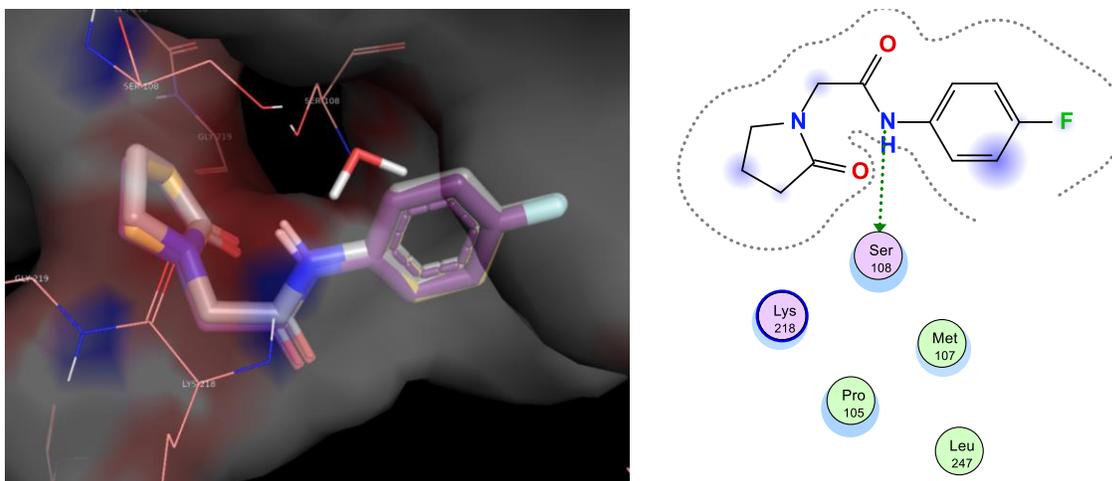


Figura 48.- Diagramas 3D y 2D de **EER-3** en el sitio activo del GluR2

La disposición espacial de este compuesto en el sitio activo de GluR2 es similar a la del compuesto **EER-2** pero la presencia del átomo de flúor en posición *para* le brinda cierta voluminosidad para interactuar mediante fuerzas de Van der Waals con el resto de los aminoácidos del receptor.

10.8.2.4 Acoplamiento molecular del compuesto **EER-4** sobre GluR2

Las tres soluciones del acoplamiento molecular presentaron una semejante disposición espacial en el sitio activo del receptor de interés (**Figura 49**). El conformero más representativo tuvo una energía libre de unión (ΔG) igual a -2.37 Kcal/mol.

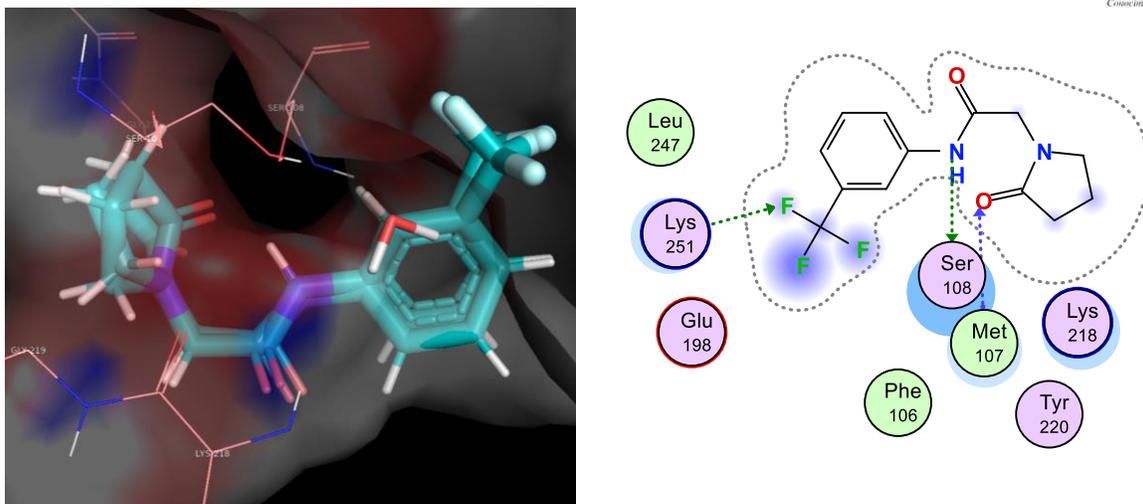


Figura 49.- Diagramas 3D y 2D de **EER-4** en el sitio activo del GluR2

La presencia del grupo trifluorometilo en posición *meta* hace que, debido a la similitud del radio de Van der Waals del flúor con el hidrógeno, se presenta un puente de hidrógeno no convencional con el Lys-251; asimismo, se conservan las interacciones por puente de hidrógeno con Ser-108 y Met-107.

10.8.2.5 Acoplamiento molecular del compuesto EER-5 sobre GluR2

Las soluciones del acoplamiento molecular para **EER-5** muestran una diferencia en el anillo de la 2-Pirrolidona, sin embargo, muestran interacciones por puente de hidrógeno con la Pro-105 y Lys-104 (**Figura 50**). El cónformero más representativo tuvo una energía libre de unión (ΔG) de -4.75 Kcal/mol.

