

SÍNTESIS Y EVALUACIÓN BIOLÓGICA DE NUEVOS DERIVADOS DE ADAMANTANO ACTUANDO COMO ANTAGONISTAS DE LOS RECEPTORES NMDA

Exequiel E. Barrera Guisasola^{ab}, Francisco M. Garibotto^a, Héctor A. Baldoni^a, Marcelo F. Masman^{cd}, Justo Cobo^e Ana M. Rodríguez^a, Ricardo D. Enriz^{ab}

^a *Departamento de Química - Facultad de Química, Bioquímica y Farmacia - Universidad Nacional de San Luis - Chacabuco 917, 5700, San Luis – Argentina.*

^b *IMIBIO–SL, CONICET, Chacabuco 915 – 5700 San Luis, Argentina*

^c *Department of Molecular Dynamics, University of Groningen, Nijenborgh 7, 9747 AG Groningen, The Netherlands*

^d *Department of Molecular Neurobiology, University of Groningen, Nijenborgh 7, 9747 AG Groningen, The Netherlands*

^e *Departamento de Química Inorgánica y Orgánica, Universidad de Jaén, 23071 Jaén, Spain.*

INTRODUCCIÓN

Los receptores N-metil-D-aspartato (NMDA) son receptores ionotrópicos que se expresan ampliamente en el sistema nervioso central, cumpliendo un rol fundamental en la transmisión sináptica excitatoria^{1,2}. Estos poseen una estrecha relación con numerosas condiciones patofisiológicas, que incluyen a distintas enfermedades neurodegenerativas y desórdenes psiquiátricos, es por eso que consideramos a estos receptores como “targets” de gran interés terapéutico^{3,4}. Uno de los principales factores causales de este tipo de enfermedades, en donde podemos incluir a la Enfermedad de Alzheimer (EA), es la excitotoxicidad glutamérgica generada por la sobreactivación de los receptores NMDA. Esta estimulación excesiva permite el ingreso de grandes concentraciones de Ca^{2+} a través del canal iónico asociado al receptor, provocando daño y muerte neuronal⁵.

Uno de los compuestos que actualmente se utiliza para el tratamiento de la EA es memantina (1-amino-3,5-dimetiladamantano) un derivado de adamantano cuyo mecanismo de acción es el antagonismo por los receptores NMDA, inhibiendo la excitotoxicidad de Ca^{2+} mediante el bloqueo al canal iónico asociado a dicho receptor⁶. Recientemente hemos reportado una serie de nitrosopirimidinas con actividad antifúngica⁷, la cual incluye dos compuestos que son derivados de adamantano. Teniendo en cuenta la similitud estructural que estos compuestos comparten con memantina, consideramos interesante evaluar si dichos compuestos poseen efecto neuroprotectivo. Además, sintetizamos tres nuevos derivados de adamantano para también estudiar su potencial actividad protectora frente a la excitotoxicidad glutamérgica (**Figura 1**). Teniendo en cuenta que el compuesto AM2 presentó la mayor actividad neuroprotectiva y con el fin de obtener una descripción estructural más precisa, determinamos experimentalmente su estructura molecular por difracción de rayos X. A su vez realizamos cálculos computacionales cuyos resultados fueron comparados con la información experimental de la estructura cristalográfica.

