
Efecto del compuesto N-2,6-dicloro-aralquil-2-Aminoindano en la conducta estereotipada de ratas. Acción dopaminérgica selectiva central sobre los ganglios basales más que en las estructuras límbicas.

Marienny del V. Velásquez¹, Alexander E. Albarracín¹, Kelvin Boscán¹, Ligia B. Ángel¹, Rodolfo E. Izquierdo¹, María M. Ramírez¹, Biagina del C. Migliore¹, Jaime E. Charris², María del R. Garrido³, Anita Israel³, Simón E. López⁴ y Jorge E. Ángel¹

¹Laboratorio de Síntesis Orgánica, Diseño y Evaluación Farmacológica de Nuevos Productos. Departamento de Química, Facultad Experimental de Ciencias, Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela.

²Laboratorio de Síntesis Orgánica, Facultad de Farmacia, Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela.

³Laboratorio de Neuropéptidos, Facultad de Farmacia, Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela.

⁴Department of Chemistry, University of Florida, Gainesville, Florida, USA.

Palabras clave: profármaco; enfermedad de Parkinson; enfermedades neurodegenerativas.

Resumen. La dopamina 1, está implicada en trastornos neurodegenerativos que afectan al sistema nervioso central (SNC) tales como la enfermedad de Parkinson, entre otros. Aunque no se dispone aún de ningún fármaco capaz de prevenir, detener o curar la progresión de estas enfermedades, son numerosos los compuestos que han sido diseñados, sintetizados y evaluados farmacológicamente, que han aportado las generalizaciones farmacofóricas del receptor dopaminérgico, necesarias para la búsqueda de un fármaco capaz de mejorar o curar estas patologías. Los derivados 2-aminoindano-N-aralquílicos han mostrado tener actividad selectiva en el sistema dopaminérgico central, de modo tal que los compuestos clorhidratos de N-[(2,4-diclorofenil)-1-metil-etil]-2-aminoindano **2** y N-[(3,4-diclorofenil)-1-metil-etil]-2-aminoindano **3** demostraron tener actividad agonística mediada por mecanismos dopaminérgicos centrales. Con el propósito de contribuir en la búsqueda de nuevos fármacos que permitan restablecer la homeostasis de la transmisión dopaminérgica en la enfermedad de Parkinson, el compuesto N-2,6-dicloro-aralquil-2-aminoindano **4** fue diseñado a través de estrategias de la química medicinal, que contienen las

aproximaciones farmacofóricas de los profármacos. La evaluación farmacológica del compuesto 4, en la conducta estereotipada en ratas macho de la cepa Sprague Dawley, demostró tener actividad agonística a través de la activación de los mecanismos dopaminérgicos centrales y mostró mayor selectividad en las respuestas de conductas estereotipadas propias de los ganglios basales sobre las respuestas conductuales propias de las estructuras límbicas.

Effect of the compound N-2,6-dichloro-aralkyl-2-aminoindane on the stereotyped behavior of rats. Selective action on the central dopaminergic system in the basal ganglia over limbic structures

Invest Clin 2023; 64 (1): 15 – 27

Keywords: prodrug; Parkinson's disease; neurodegenerative disorders.

Abstract. Dopamine 1 is involved in neurodegenerative disorders affecting the central nervous system (CNS), such as Parkinson's disease. Despite the absence of some available drugs capable of preventing, stopping or curing the progression of such diseases, there are numerous compounds designed, synthesized, and pharmacologically tested which give rise to pharmacophoric generalizations about the dopaminergic receptor required for the search of a drug able to improve or cure those pathologies. *N*-aralkyl-2-aminoindane derivatives have shown selective activity in the central dopaminergic system. Both the *N*-[(2,4-dichlorophenyl)-1-methyl-ethyl]-2-aminoindane hydrochloride 2 and *N*-[(3,4-dichlorophenyl)-1-methyl-ethyl]-2-aminoindane hydrochloride 3 showed an agonistic activity mediated by central dopaminergic mechanisms. To contribute to the search of new drugs able to re-establish homeostasis in the dopaminergic transmission in Parkinson's disease, the compound *N*-2,6-dichloro-aralkyl-2-aminoindane 4 was designed through medicinal chemistry strategies that contain pharmacophoric approximations of prodrugs. The pharmacological evaluation of compound 4 in the stereotyped behavior of male Sprague Dawley rats showed agonistic activity through the activation of central dopaminergic mechanisms and a higher selectivity in the responses of stereotyped behavior characteristic of the basal ganglia over the typical responses from limbic structures.

Recibido: 02-05-2022

Aceptado: 25-09-2022

INTRODUCCIÓN

La dopamina (DA) 1 como neurotransmisor, juega un papel importante en las diversas funciones vitales en el sistema nervioso central tales como la actividad motora,

la alimentación, el afecto, la recompensa, el sueño, la atención, la memoria, el aprendizaje, el humor y la habilidad para experimentar placer (Fig. 1). El mal funcionamiento de la transmisión dopaminérgica en la sustancia negra, el cuerpo estriado y en el

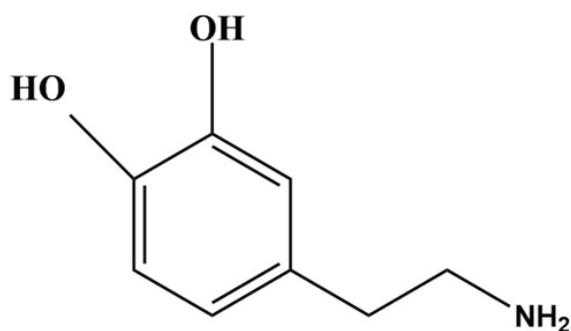


Fig. 1. Dopamina (DA) 1.

sistema límbico, de forma directa o indirecta, están implicados en diversos trastornos neurodegenerativos y neuropsiquiátricos ^{1,2}. Entre las enfermedades neurodegenerativas encontramos la Enfermedad de Parkinson (EP). La terapéutica actual de esta patología, consiste en reponer los niveles de dopamina en el núcleo estriado con la administración de la levodopa y/ bloqueantes de la acetilcolina; también se administran agonistas de los receptores de la dopamina. A pesar de que el tratamiento con levodopa y otros fármacos antiparkinsonianos, permite que los pacientes presenten mejoría clínica con beneficios máximos del medicamento, su eficacia disminuye con el tiempo; o bien su uso prolongado produce efectos indeseables en el paciente, lo que incide en la suspensión de dichos fármacos ³⁻⁵. Por otra parte, el tratamiento quirúrgico es de alcance limitado para pacientes con síntomas no controlables o disquinesias en etapas tardías, además, en su mayoría aún se encuentra en fase experimental ^{6,7}.

