

# Síntesis y evaluación farmacológica preliminar de análogos de índoles fusionado con posible actividad dopaminérgica central

(Synthesis and preliminar pharmacological evaluation of indol fusionated analogues with possible dopaminergic central action)

BIAGINA MIGLIORE DE ÁNGEL<sup>2</sup>, NATIVIDAD HERRERA CANO<sup>4</sup>, SILVIA BAROLO<sup>4</sup>,  
SEBASTIÁN ANDUJAR<sup>7</sup>, ANITA ISRAEL<sup>5</sup>, MARÍA DEL ROSARIO GARRIDO<sup>5</sup>,  
JAIME E CHARRIS<sup>3</sup>, CECIRE ROSALES<sup>1</sup>, VERÓNICA HERNÁNDEZ<sup>1</sup>, MARÍA M RAMÍREZ<sup>1</sup>,  
JOSÉ ORTEGA<sup>1</sup>, HEBERTO SUÁREZ-ROCA<sup>2</sup>, RICARDO D. ENRIZ<sup>6</sup>, ROBERTO ROSSI<sup>4</sup>,  
ANA SANTIAGO<sup>4</sup>, JORGE E ÁNGEL GUÍO<sup>1\*</sup>

## Resumen

La neurotransmisión dopaminérgica juega un papel importante en los desórdenes que involucran al sistema nervioso central (SNC) tales como, la esquizofrenia, la enfermedad de Parkinson, el síndrome de Tourette, las diskinesias tardías y las adicciones psicoestimulantes. La esquizofrenia se manifiesta por un aumento de los niveles de dopamina en las vías mesolímbicas y mesocorticales. En estas últimas décadas se ha diseñado, sintetizado y evaluado farmacológicamente numerosos compuestos con actividad antipsicótica, aunque la mayoría producen importantes efectos secundarios que afectan la calidad de vida del paciente. Basándonos en la información obtenida a través de la química medicinal se diseñaron los compuestos (5-7) y luego se realizó su síntesis a partir de las 1-tetralonas, con la o-iodoanilina mediante las condiciones de la reacción de sustitución nucleofílica radicalaria unimolecular ( $S_{RN}1$ ). Con el propósito de determinar su actividad antagonista sobre los receptores dopaminérgicos en el sistema nervioso central, los compuestos fueron evaluados farmacológicamente mediante la administración de dosis bajas de los compuestos (100µg/5µl, 10µg/5µl y 1.0µg/5µl) por vía intracerebroventricular (ICV) a ratas, y registrando la aparición de varias conductas estereotípicas. Los resultados biológicos muestran que los compuestos (5-7) actúan a través de mecanismos dopaminérgicos, al menos a las dosis usadas, sin inducir algunos comportamientos estereotipados como roer. Además son capaces de inhibir las roídas inducidas por la apomorfina. Los estudios comparativos conformacionales y electrónicos de los compuestos (4-7), a través de los cálculos cuánticos computacionales, apoyan la similitud estereoeléctrica de estos compuestos y están en concordancia con los resultados farmacológicos obtenidos.

**Palabras claves:** Sustitución nucleofílica radicalaria unimolecular ( $S_{RN}1$ ), receptores dopaminérgicos, neurotransmisores, cálculos cuánticos, estudio conformacional y electrónico.

<sup>1</sup> Laboratorio de Síntesis Orgánica y Diseño de Fármacos. Departamento de Química. Facultad Experimental de Ciencias. Universidad del Zulia.

<sup>2</sup> Sección de Farmacología. Instituto de Investigaciones Clínicas «Dr. Américo Negrette». Facultad de Medicina. Universidad del Zulia.

<sup>3</sup> Laboratorio de Síntesis Orgánica. Facultad de Farmacia. Universidad Central de Venezuela.

<sup>4</sup> INFIQC. Departamento de Química Orgánica. Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Nacional de Córdoba. Ciudad Universitaria 5000, Córdoba-Argentina.

<sup>5</sup> Laboratorio de Neuropeptidos. Facultad de Farmacia. Universidad Central de Venezuela.

<sup>6</sup> Departamento de Química, Universidad Nacional de San Luis, Chacabuco 915-5700, San Luis, Argentina.

\* E-mail: jangel@luz.edu.ve, jangel63@yahoo.com.

**Abstract**

Dopaminergic neurotransmission plays an important role in central nervous system (CNS) disorders, such as schizophrenia, Parkinson's disease, Tourette's syndrome, tardive dyskinesia and addiction to psychostimulants. Schizophrenia shows an increase in the dopamine levels in the mesolimbic and mesocortical pathways. In the last decades, numerous compounds with antipsychotic activity have been designed, synthesized and pharmacologically assessed, although most of them produce important side effects that affect the patients' quality of life. Compounds (5-7) were designed based on the information obtained from medicinal chemistry and their syntheses were performed from 1-tetralons with o-iodoaniline by means of reaction conditions of unimolecular radical nucleophilic substitution ( $S_{RN}1$ ). Then, with the purpose of determining their antagonist activity at central dopamine receptors, they were pharmacologically assessed by intracerebroventricular (ICV) administration of low doses (100 $\mu$ g/5 $\mu$ l, 10 $\mu$ g/5 $\mu$ l and 1.0 $\mu$ g/5 $\mu$ l) to rats and the recording of the appearance of several stereotyped behaviors. The biological results show that compounds (5-7) act through dopaminergic mechanisms, at least at doses used, without inducing some stereotyped behaviors, such as, gnawing. In addition, they are able to inhibit gnawing induced by apomorphine. Comparative conformational and electronic studies of compounds (4-7), through computational quantum calculations, support the stereoelectronic similarity of those compounds and are in agreement with the obtained pharmacological results.

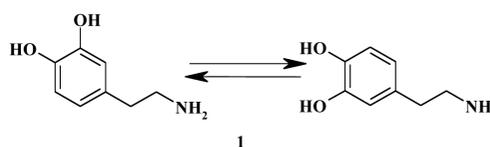
**Keywords:** unimolecular radical nucleophilic substitution ( $S_{RN}1$ ), dopamine receptors, neurotransmitters, quantum calculations, conformational and electronic study.