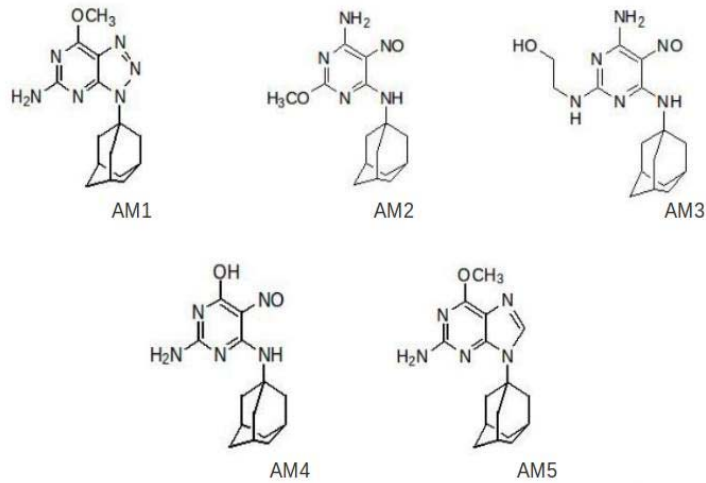


Figura1

METODOLOGÍA

La optimización geométrica de los tres confórmeros propuestos se llevó a cabo mediante cálculos AM1, HF/3-21G y B3LYP/6-31G(d). Para el análisis energético se realizaron cálculos single-point a nivel B3LYP/6-31G(d)++.

La medición de viabilidad celular se realizó mediante el ensayo colorimétrico MTT [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromide] en cultivos primarios de neuronas de ratón cepa C57Black/6J.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

- Evaluación Biológica: Las propiedades neuroprotectivas de los derivados de adamantano propuestos fue evaluada midiendo la inhibición de los efectos neurotóxicos de glutamato en cultivos primarios de neuronas. Entre los cinco compuestos ensayados, tres de ellos AM1, AM2 y AM3 presentaron actividad protectora, siendo el derivado AM3 el que presentó un mayor incremento de viabilidad celular, obteniendo un valor máximo de 30,5% para la concentración 16 μ M (**Figura 2**).

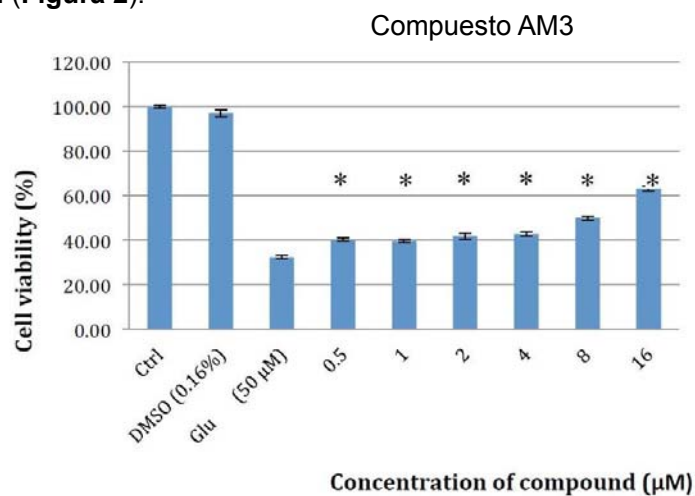


Figura2

- **Modelado Molecular:** Para llevar a cabo el estudio conformacional y con el fin de tener una mejor interpretación de la información estructural obtenida por difracción de rayos X, seleccionamos como compuesto representativo al derivado AM2. Inicialmente propusimos tres conformeros diferentes (A, B y C). Las optimizaciones geométricas se realizaron mediante cálculos semi-empíricos, ab initio y DFT. Para los tres niveles de cálculo, el conformero energéticamente más estable fue A, el cual tiene una gran similitud estructural (valores de distancias de enlace, ángulos de enlace y ángulos diedros) con la estructura obtenida experimentalmente. Además, esta conformación está estabilizada por un enlace puente hidrógeno intramolecular que también se observa en el cristal. Los otros dos conformeros presentaron diferencias energéticas de $\sim 8\text{kcal.mol}^{-1}$ (conformación B) y $\sim 15\text{kcal.mol}^{-1}$ (conformación C). En la **figura 3** se presenta una superposición de la estructura cristalográfica y la conformación A optimizada en el vacío a un nivel de cálculo B3LYP/6-31G(d).