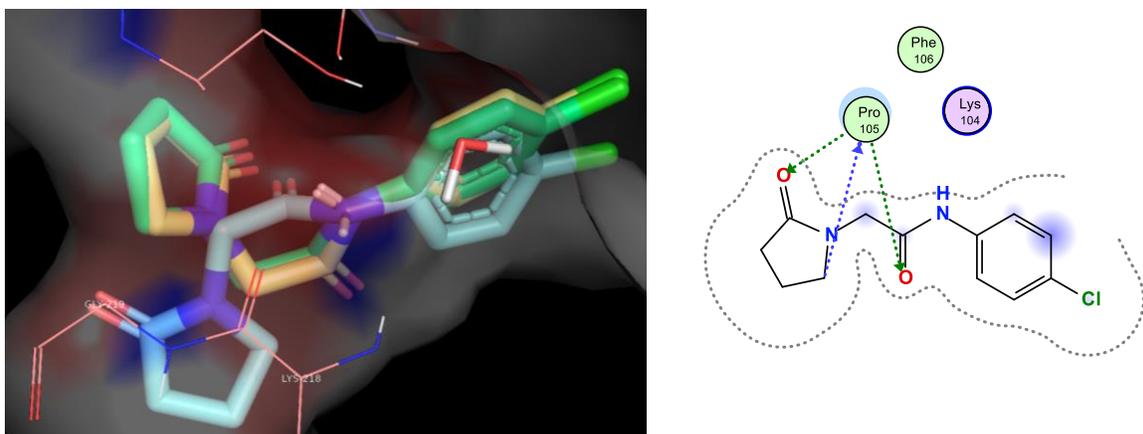


Figura 50.- Diagramas 3D y 2D de **EER-5** en el sitio activo del GluR2

Se observaron las interacciones principalmente con el anillo de la 2-Pirrolidona presente en Piracetam y demás racetamos. La diferencia en la disposición espacial de este anillo se debe a que la acetamida presenta cierta torsión.

10.8.2.6 Acoplamiento molecular del compuesto EER-6 sobre GluR2

Las soluciones del acoplamiento molecular de **EER-6** en el sitio activo del GluR2 fueron similares y además conservaron las interacciones esenciales para su interacción con este receptor (**Figura 51**). La solución más representativa tuvo una energía libre de unión (ΔG) igual a -1.04 Kcal/mol.

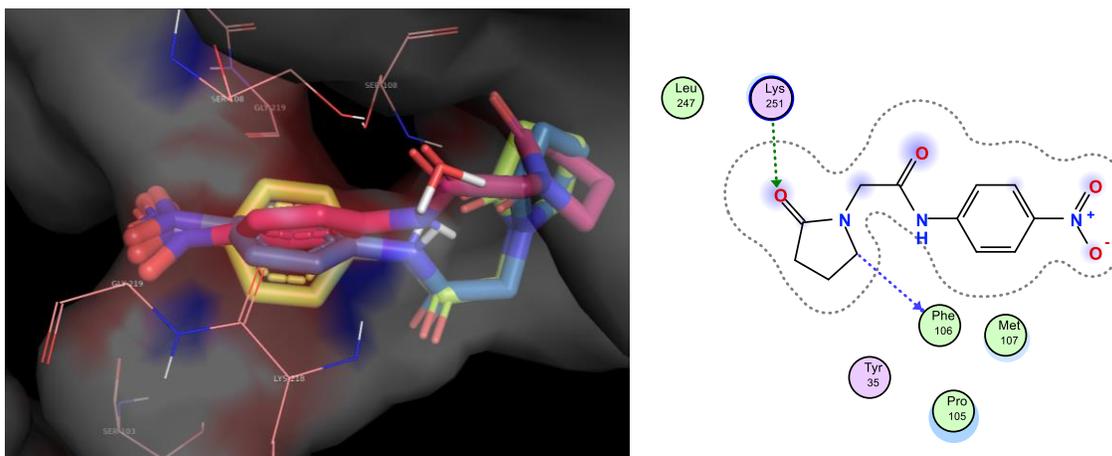


Figura 51.- Diagramas 3D y 2D de **EER-6** en el sitio activo del GluR2

Los resultados del acoplamiento molecular sugieren que los ligandos mantendrían afinidad por el sitio activo de interés ya que presentaron interacciones con dicho receptor, aun cuando las energías libres de unión tienen un score bajo. Es de suma importancia resaltar que se tiene que contar con los resultados biológicos para poder correlacionar los resultados de los cálculos computacionales.

10.8.3 Alineamiento y análisis de similitud molecular (overlay)

Todos los compuestos presentaron las interacciones que son esenciales para la activación del receptor 2 de glutamato, sin embargo, como se mencionó en el análisis de consenso farmacológico, los compuestos **EER-3** y **EER-5** fueron los que obtuvieron mejores propiedades farmacocinéticas, farmacodinámicas y toxicológicas. En la **Figura 52** se muestra el sobreposicionamiento molecular de ambos compuestos.

