

Universidad de San Carlos de Guatemala
Dirección General de Investigación
Programa Universitario de Investigación
en Ciencias Básicas -PUICB-

PROYECTO
“Síntesis de Análogos del Medicamento Anti-Alzheimer
AMPAKINA CX 516 a partir de los Productos Naturales
Eugenol y Piperonal.”

INFORME FINAL



Equipo de Investigación

Coordinador:

Dr. Oscar Manuel Cobar Pinto

Investigador Asociado:

MSc. Luis Hugo Santa Cruz

Investigador

Lic. Abraham Vásquez Mencos

Auxiliar de Investigación:

Jorge Torres

Catalina Palacios Osorio

Fecha de Realización

01 de Febrero al 31 de Diciembre del 2006

Instituciones participantes o Cofinanciantes

Programa Universitario de Investigación en Ciencias Básicas

Dirección General de Investigación USAC.

Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia

Guatemala, 12 de enero de 2007

ÍNDICE

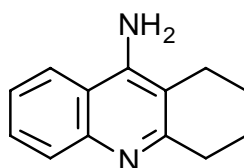
Resumen Ejecutivo	3
Antecedentes	3
Justificación	7
Objetivos	8
Metodología	8
Presentación y Discusión de Resultados	11
Conclusiones	12
Recomendaciones	12
Bibliografía	12
Anexos	15

RESUMEN

Se sintetizaron 4 nuevas moléculas con potencial actividad para el tratamiento del Alzheimer y Parkinson, cuyos nombres son, acetato de eugenol (1), metileugenol (2), ácido 5,6-dimetoxifenilacético (3), el ester etílico del ácido 5,6-diacetoxibenzoico (4) y el ester etílico del ácido 1,4-benzodioxancarboxílico (5). Las pruebas indican leve actividad inhibitoria de la enzima acetilcolinesterasa en comparación con eugenol. Se utilizó como materias primas piperonal, eugenol y piperazina para las moléculas 1,2,3,4 y 1,4-benzodioxancarbaldehído para la molécula 5. Una de las consecuencias del presente trabajo de investigación es que tanto las materias primas como los procesos para sintetizar las moléculas 1,2,3 y 4 son relativamente baratos por lo cual de confirmarse que puedan usarse para el tratamiento de alguna enfermedad podrán estar al alcance de un mayor sector de la población.

ANTECEDENTES

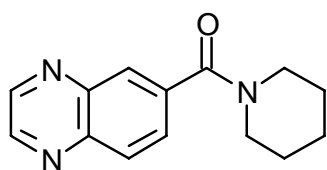
La enfermedad de Alzheimer tiene una incidencia considerablemente alta en personas mayores de sesenta años, y probablemente los pacientes reales que sufren esta enfermedad superen las estadísticas oficiales debido a que muchas veces los síntomas solamente se atribuyen a la edad, nunca se diagnostica y no se busca tratamiento médico. Es una enfermedad neurodegenerativa ligada con la disminución de la disponibilidad de acetilcolina. Se caracteriza por cambios fisiológicos en el cerebro como “encogimiento”, pérdida de neuronas y la aparición de “placas” en el cerebro^{1,2}. Su tratamiento con Tacrine (Cognex®) inhibe la acetilcolinesterasa, aumentando la disponibilidad de acetilcolina³.



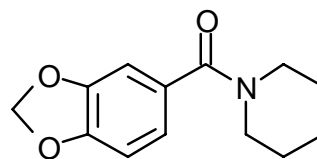
Tacrine

En noviembre de 1996, aparecen las Ampakinas, desarrolladas en la Universidad de California (Campus de Irving) y vendida su licencia a Cortex® Farmacéutica. El compuesto base es el denominado CX-516. Pruebas de laboratorio en ratas demostraron que animales ancianos mejoraron dramáticamente su habilidad para recordar. Pruebas clínicas en humanos iniciaron en 1997 y actualmente se encuentra en Fase Clínica III en la “Federal Drug Administration” (FDA) de Estados Unidos de América.

Un compuesto orgánico estructuralmente análogo a CX-516; 1-(1,3-benzodioxol-5-ylcarbonyl)piperidina fue reportado por Staubli, Rogers y Link como un compuesto capaz de incrementar la memoria en animales de experimentación, con similar actividad biológica y el mismo mecanismo de acción farmacológica.^{4,5}

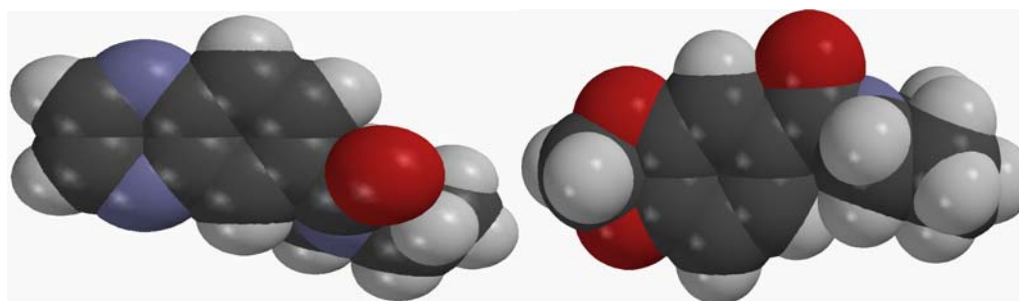


CX-516



1-(1,3-benzodioxol-5-yl)carbonyl)piperidina

Es clara la similitud estructural existente, lo que se observa detalladamente al comparar el modelo tridimensional entre ambas moléculas.