**Introducción**

Es bien conocido que la dopamina (DA) **1** es un neurotransmisor importante en el sistema nervioso central (SNC), el cual está implicado en la fisiopatología de varios desórdenes neurodegenerativos tales como el mal de Parkinson y otros que incluye daños en el movimiento e hiperactividad, la esquizofrenia, la manía, la depresión, el abuso de sustancias y desórdenes de alimentación. La DA contribuye en el control neurofisiológico de la activación (la alerta, la vigilia y la activación), la atención, la iniciación del movimiento, la percepción, la motivación y la emoción (Zhang y col., 2007). La acción de la dopamina está mediada a través de sus receptores. Los receptores dopaminérgicos han sido extensamente estudiados y gracias a los avances de la biología molecular y los estudios farmacológicos, se han podido identificar cinco subtipos, divididos farmacológicamente en dos clases. La familia de los receptores  $D_1$  consiste en los receptores  $D_1$  y  $D_5$ , mientras que la familia de los  $D_2$  incluye los subtipos  $D_2$ ,  $D_3$  y  $D_4$  (Mach y col., 2001; Haadsma-Svensson y col., 2001). Sin embargo, el total conocimiento del papel fisiológico y farmacológico de estos subtipos ha sido lento y en algunos casos se ha detenido, debido a la ausencia de compuestos selectivos para cada receptor.

La esquizofrenia es una enfermedad mental caracterizada por los episodios de desórdenes en el pensamiento, alucinaciones, decepción o engaños, aislamiento de la sociedad y otros comportamientos extraños. Las drogas clásicas utilizadas para el tratamiento de los desórdenes que surgen por esta enfermedad actúan de forma no selectiva al bloquear los receptores  $D_2$ . Aunque este bloqueo es efectivo para

el tratamiento de estos desórdenes (síntomas positivos: desilusiones, alucinaciones, apatía), aún persiste la búsqueda de nuevos compuestos selectivos para eliminarlos (síntomas negativos: negaciones, daños de atención). El uso crónico de estos compuestos genera los movimientos extrapiramidales y la hiperprolactinemia (Goodman y col., 2003). También se conoce la función de los receptores  $D_3$  y  $D_4$  implicados en la esquizofrenia cuyo antagonismo ha revelado una disminución relevante de los síntomas negativos. Tal es el caso, los receptores  $D_3$  se localizan abundantemente a nivel del sistema límbico y su bloqueo involucra una respuesta antipsicótica con poco riesgo de producir el efecto secundario extrapiramidal (Stemp y col., 2000; Beth y col., 1997; Sokoloff y col 1990; Pugsley y col., 1995). Los agentes clínicamente efectivos, como los antipsicóticos, comparten propiedades como antagonistas de los receptores  $D_2$  y  $D_3$ . Es decir, a dosis terapéuticas ocupan ambos sitios, y sus efectos como antipsicóticos estarían mediados a través del bloqueo selectivo o no selectivo de los mismos ( $D_2$  y/o  $D_3$ ) (Goodman y col., 2003). En relación al receptor  $D_4$ , estos están localizados sobre el sistema dopaminérgico en las áreas que controlan las emociones y el conocimiento. También se han expresado en bajos niveles sobre los ganglios basales, en donde se sugiere que un ligando selectivo sobre el receptor  $D_4$ , sería poco propenso para producir los movimientos extrapiramidales como efectos secundarios.



Basándonos en la búsqueda de nuevos ligandos con propiedades antipsicóticas tomamos como referencia a los compuestos (2) y (3). Estos mostraron alta selectividad hacia el receptor D<sub>4</sub> como antagonistas y aunque exhiben selectividad hacia otros receptores que están acoplados con la proteína G en el sistema nervioso central, también son afines sobre los canales sensibles al voltaje tales como los de sodio, calcio y potasio. Así mismo el compuesto (4) mostró ser más afín y selectivo sobre el receptor D<sub>4</sub> como antagonista, con alta biodisponibilidad oral y con la mejor selectividad sobre los canales iónicos (Collins y col., 1998). Los compuestos (5-7) al ser comparados con los compuestos 2-4 muestran una disposición similar, ya que los anillos bencénicos como los heteroaromáticos son bioisómeros y se encuentran bajo la forma libre (como en los compuestos 2-3) y la forma rígida (compuesto 4). Es importante destacar que los compuestos (5-7) están bajo la forma rígida de manera similar a la mostrada en el compuesto (4). Aunque estos, guardan una similitud isostérica y conformacional con los compuestos (2-4), se diferencian de ellos, por no poseer los sustituyentes 4-piperidínico sustituido o 1-piperazínico sustituido.

A la luz de estas evidencias se sintetizó (Esquema II) nuevamente los indoles fusionados (5-7) con el propósito de realizar una evaluación farmacológica preliminar, a fin de encontrar la actividad antipsicótica que disminuya en lo posible los síntomas negativos. Además realizar el estudio comparativo conformacional y electrónico a través de los cálculos cuánticos computacionales en donde se determina la similitud existente entre los compuestos (4-7) y corroborar la respuesta farmacológica obtenida.

## Materiales y métodos

### SECCIÓN QUÍMICA

Los puntos de fusión no fueron corregidos y se determinaron mediante el uso de un aparato «Thomas Hoover Capillary Meeting Point». Los espectros de resonancia magnética nuclear (RMN) fueron registrados a través de un espectrómetro marca Bruker Avance a 300 MHz para <sup>1</sup>H y de 100 MHz para <sup>13</sup>C siendo reportados en ppm (δ) la señal del TMS como estándar interno a campo bajo. La pureza de todos los compuestos fue determinada por cromatografía de capa fina usando solvente con distinta polaridad. Todos los solventes fueron destilados y secados del modo usual.

### SÍNTESIS DE LOS ÍNDOLES METÓXILADOS (5-7)

En un balón de tres bocas fondo plano y equipa-

do con un agitador magnético y una entrada de nitrógeno N<sub>2</sub>, se mezcló 10 mL de DMSO seco y desgasificado con 0,227g (2,02 mmol) de T-BuO<sup>-</sup>K<sup>+</sup> y 0.352g (20 mmol) de la tetralonas correspondientes (a-c), después de 15 min fue añadido 0,109g (0,50 mmol) *o*-iodoanilina y esta mezcla fue irradiada por 180 min. La reacción fue detenida con un exceso de nitrato de amonio y 60 mL agua. Se extrajo la mezcla con 20 mL CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> cada vez, el extracto orgánico fue lavado con agua y secado con sulfato de sodio. El producto final fue purificado por cromatografía de columna usando como eluyentes éter de petróleo y acetona.

### SÍNTESIS DEL 1-METOXI-5,11-DIHI-DRO-6H-BENZO-(A)-CARBAZOL (5)

Sólido en forma de cristales blancos que presentó un punto de fusión 141-142°C. Señales características de RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) δ: δ 8.13 (s, 1H), 7.55 (d, 1H, J= 7.0 Hz), 7.37-7.33 (m, 1H), 7.25-7.07 (m, 3H), 6.96 (d, 1H, J= 7.7 Hz), 6.79 (d, 1H, J= 8.0 Hz), 3.86 (s, 3H), 3.12-2.90 (m, 4H). Las señales características que presentó este compuesto en el espectro de RMN de <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>) son: δ 157.05, 137.00, 132.95, 129.91, 127.48, 127.02, 124.22, 122.30, 119.83, 118.80, 112.77, 112.58, 111.04, 109.53, 55.57, 21.37, 19.05.