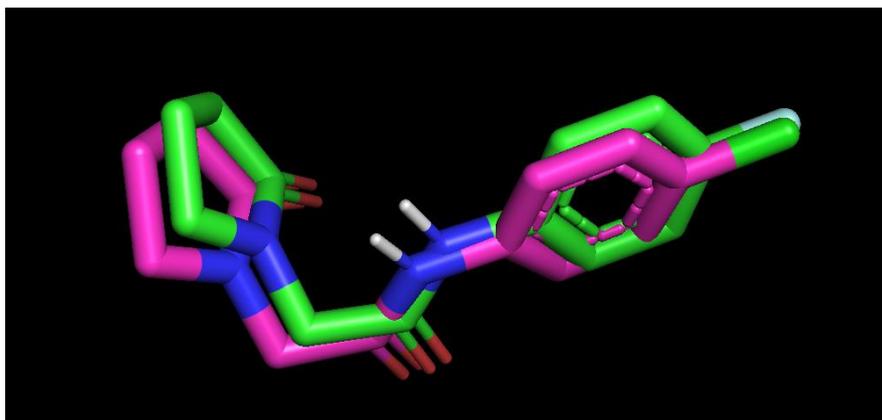


Figura 52.- Sobreposicionamiento molecular de **EER-3** (verde) y **EER-5** (rosa) en el sitio activo de GluR2.

Las conformaciones son muy parecidas debido a que su estructura química es similar y sólo difieren en el halógeno que contienen en el anillo de benceno. Por su parte **EER-3** tiene un átomo de flúor, el cual le conferiría estabilidad metabólica para no presentar metabolismo por hidroxilación aromática.

Se realizó un sobreposicionamiento molecular del Piracetam y **EER-3** (**Figura 53**), en el cual se muestra la similitud conformacional en el sitio activo y la extensión de la cadena lateral de este compuesto le confiere interacciones hidrofóbicas en el sitio activo del receptor.

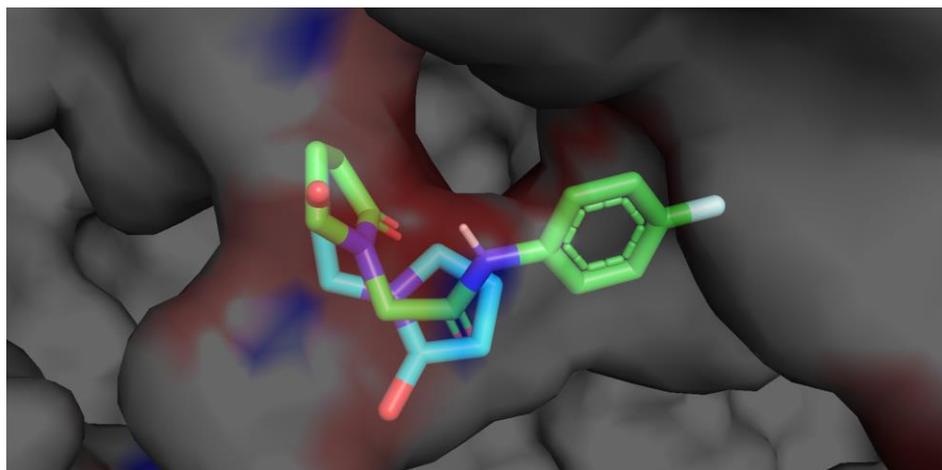


Figura 53.- Sobreposicionamiento molecular de **EER-3** (verde) y Piracetam (cian) en el sitio activo de GluR2.

Al tener tres repeticiones de cada acoplamiento molecular se presentaron diferentes energías libres de unión y distintas conformaciones. En la **Tabla 13** se muestran las energías de unión para cada compuesto en cada una de las corridas del *docking*.

Tabla 13.-Resultados de energías de unión del acoplamiento molecular

Molécula	Energía de unión (Kcal/mol)			Desviación estándar
EER-1	-10.26	-11.16	-11.42	0.60
EER-2	-5.73	-5.78	-5.76	0.02
EER-3	-4.03	-5.66	-5.64	0.93
EER-4	-2.37	-3.15	-2.28	0.47
EER-5	-4.75	-2.79	-2.69	1.16
EER-6	-1.04	-2.81	-3.02	1.08

Hubo algunas variaciones en las energías de unión en cada corrida, sin embargo, la desviación estándar es inferior a 1.2 unidades. En los estudios de acoplamiento molecular es más importante conocer la conformación que adoptan los ligandos en su sitio de reconocimiento, por lo que en la **Tabla 14** se muestran los valores de RMSD de las dos corridas adicionales, comparadas con la conformación más representativa.

Tabla 14.- Valores de RMSD para los resultados del acoplamiento molecular

Moléculas	RMSD (Å)	
EER-1	0.06	0.086
EER-2	0.09	0.128
EER-3	0.04	0.075
EER-4	0.28	0.12
EER-5	0.25	1.52
EER-6	1.26	0.77

La diferencia de las conformaciones de las soluciones del acoplamiento molecular fueron mínimas en los valores de RMSD, lo que indica la confirmación de la validación de esta técnica computacional.

Tabla 15.- Valores de la constante de afinidad para cada compuesto

Moléculas	Constante de afinidad K_i (μM)
EER-1	107.3
EER-2	87.65
EER-3	130.62
EER-4	97.57
EER-5	102.46
EER-6	150.66

Como se puede observar en la **tabla 15**, las constantes de afinidad (K_i) son de valores bajos; por lo que se traduce que tiene mayor afinidad a la proteína, siendo este favorable para que exista una acción favorable o deseada del compuesto. Destacando el compuesto **EER-6**, pero como ya se mencionaba con anterioridad se hace énfasis en la investigación y obtención de los compuestos **EER-3** y **EER-5**.