La acción de la DA está mediada a través de sus receptores divididos farmacológicamente en dos clases, los D_1 y los D_2 . A la familia de los receptores D_1 pertenecen los subtipos D_1 y D_5 , mientras que la familia de los D_2 incluye los subtipos D_2 , D_3 y D_4 ^{8,9}. Los receptores dopaminérgicos pertenecen a la gran familia de receptores acoplados a la proteína G. La unión de la dopamina a sus receptores conduce el acoplamiento con las diferentes proteínas G, esto lleva a la pro-

ducción de múltiples moléculas de señalización celular, tales como las quinasas y las fosfatasa. En este sentido, la activación de los receptores dopaminérgicos acoplados a proteínas G, genera la rápida fosforilación por parte de las proteínas quinasas involucradas y permite el reclutamiento de las proteínas multifuncionales de soporte llamadas “beta-arrestina 1” y “beta-arrestina 2” (β_{Arr1} y β_{Arr2}). La función de estas proteínas consiste en desensibilizar e internalizar al receptor acoplado a la proteína G ¹⁰.

Es decir que cuando la dopamina interactúa sobre sus receptores D_1 y D_2 , activa tanto vías de señalización dependientes de proteínas G como rutas de señalización dependientes de las arrestinas, las cuáles, regulan varias de las funciones dopaminérgicas entre ellas el movimiento. Al desplazar el balance de la señalización del receptor dopaminérgico hacia la ruta de la β -arrestina 2, es posible inducir un movimiento normal y reducir las diskinesias. Cuando ocurre el reclutamiento de la β -arrestina 2 no sólo desensibiliza la señalización de la proteína G sino que también activa una vía de señalización adicional e independiente de las proteínas G para inducir los efectos locomotores normales. De acuerdo a esto, se sugiere que los efectos secundarios de los agonistas dopaminérgicos en los tratamientos de la EP pueden ser disminuidos, al inhibir o reducir la vía de activación de proteínas G, y permitir la activación selectiva de la vía de señalización para los receptores acoplados a la proteína G (GPCRs). Para ello se ha propuesto el desarrollo de agonistas dopaminérgicos de acción dual hacia los receptores D_1 y D_2 , a fin lograr una óptima respuesta motora, libre de movimientos anormales generados por la acción de los agonistas tradicionales en el tratamiento de la enfermedad de Parkinson ¹¹.

Los derivados del 2-aminoindano-N-aralquílicos han mostrado tener actividad sobre el sistema dopaminérgico central, al inducir respuestas conductuales estereotipadas propias de los receptores D_1 y D_2 ,

ubicados en el sistema límbico y los ganglios basales¹²⁻²⁰. Anteriormente habíamos reportado, que los compuestos clorhidratos del N-[(2,4-diclorofenil)-1-metil-etil]-2-aminoindano **2** y N-[(3,4-diclorofenil)-1-metil-etil]-2-aminoindano **3** (Fig. 2) mostraron actividad agonística a través de mecanismos dopaminérgicos centrales en los estudios farmacológicos *in vivo*, con ratas de la cepa Sprague Dawley²⁰.

En el presente manuscrito se presenta el estudio farmacológico del compuesto clorhidrato de N-[(2,6-diclorofenil)-1-metil-etil]-2-aminoindano **4**, con el propósito de contribuir en la búsqueda de nuevos fármacos capaces de restablecer la homeostasis de la transmisión dopaminérgica en la EP y con una significativa disminución de los efectos secundarios.

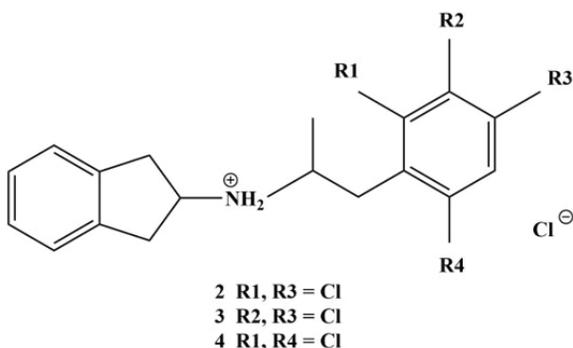


Fig. 2. Compuestos 2, 3 y 4.

MATERIAL Y MÉTODOS

El compuesto **4** fue obtenido de acuerdo a la estrategia sintética experimental publicada previamente por nosotros, y su diseño se fundamentó con las aproximaciones farmacofóricas de los profármacos con actividad dopaminérgica²⁰.

Sección farmacológica

Se utilizaron ratas macho 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). Cinco días antes del experimento, a cada rata se le implantó 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 cánulas empleadas como guía para la introducción de la aguja de inyección intracerebroventricular (ICV) se fabricaron utilizando agujas 20G con un largo inferior a 4 mm, selladas con silicona y fijadas al cráneo permanentemente con cemento acrílico. La inyección ICV se realizó utilizando una inyectora Hamilton de 10μL provista de un tope para aplicación precisa de los compuestos.

Protocolo para la evaluación de la conducta estereotipada

La conducta estereotipada, definida como una actividad motora repetitiva y sin propósito²¹, se evaluó mediante observación, para lo cual se colocó cada animal dentro de una caja de acrílico transparente con las siguientes dimensiones: 32x28x28 cm., con un periodo previo de 15 minutos de habituación. Las observaciones se realizaron durante 60 minutos, divididos en 10 intervalos de 6 minutos cada uno. Para cada una de las pruebas, se utilizaron grupos de cuatro animales y las conductas evaluadas fueron: lamidas, roídas, olfateos y acicalamientos. Los datos recolectados se registraron empleando una computadora dotada de un software para contar el número de movimientos estereotipados.