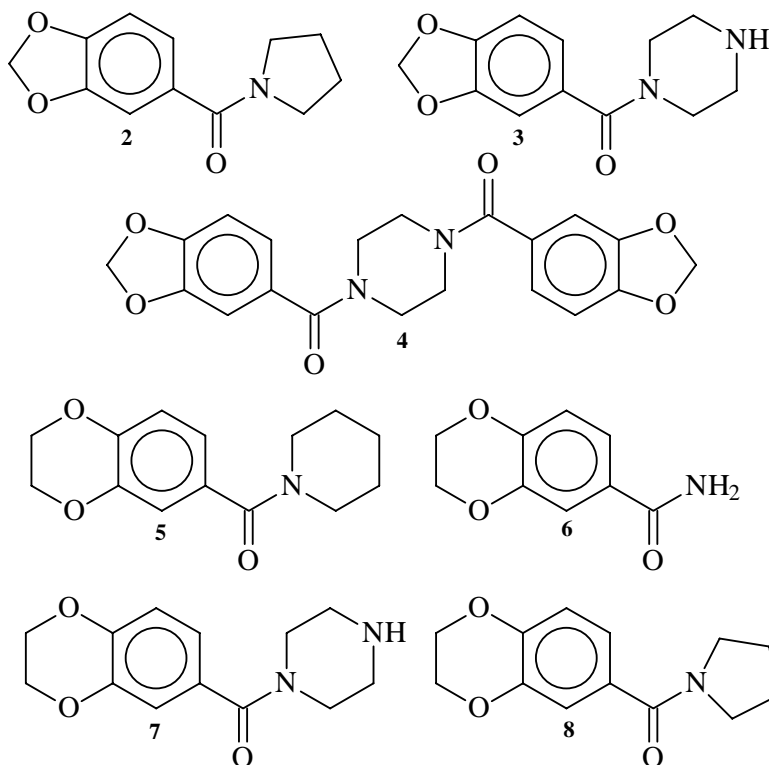


AMPAKINA CX-516

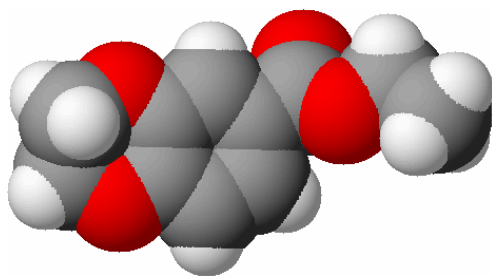
1-(1,3-BENZODIOXOL-5-YLCARBONIL)PIPERIDINA

Es razonable suponer entonces, que moléculas orgánicas similares estructuralmente a CX-516 y a 1-(1,3-benzodioxol-5-yl)carbonyl)piperidina, que posean similares funcionalidades, volúmenes y superficies moleculares puedan poseer similar actividad biológica.

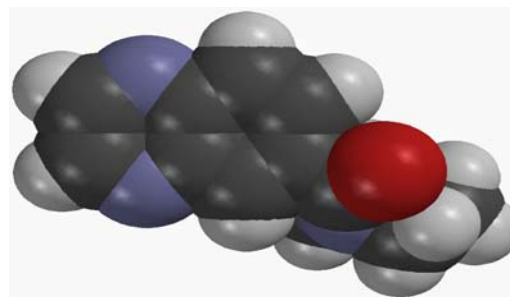
Esta hipótesis, originó la creación de un programa de investigación sobre síntesis de compuestos que incrementan la memoria a partir de productos naturales conocidos y abundantes, cuya primera fase la constituyó el proyecto “Síntesis de Análogos del Medicamento Anti-Alzheimer AMPAKINA CX 516 a partir de los Productos Naturales Safrol y Piperonal”⁶ que se desarrolló cofinanciado por la Dirección General de Investigación durante el año 2005 y formando parte del equipo de investigación el Ph.D. Oscar Cobar Pinto y el Lic. Abraham Vásquez Mencos. En esa oportunidad se sintetizaron los compuestos mostrados a continuación:



En este proyecto, se sintetizarón, mediante rutas sintéticas cortas y con reactivos de bajo costo, otros cinco compuestos orgánicos estructuralmente similares a 1-(1,3-benzodioxol-5-ylcarbamoyl)piperidina diferentes a los sintetizados por el mismo equipo durante el año 2005 a partir de los productos naturales piperonal y eugenol, abundantes en plantas medicinales en Guatemala⁷ y probar su actividad inhibitoria contra las enzimas Acetilcolinesterasa y Butirilcolinesterasa, ensayo que, de ser positivo, conduciría en el futuro a realizar estudios *in vivo* en animales de experimentación para probar su capacidad de incrementar la memoria y posteriormente evaluar específicamente su potencial como probables medicamentos anti-Alzheimer. De hecho la nueva línea de moléculas diseñadas por el programa de investigación de la facultad de ciencias químicas y farmacia son aún más parecidas al producto estrella Ampakina CX-516 que las desarrolladas por Staubli, Rogers y Link.