Como se mencionó previamente, estos resultados podrían complementar los demás parámetros calculados utilizando las herramientas quimioinformáticas, pero debemos de contar con las evaluaciones biológicas para poder correlacionarlos.

Además de contar con estos resultados, debemos de tener presentes los conocimientos de química farmacéutica para enfocar objetivamente estos. El metabolismo es muy importante para la activación e inactivación de una molécula bioactiva, por lo que se consideró al **Metabolito 1** como potencial ligando del GluR2.

10.8.4 Acoplamiento molecular del Metabolito 1 sobre GluR2

Como se discutió previamente, el Metabolito 1 puede ser producido por hidrólisis de cada uno de los compuestos **EER-1** a **EER-6**, por lo que se realizó el acoplamiento molecular de este sobre el sitio activo de GluR2 empleando los mismos parámetros que para los demás compuestos. La solución del acoplamiento molecular tuvo una energía libre de unión (ΔG) igual a -2.32 Kcal/mol (**Figura 54**).

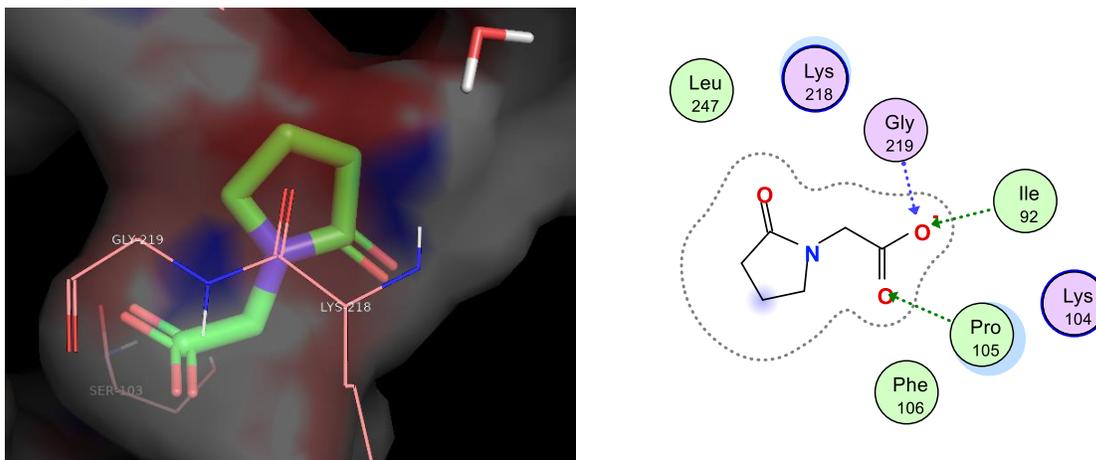


Figura 54.- Diagramas 3D y 2D de **EER-3** en el sitio activo del GluR2

Este metabolito mantiene interacciones polares entre su carboxilato y los residuos de aminoácido Gly-219, Ile-92 y Pro-105, además de que su disposición espacial es similar a la de Piracetam (**Figura 55**).

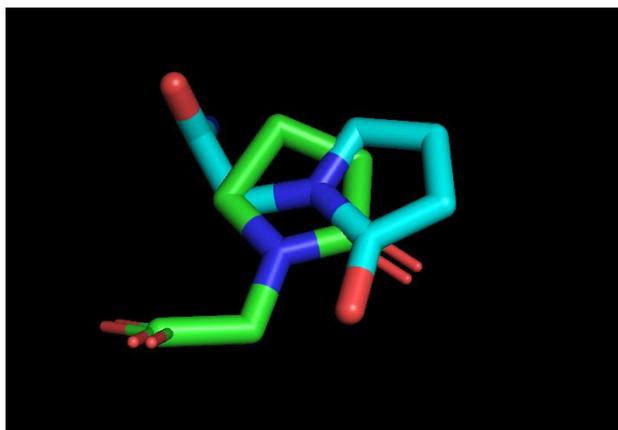


Figura 55.- Sobreposicionamiento molecular del Metabolito 1 y Piracetam en el sitio activo de GluR2.

Estos resultados sugieren que este metabolito tendría afinidad sobre el GluR2 y por lo tanto conservar su potencial efecto nootrópico y anticonvulsivo, sumado al que presentarían los ligandos originales.

11. Acoplamiento molecular sobre el canal hERG

Para correlacionar los resultados obtenidos en ACD ToxSuite, se realizó el acoplamiento molecular del compuesto **EER-3** en el sitio de unión de Astemizol, un antihistamínico que bloquea los canales hERG. Este canal se encuentra depositado en el Protein Data Bank con el código PDB 7CN1 (*Homo Sapiens*, 3.70 Å de resolución) y fue cristalizado en presencia de Astemizol, sin embargo, este ligando no se encuentra co-cristalizado en la estructura cristalográfica⁷⁸.