Protocolo de administración de los compuestos evaluados

El compuesto **4** fue disuelto en solución salina fisiológica y se administró vía ICV en un volumen de inyección de 5μL, a la dosis de 50μg/5μL. Como control se utilizó solución salina (5μL). Se emplearon cuatro animales por cada grupo experimental. Todos los pretratamientos fueron realizados por vía intraperitoneal, 15 minutos antes de la

administración ICV del compuesto 4 o de solución salina, y fueron los siguientes: 1. Haloperidol (1mg/Kg) (Haldol 50mg/mL, solución inyectable, Janssen Pharmaceuticals, Inc), antagonista de los receptores dopaminérgicos; 2. Ziprasidona (1mg/ Kg) (GeodonR, Laboratorios Pfizer), antipsicótico atípico; 3. Bupiriona (1mg/Kg) (Clorhidrato de bupiriona, Buspar, comprimidos de 20 mg, Dalpas®, Biotech Laboratorios), un agonista parcial de los receptores de serotonina (5HT1a) y antagonista de los receptores D₂; 4. Apomorfina (1mg/Kg) (APO-go PEN 10 mg/mL, solución inyectable), agonista dopaminérgico D₁-D₂¹²⁻²⁰. Cabe señalar que los compuestos se inyectaron por la vía ICV, ya que ello permite: 1) atravesar la barrera hemato-encefálica, la cual impide la entrada de ciertos tipos de compuestos, especialmente polares, al cerebro; 2) reducir las dosis y consecuentemente disminuir la cantidad de compuestos que necesitan ser sintetizados para las pruebas biológicas.

Protocolo de la denervación dopaminérgica central

A un grupo de ratas canuladas ICV se le realizó una lesión con 6-hidroxidopamina (6-OHDA) (Sigma Aldrich, Saint Louis, MO) (112 mM, pH=7,4). Para ello se inyectó la solución neurotóxica en el ventrículo lateral derecho a una dosis de 200 µg/5µL, 48 y 72 h previas a la administración-ICV del compuesto 4 (50µg/5µL, n=4). Como control se usó solución salina (5µL, n=4).

Análisis estadístico

Los resultados fueron expresados como la media ± E.E.M. Los datos fueron evaluados mediante el análisis de varianza de una y dos vías (ANOVA) y la prueba de Newman-Keuls²². Un valor de p<0,05 fue considerado significativo. El análisis de los resultados y la elaboración de los gráficos se realizaron empleando el programa GraphPad Prism versión 5.1.

RESULTADOS

Efecto del compuesto 4 administrado por vía ICV sobre la conducta estereotipada en ratas. Efecto del pretratamiento con haloperidol, bupiriona y ziprasidona.

La posible participación del compuesto 4 sobre el sistema dopaminérgico central está avalada por los resultados farmacológicos que se presentan en la Fig. 3, cuando se administró vía ICV, bajo la dosis de 50µg/5µL. Observamos que el mismo, ejerció aumentos significativos en las cuatro conductas estereotipadas evaluadas, siendo éstas bloqueadas por el pretratamiento del antipsicótico típico, haloperidol. En cuanto al pre-tratamiento con ziprasidona se observaron, incrementos significativos en las lamidas y en los acicalamientos, en contraste a las dos conductas basales, roídas y olfateos. Cuando se realizó la denervación presináptica vía ICV con la neurotoxina 6-OHDA, sólo aumentó significativamente la conducta de olfateos, mientras que las lamidas, los acicalamientos y las roídas disminuyeron de manera significativa, comparadas con las ratas no denervadas. También se observó el bloqueo de las cuatro conductas evaluadas en el pretratamiento con la bupiriona a las dosis de 50µg/5µL y 5µg/5µL, respectivamente.

DISCUSIÓN

La evaluación farmacológica realizada sobre el compuesto de estudio, se basó en el cambio que este ejerce sobre las conductas estereotipadas en las ratas de experimentación "Sprague- Dawley", después de la administración intracerebroventricular. La estereotipia consiste en un comportamiento excesivo y repetitivo siendo el principal componente de varios desórdenes psiquiátricos, incluidos el autismo infantil y la esquizofrenia²³⁻²⁵. Se ha establecido que la estereotipia (olfateos y roídas) es un comportamiento dependiente de la dopamina, que se debe a las proyecciones dopaminérgicas de la región