Derivados Benzodioxánicos del Programa USAC.



Ampakina CX-516

Durante las investigaciones realizadas por este equipo en el año 2005 se descubrió que el eugenol, componente bien conocido de varios aceites esenciales y ampliamente comercializado, presentaba una considerable capacidad inhibitoria de la enzima acetilcolinesterasa, llevando a la conclusión de que este era el mecanismo por el cual el eugenol funcionaba como insecticida. En otras palabras las plantas producen compuestos volátiles como el eugenol, como veneno para inhibir la enzima acetilcolinesterasa, propia de los animales, que son sus potenciales depredadores.

La Enfermedad de Alzheimer se caracteriza por la pérdida de la sinapsis neuronal, aunada a la co-ocurrencia de dos lesiones histológicas en el cerebro; el apareamiento de depósitos extracelulares (placas seniles), cuyo componente principal es una forma fibrilar predominantemente de un péptido de 40-42 aminoácidos conocido como Beta-amiloide (β A) y aglomerados intracelulares de una forma hiperfosforilada del microtúbulo asociado a la "proteína tau", que parece jugar un rol importante en la degeneración de la enfermedad²². El sistema colinérgico, es entonces, el más afectado de los sistemas neurotransmisores, con pérdida sustancial de su función en la corteza cerebral e hipocampo. Lo anterior, es la base para la utilización de moléculas anticolinérgicas (bloqueadores de la acetil y de la butiril-colinesterasa) como la base para el tratamiento mas efectivo que existe contra la enfermedad¹. Su inhibición, ya sea selectiva o no, amplifica la acción de la Acetilcolina, manteniendo por más tiempo la sinapsis neuronal durante la Enfermedad de Alzheimer. Tacrine (Cognex[®]), que es actualmente el medicamento más utilizado, es un inhibidor de la acetilcolinesterasa, sin embargo posee una utilidad clínica limitada, por la mejoría relativamente pequeña obtenida con la terapéutica y un importante espectro de efectos adversos². Inhibidores de la Buririlcolinesterasa, como N⁸-norphenserine, N¹,N⁸-bisnorphenserine, Tolserina y análogos de la Cysmerina han sido sintetizados recientemente, realizado estudios de Estructura-Actividad Biológica (SAR) y demostrado potente acción anticolinérgica²³. Se espera en un futuro cercano el inicio de las pruebas clínicas que puedan convertirla en medicamentos. Otro tipo de sustancias, las AMPAKINAS (Ampalex[®]), licenciadas a Cortex Farmacéutica por la Universidad de California en 1993 y actualmente en Fase Clínica III en la FDA de los Estados Unidos, actúan por un mecanismo de acción diferente, al incrementar el funcionamiento de los receptores AMPA (ácido α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazol propanoico) tipo glutamato, aumentando el flujo de este neurotransmisor hacia su receptor³. Los receptores AMPA estimulan a nivel molecular ciertos tipos de memoria, al fomentar el funcionamiento de neuronas en un proceso que se conoce como Potenciación a Largo Plazo (PLP). Las AMPAKINAS cuando se unen a un receptor AMPA, producen en respuesta un incremento del flujo de glutamato hacia su receptor, generando PLP. El efecto es que se mejora la capacidad de memoria y de recordar, hecho que está probado en estudios farmacológicos con ratas⁵. Estudios

simultáneos, sugieren que las AMPAKINAS, tienen potencial como probables medicamentos contra la esquizofrenia, depresión y la enfermedad de parkinson, incluso Cortex farmacéutica en 1999, licencia a la compañía farmacéutica de origen suizo, Organón, la licencia para estudiarlas clínicamente contra la esquizofrenia y el Desorden de Déficit de Atención e Hiperactividad (Attention éficit Hyperactivity Disorder – ADHD-).

En 1994, se reporta que 1-(1-3-bezodioxol-5-ylcarbonil)piperidina, un compuesto similar estructuralmente a la principal AMPAKINA (CX-516) tiene la capacidad de incrementar la memoria en animales de experimentación²⁴. La similitud estructural de este último con la piperina, el principal componente de la pimienta negra (*Piper nigrum*), visualizada por Schatz y publicada en un artículo educacional en 1997⁴, lleva a la creación del Programa de “Síntesis de Moléculas Estimuladoras de la Memoria Derivadas de Productos Naturales Abundantes y Conocidos” (Memory Enhancers by Molecules Derived from Common Natural Compounds)²⁵, del Departamento de Química Orgánica de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos, que pretende sintetizar moléculas funcional y estructuralmente similares a CX-516, por ruptura de la molécula de piperina y síntesis a partir de precursores naturales pequeños. El primer proyecto “Síntesis de Tres Posibles Medicamentos por Modificación Estructural de la Piperina”²⁶, basado en el documento pionero “Pimienta Negra; Respuesta a los Males de Alzheimer y Parkinson?”²⁷, se desarrolló en 1999-2000 cofinanciado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología –CONCYT- y el segundo en 2005, cofinanciado por la Dirección General de Investigación⁶ han generado diez moléculas que en un futuro cercano serán sometidos a las pruebas farmacológicas necesarias para probar su capacidad de incrementar la memoria en animales de experimentación.