Se procedió a realizar la validación del docking con el Astemizol, para lo cual fue necesario dibujar y reacoplar este ligando en el sitio de unión al canal: el grid fue centrado en el C- α de la Tyr-652 (dimensiones del grid= 40 Å³), que se ha descrito como el residuo de aminoácido con el cual existe una interacción con múltiples inhibidores de estos canales. Se eligió la conformación más representativa, la cual fue nuevamente reacoplada, obteniendo un RMSD= 0.10 Å (**Figura 56**).

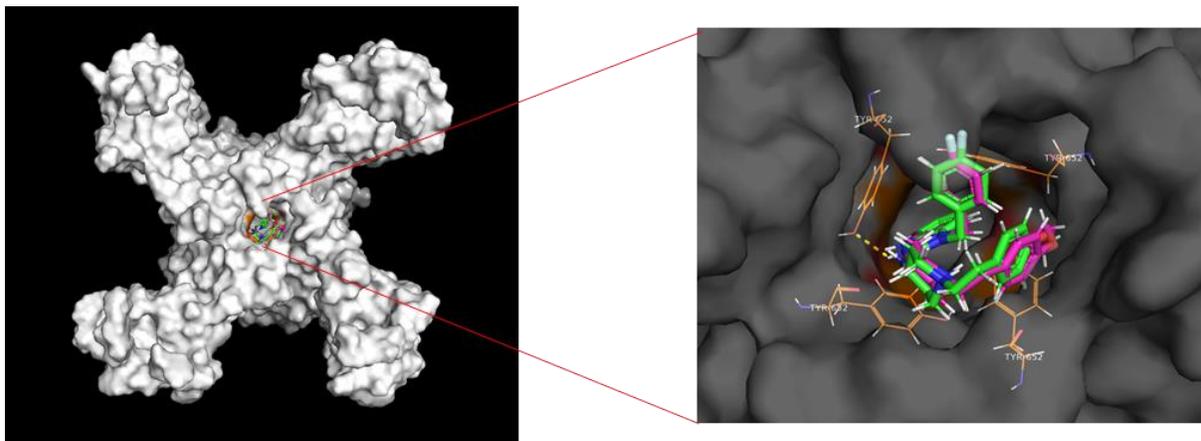


Figura 56.- Acoplamiento molecular de astemizol en el sitio de inhibición del canal hERG

En la solución de la validación del acoplamiento molecular se observó la manera en la cual los residuos de aminoácido de la Tyr-652 interaccionan mediante interacciones π - π con los anillos aromáticos del astemizol (**Figura 57**) bloqueando la entrada hacia el canal en dicha hendidura.

⁷⁸ Asai, T. A. (2021). Cryo-EM Structure of K⁺-Bound hERG Channel Complexed with the Blocker Astemizole. *Structure*, 203-212

lo que tendría una probabilidad muy baja de bloquear a los canales hERG, como se calculó con el programa ACD ToxSuite.

Al conjuntar los resultados de distintos programas quimioinformáticos podemos predecir el posible comportamiento de muchos ligandos, sin embargo, se tiene que confirmar mediante ensayos biológicos.

Este proyecto está fundamentado en el diseño racional de moléculas con potencial bioactividad y del análisis de consenso farmacológico de todos los resultados obtenidos a través de las diversas herramientas quimio-informáticas, cuyos resultados son lo suficientemente aceptables como para jugar un papel importante en la evaluación biológica para confirmar sus propiedades ADMETox y Farmadinas.icas.

Una vez realizado un análisis minucioso de los resultados, se podrían sintetizar los compuestos **EER-3** y **EER-5** los cuales tienen la posibilidad de comportarse como moléculas multi-target y que presentaron buenas propiedades ADMET.

De todos los compuestos propuestos se destacan las propiedades farmacocinéticas, farmacodinámicas y toxicológicas del compuesto **EER-3** que presenta un átomo de flúor en su estructura, lo que le confiere la posibilidad de retardar el metabolismo y utilizar una menor dosis para que se generen los efectos farmacológicos deseados, siendo un *hit* computacional para el tratamiento de la epilepsia.

De igual manera, este proyecto puede servir como base para futuras investigaciones con la posibilidad de generar una molécula para el tratamiento integral de la epilepsia, permitiendo así disminuir los efectos adversos y costos relacionados al uso de la polifarmacia.

Las tabletas de Nootropil (Piracetam) de 800 mg tienen un precio actual de \$672 MX (Medicamento de patente), mientras que el medicamento genérico tiene un precio de \$340 MX.

Las materias primas para la fabricación de los compuestos propuestos en este trabajo tienen los siguientes costos:⁷⁹

- 2-pirrolidona al 99% de pureza (25 g): \$658 MX
- Cloruro de cloroacetilo (5 mL): \$658 MX
- 4-Cloroanilina (100 g) \$530 MX
- 4-Fluoroanilina al 99% de pureza (25 g): \$398 MX.

⁷⁹ Merck. (2021). *Merck*. Obtenido de <https://www.sigmaaldrich.com/mexico.html>

Además de contar con una factible ruta de síntesis para los compuestos **EER-1** a **EER-6**, esta tendría un costo menor de fabricación que Piracetam cuyas materias primas tienen el siguiente costo.⁸⁰

- Metóxido de sodio (25 L): \$11,360 MX
- Cloroacetato de metilo (100 ml): \$639 MX
- Amoniaco (1 L): \$577 MX
- Metanol (1 L): \$325 MX
- Tolueno (2.5 L): \$755.20 MX

Por lo antes mencionado es de suma importancia diseñar racionalmente moléculas con potencial efecto biológico con rutas de síntesis poco costosas y sencillas, para que en un futuro dichas moléculas puedan tener un bajo costo y por lo tanto el tratamiento terapéutico sea accesible para todos los sectores de la población que lo necesiten.