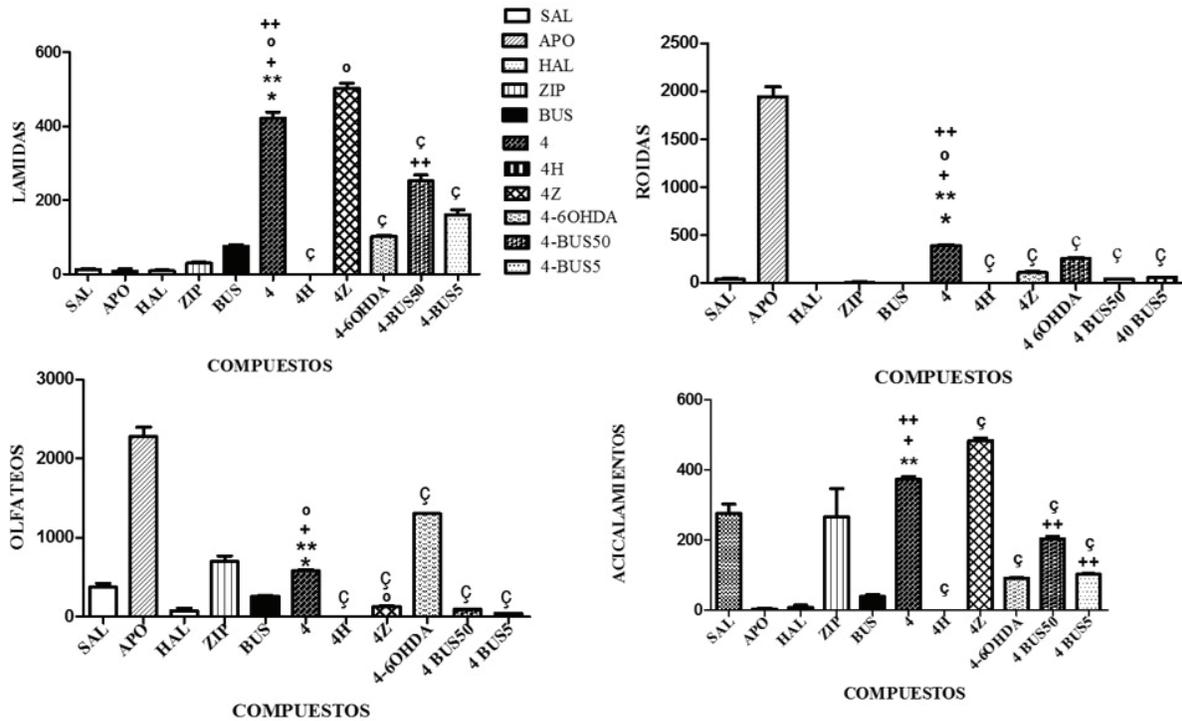


Fig. 3. Efecto del compuesto 4 ($50\mu\text{g}/5\mu\text{L}$) y ($5\mu\text{g}/5\mu\text{L}$) sólo en el pretratamiento con buspirona sobre la conducta estereotipada en ratas. En las ordenadas, la suma de las conductas medidas. En las abscisas, los compuestos probados. Las observaciones se realizaron por una hora. Los resultados se expresaron como promedio \pm eep de cuatro mediciones independientes. Los datos fueron analizados mediante análisis de variancia (ANOVA) de una vía y la prueba de Newman-Keul $n=$ cuatro animales por grupo. *diferencia significativa (ds) vs salina (SAL); **ds vs apomorfina (APO); + ds vs haloperidol (HAL); °ds vs ziprasidona (ZIP); ++ds vs buspirona (BUS); ç ds vs compuestos 4 ($50\mu\text{g}$); ç ds vs compuestos 4 ($5\mu\text{g}$). $P \leq 0,05$.

de los núcleos caudado y putamen; además constituye el sustrato neural del comportamiento estereotipado inducido por la apomorfina, un agonista mixto de los receptores de dopamina D_1 - D_2 , en animales²⁶. La activación de los receptores de dopamina D_1 - D_2 localizados en el núcleo estriado se expresa como un aumento de las roídas y los olfateos, cuyas respuestas son propias del sistema extrapiramidal, en cambio la activación de estos receptores en el sistema límbico induce la conducta estereotipada de lamidas y acicalamientos²³⁻²⁷.

El agonista dopaminérgico apomorfina y el antagonista haloperidol (antipsicótico típico) interactúan a través los receptores

D_1 - D_2 . La ziprasidona es un antagonista dopaminérgico y se diferencia del haloperidol por ser un antipsicótico atípico que bloquea los receptores $5HT_{2a}$ y D_2 , en una proporción de 8:1 respectivamente, como también al receptor $5HT_{2c}$, además de ser un agonista en el receptor $5HT_{1a}$ ²⁸. La buspirona (azaspirodecanediona) es un ansiolítico no benzodiazepínico, agonista parcial postsináptico de los receptores $5HT_{1a}$ y antagonista del receptor D_2 ²⁹.

En el presente estudio se demostró que la administración central (ICV) del compuesto 4 indujo un comportamiento estereotipado a nivel del sistema extrapiramidal (roídas y olfateos) y en el sistema límbico

(acicalamientos y lamidas). El hecho que el haloperidol (antagonista no selectivo) bloqueó las conductas estereotipadas inducidas por el compuesto **4** demuestra su acción dopaminérgica en ambos sitios. Por otra parte, el pretratamiento con la ziprasidona, incrementó las respuestas conductuales lamidas y acicalamientos, propios del sistema límbico y disminuyó las conductas basales (roídas y olfateos). Estos resultados están en concordancia con lo reportado por Ángel y col.^{15,18-20,30,31}, quienes demostraron que la adición de ziprasidona aumenta las lamidas y los acicalamientos. Se ha demostrado que los antipsicóticos atípicos ziprasidona y clozapina, bloquean las conductas estereotipadas ejercidas por la apomorfina, e inducen un aumento en las lamidas y los acicalamientos. Esto es debido al aumento del tono dopaminérgico en la corteza prefrontal (sistema mesocortical) cuando de forma concomitante se activan y se bloquean los receptores $5HT_{1a}$ y $5HT_{2a}$, respectivamente, mientras que a nivel del sistema mesolímbico reducen la transmisión dopaminérgica al bloquear los receptores D_2 ³².

En general, en el sistema meso-córtico-límbico, la activación de los receptores $5-HT_{2a}$ puede facilitar la liberación de dopamina (DA) en condiciones de estimulación, pero no en condiciones basales; mientras que la activación del receptor $5-HT_{2c}$ inhibe la actividad dopaminérgica y la liberación de DA³³. Por lo tanto, el aumento en los acicalamientos y las lamidas inducidos por el compuesto **4** en presencia de ziprasidona, se podrían interpretar como la interacción agonística y antagónica sobre los receptores $5HT_{1a}$ y $5HT_{2c}$ respectivamente, aumentando la activación dopaminérgica a nivel del sistema límbico en concomitancia con la acción “per se” del compuesto en estudio. Se descartaría la participación del receptor $5-HT_{2a}$ ya que su intervención ocurre en un sistema dopaminérgico estriatal estimulado, y aquí no fue el caso.

A fin de dilucidar el sitio de acción del compuesto **4**, se empleó la denervación dopa-

minérgica selectiva con 6OHDA, considerada como método rutinario para la destrucción de los terminales nerviosos catecolaminérgicos en el sistema nervioso central, ampliamente empleado para inducir la Enfermedad de Parkinson experimental³³⁻³⁶. Los resultados presentes demuestran que la denervación dopaminérgica no alteró significativamente la respuesta estereotipada inducida por el compuesto **4**, ya que sólo se redujeron parcialmente las lamidas y los acicalamientos, y aumentaron notablemente los olfateos inducidos por la vía ICV. Estos hallazgos parecen indicar que la actividad del compuesto **4** ocurre principalmente sobre el receptor postsináptico, y que para que se dé esta respuesta dopaminérgica central, debe ocurrir la bioactivación metabólica previa del compuesto evaluado, puesto que de lo contrario no podría formarse el farmacóforo sobre el compuesto **4**, y sería incapaz de interactuar con el receptor postsináptico como agonista. Es importante mencionar que en nuestro protocolo experimental no fue posible cuantificar el contenido de dopamina en las áreas de interés, como son el núcleo accumbens y el estriado. Se ha demostrado que la inyección intracerebral de 6-OHDA, produce una destrucción selectiva de las neuronas dopaminérgicas nigrales de los terminales estriatales y una depleción en los niveles de dopamina, serotonina, encefalina y sustancia P estriatales. Así mismo, se genera la máxima reducción de las concentraciones de dopamina entre el tercer y el cuarto día tras la inyección. La degeneración neuronal afecta por igual tanto a las neuronas dopaminérgicas de la sustancia negra “pars compacta” que proyectan al estriado como a las del área tegmental ventral, que forman parte del sistema mesolímbico³⁷. Por ello, al no determinarse la concentración de DA en las áreas cerebrales de interés queda la posibilidad, aunque poco probable en nuestro caso, de que la denervación no haya sido totalmente efectiva y por lo tanto el compuesto **4** podría haber actuado parcialmente a nivel presináptico.