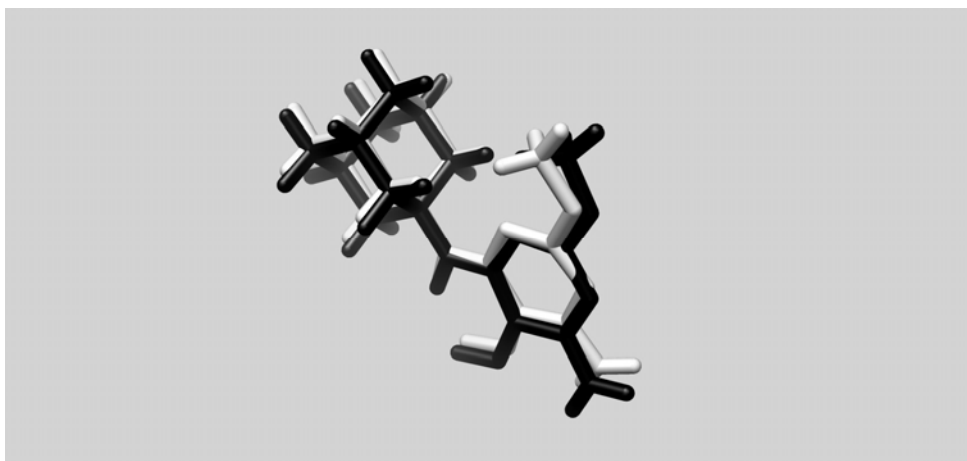


Figura3

CONCLUSIONES

La moderada pero significativa actividad neuroprotectora reportada en este trabajo para los compuestos AM1, AM2 y AM3 es alentadora y abre posibilidades prometedoras para el diseño de nuevos compuestos químicamente relacionados que presenten mayor efecto neuroprotector. Por otro lado, los resultados del estudio conformacional realizado mediante cálculos teóricos a distintos niveles de teoría muestran una muy buena correlación con los resultados experimentales obtenidos mediante la difracción de rayos X.

Teniendo en cuenta que la actividad fisiológica de los receptores NMDA es esencial para el normal funcionamiento de las neuronas, el próximo paso sería diseñar una nueva generación de derivados de adamantano que incluya otros sustituyentes, tales como grupos metilos y grupos amino cargados, que permitan bloquear selectivamente los canales de calcio asociados al receptor cuando se encuentran excesivamente abiertos, como ocurre en el caso de la excitotoxicidad glutamérgica observada en diversas enfermedades neurodegenerativas.

REFERENCIAS

1. Dingledine R, Borges K, Bowie D, Traynelis SF: The glutamate receptor ion channels. *Pharmacol Rev* 1999, 51:7-61.
2. Traynelis, S.F., Wollmuth, L.P., McBain, C.J., Menniti, F.S., Vance, K.M., Ogden, K.K., Hansen, K.B., Yuan, H., Myers, S.J., Dingledine, R. Glutamate receptor ion channels: structure, regulation, and function. *Pharmacol. Rev.*, 2010. 62, 405–496.
3. Hardingham, G.E., Bading, H. Synaptic versus extrasynaptic NMDA receptor signalling: implications for neurodegenerative disorders. *Nat. Rev. Neurosci.*, 2010. 11, 682–696.
4. Lau, C.G., Zukin, R.S. NMDA receptor trafficking in synaptic plasticity and neuropsychiatric disorders. *Nat. Rev. Neurosci.*, 2007. 8, 413–426.
5. Bonda DJ, Lee H-P, Lee H-G, Friedlich AL, Perry G, Zhu X, et al. Novel therapeutics for Alzheimer's disease: an update. *Curr Opin Drug Discovery Devel* 2010;13(2):235-46.
6. Chen H-S, Pellegrini JW, Aggarwal SK, Lei Sizheng Z, Warach Steven, Jensen Frances E, et al. Open-channel block of N-methyl-D-aspartate (NMDA) responses by memantine: therapeutic advantage against NMDA receptor-mediated toxicity. *J Neurosci* 1992;12(11):4427-36.
7. Olivella M., Cobos J., Enriz R.D. Structure-activity relationship study of nitrosopyrimidines acting as antifungal agents. *Bioorganic Medicinal Chemistry*, 2012 (en prensa).