⁸⁰ Scientific, T. f. (2021). Fischer Scientific. Obtenido de <https://www.fishersci.es/es/es/home.html>

12 CONCLUSIONES

- Se diseñaron los compuestos **EER 1-6** análogos de Piracetam con potencial efecto nootrópico y anticonvulsivo.
- Los compuestos propuestos presentaron buenas propiedades farmacocinéticas, farmacodinámicas, metabólicas, toxicológicas y cuasifármaco comparadas con Piracetam utilizando herramientas quimioinformáticas.
- El acoplamiento molecular de los compuestos sobre el sitio activo del receptor 2 de glutamato sugiere que estos mantendrían afinidad de la misma manera que Piracetam, por lo que podrían comportarse como agonistas de este receptor.
- A través del análisis de consenso farmacológico se determinó que los compuestos **EER-3** y **EER-5** presentaron los mejores scores computacionales y por lo tanto se recomienda priorizar su síntesis química.
- El compuesto **EER-3** es un *hit* computacional que *in silico* presentó baja toxicidad, un aceptable perfil farmacocinético, buenas probabilidades de actividad como nootrópico y anticonvulsivo, además, mantuvo afinidad computacional con el receptor GluR-2, por lo que sería candidato a evaluaciones biológicas.

13 PERSPECTIVAS

- ❖ Priorizar la síntesis e identificación estructural de los compuestos **EER-3** y **EER-5**.
- ❖ Realizar las evaluaciones biológicas (*in vitro* e *in vivo*) del compuesto **EER-3**

14 REFERENCIAS

- 1.- Ngugi AK, K. S. (2011). A systematic review and meta-analysis. En *Incidence of epilepsy*. (págs. 1005-1012). Neurology.
- 2.- Medina MT, C.-S. F.-C. (2001). *Las epilepsias en Centroamérica*. Tegucigalpa: Scancolor.
- 3.- México, I. N. (2010). *Instituto Nacional de Estadística y Geografía México*. Obtenido de Instituto Nacional de Estadística y Geografía México: <http://www3.inegi.org.mx/sistemas/mexicocifras/default.aspx?e=09>. [27.04.2016].
- 4.- Abou-Khalil BW, G. M. (2016). *Bradley's Neurology in Clinical Practice*. Philadelphia: Elsevier.
- 5.- L. Medina-Ceja, H. G.-C.-A.-V.-V. (2007). Características estructurales y funcionales de los transportadores de glutamato: su relación con la epilepsia y el estrés oxidativo. *Neurociencia*, 341- 352.
- 6.- Zaráte, C. B. (Julio de 2005). *Revista ciencia*. Obtenido de https://www.revistaciencia.amc.edu.mx/images/revista/56_3/glutamato.pdf
- 7.- Salama, C. G. (1977). Nootropicdrugs. Progress in neuropsychopharmacology. *Great Britain*, 235-247.
- 8.- Fernando Barinagarrementería Aldatz, L. D. (2018). Epilepsia. En *Neurología Elemental* (pág. 203). ELSEVIER.
- 9.- Sander JV, S. S. (1996). Epidemiology of the epilepsies. En *Neurol Psychiatry* (págs. 433-443).
- 10.- Alden, E. C. (09 de agosto de 2019). *MAYO CLINIC*. Obtenido de <https://www.mayoclinic.org/es-es/diseases-conditions/epilepsy/symptoms-causes/syc-20350093>
- 11.- (NCCDPHP), C. N. (30 de Mayo de 2018). *Centro para el control y la prevención de enfermedades*. Obtenido de <https://www.cdc.gov/epilepsy/spanish/basicos/convulsiones.html>
- 12.- Pedraza, A. J. (22 de Mayo de 2018). *Clinic Barcelona Hospital Universitario*. Obtenido de <https://www.clinicbarcelona.org/asistencia/enfermedades/epilepsia/diagnostico>
- 13.- UCBCares. (2019). Pruebas de diagnóstico. *VIVIR CON EPILEPSIA*, 8-11.
- 14.- Carlos Acevedo, O. P. (2014). *Epilepsias*.
- 15.- neurotoxicología, V. S. (2015). *NEUROFISIOLOGÍA MÁLAGA*. Obtenido de <http://neurofisiologiagranada.com/eeg/eeg-activpatologica.htm>