### SÍNTESIS DEL 2-METOXI-5,11-DIHI-DRO-6H-BENZO-(A)-CARBAZOL (6)

Sólido en forma de cristales blancos que presentó un punto de fusión 168-169°C. Señales características de RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) δ: δ 8.05 (br. s, 1H), 7.53-7.59 (cplx. m, 1H), 7.35-7.30 (cplx. m, 1H), 7.22-7.06 (cplx. m, 3H), 6.84 (d, 1H, J= 2.6 Hz), 6.74 (dd, 1H, J= 8.4, 2.6 Hz), 3.8 (s, 3H), 3.07-2.89 (m, 4H). Las señales características obtenidas en el espectro de RMN de <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>) son: δ 158.67, 138.53, 136.78, 127.62, 122.09, 121.77, 120.88, 119.80, 118.37, 114.92, 111.34, 110.93, 110.80, 55,30, 29.99, 19.67.

### SÍNTESIS DEL 3-METOXI-5,11-DIHI-DRO-6H-BENZO-(A)-CARBAZOL (7)

Sólido en forma de cristales blancos que presentó un punto de fusión 126-127 °C. Señales características de RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) δ: δ 8.12 (s, 1H), 7.54 (d, 1H, J= 7.5 Hz), 7.33 (d, 1H J= 7.0 Hz), 7.20-7.07 (m, 3H), 6.86 (d, 1H, J= 2.6 Hz), 6.69 (dd, 1H, J= 8.0, 2.6Hz), 3.82 (s, 3H), 2.94 (s, 2H). Las señales características obtenidas en el espectro de RMN de <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>) son: δ 158.50, 137.00, 132.98, 129.80, 129.13, 128.72,

127.43, 122.39, 119.83, 118.80, 113.25, 111.18, 111.09, 106.49, 55.38, 28.62, 19.91.

#### SECCIÓN FARMACOLÓGICA

**Animales:** se utilizaron ratas machos de la cepa Sprague-Dawley de 250 a 300 g., mantenidas bajo períodos alternativos de luz y oscuridad, con libre acceso al agua y alimento estándar (Ratarina®, Protinal).

**Reactivos:** para las pruebas de estereotipia se utilizó apomorfina HCl (SANDOZ S.A., BASEL, Suiza) disuelta en solución salina, inyectada intraperitonealmente (ip) a una dosis de 1mg/Kg de peso. Los compuestos fueron disueltos en solución isotónica de NaCl e inyectados intracerebroventricular (ICV) (Ángel y col., 2001, 2003, 2004, 2007 y 2008), en un volumen de 5µL y a una velocidad de 5µL/min.

**Metodología:** Cinco días antes del experimento se les implantó a las ratas una cánula metálica en el ventrículo lateral-derecho, bajo anestesia con cilazina (Setton® al 2%) (1mg/Kg, i.p) y relajación con ketamina, según las coordenadas: antero-posterior -0,40 mm del Bregma; 1,2 mm lateral y 3 mm ventral, las cuales fueron establecidas mediante el uso de un aparato estereotáxico. Las cánulas se realizan utilizando jeringas 20G, se sellaron con silicona y se fijaron al cráneo permanentemente mediante cemento plástico utilizado en la fabricación de prótesis odontológicas. Las cánulas tenían un largo inferior a 4 mm, y sirvieron como guía para la introducción de la aguja de inyección (ICV). La inyección ICV se realizó utilizando una inyectora Hamilton de 10µl, provista de un tope para aplicación precisa de los compuestos (Ángel y col., 2001, 2003, 2004, 2007 y 2008). Durante las pruebas se trató de determinar si los compuestos evaluados inducen en las ratas conducta estereotipada, es decir, una actividad motora repetitiva y sin propósito. Las observaciones de esta conducta se realizaron introduciendo el animal en una caja de observación de acrílico transparente con las siguientes dimensiones: 32 x 28 x 28 cm, las conductas evaluadas fueron las siguientes: lamidas, roídas, olfateo y acicalamiento, siendo las roídas el movimiento más significativo. Los datos recolectados se registraron empleando una computadora dotada de un software para contar el número de movimientos estereotipados. Las observaciones se realizaron por 60 minutos, divididos en 10 intervalos de 6 minutos cada uno. Se utilizaron grupos de 4 animales para cada una de las pruebas. Los datos fueron analizados mediante el análisis de variancia (ANOVA) de una y dos vías seguido de la prueba de Newman-Keul. Los resultados fueron expresados como promedio ± ESM.

Antes de la medición de la conducta estereotipada, los animales se introdujeron en la caja de observación y se dejaron por un período de 15 minutos para que se habituaran a la misma. Cada uno de los compuestos sintetizados fue inyectado solo. Los compuestos fueron evaluados de acuerdo con los siguientes criterios: 1) En caso de resultar agonista, el compuesto fue comparado frente al haloperidol (0,2 mg/Kg, i.p.), un antagonista de los receptores dopaminérgicos. Para esto se procede a inyectar el haloperidol 15 minutos antes de la administración (ICV) del compuesto evaluado. 2) En caso de resultar antagonista el compuesto será comparado con apomorfina (1mg/Kg, i.p.), un agonista de los receptores dopaminérgicos. Para ello se procede a inyectar el animal (ICV) con el compuesto evaluado como antagonista y 15 minutos después se administra la apomorfina i.p. Los compuestos (5), (6) y (7) fueron evaluados a las dosis de: 100µg/5µl, 10µg/5µl y 1,0µg/5µl (Figuras 1, 2 y 3, respectivamente).

#### SECCIÓN CUÁNTICA COMPUTACIONAL

Todos los cálculos se realizaron a través del programa de cálculo GAUSSIAN 03 (Frisch y col., 2003). Las estructuras fueron optimizadas mediante cálculos RHF/ 6-31 G (d). El compuesto 4, posee cuatro rotaciones libres, por lo que esta molécula tiene la posibilidad de adoptar distintas conformaciones. Por lo tanto en este caso, se realizó un estudio conformacional preliminar empleando el algoritmo GAS-COS (Santagata y col., 1999, 2000, 2001 y 2001) combinados con cálculos semiempíricos (AM1). Una vez obtenidas las distintas conformaciones, se tomaron las formas preferidas y las mismas fueron optimizadas mediante cálculos RHF/6-31 G (d). El estudio electrónico de las moléculas se realizó mediante la utilización de Potenciales Electroestáticos Moleculares (PEM) a un nivel de cálculo B3LYP/6-31 G (d). PEMs son de gran utilidad porque ellos permiten una visualización y descripción de la capacidad que tendría una molécula para interactuar electrostáticamente con un potencial sitio de unión (North y col., 1999), (Polilzer y col., 1991) y (Carrupt y col., 1991). Los PEMs pueden de este modo, ser interpretados como un patrón farmacofórico que condensa la información sobre las fuerzas electrostáticas involucradas en la formación del complejo ligando-receptor.