JUSTIFICACIÓN

Asociada al padecimiento de Alzheimer se encuentra una disminución de la concentración de acetilcolina disponible por ello se considera la inhibición de la enzima acetilcolinesterasa, responsable de la disociación de la acetilcolina, como un potencial paliativo de la enfermedad. El compuesto Ampakina CX 516 ha demostrado ser un potencializador de la memoria que probablemente actúa mediante este mecanismo pero con efectos secundarios negativos sobre el hígado. Ya que se ha observado que moléculas con estructuras similares presentan actividad biológica similar, esto debido a al acoplamiento enzimático con moléculas parecidas (Teoría llave-candado) es justificable pensar que moléculas con estructura similar o superficie molecular similar a la Ampakina CX516 puedan ser también agentes efectivos para el tratamiento de la enfermedad con menores efectos tóxicos.

OBJETIVOS

2.4.1 Generales:

2.4.1.1 Sintetizar, a partir de Eugenol, acetato de eugenol (1), metileugenol (2), ácido 5,6-dimetoxifenilacético (3), el ester etílico del ácido 5,6-diacetoxibenzoico (4) y el ester etílico del ácido 1,4-benzodioxancarboxílico (5).

2.4.1.2 Determinar la actividad inhibitoria contra las enzimas Acetilcolinesterasa y Butirilcolinesterasa de los siete compuestos sintetizados.

2.4.2 Específicos:

2.4.2.1 Explorar rutas sintéticas cortas y de bajo costo para la síntesis de análogos de 1-(1,3-benzodioxol-5-ylcarbonil)piperidina a partir de Eugenol, Piperonal o 1,4-benzodioxancarbaldehído..

2.4.2.2 Explorar modificaciones al tipo de sustituyente sobre el ácido carboxílico y el fenol de los productos a sintetizar para mejorar su actividad biológica.

2.4.2.4 Realizar estudios teóricos de modelaje molecular de las moléculas a sintetizar y las diseñadas teóricamente para predecir su actividad de incremento de memoria en mamíferos.

METODOLOGÍA

Compuesto 1:

Síntesis de Acetato de Eugenol:

10ml de Eugenol se mezclan con 50 ml de anhídrido acético en un matraz de 125 ml. Se arma un sistema de reflujo y cuidadosamente se agrega 0.5 ml de ácido sulfúrico concentrado. Se refluja durante 3 horas. Se deja enfriar y introduce en una nevera durante tres días. El producto consta de agujas blancas y grandes con un punto de fusión de 67°C y un rendimiento del 90%.

Compuesto 2:

Síntesis de Metileugenol:

10 ml de eugenol se mezclan con 30 ml de sulfato de dimetilo y se reflujan durante 4 horas. Debe tenerse especial precaución al manejar el sulfato de dimetilo ya que es extremadamente venenoso. El sistema de reflujo debe poseer un doble refrigerante y una trampa para gases. El exceso de sulfato de dimetilo se destruye con agua gota a gota muy lentamente.

Alternativamente a la opción del sulfato de dimetilo, puede utilizarse yoduro de metilo el cual es preparado mediante la reacción de una solución de metanol absoluto sobresaturada con yoduro de potasio y un ml de ácido sulfúrico. Se destila a menos de 50° el yoduro de metilo. 10 ml de eugenol se hacen reaccionar con una cantidad equimolar de sodio metálico dividido en finos trozos, para formar una sal amarillo verdosa, el fenóxido derivado, este se mezcla con un exceso de yoduro de metilo y se refluja durante 3 horas.

Compuesto 3:

Síntesis de ácido 5,6-dimetoxifenilacético:

5 ml de metil eugenol se mezclan con 30 ml de una solución de permanganato de potasio al 3% en ácido sulfúrico en agua al 5%. Se refluja intensamente durante 4 horas con agitación. Se agrega 1 ml de la solución de permanganato cada vez que el color

morado desaparezca, hasta que el color permanezca 10 minutos. Se deja enfriar y se agregan 20 ml de NaOH al 3% en agua. Se filtra el precipitado café que está constituido por óxido de manganeso. Se acidifica la solución filtrada a modo que precipite todo el producto. El rendimiento obtenido es de 80% .

Compuesto 4:

Síntesis de 5,6-diacetifeniletanoato de etilo:

10 gramos de piperonal se suspenden en 50ml de una solución de permanganato de potasio al 3% en agua, se refluja durante 3 horas y se a en 50 ml de acetato de etilo, se agrega lentamente y con mucha precaución 3 ml de tricloruro de fósforo, se refluja durante tres horas hasta que se disuelva todo el sólido. Con mucho cuidado se agregan 20 ml de una solución de piperazina en cloroformo al 1% y se refluja durante 2 horas. Se destila el solvente hasta la mitad de volumen. Se filtra el preicipitado y se lava con agua. El rendimiento es de un 60 %.