- 16.- Coronado, J. M. (09 de Septiembre de 2013). Slideshare. Obtenido de <https://es.slideshare.net/jaredxmc/epilepsia-facultad-de-medicina-unidad-saltillo>
- 17.- Liaison, O. o. (3 de octubre de 2017). *National institute of Neurological Disorder and stroke*. Obtenido de https://espanol.ninds.nih.gov/trastornos/crisis_epilepticas.htm
- 18.- F. Ramos-Argüelles, G. M. (2009). Técnicas básicas de electroencefalografía: principios y aplicaciones clínicas. *Scielo*.
- 19.- Myslobodsky MS, C. R.-Z. (1990). Adequacy of the International Electrode system for computed neurophysiologic topography. *Clin Neurophysiol*.
- 20.- Lonzi, J. P. (10 de Abril de 2018). *Sanitas Muy Saludable*. Obtenido de Muy saludable: <https://muysaludable.sanitas.es/salud/diferencias-tac-la-resonancia/>
- 21.- Adamolekun, B. (Enero de 2017). *Manual MSD*. Obtenido de <https://www.msdmanuals.com/es-mx/hogar/enfermedades-cerebrales,-medulares-y-nerviosas/trastornos-convulsivos/trastornos-convulsivos>
- 22.- F. Ramos-Argüelles, G. M. (2009). Técnicas básicas de electroencefalografía: principios y aplicaciones clínicas. *Scielo*.
- 23.- OMS. (19 de Abril de 2020). *Organización mundial de la salud*. Obtenido de <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/epilepsy>
- 24.- Cavazos, J. E. (Enero de 2009). *Neurology: Seizures and Epilepsy*. Obtenido de <https://emedicine.medscape.com/article/1184846-overview>
- 25.- Quintans-Júnior L, S. D. (2009). Anticonvulsant Property of NSalicyloyltryptamine: Evidence of Enhance of Central GABAergic Neurotransmission. *Clin Neurophysiol*, 165-168.
- 26.- Aujla P, F. M. (2017). Talampanel supresses the acute and chronic effects of seizures in a rodent neonatal seizure model. *Epilepsia*, 694-701.
- 27.- Elza Márcia Targas Yacubian, G. C.-C.-P. (2014). Farmacocinética de los fármacos antiepilépticos. En E. M. Yacubian, *Tratamiento Farmacológico de las epilepsias* (págs. 35-48). São Paulo: Abbott.
- 28.- Cristina Lanni, S. C. (2018). Cognition enhancers between treating and doping the mind. *ELSEVIER*, 196-213.
- 29.- Trzeciak, G. &. (2002). Piracetam and Vinpocetine Exert Cytoprotective Activity and Prevent Apoptosis of Astrocytes In Vitro in Hypoxia and Reoxygenation. *ELSEVIER*, 19-31.

- 30.- Knezevic, K. W. (2012). Neurodevelopment, Aging and Cognition. *Springer Science & Business Media*, 396.
- 31.- Robert L, M. K. (1995). Antiepileptic Drug Mechanism of Action. *Epilepsia*, 2-12.
- 32.- Gualtieri F, M. D. (2012). «Design and study of piracetam-like nootropics, controversial members of the problematic class of cognition-enhancing drugs. *Curr. Pharm*, 125-138.
- 33.- Vademecum, V. (1 de Enero de 2015). *Vademecum*. Obtenido de <https://www.vademecum.es/principios-activos-piracetam-n06bx03>
- 34.- Agrawal, S. K., Sathe, M., Halve, A. K., & Kaushik, M. P. (2012). Dibutylphosphate (DBP) mediated synthesis of cyclic N,N'-disubstituted urea derivatives from amino esters: a comparative study. *Elsevier*, 5996-5999.
- 35.- María Jesús Mardomingo Sanz, P. R. (2012). Psicofarmacología Del Niño y Del Adolescente. En P. R. María Jesús Mardomingo Sanz. Díaz de Santos.
- 36.- H, S. (2007). The neurobiology of epilepsy. En *The neurobiology of epilepsy* (págs. 348-354).
- 37.- A, Y. (2005). Concepto, clasificación y etiología. En *Crisis convulsivas* (págs. 68-73).
- 38.- M.E.Flores-Soto, V.-H. M.-D.-V.-C.-Z. (2012). Estructura y función de las subunidades del receptor a glutamato tipo NMDA Structure and function of NMDA-type glutamate receptor subunits. *Sociedad Española de Neurología*, 301-310.
- 39.- Shank RP, G. J. (2010). pharmacology, pharmacokinetic and mechanism of action. En *An overview of the preclinical aspects of topiramate* (págs. 41-53).
- 40.- universitarios, I. d. (mayo de 2019). *Instituto de altos estudios universitarios* . Obtenido de <https://www.iaeu.edu.es/estudios/neuropsicologia/consecuencias-cognitivas-de-la-epilepsia/>
- 41.- Romero, I. S. (2018). Sensores ópticos para estudiar los procesos de aprendizaje y memoria. *SEBBM DIVULGACIÓN LA CIENCIA AL ALCANCE DE LA MANO*, 1-2.
- 42.- Torres M, B. J. (2011). *Fisiopatología del estatus epiléptico*. Granados: Neuro colomb.
- 43.- J., L. (1997). Receptores Postsinapticos de Neurotransmisores. *Real Academia de Ciencias Exactas*, 271-277.
- 44.- A., Y. (2015). Crisis convulsivas. Concepto, clasificación y etiología. *Emergencias* , 68-73.