Por otro lado, parte de la respuesta agonística dopaminérgica resultante por la acción del compuesto **4** podría estar mediada sobre las neuronas serotoninérgicas. Para evaluar esta posibilidad se empleó el pretratamiento con la buspirona, un agonista parcial del receptor $5HT_{1a}$ postsináptico, esperando que la respuesta farmacológica resultante entre un agonista parcial y uno total, fuese un antagonismo a alta dosis y un agonismo a baja dosis^{29,38}. Si el compuesto **4** seguía este comportamiento, indicaría que su actividad era resultante de su agonismo $5HT_{1a}$. Los agonistas del receptor $5HT_{1a}$, aumentan la liberación de dopamina a nivel central. Nuestros resultados revelaron que la respuesta conductual estereotipada del compuesto **4** con la buspirona, no siguió el patrón mostrado entre un agonista parcial y un agonista total, y la respuesta farmacológica obtenida indicó que no está actuando sobre el receptor $5HT_{1a}$. Por ello, las respuestas estereotipadas parecen ser netamente dopaminérgicas, ya que ambas dosis inhibieron en las cuatro conductas estereotipadas. La buspirona, además de ser agonista parcial $5HT_{1a}$, es un antagonista D_2 ²⁹. Ello explicaría la respuesta antagonista observada frente a la acción agonística del compuesto **4**.

En vista que el compuesto **4** fue administrado vía intracerebroventricular y que la mayor parte del sistema ventricular está relacionado con el sistema límbico, y sólo en los ventrículos laterales hay estructuras basales, es posible que la totalidad de las conductas observadas sean límbicas (lamidas y acicalamientos), mientras que las conductas basales (roídas y olfateos) fueron separadas. Además, los ventrículos laterales son los más grandes y por ende hay mayor área de contacto, para el intercambio de sustratos y metabolitos entre el líquido cefalorraquídeo y el cerebro.

Diversos mecanismos podrían explicar el efecto farmacológico. Efectivamente el compuesto **4** fue administrado en el ventrículo lateral-derecho y en dicha cavidad

gran cantidad del mismo es difundido hacia el cerebro, donde entra en contacto con las estructuras límbicas y basales que limitan con el ventrículo. El compuesto **4** podría aumentar la liberación de DA endógena por su acción indirecta sobre la neurona presináptica, en vista que el anillo indano, contiene el fragmento farmacofórico feniletilamino, el cual es el responsable de que ocurra la depleción del neurotransmisor; así mismo el compuesto **4** podría activarse metabólicamente a través de una monooxigenasa al incorporar el oxidrilo en el anillo bencénico del indano en posición meta, para que de esa forma se genere el fragmento m-hidroxifeniletilamino, siendo este el farmacóforo responsable de la unión con el receptor D_2 (Fig. 4). Es por ello que en ratas normales o lesionadas se observaron las respuestas agonísticas dopaminérgicas, ya que en las ratas normales se apreciaron las dos conductas límbicas (lamidas y acicalamientos) y las dos basales (roídas y olfateos) a la dosis de $50\mu\text{g}/5\mu\text{L}$, mientras que cuando las ratas fueron desnervadas, la acción del compuesto **4** fue postsináptica a la dosis de $50\mu\text{g}/5\mu\text{L}$, y se redujeron parcialmente las dos conductas límbicas y se incrementó sólo los olfateos, siendo una conducta basal; al parecer el compuesto **4** tiene mayor afinidad por las estructuras basales presente en el sistema ventricular. En la ruta hacia el cuarto ventrículo hay estructuras límbicas que pueden ser estimuladas por la absorción de una parte del remanente del compuesto en estudio, y el restante al alcanzar el cuarto ventrículo es absorbido e interactúa sobre estructuras hipotálamicas e infundibular. Posiblemente, las respuestas farmacológicas mostradas están ocurriendo, por la absorción en el ventrículo lateral-derecho. El presente resultado demostró que la acción agonista a través de mecanismos dopaminérgicos ejercida por el compuesto **4** no proviene de la acción presináptica, ya que hubo aumento significativo en la conducta estereotipada olfateos, después de la denervación.