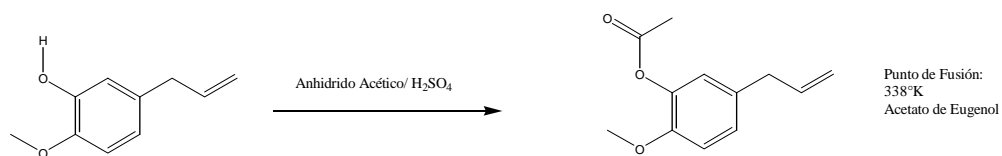
Compuesto 5:

Síntesis de ester etílico del ácido 1,4-benzodioxancarboxílico:

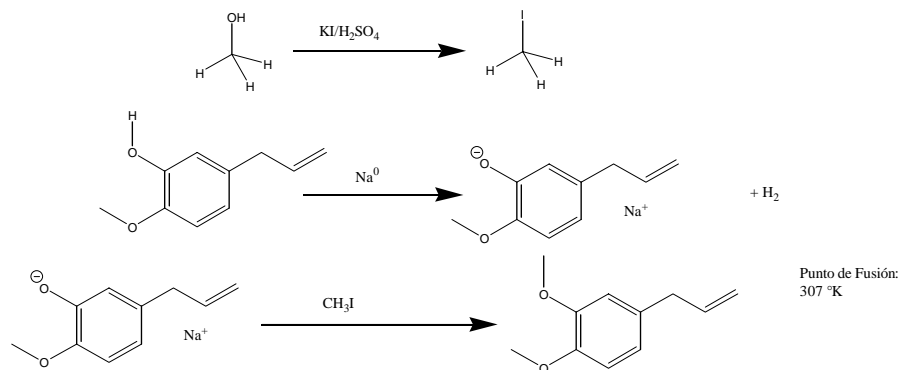
2 gramos de 1,4-benzodioxancarbaldehído se suspenden en 10 ml de agua, se agregan 30 ml de acetato de etilo y 30 ml de una solución de permanganato de potasio al 1% en agua ácido sulfúrico al 2%. Se refluja durante 2 horas. Se deja enfriar y se neutraliza la solución con 30 ml de NaOH en agua al 2%. Se destila el el solvente hasta la mitad y se deja cristalizar durante una semana. El rendimiento es de un 70% de un producto que en solución de acetato de etilo es de color rojo y que ya cristalizado es de color rosáceo y olor agradable a frutas.

Metodología de Manera Esquemática

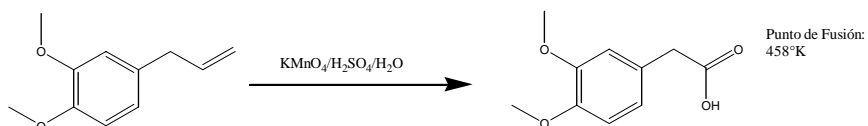
Compuesto 1: Acetato de Eugenol



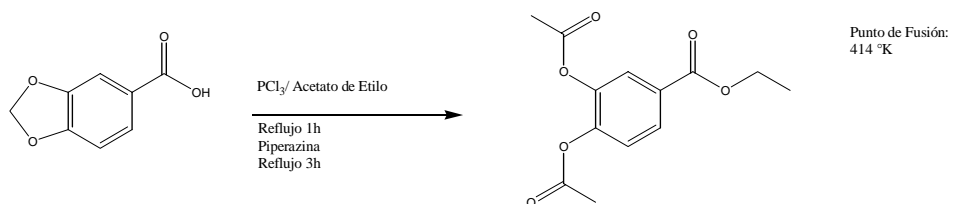
Compuesto 2: Metileugenol



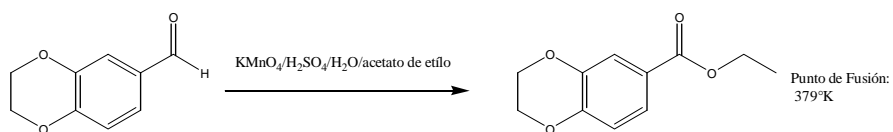
Compuesto 3: 3,4-dimetoxifenilacético



Compuesto 4: 3,4-diacetoxibenzoato de etilo



Compuesto 5: ester etílico del ácido 1,4-benzodioxancarboxílico



PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Substancia	Características	Actividad*
Acetato de Eugenol	Cristales blancos con forma de agujas grandes. Punto de fusión 167 °C.	Leve o nula inhibición la enzima acetilcolinesterasa.
Metileugenol	Cristales blancos, Punto de fusión 33°C.	Leve Inhibición de la acetilcolinesterasa..
Ácido 3,4-dimetoxifenilacético	Sólido blanco. Punto de fusión de 190°C.	Leve inhibición enzimática.
3,4-diacetoxibenzoato de etilo.	Sólido blanco. Punto de Fusión: 147°C.	Leve Inhibición Enzimática.
1,4-benzodioxancarboxilato de etilo.	Sólido blanco, punto de fusión: 106°C	Leve inhibición enzimática.