- 45.- Francisco Barros, P. D. (2012). hERG : un canal de potasio implicado en el ritmo cardíaco y mucho más. *The Spanish ION channel initiative*, 1-9.
- 46.- RA., S. (2010). *Antiepilépticos: Aportación de los nuevos fármacos*. Colombia: Acta Neurol Colomb.
- 47.- Luján, R. (2004). Bases moleculares de la señalización neuronal. *Ciencia al día internacional*, 1-19.
- 48.- Joshi I, T. C. (2016). Pregabalin action at a model synapse; binding to presynaptic calcium channel alpha 2-delta subunit reduces neurotransmission in mice. *Eur J Pharmacol*.
- 49.- Herranz JL, A. J. (1988). Clinical side effects of phenobarbital, primidone, phenytoin, carbamazepine, and valproate during monotherapy in children. En *Epilepsia* (págs. 794-804).
- 50.- Laube B, H. H. (1997). "Molecular determinants of agonist discrimination by NMDA receptor subunits: analysis of the glutamate binding site on the NR2B subunit". *Neuron*, 493-503.
- 51.- Main MJ, C. J. (2010). Modulation of KCNQ2/3 potassium channels by the novel anticonvulsant retigabine. *Mol Pharmacol*, 253-262.
- 52.- Tague Honore, J. L.-L. (1982). The Binding of [3H]AMPA, a Structural Analogue of Glutamic Acid, to Rat Brain Membranes. *Journal of Neurochemistry*, 173-178.
- 53.- Dingledine R, B. K. (2009). The glutamate receptor ion channels. *Pharmacological Reviews*, 12-28.
- 54.- J.E, H. (2003). Kainate receptors and synaptic transmission. *Progress in Neurobiology*, 387-407.
- 55.- Fritsch B, R. J. (2014). Role of GluK1 kainate receptors in seizures, epileptic discharges, and epileptogenesis. *The Journal of Neuroscience*, 5765-5775.
- 56.- (IUPAC), I. U. (22 de Septiembre de 2002). Waybackmachine. Obtenido de <https://web.archive.org/web/20110525110924/http://www.iupac.org/web/ins/2000-004-2-500>
- 57.- C. G. Wermuth, C. R. (1998). *Glossary of terms used in medicinal chemistry*. Great Britain: Pure & appl. Chem.
- 58.- Aranda, A. a. (1 July 2001). Nuclear Hormone Receptors and Gene Expression. *Physiological Reviews*, 1269-1304.
- 59.- Rojas, A. C. (16 de febrero de 2017). *Conogasi.org*. Obtenido de Metabolismo de fármacos: <http://conogasi.org/articulos/metabolismo-de-farmacos/>

- 60.- Albert Leo, C. H. (1971). *Partition coefficients and their uses*. California: Department of Chemistry.
- 61.- PASSonline. (2020). *PASSonline applicattions*. Obtenido de PASSonline: <http://www.pharmaexpert.ru/passonline/applications.php>
- 62.- Thomas Sander, J. F. (2015). DataWarrior: An Open-Source Program For Chemistry Aware Data Visualization And Analysis. *J Chem Inf Model*, 460-473.
- 63.- AdmetSAR. (2019). *AdmetSAR*. Obtenido de <http://lmm.d.ecust.edu.cn/admetSar2/>
- 64.- Antoine Daina, O. M. (2017). SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *scientific reports* , 1-13.
- 65.- Bioinformatics, s. i. (2020). *SwissADME*. Obtenido de <http://www.swissadme.ch/>
- 66.- Advanced Chemistry Development, I. (Diciembre de 2020). Obtenido de <https://www.acdlabs.com/products/percepta/index.php>
- 67.- Bruyn Kops, C., Šícho, M., Mazzolari, A., & Kirchmair. (2020). *Universität Hamburg*. Obtenido de <https://nerdd.zbh.uni-hamburg.de/gloryx/about/>
- 68.- Hernández Vázquez, E. (2010). *“Diseño, síntesis y estudios in silico de profármacos de adenosina”*. UNAM (ciencias Químicas).
- 69.- Autodock. (2020). *Autodock*. Obtenido de <http://autodock.scripps.edu/>
- 70.- Schrödinger. (2020). *PyMOL*. Obtenido de <https://www.pymol.org/pymol.html?>
- 71.- Miranda, J. M. (2018). *Síntesis de derivados del ácido ferúlico afines in silico a múltiples dianas terapéuticas relacionadas en el abordaje experimental de la DM 2*. Cuernavaca.
- 72.- Benigni, R. a. (2006). Current Computer-Aided Drug Design. *Structural Alerts of Mutagens*, 169-179.
- 73.- GARZA GONZALEZ, G. G. (2008). Helicobacter pylori eradication and its relation to antibiotic resistance and CYP2C19 status. *Revista Española de enfermedades digitales*, 71-75.
- 74.- Francisco Barros, P. D. (2012). hERG : un canal de potasio implicado en el ritmo cardíaco y mucho más. *The Spanish ION channel initiative*, 1-9
- 75.- Nootropil. (09 de Octubre de 2013). *piracetam*. Obtenido de <http://www.e-lactancia.org/media/papers/Piracetam-DS-UCB2013.pdf>
- 76.- Benavente, J. M. (2000). *Comparación Computacional de estructuras de proteínas. Aplicación al estudio de inhibidor de carboxipeptidasa como agente antitumoral*. Barcelona: Bellaterra.

77.- Merck. (2021). *Merck*. Obtenido de <https://www.sigmaaldrich.com/mexico.html>

78.- Scientific, T. f. (2021). *Fischer Scientific*. Obtenido de <https://www.fishersci.es/es/es/home.html>