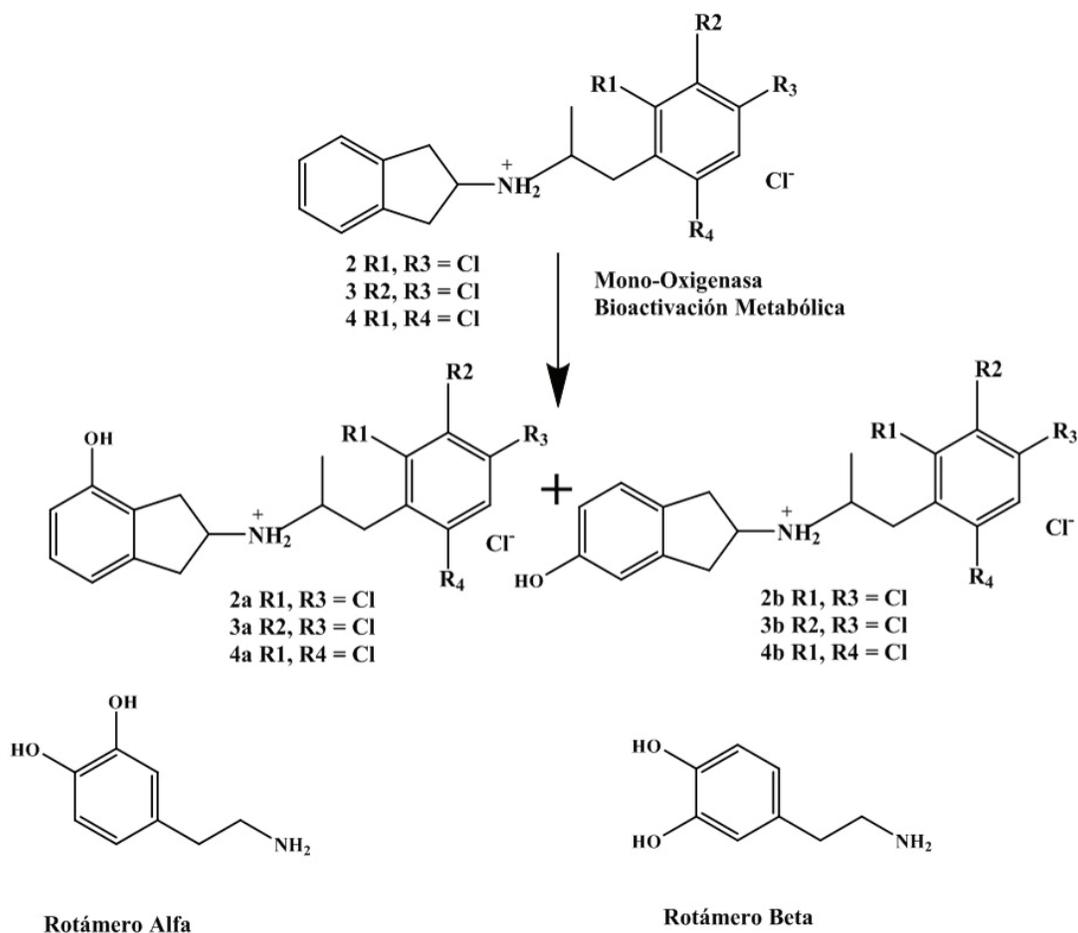


Fig. 4. Posible bioactivación metabólica de los compuestos 2, 3 y 4 (formas inactivas). Los compuestos 2a-b, 3a-b y 4a-b son las formas activas.

Por otro lado, las respuestas conductuales estereotipadas son producto de la activación de los receptores dopaminérgicos D_1 y D_2 a nivel central, siendo el receptor D_1 quien estimula la conducta roída mientras que las lamidas, los olfateos y los acicalamientos se explican por la estimulación del receptor D_2 ³⁹. Nuestros hallazgos sugieren evidencias farmacológicas indican que la acción dopaminérgica ejercida por el compuesto 4 está mediada por la activación de ambos tipos de receptores (D_1 - D_2) en ratas normales, mientras que en ratas lesionadas interviene el receptor (D_2).

El aumento en las cuatro conductas estudiadas podría explicarse por la acción

del compuesto 4, en sus formas no activada y activada, sobre los receptores (D_1 - D_2). En la forma no activada el compuesto 4 estimularía la liberación de DA endógena por su acción indirecta sobre la neurona presináptica, puesto que el anillo indano contiene el fragmento farmacofórico feniletilamino, y es esta dopamina endógena la que interactúa con los receptores D_1 en el terminal postsináptico, y se expresa como el aumento de la conducta roída. En cambio, con la activación metabólica de la forma inactiva, se incorpora el grupo oxidrilo en el anillo bencénico del indano, generando la forma activa del compuesto 4 que contiene el fragmento farmacofórico "m-hidroxifeniletila-

mino" responsable de la unión al receptor dopaminérgico D_2 y expresar las conductas lamidas, acicalamiento y olfateos ⁴⁰.

Al considerar el grupo de ratas que recibió 6OHDA, nuestros hallazgos demuestran que la denervación dopaminérgica central incrementa significativamente la acción agonista ejercida por el compuesto **4** sobre la conducta basal, olfateo (D_2), lo que parece indicar que la misma está mediada por un mecanismo dopaminérgico independiente de su acción presináptica. Así parece poco probable la participación de mecanismos presinápticos, debido a la denervación presináptica previa.

Al tomar en cuenta de que los receptores D_1 requieren de la presencia de dos grupos -OH (en posición meta y para) y los D_2 son menos específicos y requieren únicamente del -OH en posición meta ⁴⁰, es posible explicar que el aumento de la conducta estereotipada roída (en ratas sanas) es la resultante de la activación del receptor D_1 por la dopamina endógena, cuando es liberada desde los terminales presinápticos, pero contrariamente en ratas lesionadas presinápticamente, esta conducta estereotipada no se observó. Efectivamente, bajo la forma metabolizada, el compuesto **4** (Fig. 4) activa los receptores D_2 , por tener dentro de su estructura el farmacóforo (m-hidroxifeniletilamino), la cual induce las conductas estereotipadas lamidas, acicalamiento y olfateo ³⁹.

En resumen, el compuesto **4** fue diseñado como un profármaco de acuerdo a las aproximaciones farmacofóricas consideradas en la química medicinal y su evaluación farmacológica reveló poseer actividad agonística a través de la activación de los mecanismos dopaminérgicos centrales. El hecho de mostrar selectividad en las respuestas conductuales propias de los ganglios basales sobre las estructuras límbicas, nos permite incluirlo en el grupo de nuevos agentes capaces de contrarrestar las enfermedades neurodegenerativas, específicamente la enfermedad de Parkinson.

AGRADECIMIENTO

El autor dedica este manuscrito a la Memoria de su Padre, Sr. Alvaro Angel Rangel (11-05-1931 / 24-05-2021 †).

Financiamiento

Proyecto FDI N°02-2017, Programa CONDES-CC-0239-17 y CONDES-CC-0378-15.

Conflicto de interés

No existe ningún conflicto de interés.

Números ORCID de los autores

- Marienmy del V. Velasquez (MVV):
0000-0001-7327-166X
- Alexander E. Albarracin (AEA):
0000-0002-5014-2280
- Kelvin Boscán (KV):
0000-0002-3520-7664
- Ligia B. Angel (LBA):
0000-0003-3324-6202
- Rodolfo E. Izquierdo (REI):
0000-0002-2978-8693
- María M. Ramírez (MMR):
0000-0001-5894-0706
- Biagina del C. Migliore (BCM):
0000-0002-7993-8389
- Jaime E. Charris (JEC):
0000-0003-44042619
- María del R. Garrido (MRG):
0000-0001-9662-4405
- Anita Israel (AI):
0000-0003-1812-0759
- Simón E. López (SEL):
0000-0002-4326-129X
- Jorge E. Angel (JEA)
0000-0002-2423-3285

Contribución de los autores

- MVV y AEA realizaron la parte experimental tanto de síntesis como farmacológica
- KB, LBA, REI, MMR, BCM y JEA diseño, síntesis y evaluación farmacológica del compuesto.
- JEC, MRG, AI y SEL participaron activamente en la toma de los espectros del compuesto, obtención de los animales para la parte de la evaluación farmacológica, ayuda económica, colaboración en la revisión del manuscrito y correcciones iniciales y la traducción en el caso que se ameritaba del manuscrito.