#### Resultados y discusión

Para la síntesis de los compuestos (5-7), análogos de indoles fusionados su síntesis se realizó a partir de las 1-tetralonas sustituidas, con la o-iodoanilina mediante las condiciones de la reacción de

sustitución nucleofílica radicalaria unimolecular ( $S_{RN}1$ ) (Rossi y col., 2006) tal como se muestra en el esquema II.

Esta reacción consta de un mecanismo en cadena (Esquema III), formado por los radicales del halogenuro de arilo o alquilo y los aniones radicales. Estos radicales son formados por transferencia electrónica (T.E) (Ec1). Para que un compuesto sufra sustitución por T.E se puede seguir varios métodos como son: los electroquímicos, los térmicos a partir de un agente donador (generalmente es un nucleofílico cargado) o por fotoestimulación en presencia de un nucleófilo. En el caso de los procesos térmicos o fotoestimulados son favorecidos con nucleófilos donadores de electrones y sustratos aceptores de electrones. Después de la T.E ocurre un paso concertado disociativo capaz de proporcionar los radicales y el anión de un grupo saliente (Ec2). Otra posibilidad consiste en la formación del anión radical del sustrato. Este anión radical ( $RX^{\cdot-}$ ) sufre una ruptura en el paso siguiente en  $R^{\cdot}$  y  $X^-$  (Ec2). El radical ( $R^{\cdot}$ ) reacciona con el  $Nu^-$  para dar el intermediario  $RNu^{\cdot-}$  (Ec 3). Finalmente, el proceso genera un compuesto producto de una reacción de sustitución nucleofílica (Ec 4). También existen pasos de terminación y dependen del RX (sustrato) y del  $Nu^-$  (nucleófilo) bajo condiciones experimentales (Rossi y col., 1990).

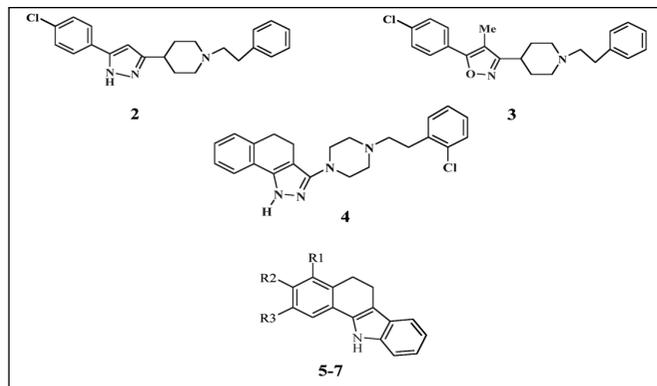
Los resultados farmacológicos demuestran que los compuestos (5-7) actúan a través de mecanismos dopaminérgicos como antagonistas en los ensayos de conducta realizados. Nuestros resultados (Figura 1 y 2) han demostrado que los compuestos (5) y (6) a la dosis de 1, 10 y 100  $\mu\text{g}/5\mu\text{l}$  no inducen el comportamiento estereotipado de lamer por ellos mismos, sin embargo, a la dosis de 10  $\mu\text{g}/5\mu\text{l}$ , cuando se administran conjuntamente con la apomorfina se observa un aumento significativo de esta conducta. En relación a los olfateos, estos compuestos si bien induce olfateos en los animales, esta conducta no es comparable con la inducida por la apomorfina, sin embargo, cuando se administra conjuntamente con apomorfina, disminuye en forma significativa. En relación a los acicalamientos, vemos que esta conducta sólo fue aumentada en forma significativa por el compuesto (5) cuando se administró a la dosis de 100  $\mu\text{g}/5\mu\text{l}$ . La administración simultánea de apomorfina con los compuestos de (5) o (6) no alteró esta conducta. Por último, los compuestos (5) y (6) no ejercen ningún efecto sobre el comportamiento estereotipado roer, pero fueron capaces de bloquear las roídas inducidas por la apomorfina, a la dosis de 10  $\mu\text{g}/5\mu\text{l}$ . Con respecto a la evaluación farmacológica del compuesto (7) tal como se presenta en la Figura 3, a las dosis de 100  $\mu\text{g}/5\mu\text{l}$ , 10  $\mu\text{g}/5\mu\text{l}$  y

1  $\mu\text{g}/5\mu\text{l}$  sobre la conducta estereotipada en ratas y su efecto sobre la estereotipia inducida por la apomorfina, se produce una tendencia similar a la observada para los indoles fusionados (5) y (6). Es decir, el compuesto (7) no induce roídas ni olfateos a ninguna de las dosis probadas. También podemos mencionar que a diferencia de los compuestos anteriores (5 y 6) con respecto a la administración conjunta del compuesto (7) y la apomorfina, no inducen un aumento significativo de esta conducta (roídas).

Los resultados experimentales reportados en el presente estudio demuestran que los compuestos (5), (6) y (7) a las dosis de: 100  $\mu\text{g}/5\mu\text{l}$ , 10  $\mu\text{g}/5\mu\text{l}$  y 1.0  $\mu\text{g}/5\mu\text{l}$  por sí solos, no inducen el comportamiento estereotipado (roer) y son capaces de inhibir las roídas inducidas por la apomorfina, esto demuestra la respuesta antagónica ejercida por estos compuestos a través de la participación de mecanismos centrales dopaminérgicos. Con respecto a las lamidas y los acicalamientos es posible que estos compuestos se estén comportando como antagonistas atípicos en donde podría estar involucrando además de la dopamina la participación de otro neurotransmisor tal como la serotonina. Esto es posible plantearlo ya que se ha reportado que la serotonina juega un papel relevante en la regulación de la neurotransmisión dopaminérgica de tipo inhibitorio a nivel central. Así, el aumento de los niveles de serotonina inhibe la liberación de la dopamina a nivel de los ganglios basales mediante las conexiones axo-axónicas, a través de los receptores  $5HT_{2a}$ . Si el compuesto evaluado además de antagonizar el receptor  $DA_2$ , también ejerce antagonismo de los receptores de la serotonina  $5HT_{2a}$ , como fuera reportado para el compuesto antipsicótico ziprasidona, se observaría un aumento de la neurotransmisión dopaminérgica en el cuerpo estriado y en la corteza pre-frontal, lo cual traería como consecuencia una disminución de los efectos extrapiramidales ocasionados por los antipsicóticos convencionales (Seeger y col., 1995).