DISCUSIÓN

Los compuestos sintetizados derivados del Eugenol si bien presentan una leve inhibición enzimática de la acetilcolinesterasa, esta es mucho menor que la del eugenol original, lo que induce a pensar que el grupo fenol libre es el responsable de la actividad en el Eugenol. Los fenoles y quinonas han sido ampliamente estudiados como agentes antioxidantes, ahora vemos que unido a sus propiedades antioxidantes se encuentra la inhibición enzimática de la acetilcolinesterasa, lo que nos lleva a la formulación de nuevas e interesantes hipótesis. ¿La inhibición enzimática de la acetilcolinesterasa por el eugenol se da por un mecanismo de radicales libres? ¿Se observara inhibición enzimática de la acetilcolinesterasa por parte de otros fenoles? ¿Qué tipo de sustituyentes aumentara la actividad? Se ha observado que algunos fenoles han tenido algún grado de efectividad para el tratamiento de algunas formas de cáncer. ¿La actividad citotóxica de los fenoles estará vinculada con la inhibición de la acetilcolinesterasa? La biosíntesis del Eugenol en las plantas no es sencilla y estas deben de invertir una considerable cantidad de energía para sintetizar este tipo de moléculas aún en pequeñas cantidades. Cabría preguntarse por qué las plantas hacen este esfuerzo. La presente investigación arroja un poco de luz con respecto a este tema. La respuesta más probable es que el eugenol es utilizado por las plantas como insecticida natural porque es un inhibidor de la acetilcolinesterasa.

CONCLUSIONES

1. Se sintetizaron 5 compuestos orgánicos similares estructuralmente a AMPAKINA CX-516, de los cuales 4 son nuevos.
2. Los cinco compuestos nuevos sintetizados presentan una leve inhibición de la actividad de la enzima acetilcolinesterasa, similar a la presentada por 1-(1-3-benzodioxol-5-ylcarbonil)piperidina.
3. Los compuestos Eugenol e Isoeugenol presentan una fuerte inhibición de la actividad de la enzima acetilcolinesterasa, no así el acetato de eugenol por lo que como consecuencia de esta investigación se concluye que el fenol libre es el responsable de la actividad inhibitoria.

RECOMENDACIONES

1. Realizar pruebas de actividad antibiótica de los diferentes compuestos sintetizados.
2. Realizar cinéticas enzimáticas que permitan santificar el efecto de los sustituyentes en el anillo fenólico sobre la velocidad de reacción.
3. Modificar artificialmente los productos sintetizados usando técnicas de modelaje molecular para mejorar su espectro antibiótico y su actividad biológica en general.
4. Sintetizar en mayor cantidad los compuestos obtenidos, para realizar pruebas con ratones y observar el efecto que presentan estas moléculas en sistemas biológicos reales, ya que es posible que la Ampakina CX 516 ejerza una actividad potencializadora de la memoria por un mecanismo diferente de la inhibición a la acetilcolinesterasa.
5. Realizar pruebas de citotoxicidad y otros ensayos de actividad biológica para buscar aplicaciones biomédicas de los compuestos nuevos sintetizados.
6. Buscar aplicaciones industriales a los productos sintetizados.

BIBLIOGRAFÍA

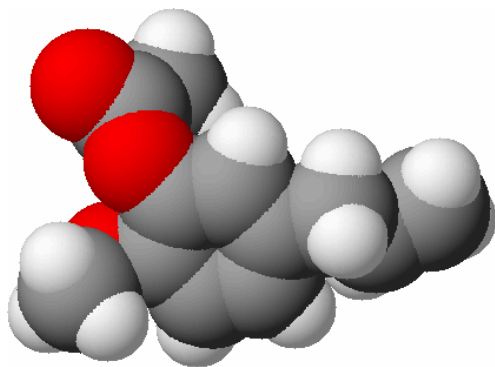
1. a) Becker, R.E.; Moriarty, P.; Unni, L.; Vicari, S. Cholinesterase Inhibitors as Therapy in Alzheimer's Disease: Benefit to Risk Considerations in Clinical Application., In *Alzheimer's Disease: from Molecular Biology to Therapy*. Becker, R.; Giacobini, E., Eds. Brickhouser, Boston, **1997**, 257-266. b) Belluti, F.; Rampa, A.; Piazzzi, L.; Bisi, A.; Gobbi, S. Bartolini, M.; Andrisano, V.; Cavalli, A.; Recanatini, M.; Valenti, P. Cholinesterase Inhibitors: Xanthostigmine Derivatives Blocking the Acetylcholinesterase-Induced β -Amyloid Aggregation. *Journal of Medicinal Chemistry*. **2005**, *48*, 4444-4456.
2. Goodman y Gilman. Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica., 10 ed, McGraw Hill, **2003**. 568-570 pp.
3. Simmon, V.F. Ampakines, Potential in Neurology Disorders, an update. *Cortex Bio-2000 Conference*, Boston MA, USA, December 17, **1999**.
4. Schatz, P. Some Food for Thought. *Journal of Chemical Education*, **1997**, *74*, 746-748.