REFERENCIAS

1. **Sachar B, Zuk R, Gazawi H, Ljubuncic P.** Dopamine toxicity involves mitochondrial complex I inhibition: implications to dopamine-related neuropsychiatric disorders. *Biochem Pharmacol* 2004; 67(10): 1965-1974. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2004.02.015>
2. **Beaulieu J, Gainetdinov R.** The physiology, signaling, and pharmacology of dopamine receptors. *Pharmacol Rev* 2011; 63(1): 182-217. <https://doi.org/10.1124/pr.110.002642>
3. **Brichta L, Greengard P, Flajolet M.** Advances in the pharmacological treatment of Parkinson's disease: targeting neurotransmitter systems. *Trends Neurosci* 2013; 36(9): 543-554. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2013.06.003>
4. **Aono M, Iga J, Ueno S, Agawa M, Tsuda T, Ohmori T.** Neuropsychological and psychiatric assessments following bilateral deep brain stimulation of the subthalamic nucleus in Japanese patients with Parkinson's disease. *J Clin Neurosci* 2014; 21(9): 1595-1598. <https://doi.org/10.1016/j.jocn.2013.12.020>
5. **Zhang C, Han Q, Chen N, Yuan Y.** Research on developing drugs for Parkinson's disease. *Brain Res Bull* 2021; 168: 100-109. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2020.12.017>
6. **Krishnan S, Pisharady KK.** Surgical treatment of levodopa-induced dyskinesia in parkinson's disease. *Ann Indian Acad Neurol* 2017 [citado, 2022 septiembre 15] Disponible en: https://doi.org/10.4103/aian.AIAN_244_17.
7. **Munhoz RP, Cerasa A, Okun MS.** Surgical treatment of dyskinesia in Parkinson's disease. *Front Neurol* 2014 [citado, 2022 septiembre 15] Disponible en: <https://doi.org/10.3389/fneur.2014.00065>.
8. **Zhang A, Neumeyer J, Baldessarini R.** Recent progress in development of dopamine receptor subtype-selective agents: potential therapeutics for neurological and psychiatric disorders. *Chem Rev* 2007; 107(1): 274-302. <https://doi.org/10.1021/cr050263h>
9. **Ross C, Margolis R.** Neurogenetics: insights into degenerative diseases and approaches to schizophrenia. *Clin Neurosci Res* 2005; 5(1): 3-14. <https://doi.org/10.1016/j.cnr.2005.07.001>
10. **Del'guidice T, Lemasson M, Beaulieu JM.** Role of beta-arrestin 2 downstream of dopamine receptors in the basal ganglia. *Front Neuroanat* 2011 [citado, 2022 septiembre 15] Disponible en: <https://doi.org/10.3389/fnana.2011.00058>.
11. **Park H, Urs A, Zimmerman J, Liu C, Wang Q, Urs N.** Structure-functional-selectivity relationship studies of novel apomorphine analogs to develop D1R/D2R biased ligands. *ACS Med Chem Lett* 2020; 11(3): 385-392. <https://doi.org/10.1021/acsmchemlett.9b00575>
12. **Charris J, Perez J, Domínguez J, Ángel J, Duerto J, Salazar M, Acosta H.** N-aralkyl substitution of 2-aminoindans. Synthesis and their inotropic and chronotropic activity in isolated guinea pig atria. *Chem Inform Abstr* 1998; 29(14): 0-0. <https://doi.org/10.1002/chin.199814095>.
13. **Rodríguez L, Medina Y, Suárez H, Migliore B, Israel A, Charris J, López S, Caldera J, Ángel J.** Conformational theoretical study of substituted and non-substituted N-aralkyl-2-aminoindans and its relation with dopaminergic activity. *J Mol Struct THEOCHEM* 2003; 636(1-3): 1-8. [https://doi.org/10.1016/S0166-1280\(03\)00023-X](https://doi.org/10.1016/S0166-1280(03)00023-X).
14. **Ángel J, Charris J, Israel A, Migliore B, Suárez H, Garrido M, López S, Díaz E, Fer-**