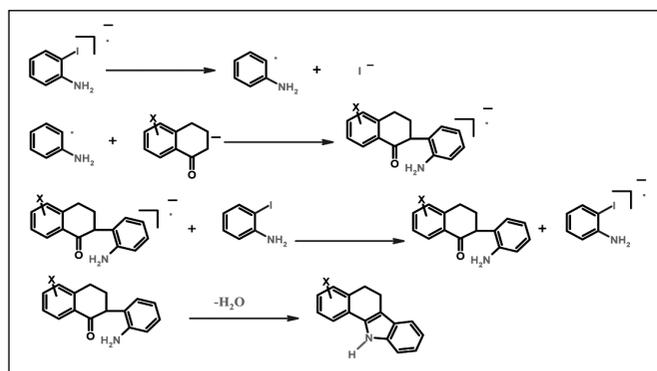
Con el fin de establecer una aproximación química medicinal acerca del diseño y la evaluación farmacológica preliminar de estos nóveles compuestos, fue necesario realizar un estudio conformacional y electrónico a nivel computacional. Tal como fuera señalado anteriormente, los compuestos (5-7) fueron sintetizados y evaluados como antagonistas dopaminérgicos sobre la base de la similitud estructural entre los compuestos y los núcleos base de conocidos antagonistas del receptor  $D_4$  de la dopamina. La pregunta que surge es: ¿existe realmente una similitud estereoeléctrica entre el compuesto (4) y las moléculas sintetizadas y evaluadas en este trabajo? En

caso afirmativo, ¿es posible pensar que estos compuestos actuarían por un mecanismo molecular similar a aquel del compuesto (4)? Si bien al solo observar y comparar estos núcleos base parecería que existe una similitud aparente (Esquema I), está claro que una forma más directa de evaluar esta potencial similitud es calcular las propiedades conformacionales y electrónicas de estos compuestos y luego compararlas.

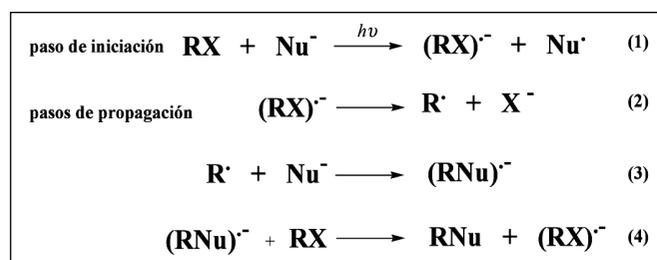


Compuesto	R-1	R-2	R-3
5	-OMe	-H	-H
6	-H	-OMe	-H
7	-H	-H	-OMe

Esquema I. Comparación estructural entre los compuestos (2-4) con los indoles fusionados (5-7).



Esquema II. Ruta de síntesis de los indoles metóxicos (5-7).



Esquema III. Mecanismo de reacción de la SRN1.

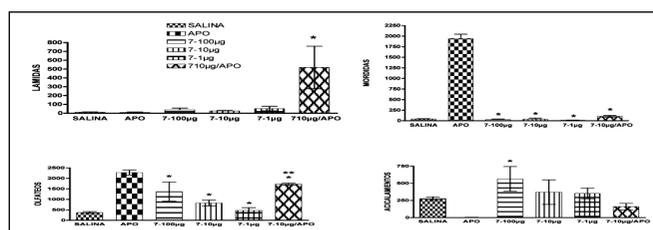


Figura 1. Efecto del compuesto 7 a las dosis de 100-10-1 mg/5ml sobre la conducta estereotipada en ratas y su efecto sobre la estereotipia inducida por apomorfina en las ordenadas, la sumatoria de las conductas medidas. En las abscisas, los compuestos evaluados. Las observaciones se expresaron como promedio  $\pm$  ESM de cuatro mediciones independientes. Los datos fueron analizados mediante el análisis de variancia (ANOVA) de una y dos vías seguida de la prueba de Newman Keul. \* $P < 0.0001$ , comparado con apomorfina (APO). \*\*  $P < 0.0001$ , comparado con salina.

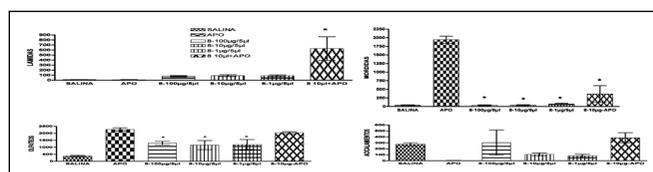


Figura 2. Efecto del compuesto 8 a las dosis de 100-10-1 mg/5ml sobre la conducta estereotipada en ratas y su efecto sobre la estereotipia inducida por apomorfina. En las ordenadas, la sumatoria de las conductas medidas. En las abscisas, los compuestos evaluados. Las observaciones se expresaron como promedio  $\pm$  ESM de cuatro mediciones independientes. Los datos fueron analizados mediante el análisis de variancia (ANOVA) de una y dos vías seguida de la prueba de Newman Keul. \* $P < 0.0001$ , comparado con apomorfina (APO). \*\*  $P < 0.0001$ , comparado con salina.

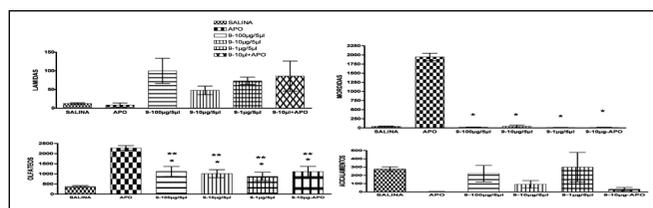
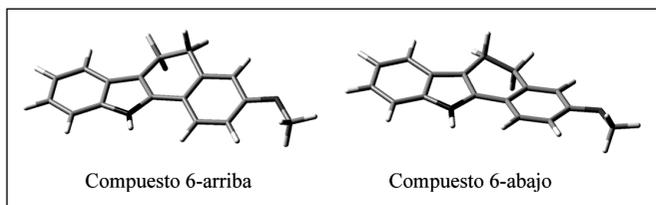


Figura 3. Efecto del compuesto 9 a las dosis de 100-10-1 mg/5ml sobre la conducta estereotipada en ratas y su efecto sobre la estereotipia inducida por apomorfina. En las ordenadas, la sumatoria de las conductas medidas. En las abscisas, los compuestos evaluados. Las observaciones se expresaron como promedio  $\pm$  ESM de cuatro mediciones independientes. Los datos fueron analizados mediante el análisis de variancia (ANOVA) de una y dos vías seguida de la prueba de Newman Keul. \* $P < 0.0001$ , comparado con apomorfina (APO); \*\*\* $P < 0.0001$ , comparado con salina.

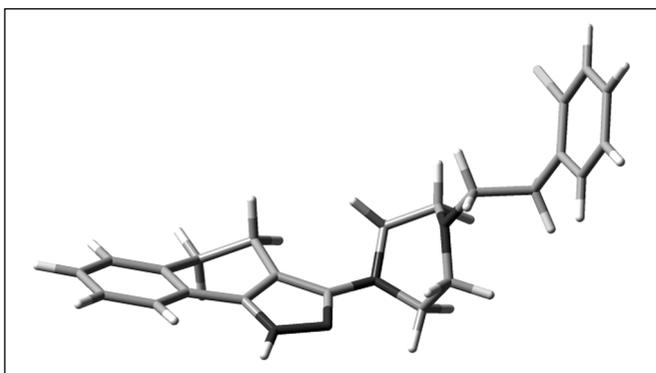
El reconocimiento molecular, y el concepto de especificidad (Sarai, 1989), muchas veces puede ser explicado, en términos mecanísticos y también reduccionista, como una «complementariedad» entre el ligando y el receptor (North y col., 1989). En este sentido, la comparación de las características estereoelectrónicas de los compuestos (5-7) con los del compuesto (4) resultaría de gran ayuda para determinar un posible patrón farmacofórico de estos compuestos y de este modo, entender mejor los resultados experimentales obtenidos.

El estudio conformacional de los compuestos (5-7) es relativamente simple ya que estas moléculas son bastante rígidas y el único cambio conformacional que se daría en estos compuestos es el que estaría dado por la interconversión «arriba» o «abajo» del anillo B (Figura 4). El estudio teórico de este cambio conformacional realizado a un nivel de cálculo HF/6-31G (d) mostró que tanto la conformación del anillo B «arriba» o «abajo» tienen el mismo valor de energía y corresponden a los dos conformeros energéticamente preferidos de estas moléculas.

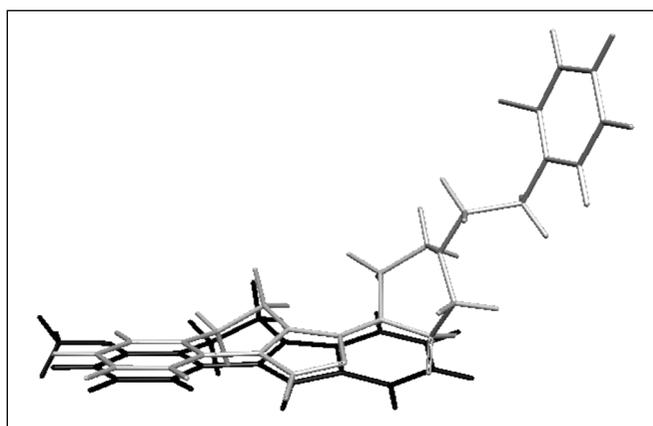


**Figura 4.** Vista espacial de las conformaciones arriba y abajo del compuesto 4.

El compuesto (4) en cambio, posee cuatro rotaciones libres, los ángulos torsionales  $\theta_1 - \theta_4$ , dando lugar teóricamente a 81 conformaciones posibles siguiendo las reglas de predicción del Análisis Conformacional Multi Dimensional (ACMD) (paper flaco). Por lo tanto, para esta molécula se realizó un estudio conformacional exploratorio empleando el algoritmo GASCOS (Santagata y col., 1999, 2000, 2001 y 2001) combinado con cálculos semiempíricos AM1. Este estudio conformacional arrojó como resultado que el compuesto (4) presenta una marcada flexibilidad molecular dando conformaciones, extendidas, semi-extendidas y semi-plegadas. El total de conformaciones obtenidas fueron 5, siendo una conformación semi-extendida la de mínima energía (Figura 5). Una vez obtenidas las conformaciones energéticamente preferidas de estos compuestos, es interesante compararlas entre sí para ver similitudes y diferencias. La Figura 6 muestra una vista espacial de la superposición de las conformaciones preferidas

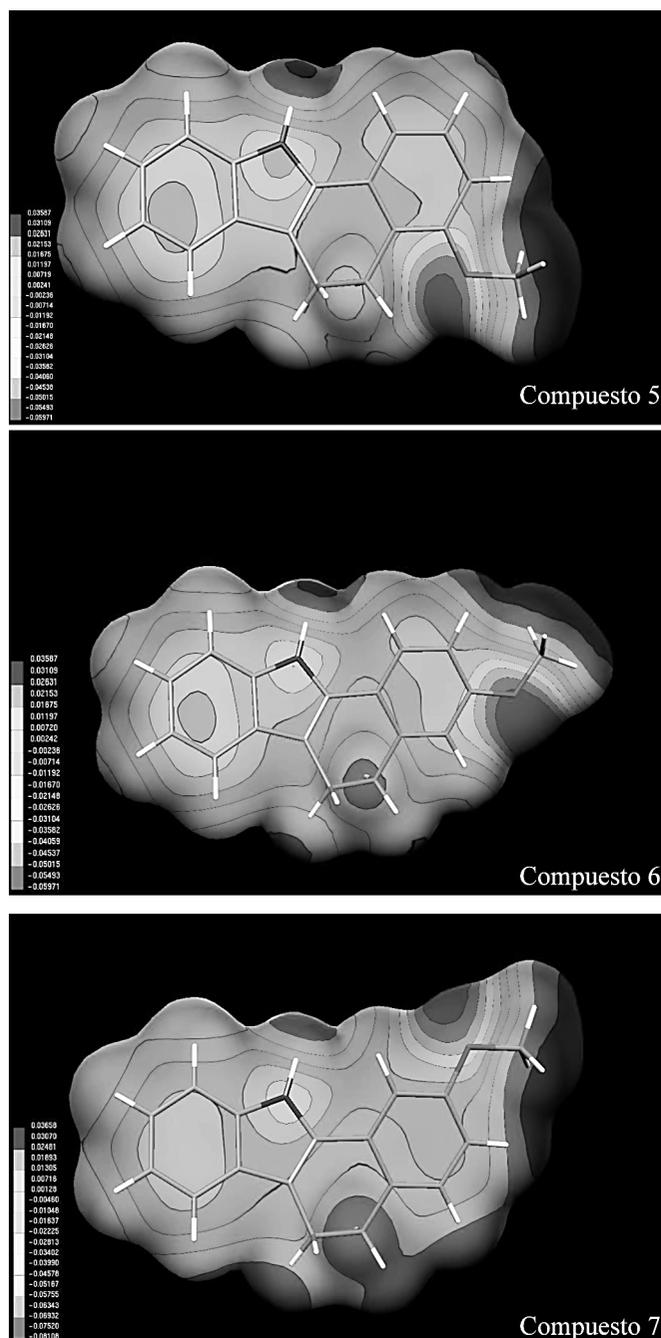


**Figura 5.** Vista espacial de la conformación de mínima energía del compuesto (4).



**Figura 6.** Vista espacial de la superposición de los compuestos (4) (gris) y (5) (negro).

de los compuestos (4) y (5). Tal como puede observarse en esta figura existe una muy buena superposición entre los núcleos base de estos compuestos. Sin embargo es evidente que no hay una completa superposición conformacional entre el compuesto (4) (indicado en gris) con el indol fusionado (5). Esto se debe a que el compuesto (4) posee un anillo conectado al núcleo base mediante una cadena flexible que no poseen los compuestos (5-7). En esta etapa de nuestro estudio, resultaba necesario comparar los aspectos electrónicos de estas moléculas. En general las fuerzas intermoleculares que están involucradas en la afinidad y especificidad pueden clasificarse esquemáticamente en fuerzas hidrofóbicas y fuerzas electrostáticas. Por lo tanto, las PEMs pueden resultar de gran valor ya que ellos permiten visualizar y determinar la capacidad de una molécula para interactuar electrostáticamente con un determinado sitio de unión (Politzer y col., 1991), (Carrupt y col., 1991) y (Greeling y col., 1996). Si interpretamos estos PEMs en términos de un «Farmacóforo estereo-electrónico», el cual en cierto modo está condensando toda la información disponible sobre las fuerzas electrostáticas que determinan la afinidad por el supuesto receptor, podemos decir que los compuestos (5), (6) y (7) muestran similitudes entre sí en los PEMs. El análisis de estos PEMs nos indica que hay tres zonas características en estos compuestos. Una zona de densidad de carga positiva de color azul ubicada sobre el nitrógeno del anillo C el cual podría ser un posible sitio de unión con una densidad de carga negativa en el receptor  $D_4$ , mientras que la segunda zona de densidad de carga positiva corresponde al grupo metilo del metoxilo (-O-CH<sub>3</sub>). Puede observarse que la segunda zona difiere de un compuesto a otro dependiendo en la posición que se encuentre el grupo metoxilo. La única zona electronegativa de estos PEMs corresponde a los pares aislados de los átomos oxígenos de los grupos metoxilo. Por último



**Figura 7.** Potenciales electrostáticos moleculares obtenidos para los compuestos 5, 6 y 7. Las superficies fueron obtenidas con el programa Gaussian 03 a partir de cálculos B3LYP/6-31 G (d). Los colores rojos indican la mayor atracción a una carga positiva puntual y los azules la mayor repulsión. El potencial representa una medida de la distribución de carga de toda la molécula.

se puede destacar una extensa zona hidrofóbica de color verde en el anillo D de cada una de estas moléculas, que podría dar lugar a interacciones tipo hidrofóbicas con su receptor. Sobre la base de los resultados obtenidos y en función de la similitud estereoeléctrica encontrada entre los núcleos básicos del compuesto (4) con los compuestos (5-7), es posible pensar que estos compuestos estén interactuando sobre el sistema dopaminérgico central.

## Conclusiones

Los resultados obtenidos a partir del diseño, síntesis y evaluación farmacológica de estos compuestos, en donde se planteó la incorporación de un nuevo anillo aromático en los compuestos (5-7) y la supresión del sustituyente 4-piperidinico sustituido o 1-piperazinico sustituido, como se muestran en los compuestos (2-4), nos permite desarrollar una aproximación químico medicinal más acertadas que apunta al desarrollo de noveles núcleos con actividad dopaminérgica central.

## Agradecimientos

Este trabajo fue subvencionado por las siguientes instituciones: LUZ-ONCTI N° LO-003-08 (Pescamarca), Condes-LUZ Grant N° 0158-06 and FONACIT-Venezuela. FUNDADESARROLLO-LUZ-Venezuela (Lic. María Matilde Ramírez - Becario Académico).

La colaboración de la República Argentina a través de; a- Financiamiento de la UNSL. Sebastián A. Andujar Becario del CONICET-Argentina., Dr. Ricardo D. Enriz (miembro del CONICET) b- Por ACC, CONICET, SECYT-UNC y ANPCyT. Natividad Herrera Cano Becaria del CONICET-Argentina y Dra. Ana Santiago UNC-Argentina.

## Referencias bibliográficas

- Ángel Guío JE. 2001. Diseño, síntesis, estudio teórico y evaluación farmacológica de compuestos con actividad dopaminérgica. *Arch Venezol Farmacol Terap* 20: 86-90.
- Ángel Guío JE, Rodríguez LJ, Medina Y, Suárez-Roca H, Migliore de Ángel B, Israel A, Charris JE, López SE, Caldera JA. 2003. Conformational theoretical study of substituted and non-substituted N-aralkyl-2-aminoin-dans and its relation with dopaminergic activity. *Theo-chem* 636: 1-8.
- Ángel Guío JE, Charris JE, Israel A, Migliore de Ángel B, Suárez-Roca H, Garrido MR, López SE, Díaz E, Ferrer R, Michelena de Báez E, Rodríguez LJ, Silva J, Moronta A, Espinoza G, Quintero L. 2004. Perfil dopaminérgico del compuesto 2-aminoindano-N-aralkil sustituido. *Arc Venezol Terap Farmacol* 23: 136-142.
- Ángel Guío JE, Cabrera EV, Migliore de Ángel B, Suárez-Roca H, Charris JE, Rossi R, Santiago A, López S, Ramírez MM, Hernández V, Morales M. 2007. Síntesis del N-aralkilamino-metiladamantano con posible actividad dopaminérgica central. *Revista de la Facultad de Farmacia, de la UCV.* 70, (2), 43-49.
- Andujar SA, Migliore de Ángel B, Charris JE, Israel A, Suárez-Roca H, López SE, Garrido MR, Cabrera EV, Visual G, Rosales C, Suvire FD, Enriz RD, Ángel-Guío JE.