5. Lynch, G. Memory and the Brain: Unexpected Chemistries and a New Pharmacology. *Neurobiology Learn Memory*. **1998**, 70, 82-100.
6. Cobar, O.M.; Vásquez, A.; Santa Cruz, L.H. Proyecto “Síntesis de Análogos del Medicamento Anti-Alzheimer AMPAKINA CX 516 a partir de los Productos Naturales Safrol y Piperonal”. *Dirección General de Investigación, Universidad de San Carlos de Guatemala*. **2004**, 18 pp.
7. a) Cáceres, A. Plantas de Uso Medicinal en Guatemala. Editorial Universitaria, Guatemala, **1996**, 402 pp. b) Aquino, R.; De Feo, V.; De Simone, F.; De Tomasi, N.; Piacente, S.; Pizza, C.; Rastrelli, L. Flora Officinale dell'America Latina. Gutemberg Edizioni, Salerno, Italia. **2000**, 502 pp.
8. a) Compendio Estadístico 2004 Guatemala. Desarrollo Humano y Ruralidad. Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo, Editorial Serviprensa, Guatemala, **2004**, 132 pp. b) Informe sobre Desarrollo Humano 2004. La Libertad Cultural en el Mundo Diverso de Hoy. Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo, Ediciones Mundi Prensa, Madrid, España, **2004**, 299 pp
9. Nakanishi, K. Lessons From Natural Medicines in “*Chemistry, Biological and Pharmacological Properties of Medicinal Plants of the Americas*”. Harwood Academic Publishers, **1999**, 1-18.
10. Kuklinski, C. Farmacognosia; Estudio de las Drogas y Sustancias Medicamentosas de Origen Natural. Ediciones Omega, Barcelona, España, **2000**. 515pp.
11. a) Cragg, G.M.; Newman, D.J.; Snader, K.M. Natural Products as Sources of New Drugs Over the Period 1981-2002. *Journal of Natural Products*, **2003**, 66, 1022-1037. b) Lee, K-H. Current Developments in the Discovery and Design of New Drug Candidates from Plants Natural Product Leads. *Journal of Natural Products*, **2004**, 67, 273-283. c) Butler, M.S. The Role of Natural Product Chemistry in Drug Discovery. *Journal of Natural Products*, **2004**, 67, 2141-2153.
12. Manual de Técnicas de Investigación, Sub-Programa X, Química Fina Farmacéutica; Proyecto X-1, Búsqueda de Principios Bioactivos en Plantas de la Región, Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo –CYTED-, **1995**, 227 pp.
13. Henkel, Th.; Brunne, R.M.; Muller, H.; Reichel, F. Statistical Investigation Into the Structural Complementarity of Natural Products and Synthetic Compounds. *Angewalte Chemical, International Edition*, **1999**, 38, 643-647.
14. Annual Reports in Medicinal Chemistry, Doherty, A.M. Editor. Vol. 39, Academic Press, **2004**, 433 pp.
15. New Trends in Natural Product Chemistry. Rahman A.; Choundary, M. Editors. Harwood Academic Publishers, **1998**, 305 pp.
16. VanMiddlesword, F.; Cannell, R. Dereplication and Partial Identification of Natural Products in “Natural Products Isolation”, *Methods in Biotechnology*. Humana Press, **1998**, 279-328.
17. Xu, J.; Hagler, A. Cheminformatics and Drug Discovery. *Molecules*, **2002**, 7, 566-600.
18. a) Bowen, J.P.; Allinger, N.L. *Reviews in Computational Chemistry*. **1991**, 2, 1-14. b) Larsen, Th.; Petersen, B.; Duus, J.; Sørensen, D.; Frisvad, J.; Hansen, M. Discovery of New Natural Products by Application of X-hitting, a Novel Algorithm for Automated Comparison of Full UV Spectra, Combined with Structural Determination by NMR Spectroscopy. *Journal of Natural Products*. **2005**, 68, 871-874.
19. Abstracts of the 229th American Chemical Society National Meeting, Division of Computers in Chemistry. San Diego, CA. March 13th-17th **2005**.
20. Wilson, E. Computers in Chemistry; picking the winners. *Chemical and Engineering News*, **2002**, 17, 35-39.
21. Abstracts of the 229th American Chemical Society National Meeting, Division of Medicinal Chemistry. San Diego, CA. March 13th-17th **2005**.
22. Khachaturian, Z.S. Diagnosis of Alzheimer's Disease. *Archives in Neurology*. **1985**, 42, 1097-1105.