- rer R, Michelena E, Rodríguez L, Silva J, Moronta A, Espinoza G, Quintero L. Perfil dopaminérgico del compuesto 2-aminoindano-N-aralquil sustituido. *Arch Venezol Terap Farmacol* 2004; 23(2): 136-142.
15. Andujar S, Garibotto F, Migliore B, Ángel J, Charris J, Enriz R. Molecular recognition and binding mechanism of N-aralkyl substituted 2-aminoindans to the dopamine D2 receptor. A theoretical study. *J Argent Chem Soc* 2006; 94: 1-11.
 16. Ángel J. Una compilación en el diseño y evaluación farmacológica preliminar de nuevos compuestos con actividad dopaminérgica central. *Invest Clin* 2008; 49(1): 71-73.
 17. Andujar S, Migliore B, Charris J, Israel A, Suárez H, López S, Garrido M, Cabrera E, Visbal G, Rosales C, Suvire F, Enriz R, Ángel J. Synthesis, dopaminergic profile and molecular dynamics calculations of N-Aralkyl substituted 2-aminoindans. *Bioorg Med Chem* 2008; 16(6): 3233-3244. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2007.12.027>
 18. Ferrer R, Urdaneta N, Porta N, Rodríguez L, Rosales C, Espinoza G, Ángel L, Balza K, Perdomo L, Faría A, Dabian A, Zapata M, Linero A, Acurero G, Israel A, Garrido M, Suárez H, Migliore B, López S, Charris J, Ramírez M, Ángel J. Novedosos agentes dopaminérgicos centrales derivados del 2-aminoindano-4,7disustituido atípico. Síntesis y perfil farmacológico central. *Invest Clin* 2015; 56(2): 137-154.
 19. Perdomo L, Balza K, Acurero G, Ángel L, Dabian A, Faría A, Linero A, Zapata M, Vera M, Migliore, Suárez H, Israel A, Charris J, López S, Ramírez M, Ángel J. Design, synthesis and preliminary pharmacologic evaluation of 2-aminoindane-quinoline analogues as dopaminergic agents. *Der Pharma Chem* 2015; 7(5): 130-135.
 20. Montero L, Velásquez M, Caldera J, Vera M, Blanco C, Ángel L, Migliore B, Charris J, Israel A, López S, Izquierdo R, Ortega J, Ramírez M, Ángel J. Síntesis y evaluación farmacológica de los novedosos agentes dopaminérgicos centrales análogos del N-dicloroaralquil-2-aminoindano. *Rev Fac Farm* 2018; 81(1-2): 41-50.
 21. Castall B, Marsden CD, Naylor RJ, Pycock CJ. Stereotyped behavior patterns and hyperactivity induced by amphetamine and apomorphine after discrete 6-hydroxydopamine lesions of extrapyramidal and mesolimbic nuclei. *Brain Res* 1977; 123(1): 89-111. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(77\)90645-X](https://doi.org/10.1016/0006-8993(77)90645-X).
 22. Snedecord G, Cochran W. *Statistical Methods*. 7th Ed USA: Iowa State University Press Ames; 1982.
 23. Costall B, Naylor RJ, Cannon JG, Lee TJ. Differentiation of the dopamine mechanisms mediating stereotyped behavior and hyperactivity in the nucleus accumbens and caudate-putamen. *J Pharm Pharmacol* 1977; 29(1): 337-342. <https://doi.org/10.1111/j.2042-7158.1977.tb11331.x>
 24. Creese L, Iversen SD. The pharmacological and anatomical substrates of the amphetamine response in the rat. *Brain Res* 1975; 83(3): 419-436. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(75\)90834-3](https://doi.org/10.1016/0006-8993(75)90834-3)
 25. Chartoff EH, Marek BT, Matsumoto AM, Dorsa DM, Palmiter RD. Induction of stereotypy in dopamine-deficient mice requires striatal D1 receptor activation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98(18): 10451-10456. <https://doi.org/10.1073/pnas.181356498>
 26. Israel A, Torres M, Cierco M, Barbella Y. Further evidence for a dopaminergic involvement in the renal action of centrally administered atrial natriuretic peptide in rats. *Brain Res Bull* 1991; 27(5): 739-742. [https://doi.org/10.1016/0361-9230\(91\)90056-P](https://doi.org/10.1016/0361-9230(91)90056-P)
 27. Orfila L, Ángel J, Torres M, Barbella Y, Israel A. Evidence for a dopaminergic involvement in the renal action of centrally administered JA116a, a novel compound with possible dopaminergic activity in rats. *J Pharm Pharmacol* 1994; 46(5): 397-399. <https://doi.org/10.1111/j.2042-7158.1994.tb03825.x>
 28. Seeger TF, Seymour PA, Schmidt AW, Zorn SH, Schulz DW, Lebel LA, McLean S, Guanowsky V, Howard HR, Lowe JA. Ziprasidone (CP-88,059): A new antipsychotic with combined dopamine and serotonin receptor antagonist activity. *J Pharmacol Exp Ther* 1995; 275(1): 101-113.
 29. Murphy S, Owen R, Tyrer P. Comparative assessment of efficacy and withdrawal symptoms after 6 and 12 weeks treatment with diazepam or buspirone. *Br J Psychiatry*

- try 1989; 154(4): 529-534. <https://doi.org/10.1192/bjp.154.4.529>.
30. **Ángel J, Santiago A, Rossi R, Migliore B, Barolo S, Andujar S, Hernández V, Rosales C, Charris J E, Suarez H, Israel A, Ramírez MM, Ortega J, Herrera Cano N, Enriz RD.** Synthesis and preliminary pharmacological evaluation of methoxylated indoles with possible dopaminergic central action. *Lat Am J Pharm* 2011; 30(10): 1934-1942.
 31. **Ángel LB, Balza K, Perdomo LE, Dabian AS, Faría AR, Linero AR, Migliore B, Suárez H, Charris J, Israel A, Ramírez MM, Ángel JE.** Síntesis y evaluación farmacológica preliminar de nuevos compuestos quinolínicos con actividad anti Corea de Huntington. *Rev Fac Farm* 2015; 78(1-2): 94-100.
 32. **Lucas G, De Deurwaerdère P, Caccia S, Spampinato U.** The effect of serotonergic agents on haloperidol-induced striatal dopamine release in vivo: opposite role of 5-HT_{2a} and 5-HT_{2c} receptor subtypes and significance of the haloperidol dose used. *Neuropharmacology* 2000; 39(6): 1053-1963. [https://doi.org/10.1016/S0028-3908\(99\)00193-8](https://doi.org/10.1016/S0028-3908(99)00193-8)
 33. **Simola N, Morelli M, Carta AR.** The 6-hydroxydopamine model of Parkinson's disease. *Neurotox Res* 2007; 11(3-4): 151-167. <https://doi.org/10.1007/BF03033565>.
 34. **Thoenen H, Tranzer JP.** Chemical sympathectomy by selective destruction of adrenergic nerve endings with 6-Hydroxydopamine. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Exp Pathol Pharmacol* 1968; 261(3): 271-288. <https://doi.org/10.1007/BF00536990>.
 35. **Jeon BS, Jackson-Lewis SV, Burke RE.** 6-Hydroxydopamine lesion of the rat substantia nigra: time course and morphology of cell death. *Neurodegeneration* 1995; 4(2): 131-137. <https://doi.org/10.1006/neur.1995.0016>
 36. **Ungerstedt U.** 6-Hydroxy-dopamine induced degeneration of central monoamine neurons. *Eur J Pharmacol* 1968; 5(1): 107-110. [https://doi.org/10.1016/0014-2999\(68\)90164-7](https://doi.org/10.1016/0014-2999(68)90164-7)
 37. **Meltzer HY.** Serotonergic mechanisms as targets for existing and novel antipsychotics. *Handb Exp Pharmacol* 2012; 212: 87-124. https://doi.org/10.1007/978-3-642-25761-2_4
 38. **Ushijima I, Carino M, Horita A.** Involvement of D1 and D2 dopamine systems in the behavioral effects of cocaine in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 1995; 52(4): 737-741. [https://doi.org/10.1016/0091-3057\(95\)00167-U](https://doi.org/10.1016/0091-3057(95)00167-U).
 39. **Molloy AG, Waddington JL.** Dopaminergic behavior stereospecifically promoted by the D₁ agonist R-SK & F38393 and selectively blocked by the D₁ antagonist SCH 23390. *Psychopharmacology* 1984; 82(4): 409-410. <https://doi.org/10.1007/BF00427697>.
 40. **Nichols DE.** The development of novel dopamine agonists. *ACS Symp Ser Am Chem Soc* 1983; 224(9): 201-221. <https://doi.org/10.1021/bk-1983-0224.ch009>.