2008. Synthesis, Dopaminergic profile and Molecular Dynamics Calculations of *N*-Aralkyl substituted 2-aminoindans. *Biorg Med Chem* 16: 3233-3244.
- Barolo SM, Rosales C, Ángel Guío JE, Rossi RA. 2006. One Pot Síntesis of Substituted Dihydroindeno (1,2-*b*)indoles and Dihydrobenzo (a)carbazoles by Photostimulated Reactions of *o*-Iodoaniline with Carbanions by  $S_{RN}1$  mechanism. *J Heterocyclic Chem* 43: 695-699.
- Beth L. 1997. The  $D_3$  Dopamine Receptor: Neurobiology and Potential Clinical Relevant. *Pharmacol Rev* 49: 231-252.
- Carrupt PA, El Tayar N, Karlé A, Festa B. 1991. Molecular Electrostatic Potentials for Characterizing Drug-Bio-system Interactions. *Method Enzymol* 202: 638.
- Collins I, Rowley M, Davey WB, Emms F, Marwood R, Patel S, Fletcher A, Ragan IC, Leeson PD, Scott AL, Broten T. 1998. *Biorg Med Chem* 6: 743-753.
- Frisch MJ, Trucks GW, Schlegel HB, Scuseria GE, Robb MA, Cheeseman JR, Montgomery JA Jr, Vreven T, Kudin KN, Burant JC, Millam JM, Iyengar SS, Tomasi J, Barone V, Mennucci B, Cossi M, Scalmani G, Rega N, Petersson GA, Nakatsuji H, Hada M, Ehara M, Toyota K, Fukuda R, Hasegawa J, Ishida M, Nakajima T, Honda Y, Kitao O, Nakai H, Klene M, Li X, Knox JE, Hratchian HP, Cross JB, Adamo C, Jaramillo J, Gomperts R, Stratmann RE, Yazyev O, Austin AJ, Cammi R, Pomelli C, Ochterski JW, Ayala PY, Morokuma K, Voth GA, Salvador P, Dannenberg JJ, Zakrzewski VG, Dapprich S, Daniels AD, Strain MC, Farkas O, Malick DK, Rabuck AD, Raghavachari K, Foresman JB, Ortiz JV, Cui Q, Baboul AG, Clifford S, Cioslowski J, Stefanov BB, Liu G, Liashenko A, Piskorz P, Komaromi I, Martin RL, Fox DJ, Keith T, Al-Laham MA, Peng CY, Nanayakkara A, Challacombe M, Gill PMW, Johnson B, Chen W, Wong MW, González C, Pople JA, Gaussian 03, Revision B.05 2003, Gaussian, Inc., Pittsburgh PA.
- Goodman LS, Gilman A, Cedar-baum JM, Schleiffer LS. 2003. Bases farmacológicas de la terapéutica. Editorial Médica Panamericana. Decima edición: 541-547.
- Greeling P, Langenaeker W, De Proft F, Baeten A. 1996. In *Molecular Electrostatic Potentials: Concepts and Applications. Theoretical and Computational Chemistry*; Elsevier Science B.V.: Amsterdam, Vol. 3: 587-617.
- Haadsma-Svensson SR, Cleek KA, Dinh DM, Duncan JN. 2001. Dopamine  $D_3$  Antagonists. 1. Synthesis and Structure-Activity Relationships of 5,6-Dimethoxy-*N*-alkyl- and *N*-Alkylaryl-Substituted 2-Aminoindans. *J Med Chem* 44: 4716-4732.
- Mach H, Yunsheng H, Luedtke RR, Freeman R, Wu L. 2001. Synthesis and Structure-Activity Relationships of Naphthamides as Dopamine  $D_3$  Receptor Ligands. *J Med Chem* 44: 1815-1826.
- North ACT. 1989. Applications of molecular graphics for the study of recognition. *J Mol Graph* 7: 67-70.
- Politzer P, Truhlar DG. 1991. *Chemical Applications of Atomic and Molecular Electrostatic Potentials*; Plenum Publishing: New York.
- Pugsley TA, Davis MD, Akunne HC, MacKenzie RG, Shih YH. 1995. Neurochemical and functional characterization of the preferentially selective dopamine  $D_3$  agonist PD 1289070. *J Pharmacol Exp Ther* 275: 1355-1366.
- Santagata LN, Suvire FD, Enriz RD, Torday JL, Csizmadia IGJ. 1999. Analysis of dielectric properties of cytosine in aqueous solution. *Mol Struct (Theochem)* 465: 33-67.
- Santagata LN, Suvire FD, Enriz RDJ. 2000. Conformational analysis of  $\alpha$ -trifluoroalanine: a theoretical study. *Mol Struct (Theochem)* 507: 89-95.
- Santagata LN, Suvire FD, Enriz RDJ. 2001. Partially relaxed ring closure conditions for geometrical algorithm to search the conformational space for minimum energy conformation. *Mol Struct (Theochem)* 536: 173-188.
- Santagata LN, Suvire FD, Enriz RDJ. 2001. A matrix representation for the geometrical algorithm to search the conformational space (GASCOS) for flexible linear molecules. *Mol Struct (Theochem)* 571: 91-98.
- Sarai AJ. 1989. Molecular recognition and information gain. *Theor. Biol.* 140: 137.
- Seeger TF, Seymour PA, Schmidt AW, Zorn SH, Schulz DW, Lebel LA, McLean S, Guanowsky V, Howard HR, Lowe JA. 1995. Ziprasidone (CP-88,059): a new antipsychotic with combined dopamine and serotonin receptor antagonist activity. *J Pharmacol Exp Ther* 275 (1): 101-113.
- Sokoloff P, Giros B, Martres MP, Bouthenet ML, Schwartz JC. 1990. Molecular cloning and characterization of a novel dopamine receptor ( $D_3$ ) as a target for neuroleptics. *Nature* 347: 146-151.
- Stemp G, Ashmeade T, Branch CL, Hadley MS, Hunter AJ. 2000. Design and Synthesis of *trans-N*-(4-(2-(6-Cyano-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-2-yl)ethyl)cyclohexyl)-4-quinolinecarboxamide (SB-277011): A potent and selective Dopamine  $D_3$  Receptor Antagonist with High Oral Bioavailability and CNS Penetration in the Rat. *J Med Chem* 43: 1878-1885.
- Rossi RA, Pierini AB, Palacios SM. 1990. Nucleophilic Substitution by the  $S_{RN}1$  Mechanism on Alkyl Halides. *Adv Free Rad Chem* 1: 193.
- Zhang AO, Neumeyer JL, Baldessarini RJ. 2007. Recent Progress in Development of Dopamine Receptor Subtype-Selective Agents: Potential Therapeutics for Neurological and Psychiatric Disorders. *Chem Rev* 107: 274-302.

Recibido: 6 de octubre de 2009  
Aceptado: 30 de octubre de 2009