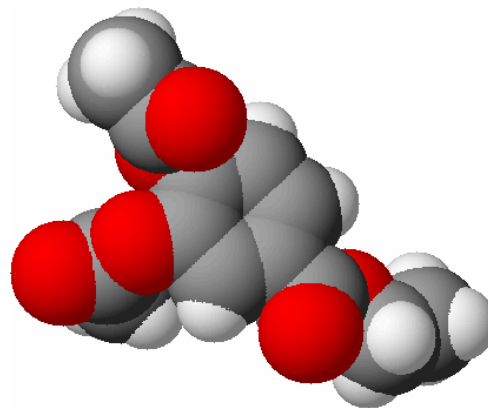
23. Yu, Q.; Holloway, H.W.; Utsuki, T.; Brossi, A.; Greig, N.H. Synthesis of novel Phenserine-Based-Selective Inhibitors of Butyrylcholinesterase for Alzheimer's Disease. *Journal of Medicinal Chemistry*, **1999**, *42*, 1855-1861.
24. Staubli, U.; Rogers, G.; Lynch, G. Facilitation of Glutamate Receptor Enhances Memory. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*. **1994**, *91*, 777-781.
25. Cóbar, O.M. Memory Enhancers by Molecules Derived from Common Natural Compounds. Manuscript in preparation.
26. Orozco N., *et. al.* Síntesis de tres Posibles Medicamentos por Modificación Estructural de Piperina. Informe Final, Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, **2000**, 27 pp.
27. Cóbar, O.M. Pimienta Negra: Respuesta a los Males de Alzheimer y Parkinson?. Departamento de Química Orgánica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala, **1998**, 4 pp.
28. Dyer, L.A.; Richard, J.; Dodson, C.D. Isolation, Synthesis and Evolutionary Ecology of Piper Amides. *New Trends in Natural Product Chemistry*. **2004**, 117-139.
29. Vasques, R.; Debonsi, H.; Kato, M.; Bolzani, V.; Meda, Ch.; Young, M.C.; Furlan, M. Antifungal Amides from Piper arboreum and Piper tuberculatum. *Phytochemistry*, **2002**, *59*, 521-527.
30. a) Alecio, A.; Da Silva, V.; Marx, M.C.; Kato, M.; Furlan, M. Antifungal Amide from Leaves of Piper hispidium. *Journal of Natural Products*, **1998**, *61*, 637-639. b) Wei, K.; Koike, K.; Pei, Y.; Chen, Y.; Nikaido, T. New Amide Alkaloids from the Roots of Piper nigrum. *Journal of Natural Products*. **2004**, *67*, 1005-1009.
31. Araujo-Junior, J.; Barreiro, E.J.; Parente, J.P.; Fraga, C.A. Synthesis of Piperamides from Naturale Safrole. *Synthetic Communications*. **1999**, *29*, 263-273.
32. Araujo, J. Novel Natural Product Based Anti-Anxiety Therapy and Natural Insecticides. MSc. Tesis. University of Costa Rica. **2004**, 35 pp.
33. Ribeiro, T.; Freire, L.; Previato, J.; Mendoza, L.; Heise, N.; Freire, M. Toxic Effects of Natural Piperine and its Derivatives on Epimastigotes and Amastigotes of Trypanosoma cruzi. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. **2004**, *14*, 3555-3558.
34. Panda, S.; Kar, A. Water and Ethanol Extracts of Piper nigrum in Regulating Thyroid Function and Lipid Peroxidation in Mice. *Pharmaceutical Biology*. **2003**, *41*, 479-482.
35. Martson, A.; Kissling, J.; Hostettmann, K. A Rapid TLC Bioautographic Method for the Detection of Acetylcholinesterase and Butyrylcholinesterase Inhibitors in Plants. *Phytochemical Analysis*, **2002**, *13*, 51-54.

Anexos
Modelos tridimensionales de Moléculas Sintetizadas.

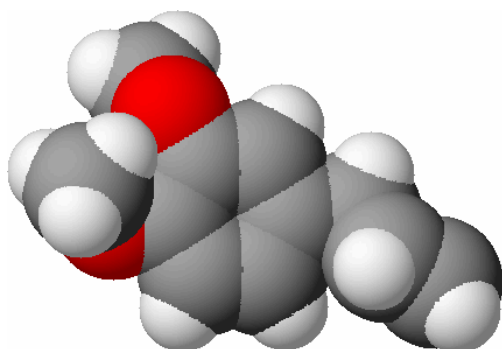
Compuesto 1:
Acetato de Eugenol



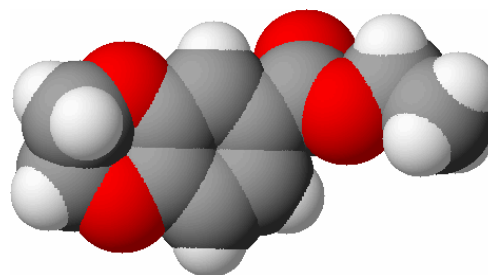
Compuesto 4:
3,4-diacetoxibenzoato de etilo



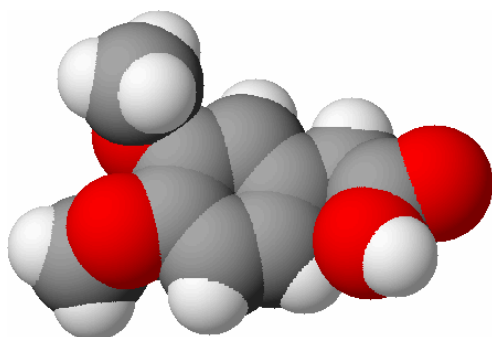
Compuesto 2
Metileugenol



Compuesto 5:
Ester etílico del Ácido 1,4-
benzodioxancarboxílico



Compuesto 3:
Ácido 3,4-dimetilfeniletanoico



INTEGRANTES EQUIPO DE INVESTIGACIÓN

PhD. Oscar Manuel Cobar Pinto
Coordinador

Lic. Abraham Alejandro Vásquez Mencos
Investigador

Br. Jorge Alejandro Torres Flores
Auxiliar de Investigación

PhD. Oscar Manuel Cobar Pinto
Decano
Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia